

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DOS ALIMENTOS**

**CONTAMINAÇÃO FÚNGICA DE ESPECIARIAS E
POTENCIAL MICOTOXIGÊNICO DOS ISOLADOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Marcelo Valle Garcia

Santa Maria, RS, Brasil

2015

CONTAMINAÇÃO FÚNGICA DE ESPECIARIAS E POTENCIAL MICOTOXIGÊNICO DOS ISOLADOS

Marcelo Valle Garcia

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

Orientadora: Prof^a Dr^a Marina Venturini Copetti

Santa Maria, RS, Brasil

2015

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Valle Garcia, Marcelo
Contaminação fúngica de especiarias e potencial
micotoxigênico dos isolados / Marcelo Valle Garcia.-2015.
68 p.; 30cm

Orientadora: Marina Venturini Copetti
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2015

1. Fungo 2. Micotoxinas 3. Pimenta 4. Condimento I.
Venturini Copetti, Marina II. Título.

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

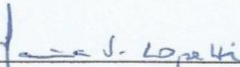
A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**CONTAMINAÇÃO FÚNGICA DE ESPECIARIAS E POTENCIAL
MICOTOXIGÊNICO DOS ISOLADOS**

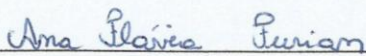
elaborada por
Marcelo Valle Garcia

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos

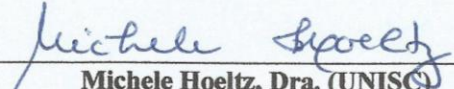
COMISSÃO EXAMINADORA:



Marina Venturini Copetti, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)



Ana Flávia Furian, Dra. (UFSM)



Michele Hoeltz, Dra. (UNISC)

Santa Maria, 27 de outubro de 2015.

Aos meus pais, Bento (*in memoriam*) e Maria Luísa,
Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos (PPGCTA) por viabilizarem a realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo importante aporte financeiro através da bolsa de estudos.

À professora Dra. Marina Venturini Copetti, minha orientadora, pela oportunidade, orientação, amizade, pelos ensinamos compartilhados desde a época da graduação e por acreditar no meu potencial. Meus mais sinceros agradecimentos.

Aos professores Dr. Cristiano Ragagnin de Menezes, Dra. Michele Hoeltz e a minha querida paraninfa Dra. Ana Flávia Furian. Com certeza as considerações de vocês ajudaram muito na realização deste trabalho.

À amiga e colega Angélica Olivier Bernardi pelos ensinamentos e conselhos, tanto no laboratório quanto na vida pessoal. Obrigado pelos momentos bons que juntos dividimos e que certamente ainda dividiremos.

Aos demais amigos e colegas do Laboratório de Micologia de Alimentos, Camila, Cátia, Daiana, Raquel, Gilson, Vivian e Évelin por toda ajuda e pelos momentos divertidos que passamos nas horas de trabalho.

Ao Jardel Boscardin, por toda ajuda, tanto na formatação deste trabalho, quanto no incentivo para escrever e por tudo que tem me ensinado. Meu muito obrigado.

Aos colegas e amigos que fiz durante o mestrado. Angela, Augusto, Camila, Fernanda, Franciele, Jamila, Karine, Maritiele, Naiéli e Thaianne, obrigado pela amizade, pelo companherismo adquirido ao longo destes dois anos e por me acolherem tão bem. #TP

Aos meus amigos que mesmo de longe ou de perto torcem pelo meu sucesso.

À minha família, principalmente minha mãe Maria Luísa, pelo amor incondicional, apoio, incentivo e por me deixar seguir meu caminho em busca da tão sonhada realização profissional. Te amo.

Meu muito obrigado a todos!

*“Escolha um trabalho que você ame
e não terá que trabalhar um único dia em sua vida.”
(Confúcio)*

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

CONTAMINAÇÃO FÚNGICA DE ESPECIARIAS E POTENCIAL MICOTOXIGÊNICO DOS ISOLADOS

AUTOR: MARCELO VALLE GARCIA

ORIENTADOR: MARINA VENTURINI COPETTI

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 27 de outubro de 2015.

As especiarias em sua maioria são oriundas de países de clima tropical, os quais apresentam temperatura e precipitação pluviométrica elevadas, o que influencia a umidade do solo e favorece a multiplicação microbiana. Após sua colheita, estes produtos geralmente permanecem próximo ao solo, em temperatura ambiente para secagem, predispondo à contaminação e permitindo o crescimento de fungos. O objetivo deste estudo foi identificar espécies fúngicas presentes em 25 lotes de oito diferentes especiarias e verificar o potencial micotoxigênico das cepas isoladas. Para as amostras de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) e pimentas (*Piper nigrum*) preta e branca em grão, utilizou-se a técnica de plaqueamento direto após desinfecção em solução de hipoclorito de sódio 0,4 % por um minuto. As análises das amostras de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), canela (*Cinnamomum cassia*), erva-doce (*Pimpinella anisum*), pimenta calabresa (*Capsicum baccatum*), orégano (*Origanum vulgare*), e pimenta branca e preta moídas foram feitas através de diluição seriada, seguida de plaqueamento em superfície. As análises foram realizadas em triplicata, em meio Dicloran Glicerol 18 % (DG18), com incubação a 25 °C por sete dias. Decorrido este período, foi realizado o isolamento e identificação dos fungos seguindo-se as recomendações de meios de cultura e período de incubação de cada gênero. A capacidade micotoxigênica dos isolados foi verificada através do método de ágar-plug, seguido de cromatografia em camada delgada. Com exceção do cravo-da-índia, todas as especiarias apresentaram elevada contaminação fúngica, com predominância dos gêneros *Eurotium* e *Aspergillus*, e presença de *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp., além de *Rhizopus* sp., *Mucor* sp. e fungos demáceos. A frequência de *Aspergillus* spp. potencialmente toxigênicos foi intensa nas pimentas branca e preta com presença de *A. flavus* (até 32%), *A. nomius* (até 12 %), *A. parasiticus* (até 4 %), complexo *A. niger* (até 52 %), *A. ochraceus* (até 12 %) e *A. carbonarius* (até 4 %). Das 21 cepas isoladas e testadas de *A. flavus* na pimenta preta, 14,2 % apresentaram capacidade de produção de aflatoxina B₁ (AFB₁). Já na pimenta branca, 66,7 % dos *A. flavus* isolados apresentaram capacidade de produção de AFB₁. Dos isolados de *Aspergillus nomius* da pimenta branca, 100 % foram produtores de aflatoxina B₁ e B₂, enquanto que *A. parasiticus* provenientes da pimenta preta demonstraram potencial toxigênico de produção de AFB₁, B₂ e G₁ em 100 % e o único isolado da pimenta branca foi capaz de sintetizar as quatro aflatoxinas testadas (B₁, B₂, G₁ e G₂). Com relação aos fungos potencialmente produtores de ocratoxina A (OTA), dos dois *A. carbonarius* isolados da pimenta preta, 100 %, dos *A. ochraceus* 20 %, e dos *A. niger* 3,7 % foram capazes de sintetizar OTA. O orégano foi a especiaria com maior número de isolados de *A. niger* testados (49), entretanto, apenas 2,04 % apresentou capacidade de produção de OTA. Conclui-se que as especiarias analisadas neste estudo apresentaram ampla contaminação por fungos de espécies potencialmente micotoxigênicas, o que pode constituir um perigo para a saúde dos consumidores.

Palavras-chave: *Aspergillus* spp. Fungo. Micotoxina. Pimenta. Condimento.

ABSTRACT

Master Dissertation
Program of Post Graduation in Food Science and Technology
Federal University of Santa Maria

FUNGAL CONTAMINATION OF SPICES AND MYCOTOXIGENIC POTENTIAL OF ISOLATED

AUTHOR: MARCELO VALLE GARCIA

ADVISOR: MARINA VENTURINI COPETTI

Date and place: Santa Maria, October 27th, 2015.

Spices are mostly originary from tropical countries, which have high temperature and rainfall, which influences soil moisture and promotes microbial growth. After harvesting, these products generally remain close to the ground, at ambient temperature for drying, predisposing to contamination and allowing the growth of fungi. The objective of this study was to identify fungal species present in 25 batches of eight different spices and check the mycotoxigenic potential of isolated strains. For samples of clove (*Syzygium aromaticum*) and black and white peppers (*Piper nigrum*) beans, the direct plating technique was used after disinfection with sodium hypochlorite 0.4% for one minute. Analyses of rosemary samples (*Rosmarinus officinalis*), cinnamon (*Cinnamomum cassia*), fennel (*Pimpinella anisum*), pepper pepperoni (*Capsicum baccatum*), oregano (*Origanum vulgare*), and white and black ground pepper were done by serial dilution followed by plating on the surface. The analyses were performed in triplicate in 18% Dichloran Glycerol (DG18) and incubated at 25 ° C for seven days. After this period, we carried out the isolation and identification of fungi following the recommendations of culture media and incubation period of each gender. The mycotoxigenic capacity of the isolates was verified by agar plug method, followed by thin layer chromatography. Aside from clove, all the spices showed highly fungal contamination, especially presence of *Eurotium* and *Aspergillus*, and *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp., *Rhizopus* sp., *Mucor* sp. and dematiaceous. The occurrence of potentially toxigenic *Aspergillus* spp. was intense in the white and black peppers with the presence of *A. flavus* (up to 32%), *A. nomius* (up to 12%), *A. parasiticus* (up to 4%), *A. niger* complex (up to 52%), *A. ochraceus* (up 12%) and *A. carbonarius* (up to 4%). Of the 21 strains isolated and tested *A. flavus* in black pepper, 14.2% showed aflatoxin B₁ (AFB₁) production capacity. In the white pepper, 66.7% of the isolates *A. flavus* showed AFB₁ production capacity. From the isolates of *Aspergillus nomius* in white pepper, 100% were able to produce aflatoxin B₁ and B₂, while *A. parasiticus* from black pepper demonstrated potential toxigenic production AFB₁, B₂, and G₁ in 100% and the only isolated from white pepper was capable of synthesizing the four tested aflatoxins (B₁, B₂, G₁ and G₂). About the potentially ochratoxin A producing fungi (OTA), the two isolates of *A. carbonarius* in black pepper, 100%, 20% of *A. ochraceus*, *A. niger* and 3.7% were able to synthesize OTA. Oregano is the spice with the highest number of isolates of *A. niger* tested (49), however, only 2.04% had OTA production capacity. We conclude that the spices analyzed in this study showed widespread contamination by fungi and potentially mycotoxigenic species, which may constitute a danger to the health of consumers.

Keywords: *Aspergillus* spp. Fungi. Mycotoxin. Pepper. Spices.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais especiarias utilizadas na culinária com respectivo nome comum e parte utilizada.....	13
Tabela 2 - Teores de atividade de água (a_w) das especiarias analisadas.....	29
Tabela 3 - Média de infecção, frequência de ocorrência (FO) e variação de infecção fúngica (VI) em amostras de alecrim (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.).	32
Tabela 4 – Média de infecção, frequência de ocorrência (FO) e variação de infecção fúngica (VI) em amostras de canela (<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Ness).	33
Tabela 5 – Média de infecção, frequência de ocorrência (FO) e variação de infecção fúngica (VI) em amostras de erva-doce (<i>Pimpinella anisum</i> L.).	35
Tabela 6 – Média de infecção, frequência de ocorrência (FO) e variação de infecção fúngica (VI) em amostras de pimenta branca (<i>Piper nigrum</i> L.).	36
Tabela 7 – Média de infecção, frequência de ocorrência (FO) e variação de infecção fúngica (VI) em amostras de pimenta calabresa (<i>Capsicum baccatum</i> L.).	37
Tabela 8 – Média de infecção, frequência de ocorrência (FO) e variação de infecção fúngica (VI) em amostras de pimenta preta (<i>Piper nigrum</i> L.).	39
Tabela 9 – Média de infecção, frequência de ocorrência (FO) e variação de infecção fúngica (VI) em amostras de orégano (<i>Origanum vulgare</i> L.).	40
Tabela 10 – Capacidade micotoxigênica dos isolados nas especiarias analisadas.	42

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice A – Ocorrência geral de fungos filamentosos nas especiarias analisadas. .. 64

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1 Especiarias.....	12
2.2 Especiarias avaliadas no estudo	14
2.2.1 Alecrim (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.).....	14
2.2.2 Canela-da-china (<i>Cinnamomum cassia</i> Ness).....	15
2.2.3 Cravo-da-índia (<i>Syzygium aromaticum</i> L.)	15
2.2.4 Erva-doce (<i>Pimpinella anisum</i> L.)	16
2.2.5 Pimenta calabresa (<i>Capsicum baccatum</i> L.)	17
2.2.6 Pimenta branca e pimenta preta (<i>Piper nigrum</i> L.).....	18
2.2.7 Orégano (<i>Origanum vulgare</i> L.)	20
2.3 Contaminação fúngica de especiarias	21
2.4 Potencial micotoxigênico de fungos	23
3 OBJETIVOS	25
3.1 Objetivo geral.....	25
3.2 Objetivos específicos.....	25
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4.1 Material	26
4.1.1 Especiarias avaliadas.....	26
4.2 Métodos	26
4.2.1 Análise de atividade de água (a_w).....	26
4.2.2 Avaliação quantitativa dos fungos filamentosos	27
4.2.3 Identificação dos fungos filamentosos	27
4.2.4 Teste da capacidade micotoxigênica	28
4.2.5 Análise dos dados.....	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1 Atividade de água (a_w).....	29
5.2 Avaliação quantitativa e identificação dos fungos filamentosos	30
5.3 Teste da capacidade micotoxigênica dos isolados.....	41
6 CONCLUSÕES	45
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47

1 INTRODUÇÃO

Conforme levantamento efetuado ao longo de 2012 pelo SEBRAE, considerando a tendência mundial do consumo de alimentos, as especiarias apresentam forte potencial de crescimento, uma vez que é significativa a mudança de comportamento da sociedade onde é cada vez mais expressiva a valorização da gastronomia e da harmonização entre alimentos e bebidas, além da valorização de ingredientes regionais. O mercado de ervas e especiarias orgânicas mostra-se atualmente com uma taxa média de crescimento em torno de 30 % anuais, enquanto o mercado convencional cresce cerca de 2 % ao ano (SEBRAE, 2013).

Segundo a legislação brasileira, entende-se por especiarias os produtos constituídos de partes (raízes, rizomas, bulbos, cascas, folhas, flores, frutos, sementes, talos) de uma ou mais espécies vegetais, tradicionalmente utilizadas para agregar sabor ou aroma aos alimentos e bebidas (BRASIL, 2005). Embora sejam consumidas em todo o mundo, são produzidas geralmente em países de clima tropical, como o Brasil.

Apesar das especiarias serem consideradas produtos não perecíveis, sob condições normais de armazenamento e de algumas até possuírem propriedades antimicrobianas e antioxidantes que lhes permite ajudar na conservação de alimentos (ASCENÇÃO; FILHO, 2013), alguns destes produtos podem constituir uma importante fonte de contaminação microbiana (RUIZ-MOYANO et al., 2009; DA SILVA et al., 2012a; MAGHUBI et al., 2013; TEIXEIRA-LOYOLA et al., 2014).

É sabido que em regiões tropicais, de onde a maioria das especiarias é oriunda, é típica a ocorrência de elevados valores de temperatura, umidade e índices de pluviosidade, e que estes parâmetros são propícios para o desenvolvimento de micro-organismos, sobretudo fungos. Uma vez que os micro-organismos se encontram amplamente distribuídos no solo, matéria orgânica e água, é a partir destas fontes que os mesmos chegam até os alimentos, tanto de origem animal, quanto vegetal (PITT; HOCKING, 2009). Adicionalmente, pode haver a multiplicação de fungos sobre as especiarias durante a desidratação, conferindo-lhes alta carga de células viáveis que podem contaminar os produtos. Como eles são adicionados a outras preparações, se estiverem contaminados, acabam por elevar a carga microbiana de outros alimentos.

Também se deve considerar que as especiarias são produzidas em zonas tropicais ou subtropicais com características sanitárias deficientes, onde as condições de manuseio,

secagem e armazenamento são extremamente precárias, aliadas a climas quentes e úmidos, as tornam susceptíveis a contaminação microbiana potencial (McKEE, 1995; MAGHUBI et al., 2013; GUPTA; BALA; SHARMA, 2015). As fontes de contaminação podem ser humanas ou animais (insetos, aves e roedores), podendo encontrar-se entre as especiarias materiais estranhos como pedras, metais, vidro, areia, penas, insetos e seus fragmentos, cabelos e excrementos (MACRAE; ROBINSON; SADLER, 1993).

Além do aspecto de alteração nas características sensoriais das especiarias, decorrentes do desenvolvimento de fungos e subsequente depreciação de seu valor de mercado, há uma preocupação adicional no que concerne à possibilidade de formação de micotoxinas, as quais representam um perigo à saúde pública (PITT; HOCKING, 2009).

Visando minimizar o problema, recentemente, o *Codex Alimentarius* criou um comitê específico para especiarias e ervas culinárias, onde o principal objetivo é o estabelecimento de normas internacionais e elaboração de um código de práticas para a produção segura de especiarias e ervas aromáticas. Com isso, deseja-se introduzir preceitos higiênico-sanitários durante a produção e beneficiamento destes ingredientes, visando a proteção da saúde do consumidor. Associado a isso, a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) realizaram uma chamada internacional por dados sobre qualquer risco microbiológico associado a estes alimentos, a fim de identificar os agentes que representem um perigo aos consumidores associados a especiarias e ervas aromáticas secas (FAO, 2013).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Especiarias

Ao longo da história, as especiarias e as ervas aromáticas constituíram um dos setores mais importantes da economia mundial, sendo os países mais ricos e poderosos os responsáveis pelo controle comercial destes produtos. O processo de comercialização das especiarias teve início nas civilizações egípcia, chinesa, grega e romana na época das grandes expedições marítimas, sendo então, a cultura da utilização destes produtos espalhada pela Europa e resto do mundo (CASTRO, 1985).

As especiarias podem ser definidas como "produto vegetal utilizado para dar sabor, temperar e transmitir aromas em alimentos" (FAO, 2005). Provenientes de plantas com características especiais, estes condimentos não têm apenas a função de realçar o sabor ou dar gosto especial aos alimentos, pois, quando usados de forma adequada, têm um importante papel na digestão do homem, por promoverem maior salivação, secreção mais abundante das glândulas digestivas e aumento do peristaltismo intestinal, facilitando, assim, a degradação do alimento até a fase final (RODRIGUES et al., 2005).

Segundo definição da Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) nº 276 de 22 de setembro de 2005, entende-se por especiarias os produtos constituídos de partes (raízes, rizomas, bulbos, cascas, folhas, flores, frutos, sementes, talos) de uma ou mais espécies vegetais, tradicionalmente utilizadas para agregar sabor ou aroma aos alimentos e bebidas (BRASIL, 2005).

Diferentes especiarias tais como, pimenta, páprica, orégano, cominho, gengibre, açafraão, são produzidas principalmente na Índia, Indonésia, Brasil, Marrocos, Malásia e Turquia, e além de serem utilizadas para aumentar e/ou acrescentar sabor ao alimento, possuem uma finalidade secundária de conservação, devido, sobretudo as suas propriedades antioxidantes (PRADO et al., 2008; MORAIS et al., 2009). Também, muitas destas plantas têm sido utilizadas em razão de suas características antimicrobianas, devido aos compostos sintetizados no metabolismo secundário das mesmas. Estes produtos são conhecidos por suas substâncias ativas, como, por exemplo, compostos fenólicos que estão presentes em seu óleo essencial (SANTOS et al., 2011; AFFONSO et al., 2012; PITARO; FIORINI; JORGE, 2012).

Uma vez que as especiarias são produtos naturais, elas têm sido cada vez mais utilizadas por consumidores que procuram sabores peculiares, de qualidade, naturais, mais saudáveis, frescos, livres de aditivos e com menor quantidade de sal e gordura, além de sofrerem o menor processamento possível. Porém, outro requisito indispensável é que estes produtos apresentem uma vida útil longa e sejam inócuos com relação à presença de micro-organismos patogênicos e suas toxinas (BEDIN; GUTKOSKI; WIEST, 1999).

Na Tabela 1 são apresentadas as principais especiarias utilizadas na culinária e as respectivas partes utilizadas na preparação de alimentos.

Tabela 1 – Principais especiarias utilizadas na culinária com respectivo nome científico e parte utilizada.

Nome comum (Nome científico)	Parte do vegetal utilizada
Açafrão (<i>Crocus sativus</i> L.)	Estigmas florais
Alecrim (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.)	Folhas e talos
Alho (<i>Allium sativum</i> L.)	Bulbos
Alho porro (<i>Allium porrum</i> L.)	Folhas e talos
Baunilha (<i>Vanilla planifolia</i> Jacks.)	Frutos
Canela-da-china (<i>Cinnamomum cassia</i> Ness ex Blume)	Cascas
Canela-do-ceilão (<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Ness)	Cascas
Cebola (<i>Allium cepa</i> L.)	Bulbos
Cebolinha verde (<i>Allium schoenoprasum</i> L.)	Folhas e talos
Coentro (<i>Coriandrum sativum</i> L.)	Talos, folhas e frutos
Cominho (<i>Cuminum cyminum</i> L.)	Frutos
Cravo-da-índia (<i>Syzygium aromaticum</i> L., <i>Caryophyllus aromaticus</i> L. ou <i>Eugenia caryophyllata</i> Thumb)	Botões florais
Cúrcuma (<i>Curcuma longa</i> L. e <i>Curcuma domestica</i> Valenton)	Rizomas
Erva-doce ou anis ou anis doce (<i>Pimpinella anisum</i> L.)	Frutos
Gengibre (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe)	Rizomas
Gergelim (<i>Sesamum indicum</i> L.)	Sementes
Orégano chileno (<i>Origanum vulgare</i> L.)	Folhas e talos
Páprica (<i>Capsicum annuum</i> L.)	Frutos
Pimenta branca, preta, verde ou pimenta-do-reino (<i>Piper nigrum</i> L.)	Frutos
Pimenta-de-caiena (<i>Capsicum baccatum</i> L.)	Frutos
Pimentão vermelho, verde e amarelo, pimenta doce (<i>Capsicum annuum</i> L.)	Frutos
Salsa (<i>Petroselinum sativum</i> Hoffm. ou <i>Petroselinum crispum</i> (Mill.) Nyman.)	Folhas e talos
Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> L.)	Frutos
Urucum (<i>Bixa orellana</i> L.)	Sementes

Fonte: Adaptado de Brasil (2005).

2.2 Especiarias avaliadas no estudo

2.2.1 Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.)

O alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) é uma planta aromática pertencente à família Lamiaceae (ALI et al., 2000; BEGUM et al., 2013). Originária do sul da Europa e do norte da África, foi trazida para o Brasil na época da colonização (MARTINS et al., 1998). Tem sido utilizada por milhares de anos para aspectos culinários e medicinais, principalmente devido às suas propriedades aromáticas e benefícios à saúde (HOLMES, 1999).

O alecrim é frequentemente utilizado na cozinha tradicional mediterrânea para aromatizar alimentos como condimento. As formas básicas de utilização da especiaria em preparações culinárias são as folhas pulverizadas frescas e/ou secas, e estas possuem um sabor amargo e adstringente (PETER, 2012).

Atualmente, o alecrim tem sido amplamente investigado como aditivo alimentar, sendo que esta planta pode ser adicionada diretamente ao alimento ou incorporada em algumas embalagens, funcionando como agente antimicrobiano e antioxidante (RIBEIRO-SANTOS et al., 2015). A atividade antibacteriana e antifúngica do alecrim, devido à presença de óleos essenciais na planta, tem sido amplamente estudada (PACKER; LUZ, 2007; ROMANO et al., 2009; HUSSAIN et al., 2010; TEIXEIRA et al., 2013; PESAVENTO et al., 2015).

A operação de secagem empregada no alecrim pode implicar na diminuição de alguns atributos desta especiaria, como frescor e odor, mas pode aumentar consideravelmente outros, como a vida útil, podendo assim, facilitar o transporte e o armazenamento (DÍAZ-MAROTO et al., 2007). A desidratação de diferentes partes da planta pode ser realizada utilizando métodos diferentes, como por exemplo, secagem ao sol, secagem ao ar à temperatura ambiente, por convecção, forno e secagem por micro-ondas (ARSLAN; ÖZCAN, 2008; DÍAZ-MAROTO; VIÑAS; CABEZUDO, 2003; SZUMNY et al., 2010).

2.2.2 Canela-da-china (*Cinnamomum cassia* Ness)

Cinnamomum cassia Ness, popularmente conhecida como canela da China, é uma planta proveniente da Ásia e assim como a canela-do-ceilão (*Cinnamomum zeylanicum* Ness) é obtida de uma árvore da família Lauracea, mesma do louro. Os jesuítas foram os responsáveis pela introdução da canela no Brasil, onde as condições de solo favoreceram sua adaptação (ESALQ, 2003).

A casca desta canela tem sido utilizada como especiaria desde a antiguidade e sua utilização tem se dado ultimamente em tratamentos de distúrbios de circulação arterial, gastrite e doenças inflamatórias (CHOI et al. 2001; WANG et al. 2008).

O processamento ocorre através da retirada da casca do tronco na época das chuvas, quando a seiva é mais abundante, e depois a mesma é seca e enrolada manualmente em formato de canudo, o que passa a ser conhecido como canela em rama ou em pau. Os resíduos e as cascas quebradas se transformam em canela em pó (ESALQ, 2003).

A canela é considerada uma importante fonte de compostos voláteis responsáveis por um odor agradável, sendo assim bastante utilizada na indústria de aromatizantes, perfumarias, produtos medicinais e bebidas (JAYAPRAKASHA; RAO; SAKARIAH, 2003).

O óleo essencial obtido a partir da casca da canela e dos ramos jovens da planta tem sido bastante utilizado devido às suas propriedades antioxidantes, antibacterianas e antifúngicas (GENG et al. 2011).

Amplamente aplicada como condimento na preparação de alimentos, esta especiaria é utilizada na confecção de pães, doces, tortas, compotas e até de alguns tipos de carne; polvilhadas em arroz doce, pastéis e panquecas (GLOBO RURAL, 2015a).

2.2.3 Cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.)

Syzygium aromaticum L. ou popularmente conhecida como cravo-da-índia, é uma árvore sempre verde, em forma de coluna que pode chegar de 9 a 15 metros de altura (SELLAR, 2002; GLOBO RURAL, 2015b). Os brotos florais têm uma tonalidade marrom-avermelhada e as folhas são pequenas e de tom acinzentado. É natural das ilhas Molucas e da Indonésia, mas também é cultivada em Zanzibar, Madagascar e Java (SELLAR, 2002).

A Indonésia destaca-se como primeiro produtor mundial (73 % da produção mundial), sendo que mais de 90% da produção é destinada à indústria de *krekets*, que são cigarros compostos por uma mistura de tabaco e cravo-da-índia. O segundo grande país produtor é Madagascar, seguido do Brasil com uma produção de 6.000 toneladas/ano (VITA SPICE, 2009). No território brasileiro, o cultivo comercial da planta está concentrado principalmente nas cidades de Valença, Ituberá, Taperoá, Camamu e Nilo Peçanha, localizadas na região do baixo sul do Estado da Bahia, além do município de Una, mais ao sudeste baiano (GLOBO RURAL, 2015b).

Aromática e ligeiramente amarga, a flor do cravo-da-índia é bastante utilizada em sobremesas, como doces caseiros de abóbora, mamão verde, cidra, tendo lugar reservado no período de festas e também como ingrediente ou item decorativo dos pratos principais (GLOBO RURAL, 2015b).

Além da utilização na culinária, a espécie é explorada principalmente para extração industrial do óleo essencial obtido a partir dos botões florais, folhas e outras partes (LORENZI; MATOS, 2008). O óleo essencial do botão de cravo contém 17 % de óleo essencial e o talo que o acompanha contém 4,5–6 %. O óleo pode conter até 90 % de eugenol, tendo como segundo maior constituinte o cariofileno (CRAVEIRO; QUEIROZ, 1993).

Por ter o eugenol como componente majoritário do óleo essencial, estudos vêm sendo conduzidos para avaliar as propriedades medicinais deste composto obtido do extrato de cravo-da-índia, bem como a sua atividade antimicrobiana (HITOKOTO et al., 1980; SOUZA et al., 2004; PEREIRA et al., 2006; MARIATH et al., 2006; ASCENÇÃO; FILHO, 2013).

Affonso et al. (2012) relata as principais propriedades terapêuticas do cravo-da-índia, onde destaca-se: atividade antidiabética, efeito afrodisíaco, efeito antitumoral, efeito anestésico e anti-inflamatório, atividade anti-úlceras e também as atividades antimicrobianas, como um importante antiviral, antibacteriano, antifúngico, antiprotozoário e poderosa atividade inseticida.

2.2.4 Erva-doce (*Pimpinella anisum* L.)

A erva-doce (*Pimpinella anisum* L.) também conhecida como anis, é uma planta anual, herbácea, ereta (0,30-0,70 cm), aromática, apresentando flores brancas e dispostas em umbelas. Os frutos são do tipo aquênios, de sabor adocicado e aroma acentuado (TORRES,

2004). É originária da Ásia e cultivada no Brasil especialmente na Região Sul (LORENZI; MATOS, 2008).

Na cozinha ocidental, a parte de interesse da erva-doce é o fruto, embora seja dito erroneamente o termo “semente”, sendo utilizada estritamente na produção de pães e bolos (KATZER, 1998).

Bruneton (1991) atribui atividades antiespasmódica, inibidora da fermentação intestinal e carminativa a erva-doce. Boskabady e Ramazani-Assari (2001), constataram a ação broncodilatadora do óleo essencial e dos extratos etanólicos e aquosos desta planta que apresentaram forte atividade antioxidante e notável ação antibacteriana para bactérias (GÜLÇİN et al., 2003). Comprovou-se também que o óleo essencial da *P. anisum* pode reduzir os efeitos causados pelo uso da morfina (SAHRAEI et al., 2002).

No que diz respeito ao processamento, os principais cuidados em relação à produção segura de erva-doce, estão ligados ao processo de secagem. Apesar de ser uma prática comum a secagem ao sol e em cima de lonas ou área cimentada, isto pode trazer problemas como a contaminação e a perda de qualidade do produto. Sabe-se que a secagem ao sol não é recomendada para frutos aromáticos, tanto devido à possibilidade de perda de substâncias voláteis, quanto às transformações que podem ocorrer e acarretar a produção e acúmulo de substâncias que podem ser tóxicas. Outro ponto importante é que quando o processo de secagem ocorre deste modo, os frutos ficam expostos à contaminação ambiental (EMBRAPA, 2010).

Bugno et al. (2006) ressaltam que devido à presença destes componentes fitoterápicos e atributos sensoriais, a especiaria é amplamente utilizada pela população, o que gera uma preocupação para com a qualidade sanitária deste alimento, reforçando a necessidade de mais estudos que apontem os parâmetros microbiológicos do fruto.

2.2.5 Pimenta calabresa (*Capsicum baccatum* L.)

A pimenta calabresa, na verdade, não é um tipo de pimenta, mas sim o produto obtido a partir da desidratação e flocagem da pimenta dedo-de-moça (*Capsicum baccatum* L.) ou um *pool* de vários tipos de pimentas vermelhas (BONTEMPO, 2007; CORNEJO et al., 2012).

Segundo Dutra et al. (2010), a pimenta dedo-de-moça é uma das mais consumidas no Brasil, sendo ela produzida principalmente na região centro-oeste do país e também nas

regiões sul e sudeste do Brasil, por pequenos, médios e grandes produtores individuais ou integrados a agroindústria (CARVALHO et al., 2009).

Os frutos são alongados e pendentes, com coloração verde (imaturo) e vermelha (maduro), provocando ardência com moderação (BONTEMPO, 2007). A esta pimenta são atribuídas características organolépticas de cor brilhante, gosto salgado e aroma agradável, e, portanto, utilizada para melhorar o aroma natural e sabor dos alimentos (KARRASLAN; ARSLANGRAY, 2015).

A pungência ou picância das pimentas do gênero *Capsicum* deve-se a presença da capsaicina, substância química que confere à pimenta seu caráter ardido e propriedades benéficas à saúde (BONTEMPO, 2007). A capsaicina apresenta propriedades medicinais que pode atuar principalmente como cicatrizante, antioxidante e bactericida (SURCH, 2002; GOODWIN; HERTWIG, 2003; GREER, 2006; BONTEMPO, 2007; COSTA et al., 2009; CARVALHO; WIEST; CRUZ, 2010).

O processo de produção da pimenta calabresa consiste em triturar a matéria-prima e a pasta formada é colocada para secar sobre uma laje de cimento ao ar livre. A secagem fica comprometida pelas fortes e frequentes chuvas de verão que ocorrem durante a safra da pimenta, entre os meses de janeiro e maio. Com isso, os frutos colhidos levam cerca de uma semana para secar, fazendo com que muitos apodreçam ou fermentem, ocasionando alterações de coloração, aroma e sabor. As perdas com esse processo chegam a 40 %, por isso a utilização de secadores artificiais têm sido uma alternativa (CORNEJO; NOGUEIRA; WILBERG, 2005). Sabe-se também que durante a comercialização, transporte e armazenamento, a degradação dos frutos pode ocorrer devido aos danos mecânicos, perda de água pela transpiração, perda por exposição a extremos de temperatura, redução da energia armazenada por meio do processo respiratório e perdas provocadas por fungos, bactérias e insetos (FINGER; CASALI, 2006). No caso das pimentas, Henz e Moretti (2008) citam que a melhor temperatura de armazenamento é entre 7 °C e 12 °C, pois mantém a qualidade dos frutos por mais tempo, estendendo a sua vida pós-colheita.

2.2.6 Pimenta branca e pimenta preta (*Piper nigrum* L.)

As pimentas branca e preta ou pimenta-do-reino, como são conhecidas, são os frutos da *Piper nigrum* L. que têm aplicações culinárias. Originária das regiões tropicais da Índia e,

mais especificamente, da floresta Kerala do sul da África (PISSINATE, 2006), a pimenta-do-reino foi introduzida no Brasil durante o período da colonização pelos escravos no século XVII (EMBRAPA, 2004; OLIVEIRA; TESHIMA, 2010).

O Brasil é um dos maiores produtores de *P. nigrum*, oscilando entre a segunda e terceira posição no mercado mundial, sendo que das 50 mil toneladas produzidas por ano, o país exportou 45 mil, principalmente para a Europa e para os Estados Unidos (DUARTE; ALBUQUERQUE, 2005). Os estados do Pará e do Espírito Santo são responsáveis por 91,5 % da produção nacional, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2012).

A *P. nigrum* é considerada a única especiaria cujos frutos podem ser comercializados em quatro diferentes versões de grãos, sendo a preta, com os grãos em sua maioria maduros, debulhados das espigas e secos ao sol ou em secadoras; a branca, onde os grãos são debulhados, secos e descascados; a verde onde os grãos são debulhados ainda imaturos; e vermelha onde os grãos são amadurecidos e debulhados, embora a sua forma mais comum de comercialização seja a preta (EMBRAPA, 2004; PISSINATE, 2006; CARNEVALI; ARAÚJO, 2013).

Sendo assim, as pimentas branca e preta, na verdade são o mesmo fruto, dependendo do tempo de colheita e o modo de processamento. A pimenta branca é produzida a partir de bagos completamente maduros, enquanto a pimenta preta é produzida a partir de bagas verdes, mas totalmente desenvolvidos (AGBOR et al., 2006). Enquanto a pimenta preta é colhida antes da maturidade plena ser atingida e depois seca até uma apresentar uma pele enrugada fina, a pimenta branca é o núcleo do fruto maduro após a remoção da polpa (OMAFUVBE; KOLAWOLE, 2004).

Quimicamente, a pimenta contém lignanos, alcalóides, flavonóides, compostos aromáticos e amidas (JIROVETZ et al., 2002), componentes estes ligados à capacidade antioxidante elevada da pimenta branca e preta (AGBOR et al., 2006). Os frutos desta planta são utilizados como conservantes e também têm aplicações como inseticidas e ingredientes na indústria de cosméticos (DALZIEL et al., 1995; FERNANDES, 2001; FASAKIN; ABEREJO, 2002; NAKATANI et al., 1986). A pimenta preta pode ser utilizada mais diretamente como um tempero, ou ainda para produzir derivados, como óleo, enquanto a pimenta branca é usada exclusivamente como uma especiaria.

Jalili, Jinap e Noranizan (2012) relatam que a contaminação de especiarias como a pimenta é um problema mundial e que pode afetar o mercado internacional onde este fruto é um produto de grande destaque. Os autores relatam também que os contaminantes geralmente

associados à especiaria são os fungos, seus esporos e as micotoxinas. As condições sanitárias inadequadas durante a colheita e o processamento, principalmente na etapa de secagem, geralmente realizada com a exposição das pimentas ao sol por longos períodos, são os principais causadores da contaminação por estes micro-organismos (BANERJEE; SAKAR, 2003). Além disso, sabe-se que as pimentas são produzidas em países com climas tropicais e subtropicais, como o Brasil, de alta temperatura, umidade e chuvas, fatores estes que promovem o crescimento fúngico, podendo ocasionar a produção de micotoxinas (MARTINS; MARTINS; BERNARDO, 2001).

2.2.7 Orégano (*Origanum vulgare* L.)

O orégano (*Origanum vulgare* L.) ou também conhecido por manjerona selvagem, apresenta-se como espécie nativa do mediterrâneo, sendo hoje cultivada na Europa, América e Ásia. Caracteriza-se como uma planta vivaz aromática, com numerosos caules eretos quadrangulares pilosos, além de folhas ovaladas opostas e minúsculas flores terminais com coloração roxa ou cor-de-rosa dispostas em pequenos ramos compactos. A planta pode atingir até 90 cm de altura e cresce mais satisfatoriamente nas pradarias secas, em declives relvados, matagais e sob terrenos calcários. O vegetal apresenta odor herbáceo, amadeirado e levemente picante (LORENZI, 1991; FOREY; LINDSAY, 1996; SOUZA, 2006).

No Brasil, a espécie é cultivada principalmente nas regiões sul e sudeste, onde foi aclimatada há muito tempo, sendo bastante popular (GIACOMETTI, 1989). Mesmo sendo condimento de grande utilização no mercado, o Brasil ainda importa de outros países como Chile e países do mediterrâneo (CORRÊA et al., 2010). O valor importado em quilograma foi de 1.410.968 (2003) para 2.189.084 (2006), crescimento de 150 %. Os principais países exportadores foram o Chile, seguido do Peru, respondendo juntos por aproximadamente 90 % da importação brasileira (PRELA-PANTANO; TERAMOTO; FABRI, 2009).

A *O. vulgare* é uma das especiarias mais utilizadas na culinária brasileira no preparo de carnes, ovos, peixes, panificação e frutos do mar. Além disso, o óleo essencial de orégano também é utilizado na perfumaria (CASTRO; RAMOS, 2003).

Souza et al. (2005) classificaram o orégano como uma planta com alta atividade antioxidante. O óleo extraído é utilizado na composição de aromatizantes de alimentos e perfumes (LORENZI; MATOS, 2008), além de possuir efeito inibitório sobre diversas

bactérias alimentícias e fungos (SAHIN et al., 2004; YANISHLIEVA et al., 2006; SOUZA, 2006; SANTOS et al., 2011). Apesar dessas aplicações, a grande utilização é como especiaria na culinária, podendo ser utilizado em carnes, molhos de tomate e outros tipos de massas, sendo o ingrediente fundamental da pizza (PRELA-PANTANO; TERAMOTO; FABRI, 2009).

O processamento do orégano é baseado praticamente no processo de secagem das folhas. A secagem é realizada à sombra ou em estufas com regulação de temperatura não excedendo a 40 °C durante 24 horas. A luz solar não é aconselhável por reduzir a quantidade do óleo essencial presente na especiaria. Pode ser utilizada a secagem com métodos mistos, onde, deixam-se as plantas perderem um pouco de água na sombra e depois as mesmas são expostas ao sol. Outro método é colocar as plantas em câmaras frias (o frio retira um pouco de água) e depois secar ao sol ou em secadoras (PRELA-PANTANO; TERAMOTO; FABRI, 2009).

2.3 Contaminação fúngica de especiarias

Os fungos são considerados os contaminantes predominantes em especiarias, mas muitas populações microbianas são, provavelmente, residentes comensais sobre a planta que sobreviveram ao processo de secagem e estocagem (DA SILVA et al., 2012a). O desenvolvimento descontrolado de fungos sobre produtos agrícolas é de grande importância uma vez que pode levar a uma diminuição na qualidade sensorial e/ou nutricional dos alimentos. Sabe-se que de 5 a 10 % dos produtos agrícolas podem ser perdidos ou retirados do consumo humano ou animal devido à deterioração fúngica (COOK; JOHNSON, 2010).

As especiarias contêm, geralmente, grande número de bactérias e bolores, com capacidade de sobrevivência durante longos períodos de tempo em alimentos secos, uma vez que as condições de manipulação após colheita permitem uma contaminação extensiva e o crescimento microbiano; no entanto, estas características poderão ser atenuadas pela secagem, processo que reduz a população microbiana (ICMSF, 1986).

As condições sanitárias das plantações influenciam diretamente nos níveis de contaminação das especiarias, bem como os cuidados tomados durante a colheita e processamento. Como as especiarias são oriundas de diversos órgãos de vegetais, colhidas em regiões tropicais e subtropicais, submetidas a diversas variações de clima e secas de modo

artesanal, estão sujeitas à contaminação e a proliferação de micro-organismos, onde os fungos têm destaque. O armazenamento em galpões velhos, úmidos, mal ventilados, com paredes mofadas, também propiciam a inoculação de contaminantes nas especiarias e/ou a invasão por novas espécies a partir do ambiente (GERMANO; GERMANO, 1998). Erdogan (2004) relata também que frequentemente as especiarias permanecem no solo para secagem à temperatura ambiente, onde as condições ambientais são favoráveis ao crescimento de fungos e à produção de micotoxinas.

Além da secagem, outros métodos são utilizados para a maior conservação das especiarias, entre eles, a fumigação com óxido de etileno, método este que não é mais tão utilizado devido ao tempo prolongado para que ocorra seu efeito e também devido a formação de compostos tóxicos nos alimentos ao qual é exposto (BERNARDES, 1996). Assim, o uso de irradiação tem sido uma alternativa eficiente no aumento da vida útil destes alimentos e também na redução da contaminação por micotoxinas (SUHAJ et al., 2006; JALILI; JINAP; NORANIZAN, 2012), porém, o preço envolvido em maquinário e no processo em si, é elevado (AQUINO, 2007). A utilização de micro-ondas é uma alternativa, principalmente na conservação dos compostos voláteis responsáveis pelos aromas das especiarias (PLESSI; BERTELLI; MIGLIETA, 2001).

Com relação à contaminação fúngica, Pitt e Hocking (1997) relatam que os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Eurotium* são muitas vezes a biota dominante de especiarias secas, inteiras ou trituradas. A contaminação bacteriana das especiarias também tem sido amplamente estudada (FREIRE; OFORD, 2002; BANERJEE; SARKAR, 2003; KELLER et al., 2013; TEIXEIRA-LOYOLA et al., 2014).

Sagoo et al. (2009) ressaltam que a avaliação da microbiota de alimentos em relação às espécies fúngicas tem tradicionalmente recebido menos atenção que a avaliação da microbiota bacteriana. Entretanto, sabe-se que é de grande importância a quantificação e identificação da contaminação fúngica destes alimentos, haja vista que existem várias espécies produtoras de compostos tóxicos, sendo que estas podem ser produzidas no alimento sem qualquer visível alteração do substrato (BENNETT; KLICH, 2003).

Em julho de 2013, o *Codex Alimentarius* criou o comitê para especiarias e ervas culinárias, onde o principal objetivo é a avaliação da situação atual de contaminação microbiológica destes produtos e, a partir de então elaborar normas para a produção de especiarias e ervas aromáticas, em seu estado seco, desidratado ou em conjunto, rachado ou esmagado. Associado a isso, a FAO e a OMS têm ampliado seu apelo e realizaram uma chamada internacional por dados sobre qualquer risco microbiológico associado a estes

alimentos, a fim de identificar quaisquer agentes patogênicos de origem alimentar associados a especiarias e ervas aromáticas secas (FAO, 2013).

2.4 Potencial micotoxigênico de fungos

Os fungos podem ser responsáveis pela deterioração dos alimentos e ainda pela produção de micotoxinas, tornando-se um risco para o consumidor. Dessa forma, quando as especiarias são produzidas ou comercializadas em condições desfavoráveis, armazenadas em locais úmidos e mal ventilados, isto pode propiciar a multiplicação das espécies contaminantes que podem atingir níveis insatisfatórios para consumo (DA SILVA et al., 2012a). De acordo com Nunes (2003), a presença de fungos potencialmente toxigênicos encontrados em diferentes substratos deve ser considerado um indicativo em potencial para a contaminação por micotoxinas, que podem causar efeitos agudos e crônicos em várias espécies, nos diferentes órgãos e sistemas.

Vários fatores determinam a produção de micotoxinas, não estando necessariamente associados ao crescimento do fungo. Entre as espécies, o potencial micotoxigênico depende, basicamente, da linhagem do fungo, porém a composição físico-química da matriz e os fatores ambientais também são de grande importância (DRUSCH; RAGAB, 2003).

As micotoxinas são metabólitos fúngicos altamente tóxicos, alguns com propriedades carcinogênicas, e podem desencadear efeitos deletérios a saúde mesmo quando presentes em baixas quantidades, podendo assim representar um problema de saúde pública. É de conhecimento que a maior parte destes metabólitos é termorresistente, assim a principal maneira para se evitar este perigo seria por meio da prevenção de sua formação, através do controle fúngico (PITT; HOCKING, 2009).

A micotoxina mais tóxica e perigosa é a aflatoxina. Na verdade, a aflatoxina B₁ (AFB₁) é o agente cancerígeno hepático mais potente conhecido em mamíferos e é classificada pela Agência Internacional de Investigação do Câncer (IARC) no grupo 1 de moléculas que são cancerígenas, tanto para humanos quanto para animais (IARC, 1993; LIU; WU, 2010). As aflatoxinas também apresentam propriedades imunossupressoras (BONDY; PESTKA, 2000; MEISSONNIER et al., 2008) e estão envolvidas no comprometimento do crescimento em crianças (KHLANGWISSET; SHEPHARD; WU, 2011). Devido à sua toxicidade, mais de cem países criaram regulamentos para aflatoxinas em alimentos e rações

(FAO, 2004; UNIÃO EUROPÉIA, 2006). No Brasil, a ANVISA determina o máximo de 20 µg/kg de aflatoxina em especiarias (BRASIL, 2011).

As aflatoxinas são produzidas por fungos que pertencem ao gênero *Aspergillus* e, especialmente, por *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* e *Aspergillus nomius*. Estas espécies fúngicas são contaminantes mundiais de muitos alimentos e produtos agrícolas, entre eles, as especiarias (PITT; HOCKING, 2009).

Outra micotoxina de interesse em alimentos é a ocratoxina A (OTA). A OTA é uma nefrotoxina que pode afetar a função renal em várias espécies animais, causando danos para uma variedade de tecidos. Também é considerada imunossupressora, teratogênica e possui efeitos genotóxicos em animais e possivelmente, em seres humanos (PITT; HOCKING, 2009). Segundo a IARC, a OTA é classificada no grupo 2B, ou seja, possivelmente carcinogênica para humanos (IARC, 1993).

Em ambientes com temperaturas mais baixas a OTA é essencialmente produzida por fungos do gênero *Penicillium* (*Penicillium verrucosum* e *Penicillium nordicum*), enquanto que em áreas mais quentes (tropicais e subtropicais) é produzida por fungos do gênero *Aspergillus* (BENNETT; KLICH, 2003), em especial por *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus ochraceus* (PITT; HOCKING, 2009). A legislação brasileira determina que as especiarias devam apresentar o teor máximo de 30 µg/kg de OTA (BRASIL, 2011).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Com este trabalho, objetivou-se avaliar a contaminação fúngica nas seguintes especiarias: alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), canela (*Cinnamomum zeylanicum* Ness), cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.), erva-doce (*Pimpinella anisum* L.), pimenta branca e pimenta preta (*Piper nigrum* L.), pimenta calabresa (*Capsicum baccatum* L.) e orégano (*Origanum vulgare* L.) e verificar o potencial micotoxigênico de espécies selecionadas.

3.2 Objetivos específicos

Como objetivos específicos, pretendeu-se:

- Determinar a atividade de água (a_w) das especiarias;
- Isolar e identificar fungos filamentosos que compõe a microbiota das especiarias;
- Verificar a produção de aflatoxinas e ocratoxina A pelas espécies micotoxigênicas encontradas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Especiarias avaliadas

Foram utilizadas para análise 25 diferentes lotes de oito tipos de especiarias, sendo: alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), canela (*Cinnamomum cassia* Ness.), cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.), erva-doce (*Pimpinella anisum* L.), pimenta branca e pimenta preta (*Piper nigrum* L.), pimenta calabresa (*Capsicum baccatum* L.) e orégano (*Origanum vulgare* L.), totalizando 200 amostras. As amostras foram cedidas por uma empresa beneficiadora da cidade de Santa Maria – RS e também, obtidas em supermercados da mesma cidade.

As amostras foram analisadas no Laboratório de Micologia de Alimentos do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

4.2 Métodos

4.2.1 Análise de atividade de água (a_w)

A atividade de água foi determinada em triplicata diretamente em um medidor de atividade de água (Aqualab Series 4 TE, EUA). As leituras foram realizadas em temperatura de $25\text{ °C} \pm 1$.

4.2.2 Avaliação quantitativa dos fungos filamentosos

Para a realização das análises, pesou-se assepticamente 25 g de cada amostra, sendo transferidas para frascos reagentes de borosilicato contendo 225 mL de água peptonada (0,1 %), e realizadas diluições seriadas, 10^1 , 10^2 e 10^3 . De cada diluição, foram retirados 100 μ L para serem inoculados em placa de Petri contendo meio Ágar Dicloran Glicerol 18% (DG18) acrescido de cloranfenicol.

As placas foram incubadas a 25 °C por sete dias e os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias por grama de produto (UFC/g).

As amostras de cravo-da-índia, e parte nas amostras de pimenta branca (n= 17) e pimenta preta (n= 19) em grão foram analisadas pelo método de plaqueamento direto em meio DG18 com anterior desinfecção em solução de hipoclorito de sódio com concentração de 0,4 %, pelo período de um minuto. Em seguida 11 grãos foram dispostos em três placas de Petri contendo o meio DG18, totalizando 33 grãos.

As placas foram incubadas a 25 °C por sete dias e os resultados expressos em porcentagem de grãos infectados, conforme a metodologia de Pitt e Hocking (1997).

4.2.3 Identificação dos fungos filamentosos

Os fungos foram isolados em Ágar Czapeck Extrado de Levedura (CYA) e identificados de acordo com o seguinte procedimento:

- Identificação de espécies de *Aspergillus*, de acordo com Klich e Pitt (1988). O seu estado telemórfico, *Eurotium*, foi incubado em Ágar Czapek Extrato de Levedura e 20% de Sacarose (CY20S) durante 14 dias à 25 °C;
- Identificação de espécies de *Penicillium*, conforme chaves propostas por Pitt (2000) e Frisvad e Samson (2004);
- Identificação de espécies xerofílicas e demais gêneros, de acordo com Pitt e Hocking (2009).

Decorrido o período de cultivo, foram determinados os diâmetros médios das três colônias, com auxílio de régua e observadas as características macro e microscópicas em cada meio de cultivo, para a identificação das espécies.

4.2.4 Teste da capacidade micotoxigênica

As espécies isoladas e identificadas como *A. ochraceus*, *A. niger*, *A. carbonarius* foram avaliadas com relação à produção de OTA conforme metodologia proposta por Filtenborg, Frisvald e Svendensen (1983), utilizando-se o meio Ágar Extrato de Levedura e Sacarose (YES) como meio de cultura para a produção e a técnica de ágar Plug associado à cromatografia de camada delgada (CCD) para a extração dos metabólitos intra e extracelulares. Isolados das espécies *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius* foram testadas quanto à capacidade de produção de aflatoxinas, utilizando a mesma metodologia.

Os extratos fúngicos foram aplicados em placas de sílica para CCD, e a análise foi desenvolvida em solução de tolueno: acetato de etila: ácido fórmico 90 %: clorofórmio (7: 5: 2: 5; v/ v/ v/ v) (SCOTT; LAWRENCE; WALBEAK, 1970).

O resultado positivo/negativo foi obtido através da comparação qualitativa da aparência e fator de retenção dos metabólitos secundários produzidos por cada isolado com padrões de ocratoxina e aflatoxina desenvolvidos paralelamente nas placas cromatográficas, observadas sob incidência de luz ultravioleta de 365 nm.

4.2.5 Análise dos dados

Os dados obtidos foram apresentados e expressos na forma de média de infecção fúngica entre os lotes de cada especiaria, porcentagem de frequência de ocorrência (FO) (número de amostras que apresentaram a espécie fúngica/total de amostra analisadas) e variação de infecção (VI) (% da variação da infecção fúngica nas amostras).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Atividade de água (a_w)

Os resultados da determinação de atividade de água (a_w) são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Teores de atividade de água (a_w) das especiarias analisadas.

Especiaria	n	a_w Média	Desvio padrão ($\pm \sigma$)	Varição*
Alecrim	25	0,673	0,045	0,520 - 0,748
Canela	25	0,678	0,077	0,523 - 0,856
Cravo-da-índia	25	0,758	0,080	0,610 - 0,824
Erva-doce	25	0,616	0,037	0,529 - 0,696
Pimenta branca	25	0,690	0,040	0,622 - 0,700
Pimenta calabresa	25	0,650	0,038	0,570 - 0,730
Pimenta preta	25	0,658	0,043	0,558 - 0,746
Orégano	25	0,649	0,032	0,583 - 0,711

n: número de amostras analisadas; *Varição: Teores mínimos e máximos de a_w obtidos para cada especiaria.

As especiarias analisadas apresentaram teor médio de atividade de água (a_w) de 0,67, sendo que o cravo-da-índia apresentou o maior teor médio (0,758) e a erva-doce (0,616) o menor. Os baixos teores observados podem ser oriundos do processo de secagem que as especiarias sofrem durante o beneficiamento. Sabe-se que a diminuição da a_w nos alimentos é utilizada na indústria para a manutenção da qualidade do produto, promovendo o melhor aproveitamento das matérias-primas, no aumento da vida útil destas, bem como parâmetro de controle microbiano (TROLLER, 1987).

Segundo Garcia (2004), os substratos com teor de atividade de água inferior a 0,60 estão dificilmente propícios ao crescimento de micro-organismos e, a partir de 0,65, se inicia a proliferação de alguns grupos específicos, sendo que até 0,75, somente algumas bactérias halófilas, leveduras e fungos xerofílicos podem se desenvolver.

Por definição, fungos xerofílicos são aqueles capazes de se desenvolver em a_w inferior a 0,85 (PITT, 1985). Entre as espécies xerofílicas, destacam-se *Aspergillus glaucus* (0,70), *Aspergillus conicus* (0,70), *Aspergillus echinulatus* (0,64), *Xeromyces bisporus* (0,61) (TANIWAKI; SILVA, 2001) e também as espécies do gênero *Eurotium* (PITT; HOCKING, 2009).

Das especiarias analisadas, as amostras de canela e cravo-da-índia apresentaram teores de a_w que variaram de 0,523 a 0,856 e 0,610 a 0,824, respectivamente. Estes valores máximos obtidos podem propiciar a produção de micotoxinas se um fungo micotoxigênico estiver presente na amostra, pois Beauchat (1981) relata que a a_w mínima necessária para a produção de micotoxinas por fungos das espécies *A. flavus* e *A. ochraceus* é de 0,83. Entretanto, a a_w não é o único fator responsável pela produção de micotoxinas nos alimentos. Segundo Garcia et al. (2009), o crescimento de fungos em alimentos e a produção de micotoxinas são influenciados por fatores abióticos e bióticos e suas interações, sendo que entre os principais fatores relacionados com a produção destes metabólitos fúngicos são: pH, a_w , concentração de soluto, temperatura, umidade, composição química do alimento e tempo de armazenamento.

A atividade de água do substrato também está diretamente ligada ao meio de cultura escolhido para o isolamento dos fungos. Hocking e Pitt (1980) desenvolveram o meio DG18 para ser seletivo para fungos em alimentos de baixa umidade, como grãos armazenados, nozes, farinha e especiarias. DG18 foi concebido para enumeração de uma gama de fungos fastidiosos e leveduras xerofílicas. No entanto, foi demonstrado que o meio suporta o crescimento de espécies comuns de *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, bem como a maioria das leveduras, e muitos outros fungos comuns de origem alimentar. O mesmo foi relatado por Vesna et al. (2013), que determinaram o meio DG18 como o mais efetivo na determinação e enumeração de fungos, recuperando 47,8 % de fungos do gênero *Aspergillus* em especiarias utilizadas na indústria cárnea.

5.2 Avaliação quantitativa e identificação dos fungos filamentosos

Com exceção do cravo-da-índia, as especiarias apresentaram elevadas contagens de contaminação fúngica. No total, foram isolados 22 gêneros e 51 diferentes espécies fúngicas nas amostras analisadas (Apêndice A). No geral, as espécies xerofílicas *Eurotium rubrum*, *Eurotium chevalieri*, *Eurotium amstelodami*, *Eurotium repens* e *Aspergillus penicillioides*

foram isoladas de todas as especiarias, bem como as espécies micotoxigênicas *A. flavus* e *A. niger*. Também foram encontradas diversas espécies do gênero *Penicillium* e outros gêneros como *Cladosporium* e demáceos (Apêndice A). A média de infecção fúngica entre as especiarias variou entre $1,73 \times 10^3$ na pimenta calabresa e $2,06 \times 10^5$ UFC/g na pimenta preta. Os resultados estão apresentados separadamente por especiaria nas Tabelas 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9.

Hocking (1981) relata que devido à sua origem tropical e aos métodos utilizados na sua produção, as especiarias são frequentemente contaminadas com fungos xerofílicos, apresentando contagens bastante elevadas, de até 10^9 UFC/g. Os fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Eurotium* são muitas vezes a flora dominante de especiarias secas, inteiras ou trituradas (PITT; HOCKING, 1997). Pitt e Hocking (2009) também ressaltam que os fungos do gênero *Eurotium* são amplamente distribuídos em alimentos de baixa atividade de água. A presença de *E. rubrum* e *E. chevalieri* em alimentos têm sido relatada em regiões mais quentes e em uma alta gama de alimentos, incluindo cereais, trigo e farinha de trigo, de arroz, farinha de arroz e farelo, milho e cereais em flocos. Outras fontes incluem bombons recheados, feijão e ervilha, soja, sementes de girassol, cacau, especiarias, sal, peixe seco curado (HOCKING; PITT, 1997) e pimenta preta no Brasil (GATTI et al., 2003), ao passo que *E. amstelodami* é uma espécie relacionada principalmente a alimentos armazenados (PITT; HOCKING, 2009).

Vale ressaltar que no presente estudo, houveram lotes de especiarias que não apresentaram nenhum crescimento fúngico (<10 UFC/g). Segundo Kong et al. (2014) estes resultados estão relacionados às diferentes partes das especiarias apresentarem matrizes com sensibilidades diferentes para os fungos e a contaminação por estes se daria principalmente durante as fases de processamento, armazenagem e transporte.

Outro fator importante que deve ser levado em consideração é a capacidade da planta de produzir compostos antifúngicos, que estaria restringindo o crescimento e a proliferação destes micro-organismos, como foi o caso das amostras de cravo-da-índia, onde em nenhum lote analisado foi constatado a presença de fungos filamentosos. Vários estudos têm sido conduzidos para determinar a capacidade antifúngica desta especiaria, a qual é atribuída principalmente ao composto eugenol, presente em grandes quantidades nas flores do cravo-da-índia e todos eles apresentaram resultados bastante satisfatórios, mesmo utilizando baixas concentrações do extrato obtido (HITOKOTO et al., 1980; SOUZA et al., 2004; PEREIRA et al., 2006; MARIATH et al., 2006; BOKHARI, 2007; DA SILVA et al., 2012b; ASCENÇÃO; FILHO, 2013; SANTAMARINA et al., 2016). Koci-Tanackov, Dimi e Karali (2007) avaliaram a contaminação de especiarias, entre elas o cravo-da-índia, e determinaram

contagens fúngicas baixas, na média de 70 UFC/g, constatando que a espécie *Eurotium herbariorum* era a única contaminante presente.

Os resultados da avaliação quantitativa e de indentificação dos fungos filamentosos presentes nas especiarias são apresentados e discutidos a seguir.

Tabela 3 - Média de infecção, frequência de ocorrência (FO) e variação de infecção fúngica (VI) em amostras de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.).

Média de infecção (UFC/g) = $6,02 \times 10^4$ n = 25					
Fungo filamentosos	FO (%)	VI (%)	Fungo filamentosos	FO (%)	VI (%)
<i>Absidia</i> sp.	4	ND - 4,5	<i>Eurotium rubrum</i>	48	ND - 26,7
<i>Aspergillus flavus</i>	8	ND - 52,4	<i>Mycelia sterilia</i>	20	ND - 90,8
<i>Aspergillus fumigatus</i>	4	ND - 4,5	<i>Paecilomyces variotii</i>	8	ND - 27,3
<i>Aspergillus glaucus</i>	4	ND - 6,2	<i>Penicillium brevicompactum</i>	8	ND - 25,0
<i>Aspergillus nidulans</i>	12	ND - 9,1	<i>Penicillium canescens</i>	4	ND - 5,6
<i>Aspergillus niger</i>	36	ND - 50,0	<i>Penicillium chrysogenum</i>	12	ND - 25,0
<i>Aspergillus parasiticus</i>	4	ND - 3,4	<i>Penicillium citrinum</i>	4	ND - 12,5
<i>Aspergillus penicillioides</i>	28	ND - 98,5	<i>Penicillium fellutanum</i>	4	ND - 20,0
<i>Aspergillus restrictus</i>	16	ND - 66,7	<i>Penicillium implicatum</i>	8	ND - 6,5
<i>Aspergillus versicolor</i>	8	ND - 13,3	<i>Penicillium janczewskii</i>	12	ND - 12,5
<i>Aspergillus wentii</i>	8	ND - 4,5	<i>Penicillium lividum</i>	4	ND - 2,5
<i>Chaetomium</i> sp.	4	ND - 50,0	<i>Penicillium rugulosum</i>	4	ND - 3,4
<i>Cladosporium</i> sp.	28	ND - 60,0	<i>Penicillium</i> sp.	8	ND - 100,0
Demáceos	28	ND - 57,0	<i>Phoma</i> sp.	4	ND - 8,3
<i>Emericella nidulans</i>	16	ND - 20,0	<i>Syncephalastrum</i> sp.	4	ND - 9,1
<i>Eurotium amstelodami</i>	32	ND - 33,3	<i>Ulocladium</i> sp.	4	ND - 5,6
<i>Eurotium chevalieri</i>	32	ND - 41,7	<i>Wallemia sepii</i>	36	ND - 25,0
<i>Eurotium repens</i>	32	ND - 20,0	Zigomicetos	4	ND - 3,8

FO: % da frequência de ocorrência (número de amostras que apresentaram a espécie fúngica/total de amostra analisadas); ND: Não detectado (<10 UFC/g); VI: % da variação da infecção fúngica nas amostras; n: número de amostras.

As contagens de contaminação fúngica variaram entre <10 e 9×10^5 UFC/g nos lotes de alecrim analisados. *Eurotium rubrum* foi a espécie com maior percentual de frequência de ocorrência (48 %) entre as amostras, seguido de *Aspergillus niger* (36 %) e *E. amstelodami* (32 %). Com relação à variação de infecção, o gênero *Penicillium*, destacou-se alcançando até 100 % de infecção.

Ahene, Odamtten, e Owusu (2011) avaliaram a contaminação fúngica de folhas de alecrim comercializadas na África e isolaram principalmente *Absidia ramosa*, *A. flavus*, *A. alutaceus*, *A. niger* e *Rhizopus* spp. Estes estudos divergem dos resultados obtidos por Christensen et al. (1967), onde os autores afirmam que a flora predominante no alecrim é composta por *Cladosporium* sp. e *Mycosphaerella* sp. Em contrapartida, resultados semelhantes aos nossos foram obtidos por Abdel-Hafez e El-Said (1997), que isolaram *Aspergillus sydowii*, *E. rubrum*, *P. chrysogenum* e *P. citrinum* de alecrim.

Kruppa e Russomanno (2008) determinaram a frequência de ocorrência de amostras de alecrim comercializadas na cidade de São Paulo entre os anos de 2003 e 2006 e detectaram a presença de *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. (75 %), seguidos de *Rhizopus* sp. (62,5 %), *Alternaria alternata* (50 %) e outras como *Epicoccum purpurascens* (37,5 %) e *Cladosporium* sp. (25 %).

Tabela 4 – Média de infecção, frequência de ocorrência (FO) e variação de infecção fúngica (VI) em amostras de canela (*Cinnamomum cassia* Ness).

Média de infecção (UFC/g) = $1,05 \times 10^4$ n = 25					
Fungo filamentoso	FO (%)	VI (%)	Fungo filamentoso	FO (%)	VI (%)
<i>Aspergillus flavus</i>	8	ND - 83,3	<i>Eurotium repens</i>	12	ND - 14,3
<i>Aspergillus nidulans</i>	4	ND - 2,1	<i>Eurotium rubrum</i>	44	ND - 91,0
<i>Aspergillus niger</i>	32	ND - 75,0	<i>Mycelia sterilia</i>	8	ND - 22,2
<i>Aspergillus ochraceus</i>	8	ND - 14,2	<i>Paecilomyces variotii</i>	20	ND - 100,0
<i>Aspergillus parasiticus</i>	4	ND - 5,0	<i>Penicillium brevicompactum</i>	4	ND - 100,0
<i>Aspergillus penicillioides</i>	8	ND - 13,4	<i>Penicillium citreonigrum</i>	4	ND - 4,2
<i>Aspergillus restrictus</i>	8	ND - 4,3	<i>Penicillium glabrum</i>	4	ND - 54,5
<i>Aspergillus sydowii</i>	4	ND - 8,7	<i>Penicillium implicatum</i>	4	ND - 25,0
<i>Aspergillus tamarii</i>	8	ND - 10,4	<i>Penicillium purpurogenum</i>	4	ND - 38,9
<i>Cladosporium</i> sp.	36	ND - 80,0	<i>Penicillium</i> sp.	4	ND - 4,5
Demáceos	8	ND - 10,5	<i>Syncephalastrum racemosum</i>	4	ND - 4,54
<i>Eurotium amstelodami</i>	8	ND - 5,3	<i>Syncephalastrum</i> sp.	20	ND - 38,0
<i>Eurotium chevalieri</i>	20	ND - 78,6	<i>Wallemia sepii</i>	4	ND - 18,2

FO: % da frequência de ocorrência (número de amostras que apresentaram a espécie fúngica/total de amostra analisadas); ND: Não detectado (<10 UFC/g); VI: % da variação da infecção fúngica nas amostras; n: número de amostras.

As contagens de contaminação fúngica variaram de <10 a $1,2 \times 10^5$ UFC/g nas amostras analisadas de canela. A espécie *Eurotium rubrum* também foi a predominante nas

amostras (44 %), seguidas de *Cladosporium* sp. (36 %) e *A. niger* (32 %). As espécies *Paecilomyces variotii* e *Penicillium brevicompactum* apresentaram o maior percentual de variação de infecção entre as amostras (100 %).

Furlaneto e Mendes (2004) determinaram níveis de contagens fúngicas em torno de $2,7 \times 10^3$ UFC/g e $2,1 \times 10^5$ UFC/g em amostras de canela comercializadas em supermercados e feiras livres do estado do Paraná.

Teixeira-Loyola et al. (2014) avaliaram amostras de canela em pó coletadas em feiras e supermercados e determinaram contagens entre 1×10^5 e 6×10^2 UFC/g de contaminação e os principais bolores identificados foram do gênero *Aspergillus*, fungos hialinos não esporulados (*Mycelia sterilia*), *Penicillium* sp. e *Cladosporium* sp.

Isolados de *Aspergillus alutaceus*, *Aspergillus fumigatus*, *Chaetomium globosum*, *E. amstelodami*, *E. chevalieri* e *P. chrysogenum* foram obtidos por Abdel-Hafez e El-Said (1997) em amostras de canela comercializadas no Egito.

Hashem e Alamri (2010) avaliando diferentes especiarias comercializadas na Arábia Saudita, detectaram a presença majoritária de *Aspergillus niger*, *Paecilomyces lilacinus*, *Rhizopus stolonifer* e *Ulocladium chartarum* em amostras de canela.

As amostras de erva-doce apresentaram uma contagem fúngica entre <10 e $2,5 \times 10^4$ UFC/g. Nas 25 amostras analisadas, a espécie fúngica isolada com maior frequência foi *Eurotium rubrum*, com 52 %, seguida de *Eurotium repens* (44 %) e *Aspergillus penicillioides*, apresentando um percentual de 40 %. Com relação a variação de infecção, a espécie *Eurotium chevalieri* destacou-se com um percentual de 68,4 % em uma das amostras analisadas.

Kulshrestha et al. (2014) avaliaram sementes de erva-doce e determinaram percentuais máximo de incidência de *Aspergillus flavus* de 18,51 % e mínimo de 3,70 %. Outros fungos isolados foram *Alternaria alternata*, *Aspergillus candidus*, *Cinereus microascus*, *Penicillium chrysogenum*, *P. notatum*, *Rhizopus* e *Trichoderma* spp.

Ahene, Odamtten e Owusu (2011) relataram que as principais espécies fúngicas encontradas em erva-doce comercializada em mercados na África são *Aspergillus alutaceus*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *Cladosporium macrocarpum*, *Eurotium amstelodami*, *Penicillium* sp. e *Rhizopus stolonifer*.

Hashem e Alamri (2010) avaliando diferentes especiarias comercializadas na Arábia Saudita, entre elas a erva-doce, detectaram a presença de *Alternaria alternata*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. versicolor* e *Cladosporium cladosporioides* nas amostras analisadas.

Tabela 5 – Média de infecção, frequência de ocorrência (FO) e variação de infecção fúngica (VI) em amostras de erva-doce (*Pimpinella anisum* L.).

Média de infecção (UFC/g) = $2,55 \times 10^3$ n = 25					
Fungo filamentoso	FO (%)	VI (%)	Fungo filamentoso	FO (%)	VI (%)
<i>Absidia</i> sp.	12	ND - 15,4	<i>Eurotium chevalieri</i>	24	ND - 68,4
<i>Alternaria</i> sp.	4	ND - 9,4	<i>Eurotium repens</i>	44	ND - 66,7
<i>Aspergillus flavus</i>	12	ND - 6,25	<i>Eurotium rubrum</i>	52	ND - 54,5
<i>Aspergillus nidulans</i>	4	ND - 1,0	<i>Mucor circineloides</i>	4	ND - 4,3
<i>Aspergillus niger</i>	32	ND - 46,9	<i>Mucor racemosum</i>	4	ND - 4,3
<i>Aspergillus penicillioides</i>	40	ND - 50,0	<i>Mucor</i> sp.	20	ND - 50,0
<i>Aspergillus restrictus</i>	16	ND - 36,7	<i>Mycelia sterilia</i>	20	ND - 16,7
<i>Aspergillus sydowii</i>	16	ND - 15,4	<i>Paecilomyces variotii</i>	4	ND - 2,5
<i>Aspergillus versicolor</i>	20	ND - 38,9	<i>Penicillium chrysogenum</i>	16	ND - 25,0
<i>Aspergillus wentii</i>	4	ND - 1,0	<i>Penicillium polonicum</i>	4	ND - 58,3
<i>Chaetomium</i> sp.	4	ND - 1,0	<i>Penicillium restrictum</i>	4	ND - 50,0
<i>Cladosporium</i> sp.	32	ND - 16,7	<i>Phoma</i> sp.	4	ND - 4,5
Demáceos	4	ND - 1,0	<i>Rhizomucor</i> sp.	4	ND - 7,7
<i>Eupenicillium</i> sp.	4	ND - 16,7	<i>Rhizopus</i> sp.	8	ND - 9,1
<i>Eurotium amstelodami</i>	36	ND - 36,4	<i>Wallemia sepii</i>	16	ND - 26,7

FO: % da frequência de ocorrência (número de amostras que apresentaram a espécie fúngica/total de amostra analisadas); ND: Não detectado (<10 UFC/g); VI: % da variação da infecção fúngica nas amostras; n: número de amostras.

Moharram, Abdel-Mallek e Abdel-Hafez (1989) isolaram 25 espécies de *Aspergillus* em frutos de anis e erva-doce, dos quais *A. niger*, *A. flavus*, *A. ochraceus* e *A. flavus* var. *columnaris* foram prevalentes em ambas as especiarias.

Santos et al. (2013) determinaram a incidência de fungos do gênero *Exophiala* sp. em 77,7 % das amostras analisadas, seguido de *Aspergillus* sp. (66,6 %), *Fonsecaea* sp. (44,4 %) e *Fusarium* e *Alternaria* sp., com 11,1 %.

Não foram encontrados relatos na literatura da presença da espécie *Aspergillus penicillioides* em erva-doce, entretanto Pitt e Hocking (2009) isolaram o fungo xerofílico em números muito altos de uma grande variedade de alimentos, incluindo farinha, frutos secos, peixe seco, e de especiarias, incluindo pimenta e pimentões secos.

Tabela 6 – Média de infecção, frequência de ocorrência (FO) e variação de infecção fúngica (VI) em amostras de pimenta branca (*Piper nigrum* L.).

Média de infecção (grão) (%) = 76,3 n = 17					
Média de infecção (moída) (UFC/g) = 6,32 x 10 ⁴ n = 8					
Fungo filamentososo	FO (%)	VI (%)	Fungo filamentososo	FO (%)	VI (%)
<i>Aspergillus candidus</i>	4	ND - 60,0	<i>Eurotium chevalieri</i>	64	ND - 100,0
<i>Aspergillus flavus</i>	32	ND - 30,0	<i>Eurotium repens</i>	32	ND - 87,5
<i>Aspergillus nidulans</i>	4	ND - 6,0	<i>Eurotium rubrum</i>	12	ND - 50,0
<i>Aspergillus niger</i>	40	ND - 51,5	<i>Mycelia sterilia</i>	8	ND - 9,1
<i>Aspergillus nomius</i>	12	ND - 9,1	<i>Paecilomyces variotii</i>	12	ND - 12,0
<i>Aspergillus parasiticus</i>	4	ND - 15,0	<i>Penicillium aetiopicum</i>	4	ND - 9,0
<i>Aspergillus penicillioides</i>	4	ND - 37,2	<i>Penicillium brevicompactum</i>	4	ND - 63,1
<i>Aspergillus sydowii</i>	4	ND - 17,1	<i>Penicillium chrysogenum</i>	4	ND - 20,0
<i>Aspergillus tamarii</i>	16	ND - 34,2	<i>Penicillium citrinum</i>	8	ND - 18,0
<i>Aspergillus terreus</i>	4	ND - 36,4	<i>Penicillium implicatum</i>	4	ND - 36,7
<i>Aspergillus versicolor</i>	12	ND - 21,2	<i>Penicillium polonicum</i>	4	ND - 15,8
<i>Cladosporium</i> sp.	8	ND - 4,7	<i>Penicillium roqueforti</i>	4	ND - 16,6
Demáceos	4	ND - 18,0	<i>Scapulariopsis</i> sp.	4	ND - 53,5
<i>Emericella nidulans</i>	8	ND - 42,1	<i>Talaromyces wartmanii</i>	4	ND - 9,0
<i>Eurotium amstelodami</i>	24	ND - 65,7	<i>Wallemia sepii</i>	4	ND - 9,1

FO: % da frequência de ocorrência (número de amostras que apresentaram a espécie fúngica/total de amostra analisadas); ND: Não detectado (<10 UFC/g); VI: % da variação da infecção fúngica nas amostras; n: número de amostras.

As amostras apresentaram contagens fúngicas entre 18,18 % e 100 % (n= 17) para pimenta branca em grão e entre <10 e 4,7 x 10⁵ UFC/g (n= 8) para pimenta branca moída. *Eurotium chevalieri* foi a espécie predominante encontrada, tanto em frequência de ocorrência (64 %), quanto na variação de infecção nas amostras (100 %). *A. niger* foi o segundo mais recorrente nas amostras, com 40 %.

Antunes (1997) avaliando a qualidade microbiológica de pimenta branca, determinou contagens de fungos (bolores e leveduras) em valores da ordem de 10³ – 10⁴ UFC/g, variando de 3,6 x 10³ a 3,6 x 10⁴ UFC/g.

Freire, Kozakiewicz e Paterson (2000) relataram 42 espécies de fungos em pimenta preta e branca, onde *A. flavus* foi a espécie predominante, seguida de *A. niger*, *Chaetomium globosum*, *Penicillium brevicompactum*, *Emericella nidulans*, *Eurotium* spp. e *Penicillium glabrum*.

Takatori et al. (1977) e Ayres, Mund e Sondin (1980) determinaram os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* como os principais deteriorantes de canela, erva-doce, coentro, cominho e pimenta branca.

Tabela 7 – Média de infecção, frequência de ocorrência (FO) e variação de infecção fúngica (VI) em amostras de pimenta calabresa (*Capsicum baccatum* L.).

Média de infecção (UFC/g) = $1,73 \times 10^3$ n = 25					
Fungo filamentososo	FO (%)	VI (%)	Fungo filamentososo	FO (%)	VI (%)
<i>Absidia</i> sp.	4	ND - 16,7	<i>Eurotium repens</i>	12	ND - 36,8
<i>Aspergillus aculeatus</i>	4	ND - 1,5	<i>Eurotium rubrum</i>	24	ND - 85,0
<i>Aspergillus flavus</i>	20	ND - 33,0	<i>Mucor</i> sp.	8	ND - 45,0
<i>Aspergillus niger</i>	24	ND - 38,5	<i>Mycelia sterilia</i>	16	ND - 75,0
<i>Aspergillus penicillioides</i>	16	ND - 23,8	<i>Penicillium carneum</i>	4	ND - 2,8
<i>Aspergillus restrictus</i>	4	ND - 5,0	<i>Penicillium chrysogenum</i>	4	ND - 4,0
<i>Aspergillus tamarii</i>	4	ND - 2,9	<i>Penicillium crustosum</i>	4	ND - 10,0
<i>Aspergillus terreus</i>	4	ND - 20,0	<i>Penicillium</i> sp.	4	ND - 73,0
<i>Aspergillus versicolor</i>	4	ND - 1,0	<i>Rhizopus</i> sp.	12	ND - 76,5
<i>Cladosporium</i> sp.	12	ND - 22,2	<i>Syncephalastrum</i> sp.	8	ND - 58,6
Demáceos	4	ND - 40,0	<i>Wallemia sebi</i>	28	ND - 57,1
<i>Eurotium amstelodami</i>	60	ND - 95,8	Zigomicetos	4	ND - 1,5
<i>Eurotium chevalieri</i>	44	ND - 42,1			

FO: % da frequência de ocorrência (número de amostras que apresentaram a espécie fúngica/total de amostra analisadas); ND: Não detectado (<10 UFC/g); VI: % da variação da infecção fúngica nas amostras; n: número de amostras.

A pimenta calabresa apresentou contagens fúngicas entre <10 e 8×10^3 UFC/g. A espécie *E. amstelodami* novamente se sobressaiu, totalizando um percentual de 60 % nas amostras e uma variação de infecção de 95,8 %. *E. rubrum* também foi identificado em 44 % das amostras, seguido de *Wallemia sebi*, com 28 %.

Resultados divergentes foram obtidos por Bokhari (2007), que avaliou a contaminação fúngica de diversas especiarias provenientes da Arábia Saudita, entre elas a pimenta vermelha, e determinou que elas apresentavam os maiores valores nas contagens totais de fungos (média de cinco amostras foi de 2682,4 UFC/g de peso fresco).

Christensen et al. (1967) determinaram que a microbiota predominante de amostras de pimenta vermelha era composta principalmente por *A. flavus*. Já Seenappa, Stobbs e

Kempton (1980) observaram que pimentas vermelhas armazenadas por 10 dias à uma umidade relativa de 70 % apresentavam contaminação fúngica predominante de fungos da espécie *Aspergillus glaucus*.

Skrinjar e Boldocky (1994) relatam que dos oito fungos isolados de especiarias utilizadas como condimento pela indústria cárnea, entre elas, a pimenta vermelha, o gênero *Aspergillus* era o dominante, identificando como espécie xerofílica apenas *Eurotium herbariorum*.

A pimenta calabresa foi a especiaria que apresentou menor média de infecção fúngica ($1,73 \times 10^3$ UFC/g). Isto pode estar relacionado às propriedades antifúngicas das pimentas utilizadas na produção desta. Da Silva et al. (2012b) determinaram que o extrato de pimenta vermelha foi capaz de produzir efeitos fungitóxicos para o fungo *Fusarium oxysporum*. O efeito contra bactérias desta especiaria também foi testado por Lavezo et al. (2010), onde os autores observaram que o extrato bruto de pimenta dedo-de-moça a 20 % inibiu consideravelmente unidades formadoras de colônia da bactéria *Clavibacter michiganensis*, agente etiológico do cancro bacteriano do tomateiro. Lobato et al. (2007), avaliaram o efeito do óleo essencial de pimenta longa (*Piper aduncum*) em sementes de feijão-de-corda (*Vigna unguiculata*) e determinaram que a concentração de 0,5 %, apresentou melhor custo/benefício e não foi fitotóxico à germinação das sementes, além de reduzir os fungos *Aspergillus flavus*, *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* e *Macrophomina phaseolina*.

Com relação à pimenta preta em grão, as amostras apresentaram contagens fúngicas entre 27,27 % e 100 % (n= 19) e entre <10 e $7,35 \times 10^5$ UFC/g (n= 6) para a pimenta preta moída (Tabela 8). A espécie xerofílica *Eurotium chevalieri* esteve presente em 64 % das amostras de pimenta preta e apresentou um total de 100 % de variação de infecção, seguido de *Aspergillus niger* (52 %) e *Aspergillus tamarii* (36 %).

Dimic, Krinjar e Dosen-Bogic (2000) reportaram que em *mix* de especiarias, 29 % de pimenta preta e 25 % da páprica estavam contaminadas com fungos. De acordo com os mesmos autores, as principais fontes de contaminação eram *Eurotium herbariorum*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus sydowii* e *A. flavus*, *Penicillium auratiogriseum* e *P. chrysogenum*.

Pitt et al. (s/d) avaliaram 42 amostras de pimenta preta provenientes das Filipinas e as espécies fúngicas mais comum foram: *Aspergillus flavus* (presente em 95 % das amostras), *A. niger* (76 %), *E. rubrum* (74 %), *Chaetomium globosum* (45 %), *E. chevalieri* (38 %) e *A. sydowii* (31 %).

Tabela 8 – Média de infecção, frequência de ocorrência (FO) e variação de infecção fúngica (VI) em amostras de pimenta preta (*Piper nigrum* L.).

Média de infecção (grão) (%) = 77,0 n = 19					
Média de infecção (moída) (UFC/g) = 2,06 x 10 ⁵ n = 6					
Fungo filamentososo	FO (%)	VI (%)	Fungo filamentososo	FO (%)	VI (%)
<i>Absidia</i> sp.	4	ND - 3,1	Demáceos	16	ND - 21,7
<i>Alternaria</i> sp.	4	ND - 9,1	<i>Emericella nidulans</i>	12	ND - 7,1
<i>Aspergillus candidus</i>	4	ND - 6,0	<i>Eurotium amstelodami</i>	36	ND - 47,4
<i>Aspergillus carbonarius</i>	4	ND - 6,1	<i>Eurotium chevalieri</i>	64	ND - 100,0
<i>Aspergillus flavus</i>	28	ND - 25,7	<i>Eurotium repens</i>	20	ND - 56,7
<i>Aspergillus fumigatus</i>	4	ND - 2,8	<i>Eurotium rubrum</i>	32	ND - 81,8
<i>Aspergillus niger</i>	52	ND - 30,0	<i>Fusarium</i> sp.	8	ND - 9,1
<i>Aspergillus ochraceus</i>	12	ND - 15,0	<i>Mucor</i> sp.	28	ND - 17,8
<i>Aspergillus parasiticus</i>	4	ND - 9,0	<i>Mycelia sterilia</i>	4	ND - 34,4
<i>Aspergillus penicillioides</i>	16	ND - 84,4	<i>Penicillium chrysogenum</i>	12	ND - 16,0
<i>Aspergillus sydowii</i>	4	ND - 1,8	<i>Penicillium decubens</i>	4	ND - 8,0
<i>Aspergillus tamaritii</i>	36	ND - 13,0	<i>Rhizopus</i> sp.	36	ND - 100,0
<i>Aspergillus versicolor</i>	4	ND - 10,0	<i>Wallemia sebi</i>	16	ND - 100,0
<i>Cladosporium</i> sp.	4	ND - 51,6	Zigomicetos	8	ND - 18,0

FO: % da frequência de ocorrência (número de amostras que apresentaram a espécie fúngica/total de amostra analisadas); ND: Não detectado (<10 UFC/g); VI: % da variação da infecção fúngica nas amostras; n: número de amostras.

Gatti et al. (2003) relataram que *Eurotium* spp. (*E. chevalieri*, *E. rubrum* e *E. amstelodami*) foram os fungos mais comuns em 115 amostras de pimenta preta, seguidos de *A. flavus* e *A. niger*. As espécies *A. tamaritii*, *A. carbonarius*, *A. fumigatus*, *A. sydowii*, *A. restrictus*, *A. ochraceus*, e *A. parasiticus* também foram isoladas. *Rhizopus*, *Penicillium*, *Curvularia*, *Cladosporium*, *Emericella* e *Paecilomyces* foram gêneros que também estavam presentes nas amostras.

Outros autores relataram que os fungos mais comumente envolvidos na deterioração de pimenta preta são *A. flavus*, *A. ochraceus* e *A. versicolor* (CHRISTENSEN, 1975).

A pimenta preta apresentou a maior média de contaminação fúngica (77 % e 2,06 x 10⁵ UFC/g). Hoffmann, Garcia-Cruz e Vinturim (1994) afirmaram que, normalmente, fungos e leveduras estão presentes em especiarias *in natura*, entre elas a pimenta preta, porém em grande número pode indicar processamento e armazenamento inadequados.

Tabela 9 – Média de infecção, frequência de ocorrência (FO) e variação de infecção fúngica (VI) em amostras de orégano (*Origanum vulgare* L.).

Média de infecção (UFC/g) = $2,10 \times 10^4$ n = 25					
Fungo filamentosos	FO (%)	VI (%)	Fungo filamentosos	FO (%)	VI (%)
<i>Aspergillus aculeatus</i>	4	ND - 6,7	<i>Epicocum nigrum</i>	4	ND - 18,6
<i>Aspergillus flavus</i>	12	ND - 5,9	<i>Eurotium chevalieri</i>	12	ND - 23,5
<i>Aspergillus niger</i>	68	ND - 100,0	<i>Eurotium repens</i>	60	ND - 75,5
<i>Aspergillus ochraceus</i>	12	ND - 11,8	<i>Eurotium rubrum</i>	52	ND - 100,0
<i>Aspergillus penicillioides</i>	4	ND - 82,4	<i>Fusarium</i> sp.	4	ND - 24,1
<i>Aspergillus restrictus</i>	8	ND - 15,8	<i>Mycelia sterilia</i>	8	ND - 20,7
<i>Aspergillus sydowii</i>	12	ND - 31,6	<i>Paecylomyces variotii</i>	4	ND - 27,8
<i>Aspergillus tamaritii</i>	8	ND - 13,8	<i>Penicillium chrysogenum</i>	8	ND - 8,3
<i>Aspergillus terreus</i>	4	ND - 1,7	<i>Penicillium implicatum</i>	4	ND - 1,7
<i>Aspergillus ustus</i>	4	ND - 3,5	<i>Penicillium lividum</i>	4	ND - 93,3
<i>Aspergillus versicolor</i>	4	ND - 6,4	<i>Penicillium polonicum</i>	4	ND - 19,5
<i>Aspergillus wentii</i>	4	ND - 8,3	<i>Penicillium spinulosum</i>	4	ND - 16,7
<i>Chaetomium</i> sp.	8	ND - 5,3	<i>Penicillium</i> sp.	4	ND - 20,5
<i>Cladosporium</i> sp.	36	ND - 37,5	<i>Trichoderma</i> sp.	4	ND - 2,9
Demáceos	12	ND - 72,4	<i>Ulocladium</i> sp.	16	ND - 26,3

FO: % da frequência de ocorrência (número de amostras que apresentaram a espécie fúngica/total de amostra analisadas); ND: Não detectado (<10 UFC/g); VI: % da variação da infecção fúngica nas amostras; n: número de amostras.

As amostras de orégano analisadas apresentaram contagens fúngicas que variaram entre <10 e $3,2 \times 10^5$ UFC/g. *Aspergillus niger* foi a espécie com maior percentual de ocorrência (68 %) e com maior índice de infecção (100 %) nas amostras de orégano analisadas. *Eurotium repens* (60 %) e *E. rubrum* (52 %) também apresentaram percentuais consideráveis de FO.

Dados semelhantes foram mencionados por Furlaneto e Mendes (2004) onde os autores determinaram porcentagens fúngicas em torno de 10^4 a 10^6 UFC/g para amostras de orégano comercializadas em feiras livres e supermercados.

Teixeira-Loyola et al. (2014) identificaram fungos do gênero *Aspergillus*, *Mycelia sterilia*, *Penicillium* e *Candida tropicalis* em amostras de orégano da cidade de Pouso Alegre – MG.

Morais et al. (2009) avaliando amostras de orégano e pimenta preta determinaram que a flora dominante destas especiarias era composta basicamente de *Fusarium semitectum*, *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Penicillium citrinum*, *Eurotium herbarioum* e *E. amstelodami*.

Resultados divergentes aos nossos foram obtidos por Kruppa e Russomanno (2008), onde os autores determinaram como as maiores porcentagens de frequência encontradas dos gêneros *Cladosporium* e *Rhizopus* sp. (27,3 %) em amostras coletadas em mercados do estado de São Paulo.

5.3 Teste da capacidade micotoxigênica dos isolados

A capacidade de produção de micotoxina dos isolados potencialmente toxigênicos foi avaliada neste estudo e os resultados estão apresentados na Tabela 10.

Das especiarias analisadas, a pimenta preta apresentou a maior presença de fungos aflatoxigênicos, seguido da pimenta branca. Dos 21 isolados testados de *A. flavus* da pimenta preta, 4 (19 %) apresentaram potencial de produção de aflatoxinas do grupo B. Já na pimenta branca, 6 (66,7 %) dos *A. flavus* isolados apresentaram capacidade de produção de AFB₁. Dos isolados de *A. nomius* da pimenta branca, 100 % foram produtores de aflatoxina do grupo B, já os *A. parasiticus* provenientes da pimenta preta demonstraram potencial toxigênico de produção de AFB₁, B₂ e G₁ em 100 % e o único isolado da pimenta branca foi capaz de sintetizar as quatro aflatoxinas testadas (Grupo B e G).

Com relação aos fungos potencialmente produtores de ocratoxina A, a pimenta preta apresentou as 3 espécies potenciais, onde dos 2 *A. carbonarius* isolados, (100 %), dos *A. niger* (3,7 %) e dos *A. ochraceus* (20 %) foram capazes de sintetizar OTA. O orégano foi a especiaria que apresentou o maior número de isolados de *A. niger* (49), entretanto, apenas 2,04 % (1 isolado) apresentou capacidade de produção de ocratoxina A.

Nesse contexto, fungos toxigênicos não são apenas considerados como agentes patogênicos significativos para especiarias, mas também são os principais produtores de micotoxinas, como a AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ e de ocratoxina A (OTA), sendo estes contaminantes bastante comuns que ocorrem em conjunto em uma ampla gama de produtos alimentares, incluindo especiarias (WANGIKAR et al., 2005).

Tabela 10 – Capacidade micotoxigênica dos isolados nas especiarias analisadas.

Especiarias	Fungos filamentosos											
	<i>Aspergillus flavus</i>				<i>Aspergillus nomius</i>				<i>Aspergillus parasiticus</i>			
	Aflatoxina				Aflatoxina				Aflatoxina			
	B ₁	B ₂	G ₁	G ₂	B ₁	B ₂	G ₁	G ₂	B ₁	B ₂	G ₁	G ₂
Alecrim	1/2*	1/2	0/2	0/2	-	-	-	-	1/1	1/1	1/1	0/1
Canela	1/2	0/2	0/2	0/2	-	-	-	-	0/1	0/1	0/1	0/1
Erva-doce	1/3	0/3	0/3	0/3	-	-	-	-	-	-	-	-
Pimenta branca	6/9	0/9	0/9	0/9	3/3	3/3	0/3	0/3	1/1	1/1	1/1	1/1
Pimenta calabresa	1/6	1/6	0/6	0/6	-	-	-	-	-	-	-	-
Pimenta preta	3/21	1/21	0/21	0/21	-	-	-	-	3/3	3/3	3/3	0/3
Orégano	0/3	0/3	0/3	0/3	-	-	-	-	-	-	-	-

Especiarias	Fungos filamentosos											
	<i>Aspergillus carbonarius</i>				<i>Aspergillus niger</i>				<i>Aspergillus ochraceus</i>			
	Ocratoxina A				Ocratoxina A				Ocratoxina A			
	(OTA)				(OTA)				(OTA)			
Alecrim	-				0/12				-			
Canela	-				0/9				0/1			
Erva-doce	-				1/8				-			
Pimenta branca	-				1/11				-			
Pimenta calabresa	-				1/9				-			
Pimenta preta	2/2				1/27				1/5			
Orégano	-				1/49				0/3			

*Relação entre: o número de fungos capazes de produzir a micotoxina/número de fungos presentes na amostra. O traço (-) refere-se à ausência do fungo micotoxigênico nas amostras analisadas.

As aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ estão normalmente presentes em alimentos. Cepas de *A. parasiticus* produzem todas as quatro principais aflatoxinas. Estirpes de *A. flavus* produzem principalmente aflatoxinas B e também uma alta porcentagem de cepas de *A. flavus* sintetiza AFG₁ e um grupo menor também acumula AFG₂ (VAN EGMOND, 1989; COTTY; CARDWELL, 1999).

Lisker, Michaeli e Frank (1993) analisaram 15 amostras de especiarias que foram fortemente contaminados por *A. flavus* e rastreadas para a presença de aflatoxinas utilizando cromatografia líquida de alta eficiência. Não foram detectadas aflatoxinas nas amostras. Os mesmos autores analisaram 20 estirpes de *A. flavus* isoladas de gengibre, pimenta preta e canela, sendo que destes, nove isolados (45 %) foram capazes de produzir aflatoxina B₁.

Embora nem todas as cepas de *A. flavus* sejam aflatoxigênicas, uma incidência alta de cepas que podem produzir esta micotoxina (50-100 %) são normalmente encontradas entre esta espécie fúngica (LISKER; MICHAELI; FRANK, 1993).

No estudo de Tabata et al. (1993) realizado em 564 amostras de especiarias, verificou-se que a pimenta branca foi uma das especiarias em que foram encontradas aflatoxinas (13% das amostras), não havendo amostras positivas em canela e na pimenta preta analisadas. No estudo de Aziz e Youssef (1991), foram detectadas aflatoxinas em amostras de pimenta preta e de pimenta branca, sendo o *A. flavus* e o *A. parasiticus* os bolores mais frequentemente isolados.

MacDonald e Castle (1996) verificaram que todas as amostras de pimenta continham aflatoxinas, mas em pequena quantidade. Isto levou os autores a afirmarem que seria possível que alguns constituintes destas especiarias tivessem capacidade para inibir ou reduzir o crescimento dos fungos e a produção de aflatoxinas. Vale ressaltar que a contaminação de alimentos e seus produtos derivados, produtos agrícolas e especiarias com micotoxinas pode causar muitas doenças ou mortes em humanos e animais, mesmo quando consumido em pequenas quantidades (PROUILLAC et al., 2012).

Majerus et al. (1985) concluíram que não existe correlação entre o grau de contaminação microbiana e a concentração de aflatoxinas nas especiarias. O estudo de Llewellyn et al. (1992) demonstrou que as especiarias não são o substrato ideal para a formação de aflatoxinas; aliás, especiarias como a canela e a pimenta parecem possuir substâncias que podem inibir o crescimento de fungos e a produção de aflatoxinas.

Bugno et al. (2006) avaliaram a capacidade micotoxigênica de ervas medicinais, entre elas, a erva-doce e constataram que 27,6 % dos *A. flavus* isolados apresentaram a capacidade para produzir aflatoxina B₁ ou aflatoxinas B₁ e B₂; 45,5 % dos *A. parasiticus* apresentaram capacidade de produzir aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂; e 34,6 % dos *A. ochraceus* e 3,8 % *A. niger*, a capacidade de produzir ocratoxina A.

Karan et al. (2005) encontraram ocratoxina A em intervalo de concentração de 26-33 mg/kg em pimenta, orégano e pimenta vermelha, mas não comprovaram a presença de aflatoxina B₁ e G₁ nas amostras analisadas. Ao passo que aflatoxina foi detectada em 16 amostras de pimenta preta, erva-doce, cominho, manjerona, e pimenta da Jamaica no intervalo de concentração 8-35 mg/kg.

Carvalho, Wiest e Cruz (2010) relataram que apesar de nem todas as linhagens de uma dada espécie de fungo serem capazes de produzir micotoxinas, a produção é bastante consistente em cultura pura, desde que se utilizem condições ótimas.

Skirinjar et al. (2012) ressaltam que a produção de toxinas depende principalmente de fatores genéticos. No entanto, as condições ambientais no local de crescimento dos fungos (temperatura, atividade da água, composição da matriz, teor de umidade, pH do meio, contaminação física do substrato, propriedades antifúngicas e outros fatores) são considerados altamente significativo. Outros autores relatam que os fungos toxigênicos são relativamente comuns e podem germinar, crescer e elaborar suas toxinas em uma grande quantidade de substratos, quando a umidade relativa, a temperatura e a aeração são favoráveis (PIER, 1973). Quando os fatores ambientais como a temperatura, se desviam dos pontos ótimos, diminui a resistência do organismo frente à a_w , aumentando o valor da a_w mínima para o crescimento (ALZAMORA, 1984).

Embora este estudo não tenha examinado a presença das micotoxinas nas especiarias, os resultados mostram que existe potencial da contaminação por estes metabólicos fúngicos, especialmente durante o processo prolongado de secagem e/ou durante o armazenamento sem controle de umidade e temperatura, fatores estes que podem propiciar a proliferação dos fungos e conseqüentemente a possível produção das micotoxinas por estes micro-organismos.

6 CONCLUSÕES

- A média de atividade de água (a_w) entre as especiarias apresentou valores $\leq 0,75$, o que contribuiu para a predominância de espécies fúngicas xerofílicas;
- As especiarias analisadas neste estudo (alecrim, canela, erva-doce, pimenta calabresa, branca, preta e orégano) apresentaram ampla contaminação por fungos, com exceção do cravo-da-índia, sendo que os principais gêneros identificados foram *Eurotium*, *Aspergillus*, *Penicillium* e espécies potencialmente micotoxigênicas, como *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nomius*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus carbonarius*;
- As pimentas branca e preta foram as que apresentaram a maior concentração de espécies potencialmente micotoxigênicas;
- O orégano apresentou maior quantidade de isolados de *Aspergillus niger*, entretanto, apenas 2,04 % destes demonstraram capacidade de produção de ocratoxina A.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos complementares avaliando a presença de micotoxinas nas amostras podem ser conduzidos, bem como uma investigação de condições propiciando ou inibindo a produção destes metabólitos nas diferentes especiarias e as medidas a serem adotadas para prevenir a contaminação destes produtos para reduzir os riscos à saúde do consumidor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-HAFEZ, S. I.; EL-SAID, A. H. M. Effect of garlic, onion and sodium benzoate on the mycoflora of pepper, cinnamon and rosemary in egypt. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 39, n. 1, p. 61-77, 1997.

AFFONSO, R. S. et al. Aspectos químicos e biológicos do óleo essencial de cravo da índia. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012.

AGBOR, G. A. et al. Comparative analysis of the in vitro antioxidant activity of white and black pepper. **Nutrition Research**, v. 26, n. 12, p. 659 - 663, 2006.

AHENE, R. E.; ODAMTTEN, G. T.; OWUSU, E. Fungal and bacterial contaminants of six spices and spice products in Ghana. **African Journal of Environmental Science and Technology**, v. 5, n. 9, p. 633-640, 2011.

ALI, M. S. et al. Chemistry of *Zataria multiora* (Lamiaceae). **Phytochemistry**, v. 55, n. 8, p. 933-936, 2000.

ALZAMORA, S. M. Preconservacion de frutas por métodos combinados. In: CONGRESO MUNDIAL DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, Buenos Aires. **Anais...** Buenos Aires: [s.n.], 1984.

ANTUNES, P. S. C. **Avaliação da qualidade microbiológica de canela, pimenta preta e branca**. 1997. 52 f. Tese (Doutorado em Ciências da Nutrição) - Universidade do Porto, Portugal, 1997.

AQUINO, S. **Avaliação da microbiota fúngica e da presença de micotoxinas em amostras de plantas medicinais irradiadas adquiridas no mercado varejista e atacadista**. 2007. 115 f. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

ARSLAN, D.; ÖZCAN, M. M. Evaluation of drying methods with respect to drying kinetics, mineral content and colour characteristics of rosemary leaves. **Energy Conversion and Management**, v.49, n.5, p.1258-1264, mai. 2008.

ASCENÇÃO, V. L.; FILHO, V. E. M. Extração, caracterização química e atividade antifúngica de óleo essencial *Syzygium aromaticum* (cravo da índia). **Cadernos de Pesquisa**, v. 20, n, especial, p. 137-144, 2013.

AYRES, G. I., MUND, T. I., SONNIN, E. W. **Microbiology of Food Spices and Condiments** Schmeigert: A Series of Books in Food and Nutrition, 1980. 249 p.

AZIZ, N. H.; YOUSSEF, Y. A. Occurrence of aflatoxins and aflatoxin-producing molds in fresh and processed meat in Egypt. **Food Additives and Contaminants**, v. 8, n. 3, p. 321-331, 1991.

BANERJEE, M.; SARKAR, P. K. Microbiological quality of some retail spices in India. **Food Research International**, v. 36, n. 5, p. 469-474, 2003.

BEDIN, C.; GUTKOSKI, S. B.; WIEST, J. M. Atividade antimicrobiana das especiarias. **Higiene Alimentar**, v.13, n.65, p. 26- 29, 1999.

BEGUM, A. et al. An indepth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**, v. 12, n. 1, p. 61-73, 2013.

BENNETT, J. W.; KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 16, n. 3, p. 497-516, 2003.

BERNARDES, D. M. L. **Avaliação de métodos de identificação de especiarias e vegetais desidratados submetidos à radiação gama**. 1996. 103 f. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

BEAUCHAT, L. R. Microbial stability as affected by water activity. **Cereal Food World**. n. 26, v. 7, p. 345-349, 1981.

BOKHARI, F. M. Spices mycobiota and mycotoxins available in Saudi Arabia and their abilities to inhibit growth of some toxigenic fungi. **Mycobiology**., v. 35, n. 2, p. 47-53. 2007.

BONDY, G. S.; PESTKA, J. J. Immunomodulation by fungal toxins. **J. Toxicol. Environ. Health B**, v. 3, n. 2, p. 109-143, 2000.

BONTEMPO, M. **Pimenta e seus benefícios à saúde**. São Paulo: Editora Alaúde, 2007. 110 p.

BOSKABADY, M. H., RAMAZANI-ASSARI, M. Relaxant effect of *Pimpinella anisum* on isolated guinea pig tracheal chains and its possible mechanism(s). **Journal of Ethnopharmacology**, v.74, n. 1, p.83-88, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução RDC nº 276, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico para especiarias, temperos e molhos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 23 set. 2005. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/c8b2040047457a8c873cd73fbc4c6735/RDC_276_2005.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 10 ago. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 22 fev. 2011. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/10269e8043ec6fc2af60ef6b7f09096f/rdc0007_18_02_2011.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 10 ago. 2015.

BRUNETON, J. **Elementos de fitoquímica y de farmacognosia**. Zaragoza: Editorial Acribia. 1991. 594 p.

BUGNO, A. et al. Occurrence of toxigenic fungi in herbal drugs. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 37, n. 1, p. 47-51, 2006.

CARVALHO, S. et al. Contaminação fúngica em chás de camomila, erva-doce e erva mate. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 68, n. 1, p. 91-95, 2009.

CARVALHO, H. H.; WIEST, J. M.; CRUZ, F. T. Atividade antibacteriana *in vitro* de pimentas e pimentões (*Capsicum* sp.) sobre quatro bactérias toxinfecivas alimentares. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.12, n.1, p.8-12, 2010.

CARNEVALI, D. B.; ARAÚJO, A. P. S. Atividade Biológica da Pimenta Preta (*Piper nigrum* L.): Revisão de Literatura. **Uniciências**, v. 17, n. 1, p. 41-46, 2013.

CASTRO, A. Especiarias. In: **Dicionário Ilustrado da História de Portugal**. Vol. 1. Lisboa: Publicações Alfa, 1985. p. 220-222.

CASTRO, L. O.; RAMOS, R. L. D. **Descrição botânica, cultivo e uso de *Origanum majorana* L., manjerona e de *Origanum vulgare* L., orégano (Lamiaceae)**. Porto Alegre: FEPAGRO, 2003.15 p. (Circular Técnica, 22).

CHOI, J. et al. Constituents of the essential oil of the *Cinnamomum cassia* stem bark and the biological properties **Archives of Pharmacal Research**, v. 24, n. 5, p. 418-423, 2001.

CHRISTENSEN, C. M. et al. Microflora of black and red pepper. **Applied microbiology**, v. 15, n. 3, p. 622-6261, 1967.

CHRISTENSEN, C. M. **Moulds, Mushrooms and Mycotoxins**. Minneapolis: University of Minnesota Press, 1975. 26 p.

COOK, F. K.; JOHNSON, B. L. Microbiological spoilage of cereal products. In: SPERBER, W. H.; DOYLE, M. P. **Compendium of the microbiological spoilage of foods and beverages**. Springer, 2010. p. 223-244.

CORNEJO, F. E. P.; NOGUEIRA, R. I.; WILBERG, V. C. **Manual para processamento de pimentas (*Capsicum spp.*) desidratada**. Embrapa, Rio de Janeiro, 2005. 17 p.

CORNEJO, F. E. P. et al. Desidratação de Pimentas. **Informe Agropecuário Embrapa**, Belo Horizonte, v. 33, p. 72-77, 2012.

CORRÊA, R. M. et al. Adubação orgânica na produção de biomassa de plantas, teor e qualidade de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) em cultivo protegido. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.12, n.1, p. 80-89, 2010.

COSTA, L. M. et al. Atividade antioxidante de pimentas do gênero *Capsicum*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, n. 1, p.51-59, 2009.

COTTY, P. J.; CARDWELL, K. F. Divergence of West African and North American communities of *Aspergillus* section *Flavi*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 5, p. 2264-2266, 1999.

CRAVEIRO, A. A.; QUEIROZ, D. C. Óleos essenciais e química fina. **Química Nova**. v. 16, n. 3, p. 224-228. 1993.

DALZIEL J. M. et al. **The useful plants of west tropical Africa**. 2nd printing. London: Crown Agnents; 1995, 636 p.

DA SILVA, L. P. et al. Contaminação fúngica em condimentos de feiras livres e supermercados. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 1, p. 202-206, 2012a.

DA SILVA, J. L. et al. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o crescimento in vitro de fitopatógenos. **Revista verde**, v.7, n.1, p. 80 - 86, 2012b.

DÍAZ-MAROTO, M. C.; VIÑAS, M. A. G.; CABEZUDO, M. D. Evaluation of the effect of drying on aroma of parsley by free choice profiling. **European Food Research and Technology**, v. 216, n. 3, p. 227-232, 2003.

DÍAZ-MAROTO, M. C. et al. Impact of drying and storage time on sensory characteristics of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). **Journal of Sensory Studies**, v. 22, n. 1, p. 34-48, fev. 2007.

DIMIC, G. S.; KRINJAR, M.V.; DOSEN-BOGIC, E. Dance, a potential producer and sterigmatocystin in spices (Croatian). **Tehol. Mes.**, v. 41, n. 4-6, p. 131-137, 2000.

DRUSCH, S.; RAGAB, W. Mycotoxins in fruits, fruit juices, and dried fruits. **Journal Food Protection**, v.66, n. 8, p.1514-1527, 2003.

DUARTE, M. L. R.; ALBUQUERQUE, F. C. **Sistema de Produção da Pimenteira-do-reino**, Embrapa Amazônia Oriental, 2005. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pimenta/PimenteiradoReino/paginas/importancia.htm>>. Acesso em: 22 ago. 2015.

DUTRA, F. L. A. et al. Avaliação sensorial e influência do tratamento térmico no teor de ácido ascórbico de sorvete de pimenta. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. v. 4, n. 2, p. 243-251, 2010.

EMBRAPA. **Manual segurança e qualidade para a cultura da pimenta-do-reino**. Brasília: Embrapa, 2004. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/18223/1/MANUALSEGURANCAQUALIDADEparaaculturadapimentadoreino.pdf>>. Acesso em: 18 ago. 2015.

EMBRAPA. **Produção e processamento de erva-doce**. 2010. Disponível em: <<http://hotsites.sct.embrapa.br/prosarural/programacao/2010/producao-e-processamento-da-erva-doce>>. Acesso em: 19 ago. 2015.

ERDOGAN, A. The aflatoxin contamination of some pepper types sold in Turkey. **Chemosphere**, v. 56, n. 4, p. 321-325, 2004.

ESALQ. **Plantas medicinais: Canela**. Seção Técnica da Esalq, 2003. Disponível em: <http://sistemas1.esalq.usp.br/pm/ver_1pl.asp?f_cod=188>. Acesso em: 17 ago. 2015.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003**. 2004. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/007/y5499e/y5499e00.htm>>. Acesso em: 18 ago. 2015.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Herbs, spices and essential oils: post-harvest operations in developing countries**. 2005. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-ad420e.pdf>>. Acesso em: 19 ago. 2015.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Call for data and experts on microbiological hazard associated with spices and dried aromatic herbs**. 2013. Disponível em: <http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jemra/Call_for_data_and_experts_on_spices_Final_20121220.pdf>. Acesso em: 12 jul. 2015.

FASAKIN, E. A.; ABEREJO, B. A. Effect of some pulverised plant materials on the developmental stages of fish beetle, *Dermestes maculatus* Degeer in smoked catfish (*Clarias gariepinus*) during storage. **Bioresource Technology**, v. 85, n. 2, p. 173-177, nov. 2002.

FERNANDES, W. D. Efeito do extrato de pimenta-do-reino sobre larvas de *Aedes aegypti*. **Informe Epidemiológico do SUS**; v.10, n. 1, p. 53-55, 2001.

FILTENBORG, O.; FRISVALD, J. C.; SVENDENSEN, J. A. Simple screening method for molds producing intracellular mycotoxins in pure cultures. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 45, n. 2, p. 581-585, 1983.

FINGER, F. L.; CASALI, V. W. D. Colheita e manejo pós-colheita da pimenta. **Informe Agropecuário**, v. 27, n. 235, p. 99-103, 2006.

FOREY, P.; LINDSAY, R. **Plantas Medicinais**. Guia prático para identificar facilmente 150 plantas medicinais. Platano Edições Técnicas: Lisboa 1996. 129p.

FREIRE, F. C. O.; KOZAKIEWICZ, Z.; PATERSON, R. R. M. Mycoflora and mycotoxins in Brazilian black pepper, white pepper and Brazil nuts. **Mycopathologia**, v. 149, n. 1, p. 13-9, 2000.

FREIRE, F. C. O.; OFORD, L. Bacterial and yeast counts in brazilian commodities and spices. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.33, n.2, p. 145-148, 2002.

FRISVAD, J. C.; SAMSON R. A. Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. **Studies in Mycology**, v. 49, p. 1–173, 2004.

FURLANETO, L.; MENDES, S. Análise microbiológica de especiarias comercializadas em feira livre e em hipermercados. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 2, p. 87-91, 2004.

GARCIA, D. M. **Análise de atividade de água em alimentos armazenados no interior de granjas de integração avícola**. 2004. 50 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

GARCIA, D. et al. Predicting mycotoxins in foods: a review. **Food Microbiology**, v. 26, n. 8, p. 757-769, 2009.

GATTI, M. J., et al. Mycological survey for potential aflatoxin and ochratoxin producers and their toxicological properties in harvested brazilian black pepper. **Food Additives and Contaminants**, v. 20, n. 12, p. 1120-1126, 2003.

GENG, S. et al. Variations in essential oil yield and composition during *Cinnamomum cassia* bark growth. **Industrial Crops and Products**, v. 33, n.1, p. 248-252, 2011.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Higiene e vigilância sanitária de alimentos. In: **Qualidade das especiarias**. São Paulo: Manole Ltda, 2008. p. 258-275.

GIACOMETTI, D. C. **Ervas condimentares e especiarias**. São Paulo: Nobel, 1989. 81 p.

GLOBO RURAL. **Como plantar: Canela**. 2015a. Disponível em: <<http://revistagloborural.globo.com/GloboRural/0,6993,EEC1702239-4529,00.html>> Acesso em: 18 ago. 2015.

GLOBO RURAL. **Como plantar: Cravo-da-índia**. 2015b. Disponível em: <<http://revistagloborural.globo.com/GloboRural/0,6993,EEC1693044-4529,00.html>>. Acesso em: 19 ago. 2015.

GOODWIN, D. C.; HERTWIG, K. M. Peroxidase-catalyzed oxidation of capsaicinoids: steady-state and transient-state kinetic studies. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 417, n. 1, p. 18-26, 2003.

GREER, L. **Pimentos & Companhia**. Lisboa: Lisma - Edição e Distribuição de Livros Ltda, 2006, 119 p.

GÜLÇİN, I. et al. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. **Food Chemistry**, v. 83, n. 3, p. 371-382, 2003.

GUPTA, D.; BALA, P.; SHARMA, Y. P. Evaluation of fungal flora and mycotoxin contamination in whole dried apricots (*Prunus armeniaca* L.) from J&K, India. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences**, p. 1-7, 2015.

HASHEM, M.; ALAMRI, S. Contamination of common spices in Saudi Arabia markets with potential mycotoxin-producing fungi. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 17, n. 2, p. 167-175, 2010.

HENZ, G. P.; MORETTI, C.L. Colheita e pós-colheita. In: RIBEIRO, C. S. C. et al. **Pimentas Capsicum**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia/Embrapa Hortaliças, 2008. p. 39-53.

HITOKOTO, H. et al. Inhibitory effects of spices on growth and toxin production of toxigenic fungi. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 39, n. 4, p. 818-822, 1980.

HOCKING, A. D. Improved media for enumeration of fungi from foods. **CSIRO Food Research Quarterly**, v. 41, p. 7-11, 1981.

HOCKING, A. D.; PITT, J. I. Dichloran-glycerol medium for enumeration of xerophilic fungi from low moisture foods. **Applied Environmental Microbiology**, v. 39, n. 3, p. 488-492, 1980.

HOFFMANN, F. L.; GARCIA-CRUZ, C. H.; VINTURIM, T. M. Qualidade higiênico-sanitária de condimentos e especiarias produzidas por uma indústria da cidade de São José do Rio Preto. **Bol CEPPA**, v. 12, n. 2, p. 81-88, 1994.

HOLMES, P. Rosemary oil: The wisdom of the heart. **The International Journal of Aromatherapy**, v. 9, n. 2, p. 62-66, 1999.

HUSSAIN, A. I. et al. Essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 41, p. 1070-1107, 2010.

IARC. International Agency for Research on Cancer. **Toxicological Monographs: Some Naturally Occurring Substances, Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins**. Lyon: World Health Organization, v. 56, 1993. p. 489.

ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications For Foods. Sampling plans for spices, condiments, and gums. In: **Microorganisms in Foods 2. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications**. 2nd ed. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Blackwell Scientific Publications, India. Food Research International, v. 36, 1986, p. 469-474.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil, 2012. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201108.pdf>. Acesso em: 12 ago. 2015.

JALILI, M.; JINAP, S.; NORANIZAN, M. A. Aflatoxins and ochratoxin a reduction in black and white pepper by gamma radiation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 81, n. 11, p. 1786-1788, 2012.

JAYAPRAKASHA, G. K.; RAO, L. J. M.; SAKARIAH, K. K. Volatile constituents from *Cinnamomum zeylanicum* fruit stalks and their antioxidant activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 15, p. 4344-4348, 2003.

JIROVETZ, L. et al. Aroma compounds analysis of *Piper nigrum* and *Piper guineense* essential oils from Cameroon using solid-phase microextraction-gas chromatography, solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry and olfactometry. **Journal of Chromatography A**, v. 976, n. 1-2, p. 265 - 275, 2002.

KARAN, D. et al. Control the presence of molds and mycotoxins in some spices used in the meat industry. **Meat Technology**, v. 46, n. 5-6, p. 306-310, 2005.

KARRASLAN, M.; ARSLANGRAY, Y. Aflatoxins B1, B2, G1, and G2 contamination in ground red peppers commercialized in Sanliurfa, Turkey. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, n. 4, p. 184, 2015.

KATZER, G. **Anise (*Pimpinella anisum* L.)**. 1998. Disponível em: http://gernot-katzers-spice-pages.com/engl/Pimp_ani.html. Acesso em: 20 ago. 2015.

KHLANGWISSET, P.; SHEPHARD, G. S.; WU, F. Aflatoxins and growth impairment: a review. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 41, n. 9, p. 740-755, 2011.

KELLER, S. E. et al. Growth and survival of *Salmonella* in ground black pepper (*Piper nigrum*). **Food Microbiology**, v. 34, n. 1, p. 182-188, 2013.

KLICH, M.A.; PITT, J.I. **A Laboratory Guide to Common *Aspergillus* species and their Teleomorphs**. Sydney: Common wealth scientific and Industrial research Organization, 1988. 115 p.

KONG, W. et al. Occurrence of toxinogenic fungi and determination of mycotoxins by HPLC-FLD in functional foods and spices in China markets. **Food Chemistry**, v. 146, p. 320-326, 2014.

KOCI-TANACKOV, S. D.; DIMI, G. R.; KARALI, D. Contamination of spices with moulds potential producers of sterigmatocystine. **APTEFF**, v. 38, p. 29-35, 2007.

KRUPPA, P. C.; RUSSOMANNO, O. M. R. Ocorrência de fungos em sementes de plantas medicinais, aromáticas e condimentares da família Lamiaceae. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 1, p. 72-75, 2008.

KULSHRESTHA, P. et al. Mycoflora associated with spices. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 3, n. 5, p. 741-746, 2014.

LAVEZO, A. et al. Efeito in vitro de extratos vegetais sobre *Clavibacter michiganensis* subs. *michiganensis* agente etiológico do cancro bacteriano do tomateiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 43., 2010, Cuiabá. **Resumos...** Cuiabá: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2010. p. 42.

LISKER, N.; MICHAELI, R.; FRANK, Z. R. Mycotoxigenic potential of *Aspergillus flavus* strains isolated from groundnut growing in Israel. **Mycopathologia**, v. 122, n. 3, p. 177-183, 1993.

LLEWELLYN, G. C. et al. Mycotoxin contamination of spices – an update. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 29, n. 2, p. 112-121, 1992.

LIU, Y.; WU, F. Global burden of aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma: a risk assessment. **Environmental Health Perspectives**, v. 118, n. 6, p. 818-824, 2010.

LOBATO, A. K. et al. Ação do óleo essencial de *Piper aduncum* L. utilizado como fungicida natural no tratamento de sementes de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 915-917, 2007.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: Terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais**. 2.ed. São Paulo: Plantarum. 1991, 440 p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: Nativas e exóticas cultivadas**. 2. Ed. São Paulo: Plantarum, 2008. 560 p.

MACDONALD, S.; CASTLE, L. A UK retail survey of aflatoxins in herbs and spices and their fate during cooking. **Food Additives and Contaminants**, v. 13, n. 1, p. 121-128, 1996.

MACRAE, R.; ROBINSON, R; SADLER M. Spices and flavouring crops. In: **Encyclopaedia of Food Technology and Nutrition**. Academic Press, 1993, p. 4282-4319.

MAJERUS, P. et al. Species mould contamination and content of aflatoxins, ochratoxin A and sterigmatocystin. **Fleischwirtschaft**, v. 65, p. 1155-1158, 1985.

MAGHUBI A. E. et al. Distribution and toxigenicity of *Aspergillus* section *Flavi* in spices marketed in Morocco. **Food Control**, v. 32, n. 1, 143-148, 2013.

MARIATH, I. R. et al. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Eugenia aromatica* B. contra fungos dematiáceos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 87, n. 3, p. 81-84, 2006.

MARTINS, E. R. et al. **Plantas medicinais**. Viçosa: UFV, 1998. 220 p.

MARTINS, M. L.; MARTINS, H. M.; BERNARDO, F. Aflatoxins in spices marketed in Portugal. **Food Additives and Contaminants**, v. 18, n. 4, p. 315-319, 2001.

McKEE, L. H. Microbial contamination of spices and herbs: A review. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, n. 28, v. 1, p. 1-11, 1995.

MEISSONNIER, G. M. et al. Immunotoxicity of aflatoxin B1: impairment of the cell-mediated response to vaccine antigen and modulation of cytokine expression. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 231, n. 2, p. 142-149, 2008.

MORAIS, V. A. D. et al. Biodiversidade e quantificação de fungos em especiarias. **Higiene Alimentar**, v.23, n. 176-177, p. 124-129, 2009.

MOHARRAM, A. M.; ABDEL-MALLEK, A. Y.; ABDEL-HAFEZ, A. I. I. Mycoflora of anise and fennel seeds in Egypt. **Journal of Basic Microbiology**, v. 29, n. 7, p. 427-435, 1989.

NAKATANI, N. et al. Chemical constituents of peppers (*Piper* spp.) and application to food preservation: naturally occurring antioxidative compounds. **Environmental Health Perspectives**, v. 67, p. 135-142, 1986.

NUNES, F. C. G. **Avaliação microbiológica e toxigênica de chás e cápsulas usados como fitoterápicos na cidade de São Paulo**. 2003. Dissertação (Mestrado em Microbiologia e Imunologia) - Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 2003.

OLIVEIRA, N. E. G.; TESHIMA, E. Avaliação da contaminação microbiológica da pimenta-do-reino. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 14., 2010 Feira de Santana. **Anais...** Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana, 2010. p. 712-716.

OMAFUVBE, B. O.; KOLAWOLE, D. O. Quality assurance of stored pepper (*Piper guineense*) using controlled processing methods. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 3, n. 4, p. 244-249, 2004.

PACKER, J. F.; LUZ, M. M. S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 17, p. 102-107, 2007.

PEREIRA, M. C. et al. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 731-738, 2006.

PESAVENTO, G. et al. Antibacterial activity of oregano, Rosmarinus and thymus essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meat balls. **Food Control**, v. 54, p. 188-199, 2015.

PITARO, S. P.; FIORINI, L. V.; JORGE, N. Potencial antioxidante dos extratos de manjeriço (*Ocimum basilicum* Lamiaceae) e orégano (*Origanum vulgare* Lamiaceae) em óleo de soja. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.14, n.4, p.686-691, 2012.

PETER, K. V. Introduction to herbs and spices: medicinal uses and sustainable production. In: **Handbook of herbs and spices**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2012. p. 1-15.

PIER, A. C. An overview of the micotoxycosis of domestic animals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 163, n.11, p. 745-750, 1973.

PISSINATE, K. **Atividade citotóxica de *Piper nigrum* e *Struthanthus marginatus*. Estudo preliminar da correlação entre a citotoxicidade e hidrofobicidade da piperina e derivados sintéticos.** 2006. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

PITT, J. I. **A laboratory guide to common *Penicillium* species.** England: Commonwealth Mycological Institute, 1985. 184 p.

PITT, J. I. **A laboratory guide to common *Penicillium* species.** Sydney: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization. 2000. 197 p.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage.** 2 ed. Gaithersburg: Chapman and Hall, Maryland, 1997. 593 p.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage.** London: Blackie Academic & Professional, 2009. 524 p.

PLESSI, M.; BERTELLI, D.; MIGLIETA, F. Effect of microwaves on volatile compounds in white and black pepper. **Food Science and Technology**, v. 35, n. 3, p. 260-264, 2001.

PRADO, G. et al. Determinação de aflatoxina B1 em pimenta (*Piper nigrum* L.) e orégano (*Origanum vulgare* L.) por cromatografia em camada delgada e densitometria. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 3, p. 514-517, 2008.

PRELA-PANTANO, A.; TERAMOTO, J. R. S.; FABRI, E. G. **O cultivo e a comercialização de orégano.** 2009. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2009_2/Oregano/index.htm>. Acesso em: 20 ago. 2015.

PROUILLAC, C. et al. *In vitro* toxicological effects of estrogenic mycotoxins on human placental cells: Structure activity relationships. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 259, n. 3, p. 366-375, 2012.

RIBEIRO-SANTOS, R. et al. A novel insight on an ancient aromatic plant: The rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). **Trends in Food Science & Technology**, v. 45, n. 2, p. 355-368, 2015.

RODRIGUES, R. M. M. et al. Matérias estranhas e identificação histológica em manjerona (*Origanum majorana* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e salsa (*Petroselinum sativum* Hoffm) em flocos comercializados no estado de São Paulo. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 64, n. 1, p. 25-30, 2005.

ROMANO, C. S. et al. Synergistic antioxidant and antibacterial activity of rosemary plus butylated derivatives. **Food Chemistry**, v. 115, n. 2, p. 456 – 461, 2009.

RUIZ-MOYANO, S. et al. Characterization of molds isolated from smoked paprika by PCR-RFLP and micellar electrokinetic capillary electrophoresis. **Food Microbiology**, v. 26, n. 8, p. 776-782, 2009.

SAGOO, S. K. et al. Assessment of the microbiological safety of dried spices and herbs from production and retail premises in the United Kingdom. **Food Microbiology**, v. 26, n.1, p. 39-43, 2009.

SAHIN, F. et al. Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. in the Eastern Anatolia region of Turkey. **Food Control**, v. 15, n. 7, p. 549-557, 2004.

SAHRAEI, H. et al. The effects of fruit essential oil of the *Pimpinella anisum* on acquisition and expression of morphine induced conditioned place preference in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v.80, n. 1, p.43-47, 2002.

SANTAMARINA, M. P. et al. Commercial *Laurus nobilis* L. and *Syzygium aromaticum* L. Merr. & Perry essential oils against post-harvest phytopathogenic fungi on rice. **Food Science and Technology**, v. 65, p. 325-332, 2016.

SANTOS, J. C. et al. Atividade antimicrobiana in vitro dos óleos essenciais de orégano, alho, cravo e limão sobre bactérias patogênicas isoladas de vôngole. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1557-1564, 2011.

SANTOS, R. L. et al. Contaminação fúngica de plantas medicinais utilizadas em chás. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 2, p. 289-293, 2013.

SCOTT, P. M.; LAWRENCE, J. W.; VAN WALBEAK, W. Detection of mycotoxins by thin layer chromatography: Application to screening of fungal extracts. **Applied Microbiology**, v. 20, n. 5, p. 839-842, 1970.

SEBRAE. Serviço de Apoio à Micro e Pequenas Empresas. **Fabricação de especiarias, molhos, temperos e condimentos**. Ideias de Negócios para 2014. 2012. Disponível em: <<http://segmentos.sebrae2014.com.br/ideiasdenegocios/fabricacao-de-especiarias-molhos-temperos-e-condimentos/?id=7180&t=4>>. Acesso em: 14 jul. 2015.

SEENAPPA, M.; STOBBS, L. W.; KEMPTON, A. G. *Aspergillus* colonization of Indian red pepper during storage. **Phytopathology**, v. 70, n. 3, p. 218-222, 1980.

SKINJAR, M., BOLDOCKY, K. Some experiences in testing and mycological mycotoxicological quality ground meat for producing sausages. **Tehnologija mesa**, v. 4, n. 5, p. 166-168, 1994.

SKINJAR, M. et al. Xerophilic molds isolated from spices used in meat industry as potential producers of micotoxins. **Matica Serbian for science**, v. 123, p. 7-16, 2012.

SELLAR, W. **Óleos que curam: o poder da aromaterapia**. Rio de Janeiro: Nova Era, 2002. 272 p.

SOUZA, S. M. C. de et al. Avaliação de óleos essenciais de condimentos sobre o desenvolvimento micelial de fungos associados a produtos de panificação. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 3, p. 685-690, 2004.

SOUZA, E. L. et al. Orégano (*Origanum vulgare* L., (Lamiaceae): uma especiaria como potencial fonte de compostos antimicrobianos. **Revista Higiene Alimentar**, v. 19, n. 132, p. 40-45, 2005.

SOUZA, E. L. **Potencial antimicrobiano do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.): uma abordagem para uso em sistemas de conservação de alimentos**. 2006. 142 f. Tese (Doutorado em Nutrição) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.

SURCH, Y. J. Anti-tumor promoting potential of selected spice ingredients with antioxidative and antiinflammatory activities: a short review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 40, n. 8, p. 1091-1097, 2002.

SUHAJ, M. et al. Effect of γ -irradiation on antioxidant activity of black pepper (*Piper nigrum* L.). **Food Chemistry**, v. 97, n. 4, p. 696-704, 2006.

SZUMNY, A. et al. Composition of rosemary essential oil (*Rosmarinus officinalis*) as affected by drying method. **Journal of Food Engineering**, v. 97, n. 2, p. 253-260, 2010.

TABATA, S. et al. Aflatoxin contamination in foods and foodstuffs in Tokyo: 1986-1990. **Journal of AOAC International**, v. 76, n. 1, p. 32-35, 1993.

TAKATORI, K. et al. Mycoflora of imported spices and inhibitory effects of the spices on the growth of some fungi. **Proc. Jpn. Assoc. Mycotoxins**, v. 9, p. 36-38, 1977.

TANIWAKI, M. H.; SILVA, N. **Fungos em alimentos: ocorrência e detecção**. Campinas: ITAL, Núcleo de Microbiologia, 2001. 82 p.

TEIXEIRA, B. et al. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 587-595, 2013.

TEIXEIRA-LOYOLA, A. B. A. et al. Análise Microbiológica de especiarias comercializadas em Pouso Alegre, Minas Gerais. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v.6, n.1, p. 515-529, 2014.

TORRES, S. B. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de erva-doce. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 26, n. 2, p. 20-24, 2004.

TROLLER, J. A. Trend in research related to the influence of “water activity” on microorganisms in food. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 53, p. 1142-1146, 1987.

UNIÃO EUROPÉIA. Commission regulation 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, v. 364, 5-24, 2006.

VAN EGMOND, H. Current situation on regulations of mycotoxins: Overview of tolerances and status of standard methods of sampling and analysis. **Food Additives and Contaminants**, v. 6, n. 2, p. 139-188, 1989.

VESNA, J. et al. Comparative mycological analysis of spices used in meat industry. **Tehnologija mesa**, v. 54, n. 1, 33-38, 2013.

VITA SPICE. **Cravo-da-índia**. 2009. Disponível em: <<http://www.vitaspice.com.br/bra/cravodaindia.asp>>. Acesso em: 18 ago. 2015.

WANGIKAR, P. et al. Teratogenic effects in rabbits of simultaneous exposure to ochratoxin A and aflatoxin B₁ with special reference to microscopic effects. **Toxicology**, v. 215, n. 1-2, p. 37-47, 2005.

WANG et al. Rapid extraction and analysis of essential oil from *Cinnamomum cassia* Presl. **Chemical Research in Chinese Universities**, v. 24, n. 3, p. 275-280, 2008.

YANISHLIEVA, N. V. et al. Natural antioxidants from herbs and spices. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.108, n.9, p.776-93, 2006.

Apêndice A – Ocorrência geral de fungos filamentosos nas especiarias analisadas.

Fungo filamentoso	Alecrim	Canela	Erva-doce	Pimenta branca	Pimenta calabresa	Pimenta preta	Orégano
<i>Absidia</i> sp.	X	-	X	-	X	X	-
<i>Alternaria</i> sp.	-	-	X	-	-	X	-
<i>Aspergillus aculeatus</i>	-	-	-	-	X	X	X
<i>Aspergillus candidus</i>	-	-	-	X	-	-	-
<i>Aspergillus carbonarius</i>	-	-	-	-	-	X	-
<i>Aspergillus flavus</i>	X	X	X	X	X	X	X
<i>Aspergillus fumigatus</i>	X	-	-	-	-	X	-
<i>Aspergillus glaucus</i>	X	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus nidulans</i>	X	X	X	X	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i>	X	X	X	X	X	X	X
<i>Aspergillus nomius</i>	-	-	-	X	-	-	-
<i>Aspergillus ochraceus</i>	-	X	-	-	-	X	X
<i>Aspergillus parasiticus</i>	X	X	-	X	-	X	-
<i>Aspergillus penicillioides</i>	X	X	X	X	X	X	X
<i>Aspergillus restrictus</i>	X	X	X	-	X	-	X
<i>Aspergillus sydowii</i>	-	X	X	X	-	X	X
<i>Aspergillus tamarii</i>	-	X	-	X	X	X	X
<i>Aspergillus terreus</i>	-	-	-	X	X	-	X
<i>Aspergillus ustus</i>	-	-	-	-	-	-	X
<i>Aspergillus versicolor</i>	X	-	X	X	X	X	X
<i>Aspergillus wentii</i>	X	-	X	-	-	-	X
<i>Chaetomium</i> sp.	X	-	X	-	-	-	X
<i>Cladosporium</i> sp.	X	X	X	X	X	X	X
Demáceos	X	X	X	X	X	X	X

Continua...

Apêndice A – Continuação...

Fungo filamentoso	Alecrim	Canela	Erva-doce	Pimenta branca	Pimenta calabresa	Pimenta preta	Orégano
<i>Emericella nidulans</i>	X	-	-	X	-	X	-
<i>Epicocum nigrum</i>	-	-	-	-	-	-	X
<i>Eupenicillium</i> sp.	-	-	X	-	-	-	-
<i>Eurotium amstelodami</i>	X	X	X	X	X	X	-
<i>Eurotium chevalieri</i>	X	X	X	X	X	X	X
<i>Eurotium repens</i>	X	X	X	X	X	X	X
<i>Eurotium rubrum</i>	X	X	X	X	X	X	X
<i>Fusarium</i> sp.	-	-	-	-	-	X	X
<i>Mucor circineloides</i>	-	-	X	-	-	-	-
<i>Mucor racemosum</i>	-	-	X	-	-	-	-
<i>Mucor</i> sp.	-	-	X	-	X	X	-
<i>Mycelia sterilia</i>	X	X	X	X	X	X	X
<i>Paecilomyces variotii</i>	X	X	X	X	-	-	X
<i>Penicillium aetiopicum</i>	-	-	-	X	-	-	-
<i>Penicillium brevicompactum</i>	X	X	-	X	-	-	-
<i>Penicillium canescens</i>	X	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium carneum</i>	-	-	-	-	X	-	-
<i>Penicillium chrysogenum</i>	X	-	X	X	X	X	X
<i>Penicillium citreonigrum</i>	-	X	-	-	-	-	-
<i>Penicillium citrinum</i>	X	-	-	X	-	-	-
<i>Penicillium crustosum</i>	-	-	-	-	X	-	-
<i>Penicillium decumbens</i>	-	-	-	-	-	X	-
<i>Penicillium fellutanum</i>	X	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium glabrum</i>	-	X	-	-	-	-	-

Continua...

Apêndice A – Conclusão...

Fungo filamentosos	Alecrim	Canela	Erva-doce	Pimenta branca	Pimenta calabresa	Pimenta preta	Orégano
<i>Penicillium implicatum</i>	X	X	-	X	-	-	X
<i>Penicillium janczewskii</i>	X	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium lividum</i>	X	-	-	-	-	-	X
<i>Penicillium polonicum</i>	-	-	X	X	-	-	X
<i>Penicillium purpurogenum</i>	-	X	-	-	-	-	-
<i>Penicillium restrictum</i>	-	-	X	-	-	-	-
<i>Penicillium roqueforti</i>	-	-	-	X	-	-	-
<i>Penicillium rugulosum</i>	X	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium spinulosum</i>	-	-	-	-	-	-	X
<i>Penicillium</i> sp.	X	X	-	-	X	-	X
<i>Phoma</i> sp.	X	-	X	-	-	-	-
<i>Rhizomucor</i> sp.	-	-	X	-	-	-	-
<i>Rhizopus</i> sp.	-	-	X	-	X	X	-
<i>Scapulariopus</i> sp.	-	-	-	X	-	-	-
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	-	X	-	-	-	-	-
<i>Syncephalastrum</i> sp.	X	X	-	-	X	-	-
<i>Talaromyces wartmanii</i>	-	-	-	X	-	-	-
<i>Trichoderma</i> sp.	-	-	-	-	-	-	X
<i>Ulocladium</i> sp.	X	-	-	-	-	-	X
<i>Wallemia sebioi</i>	X	X	X	X	X	X	-
Zigomicetos	X	-	-	-	X	X	-
Total	36	26	30	30	25	28	30

X: Presença da espécie fúngica. O traço (-), refere-se a ausência da espécie de fungo filamentosos.