



Detecção de espécies fúngicas e avaliação da produção de micotoxinas em sementes de *Bixa orellana* (Linnaeus, 1753) *in natura* comercializadas a varejo

Detection of fungal species and evaluation of mycotoxin production in *Bixa orellana* (Linnaeus, 1753) seeds commercialized at retail

Lucas Tiné Pereira da Silva¹, Larissa Thans Carneiro^{1,2}, Emilio Telles de Sá Moreira¹

AUTHOR AFIILIATIONS

1 – Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular, Universidade Castelo Branco (UCB), Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

2 – Departamento de Entomologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, Brazil

ORCIDS AND CONTACT

Lucas Tiné Pereira da Silva
Orcid: 0000-0003-2350-620X
lucas.tine.ls@hotmail.com

Larissa Thans Carneiro
Orcid: 0000-0001-8930-1026

larissa.thans.carneiro@gmail.com
Emilio Telles de Sá Moreira
Orcid: 0000-0001-9199-2188
emilio.telles.02@gmail.com

ABSTRACT

When a fungus grows in certain foods, they have the capacity to spoil them by producing natural metabolic called mycotoxins. The contamination of food can cause several problems, from the waste of raw material to the harmful effects of food intake, in addition to the carcinogenic, teratogenic and mutagenic potential that such mycotoxins have. *Bixa orellana*, a plant popularly known as annatto which is widely used from the indigenous culture to the textile until food industry (paprika production). The characteristic colour of the seeds is due to the presence of carotenoids, pigments present in nature, such as bixin, which can announce a great role in physiological actions. The present study aimed to carry out an analysis of fungal growth in Annatto seeds, isolating and identifying the infectious agents. Annatto seeds sold at retail were used and separated by treatment, comparing the sanitization method. These seeds were grown in DRCB culture medium with growth monitoring every 24 hours. The identification of fungal species was given using the microculture method. The species was determined by analyzing the reproduction structure using the identification key. It is concluded that, the fungal contamination in the annatto grains is present, both in natura and sanitized.

Keywords: contamination, fungus, mycotoxins.

RESUMO

Quando um fungo cresce em certos alimentos, eles têm a capacidade de estragá-los, produzindo metabólitos secundários chamados micotoxinas. A contaminação dos alimentos pode acarretar diversos problemas, desde o desperdício de matéria-prima até os efeitos nocivos da ingestão alimentar, além do potencial

carcinogênico, teratogênico e mutagênico que tais micotoxinas possuem. *Bixa orellana*, planta popularmente conhecida como urucum que é amplamente utilizada desde a cultura indígena, indústria têxtil, até a indústria alimentícia (produção de páprica). A coloração característica das sementes se deve à presença de carotenoides, pigmentos presentes na natureza, como a bixina, que podem anunciar um grande papel nas ações fisiológicas. O presente estudo teve como objetivo realizar uma análise do crescimento fúngico em sementes de urucum, isolando e identificando os agentes infecciosos. Foram utilizadas sementes de urucum comercializadas no varejo e separadas por tratamento, comparando o método de sanitização. Essas sementes foram cultivadas em meio de cultura DRCB com monitoramento de crescimento a cada 24 horas. A identificação das espécies fúngicas se deu pelo método de microcultura. A espécie foi determinada pela análise da estrutura reprodutiva utilizando a chave de identificação. Concluiu-se que, a contaminação fúngica nos grãos de urucum está presente, tanto in natura quanto sanitizados.

Palavras-chave: contaminação, fungos, micotoxinas.

INTRODUÇÃO

Os urucuzeiros são plantas arbustivas e sua classificação taxonômica consiste em: divisão Angiospermae, família Bixaceae, gênero *Bixa*, espécie *Bixa orellana*. O fruto é conhecido popularmente como urucum (Dornellas, 2015).

A árvore produz frutos deiscantes denominados de cápsulas ou cachopas (Fig 1) que são revestidos por uma camada de espinhos “inofensivos”, e no interior de cada cápsula podem ser produzidas, aproximadamente, de 40 a 50 sementes. Essas cápsulas são revestidas por um pericarpo (camada externa que envolve as sementes), local onde ocorre a extração de um corante natural (Silva et al, 2018).

O uso das sementes de *Bixa orellana* é amplo, sendo utilizadas desde antigamente pela cultura indígena até a atualidade passando pela indústria têxtil, alimentícia (sob a supervisão de

entidades como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, Food and Agriculture Organization - FAO e da Organização Mundial da Saúde - OMS), e até mesmo na produção de remédios.



Fig 1: Cachopa de Urucum com sementes à mostra.

As diferentes formas de utilização das sementes estão associadas às suas propriedades intrínsecas relacionadas à sua composição química. Enfatizando, a presença de carotenóides é o que propicia a utilização do urucum nas indústrias alimentícias, na produção do colorau (colorífico). Destaca-se que a utilização do urucum é regulamentada pela ANVISA como aditivo alimentar (corante), no desenvolvimento de

cosméticos e nas atividades têxteis devido a sua alta capacidade colorífica (Brito et al, 2015; Ferreira e Novembre, 2016).

Outro comum uso das sementes de urucum é observado no setor agropecuário, onde as sementes residuais que são descartadas dos processos de preparação são utilizadas para suplementar a alimentação animal, visto que é um subproduto com baixo valor de aquisição, podendo ser utilizado para reduzir custos de produção. Devido ao seu uso como suplementação alimentar animal, outros estudos foram conduzidos buscando analisar os benefícios destes resíduos para a alimentação humana, além da sua capacidade como corante (Brito et al, 2015). De acordo com Capella (2016), na composição química do urucum pode-se observar a presença de triptofano, metionina (aminoácidos presentes no nosso organismo que atuam na biossíntese de proteínas) e lisina (aminoácido que auxilia o aumento da imunidade contra processos infecciosos), assim como um alto teor de ácidos graxos, ácido linoleico e oleico (participam da síntese de energia, síntese lipídica e síntese de hormônios, respectivamente). Além disso, a partir de estudos é possível constatar suas capacidades anti-inflamatórias, auxiliadoras dos processos lipídicos e cardíacos, além da supracitada atividade microbiana e atividade antifúngica.

A cor que caracteriza as sementes do urucum se dá pela presença de carotenóides. Os

carotenóides são substâncias pigmentantes presentes na natureza e podem ser produzidas em diversos organismos como: bactérias, fungos, algas e plantas superiores, onde estes representantes apresentam colorações de amarelo a vermelho. Estas substâncias estão presentes no pericarpo das sementes de urucum, tendo concentrações divididas dos carotenóides: bixina, norbixina e em menor quantidade alfa e beta caroteno. Estes carotenóides são extraídos e posteriormente utilizados nos setores industriais (Mesquita et al, 2017; Santos et al, 2018).

Dentre os carotenóides presentes, a bixina pode desempenhar um grande papel nas ações fisiológicas humanas, devido às suas propriedades químicas. Além dos carotenóides serem alvos biotecnológicos na substituição dos pigmentos químicos pelos pigmentos naturais, estes compostos possuem efeito significativo nas respostas intracelulares e imunológicas, como por exemplo, suas propriedades antioxidantes, observando seu potencial no auxílio de alguns processos fisiológicos, como o combate aos radicais livres (Oliveira et al. Dados não publicados).

Os fungos se alimentam de matéria orgânica em decomposição e sua utilização é ampla indo desde a produção de medicamentos a utilização em indústrias alimentícias, porém sua utilização nem sempre pode ser benéfica, pois estes organismos têm a capacidade de deteriorar alguns alimentos, de forma que possa causar

efeitos nocivos ao organismo. A utilização da matéria orgânica presente faz com que esse microrganismo possa produzir metabólitos naturais chamados de micotoxinas (Umeoka et al, 2019).

Como destacado por Braga (2017), uma atenção especial deve ser dada aos cultivos de urucum localizados em zonas tropicais e subtropicais, pois estes são mais favoráveis à contaminação por fungos devido às condições de temperatura e umidade que tornam propensas a reprodução microbiana. A contaminação em grãos por fungos pode ocorrer no armazenamento, devido ao alto teor de umidade em silagem, na colheita e até mesmo no próprio solo. Porém a presença do fungo no alimento não confirma a presença de micotoxinas.

A contaminação pelas micotoxinas pode ocorrer através do consumo direto do alimento contaminado, seja ele processado ou in natura, ou do consumo indireto pela ingestão de carnes contaminadas. No caso do consumo indireto deve-se considerar que o urucum é utilizado no enriquecimento de rações, onde a toxina pode ser acumulada nos tecidos animais. Esta contaminação proveniente do consumo indireto também vem sendo descrita em leite e ovos. Nos alimentos é possível observar que a frequência de contaminações fúngicas tem aumentado, e os principais alimentos atingidos por essas contaminações são o milho, amendoim, soja,

especiarias e derivados (Brito et al, 2015; Silva, 2018).

As micotoxinas são excretadas na fase final do crescimento fúngico. Dos fungos mais conhecidos na literatura por contaminar produtos agrícolas, alguns pertencem aos gêneros, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. A maior problemática envolvida nestas toxinas são os efeitos agudos e crônicos apresentados em diversos animais (Silva, 2018).

Grande parte dos fungos patogênicos produzem os metabólitos chamados micotoxinas, estes metabólitos são altamente hepatotóxicos, carcinogênicos, teratogênicos, etc. Estudos apontam a existência de mais de 500 tipos de micotoxinas, e dentre as de maior importância estão as aflatoxinas (produzidas por *Aspergillus* e são divididas em B1, B2, G1, G2, M1 e M2), ocratoxinas (produzidas por algumas espécies de *Aspergillus* e *Penicillium*, e estas toxinas são divididas entre os tipos A, B, C, alfa e beta), fumonisinas, desoxinivalenol e zearalenona (produzidas por *Fusarium*) (Bonifácio et al, 2015).

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se sementes de Urucum vendidas a varejo pela da mesma empresa fornecedora, visando manter um padrão de análise. As sementes foram levadas para o

Laboratório de Microbiologia, localizado na Universidade Castelo Branco, Campus Realengo, Rio de Janeiro, onde foram armazenadas em freezer a -15°C até o momento de análise, assim evitando contaminações. Para serem analisadas, as sementes foram descongeladas em temperatura ambiente em estufa de secagem para manter os níveis de concentração de água.

As sementes foram pesadas e utilizadas de duas formas: 100 mg de sementes inteiras e 115mg de sementes moídas. A variação de peso aceitável entre as duplicatas foi de 0,05mg. A análise comparativa entre as sementes inteiras e moídas foi realizada visando comparar o crescimento através do aumento da superfície de contato, sendo assim verificando se existem contaminantes no interior da semente que não se manifestaram no seu exterior. Este processo foi feito utilizando um moedor de grãos.

Foram utilizados dois métodos de tratamento, o primeiro método consistiu no uso das sementes in natura, sem nenhum tipo de tratamento, apenas sendo diferenciadas pelo processo de trituração. O segundo método equivale à lavagem das sementes em 1,0 ml de hipoclorito a uma concentração de 2,5% (v/v) através de centrifugação em tubos de eppendorf e o processo de secagem realizado em câmara de fluxo laminar com o auxílio de papel filtro.

As amostras foram cultivadas em placas de petri estéreis contendo meio de cultivo Agar Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC). Além disso, uma comparação de crescimento foi realizada por meio de cultivo das sementes em estufa a 29°C e em temperatura ambiente, visando comparar o crescimento fúngico em temperatura ambiente com o crescimento condicionado a uma temperatura maior, auxiliando o crescimento fúngico. O crescimento foi acompanhado de 24 em 24 horas.

Através da diferenciação macroscópica foi realizada a contagem de quantos contaminantes de diferentes morfologias foram identificados em cada placa. O isolamento foi realizado através do método de repique em fluxo laminar utilizando alças de platina em formato de “L”, onde as placas foram incubadas durante 5 dias em estufa a 29°C .

A identificação das espécies fúngicas foi dada através da utilização do método de microcultivo em lâmina onde foi possível observar e identificar, através das estruturas de reprodução fúngicas, cada amostra isolada previamente. O tempo de incubação foi de 5 dias em estufa a 29°C . Após o crescimento as lamínulas e lâminas foram preparadas com o corante lactofenol azul de algodão e visualizadas em microscópio óptico em lente objetiva (aumento 1500x). A determinação de espécie foi feita através da análise da estrutura de reprodução

seguindo a chave de identificação com o auxílio de Henning, 2015, e Oliveira, 2013.

Foram consideradas como fungos de alta prevalência as espécies que se repetiram em três ou mais placas com as mesmas características macromorfológicas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi verificado que após 24 horas iniciou-se o crescimento de uma estrutura fúngica de macromorfologia algodoadosa nas amostras de sementes inteiras sob o tratamento com hipoclorito (Fig. 2).

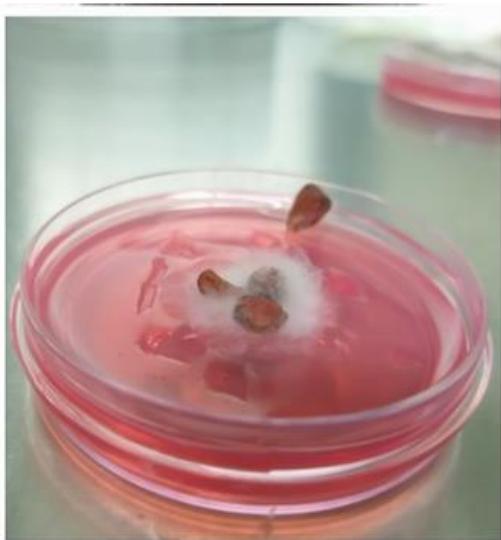


Fig 2: Crescimento fúngico em semente inteira lavada com hipoclorito após 24 horas em estufa a 29°C.

Após 48 horas foi possível analisar macroscopicamente o crescimento de mais de uma espécie fúngica em todas as placas, com exceção da amostra moída e lavada com hipoclorito cultivada em temperatura ambiente,

que apresentou apenas uma espécie em crescimento (Fig. 3).

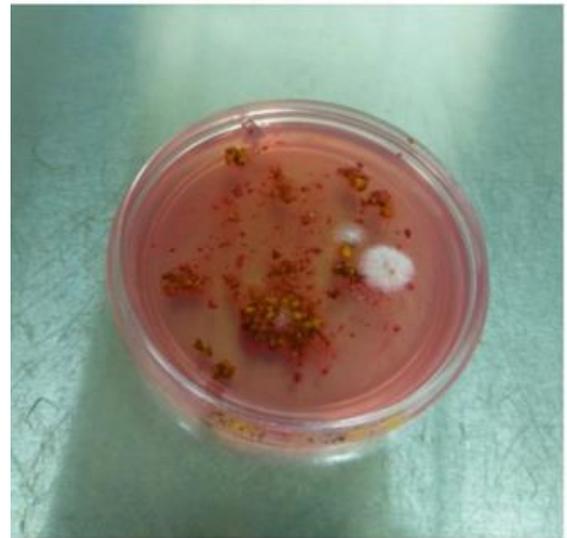


Fig 3: Crescimento fúngico em semente moída lavada com hipoclorito após 48 horas em temperatura ambiente.

As amostras foram separadas após 72 horas apresentando múltiplos crescimentos por placa. Nas amostras de semente moídas e lavadas com hipoclorito observou-se o crescimento de três espécies fúngicas na amostra cultivada a 29°C (Fig. 4). As sementes moídas e não lavadas apresentaram um crescimento de três espécies fúngicas na amostra cultivada em temperatura ambiente (Fig. 5). Na amostra cultivada a 29°C observou-se o crescimento de uma espécie em sobreposição, assim como as amostras de sementes inteiras lavadas com hipoclorito e as amostras de sementes inteiras não lavadas, logo, não foi possível observar ou isolar outras estruturas de relevância (Fig. 6).

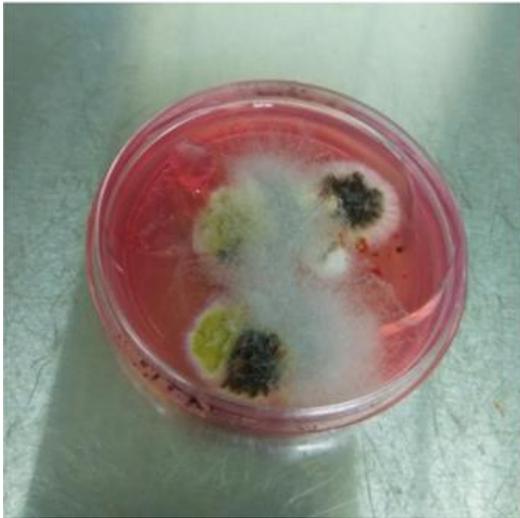


Fig 4: Crescimento fúngico em semente moída lavada com hipoclorito após 72 horas em estufa a 29°C.



Fig 5: Crescimento fúngico em semente moída não lavada após 72 horas em temperatura ambiente.



Fig 6: Amostras de urucum moído não lavado em estufa a 29°C, e inteiro lavado e não lavado, cultivado em ambas as temperaturas, após 72 horas.

Dois contaminantes foram isolados e repicados por apresentarem maior prevalência nas placas cultivadas, denominados fungos de maior relevância 1 e 2 (Fig. 7). A partir dos repiques foram realizados os microcultivos de cada placa. E através da leitura das lâminas de microcultivo das espécies repicadas (Figuras 8 e 9), seguindo a chave de identificação de Henning, 2015, foi possível descrever que o fungo de maior relevância 1 foi classificado como *Aspergillus flavus* e o fungo de maior relevância 2 foi classificado como *Aspergillus niger*.



Fig 7: Repiques fúngicos de maior relevância 1 (A) e 2 (B) em estufa a 29°C durante 5 dias.

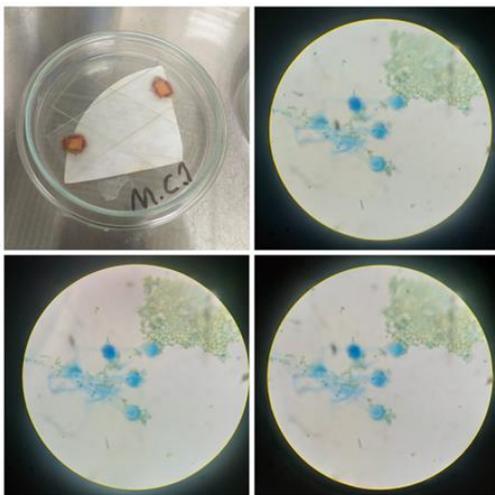


Fig 8: Microcultivo do fungo de maior relevância 1 e análise microscópica das estruturas de reprodução identificada como *Aspergillus flavus*.

Como constatado por Bonifácio et al. (2015), os alimentos em geral possuem microbiota natural, principalmente no seu exterior. Logo, é comum encontrar microrganismos como fungos e bactérias.

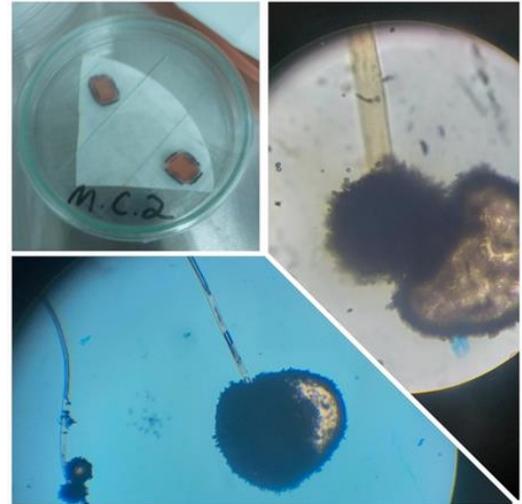


Fig 9: Microcultivo do fungo de maior relevância 2 e análise microscópica das estruturas de reprodução. Identificada como *Aspergillus niger*.

Nesse contexto, os fungos possuem papel de destaque por serem potenciais deterioradores. Portanto, as transformações indesejáveis nos alimentos devido à contaminação fúngica, são intrínsecas a sua natureza. A deterioração altera a composição química e estrutural do alimento, ocasionando uma perda econômica e desperdício do alimento. Sendo assim, independente do tipo de grão, métodos de higienização são necessários para manter a viabilidade desses gêneros.

Quando falamos dos danos causados nas sementes no processo de armazenamento, sabe-se que o crescimento fúngico está relacionado ao teor de umidade, aeração, temperatura e tempo de armazenamento dos grãos. Logo, no armazenamento, os fungos podem apresentar uma grande capacidade reprodutiva, causando danos à viabilidade do grão além da produção de toxinas como, aumento dos níveis de ácidos graxos e

rancificação de óleos, que são prejudiciais (Bonifácio et al, 2015).

Após a análise de crescimento fúngico das sementes de urucum, foi possível observar uma significativa contaminação desses grãos, visto o crescimento de fungos como *A. niger* e *A. flavus*, corroborando os resultados apresentados no estudo de Bonifácio et al. (2015), que verificaram a presença de fungos em amostras de amendoim identificados como do gênero *Aspergillus*. Em Goldfarb et al (2010), também foi identificado que os fungos do gênero *Aspergillus* são um dos fungos mais encontrados em grãos e sementes armazenadas, o que sustenta a necessidade do controle dos grãos, visto que este grupo está ligado a produção de uma micotoxina extremamente tóxica. Em acordo com os nossos resultados, em um estudo realizado por Katsurayama e Taniwaki (2017), as espécies que mais produzem as aflatoxinas são *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* e *Aspergillus nomius*, sendo *A. flavus* tendo sido identificado nas amostras das sementes de urucum.

As micotoxinas são divididas pelo seu nível de toxicidade, e as micotoxinas com maior prevalência e relevância econômica são as aflatoxinas (AF), fumonisinas (FB), desoxinivalenol (DON) e zearalenona (ZEA). Dentre as aflatoxinas, define-se que a aflatoxina B1 é a que apresenta a maior toxicidade e o percentual decresce nas aflatoxinas M1, G1, B2, M2 em paridade com a G2 (Figura 10). Essas

micotoxinas requerem atenção por apresentar potencial carcinogênico, teratogênico e mutagênico à saúde humana (Souto et al, 2017; Silva, 2018).

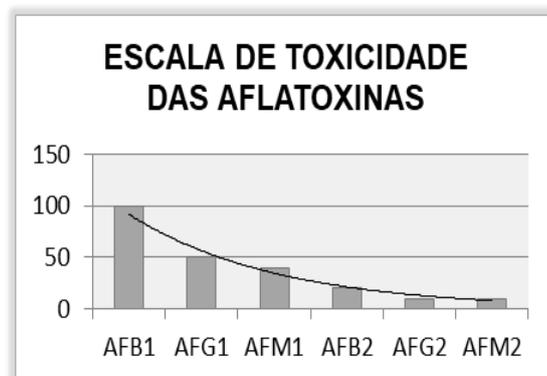


Fig 10: Valores comparativos da toxicidade média das aflatoxinas B1 (AFB1), B2 (AFB2), G1 (AFG1), G2 (AFG2) M1 (AFM1) e M2 (AFM2). Dados representados em porcentagem.

Não apenas grãos de urucum e amendoim foram identificados com contaminantes. Como mostrado apresentado por Katsurayama e Taniwaki (2017) em amostras de arroz já foram detectadas as micotoxinas aflatoxinas, Ocratoxina A, Desoxinivalenol, Zearalenona e Fumonisina, que podem, inclusive, ocorrer conjuntamente.

Uma vez que as indústrias do setor de processamento de grãos costumam trabalhar com mais de um tipo de grão, descreveu-se, em um estudo realizado por Andrade e Lanças (2015), que o processo de moagem pode vir a redistribuir e concentrar quantidades de micotoxinas nos moinhos onde não só um tipo de semente é triturado. Nessas situações, a contaminação de outros grãos e a diluição da quantidade total de

micotoxinas é distribuída em doses menores em grãos em geral.

Nos resultados observados neste trabalho, tanto nas amostras de sementes inteiras, quanto nas amostras de sementes moídas, observou-se o crescimento das estruturas fúngicas. Tais resultados são confirmados com os estudos observados na literatura onde são descritas que algumas espécies fúngicas são capazes de contaminar os grãos em diversas etapas da sua preparação.

Encontra-se na RDC nº 274, publicada em 15 de outubro de 2002, pela agência nacional de vigilância sanitária, o estabelecimento do limite máximo tolerado de micotoxinas em leite fluido, em pó e amendoins. Na RDC nº 7, publicada em 18 de fevereiro de 2011, os níveis não foram alterados, porém em nenhuma das RDCs são descritos níveis toleráveis em urucum ou categorias onde o urucum pudesse ser alocado (ANVISA, 2002; 2011).

Conclui-se que, com base na literatura e nos experimentos realizados, a contaminação fúngica dos grãos de urucum está presente. Observou-se o crescimento de espécies fúngicas em amostras in natura e sanitizadas, o que indica uma contaminação fúngica profunda, de forma que apenas a sanitização externa não é capaz de inibir o crescimento desses microrganismos.

Faz-se necessário uma vigilância sanitária mais abrangente, vista à importância econômica

do urucum, onde este insumo seja inserido adequadamente nas legislações vigentes sob um controle mais rígido quanto à quantidade de contaminantes presentes. Além disso, métodos preventivos de crescimento microbiano devem ser adotados.

Um exemplo de método que poderia ser eficaz para controle no armazenamento desses grãos seria o método de aeração de grãos, que força a passagem de ar ambiente ou condicionado dos grãos, onde o objetivo principal é a uniformização da temperatura. Desta forma, a conservação do produto armazenado poderia ser aprimorada.

Destaca-se que através da utilização do gás ozônio na detoxificação dos grãos, onde o gás ozônio que possui potencial oxidativo, destrói a parede celular do microrganismo, pode-se obter uma redução da produção de metabólitos indesejáveis sem causar danos ambientais e sendo esta prática economicamente viável.

REFERÊNCIAS

ANDRADE MA, LANÇAS FM. 2015. State-of-the-art in the chromatographic analysis of Ochratoxin A in food samples. *Scientia Chromatographica*, 7(1).

ANVISA, Resolução nº 274, de 15 de outubro de 2002.

ANVISA, Resolução nº 7, de 18 de fevereiro de 2011.

BONIFÁCIO TZ, MARTINELLI TCA, MARMITT BG, ROMÃO NF, SOBRAL FOS. 2015. Assessment of fungal contamination in peanuts marketed in bulk in the municipality of jiparaná-ro. South American journal of basic education, technical and technological, V.2, c.1, p.17-29.

BRAGA CMSR, HOLANDA EGM, BARBOSA MBC, GOMES EBS. 2017. Detecção presuntiva de aflatoxinas em amendoins comercializados na cidade do Recife, PE, Brasil. Infarma ciências farmacêuticas, v29, e.2:pp141-146.

BRITO JB, QUEIROZ AJM, FIGUEIRÊDO RMF, OLIVEIRA AS. 2015. Armazenamento de grãos residuais de urucum sob atmosfera controlada. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.19, n.12, p.1185–1191.

CAPELLA SO, TILLMANN MT, FÉLIX AOC, FONTOURA EG, FERNANDES CG, FREITAG RA, SANTOS MAZ, FÉLIX SR, NOBRE MO. 2016. Potencial cicatricial da *Bixa orellana* L. em feridas cutâneas: estudo em modelo experimental, Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.68, n.1, p.104-112.

DORNELAS CSM, ALMEIDA FAC, NETO AF, SOUSA DMM, EVANGELISTA AP. 2015. Desenvolvimento na maturação de frutos e

sementes de Urucum (*Bixa orellana* L.), Scientia Plena, v.11, n.01.

FERREIRA RL, NOVEMBRE ADLC. 2016. Estimate of vigour in seeds and seedlings of *Bixa orellana* L. Revista Ciência Agronômica, v. 47, n. 1, p. 101-107..

GOLDFARB M, DUARTE MEM, MATA MERMC, NASCIMENTO LC, BRITO NM, SOUTO FM. 2010. Incidência de fungos e qualidade fisiológica de sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) após o armazenamento criogênico. Rev. Biotemas, v.23, p. 19-26.

HENNING AA. 2015. Guia prático para identificação de fungos mais frequentes em sementes de soja. Embrapa, 33p, 1ª Edição.

KATSURAYAMA AM, TANIWAKI MH. 2017. Fungi and aflatoxins in rice: occurrence and significance to consumer health. Braz. J. Food Technol., Campinas, v. 20, e2017006.

MESQUITA SS, TEIXEIRA CMLL, SERVULO EFC. 2017. Carotenoides: Propriedades, Aplicações e Mercado, Revista Virtual Química, v.9 (2): 672-688.

OLIVEIRA JC. 2013. Atlas de micologia médica, Controllab.

SANTOS EJ, LOURENZANI WL, LOURENZANI AEBS. 2018. Histórico e ascensão do urucum na microrregião de dracena -

São Paulo. Brazilian Journal of Biosystems Engineering, v.12 (1): 29-39.

SILVA SO, CARVALHO JM, PEREIRA EC, MELO LMCL, ARAÚJO RS. 2018. Atividade antimicrobiana e caracterização físico-química de urucum (*Bixa orellana* L.) em diferentes estádios de maturação. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.20, n.1, p.49-57.

SOUTO PCMC, AUGUSTO L, DI GREGORIO MC, OLIVEIRA CAF. 2017. Principais micotoxicoses em suínos. Vet. e Zootec. v.24(3): 480-494.

UMEOKA LP, BOHN B, FIORI R, JAQUES CA, BAPTISTÃO M. 2019. Comparação de custo-benefício de dois métodos de extração de aflatoxinas b1, g1, b2, g2 em amostras de açúcar mascavo: extração quechers x extração líquido – líquido. Revista de Iniciação Científica da ULBRA Canoas, n.17, p.1-12.