

<http://dx.doi.org/10.15202/1981996X.2015v9n1p8>

# CONTROLE DA MICOTOXINA PATULINA POR RADIAÇÃO GAMA E ÓLEO ESSENCIAL DA NOZ MOSCADA (*MYRISTICA FRAGRANS*)

**Keila dos Santos Cople Lima**

Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ, Brasil  
Pesquisadora do Instituto de Biologia do Exército (IBEx), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

**Marcelo Carneiro dos Santos**

Mestre em Química pelo Instituto Militar de Engenharia (IME), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

**Sidney Pacheco**

Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ, Brasil  
Analista da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

**Otniel Freitas Silva**

Doutor em Engenharia Química e Biológica pela Universidade do Minho (UMINHO), Minho, Portugal  
Pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

**Ronoel Luiz de Oliveira Godoy**

Doutor em Química pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil  
Pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

**Antonio Luís dos Santos Lima**

Doutor em Química orgânica pela Universidade Federal do Rio de Janeiro, (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil  
Coordenador do programa de pós-graduação em Desenvolvimento Local do  
Centro Universitário Augusto Motta (UNISUAM), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

## RESUMO

As micotoxinas são metabólitos secundários com variado grau de toxicidade e produzidos por diversos fungos. Por serem extremamente comuns e afetarem gêneros alimentícios em larga escala, a preocupação com sua ocorrência e com o desenvolvimento de métodos para descontaminação tem sido crescente em todo o mundo. Além disso, o pequeno conhecimento acerca de suas formas de ação e seu evidente potencial como agentes de guerra ressaltam a importância de maiores estudos na área. O presente trabalho teve por objetivo desenvolver uma metodologia para inativação da patulina, uma micotoxina produzida principalmente pelos gêneros *Penicillium*, *Bissochlamys* e *Aspergillus*, além de estratégias para evitar sua ocorrência. Foram utilizadas como ferramentas a irradiação gama para inativação e óleo essencial de noz moscada para controle da proliferação de cepas de fungos. Para análise dos resultados de inativação e composição das amostras de óleo essencial foram utilizadas a cromatografia líquida de alta eficiência e a cromatografia gasosa.

**Palavras-chave:** Patulina. Radiação gama. Óleo essencial. Noz moscada.

## CONTROL OF PATULIN MYCOTOXIN BY GAMMA RADIATION AND ESSENTIAL OIL OF NUTMEG (MYRISTICA FRAGRANS)

### ABSTRACT

Mycotoxins are secondary metabolites with varying degrees of toxicity and produced by several fungi. Because they are extremely common and affect foodstuffs on a large scale, concern about its occurrence and the development of methods for decontamination has been increasing worldwide. Moreover, the scant knowledge of their modes of action and its obvious potential as warfare agents underscore the importance of further studies in the area. This work aims to develop a methodology for inactivation of patulin, a mycotoxin produced mainly by the genera *Penicillium*, *Bissochlamys* and *Aspergillus*, and strategies to prevent its occurrence. They were used as tools to gamma irradiation for inactivation tests and nutmeg essential oil to control the proliferation of fungal strains. Liquid chromatography and high-efficiency gas chromatography were used respectively to analyze the results of inactivation and composition of essential oil samples.

**Keywords:** Patulin. Gamma radiation. Essential oil. Nutmeg.

### 1 INTRODUÇÃO

O termo micotoxina é derivado da palavra grega *Mykes* que significa fungo e *Toxicum* que significava veneno ou toxina (PIRES, 2009). Micotoxinas são metabólitos secundários, biossintetizados e excretados através de um conjunto de vias metabólicas, não essenciais para o crescimento e sobrevivência do organismo, com variado grau de toxicidade e produzidos por diversos fungos, tendo destaque os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* (SONG SERMSAKUL; RAZZAZI-FAZELI, 2008).

Estas substâncias, tóxicas para seres humanos e animais, causam grande impacto na economia e na saúde pública. Estimativas indicam que aproximadamente 25% de todos os produtos agrícolas do mundo estejam contaminados por estas substâncias (FREIRE *et al.*, 2013). Não há ainda consenso quanto aos fatores que levam à produção das micotoxinas pelos fungos, já que nem todos eles as produzem, mas é fato que algumas medidas podem e devem ser adotadas na sua prevenção. Dentre estas, podemos citar a utilização de linhagens de plantas resistentes à colonização fúngica, colheita apropriada, estocagem adequada, controle de insetos e roedores, controle de temperatura e umidade, tempo de estocagem dentro dos limites de vitalidade dos grãos e irradiação dos grãos (LIMA *et al.*, 2011; SANTOS *et al.*, 2014; CARDOZO *et al.*, 2014).

As micotoxinas têm recebido atenção considerável nas últimas décadas, constituindo um tema de importância internacional. Os problemas associados aos danos por fungos e o risco de consumir grãos danificados, no entanto, já são conhecidos há centenas de anos. A ocorrência do ergotismo, resultante da infestação de grãos por fungos *Claviceps*, que causa sintomas compatíveis aos relatados em determinados grupos desde os tempos bíblicos, tem sido apontada como uma importante causa de mortandade na Europa medieval (BHAT; MILLER, 1991). A utilização de trigo, que é altamente suscetível às espécies *Fusarium*, produzindo tricotecenos, aumentou substancialmente neste período e tem sido relacionada às pragas epidêmicas desta época. Durante a primeira metade do século XIX a possibilidade de doenças humanas ocorrendo como resultado do consumo de arroz e trigo contaminados foi considerada no Japão e em outros países asiáticos (SANTOS *et al.*, 2014).

O problema das micotoxicoses ganhou maior atenção a partir de 1960, quando mais de 100.000 perus morreram em fazendas de aves na Inglaterra no decorrer de alguns meses como resultado de uma doença aparentemente nova, que foi denominada “Turkey X” (AS MICOTOXINAS, 2009). Logo foi descoberto que a doença não se limitou a perus. Patos e faisões também foram afetados e houve grande mortalidade, devido ao consumo de ração produzida com amendoim importado do Brasil e da África. A análise da ração demonstrou que havia grande quantidade de uma substância fluorescente produzida pelo fungo *Aspergillus flavus*, denominada aflatoxina (FREIRE *et al.*, 2013). A ocorrência deste incidente levou à suspeita de que outros metabólitos de fungos poderiam ser mortais. A partir de então, o termo micotoxina foi utilizado para incluir uma série de toxinas fúngicas previamente conhecidas (por exemplo, os alcalóides da cravagem do centeio, causadores do ergotismo), alguns compostos que originalmente haviam sido isolados como antibióticos (patulina, por exemplo) e uma série de novos metabólitos secundários, como a ocratoxina A. (CARDOZO *et al.*, 2014).

O período entre 1960 e 1975 foi marcado por um grande avanço na pesquisa e descoberta de outras micotoxinas, graças ao forte financiamento destinado a este fim. Nos dias de hoje, são conhecidas mais de 300 destas substâncias. No entanto, somente um pequeno grupo recebe atenção especial por representarem ameaça à saúde humana e animal (SANTOS *et al.*, 2014).

Os piores efeitos das micotoxinas no homem tendem a ser os crônicos, de difícil associação com o consumo de alimentos contaminados (AS MICOTOXINAS, 2009). Eles se desenvolvem lenta e continuamente, em um processo que pode durar de dias a anos. Casos agudos, no entanto, podem ocorrer. Os sinais e sintomas vão desde lesões de pele, sintomas de hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, neurotoxicidade, hematotoxicidade e genototoxicidade, podendo ocasionar o óbito. Podem apresentar, ainda, efeitos mutagênicos, teratogênicos, carcinogênicos ou imunossupressores (SHEPHARD, 2008).

Diversos países já contam com legislação versando sobre limites toleráveis das micotoxinas, o que afeta diretamente a economia mundial, já que todas as exportações de produtos agrícolas para estes países estarão submetidos aos critérios estabelecidos. No Brasil, os limites permitidos de micotoxinas em alimentos foram atualizados em regulamentação recente, publicada em 22 de fevereiro de 2011 no Diário Oficial da União (BRASIL, 2011).

A micotoxina patulina é produzida principalmente pelos gêneros *Penicillium*, *Byssochlamys* e *Aspergillus*. Os maiores produtores são *P. expansum*, *P. patulum*, *P. variable*, *P. chrysogenum*, *P. funiculosium*, entre outros. Destaca-se o *P. expansum* no armazenamento de maçãs, peras, uvas e cerejas. A maçã é a fruta mais suscetível a contaminação por patulina (HOPKINS, 1993; BURDA, 1992; WELKE *et al.*, 2009).

A produção de patulina ocorreu em todas as combinações de armazenamento e temperaturas utilizadas no ensaio, de 15 a 90 dias e de 0 a 25° C, nas cultivares de maçãs Gala e Fuji, comercializadas na Região Sul do Brasil. A produção de patulina ocorreu mesmo em temperaturas de refrigeração, indicando a necessidade de melhorar o controle nas etapas de colheita e armazenamento de maçãs, a fim de evitar constante ingestão da micotoxina patulina.

O presente estudo tem por objetivo avaliar a eficiência da utilização de radiação gama para inativação de micotoxinas, em particular da patulina, uma substância carcinogênica, mutagênica e teratogênica, e do óleo essencial da noz moscada no controle de fungos micotoxigênicos.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Para preparo das amostras da patulina foi adquirido um padrão desta micotoxina, marca Aldrich, 5mg. As amostras para irradiação foram preparadas com a utilização de água ultra pura obtida a partir do equipamento para ultrapurificação de água, Milli-Q® Gradient 10A e de metanol grau UV-HPLC, adquirido da empresa VETEC.

Para extração do óleo essencial foram adquiridas no comércio local 50g de noz moscada.

As cepas de fungos *Penicillium expansum* foram obtidas da Universidade Federal de Pernambuco, por meio de projeto FAPERJ. Para preparação do meio de cultura foram utilizados Malt Agar da Acumedia® e Agar-agar granulado.

Foi utilizado um irradiador gama com fonte de Césio 137, do tipo “cavidade blindada”, com volume útil da ordem de 100L. Localizado no Centro Tecnológico do Exército (CTEx), em Guaratiba, RJ, é do tipo “cavidade blindada”. Foi projetado e montado na Brookhaven National Laboratory (EUA) em 1969. Sua fonte se apresenta na forma de duas hastes dispostas paralelamente, com 28 pastilhas de Cloreto de Césio 137, duplamente encapsuladas em aço inoxidável.

O tempo de exposição para que a dose requerida seja atingida é calculado considerando-se a atividade atual da fonte, a dose média desejada (Gy), o diâmetro ou altura máxima, densidade e geometria da amostra, a alta-atenuação e o fator de Build-up. Para isto é utilizado um programa computacional desenvolvido especialmente para o irradiador, com base em um mapeamento dosimétrico (VITAL; VELLOZO, 1996). O irradiador possui ainda vários sistemas de segurança, que incluem dispositivos lógicos e travas fixas, que garantem o funcionamento seguro e eliminam os riscos de exposição acidental à fonte.

Foi empregada a cromatografia multidimensional com o sistema MDGC/GCMS-2010 da Shimadzu®, que permite realizar a separação cromatográfica utilizando duas colunas de diferentes características, através do acoplamento do GC-2010 e do GCMS QP-2010 Plus, com a utilização do mecanismo Multi-Deans switching, no qual compostos que não apresentam boa separação na primeira coluna podem ser direcionados para a segunda coluna (heart-cut). No primeiro GC foi utilizada uma coluna HP-FFAP 25m x 0,20 mm i.d. x 0,33 µm (Agilent®), e na segunda uma coluna Rtx-5MS 30m x 0,25mm i.d. x 0,25µm (Restek®).

O cromatógrafo líquido de alta eficiência, marca Waters®, composto pelo Módulo de separação Alliance® 2695, contendo bomba analítica, injetor automático, degaseificador e forno para colunas, foi empregado na identificação e quantificação da patulina. O Sistema é controlado por microcomputador através de software de controle e processamento de dados Empower® também da Waters®, com detector modelo 2996 UV.

A irradiação das amostras de noz moscada nacional foi feita à temperatura ambiente e em presença de ar atmosférico, com uma fonte de césio 137, nos níveis de 1 kGy, 3 kGy e 5 kGy. O tempo médio correspondente a cada 1 kGy aplicado nas amostras desse trabalho foi de 34 minutos. As amostras foram colocadas em embalagens plásticas, na parte central do irradiador, de modo a garantir melhor uniformidade do tratamento aplicado.

A extração da fração volátil do material botânico (50 g/amostra) foi efetuada através de hidrodestilação por 3 horas em aparelho do tipo *Clevenger* modificado, adaptado a um balão de fundo redondo com capacidade de 4 L (CASTRO, 2006). Foram extraídos 2,9 mL de um óleo incolor com densidade menor que a água.

As duas soluções de patulina foram preparadas pela diluição de 1 mg do padrão em 10 mL de água e em 10 mL de metanol, respectivamente. As soluções modelo obtidas foram divididas em *vials* âmbar com volume de 2 mL, devidamente identificados para realização da irradiação. Os vials foram separados em 4 grupos: controle, 1kGy, 3kGy e 5kGy. O armazenamento das soluções foi feito em refrigeração (7-10°C) até a realização dos experimentos.

De maneira análoga à irradiação da noz moscada, a irradiação das soluções de patulina foi feita à temperatura ambiente e em presença de ar atmosférico, com uma fonte de césio 137, nos níveis de 1 kGy, 3 kGy e 5 kGy. O tempo médio correspondente a cada 1 kGy aplicado nas amostras foi de 34 minutos. Os *vials* contendo as amostras foram colocados na parte central do irradiador, para garantir melhor uniformidade do tratamento aplicado. O transporte para o local de irradiação e para os locais de análise foi feito em caixas térmicas com gelo.

A separação cromatográfica foi feita com uma coluna C18 BDS Hypersil (tamanho da partícula: 2,4 µm; 100 x 4.6mm D. I.) com eluição por gradiente. Como solvente A foi utilizada uma solução de água-ácido acético (98:2, v/v), e como solvente B foi utilizada uma solução de água-metanol-ácido acético (68:30:2, v/v/v). O volume de injeção utilizado foi de 10µL, e o tempo de corrida 15 minutos (WELKE et al., 2009).

### 3 MEIO DE CULTURA, REPICAGEM E VERIFICAÇÃO DO CRESCIMENTO DOS FUNGOS

Para avaliar o potencial de inibição do crescimento dos fungos com o óleo essencial de noz moscada foi preparado meio de cultura específico. Em um becher de 2 L foram colocados 81g de Malt Agar, 3,6g de Agar-agar e 1,7 L de água destilada. A mistura foi levada ao micro-ondas em potência máxima por 7 minutos, mexida, colocada novamente no micro-ondas por mais 4 minutos e, em seguida, foram adicionados mais 100 mL de água destilada. Em seguida o meio de cultura foi dividido em 17 frascos e Erlenmeyer para esterilização em autoclave a 121°C/15 minutos. Após a esterilização e resfriamento, o meio de cultura foi dividido em 140 Placas de Petri, para as 10 réplicas em cada uma das 14 condições estabelecidas.

As seguintes condições foram consideradas para o estudo:

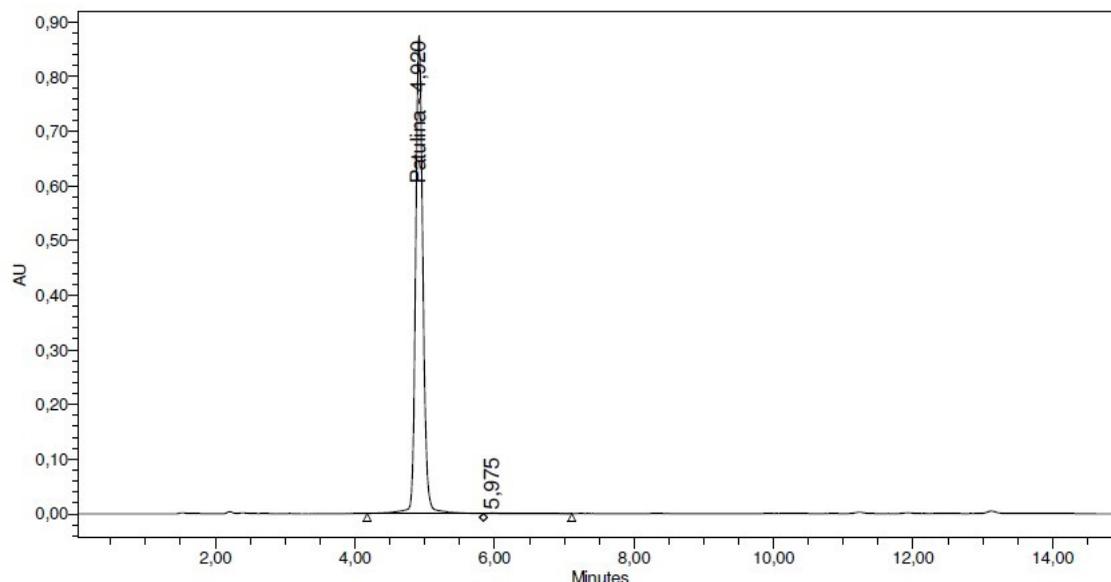
- a) adição de 1mL de Etanol em 150 mL de meio de cultura;
- b) adição de 1 mL de água destilada em 150 mL de meio de cultura;
- c) adição de 1, 3 e 5µL de óleo essencial (controle) em 150 mL de meio de cultura;
- d) adição de 1, 3 e 5µL de óleo essencial (irradiado com 1 kGy) em 150 mL de meio de cultura;
- e) adição de 1, 3 e 5µL de óleo essencial (irradiado com 3 kGy) em 150 mL de meio de cultura; e
- f) adição de 1, 3 e 5µL de óleo essencial (irradiado com 5 kGy) em 150 mL de meio de cultura.

Após a homogeneização com o meio de cultura, foi feita a repicagem com fungos *Penicillium expansum* em 10 réplicas para cada condição adotada. As placas foram incubadas por sete dias para verificação do potencial de inibição do crescimento dos fungos pelo óleo essencial.

### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO: SOLUÇÃO DE PATULINA EM ÁGUA

O cromatograma padrão da micotoxina patulina em água obtido por CLAE, com o tempo de retenção de 4,9 minutos (ver Figura 1).

Figura 1: Cromatograma padrão da solução controle de patulina em água, obtido por CLAE



Fonte: Os autores.

Os resultados de inativação desta micotoxina em meio aquoso por irradiação gama foram bastante satisfatórios, utilizando baixas doses de radiação. Com 1 kGy foi possível observar uma pequena redução de 3%. Com a dose de 3 kGy reduziu-se o teor de patulina em 82,79% e não foi possível identificar a presença da molécula estudada na dose de 5 kGy, evidenciando a eficiência do método como alternativa para a inativação desta micotoxina.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO: SOLUÇÃO DE PATULINA EM METANOL

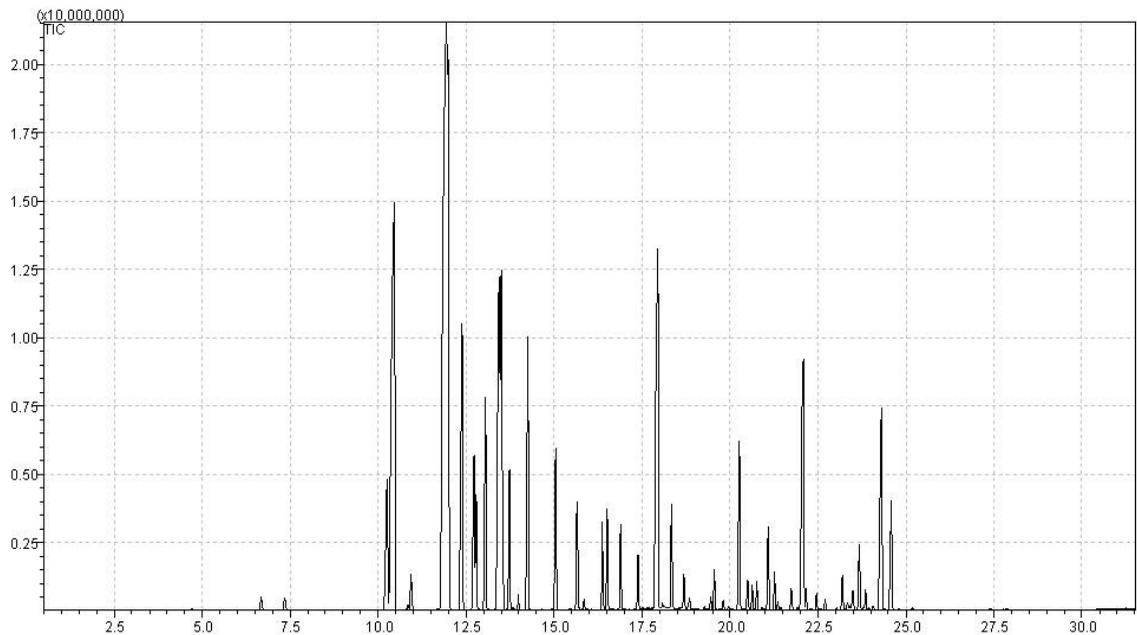
O cromatograma padrão da micotoxina patulina em metanol foi idêntico ao obtido em água por CLAE, tendo como tempo de retenção 4,9 minutos.

As soluções irradiadas de patulina em metanol não apresentaram alterações em suas concentrações. Este resultado mostra que na solução irradiada de patulina em água o efeito evidenciado da radiação foi o secundário, pois provavelmente provocou a formação de radicais livres no solvente e estes a degradação da patulina. Quando comparamos com o efeito da radiação gama na patulina em metanol, verificamos que nas doses estudadas não foi observado variação no teor de patulina, mostrando que doses de irradiação superiores seriam necessárias para estabelecer os efeitos primários ou secundários da irradiação.

## 6 ÓLEO ESSENCIAL DE NOZ MOSCADA

O cromatograma típico de íons totais obtidos nas análises das amostras de óleo essencial de noz moscada para as amostras controle e irradiadas com 1, 3 e 5 kGy, (ver Figura 2).

Figura 2: Cromatograma de íons totais do óleo essencial de noz moscada não irradiada.



Fonte: Os autores.

Foram identificados e monitorados 33 compostos, de acordo com o tempo de retenção, espectro de massas e a similaridade com o banco de dados da NIST. Os compostos, em ordem crescente de tempo de retenção, foram: Alfa Tujona, Alfa Pineno, Canfeno, Beta Pineno, Sabineno, Mirceno, Alfa Felandreno, 3-Careno, 4-Careno, 1,2-diciclopropilciclobutano, Beta Felandreno, o-Cymene, Gama Terpineno, 2-Careno, 4-Isopropyl-1-methyl-2-cyclohexen-1-ol, Linalol, 5-Isopropyl-2-methylbicyclo[3.1.0]hexan-2-ol, 4-Terpineol, Alfa Terpeneol, Trans Piperitol, Borneol acetato, alfa-Terpineol acetato, Copaeno, Nerol acetato, Eugenol metil eter, Germacreno D, Isoeugenol metil éter, delta-Cadineno, Miristicina, Elemicina.

Alguns componentes do óleo essencial da noz moscada possuem atividades antimicrobianas, como o eugenol, isoeugenol, terpineol, entre outros, além de moléculas neurotóxicas, como tujona, miristicina e elemicina.

## 7 TESTES DE INIBIÇÃO DE CRESCIMENTO DE FUNGOS

No Laboratório de Micologia da EMBRAPA Agroindústria de Alimentos foi feita a verificação dos resultados, sete dias após a repicagem dos fungos no meio de cultura, acondicionados em temperatura e umidade ideais para sua proliferação. Apesar de algumas placas com aplicação de 5mL de óleo essencial irradiado a 5 kGy apresentarem uma possível limitação na expansão e formação de esporos, podemos considerar que em nenhuma das condições utilizadas foi verificada uma inibição total do crescimento fúngico, provavelmente devido à baixa concentração utilizada de óleo essencial.

## 8 CONCLUSÃO

Os testes de inativação da patulina por intermédio da radiação gama tiveram resultados satisfatórios. As soluções de patulina em água submetidas as doses de 1 kGy, 3 kGy e 5 kGy tiveram o teor da micotoxina reduzido, apesar de não ser observada redução nas amostras preparadas com metanol.

Foram separados e identificados por Cromatografia Multidimensional com detector de Massas (CG-CG/EM) 35 compostos majoritários no óleo essencial da noz moscada. Não houve a inibição do crescimento do fungo de *Penicillium expansum* com os teores de óleo essencial de noz moscada utilizados neste estudo, apesar de alguns componentes do óleo essencial possuírem atividades antimicrobianas, como o eugenol, isoeugenol, terpineol, entre outros, além de moléculas neurotóxicas, como tujona, miristicina e elemicina, provavelmente devido suas baixas concentrações.

## REFERÊNCIAS

AS MICOTOXINAS. **Food Ingredients**, São Paulo, n. 7, p. 32-40, maio 2009. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/90.pdf>>. Acesso em: 29 jun. 2015.

BHAT, R. V.; MILLER, J. D. Mycotoxins and food supply. **Food, Nutrition and Agriculture**, London, v. 1, n. 1, p. 27-31, 1991.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 7, de 18 de fevereiro de 2011. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 fev. 2011.

BURDA, K. A research note: incidence of patulin in apple, pear and mixed fruit-products marketed in New South Wales. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 55, n. 10, p. 796-798, 1992.

CARDOZO, M. et al. Quantificação da inativação da crotaxina A pela radiação gama: um exemplo do potencial da radiação ionizante na descontaminação de agentes químicos. **Revista Virtual de Química**, Niterói, v. 6, n. 3, p. 779-794, 2014.

CASTRO, N. E. A. **caracterização fitoquímica de óleos essenciais de eucalipto e seu efeito sobre o protozoário tripanosomatídeo herpetomonas**. 2006. 82 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

FREIRE, F. C. O. et al. Micotoxinas: importância na alimentação e na saúde humana e animal. **Embrapa Agroindústria de Alimentos**, Fortaleza, p. 9-48, 2007. Disponível em: <[http://www.cnpat.embrapa.br/cd/jss/acervo/Dc\\_110.pdf](http://www.cnpat.embrapa.br/cd/jss/acervo/Dc_110.pdf)>. Acesso em: 20 nov. 2013.

HOPKINS, J. The toxicological hazards of patulin: information section. **Food Chemical Toxicology**, Catalonia, v. 31, n. 6, p. 455-459, 1993.

LIMA, K. S. C. et al. Effect of gamma irradiation and cooking on cowpea bean grains (*Vigna unguiculata* L. Walp). **Radiation Physics and Chemistry**, Victoria, v. 80, p. 983-989, 2011.

PIRES, S. R. R. **Desenvolvimento de novos métodos analíticos para controle da qualidade de alimentos: análise de micotoxinas**. 2009. 56 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2009.

SANTOS, M. C. et al. Micotoxinas e seu potencial como agentes de guerra. **Revista Virtual de Química**, Niterói, v. 6, n. 3, p. 761-778, 2014.

SHEPHARD, G. S. Determination of mycotoxins in human foods. **Chemical Society Reviews**, London, v. 37, p. 2468-2477, 2008.

SONGSERMSAKUL, P.; RAZZAZI-FAZELI, E. A review of recent trends in applications of liquid chromatography-mass spectrometry for determination of mycotoxins. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, Ridgefield, v. 12, p. 1641-1686, 2008.

VITAL, H. C.; VELLOZO, S. O. Perspectivas de uso do irradiador gama do IPE. In: CONGRESSO GERAL DE ENERGIA NUCLEAR, 6., 1996, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro, 1996. p. 27-31.

WELKE, J. E. et al. Ocorrência, aspectos toxicológicos, métodos analíticos e controle da patulina em alimentos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 1, p. 300-308, 2009.

Recebido em: 17 mar. 2016.

Aprovado em: 24 mar. 2016.