



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS V - MINISTRO ALCIDES CARNEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SOCIAIS APLICADAS - CCBSA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

CAMILA GRISI CORREIA PONTES

**IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS CONTAMINANTES EM
FARINHA DE MANDIOCA (*Manihot esculenta* CRANTZ)**

JOÃO PESSOA – PB
2012

CAMILA GRISI CORREIA PONTES

**IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS CONTAMINANTES EM
FARINHA DE MANDIOCA (*Manihot esculenta* CRANTZ)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Bacharelado em Ciências
Biológicas da Universidade Estadual da
Paraíba, em cumprimento à exigência para
obtenção do grau de Bacharel em Ciências
Biológicas

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Beatriz Susana Ovruski
de Ceballos

Co-orientadora: Prof^ª Dr^ª Edeltrudes de
Oliveira Lima

JOÃO PESSOA – PB
2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA SETORIAL CAMPUS V – UEPB

P814i Pontes, Camila Grisi Correia.
Identificação de fungos contaminantes em farinha de mandioca
(Manihot esculenta CRANTZ) / Camila Grisi Correia Pontes. –
2012.
37f. : il. Color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biologia) –
Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e
Sociais Aplicadas, Curso de Biologia, 2012.

“Orientação: Profa. Dra. Beatriz Susana Ovruski de Ceballos,
Curso de Biologia”.

1. Fungos. 2. Fungos contaminantes. 3. Farinha de mandioca. 4.
Micotoxina. I. Título.

21. ed. CDD 579.5

CAMILA GRISI CORREIA PONTES

IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS CONTAMINANTES EM FARINHA DE MANDIOCA (*Manihot
esculenta* CRANTZ)

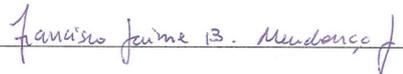
Aprovado em 23 de 11 de 2012

BANCA EXAMINADORA



Prof.^a Dr.^a Beatriz Susana Ovruski de Caballos

Orientadora



Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Júnior

Examinador



Prof. Dr. Ênio Wocyli Dantas

Examinador

Ao meu pai Luis Eduardo e minha mãe Elizabeth

AGRADECIMENTOS

À Prof^a Dr^a Beatriz Ceballos, nossa Bia, pela dedicação e paciência durante o desenvolvimento desse trabalho.

À Prof^a Dr^a Edeltrudes, por disponibilizar pacientemente seu tempo e laboratório de micologia na coorientação desse projeto, sempre deixando claro “não pegar aluno de graduação”.

Aos meus colegas de sala, Jander, Elis, Natalina e Randson, por terem sido peças essenciais no meu amadurecimento como discente.

Às minhas amigas Thaís, Laryssa e Milena, por fazerem da minha graduação os melhores anos da minha vida.

Ao meu noivo Glenio Filho, pelo amor dedicado a mim e paciência infinita com meu estresse diário durante a realização desse trabalho, me ajudando na aquisição das amostras, carregando farinha pra lá e pra cá.

Aos meus irmãos, Felipe e Mozart, pelo exemplo de profissionais que são, dedicando-se de corpo e alma àquilo em que atuam.

A todos que participaram direta e indiretamente do desenvolvimento desse projeto, muito obrigada.

'Would you tell me, please, which way I ought to go from here?'

'That depends a good deal on where you want to get to,' said the Cat.

'I don't much care where —' said Alice.

'Then it doesn't matter which way you go,' said the Cat.

'— so long as I get somewhere,' Alice added as an explanation.

'Oh, you're sure to do that,' said the Cat, 'if you only walk long enough.'

Alice felt that this could not be denied, so she tried another question. 'What sort of people live about here?'

'In that direction,' the Cat said, waving its right paw round, 'lives a Hatter: and in that direction,' waving the other paw, 'lives a March Hare. Visit either you like: they're both mad.'

'But I don't want to go among mad people,' Alice remarked.

'Oh, you can't help that,' said the Cat: 'we're all mad here.'

IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS CONTAMINANTES EM FARINHA DE MANDIOCA (*Manihot esculenta* CRANTZ)

PONTES, Camila Grisi Correia¹

RESUMO

A mandioca (*Manihot esculenta* CRANTZ) é um arbusto da família Euphorbiaceae. O baixo custo da produção aliado à facilidade de cultivo da planta e sua resistência a doenças e a variações climáticas fazem com que a mandioca seja considerada “o pão dos trópicos”. A farinha de mandioca é um dos principais produtos obtidos a partir dessa raiz. Produzida artesanalmente em pequenas unidades fabris denominadas casas da farinha, onde nem sempre se dá a devida atenção aos aspectos sanitários, a farinha pode apresentar-se como veículo potencialmente propagador de agentes contaminantes patogênicos. O presente trabalho avaliou a ocorrência de fungos contaminantes em farinhas de mandioca comercializadas na cidade de João Pessoa - PB. Foram encontradas 7 variedades de fungos distribuídos em 8 das 12 amostras coletadas. A predominância observada de espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Pencillium* configura-se como um evento relevante considerando que estes gêneros estão envolvidos na problemática da produção de micotoxinas. *Aspergillus flavus*, produtor da aflatoxina, cuja ingestão através de alimentos contaminados pode provocar quadros de hepatite aguda, esteve presente em todos os locais de coleta. Em relação à quantificação fúngica, 33,4% das amostras apresentaram uma concentração de UFC/g acima do tolerável pela Secretaria de Vigilância Sanitária, caracterizando o produto como potencialmente prejudicial à saúde do consumidor.

PALAVRAS-CHAVE: *Aspergillus*. Farinha de Mandioca. Fungo. Micotoxina.

¹ Graduanda do curso de Ciências Biológicas, UEPB, Campus V. Email para contato: camilagrisi@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta* CRANTZ) é um arbusto da família das euforbiáceas, originária da América do Sul, cuja raiz pode ser utilizada para o preparo de diversos alimentos destinados ao consumo humano, como farinhas cruas ou torradas, polvilho e farofas além de aditivo na fabricação de embutidos, balas, bolachas, sobremesas, sopas e pão. Aliada a isso, a facilidade de cultivo da planta e sua resistência a doenças e a variações climáticas fazem com que a mandioca seja considerada “o pão dos trópicos”, principalmente para as comunidades mais desfavorecidas social e economicamente. Entre todas as culturas, a mandioca é apontada por diversos estudos científicos como a de mais alta produtividade de calorias, a de maior eficiência biológica como produtor de energia e a de melhor adaptação a solos deficientes em nutrientes. Além disso, a raiz pode ser utilizada também para o consumo animal na produção de rações (CATÃO, 1999; SEBRAE, 2009; DÓSEA *et al.*, 2010; NASSAR, 2006 *apud* SILVA *et al.*, 2012).

Apesar de não possuir uma participação expressiva no mercado externo da mandioca, o Brasil está entre os principais produtores mundiais, ocupando a segunda posição. A maior parte da produção brasileira é consumida internamente. Em 2005, foram produzidas 25,9 milhões de toneladas, o que corresponde a cerca de 13% da produção mundial. A produtividade, porém, é baixa (em torno de 12 toneladas por hectare). São também altas as perdas na comercialização, devido à alta perecibilidade do produto, que deve ser utilizado em um a três dias após a colheita (DÓSEA *et al.*, 2010; CATÃO, 1999; SEBRAE, 2006a).

A farinha de mandioca se constitui em um dos produtos mais importantes obtidos a partir dessa raiz. É um alimento rico em carboidratos e seu uso é muito difundido por todo Brasil, possuindo largo consumo principalmente no Nordeste, região responsável por cerca de 40% da produção nacional (SEBRAE, 2006b).

No estado da Paraíba e na maioria dos estados nordestinos, a farinha de mandioca é produzida de forma artesanal em pequenas unidades fabris denominadas casas de farinha, onde nem sempre se dá a devida atenção aos aspectos sanitários. Tal negligência pode ser também observada no transporte da farinha e em sua venda nas feiras livres. Dessa forma, estes produtos podem apresentar-se como veículos potencialmente propagadores de agentes contaminantes patogênicos, comprometendo a qualidade de um dos alimentos mais tradicionais da mesa do nordestino (SOUZA, 2003).

Os fungos estão entre os principais contaminantes desse alimento. A contaminação fúngica da mandioca pode acontecer desde o momento da colheita, durante o processamento, embalagem, transporte, até a estocagem e por diversos meios, como o solo, água ou ar (NETO *et al.*, 2004). A razão de tal sucesso da propagação dos fungos pode estar atribuída a sua reprodução por esporos, estruturas leves, de fácil transporte e elevada resistência às oscilações de temperatura.

Segundo Cardoso *et al.* (1985), a microbiota fúngica da farinha de mandioca é constituída em sua maioria por bolores dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, fungos do ar, cosmopolitas e bem adaptados ao crescimento em substratos sólidos com baixo teor de água. As principais fontes de contaminação são o uso de equipamentos sujos contendo resíduos acumulados, falta de higiene do local de trabalho e falta de asseio do operário. Também os moinhos contendo resíduos de moagens anteriores contaminam os produtos que por eles passam e, assim, são obtidas farinhas misturadas com elementos estranhos e sujidades (DECANIO, 1971 *apud* CATÃO, 1999).

Dentre os fatores que podem influenciar a contaminação fúngica, destacam-se o teor de umidade, a temperatura, as condições climáticas, as condições sanitárias da farinha, o nível de inoculação do fungo e a invasão por insetos, que podem iniciar ou agravar o desenvolvimento dos fungos, já que sua atividade metabólica tende a aumentar o teor de umidade e a temperatura do substrato invadido (LÁZZARI e MÁRCIA, 1998).

A preocupação com a presença de fungos contaminantes nos alimentos vem de que alguns desses organismos, especialmente espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, podem produzir micotoxinas, metabólitos secundários sintetizados no final da fase exponencial do crescimento, capazes de induzir efeitos carcinogênicos, hepatotóxicos e mutagênicos. Estudos conduzidos no Brasil têm comprovado que muitos alimentos, rações e ingredientes diversos apresentam níveis de contaminação por micotoxinas superiores ao permitido pela legislação brasileira (FREIRE *et al.*, 2007).

As condições de umidade e temperatura no Brasil, em particular no Nordeste, associadas à produção artesanal da farinha de mandioca, na qual as condições reais de plantio, colheita, secagem e armazenamento apresentam-se bastante deficientes, são fatores que favorecem o desenvolvimento de fungos e a produção de micotoxinas. A Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA, 1978) determina quanto a bolores e leveduras,

que é tolerável uma concentração de até 10^4 UFC/g de alimento. A identificação de espécies de fungos contaminantes é um importante sinalizador quanto à provável presença de micotoxinas nos seus substratos, e pode indicar um caminho para prevenir a sua produção (SOUZA, 2003).

1.2. OBJETIVOS

O presente trabalho avaliou a ocorrência de fungos contaminantes nas farinhas de mandioca comercializadas em feiras livres e supermercado da cidade de João Pessoa – PB e teve como objetivos específicos:

- (1) Analisar o nível de contaminação fúngica de amostras de farinha de mandioca vendidas em diferentes locais;
- (2) Isolar e identificar as espécies de fungos contaminantes na busca específicas de espécies produtoras de micotoxinas.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 A MANDIOCA

A mandioca, nome de origem tupi (mani-óca, a casa de Mani), é um arbusto pertencente à ordem Malpighiales, família Euphorbiaceae, gênero *Manihot* e espécie *Manihot esculenta* CRANTZ. É a única, dentre as mais de 6000 espécies da família Euphorbiaceae, cultivada para fins de alimentação. Genericamente é chamada de “mandioca brava” (amarga) ou “mandioca mansa” (doce), dependendo da quantidade de ácido cianídrico contido nas raízes. As raízes “amargas” contêm altas taxas desta substância, sendo necessário passar por um complexo processamento antes de ser consumida, envolvendo, entre outras etapas, ralar e espremer a raiz para eliminar o caldo (chamado de manipueira), no qual se concentra a maior parte da toxina. As espécies deste grupo são as preferidas na fabricação de farinha. As variedades doces, também chamadas de “aipim” ou “macaxeira”, possuem baixa taxa desta substância, podendo ser consumidas fritas ou cozidas (ESPM/SEBRAE, 2008; SILVA, 2008; DÓSEA *et al.*, 2010; OLIVEIRA, 2007).

Estudos revelam que a planta ancestral da mandioca é natural de vegetação de galeria associada a rios, na zona de transição entre a floresta Amazônica e o Cerrado. As mais recentes pesquisas agrícolas e arqueológicas indicam que, provavelmente, a região amazônica foi o berço da mandioca, enquanto versões alternativas dão conta de seu surgimento no Peru (região dos Andes) ou mesmo na África (CARVALHO, 2005; ESPM/SEBRAE, 2008).

Fácil produção, grande disseminação territorial e alta adaptabilidade ao clima do continente sul-americano propiciaram a extensa incorporação da mandioca aos hábitos alimentares das populações pré-colombianas (ESPM/SEBRAE, 2008). Sauer (1993) *apud* Silva (2008) afirma que na América existem evidências diretas e indiretas do cultivo da mandioca que datam de até 2.500 a.C, e é provável que sua domesticação tenha ocorrido no nordeste da América do Sul. Cascudo (2004) aponta para os primeiros indícios da presença da mandioca na carta de Pero Vaz de Caminha quando este mencionou um tipo de “inhame” muito consumido pela população nativa do Novo Mundo (CASCUDO, 2004).

No contexto de seminomadismo que marcou o início da colonização brasileira, a mandioca oferecia um alimento de fácil obtenção, bastando arrancá-las e processá-las. Isso garantiu ao tubérculo um papel de grande importância na alimentação, sendo, pelo menos durante três séculos e meio, principalmente em áreas onde a presença indígena foi mais acentuada, “a alimentação do Brasileiro” (Aguiar, 1982 e Adams, *et al.*, 2006 *apud* SILVA 2008).

Os ameríndios inventaram uma série de instrumentos para o processamento da mandioca, como raladores, torradores, panelas e peneiras. Seu uso principal era na forma de farinha. Com o aprendizado das técnicas indígenas, foi também usada pelos bandeirantes como fonte de alimento duradoura e fácil de transporte durante suas expedições ao interior do continente. Uma vez conhecida pelos portugueses, a mandioca foi levada à África, servindo de alimentação para colonizadores e escravos. A partir de então, passou a assumir grande importância no combate à fome no continente (ESPM/SEBRAE, 2008; NASSAR, 2006).

Hoje, o Brasil ocupa o segundo lugar na produção mundial de mandioca com 12,8% do total, perdendo apenas para a Nigéria. A produção brasileira fica em torno das 25 milhões de toneladas por ano. A resistência da mandioca às condições climáticas é determinante na sua utilização como reserva alimentar nas regiões de grande estiagem, como é o caso do Nordeste.

O Norte é responsável por 25,2% da produção nacional, o Sul por 23,1% e o Nordeste lidera o ranking com 35,9%. A mandioca produzida no Nordeste é quase que exclusivamente consumida na própria região (ALVES e SILVA, 2003; ESPM/SEBRAE, 2008).

2.2. A FARINHA DE MANDIOCA

A farinha de mandioca (*Manihot esculenta* CRANTZ) é um alimento composto fundamentalmente por carboidratos, possuindo teor elevado de amido, contém fibras e alguns minerais como potássio, cálcio, fósforo, sódio e ferro (SEBRAE, 2009). Representa a principal fonte energética para milhões de pessoas, graças à facilidade do cultivo, exigindo menos insumos e mão de obra não especializada, além dos baixos preços do produto, sobretudo em países em desenvolvimento, como o Brasil (FERREIRA, 2004).

A média brasileira de consumo de farinha é de 7,8 quilos anuais *per capita*, média essa “inflada” pelos 33,8 quilos *per capita* da região Norte. O Nordeste fica em segundo lugar, com 15,3 quilos anuais *per capita*, enquanto as demais regiões apresentam consumo inferior a 1,5 kg/capita/ano (ESPM/SEBRAE, 2008).

Os sistemas de produção e de transformação da mandioca e seus derivados apresentam grande diversidade tecnológica, variando desde os pequenos cultivos em quintal até as produções em larga escala das farinheiras da região sul do Brasil, que utilizam a colheita semimecanizada (CHUZEL *et al.*, 1995).

Segundo SOUZA *et al.* (2003), o sistema produtivo da farinha de mandioca apresenta três tipologias básicas que levam em consideração as interconexões entre a origem da mão de obra, o nível tecnológico, a participação no mercado e o grau de intensidade do uso de capital na exploração: a unidade doméstica, a unidade familiar e a unidade empresarial.

A unidade doméstica é caracterizada por usar mão de obra familiar, não utilizar tecnologias modernas, pouco participar do mercado e dispor de baixo capital de exploração. A unidade familiar, ao contrário da doméstica, já são empreendimentos que adotam algumas tecnologias modernas, tem uma participação mais significativa no mercado e dispõem de maior capital de exploração. A contratação de mão de obra de terceiros é característica marcante da unidade empresarial. Essas unidades, juntamente com as unidades do tipo familiar, respondem pela maior parte da produção no Brasil.

No estado da Paraíba o processo de obtenção da farinha de mandioca é realizado em pequena escala, de forma artesanal e semi-industrial, nas denominadas casas de farinha, sendo constituído por várias etapas, conforme mostra o Quadro 1:

Quadro 1 – Etapas do processo de produção da farinha de mandioca segundo Pimentel (2001), SEBRAE (2006a) e ESPM/SEBRAE (2008)

Lavagem	As raízes devem ser inicialmente lavadas com água corrente, acompanhada de molho em água clorada nas dosagens recomendadas (100 a 200 ppm de hipoclorito), para a retirada de terra e possíveis agentes contaminantes advindos do solo.
Descascamento	O descascamento é feito manualmente utilizando-se uma faca para a retirada da casca, partes lesadas e possíveis impurezas remanescentes.
Ralação	Esta etapa é composta de uma sequência de raladores que irão transformar as raízes em uma massa. Os raladores são compostos por um cilindro de madeira com periferia provida de lâminas serrilhadas, cuja rotação é movida à eletricidade.
Prensagem	A prensagem da massa ralada tem como objetivo a eliminação do excesso de umidade. Historicamente, esta etapa é realizada com prensas artesanais, como o tipiti indígena, ou construídas em madeira, mas, atualmente, já existem prensas hidráulicas. A manipueira, líquido escoado da massa, é coletada em recipientes plásticos e, devido a sua toxicidade, deve ser tratada para posterior comercialização.
Esfarelamento	A massa, que se apresenta após da prensagem na forma de blocos, será esfarelada utilizando-se um ralador comum, um esfarelador ou uma peneira.
Torração	A torração destina-se à eliminação da manipueira restante que confere sabor amargo à farinha. São utilizadas chapas aquecidas diretamente pelo fogo, onde é feita uma distribuição uniforme de camadas delgadas da massa esfarelada. Na torração determina-se a cor, o sabor e o tempo de conservação do produto. A umidade final da farinha deve ser inferior a 14%.

Peneiramento	Esta etapa tem como finalidade obter uniformidade na granulação da farinha. A malha da peneira será determinada de acordo com o tamanho do grão que se quer obter.
Acondicionamento	Depois de classificada de acordo com a granulometria, a farinha de mandioca deve ser acondicionada em sacos plásticos ou de algodão que devem ser armazenados em locais ventilados e protegidos da umidade para posterior comercialização.

A farinha comercializada nas feiras livres, geralmente é embalada em sacas de 50 kg para venda a granel, e em supermercados e mercearias, embalada em pacotes de polietileno de um ou dois quilos. Bem acondicionada e preservada em local apropriado, a farinha pode ser armazenada por longo período de tempo (seis meses ou mais) (SOUZA *et al.*, 2003; CATÃO, 1999).

2.3. FUNGOS E MICOTOXINAS

Os fungos são organismos eucariontes heterotróficos, que nutrem-se de matéria orgânica inanimada ou mesmo de hospedeiros vivos, desempenhando uma relação parasitária. Apresentam dois tipos morfológicos principais: os fungos filamentosos, ou bolores, assim chamados por formarem hifas (filamentos revestidos de parede rígida) que formam colônias com aspecto de algodão, aveludado ou pulverulento, com variados tipos de pigmentação (SANTOS, 2006); e as de leveduras, fungos normalmente unicelulares cujas colônias são em geral pastosas ou cremosas nos meios de cultura sólidos (SOUZA, 2003; MEZZARI, 2001).

A quantificação do crescimento de fungos filamentosos em alimentos apresenta-se como de avaliação complexa, devido à particularidade de não crescerem como células únicas, mas sim através de uma rede de filamentos que se distribuem no interior (micélios vegetativos) e exterior (micélios reprodutivos) dos alimentos por eles colonizados (SOUZA, 2003).

Lázzari e Márcia (1998) classificam os fungos que invadem produtos agrícolas em fungos de campo e fungos de armazenamento de acordo com as condições ambientais e/ou ecológicas que favorecem seu crescimento. Os fungos do campo, que infectam os produtos

antes da colheita, requerem alto teor de umidade para o crescimento e os principais representantes são dos gêneros *Cephalosporium*, *Fusarium*, *Gibberella*, *Nigrospora*, *Helminthosporium*, *Alternaria* e *Cladosporium*. Alves e Silva (2003) afirmam que espécies do gênero *Fusarium* estão entre os mais importantes causadores da podridão radicular da mandioca no campo. Os fungos de armazenamento são capazes de se desenvolver em meio à baixa umidade e causam problemas apenas se as condições de armazenamento/manuseio forem impróprias. Dentre os principais gêneros estão *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* e *Mucor*.

Os fungos capazes de produzir micotoxinas são ditos fungos toxigênicos. Segundo Campos (2007), citando Rosa (2002), micotoxinas são compostos orgânicos, biologicamente ativos, oriundos do metabolismo secundário dos fungos, que podem causar problemas de intoxicações agudas, subagudas ou crônicas, com efeitos carcinogênicos, teratogênicos e mutagênicos, entre outros.

A ocorrência de micotoxinas tem sido observada por todo o mundo em amendoins, grãos, trigo e outros farináceos, além de carne e leite. Sabe-se, atualmente, que cerca de 25% de todos os produtos agrícolas produzidos no mundo apresentam contaminação por alguma micotoxina. Soma-se ainda a essa problemática, o fato das micotoxinas não serem completamente eliminadas pelo processamento que os alimentos venham a ser submetidos (FREIRE, 2007; SOUZA, 2003).

O Quadro 2 revela as principais micotoxinas, seus respectivos microrganismos produtores e efeitos no homem e nos animais. Consumidas regularmente, em quantidades mínimas, causam lesões irreversíveis no rim, fígado, cérebro e também podem apresentar atividade teratogênica (COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY - CAST, 2003 *apud* CARDOSO, 2011). A aflatoxina B1, produzida por espécies do gênero *Aspergillus*, é uma das substâncias mais tóxicas de ocorrência natural registradas até hoje. A produção dessas substâncias depende de fatores como o tipo de substrato, umidade, atividade de água, presença de oxigênio, temperatura e potencial hidrogeniônico (pH) (ESPER, 2011).

Quadro 2 – Principais micotoxinas, seus respectivos fungos produtores e efeitos no homem e nos animais

Principais fungos produtores	Principal toxina	Efeito
<i>Aspergillus flavus</i> e <i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatoxina B1	Hepatotóxica, nefrotóxica e carcinogênica
<i>Penicillium citrinum</i>	Citrinina	Nefrotóxica para suínos
<i>Claviceps purpurea</i>	Ergotamina	Gangrena de extremidades ou convulsões
<i>Fusarium verticilloides</i>	Fumosinas	Câncer de esôfago
<i>Penicillium expansum</i> e <i>Penicillium griseofulvum</i>	Patulina	Toxicidade vagamente estabelecida
<i>Fusarium sp</i> , <i>Myrothecium sp</i> , <i>Stachybotrys sp</i> e <i>Trichothecium sp</i> .	Tricotenos: T2, neosolaniol, fusanona x, nivalenol, deoxivalenol	Hemorragias, vômitos e dermatites
<i>Fusarium graminearum</i>	Zearalenona	Baixa toxicidade; síndrome de masculinização e feminização em suínos
<i>Aspergillus ochraceos</i> e <i>Aspergillus carbonarius</i>	Ocratoxina	Hepatotóxica, nefrotóxica e carcinogênica

Fonte: AS MICOTOXINAS (2009).

2.4. ALIMENTOS COMO SUBSTRATO PARA MICRORGANISMOS

Os alimentos podem servir de substrato para diversos microrganismos que se utilizam de seus nutrientes para o crescimento. Tal associação pode causar algumas alterações na composição química, nas propriedades organolépticas ou ainda na estrutura dos alimentos (SOUZA, 2003), devido à multiplicação desses organismos, à utilização dos nutrientes, às modificações enzimáticas, à quebra e síntese de novos compostos, promovendo sabor desagradável e ainda podendo provocar doenças em caso de ingestão.

As bactérias, bolores e leveduras são os microrganismos de maior destaque como agentes potenciais de deterioração e como eventuais promotores de DTAs (Doença Transmitida por Alimentos) ao homem (VALSECHI, 2006). Contudo são as características do alimento ou substrato que definirão quais microrganismos serão capazes de se desenvolver. Segundo Frazier e Westhoff (1993), os principais fatores da composição dos alimentos que influenciam a atividade microbiana são:

- ✓ pH: Cada microrganismo tem um pH mínimo, um pH ótimo e um pH máximo para seu crescimento. As células microbianas são afetadas de forma importante pelo pH dos alimentos, já que parecem carecer de um mecanismo que regule seu pH interno. Os bolores são capazes de crescer dentro de uma escala de valores de pH mais ampla do que a maioria das leveduras. A faixa ótima de pH para maioria destes microrganismos fica em torno de 5,6. Catão (2003) e Souza (1999) analisaram os padrões físico-químicos de farinhas de mandioca comercializadas em João Pessoa e as médias de pH observadas ficaram entre 5,5 e 6,0.
- ✓ Umidade: Cada microrganismo possui sua faixa mínima, ótima e máxima de umidade para seu desenvolvimento, que pode variar pela interação com outros fatores, como pH, temperatura, propriedades nutritivas do substrato e oxigênio. Em geral, altos valores de umidade favorecem o desenvolvimento dos fungos; as leveduras necessitam de maiores taxas oxigênio molecular do que os bolores.
 - Atividade da água (Aa): O metabolismo e conseqüente crescimento dos organismos colonizadores de alimentos exigem a presença de água numa forma disponível. A denominada Aa é um índice dessa disponibilidade. Os farináceos geralmente apresentam a atividade de água em torno de 0.60 a 0.85. A maioria dos fungos filamentosos se desenvolvem com um mínimo de Aa de 0.80 (VALSECHI, 2006).
- ✓ Potencial de óxido-redução (Eh): Os processos de oxidação e redução estão relacionadas com a troca de elétrons entre compostos químicos. O grau de oxigenação

do substrato assume importante papel no crescimento dos fungos e na produção da aflatoxina, pois ambos são processos aeróbicos. A colonização de um determinado organismo pode modificar o potencial de óxido-redução do substrato a tal valor que iniba o crescimento de outros organismos.

- ✓ Nutrientes: Cada microrganismo desenvolve-se de maneira ótima utilizando determinados tipos de nutrientes. Os carboidratos são mais comumente utilizados como fonte de energia. Os fungos são capazes de utilizar diversos tipos de nutrientes, principalmente pela capacidade de sintetizar enzimas como amilases, pectinases, proteinases e lipases (MADIGAN *et al.*, 2010). As vitaminas funcionam como substâncias acessórias estimulantes (às vezes cruciais) do crescimento de bolores e leveduras.

- ✓ Presença de substâncias inibidoras: Alguns alimentos podem apresentar substâncias inibidoras naturais ou adicionadas artificialmente, que impedem o desenvolvimento de determinadas espécies de fungos. Todo microrganismo que cresce em um alimento pode produzir uma ou mais substâncias inibidoras de outros microrganismos, como ácidos, álcoois, peróxidos e antibióticos. Um exemplo são as bactérias propiônicas, cujo produto de fermentação, o ácido propiônico é capaz de impedir o crescimento de bolores.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. ORIGEM E COLETA DAS AMOSTRAS

Foram analisadas 12 amostras de farinha de mandioca do tipo fina de coloração branca, coletadas em feiras livres e em um supermercado na cidade de João Pessoa – PB. As feiras selecionadas para a coleta foram a dos bairros dos Estados, Torre e Mercado Central e em cada uma delas foram recolhidas 3 amostras de 1kg cada. O mesmo procedimento foi realizado no supermercado. As amostras foram transportadas ao local de análise e armazenadas nos mesmos sacos plásticos em que foram coletadas, à temperatura ambiente e protegidas contra umidade.

3.2. AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO FÚNGICA

Para avaliar o nível de contaminação fúngica, foi utilizada a metodologia de diluição decimal seriada do alimento descrita por Pitt & Hocking (1999). 2,5g de cada amostra foram homogeneizados em 22,5 ml de água peptonada 0,1% (diluição 10^{-1}). Em seguida, a partir desta, foram preparadas diluições decimais sucessivas até 10^{-5} . De cada diluição, transferiam-se alíquotas de 1ml para placas de Petri, onde foi vertido ágar batata dextrose acidificado com ácido tartárico de pH 2,5 à temperatura de 40°C. Após mistura e solidificação do meio de cultura com amostra, as placas de Petri com as amostras e o meio de cultura foram incubadas à temperatura ambiente (cuja média ficou entre 28-30°C) por 5 dias.

3.3. ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS FUNGOS

A identificação macroscópica foi realizada pelo estudo do tamanho, forma e pigmentação das colônias (ver apêndices). A micromorfologia foi examinada através da técnica de microcultivo em lâminas (RIDDEL, 1950; GUARRO e HOOG, 1980; MCGINNIS, 1980; LACAZ *et al.*, 1991). Esta técnica tem como fundamento a possível visualização correta das estruturas fúngicas, incluindo as hifas vegetativas, reprodutivas e esporos, conforme descrito a seguir:

- ✓ Liquefazer o ágar Sabouraud dextrose em banho-maria;
- ✓ Em uma placa de Petri esterilizada, verter 15ml do meio de cultura liquefeito e deixar solidificar;
- ✓ Cortar o meio solidificado em pequenas porções de 1cm² com auxílio de um bisturi, esterilizado;
- ✓ Com o próprio bisturi, transferir as porções do meio de cultivo para a superfície central da lâmina de microscopia, disposta sobre bastão de vidro dentro de uma placa de Petri estéril;
- ✓ Semear pequenos fragmentos de colônia nos extremos do meio de cultivo, cobrindo com a lamínula;

- ✓ Colocar um pedaço de papel filtro no interior da placa umedecido com água destilada esterilizada; cobrir placa com tampa;
- ✓ Incubar as placas à temperatura ambiente;
- ✓ O desenvolvimento do crescimento fúngico deve ser acompanhado através do exame microscópico, observando-se as características peculiares das hifas e esporos;
- ✓ Remover a lamínula do cultivo e a porção de ágar Sabouraud com estilete;
- ✓ Adicionar uma gota do corante lactofenol azul algodão (cotton blue) no centro da lâmina de microscópio e cobrir com uma lamínula;
- ✓ Do mesmo modo, cobrir com lamínula o cultivo do fungo obtido sobre a lâmina, conforme item anterior;
- ✓ Vedar com esmalte de unha as bordas da lamínula;
- ✓ Observar as lâminas ao microscópio óptico.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Quadro 3 mostra os gêneros e espécies de fungos identificados nas amostras de farinha de mandioca. Foram encontrados 7 variedades de fungos distribuídos em 8 das 12 amostras. Enquanto as amostras 01, 02, 04 e 10 não apresentaram crescimento fúngico, a amostra 07, adquirida no Mercado Central, obteve a maior variedade de representantes.

Quadro 3 – Fungos identificados por amostra de farinha de mandioca.

Amostras	Gêneros/espécies identificados
01 (Bairro dos Estados)	-
02 (Bairro dos Estados)	-

03 (Bairro dos Estados)	<i>Aspergillus flavus</i>
04 (Torre)	-
05 (Torre)	<i>Aspergillus flavus</i>
06 (Torre)	<i>Curvalaria sp.</i>
07 (Mercado Central)	<i>Rhizopus sp.</i> <i>Penicillium sp.</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus terreus</i>
08 (Mercado Central)	FNE
09 (Mercado Central)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Penicillium sp.</i> FNE
10 (Supermercado)	-
11 (Supermercado)	<i>Penicillium sp.</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus ochraceos</i>
12 (Supermercado)	FNE

*FNE - Fungo não-esporulado

Concordando com os trabalhos de Catão (1999) e Souza (2003), foi verificada a predominância de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, o que configura-se como um evento relevante considerando que estes gêneros estão envolvidos na problemática da produção de micotoxinas.

Tem sido descrito o risco de intoxicação por *Aspergillus* em indivíduos que fazem uso

de alimentos contaminados por este microrganismo (ADEBAJO & IDOWU, 1994). Salemullah *et al.* (2006) *apud* Guimarães (2010) afirmam que mais de 20 espécies de *Aspergillus* produzem micotoxinas, sendo as mais comuns *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius*.

Aspergillus flavus, presente em todos os locais de coleta e em 5 das 8 amostras contaminadas, produz a aflatoxina, cuja ingestão pelo homem através alimentos contaminados é capaz de determinar quadros de hepatite aguda. A produção de aflatoxina pelo fungo resulta da tripla combinação da espécie fúngica, do substrato e do meio ambiente (AMORIM, 2004). De acordo com o ICMSF (1996) *apud* Pereira (2002) o limite mínimo e máximo de temperatura para o crescimento de *Aspergillus flavus* é de 10 e 43°C, respectivamente. A temperatura considerada ótima fica em torno de 33°C. Já para a produção da micotoxina, a faixa de temperatura favorável é um pouco mais estreita, ficando entre 13 a 37°C, e tendo como ótimas temperaturas entre 16 a 31°C. Levando em consideração que o estado da Paraíba apresenta uma média anual de temperatura de 25°C somada a uma umidade relativa do ar em torno de 80%, é fácil perceber o ambiente propício ao crescimento fúngico e à produção de aflatoxinas em que as farinhas são produzidas, armazenadas e comercializadas.

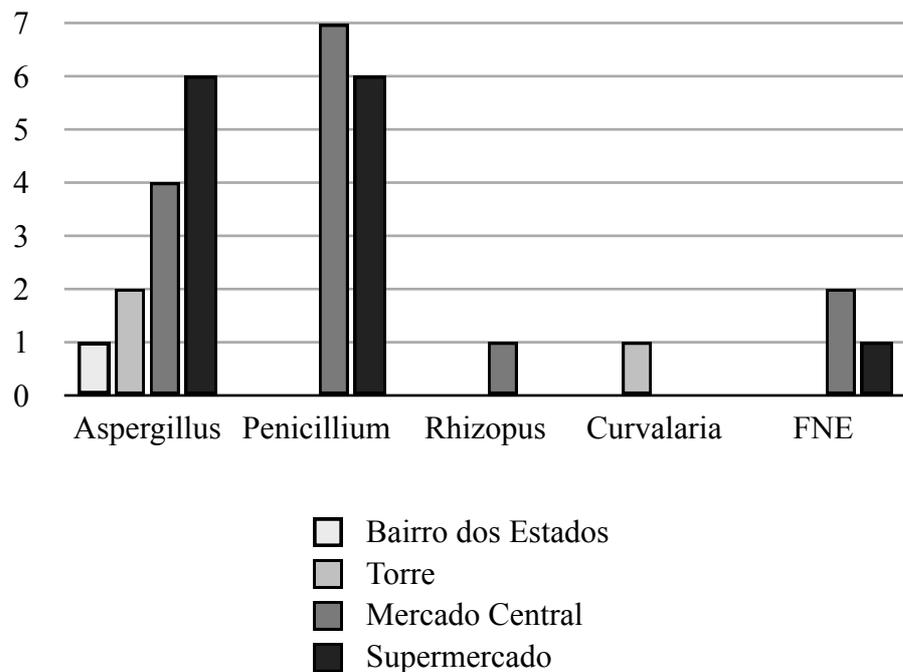
É importante destacar que a presença de fungos toxigênicos em alimentos não confirma a presença de micotoxinas, mas sim a possibilidade de sua contaminação por elas. Por outro lado, a ausência destes fungos não garante que o alimento esteja livre destes compostos, pois estas toxinas persistem por um longo tempo, mesmo após o fungo ter perdido sua viabilidade (GUIMARÃES, 2010 *apud* YOSHISAWA, 2001).

O potencial micotoxigênico dos fungos não foi avaliado nesse trabalho.

O Gráfico 1 mostra o perfil da frequência dos diferentes gêneros isolados nas amostras coletadas nas feiras livres e supermercado, ratificando a predominância dos representantes do gênero *Aspergillus*, que é um fungo de armazenamento, podendo ser disseminado através de movimentos do ar, por conídios aderidos ao corpo, partes bucais e à defecação de insetos (CATÃO, 1999). Em seu trabalho acerca do monitoramento de fungos em grãos de milho, MÁRCIA e LÁZZARI (1998) observaram que muitas das amostras contaminadas por fungos do gênero *Aspergillus* estavam também contaminadas por insetos. Uma população de insetos dentro da massa de grãos, se não for controlada a tempo, pode criar condições de umidade e

temperatura que estimulam o rápido desenvolvimento fúngico, podendo ocorrer deterioração da massa de grãos e produção de micotoxinas.

Gráfico 1 – Perfil da frequência dos diferentes gêneros isolados das amostras de farinha de mandioca.



A Quadro 4 registra os resultados da quantificação (unidades formadoras de colônias por grama - UFC/g) dos fungos encontrados. Houve uma variação de 1×10^2 , como menor valor (amostra 5) a 1×10^5 , como maior valor (amostras 8, 9 e 12).

Quadro 4 – Quantificação de fungos nas amostras de farinhas de mandioca.

Bolores (UFC/g)	Número de amostras	Amostras	%
$]0-10^1]$	0	-	0
$]10^1-10^2]$	2	3 e 5 (Bairro dos Estados e Torre)	16,7
$]10^2-10^3]$	0	-	0
$]10^3-10^4]$	2	6 e 7 (Torre e Mercado Central)	16,7
$]10^4-10^5]$	4	8, 9, 11 e 12 (Mercado Central e Supermercado)	33,4

TOTAL	8	3, 5, 6, 7, 8, 9, 11 e 12	66,8
-------	---	---------------------------	------

Das 12 amostras coletadas, 66,8% apresentou algum crescimento fúngico, o que indica a possibilidade de condições insatisfatórias de processamento ou de conservação do produto. Estes microrganismos podem ser oriundos de equipamentos e utensílios com limpeza inadequada, da matéria-prima contaminada ou de exposição prolongada do alimento ao ar atmosférico (SOUZA, 2003).

Os alimentos armazenados representam excelente campo para a proliferação dos fungos, principalmente quando os princípios básicos de secagem adequada e armazenamento correto são desconhecidos ou desprezados (PEREIRA, 2002). Segundo Catão (1999), a presença de fungos em níveis consideráveis nos produtos desidratados sugere fortemente que durante o seu processamento e/ou armazenamento, estes experimentaram um aumento no teor de umidade o que, aliado às condições deficientes de higiene, possibilitou seu desenvolvimento.

Comparando a produção de farinha de mandioca em unidades tradicionais e unidades modelo, Dósea *et al.* (2010) constataram uma diminuição na contagem microbiana de 82,76% na massa prensada em unidades modelo em relação às unidades tradicionais, sugerindo que a ação dos manipuladores e as condições higiênico-sanitárias dos equipamentos são responsáveis pela incidência desses microrganismos no processamento da mandioca. Foi verificado ainda que, de maneira geral, houve expressiva diminuição no índice de contaminação da mandioca após a etapa da torra em ambas as unidades, haja vista que o aquecimento provoca a morte dos microrganismos contaminantes. Sant'anna & Miranda (2004) atribuem a recontaminação por bolores e leveduras após as etapas para a obtenção da farinha à embalagem e ao armazenamento inadequados.

Levando em consideração que a Secretaria de Vigilância Sanitária determina um valor máximo de 10^4 UFC/g, 33,4% das amostras apresentaram valores acima do permitido, o que configura o alimento como potencialmente prejudicial a saúde do consumidor.

Evitar a presença de fungos é impossível, visto que os principais bolores toxigênicos são bastante disseminados pelo ambiente. Dessa forma, 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 e tempo de estocagem dentro dos limites de vitalidade do produto (AS MICOTOXINAS, 2009).

A manutenção de uma baixa umidade durante o armazenamento constitui-se em uma técnica eficaz para controlar os estragos provocados pelos fungos e pelas micotoxinas. No entanto, as condições climáticas dos trópicos, onde a umidade relativa do ar passa dos 70%, dificultam o controle da umidade do produto. Em pequena escala, embalagens de polietileno são eficazes; em larga escala, o armazenamento seguro requer estruturas bem desenhadas com pisos e paredes impermeáveis à umidade, realidade muito além daquela encontrada nas casas de farinha onde é produzida a maior parte da farinha de mandioca no Nordeste.

Existem métodos capazes de descontaminar produtos afetados. Porém, além da eficiência dessas técnicas ainda estarem em discussão, trata-se de uma alternativa dispendiosa para os pequenos produtores. Em seu trabalho sobre os processos de descontaminação em rações contendo micotoxinas, Sekiyama (2007) afirma que o uso de processos químicos, físicos e biológicos para reduzir os efeitos tóxicos dessas substâncias tem sido objeto de muito debate, possivelmente pela carência de informações conclusivas, bem como de seus possíveis efeitos adversos sobre a saúde dos animais. A prevenção é a medida mais eficaz de se controlar a contaminação. O conhecimento dos fatores que favorecem a contaminação por fungos e a produção de aflatoxinas é útil para minimizar o problema (STUSSI *et al.*, 2002 *apud* NOGUEIRA, 2009).

É necessário levar em consideração os aspectos sociais envolvidos na produção da farinha de mandioca, visto que, somente na Paraíba, milhares de famílias tiram o seu sustento dessa atividade. A mão de obra familiar produtora da farinha é geralmente composta por pessoas pouco instruídas que desconhecem normas técnicas para produção de alimentos. As casas da farinha estão em maior parte localizadas em áreas economicamente marginais e a mandioca é cultivada por meio de práticas agrícolas rudimentares (SILVA, 2008). Em alguns estados, como no Acre, existem projetos governamentais que visam à substituição de casas de farinha tradicionais por casas modernas, que proporcionam maior conforto ao trabalhador e melhores condições de higiene, além de fornecer aos produtores uma visão de comércio mais organizada e capaz de atender às exigências de mercado (MOREIRA, 2012). Em sua maioria, as famílias que se dedicam à plantação de mandioca e à produção da farinha herdaram as técnicas de seus ancestrais, mas não possuem lugar nem equipamentos adequados para

produção. A implantação de projetos semelhantes ao do Acre no estado da Paraíba, com a modernização dos equipamentos utilizados para o processamento da farinha aliada à ações que promovam a instrução dos produtores é uma forma de contribuir para a qualidade sanitária da farinha de mandioca que chega às feiras livres e supermercados de João Pessoa. O projeto deve incluir ações em todas as etapas que compõem a produção da farinha, desde a colheita até o armazenamento, com a participação de entidades como EMBRAPA, SEBRAE e ANVISA, ajudando formar verdadeiros profissionais da área.

5. CONCLUSÃO

- ✓ Das 12 amostras 8 (66,8%) apresentaram algum crescimento fúngico;
- ✓ Dentre elas, 4 (33,4% do total) apresentaram contaminação fúngica com concentrações entre 10^4 e 10^5 de UFC/g;
- ✓ Os gêneros de fungos filamentosos mais frequentes foram *Aspergillus*, com representantes em todas as feiras, e *Penicillium*. Ambos os gêneros tem potencialidade para produzir micotoxinas.

ABSTRACT

Manioc (*Manihot esculenta* CRANTZ) is a bush from the family of the Euphorbiaceae. It's low production costs allied with its ease to cultivate and its resistance to diseases and climatic variations make the manioc be known as "the bread of the tropics". Manioc flour is one of the main products obtained from this root. Handmade in little facilities named flour houses, where often sanitary aspects are put aside, the flour may become a potential spreader of contaminating agents. The present work evaluated the occurrence of contaminating fungi in manioc flours currently being traded in João Pessoa city (PB). Seven different kinds of fungi were found, distributed in eight of the twelve collected samples. Predominance of the genres *Aspergillus* and *Pencillium* portrays a relevant event, once this genres are linked to the mycotoxin production issue. *Aspergillus flavus*, which produces aflatoxin, whose ingestion through contaminated food may lead to grave hepatitis, was present in every sample spot. As for the funghi quantification, 33,4% of the samples presented a UFC/g concentration higher than acceptable by the authorities, which makes the product a potential danger to the consumer health.

Keywords: *Aspergillus*. Manioc flour. Fungi. Mycotoxin

REFERÊNCIAS

- ADAMS, C.; SIQUEIRA, A. D.; MURRIETA, R.S. & SANCHES, R. O Pão da Terra: Da Invisibilidade da Mandioca na Amazônia. In ADAMS, CRISTINA; MURRIETA, RUI; NEVES, WALTER. **Sociedades Caboclas Amazônicas: Modernidade e Invisibilidade**. Annablume: São Paulo, 2006.
- ADEBAJO, L.O.; IDOWU, A. A. Mycoflora and aflatoxins in a west African corn groundnut based convenience food. **Mycopathologia**. v. 126. p. 21-26, 1994.
- AGUIAR, P. **Mandioca: pão do Brasil**. (Coleção Retratos do Brasil, v.166) RJ: Civilização Brasileira, 1982.
- ALVES, A. A. C.; SILVA, A. F. **Cultivo da mandioca para a região semi-árida**. 2003. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTMLMandioca/mandioca_semiarido/index.htm> Acesso em: 10 jul 2011
- AMORIM, D. S.; MARIA-MOREIA, N.; AMORIM, C. D. R.; SANTOS, S. S.; OLIVEIRA, J. M.; NUNES, C. P.; OLIVEIRA, P. C.; GOMES, A. P. Infecções por *Aspergillus* spp: aspectos gerais. **Pulmão RJ**, vol. 13, n. 2, 2004. Disponível em: <http://www.sopterj.com.br/revista/2004_13_2/08.pdf>. Acesso em: 3 nov 2012
- CAMPOS, S. G. **Monitoramento de aflatoxinas, fungos toxigênicos e níveis de contaminação em matérias primas e alimentos balanceados: aflatoxicose natural em cães do estado do Rio de Janeiro**. 2007. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.
- CARDOSO, M.W.; SILVA, G.G.; CANO, V. **Análise microbiológica de alimentos**. Parte I. Rio de Janeiro: Merck, 1985. 198 p.
- CARVALHO, Luiz J. C. B. Biodiversidade e biotecnologia em mandioca. XI Congresso Brasileiro de Mandioca. **Anais...** Campo Grande: Embrapa, 2005.
- CARDOSO FILHO, F. C.; CALVET, R. M.; PEREYRA, C. M.; PEREIRA, M. M. G.; ROSA, C. A. R.; TORRES, A. M.; MURATORI, M. C. S. Ocorrência de *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e aflatoxinas em amostras de farinha de milho utilizadas no consumo humano, Piauí, Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 78, n. 3, p. 443-447. 2001.

CASCUDO, L. C. **História da alimentação no Brasil**. 3 ed. São Paulo: Global, 2004.

CATÃO, M.N.de S. **Isolamento e ocorrência de fungos contaminantes e aflatoxigênicos na farinha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**. 1999. 56 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa.

CHUZEL, G.; ZAKHAIA, N.; CEREDA, M. P. Potentialités de nouveaux produits derives du manioc au Brésil. In: EGBE, T. A.; BRAUMAN, A.; GRIFFON, D.; TRECHE, S. (Eds.). **Transformation alimentaire du manioc**. Paris: Orstom, 1995. p. 63-74.

COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS. Resolução nº 12/78. Brasil. 1978.

COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY - CAST. **Micotoxins: risks in plant, animal and human systems**. Ames: CAST, 2003. 190 p.

DECANIO, M. V. Infestação de produtos alimentícios nas fontes de produção e durante armazenamento. Um método para a pesquisa microscópica de sujidades e impurezas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 31, p. 31-37, 1971.

DÓSEA, R. R.; MARCELLINI, P. S.; SANTOS, A. A.; RAMOS, A. L. D.; LIMA, A. S. Avaliação da qualidade microbiológica na obtenção de farinha e fécula de mandioca em unidades tradicionais e modelo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 2, p. 411-416. 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782010000200029&script=sci_arttext>. Acesso em: 2 nov 2012

ESPER, R. H. **Óleos essenciais de mentrasto e orégano no controle de *Aspergillus flavus* em milho e soja**. 2011. 55 p. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) - Instituto Biológico da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios. São Paulo.

ESPM/SEBRAE. **Estudo de mercado sobre a mandioca (farinha e fécula)**: relatório. 2008. 81 p. Disponível em: <[http://201.2.114.147/bds/BDS.nsf/2AA42520A9A66B5783257405004FCB94/\\$File/01.relatorio_MANDIOCA.pdf](http://201.2.114.147/bds/BDS.nsf/2AA42520A9A66B5783257405004FCB94/$File/01.relatorio_MANDIOCA.pdf)>. Acesso em: 14 nov 2012

FERREIRA, N. M. da C. **Cadeia produtiva da farinha de mandioca na perspectiva da análise de Filière e Supply Chain Management**: Um estudo de caso das relações entre a agroindústria e a distribuição. 2004. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiología de los alimentos**. 4ªed. Zaragoza: Acribia, 1993. 681 p.

FREIRE, F. C. O.; VIEIRA, I. G. P.; GUEDES, M. I. F.; MENDES, F. N. L. Micotoxinas: Importância na Alimentação e na Saúde Humana e Animal. **Embrapa Agroindústria Tropical**. Fortaleza, Ceará. 2007. 48 p.

AS MICOTOXINAS. **Food Ingredients Brasil**. n. 7, p. 32-40, 2009. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/90.pdf>> Acesso em: 5 nov 2012

GUARRO, J. S.; HOOG, G. **Atlas of clinical mycology**. New York: Academic Press, 1980, 411 p.

GUIMARÃES, I. C. O.; SOUZA, A. R. M.; CORNÉLIO, V. M. O.; PEREIRA, J. VILLELA, V. A.; Identificação de *Aspergillus* spp. Toxicogênico em arroz. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20612010000500010&sc_rpt=sci_arttext>. Acesso em: 5 nov 2012

ICMSF. **Microorganismos de los alimentos**: características de los patógenos microbianos. Zaragoza: Acribia, 1996. p. 403- 428.

LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. **Micologia médica**. 8ªed. São Paulo: Sarvier, 1991. 840 p.

LÁZZARI, F. A.; MÁRCIA, B. A. Monitoramento de fungos em milho em grão, grits e fubá. **Ciênc. Tecn. Alim**. v. 18, n. 4, 1998.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. **Microbiologia de Brock**. 12ª edição, São Paulo: Artmed, 2010.

MEZZARI, A. **Micologia no laboratório**. Porto Alegre: Sagra Luzzatto. 2001. 139 p.

MCGINNIS, M.R. **Laboratory handbook of medical mycology**. New York: Academic Press, 1980. 411 p.

MOREIRA, T. Governo entrega casas de farinha de Barro Alto. **Agência: Notícias do Acre**. 2012. Disponível em: <<http://www.agencia.ac.gov.br/index.php/noticias/producao/21396-governo-entrega-casa-de-farinha-no-barro-alto.html>>. Acesso em: 15 nov 2012

NASSAR, N. M. A. Mandioca: uma opção contra a fome - Estudos e lições do Brasil e do mundo. **Ciência Hoje**, São Paulo, v. 39, p. 31-34, 2006.

NETO, C. F.; NASCIMENTO, E. M.; FIGUERÊDO, R. M.; QUEIROZ, A. J. M. Microbiologia de farinhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) durante o armazenamento. **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, 2004.

NOGUEIRA, J. H. C. **Quimioprevenção pelo óleo essencial de mentrasto (*Ageratum conyzoides*) no crescimento de *Aspergillus flavus* e da produção de aflatoxina**. 2009. 58 p. Dissertação. (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) - Instituto Biológico da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios. São Paulo.

OLIVEIRA, R. B.; GIMENEZ, V. M. M.; GODOY, S. A. P. Intoxicações com Espécies da Família Euphorbiaceae. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 1, p. 69-71, jul. 2007

PEREIRA, M. M. G.; CARVALHO, E. P.; PRADO, G. Crescimento e produção de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 20, n. 1, p. 141-156, jan./jun. 2002.

PIMENTEL, F. A.; CUNHA, E. T. Prensagem mecânica para obtenção de farinha de mandioca. **Embrapa**. Acre. 2001. 3 p. ISSN 0104-9038.

PITT, J.I & HOCKING, A.D. **Fungi and Food Spoilage**. 1999. Disponível em: <http://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=-B1s6GhOlzkC&oi=fnd&pg=PR3&dq=Fungi+and+Food+Spoilage.&ots=L9dB_aFLrZ&sig=XLh769_GIJnfqUpH9BDaCGjuho#v=onepage&q&f=true> Acesso em: 1 de dez de 2011

RIDDEL, R. W. Permanent stained mycological preparation obtained by slide culture. **Mycology**, v. 42, p. 265-270, 1950.

ROSA, C. A. R. **Micobiota toxígena e ochratoxinas em rações destinadas à alimentação de aves, bovinos, suínos e importância em saúde animal**. 2002. 147 p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. RJ.

SALEEMULLAH, A. I. et al. Aflatoxin contents of stored and artificially inoculated cereals and nuts. **Food Chemistry**, v. 98, n. 4, p. 699-703, 2006.

SANT'ANNA, M.E.B.; MIRANDA, M.S. Avaliação microbiológica das etapas de produção de farinha de mandioca no recôncavo baiano. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 16, n. 1, p. 25-32, 2004.

SANTOS, F. C. F. **Fungos em rações para camarões cultivados no estado do Piauí**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Piauí. PI. 2006.

SAUER, Jonathan D. **Historical Geography of Crop Plants**: a select roster. CRC Press: Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo. 1993

SEBRAE. **Manual de referência para casas de farinha**: relatório técnico. Maceió, Alagoas. 2006a. Disponível em: <http://sstmpe.fundacentro.gov.br/Anexo/Manual_de_Referencia_para_Casas_de_Farinha.pdf>. Acesso em: 8 de julho de 2011.

SEBRAE – MA. **Prospecção de mercado para mandioca e derivados na Região do Médio Mearim**. [Folheto]. Bacabal, Maranhão. 2006b. 40 p.

SEBRAE. **Mandiocultura**: Derivados da Mandioca. [Folheto]. Salvador, Bahia. 2009. 38 p. Disponível em: <[http://201.2.114.147/bds/BDS.nsf/FAE92C370E44479B8325766300576F62/\\$File/NT00042B7E.pdf](http://201.2.114.147/bds/BDS.nsf/FAE92C370E44479B8325766300576F62/$File/NT00042B7E.pdf)>. Acesso em: 11 nov 2012.

SEKIYAMA, B. L.; FERRARI, G.; JUNIOR, M. M. Processos de descontaminação de rações contendo micotoxinas. **Revista Analytica**, n. 26. 2007. Disponível em: <http://www.revistaanalytica.com.br/ed_antteriores/26/art05.pdf>. Acesso em: 5 nov 2012.

SILVA, J. T. S.; CARVALHO, J. S; VALE, V. L. C. Estudo das condições microbiológicas de farinhas de mandioca (*Manihot esculenta* CRANTZ) comercializadas no centro de abastecimento de Alagoinhas, Bahia. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 33, n. 1, p. 43-52, jan./jun. 2012. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/seminabio/article/view/8002/11069>>. Acesso em: 5 nov 2012

SILVA, H. A. **Mandioca, a rainha do Brasil?** Ascensão e queda da *Manihot esculenta* em São Paulo. 2008. 165 p. Dissertação (Mestrado em História) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

SOUZA, E. **Ocorrência de fungos filamentosos em farinha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) e fubá de milho (*Zea mays* L.) e perfil de sensibilidade a produtos naturais.** 2003. 130 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

SOUZA, L. da S.; FIALHO, J. de F. **Cultivo da Mandioca para a Região do Cerrado.** 2003. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioca_cerrados/referencias.htm>. Acesso em: 3 jul 2012.

STUSSI, J.S.P.; CUNHA, M.C.P.; FERREIRA, L.R.V.; FLORIDO, P.S.S.; OLIVEIRA, L.A.T. Fungos em bacon: uma revisão. **Higiene Alimentar**, v. 17, n. 113, p. 28-32, 2002.

VALSECHI, O. A. **Microbiologia dos Alimentos.** UFSCAR. 2006. Araras, SP.

YOSHISAWA, T. **Mycotoxins analyses for federative republic of Brazil.** Japão: Trainig Course, 2001. 283 p.

ANEXO A

Macro e micromorfologia dos principais gêneros/espécies de fungos isolados e identificados

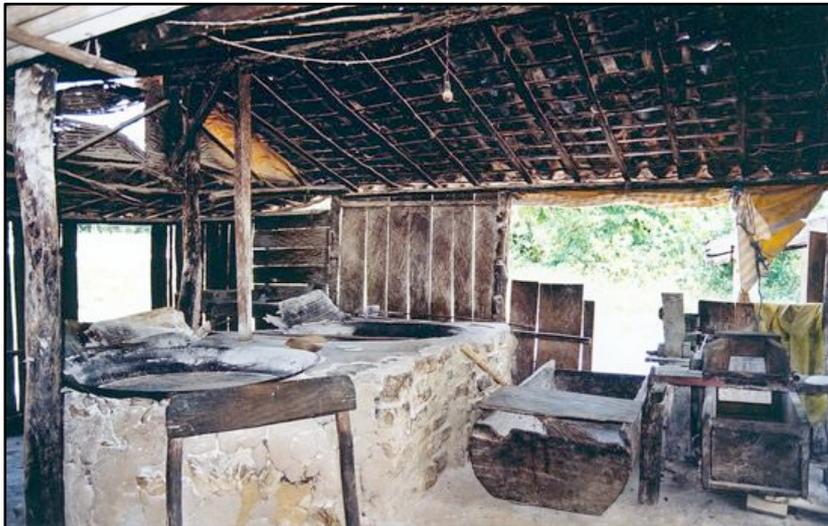
<i>Aspergillus flavus</i>	Crescimento rápido, de 2 a 3 dias. Textura arenosa de grãos grandes. O reverso é branco ou cinza, podendo tomar o tom castanho-escuro. Conidióforo apresenta-se com comprimento variável, incolor mais ou menos rugoso com conídios globosos, lisos ou rugosos.
<i>Aspergillus ochraceos</i>	Colônia inicialmente branca, depois marrom canela, crescimento rápido e aveludado. Conidióforo rugoso e ocre. Fiálides com a mesma tonalidade.
<i>Aspergillus terreus</i>	Colônia inicialmente branca depois marrom canela, de crescimento rápido, e aveludada. Conidióforo pequeno e liso.
<i>Penicillium spp.</i>	Colônia com textura algonodosa baixa ou aveludada de tom branco, que rapidamente se torna amarelo-alaranjada, amarela esverdeada, verde ou azul esverdeada, os três últimos mais frequentes. O reverso varia do castanho amarelado ao castanho avermelhado, podendo ser o pigmento difusível ou não no meio. Grande número de hifas septadas, conidióforos elevando-se do micélio isoladamente e ramificando-se no ápice em forma de pincel, apresentando conídios em cadeias.
<i>Rhizopus spp.</i>	Textura algonodosa, de tom branco. A partir das estruturas de frutificação muda a cor para cinza ou amarelo-acastanhado, apresentando reverso branco. Hifas largas não septadas. Esporângios grandes, terminais, frequentemente esféricos, com presença de esporos endógenos marrom-negros, globosos ou ovoides.

<p><i>Curvalaria</i> spp.</p>	<p>Crescimento rápido. Colônias baixas, textura veludosa, de verde-oliva-escuro, marrom ou preto e recoberto de um micélio algodonoso frouxo de tonalidade cinza. O reverso é preto. Hifas septadas, conidióforos escuros, isolados, às vezes ramificados. As células centrais dos conídios são maiores que as da extremidade.</p>
-------------------------------	--

SOUZA (2003)

ANEXO B

Fotografia de uma casa de farinha tradicional



Fonte: http://www.maris.com.br/upload/banco_imagens/maris-Img-casa%20de%20farinha%20dentro51558gd.jpg

Descasque da mandioca em uma casa de farinha tradicional



Fonte: <http://blogs.estadao.com.br/olhar-sobre-o-mundo/files/2012/03/Farinha002.jpg>