

# FATORES FÍSICO-QUÍMICOS E BIOLÓGICOS LIGADOS À PRODUÇÃO DE MICOTOXINAS

ANTONIO SAMPAIO BAPTISTA \*

JORGE HORII \*\*

APARECIDO SAMPAIO BAPTISTA \*\*\*

O objetivo desta revisão de literatura foi abordar as condições favoráveis ao desenvolvimento de fungos toxigênicos que podem produzir micotoxinas. Os aspectos tratados incluíram temperatura e umidade, agentes competidores e atmosfera de crescimento. Também foram abordados os meios de cultura para identificação de fungos micotoxigênicos. Concluiu-se que o conhecimento dos fatores ligados à produção de micotoxinas possibilita a adoção de medidas para reduzir a presença de toxinas e melhorar o aproveitamento dos alimentos.

*PALAVRAS-CHAVE: MICOTOXINAS-CONDIÇÕES DE CRESCIMENTO; FUNGOS MICOTOXIGÊNICOS.*

## 1 INTRODUÇÃO

Micotoxinas são metabólitos secundários, tóxicos, produzidos por várias espécies de fungos. Esses microrganismos, sob condições favoráveis, podem se desenvolver sobre diversos substratos (entre os quais os alimentos) e produzir toxinas. Tal fato representa problemas para a saúde pública, uma vez que podem atingir o ser humano pelo consumo do alimento contaminado, ou pelo consumo de outros organismos que as tenham ingerido (ROEBUCH e MAXUILENKO, 1994; GALVANO, 2001; BAPTISTA et al., 2002).

\* Pós-Graduando do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição (LAN), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba, SP (e-mail: asbaptis@esalq.ciagri.usp.br).

\*\* Professor do LAN, ESALQ, USP, Piracicaba, SP.

\*\*\* Professor, Departamento de Ciências Biológicas (DCB), Faculdade Estadual de Filosofia, Ciências e Letras de Cornélio Procópio (FAFICOP), PR.

As micotoxinas apresentam efeitos bioquímicos e biológicos. Bioquimicamente, podem afetar o metabolismo de carboidratos, de lipídios, dos ácidos nucleicos e das proteínas. Já os efeitos biológicos envolvem carcinogenicidade, mutagenicidade, teratogenicidade, hepatotoxicidade e micotoxicoses (ELLIS et al., 1991; BRADBURN e COKER, 1993).

O impacto econômico resultante da contaminação por micotoxinas ocorre em todos os níveis da produção vegetal e animal, de sua comercialização e da utilização dos produtos (KUBENA et al., 1990). A facilidade e freqüência com que as micotoxinas contaminam os produtos agrícolas, bem como a exposição de animais à dieta contaminada, podem significar a diferença entre o lucro e o prejuízo em muitas atividades da agroindústria (CHARMLEY et al., 1995; GARCIA et al., 1995).

A maioria dos fungos capaz de produzir micotoxinas está freqüentemente envolvida na contaminação de produtos agrícolas. Os alimentos são susceptíveis à invasão de fungos micotoxigênicos durante os estágios de produção, processamento, transporte e armazenamento. Os fatores mais importantes que influenciam o crescimento e a produção de micotoxinas são a umidade relativa, a temperatura, a atmosfera de armazenamento e os agentes competidores (ELLIS et al., 1991; LACEY e MAGAN, 1991).

Os fungos que crescem sobre os grãos alimentícios são classificados de acordo com CHRISTENSEN (1965) como fungos de campo, fungos de armazenamento e fungos de deterioração. Desses, o grupo mais importante após a colheita é o de armazenamento. Tais microrganismos causam maiores danos aos grãos após a colheita e durante a estocagem, principalmente os pertencentes às espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*.

O índice de contaminação com micotoxinas em lotes de milho varia conforme o período de estocagem, sendo encontrados no comércio e em carregamentos lotes de milho com níveis de umidade acima do máximo permitido pelo Ministério da Agricultura brasileiro (GLORIA, 1995).

As toxinas são freqüentemente produzidas em temperaturas sub-

ótimas para o crescimento da espécie envolvida. Estudos com *Aspergillus flavus* demonstraram que a temperatura ótima para o seu crescimento situa-se entre 29 a 35°C. A produção máxima de micotoxinas por essa espécie ocorre a 24°C, não havendo produção em temperaturas menores que 13 e maiores que 42°C (AUSTWICK e AYERST, 1963). A produção máxima de micotoxinas em meio de cultura está relacionada ao esgotamento de carboidratos fermentescíveis e com o metabolismo secundário (JARVIS, 1971). Conforme LEE, TOWNSLEY e WALDEN (1966), a presença de bário em meio de cultura inibe a produção de micotoxinas.

A severidade da presença do agente produtor de micotoxinas em determinado alimento depende da capacidade da linhagem em produzir a toxina e da existência de alguns nutrientes. O zinco, por exemplo, é requerido para a formação de micotoxinas e infecção do germe do milho. Assim, o aumento na produção da toxina pode ser influenciado por esse elemento. Entretanto, a presença de elevados níveis de fosfato pode tornar o zinco não disponível para o fungo (LACEY e MAGAN, 1991).

O objetivo desta revisão foi abordar os principais fatores físico-químicos e biológicos ligados à produção de micotoxinas.

## **2 UMIDADE E TEMPERATURA**

Os principais fungos produtores de toxinas são capazes de crescer em substrato com 13 a 18% de umidade (JARVIS, 1971). Em 1967, LOPEZ e CHRISTENSEN constataram umidade mínima de 17,5% para o desenvolvimento de *A. flavus*. Já para PUZZI (1986), a umidade mínima para o crescimento do *A. flavus* está entre 16 a 16,5%. Essa última observação foi reforçada, em 1988, por TRUCKSESS (16%). De acordo com MOSS (1991), o crescimento de fungos dessa espécie ocorre em atividade de água mínima de 0,80, a qual é observada em grãos de milho com mais de 16% de umidade.

TRENK e HARTMAN (1970) observaram produção de micotoxinas em grãos de milho 2 a 10 vezes maiores em grãos reumedecidos do que em grãos colhidos com o mesmo teor de umidade e sob as mesmas condições de armazenamento. Atribuíram o ocorrido ao fato do milho

seco promover diminuição de grande número de espécies, embora mantenha as linhagens de *Aspergillus* que conseguem sobreviver em baixa umidade. Com o reumedecimento do milho há maior incidência de *Aspergillus* do que naqueles colhidos com alta umidade e microbiota com maior diversidade e, conseqüentemente, maior probabilidade de produção de micotoxinas.

LACEY e MAGAN (1991) relataram que a umidade talvez seja o fator isolado mais importante na colonização da microbiota de grãos de cereais. Conforme o teor de umidade é possível prever o desenvolvimento de células de bactérias ou fungos, o tempo de geração, a taxa respiratória, a taxa de crescimento, a extensão do calor liberado pela respiração, a modificação de temperatura e a diversidade de microrganismos que podem crescer.

Altas temperaturas e umidade, associadas com elevada umidade relativa, foram consideradas determinantes na produção de fumonisina em grãos de milho de diferentes híbridos por fungos do gênero *Fusarium* spp (ORSI et al., 2000).

De acordo com PUZZI (1986), os grãos úmidos provocam aumento da temperatura em sua massa durante o armazenamento que pode atingir até 55°C. No caso de bactérias termófilas pode ocorrer aquecimento dos grãos em temperaturas de até 70 a 75°C.

Nos grãos úmidos, os fungos são responsáveis por grande parte da respiração. Devido ao aumento na respiração ocorre aquecimento e aumento da umidade na massa de grãos pela liberação de energia. Exemplo simplificado desse fenômeno foi descrito por LACEY e MAGAN (1991) pelo metabolismo da glicose desses microrganismos como:  $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6H_2O + 6CO_2 + 677,2 \text{ cal}$ .

Quando a liberação de energia e de água é mais rápida que a perda ocorre aquecimento do substrato e aumento da umidade externa (LACEY e MAGAN, 1991).

Estudos têm demonstrado que o teor de umidade de grãos em armazenamento pode variar em diferentes regiões da célula do silo. Assim, mesmo que os grãos tenham sido armazenados com baixos teores de umidade, algumas áreas do depósito podem apresentar níveis

de umidade maiores do que outras e favorecer o desenvolvimento de fungos em decorrência da migração de umidade (PUZZI, 1986).

Segundo CHRISTENSEN e KAUFMANN (1969), grãos de trigo armazenados com 12,2% de umidade apresentaram na época da descarga teores de 16 a 18,5% de umidade. Tais condições podem favorecer o desenvolvimento de fungos sobre grãos e por consequência resultar na produção de micotoxinas (ABELLANA et al., 1999).

### **3 AGENTES COMPETIDORES COM FUNGOS PRODUTORES DE MICOTOXINAS**

A possibilidade do uso de microrganismos antagonistas em controle biológico de doenças fúngicas de pós-colheita em frutas foi relatada por WILSON e WISNIEWSKI (1989).

Certas espécies de leveduras osmotolerantes, em particular a *Pichia guilliermondii*, são muito eficientes no controle de lesões causadas por patógenos semelhantes a *Penicillium* em apodrecimento de maçãs e citrus quando aplicadas sobre a casca da fruta (WILSON e CHALUTZ, 1989).

Inúmeros microrganismos podem aparecer em cultura mista e inibir o crescimento de *A. flavus*, bem como promover a degradação das micotoxinas (HORN e WICKLOW, 1983).

A bactéria *Flavobacterium aurantiacum* NRRL B-184 tem se mostrado efetiva na degradação de aflatoxina B1 em meio de cultivo líquido, bem como em vários alimentos como milho, amendoim, óleo de milho e leite (LINE, BRACKETT e WILKINSON, 1994). Essa degradação microbiana constitui, provavelmente, fenômeno de desmineralização (LINE e BRACKETT, 1995a e 1995b).

Microrganismos como o *A. niger*, *Fusarium solani*, *Penicillium fumiculosum* e *P. rubrum* podem apresentar ação antagônica ao *A. flavus*. O crescimento de *A. flavus* é suprimido em cultura mista com *Rhizopus stolonifer*, *R. oryzae*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Brevibacterium linens*, mas é estimulado por *Acetobacter aceti*. Nesse tipo de relação, o ritmo de eventos pode ser muito importante. Já foi

relatada inibição do crescimento de *A. parasiticus* por *Streptococcus lactis*, inoculando-o 3 dias antes do *Aspergillus*, contudo com a inoculação 3 dias após não foi observado o mesmo comportamento. A esporulação de *A. flavus* não foi afetada pelo co-cultivo com *A. niger*, entretanto a produção de micotoxinas foi inibida. Além disso, a inibição depende da relação entre *A. flavus* e *A. niger*. Na relação maior do que 19:1 micotoxinas foram sintetizadas, mas não foi observada a produção de micotoxinas na relação 9:1 (JARVIS, 1971; LACEY e MAGAN, 1991; GOURAMA e BULLERMAN, 1995a e 1995b). Segundo HORN e WICKLOW (1983) e PASTER e MENASHERON (1988), a redução na produção de micotoxinas por *A. flavus* foi atribuída ao abaixamento do pH na presença de *A. niger*. Nesse caso pode ocorrer a quelação de zinco, elemento necessário para a produção de micotoxinas.

A redução na produção de micotoxinas e inibição do crescimento de *A. flavus* em cultura mista com *A. niger*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum*, *Alternaria* spp, *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus* spp, *A. candidus*, *A. chavaliere*, *P. viridicatum*, *F. graminearum*, *Phoma* spp e *Mucor* spp foi constatada “*in vitro*” (ROY e CHOURASIA, 1990; SHANTHA, 1999; VARGA, RIGO e TERENCE, 2000).

O crescimento de *Scopulariopsis brevicaulis* tem sido relatado por reduzir a toxicidade provocada por substâncias produzidas por fungos em alimentos, quando esses são inseridos na dieta de frangos. O mecanismo ainda não está claro, porém acredita-se que possa ocorrer a degradação enzimática da toxina (HESELTEINE, 1967). Assim, o crescimento de microrganismos em sucessão ao *A. flavus* pode resultar na desintoxicação da matéria-prima da ração.

A atividade de *Fusarium moniliforme* e *F. proliferatum* em grãos é reduzida na presença de *Aspergillus flavus*, *A. niger* e *A. ochraceus* em condições de temperatura de 15°C e alta disponibilidade de água (atividade de água de 0,95 a 0,98). Por outro lado, a colonização de *Penicillium implicatum* sobre milho (nas mesmas condições) não foi afetada por co-cultura com *Fusarium* spp (MARIN et al., 1998).

De acordo com PETERSSON e SCHNÜRER (1995), o caminho para a redução dos prejuízos promovidos por fungos micotoxigênicos em silos herméticos é a introdução de organismos antagonistas. Entre os

microrganismos capazes de crescer competindo com fungos toxigênicos verificaram que a levedura *Pichia guilliermondii* apresentou maior potencial.

Em estudo conduzido com diferentes espécies de leveduras, competindo com fungos de armazenamento em silos herméticos, foi verificado que as leveduras apresentam grande habilidade para competir com a microbiota existente quando inoculadas três dias antes dos fungos. Quando inoculadas dois a três dias após os fungos foi observado o inverso, ou seja, grande crescimento desses últimos (PASTER et al., 1993).

BJÖRNBERG e SCHNÜRER (1993) observaram que a adição de  $10^8$  células de *Pichia anomala*, "in vitro", inibiu fortemente o desenvolvimento de *P. roqueforti* e *A. candidus*.

A *Pichia anomala* foi capaz de reduzir a população de fungos em grãos de cereais durante o armazenamento. A ação antagonista desse microrganismo foi atribuída à rápida taxa de crescimento e a competição por nutrientes com outros microrganismos presentes naquele meio (PETERSSON e SCHNÜRER, 1998).

#### **4 ATMOSFERA CONTROLADA EM SILOS HERMÉTICOS**

De acordo com PUZZI (1986), o princípio básico do armazenamento hermético fundamenta-se na redução da taxa de  $O_2$  em nível que cause a morte ou inativação dos fungos e dos insetos antes que proliferem a ponto de prejudicar o produto. Em decorrência do processo respiratório dos grãos e daqueles organismos ocorre redução de oxigênio do ar confinado.

Quando se eleva a concentração de  $CO_2$ , em detrimento dos níveis de  $O_2$  abaixo de 1%, pode ser observada a inibição no crescimento de fungos. O controle desse crescimento depende da manutenção de altos teores de  $CO_2$  e baixos de  $O_2$  durante o armazenamento. Também foi demonstrado que a colonização de milho torna-se mais afetada pela diminuição da atividade de água (de 1,0 para 0,7) do que pela diminuição na concentração de  $O_2$  de 21 para 1% (LACEY e MAGAN, 1991).

A microbiota característica em grãos estocados em silos herméticos

com alta concentração de CO<sub>2</sub> e baixa de O<sub>2</sub> é composta por leveduras. As espécies *Hansenula anomala*, *Candida krusei*, *Hipopichia burtonii*, *Candida glabrata* (*Torulopsis*) são predominantes. Ocasionalmente, *Hanseniaspora uvarum* (*Kloeckera apiculata*) e *Rhodotorula* spp podem ser avaliadas como agentes de biocontrole de fungos micotoxigênicos (PETERSSON e SCHNÜRER, 1998).

Gases, especialmente, CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub> podem ser adicionados em silos convenientemente vedados para alterar a atmosfera intergranular. Entretanto, muitas recomendações convenientes para o controle de insetos podem ser insuficientes para o controle de fungos (LACEY e MAGAN, 1991). Além disso, segundo PETERSSON e SCHNÜRER (1998) é difícil manter silo hermético com baixa concentração de O<sub>2</sub> e alta de CO<sub>2</sub>. O sistema é sensível às trocas de ar entre o silo e a atmosfera externa, seja por vedação imperfeita, flutuações na temperatura diária ou pela remoção de grãos do interior do silo. Assim, a adição de agente para o biocontrole do crescimento de fungos pode manter a qualidade dos grãos ao longo do armazenamento.

Em atmosfera com mais de 61,7% de CO<sub>2</sub> (ou 99,7% de N<sub>2</sub> e menos de 0,3% de O<sub>2</sub>) foi verificado atraso na deterioração de grãos de milho contaminados por *A. flavus* e *Fusarium moniliforme*, mas sem interromper seu crescimento (WILSON, HUANG e JAY, 1975). Foi observada formação de mofo sobre grãos de milho após inoculação de *A. flavus* e armazenamento durante quatro semanas em atmosfera com 61,7% de CO<sub>2</sub> + 8,7% de O<sub>2</sub> + 29,6% de N<sub>2</sub>. A produção de micotoxinas foi limitada ao máximo de 20 µg por quilo de milho, contudo a remoção da atmosfera modificada causou rápida deterioração.

Embora os fungos sejam aeróbios, normalmente o requerimento de O<sub>2</sub> é superestimado, pois são capazes de crescer em concentrações de O<sub>2</sub> muito baixas. Em massa de grãos a 15°C, o crescimento de fungos e a produção de micotoxinas são inibidos com 40% de CO<sub>2</sub>. Por outro lado, na temperatura de 30°C foi observada pequena produção de micotoxinas com 60% de CO<sub>2</sub> e menos de 1% de O<sub>2</sub> (LACEY e MAGAN, 1991).

Os fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* são os mais importantes em grãos estocados herméticamente (BJÖRNEBERG e SCHNÜRER, 1993). A estocagem em atmosfera controlada com baixo



oxigênio e alto dióxido de carbono impede o crescimento de fungos e os grãos podem ser armazenados com teor de água entre 20 e 40%, correspondente a atividade de água de 0,9 a 1,0 (LACEY e MAGAN, 1991). Entretanto, altas tensões de oxigênio são suficientes para permitir crescimento em sistemas herméticos e considerável infestação de fungos pode ocorrer, principalmente, em temperaturas favoráveis.

## 5 MEIOS PARA A IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS

Entre os fungos micotoxigênicos, nem todas as linhagens são produtoras de toxinas. Assim, é necessário o desenvolvimento de métodos que propiciem a rápida e fácil identificação das linhagens produtoras e das não-produtoras (SAITO e MACHIDA, 1999). Estudo realizado por DIERNE e DAVIS (1969), com coleção de *A. flavus*, proveniente de seis países, evidenciou que cerca de 40% das linhagens não produziram micotoxinas. Em outra ocasião, no início da década de 90, foi efetuada investigação para caracterizar linhagens de *A. flavus* toxigênicas e não-toxigênicas. Foi verificado que as linhagens produtoras apareciam com maior frequência (73,3%) do que as não-produtoras (36,7%) (BILGRAMI e CHOULDHARY, 1993).

BOTHAST e FENNELL (1974) descreveram o meio “*Aspergillus* Diferencial MEDIUM” (ADM), no qual *A. flavus* e *A. parasiticus* produziram colônias com o reverso amarelo alaranjado. Neste meio, o ingrediente essencial foi descrito como sendo o Citrato Férrico (BOTHAST e FENNELL, 1974; ASSANTE et al., 1981). A partir de novos estudos, o meio foi modificado e passou a ser chamado de “*Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* Agar” (AFPA) (PITT, HOCKING e GLENN, 1983). No final da década de 90, alguns meios utilizados tradicionalmente para o crescimento de fungos foram adaptados para a caracterização de fungos potencialmente micotoxigênicos por SAITO e MACHIDA (1999). Esses, pesquisaram diferentes linhagens de *A. flavus* e *A. parasiticus* produtores e não-produtores de aflatoxinas. Depois de inoculados em diferentes meios de crescimento com adição de 0,2 mL de vapor de amônia na parte interna da tampa das placas de petri e 5 dias de incubação notaram que as colônias mudaram de coloração, imediatamente após a adição da amônia. O mais interessante nas mudanças de coloração no reverso das colônias é que só ocorreram com as linhagens produtoras de

micotoxinas.

Segundo SAITO e MACHIDA (1999), a técnica de vapor com amônia e os meios “Potato Dextrose-Agar” (PDA), “Yeast Extract-Sucrose” (YES), “Coconut” (COA) e “Glicose-Mineral Salts” (GMS) podem ser utilizados para a identificação de fungos potencialmente aflatoxigênicos.

## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O crescimento de fungos toxigênicos e a produção de micotoxinas estão relacionados com fatores físico-químicos e biológicos.

Os principais fatores relacionados ao aparecimento de toxinas fúngicas são a umidade, a temperatura, a co-cultura, a disponibilidade de nutrientes e a atmosfera de desenvolvimento.

Certos fungos potencialmente produtores de micotoxinas podem ser identificados através de meios diferenciais específicos e condições atmosféricas controladas.

O conhecimento dos fatores ligados à produção de micotoxinas possibilita adotar medidas que reduzam a presença dessas toxinas e obter melhor aproveitamento dos alimentos.

### **Abstract**

#### ***PHYSICOCHEMICAL AND BIOLOGICAL FACTORS LINKED TO THE PRODUCTION OF MYCOTOXINS***

The aim of this literature review was to approach the favorable conditions to toxigenic fungi development, which can produce mycotoxins. The aspects described included temperature and moisture, competitors agents and growing atmosphere. The culture media for mycotoxigenic fungi identification were also aborded. It was concluded that the knowledge of the factors linked to the production of mycotoxin possibilitates the adoption of measures to reduce the toxins presence and to enhance food utilization.

***KEY-WORDS: MYCOTOXINS-GROWTH CONDITIONS; MYCOTOXIGENIC FUNGI.***

## **REFERÊNCIAS**

- 1 ABELLANA, M.; BENEDI, J.; SANCHIS, V.; RAMOS A, J. Water activity and temperature effects on germination and growth of *Eurotium amstelodami*, *E. chevalieri* and *E. herbariorum* isolates from bakery products. **Journal of Applied Microbiology**, v.87, n.3, p. 371-380, 1999.
- 2 ASSANTE, G.; CAMRADA, L.; LOCCI, R.; R.; MERLINI, L.; NASINI, G.; POPADOPOULOS, E. Isolation and structure of red pigments from *Aspergillus flavus* and related species, grown on a differential medium. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 29, p.785-787, 1981.
- 3 AUSTWICK, P.K.C.; AYERST, G. Toxic products in groundnuts: groundnuts microflora and toxicity. **Chemistry and Industry**, v.2, p.55-63, 1963.
- 4 BAPTISTA, A.S.; HORII, J.; CALORI-DOMINGUES, M. A.; GLÓRIA, E. M.; SALGADO, J. M.; VIZIOLI, M. R. Utilization of thermolysed and active yeast to reduce the toxicity of aflatoxin. **Scientia Agricola**, v.59, n.2, p.257-260, 2002.
- 5 BILGRAMI, K.S.; CHOULDHARY, A.K. Impact of habitats on toxigenic potential of *Aspergillus flavus*. **Journal of Stored Products Research**, v.29, p.351-355, 1993.
- 6 BJÖRNBERG, A.; SCHNÜRER, J. Inhibition of the growth of grain-storage molds *in vitro* by the yeast *Pichia-anomala* (hansen) kurtzman. **Canadian Journal of Microbiology**, v.39, n.6, p.623-628, 1993.
- 7 BOTHAST, R.J.; FENNEL, D.I. A medium for rapid identification and enumeration of *Aspergillus flavus* and related organisms. **Mycologia**, v.66, p.365-369, 1974.
- 8 BRADBURN, N.; COKER, R.D. Aflatoxin contamination in maize. **Tropical Science**, v.33, n.44, p.418-428, 1993.
- 9 CHARMLEY, L.L.; TRENHOLM, H.L.; PRELUSKY, D.B.; ROSEMBURG, A. Economics losses and descontamination. **Natural Toxins**, v.3, p.199-303, 1995.
- 10 CHRISTENSEN, C.M. Fungi in cereal grain and theirs products. In: WOGAN, G.N. **Mycotoxins in foodstuffs**. Massachusetts, Cambridge: Institute Technology, 1965. p. 9.
- 11 CHRISTENSEN, C.M.; KAUFMANN, H.H. **Grains storage: the role of fungi in quality loss**. Minneapolis: University of Minnesota, 1969. 153 p.
- 12 DIERNE, U.L.; DAVIS, N.D. Aflatoxin formation by *Aspergillus flavus*. In: GOLDBLATT, L.A. **Aflatoxin**. New York: Academic Press, 1969.
- 13 ELLIS, W. O.; SMITH, J.P.; SIMPSON, B.K.; OLDHAM, J.H. Aflatoxins in food: occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection, and methods of control. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.30, n.4, p.403-439, 1991.
- 14 GALVANO, F.; PIVA, A.; RITIENI, A.; GALVANO, G. Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins: a review. **Journal of Food Protection**, v. 64, n.1, p.120-131, 2001.

- 15 GARCIA, R.P.; PADILHA, M. SIDIL, B.M.; REJESUS, B.M.; GARCIA, R.P.; CHAMP, B.R.; BENGSTON, M.; DHARMAPUTA, O.S.; HALID, H. Mycotoxins and its significance in the implementation of general agreement on tariff and trade (GATT). In: SYMPOSIUM ON PEST MANAGEMENT FOR STORED FOOD AND FEED, Bogor, Indonésia. **Proceedings...** Bogor, Indonésia: Briotrop, 1995. p.33-51. (Special Publication, v.59).
- 16 GLORIA, E. M. **Ocorrência de micotoxinas, zearalenona e ocratoxina A no milho a ser utilizado como matéria-prima em indústria alimentícia do estado de São Paulo**. Piracicaba, 1995. 71 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- 17 GOURAMA, H.; BULLERMAN, L.B. Antimycotic and antiaflatoxic effect of lactic-acid bacteria: a review. **Journal of Food Protection**, v.58, n.11, p.1275-1280, 1995a.
- 18 GOURAMA, H.; BULLERMAN, L.B. Inhibition of growth and aflatoxin production of *Aspergillus-flavus* by *Lactobacillus* species. **Journal of Food Protection**, v.58, n.11, p.1249-1256, 1995b.
- 19 HESSELTINE, C.W. Aflatoxins and other mycotoxins. **Health Laboratory Science**, v.4, n.4, p.222-231, 1967.
- 20 HORN, B.W.; WICKLOW, D.T. Factors influencing the inhibition of aflatoxin production in corn by *Aspergillus niger*. **Canadian Journal Microbiology**, v.29, p.1087-1091, 1983.
- 21 JARVIS, B. Factors affecting production of mycotoxins. **Journal of Applied Bacteriology**, v.34, n.1, p.199-213, 1971.
- 22 JOFFE, A.Z. Aflatoxin produced by 1626 isolates of *Aspergillus flavus* from groundnut kernels and soils in Israel. **Nature**, v.221, p.492-492, 1969.
- 23 KUBENA, L. E.; HARVEY, R. B.; PHILLIPS, T. D.; CORRIER, D. E.; HUFF, W. E. Diminution of aflatoxicosis in growing chickens by the dietary addition of a hydrated sodium calcium aluminosilicate. **Poultry Science**, v.69, p.727-735, 1990.
- 24 LACEY, J.; MAGAN, N. Fungi in cereal grain: their occurrence and water and temperature relations. In: CHELKOWSKI, J. **Cereal grain: mycotoxins, fungi and quality in drying and storage**. Amsterdam: Elsevier Science, 1991. p. 77-118.
- 25 LEE, E.G.H.; TOWNSLEY, P.M.; WALDEN, C.C. Effect of bivalent metals on production of aflatoxins in submerged cultures. **Journal of Food Science**, v.31, n.3, p.432-436, 1966.
- 26 LINE, J.E.; BRACKETT, R.E. Factors affecting aflatoxin b-1 removal by *Flavobacterium-aurantiacum*. **Journal of Food Protection**, v.58, n.1, p.91- 94, 1995a.
- 27 LINE, J.E.; BRACKETT, R.E. Role of toxin concentration and 2nd carbon source in microbial transformation of aflatoxin b-1 by *Flavobacterium-aurantiacum*. **Journal of Food Protection**, v.58, n.9, p.1042-1044, 1995b.
- 28 LINE, J.E.; BRACKETT, R.E.; WILKINSON, R.E. Evidence for degradation of

- aflatoxin-b-1 by *Flavobacterium-aurantiacum*. **Journal of Food Protection**, v.57, n.9, p.788-791, 1994.
- 29 LOPEZ, L.C.; CHRISTENSEN, C.M. Effect of moisture content and temperature on invasion of stored corn by *Aspergillus flavus*. **Phytopathology**, v.57, p.588-590, 1967.
  - 30 MARIN, S.; SANCHIS, V.; ARNAU, F.; RAMOS, A.J.; MAGAN, N. Colonisation and competitiveness of *Aspergillus* and *Penicillium* species on maize grain in the presence of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum*. **International Journal of Food Microbiology**, v.45, n.2, p.107-117, 1998.
  - 31 MOSS, M.O. Mycology of cereal grain and cereal products. In: CHELKOWSKI, J. **Cereal grain: mycotoxins, fungi and quality in drying and storage**. Amsterdam: Elsevier Science, 1991. Cap.2, p.23-52.
  - 32 ORSI, R.B.; CORREA, B.; POSSI, C.R.; SCHAMMASS, E.A.; NOGUEIRA, J.R.; DIAS, S.M.C.; MALOZZI, M.A.B. Mycoflora and occurrence of fumonisins in freshly harvested and stored hybrid maize. **Journal of Stored Products Research**, v.36, n.1, p. 75-87, 2000.
  - 33 PASTER, N.; DROBY, S.; CHALUTZ, E.; MENASHEROV, M.; NITZAN, R.; WILSON, C.L. Evaluation of the potential of the yeast *Pichia guilliermondii* as a biocontrol agent against *Aspergillus flavus* and fungi of stored soya beans. **Mycological Research**, v.97, p.1201-1206, Part 10, 1993.
  - 34 PASTER, N.; MENASHEROV, M. Inhibition of t-2 toxin production on high-moisture corn kernels by modified atmospheres. **Applied and Environmental Microbiology**, v.54, n.2, p.540-543, 1988.
  - 35 PETERSSON, S.; SCHNÜRER, J. Biocontrol of mold growth in high-moisture wheat stored under airtight conditions by *Pichia anomala*, *Pichia guilliermondii*, and *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.61, n.3, p.1027-1032, 1995.
  - 36 PITT, J.I.; HOCKING, A.D.; GLENN, D.R. An improved medium for the detection of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*. **Journal Applied Bacteriology**, v. 54, p.109-114, 1983.
  - 37 PUZZI, D. **Abastecimento e armazenagem de grãos**. Campinas: Icea, 1986. 603 p.
  - 38 ROEBUCH, B.D.; MAXUILENKO, Y.Y. Biochemical mechanism and biological implications of the toxicity of aflatoxins as related to aflatoxin carcinogenesis. In: THE TOXICOLOGY of aflatoxins. London: Academic Press, 1994. p. 27-43.
  - 39 ROY, A.K.; CHOURASIA, H.K. Inhibition of aflatoxins production by microbial interation. **Journal of General and Applied Microbiology**, v.36, p.59-62, 1990.
  - 40 SAITO, M.; MACHIDA, S. A rapid identification method for aflatoxin-producing strains of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* by ammonia vapor. **Mycoscience**, v.40, p.205-208, 1999.
  - 41 SHANTHA, T. Fungal degradation of aflatoxin B1. **Natural Toxins**, v.7, n.5, p.175-178, 1999.

- 42 TRENK, H.L.; HARTMAN, P.A. Effects of moisture content and temperature on aflatoxin production in corn. **Applied Microbiology**, v.19, p.781-784, 1970.
- 43 TRUCKSESS, M.W.; STOLOFF, L.; MISLIVEC, P.B. Effect of temperature, water activity and other toxigenic mold species on growth of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production on corn, pinto beans and soybeans. **Journal of Food Protection**, v.51, n.5, p.361-363, 1988.
- 44 VARGA, J.; RIGO, K.; TEREN, J. Degradation of ochratoxin A by *Aspergillus* species. **International Journal of Food Microbiology**, v.59, n.2, p.1-7, 2000.
- 45 WILSON, C.L.; CHALUTZ, E. Postharvest biological control of *Penicillium* rots of citrus with antagonistic yeasts and bacteria. **Scientia Horticulturae**, v.40, p.105-112, 1989.
- 46 WILSON, C.L.; WISNIEWSKI, M.E. Biological-control of postharvest diseases of fruits and vegetables: an emerging technology. **Annual Review of Phytopathology**, v.27, p.425-441, 1989.
- 47 WILSON, D.M.; HUANG, L.H.; JAY, E. Survival of *Aspergillus flavus* and *Fusarium moniliforme* in high – moisture corn stored under modified atmospheres. **Applied Microbiology**, v.30, p.592-595, 1975.