

EFEITO DOS TRATAMENTOS TÉRMICOS SECO E ÚMIDO NOS NÍVEIS DE AFLATOXINA B₁ E OCRATOXINA A PRESENTES EM FARELO E FARINHAS CEREAIS

JACKSON LUIS MARTINS CACCIAMANI*
GISELE LOURO PERES**
JAQUELINE GARDA BUFFON*
ELIANA BADIALE-FURLONG***

Estudou-se o efeito dos tratamentos térmicos seco e úmido sobre os níveis de aflatoxina B₁ e ocratoxina A presentes simultaneamente em farelo de arroz desengordurado e farinhas integrais de trigo e aveia, utilizados para a produção de alimentos infantis. Cada amostra foi contaminada com diferentes concentrações de cada micotoxinas, (3 a 95 ppb) e os tratamentos térmicos realizados em estufa a 220°C e autoclave (121°C; 1,1 Pa man) durante 5 e 15 minutos. As micotoxinas residuais foram quantificadas, após confirmação por derivação química, conforme o multimétodo de cromatografia em camada delgada. Os tratamentos térmicos e os tempos de exposição ocasionaram diminuição nos níveis das micotoxinas a valores inferiores aos limites de detecção em 45 e 64% das condições estudadas para a aflatoxina B₁ e ocratoxina A, respectivamente. O farelo de arroz desengordurado foi mais susceptível à descontaminação pelo calor úmido, enquanto as farinhas pelo calor seco.

PALAVRAS-CHAVE: MICOTOXINAS; CEREAIS; CALOR SECO; CALOR ÚMIDO.

* Discentes do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Fundação Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, RS (e-mail: jgarda@bol.com.br; jaquelinegarda@yahoo.com.br).

** Graduada em Química, bolsista de Apoio Técnico do Programa do CNPq.

*** Professora, Departamento de Química, Laboratório de Micotoxinas, FURG, Rio Grande, RS (e-mail: dqmebf@super.furg.br).

1 INTRODUÇÃO

Diversos programas visando o fornecimento de nutrientes à população infantil vem sendo incentivados por órgãos públicos de saúde e de ensino. Pode-se observar a clara predominância de formulações e receitas a base de farinhas e farelos de cereais nos cardápios elaborados nesses programas. A justificativa para tal fato reside no aporte de nutrientes, na aceitabilidade e custo acessível, além da facilidade de preparo e conservação (AMÂNCIO, et al., 1995; KENT, 1984; LEMOS SOARES, 2000). A literatura mostra que esses insumos são susceptíveis à contaminação aleatória por fungos e micotoxinas, fato que vem nortando diversas estratégias de monitoramento e emprego de procedimentos para descontaminação dos derivados de cereais destinados ao consumo humano e de animais de criação. Mesmo em baixas concentrações, o consumo freqüente desses contaminantes expõe a população a danos crônicos nem sempre associados as causas (DADALT, SOUZA-SOARES e BADIALE-FURLONG, 1997; FONSECA, 1994; HOSENEY, 1991; SCOTT, 1984).

Os procedimentos para degradar micotoxinas devem conservar o valor nutritivo do alimento, não alterar as propriedades tecnológicas das matérias-primas e dos produtos, além de não gerar resíduos tóxicos (TFOUNI, 2001; CAZZANIGA et al., 2001; ATHIË e CASTRO, 1998; ELEY, 1994; FONSECA 1994; SCOTT 1984).

Estudos de descontaminação vem demonstrando que os diferentes grupos de micotoxinas são resistentes a temperaturas entre 100 e 210°C, ou seja, temperaturas verificadas durante os processos industriais ou domésticos de preparo de alimentos. As temperaturas atingidas em fervura e fritura, que giram em torno de 100 e 150°C, também raramente contribuem para destruição total de micotoxinas (YOSHIZAWA, 2001; MILANEZ e LEITÃO, 1996; SOARES e FURLANI, 1996; FONSECA, 1994; HOSENEY, 1991; SCOTT, 1984). Temperaturas superiores, estudadas por outros autores, foram mais eficientes na degradação gradual dessa micotoxina e o tempo de exposição também contribuiu para esse resultado (PRONIK et al., 2005; HAZEL e PATEL, 2004; FOULER et al., 1994; KAMIMURA, 1999).

As farinhas e farelos de cereais são usadas em produtos de panificação, multimistura e em formulação de ração animal. Em todos os casos, as temperaturas de preparo variam conforme a necessidade do produto final (KENT, 1984). Para produção de biscoitos e bolachas, as temperaturas recomendadas são elevadas (acima de 200°C) em intervalos curtos de tempo (entre 5 e 15 minutos). Para o preparo de pães e bolos, as temperaturas são similares, porém os tempos são maiores e as condições de umidade final diferentes (HOSENEY, 1991; KENT, 1984; OSBORNE, 1982). As micotoxinas mais estudadas e detectadas nesse tipo de matéria-prima são a aflatoxina B₁ (AFA B₁) e ocratoxina A (OTA), responsáveis por efeitos carcinogênicos e nefrotóxicos respectivamente (NUNES et al., 2003; YOSHIZAWA, 2001; SOARES e FURLANI, 1996; DADALT, SOUZA-SOARES e BADIALE-FURLONG, 1997; ELEY, 1994)

Visando contribuir com estratégias que limitem o risco de contaminação crônica da população jovem ou adulta pelo consumo de produtos formulados com farinhas e farelos cereais, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito dos tratamentos térmicos seco (estufa a 220°C) e úmido (autoclave a 121°C 1,1 Pa man) sobre AFA B₁ e OTA presentes simultaneamente em farelo de arroz desengordurado e farinhas integrais de trigo e aveia.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O farelo de arroz desengordurado (FAD) e as farinhas integrais de trigo (FTI) e de aveia (FAI) foram adquiridos em lojas de produtos naturais e em empresas processadoras de cereais da cidade do Rio Grande (RS). As amostras foram homogeneizadas em moinho de facas, buscando-se obter granulometria de 32 mesh.

Para avaliar a ocorrência de AFA B₁ e OTA nas amostras empregou-se o multimétodo de

cromatografia em camada delgada (CCD), descrito por SOARES e RODRIGUEZ AMAYA (1989), previamente avaliado quanto a sua recuperação, limite de quantificação, linearidade e repetibilidade. Os extratos das amostras suspeitas foram submetidos aos testes de confirmação química, segundo a recomendação de GILBERT (1999 a e b) e SOARES e RODRIGUEZ AMAYA (1989).

As amostras de farelo de arroz desengordurado foram contaminadas artificialmente com soluções-padrão de micotoxinas de modo que contivessem simultaneamente 10, 15, 20 e 24 ng/g de AFA B₁ e 38, 57, 76 e 95 ng/g de OTA. As farinhas foram contaminadas com 3, 7, 10 e 13 ng/g de cada micotoxina. Antes da realização dos tratamentos térmicos, o farelo e as farinhas contaminadas permaneceram em temperatura ambiente (25°C) durante 24h para permitir a evaporação dos solventes.

Para estudar o efeito do tratamento térmico seco, as amostras contaminadas foram espalhadas em bandejas de alumínio de forma que a camada de particulados tivesse 1 cm de espessura em toda a extensão do recipiente. Os tratamentos foram realizados em estufa a 220°C durante 5 e 15 minutos para cada conjunto de variação de concentração dos contaminantes.

Avaliou-se o efeito do calor úmido nas amostras contaminadas, dispostas em frascos erlenmeyer de 250 mL tampados com buchas de algodão, sendo a camada de farelo ou farinhas espalhada uniformemente na espessura de 1 cm. Os recipientes foram autoclavados a 121°C (1,1 Pa man) durante 5 e 15 minutos.

As combinações de tempo, temperatura e nível de contaminação somaram 16 experimentos para cada tipo de derivado cereal, os quais foram realizados em triplicata e repetidos em duas bateladas.

Os níveis de micotoxinas residuais foram quantificados pelo mesmo procedimento do multimétodo (CCD), após confirmação química, por comparação visual entre a fluorescência sob luz ultra-violeta dos padrões das toxinas e das amostras em estudo (SOARES e RODRIGUEZ AMAYA, 1989). Cada leitura comparativa foi realizada por três avaliadores treinados e independentes que desconheciam o tipo de tratamento sofrido pelas amostras.

Os resultados dos percentuais de degradação das micotoxinas foram avaliados estatisticamente, usando-se o software Statistica (STATSOF, 2002) no modo ANOVA/MANOVA.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A triagem da ocorrência de AFA B₁ e OTA no farelo de arroz desengordurado e nas farinhas integrais de trigo e de aveia, usadas neste trabalho, não evidenciou contaminação detectável nos lotes amostrados. Tal característica foi determinante para a escolha das amostras, pois permite a avaliação da co-ocorrência dessas toxinas (nos níveis mais freqüentemente mencionados pela literatura) de forma padronizada e homogênea.

O método de SOARES e RODRIGUEZ-AMAYA (1989) aplicado às matérias-primas em estudo apresentou os indicativos de mérito especificados na Tabela 1.

O farelo de arroz desengordurado foi contaminado com níveis em torno de 4, 6, 8 e 10 vezes superiores ao limite de quantificação do método escolhido para a determinação das micotoxinas em estudo. As farinhas foram contaminadas com níveis que variaram desde 1,5 até 6 vezes o limite de quantificação para a AFA B₁ e 3 vezes o de OTA. Nos dois casos, as escolhas foram norteadas pela observação das concentrações mais freqüentemente encontradas em levantamentos realizados pelo Laboratório de Micotoxinas da Fundação Universidade Federal do Rio Grande (FURG) e em relatos da literatura (NUNES et al., 2003; GARDA e FURLONG, 2003; YOSHIZAWA, 2001; DADALT, SOARES-SOUZA, BADIALE-FURLONG, 1997; SOARES e FURLANI, 1996).

As condições escolhidas para o tratamento térmico em estufa (220°C/5 e 15 minutos) corresponderam àquelas usualmente empregadas no forneamento de biscoitos a base de insumos de cereais integrais (ATHIÉ, 1998; KENT, 1984; OSBORNE, 1982). Nas condições de uso doméstico ou de preparo de merendas dificilmente essas temperaturas são atingidas ou mantidas constantes.

TABELA 1 - INDICATIVOS DE MÉRITO DO MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE MICOTOXINAS

Indicativos de mérito	Aflatoxina B₁	Ocratoxina A
Recuperação média (%)	89	74
LQ de FAD (ppb)	2,5	9,5
LQ de FTI e FAI (ppb)	2,0	5,0
Linearidade FAD (ppb)	2,5 a 18	9,5 a 35
Linearidade FTI e FAI	2,0 a 25	5,0 a 35
Repetibilidade (CV%)	9,2	7,6

LQ = limite de quantificação; FAD = farelo de arroz desengordurado; FAI = farinha integral de aveia; FTI = farinha integral de trigo; CV = coeficiente de variação.

Após os tratamentos térmicos seco e úmido em diferentes tempos, as amostras apresentaram os níveis residuais de micotoxinas descritos na Tabela 2. Os coeficientes de variação dos resultados obedeceram os valores encontrados para a repetibilidade do método (9,2 e 7,8, respectivamente para AFA B₁ e OTA). Cabe também salientar que os valores de contaminação residual foram determinados após os procedimentos de confirmação química, pois o tratamento térmico gera interferentes decorrentes de reações de Maillard e/ou caramelização.

TABELA 2 - NÍVEIS INICIAIS E RESIDUAIS MÉDIOS DE AFLATOXINA B₁ E OCRATOXINA A NAS AMOSTRAS DE FARELO E FARINHAS TRATADOS TERMICAMENTE

	INICIAL		220°C / 5'		220°C / 15'		121°C / 5'		121° C / 15'	
	AFA	OTA	AFA	OTA	AFA	OTA	AFA	OTA	AFA	OTA
FAD	10	38	ND	ND	ND	ND	4,9	19,4	ND	18,2
FAD	15	57	4,9	29	ND	ND	6,2	29,0	ND	29,1
FAD	20	76	7,4	27	ND	ND	7,4	38,0	7,0	27,3
FAD	25	95	18,0	36	ND	ND	9,8	46,0	10	39,5
FTI	3	3	d	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
FTI	7	7	ND	ND	ND	ND	2,0	ND	ND	ND
FTI	10	10	7,0	ND	ND	ND	4,8	ND	1,4	ND
FTI	13	13	9,4	ND	9,0	ND	10,3	10,0	5,4	18,3
FAI	3	3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
FAI	7	7	ND	ND	ND	ND	4,1	ND	ND	ND
FAI	10	10	5,0	ND	6,1	ND	4,0	8,0	3,4	ND
FAI	13	13	7,0	ND	8,2	ND	5,6	9,4	3,0	9,0

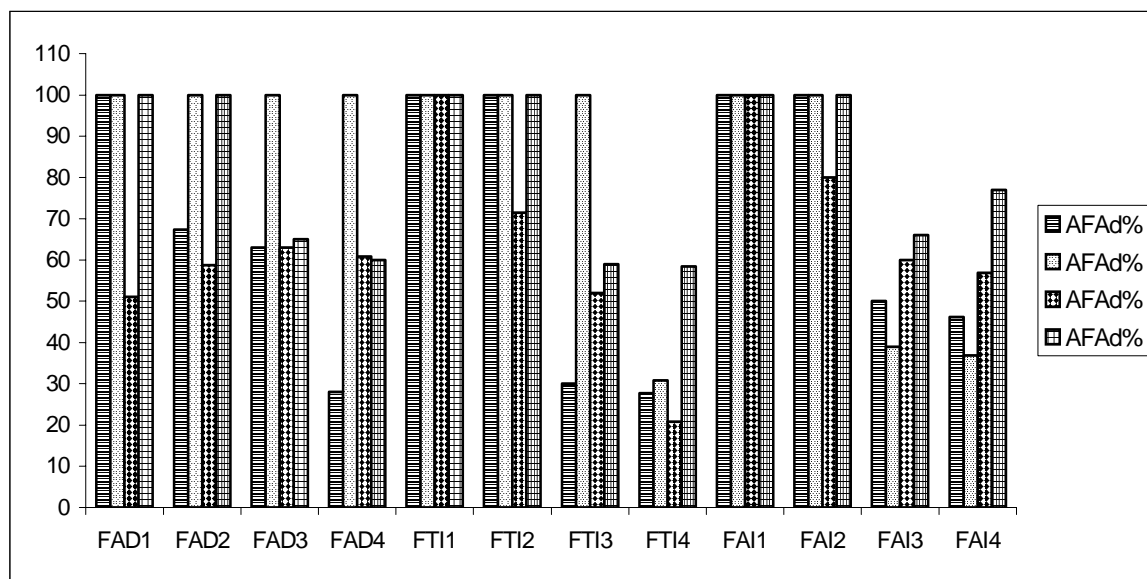
AFA = aflatoxina B₁; OTA = ocratoxina A;

FAD = farelo de arroz desengordurado; FTI = farelo de trigo integral; FAI = farinha de aveia integral;

ND = não-detectado; níveis detectados em ppb.

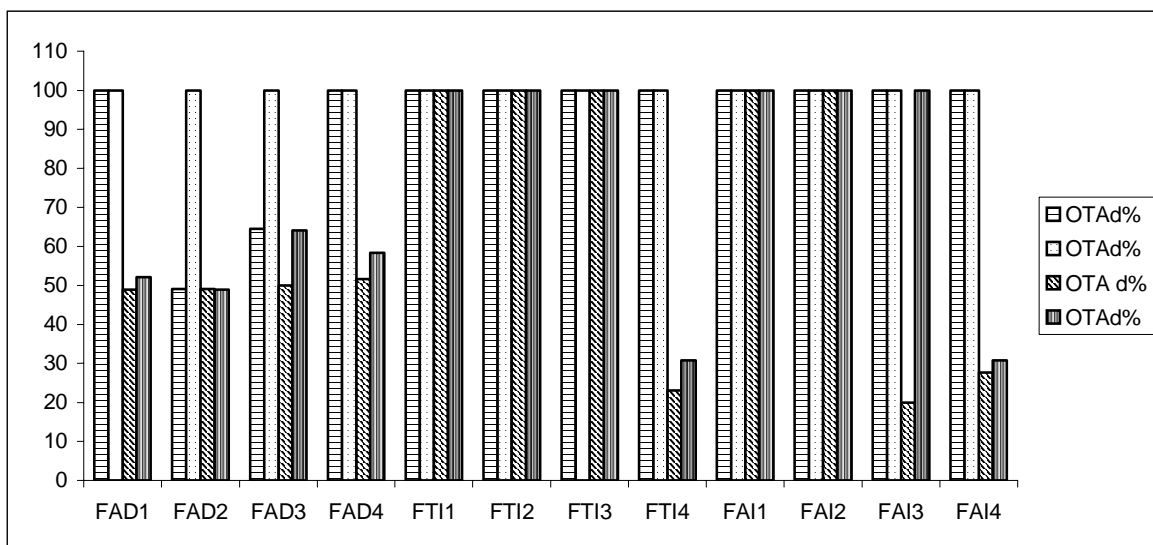
Os percentuais de degradação das micotoxinas foram estimados pela diferença entre os níveis iniciais dos contaminantes e os residuais determinados após os tratamentos (Figuras 1 e 2).

FIGURA 1 - PERCENTUAL DE DESCONTAMINAÇÃO DE AFA B₁ PELOS TRATAMENTOS TÉRMICOS SECO E ÚMIDO



FAD = farelo desengordurado; FTI = farinha de trigo integral; FAI = farinha de aveia integral; 1 = estufa a 220°C por 5 min; 2 = estufa a 220°C por 15 min; 3 = autoclave a 121°C por 5 min; 4 = autoclave a 121°C por 15 min.

FIGURA 2 - PERCENTUAL DE DESCONTAMINAÇÃO DE OTA PELOS TRATAMENTOS TÉRMICOS SECO E ÚMIDO



FAD = farelo desengordurado; FTI = farinha de trigo integral; FAI = farinha de aveia integral; 1 = estufa a 220°C por 5 min; 2 = estufa a 220°C por 15 min; 3 = autoclave a 121°C por 5 min; 4 = autoclave a 121°C por 15 min.

Os percentuais de degradação foram avaliados estatisticamente e os efeitos dos fatores tempo, condições térmicas, nível inicial de contaminação e suas significâncias (95%) estão apresentados na Tabela 3. Verificou-se que quanto maiores os níveis de contaminação menores os percentuais de degradação, independente do tipo de matriz, e que quanto maior o tempo de tratamento térmico maior a degradação.

A OTA foi mais susceptível à degradação quando submetida ao tratamento térmico úmido, constatando-se teores inferiores ao limite de detecção em 64% dos experimentos conduzidos. A AFA B₁ não foi detectada em 45% dos experimentos.

No farelo de arroz desengordurado, a aplicação de calor úmido reduziu os níveis de AFA B₁ apenas quando a contaminação inicial era menor ou igual a 15 ppb e o tratamento foi aplicado durante 15 minutos. Nas farinhas integrais de trigo e de aveia, os níveis de degradação foram diminuídos significativamente pelo calor seco.

O calor úmido não se mostrou eficiente para todas as matrizes estudadas. Situação diferente dos relatos de KAMIMURA (1999), PARK et al. (1998) e YOSHIZAWA (2001), que mencionam maior eficiência de tratamentos térmicos em condições de umidade elevada.

MILANEZ e LEITÃO (1996) também relatam a possibilidade de desgradar OTA em feijão, antes e depois do encharcamento, mediante cozimento a 115°C sob pressão (13 Psi) durante 45 min, encontrando índices de descontaminação de 95% para as amostras de feijão cozidas após o encharcamento.

SCOTT (1991) verificou que o cozimento de arroz sob pressão com água em excesso degradou cerca de 73 e 82% de AFA B₁. No mesmo trabalho, 76% dos níveis de contaminação inicial de OTA foram degradados em amostras de farinhas submetidas a 250°C por 40 minutos.

TABELA 3 – EFEITO DOS FATORES TRATAMENTO TÉRMICO E TEMPO NA DEGRADAÇÃO PERCENTUAL DAS MICOTOXINAS

Tipo de amostra	Fatores	AFA		OTA	
		Efeito	P	Efeito	P
FAD	Média	43,82	0,1786	59,96	0,0000
	(1)Contaminação	31,65	0,6089	-29,56	0,0003
	(2)Tempo (min)	86,6	0,1833	21,93	0,0018
	(3)Tratamento	-60,60	0,3379	-47,63	0,0000
	1 x 2	-45,9	0,4624	19,30	0,0038
	1 x 3	61,90	0,3282	2,89	0,5620
	2 x 3	46,35	0,4580	-10,53	0,0590
FTI	Média	67,21	0,0000	82,40	0,0000
	(1)Contaminação	-65,58	0,0000	-35,19	0,0000
	(2)Tempo (min)	10,19	0,0122	3,62	0,2455
	(3)Tratamento	5,19	0,1397	-35,19	0,0000
	1 x 2	10,19	0,0123	3,27	0,2455
	1 x 3	5,19	0,1397	-35,19	0,0000
	2 x 3	8,65	0,0257	3,26	0,2455
FAI	Média	76,15	0,0000	82,31	0,0000
	(1)Contaminação	-47,69	0,0000	-35,38	0,0000
	(2)Tempo (min)	4,61	0,0615	0,77	0,7404
	(3)Tratamento	14,62	0,0001	-35,38	0,0000
	1 x 2	4,61	0,0615	0,7692	0,7404
	1 x 3	14,62	0,0001	-35,38	0,0000
	2 x 3	5,38	0,0350	0,77	0,7404

AFA = aflatoxina B₁; OTA = ocratoxina A; FAD = farelo de arroz desengordurado; FTI = farelo de trigo integral; FAI = farinha de aveia integral.

Menores temperaturas e tempos de exposição resultaram na diminuição dos níveis residuais em 74% dos experimentos realizados, indicando que os fatores que determinam a degradação de micotoxinas estão relacionados de maneira complexa e que granulometria e composição podem compor tais interações. Nessa linha, FOULER (1994) estudou a possibilidade de descontaminação da aflatoxina B₁, ocratoxina A, zearalenona e deoxinivalenol mediante tratamento térmico associado com

H₂O₂ em meio alcalino. Demonstrou que apenas a temperatura não ocasionava descontaminação e que havia necessidade de outras associações.

Os resultados alcançados são promissores em razão de diminuir as concentrações de micotoxinas para valores inferiores aos limites de quantificação do método e aos permitidos pelas legislações nacional e internacional. Além disso, condições semelhantes às avaliadas são exequíveis em ambientes domésticos ou industriais de preparo de alimentos.

4 CONCLUSÃO

Os tratamentos térmicos seco e úmido e os tempos de exposição ocasionaram diminuição nas concentrações iniciais de AFA B₁ e OTA a valores inferiores aos limites de detecção, respectivamente em 45 e 64% das condições estudadas.

O farelo de arroz desengordurado foi mais susceptível à descontaminação pelo calor úmido, enquanto que as farinhas pelo calor seco. A ocratoxina A foi a micotoxina mais susceptível à degradação.

ABSTRACT

THE EFFECT OF DRY AND WET THERMAL TREATMENT ON LEVELS OF AFLATOXIN B₁ AND OCHRATOXIN A PRESENT IN BRAN AND WHOLEMEAL CEREAL

The effect of dry and wet thermal treatment was studied on levels of aflatoxin B₁ and ochratoxin A contaminating simultaneously defatted rice bran, wholemeal wheat and wholemeal oat, employed in the production of baby food. Each sample was artificially contaminated with different concentrations of each mycotoxins (3 to 95 ppb) and the thermal treatments were carried out in oven at 220°C and autoclave (121°C; 1,1 Pa man) during 5 and 15 minutes. The residual mycotoxins were quantified, after confirmation by chemical derivation, as thin layer multimethod. The thermal treatments and exposure time decreased the levels of mycotoxins until levels lower than the detection limits in 45 and 64% of the studied condition for aflatoxin B₁ and ochratoxin A respectively. The defatted rice bran was best decontaminated by the wet thermal treatment and the wholemeal by dry treatment.

KEY-WORDS: MICOTOXINS; CEREALS; DRY THERMAL TREATMENT; WET THERMAL TREATMENT.

REFERÊNCIAS

- 1 AMÂNCIO, M. S.; LAJOLO, F.M; SANTORO, M; NÓBREGA, F.J; QUEIROZ, S.S; AMAYA-FARFAN J. Recuperação nutricional de grupos populacionais de baixa renda: análise crítica. **Cadernos de Nutrição**, São Paulo, v.9, p.1-4, 1995.
- 2 ATHIÉ, I.; CASTRO, M.F.P.M., **Conservação de grãos**. Campinas: Fundação Cargill, 1998, p. 1 - 43.
- 3 CAZZANIGA, D.; BASILICO, J.C.; GONZALEZ, R.J.; TORRES, R.L. Mycotoxins inactivation by extrusion cooking of corn flour. **Letters in Applied Microbiology**, v.33, n.2, p. 144-147, 2001.
- 4 ELEY, R. **Intoxicaciones alimentarias de etiologia microbiana**. Zaragoza (Espanha): Editorial Acribia, 1994. p. 10-81.
- 5 DADALT, G.; SOUZA-SOARES, L. A. ; BADIALE – FURLONG, E. Aflatoxinas, ocratoxina A e zearalenona em alimentos da Região Sul do Rio Grande do Sul. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 58, n.2, p. 105-111, 1999.
- 6 FONSECA, H. Aflatoxin removal from peanut meals with commercial aqueous ethyl alcohol. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.25, n.2, p. 101–106, 1994.
- 7 FOULER, S.G. Detoxification of citrinin and ochratoxin A by hydrogen peroxide. **Journal of AOAC International**, v. 77, n. 3, p.631–637, 1994.
- 8 GILBERT, J. Recent advances in analytical methods for mycotoxins. **Food Additives and Contaminants**, v.10, n. 1, p. 37-48, 1999a.

- 9 GILBERT, J. Quality assurance in mycotoxin analysis. **Food Additives and Contaminants**, v.10, n.1, p. 49-54, 1999b.
- 10 HAZEL, C.M.; PATEL, S. Influence of processing on trichothecenes levels. **Toxicology Letters**, v. 152, p. 51-59, 2004.
- 11 HOSENEY, R. C. **Princípios de ciência e tecnologia de los cereales**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1991. 246 p.
- 12 KAMIMURA, H. Removal of mycotoxins during food processing. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF MYCOTOXICOLOGY '99. MYCOTOXIN CONTAMINATION: HEALTH RISK AND PREVENTION PROJECT. **Proceeding...** Chiba (Japan), 1999, 278 p.
- 13 KENT, N.L. **Technology of cereals**. 3rd ed. Oxford: Pergamon Oxford Press, 1984. 221 p.
- 14 LEMOS, M. R. B.; SOARES, L. A. Arroz e seus produtos e subprodutos na Região Sul do Brasil. **Vetor**, Rio Grande, v.10, p. 21-36, 2000.
- 15 MILANEZ, T. V.; LEITAO, F. F. The effect of cooking on ochratoxin A content of beans, variety 'carioca'. **Food Additives and Contaminants**, v.13, n. 1, p.89-93, 1996.
- 16 NUNES, I.L.; MAGAGNI, G.; BADIALE-FURLONG, E. Arroz comercializado na região sul do Brasil: aspectos micotoxicológicos e microscópicos. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.2, p. 90-194, 2003.
- 17 OSBORNE, B.G. Mycotoxins and the cereals industry: a review. **Journal Food Technology**, v. 17, p. 1-9, 1982.
- 18 PARK, D. Review of the decontamination of aflatoxins by ammoniation: current status and regulation. **Journal Association of Analytical Chemistry**, v. 71, n. 4, p. 685-703, 1998.
- 19 PRONIK, C.; CENKOWSKI, S.; ABRANSOM, D. Superheated steam reduction of deoxynivalenol in naturally contaminated wheat kernels. **Food Control**, v. 17, n. 10, p. 789-796, 2006.
- 20 SCOTT, P. M. Effects of food processing on mycotoxins. **Journal of Food Protection**, v. 47, n.6, p. 489-499, 1984.
- 21 SOARES, L. M. V.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and sterigmatocystin in some Brazilian foods by using multi-toxin thin-layer chromatographic method. **Journal Association of Official Analytical Chemists**, v. 72, n. 1, p. 22-26, 1989.
- 22 SOARES, L.M.V.; FURLANI, R.P.Z. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and sterigmatocystin in health foods and breakfast cereals commercialized in the city of Campinas, São Paulo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 16, n.2, p. 126-129, 1996.
- 23 STATSOFT INC. **Statistica student version**. Tulsa, 2002. Versão 5.1.
- 24 TFOUNI, S.A.V.; TOLEDO, M.C.F. Conservadores ácido benzóico e ácido sórbico: uma revisão. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência de Alimentos**, v.35, n.1/2, p.41-53, 2001.
- 25 YOSHIZAWA, T. Control of Mycotoxins. In: TEXTBOOK for Country Focused Training Course: mycotoxin analysis for Federative Republic of Brazil. Hyogo: International Centre Japan International Cooperation Agency, 2001, 70 p.