

EFEITO DA IRRADIAÇÃO NA MICROBIOTA FÚNGICA DE PLANTAS MEDICINAIS

Irradiation effect on mycoflora of medicinal plants

Guilherme Prado¹, Mabel Caldeira de Andrade², Marize Silva de Oliveira³, Alexandre Soares Leal⁴, Bibiane Rezende de Oliveira⁵, Luis Roberto Batista⁶

RESUMO

O aumento do consumo de produtos de origem natural tem ocasionado problemas de saúde pública devido ao risco da contaminação fúngica e a possível presença de micotoxinas. Objetivou-se, neste estudo, identificar as espécies fúngicas com potencial micotoxigênico e avaliar o efeito da irradiação gama (⁶⁰Co) na destruição da microbiota fúngica natural de cinco plantas medicinais: Alcachofra (*Cynara scolymus* L.), Boldo (*Peumus boldus* Molina), Camomila (*Matricaria recutita* L.), Chapéu de couro (*Echinodorus grandiflorus* Micheli) e Sene (*Cassia acutifolia* Delile). A quantificação de fungos filamentosos e leveduras foi efetuada pela Técnica de Diluição Seriada em meio DRBC. Em Camomila foram identificados 8 isolados de *Aspergillus flavus*, sendo 2 (25%) produtores de aflatoxina B₁ e B₂ e 5 isolados de *Aspergillus ochraceus*, sendo 2 (40%) produtores de ocratoxina A. Em Alcachofra foi identificado 1 isolado de *Aspergillus ostianus* produtor de ocratoxina A. Observou-se redução total da contagem de fungos em Boldo a partir de 3 kGy e em Chapéu de couro e Sene a partir de 5 kGy. Em Alcachofra, a contagem inicial de 5,0 x 10⁶ UFC/g foi reduzida para 3,5 x 10² UFC com dose de 10 kGy. Nessa mesma dose a contagem fúngica em Camomila foi reduzida de 3,0 x 10⁵ UFC/g para 2,2 x 10³ UFC/g.

Termos para indexação: Cobalto 60, fungos toxigênicos, contaminação, plantas medicinais.

ABSTRACT

The increasing consumption of natural products has brought about problems related to public health due to the risk of fungi contamination and the considerable possibility of mycotoxin presence. The aim of this work was to identify the fungi species with mycotoxigenic potential and to evaluate the effect of gamma irradiation (⁶⁰Co) on killing the natural fungi microbiota of five medicinal plants: artichoke (*Cynara scolymus* L.), boldo (*Peumus boldus* Molina), chamomile (*Matricaria recutita* L.), burhead (*Echinodorus grandiflorus* Micheli), and senna (*Cassia acutifolia* Delile). The qualification of filamentous fungi and yeast was carried out utilizing the Technique of Serial Dilutions on DRBC medium. Eight isolates of *Aspergillus flavus* were identified on chamomile, two (25%) being producers of aflatoxins B₁ and B₂ as well as five isolates of *Aspergillus ochraceus*, two (40%) being producers of ocratoxin. On artichoke, one isolate of *Aspergillus ostianus* was identified as ocratoxin A producer. A reduction on the total counting of fungi was observed in boldo with irradiation higher than 3 kGy, and in both burhead and senna with irradiation higher than 5 kGy. The initial counting on artichoke of 5.0 x 10⁶ CFU/g experienced a reduction to 3.5 x 10² with doses of 10 kGy. With this same dose the fungi counting on chamomile was reduced from 3.0 x 10⁵ CFU/g to 2.2 x 10³ CFU/g.

Index terms: Cobalt 60, toxigenic fungi, contamination, medicinal plants.

(Recebido em 8 de junho de 2007 e aprovado em 13 de junho de 2008)

INTRODUÇÃO

Nos países em desenvolvimento, bem como nos mais desenvolvidos, os apelos da mídia para o consumo de alimentos à base de fontes naturais aumentam a cada

dia. Atualmente, grande parte da comercialização de plantas medicinais é feita em farmácias e lojas de produtos naturais, onde preparações vegetais são comercializadas com rotulagem industrializada. Em geral, essas preparações não possuem certificado de qualidade e são produzidas a partir

¹Farmacêutico, Bioquímico – Doutor em Ciência de Alimentos – Laboratório de Micologia e Micotoxinas – Divisão de Vigilância Sanitária/DIVISA – Instituto Octávio Magalhães/IOM – Fundação Ezequiel Dias/FUNED – Rua Conde Pereira Carneiro, 80 – Gameleira – 30510-010 – Belo Horizonte, MG – gui@funed.mg.gov.br

²Bióloga, Bacharel em Microbiologia – Instituto Octávio Magalhães/IOM – Divisão de Vigilância Sanitária/DIVISA – Serviço de Ciências Bioquímicas/SCB – Laboratório de Micologia – Fundação Ezequiel Dias/FUNED – Rua Conde Pereira Carneiro, 80 – Gameleira – 30510-010 – Belo Horizonte, MG – mabel@funed.mg.gov.br

³Bióloga, Mestre em Ciência de Alimentos – Instituto Octávio Magalhães/IOM – Divisão de Vigilância Sanitária/DIVISA – Serviço de Ciências Bioquímicas – Laboratório de Micotoxinas – Fundação Ezequiel Dias/FUNED – Rua Conde Pereira Carneiro, 80 – Gameleira – 30510-010 – Belo Horizonte, MG – mar@funed.mg.gov.br

⁴Físico, Doutor – Serviço do Reator e Irradiações – Laboratório de Medidas Nucleares – Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear/CDTN – Campus da Universidade Federal de Minas Gerais – Avenida Antônio Carlos, 6627 – 31270-901 – Belo Horizonte, MG – asleal@cdtn.br

⁵Graduanda em Engenharia de Alimentos – Departamento de Ciências dos Alimentos/DCA – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Campus Universitário – 37200-000 – Lavras, MG – bibiane_reoli@hotmail.com

⁶Químico – Doutor em Ciência de Alimentos – Departamento de Ciências dos Alimentos/DCA – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Campus Universitário – 37200-000 – Lavras, MG – luisrb@ufla.br

de plantas cultivadas, o que descaracteriza a medicina tradicional, que utiliza, quase sempre, plantas da flora nativa. Essas preparações são usualmente chamadas de chás medicinais e são preparadas utilizando plantas naturais coletadas, secas e embaladas sem um efetivo controle higiênico e sanitário (MACIEL et al., 2002; MARTINS et al., 2001; VEIGA JUNIOR et al., 2005).

No início da década de 1990, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou que 65-80% da população dos países em desenvolvimento dependiam das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados essenciais para cuidados da saúde primária (CALIXTO, 2000).

O aumento do consumo de produtos naturais tem se tornado problema de saúde pública. O interesse com a segurança desses produtos é devido, em parte, a possível presença de bactérias patogênicas e fungos toxigênicos produtores de micotoxinas (ABOU-ARAB et al., 1999; ARAÚJO & OHARA, 2000; ROCHA et al., 2004). Fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, largamente distribuídos no ecossistema brasileiro apresentam espécies produtoras de micotoxinas (BUGNO et al., 2006).

Em 1981, a preservação de alimentos pelo tratamento com a irradiação gama foi aprovada pelo Comitê Misto da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO/WHO) e pela Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA). No Brasil está em vigor a Resolução RDC N° 21, de 26 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde (ANVISA, 2001). Segundo a Resolução, qualquer alimento pode ser tratado por irradiação gama desde que não comprometa suas qualidades funcionais e sensoriais.

Em 2004, a ANVISA por meio da Resolução RDC N° 48, de 16 de março de 2004, dispôs sobre o registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil, estabelecendo que as indústrias que comercializam esses produtos devem informar a parte da planta utilizada, os testes de pureza e integridade, análise qualitativa e quantitativa dos princípios ativos e/ou marcadores e a descrição detalhada de todas as metodologias utilizadas no controle de qualidade. É exigido ainda da empresa o Certificado de Boas Práticas de Fabricação e Controle (BPFC), emitido pela ANVISA (ANVISA, 2004).

Considerando que a contaminação de produtos de origem vegetal torna-os inadequados para aplicação em indústrias de alimentos e farmacêuticas, objetivou-se, neste trabalho, avaliar os níveis de contaminação fúngica, a presença de fungos toxigênicos produtores de aflatoxinas e ocratoxina A e a eficiência da irradiação gama em destruir a microbiota fúngica inicial de algumas plantas medicinais.

MATERIALE MÉTODOS

Amostras

As plantas medicinais utilizadas, Alcachofra (*Cynara scolymus*), Boldo (*Peumus boldus*), Camomila (*Matricaria recutita*), Chapéu de couro (*Echinodorus grandiflorus*) e Sene (*Cassia acutifolia*), foram coletadas no Mercado Central de Belo Horizonte pela Vigilância Municipal de Saúde, em setembro de 2006. Cada material foi coletado em sacos de polietileno contendo cerca de 1,2 kg.

Irradiação

A irradiação gama foi conduzida no Laboratório de Irradiação Gama do Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear – CDTN/MG. A taxa de dose foi ao redor de 6,0 kGy h⁻¹. As doses de irradiação aplicadas foram 0, 1, 3, 5, 7 e 10 kGy.

Avaliação da contaminação fúngica

Vinte e cinco gramas de cada amostra foram homogeneizados com 225 mL de água peptonada a 0,1%, durante 2 minutos, utilizando-se um “Stomacher” 400 (Seward, London, UK). A partir dessa diluição inicial (10⁻¹) foram preparadas diluições seriadas até 10⁻⁵. De cada diluição foram retiradas alíquotas de 0,1 mL e transferidas para placas de Petri (9 cm Ø), em triplicata, em meio de cultura DRBC/DIFCO (Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol). As placas foram incubadas por um período de 5 a 7 dias a 25 °C. Foram considerados os resultados que apresentaram contagem entre 15 e 150 UFC (Unidades Formadoras de Colônias). Os resultados foram expressos em UFC por grama de planta medicinal. Foram selecionados fungos para identificação até espécie, utilizando-se meio de Ágar Malte 2% e identificados conforme Klich (2002), Pitt (2000) e Samson et al. (2000). Os fungos que não apresentaram morfologia semelhante aos fungos produtores de aflatoxinas e ocratoxina não foram isolados nem identificados.

Potencial Toxigênico

Os isolados identificados foram inoculados em meio de YES (Extrato de Levedura Sacarose) e incubados durante 7 dias a 25-26 °C, conforme descrito por Filtenborg & Frisvad (1980). Para detecção qualitativa de micotoxinas foram utilizadas placas de cromatografia em camada delgada (MERCK – Sílica Gel 60, 20 x 20 cm, 0,25 mm de espessura). A cromatografia foi desenvolvida em tolueno, acetato de etila e ácido fórmico (50:40:10). Após eluição as placas foram secas em capela e visualizadas em luz ultravioleta a

366 nm. Foram utilizados para comparação padrões de aflatoxina B1, B2, G1, G2 e ocratoxina A (Sigma).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Embora fosse esperado encontrar alto grau de contaminação fúngica em função da origem natural das plantas medicinais (Tabela 1), os valores iniciais da Contagem de fungos filamentosos e leveduras das amostras não irradiadas (0 kGy), com exceção do Boldo do Chile, foram superiores ao limite máximo sugerido pela

Organização Mundial da Saúde para plantas pré-tratadas com água quente (1×10^4 UFC/g) (WHO, 1998). A capacidade de produção de micotoxinas pelas espécies fúngicas isoladas das plantas medicinais estão na Tabela 2.

As amostras de Alcachofra, Sene e Camomila apresentaram os níveis mais elevados de contaminação com fungos filamentosos e leveduras (Tabela 1), sendo que a Camomila e a Alcachofra, foram as únicas amostras que apresentaram contaminação com fungos produtores de

Tabela 1 – Efeito da irradiação gama (^{60}Co) na Contagem Total de fungos em plantas medicinais.

Dose de Irradiação (kGy)	Contagem de Total de fungos (UFC/g*)				
	Alcachofra	Boldo do Chile	Camomila	Chapéu de Couro	Sene
0	$5,0 \times 10^6$	$2,0 \times 10^3$	$3,0 \times 10^5$	$2,0 \times 10^4$	$4,5 \times 10^5$
1	$1,2 \times 10^6$	$2,0 \times 10^2$	$6,1 \times 10^5$	$3,9 \times 10^4$	$7,0 \times 10^2$
3	$2,9 \times 10^5$	<10	$4,2 \times 10^5$	$1,0 \times 10^3$	$2,0 \times 10^2$
5	$2,8 \times 10^4$	<10	$2,4 \times 10^3$	< 10	< 10
7	$4,4 \times 10^3$	<10	$2,8 \times 10^3$	< 10	< 10
10	$3,5 \times 10^2$	<10	$2,2 \times 10^3$	<10	<10

*Média de triplicata

Tabela 2 – Espécies fúngicas isoladas de plantas medicinais e potencial de produção de micotoxinas: Ocratoxina A (OTA) e Aflatoxinas (AFLA)

Amostra/espécie	Potencial toxigênico (OTA)	Potencial toxigênico (AFLA)
Camomila		
<i>Aspergillus ochraceus</i>	5/2 (40%)	--
<i>Aspergillus sclerotiorum</i>	1/0	--
<i>Aspergillus flavus</i>	--	8/2(25%)
<i>Emericella nidulans</i>	--	--
Alcachofra		ND
<i>Aspergillus ostianus</i>	1/1 (100%)	--
<i>Aspergillus ochraceus</i>	1/0	--
Boldo	ND	ND
Sene	ND	ND
Chapéu de Couro	ND	ND

ND – Não foi detectada na amostra a presença de fungos toxigênicos

5/2 (40%) – Dos cinco isolados testados, 2(40%) foram produtores de ocratoxina A

-- Não foram testados a produção de AFLA e OTA pois essas espécies não são consideradas como produtoras.

micotoxinas (Tabela 2). A partir de 10 kGy todas as amostras apresentaram níveis de contaminação abaixo do limite sugerido pela OMS. As espécies toxigênicas foram identificadas somente quando as amostras não foram irradiadas, demonstrando que a irradiação foi eficiente no controle das espécies de *Aspergillus* identificadas neste estudo.

Mesmo após a irradiação de 10 kGy permaneceu a contaminação com fungos filamentosos e leveduras nas amostras de Camomila e Alcachofra, indicando resistência desses micro-organismos à radiação ionizante.

Comparando-se os dados deste trabalho com levantamentos feitos por diferentes autores, observa-se uma concordância de resultados. Avaliação de 91 amostras de plantas medicinais, compostas por 65 diferentes espécies de plantas, comercializadas em 4 lojas de São Paulo, revelou que 54,9% excediam o limite de 2×10^2 UFC/g determinado pela Farmacopéia Americana (United..., 2005). Os gêneros *Aspergillus* and *Penicillium* correspondiam a 89,9% dos isolados. Verificou-se que 21,79% dos isolados demonstraram capacidade para produzir aflatoxinas (42,9%), ocratoxina A (22,4%) e citrinina (34,7%). Espécies de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* e *Penicillium citrinum* foram os isolados mais frequentes, com 23,39%, 20,97% e 12,50%, respectivamente (BUGNO et al., 2006).

Rocha et al. (2004) avaliaram a presença de fungos filamentosos em folhas inteiras de *Cassia acutifolia* (sene) e *Peumus boldus* (boldo-do-Chile), comercializadas em farmácias de manipulação da cidade de Campinas, São Paulo. Oito das vinte amostras de Sene e dez das vinte de Boldo apresentaram níveis acima dos limites preconizados. Os níveis de contaminação variaram de $1,0 \times 10^1$ UFC/g a $7,37 \times 10^3$ UFC/g e de $5,0 \times 10^1$ UFC/g a $1,9 \times 10^3$ UFC/g, para Sene e Boldo-do-Chile, respectivamente. Os resultados encontrados nesse trabalho para Boldo-do-Chile foram $2,0 \times 10^3$ UFC/g e para Sene de $4,5 \times 10^5$ UFC/g (Tabela 1).

Resultados semelhantes foram encontrados por Araújo & Ohara (2000). Em 45 amostras de drogas vegetais, adquiridas na feira da Praça da Sé, em São Paulo e utilizadas para preparação de infusos e decotos destinados ao uso por via oral, a contaminação por bolores e leveduras variou de $1,6 \times 10^3$ UFC/g a $1,0 \times 10^7$ UFC/g, com maior frequência de amostras nos níveis entre 10^4 a 10^5 e 10^5 a 10^6 UFC/g.

Em mercados públicos da cidade de Lisboa, Portugal, Martins et al. (2001) avaliaram 62 amostras de plantas medicinais. Fungos foram encontrados em 93,5% das amostras. O nível médio da população fúngica foi de 10^5 UFC/g e em todas as 13 amostras de Camomila foram detectados fungos na faixa de 2,3 a $3,8 \log_{10}$ UFC/g, correspondendo a $1,99 \times 10^2$ a $6,31 \times 10^3$ UFC/g. A contagem

de fungos para Camomila nesse trabalho atingiu $3,0 \times 10^5$ UFC/g.

Na Nigéria, a contagem de fungos em amostras de plantas, antes da secagem e após armazenamento, variou de $0,60 \times 10^2$ a $3,5 \times 10^2$ UFC/g, dentro dos padrões internacionais exigidos (EFUNTOYE, 1996).

Rizzo et al. (2004) avaliaram, na Argentina, 152 plantas medicinais secas e também detectaram elevados níveis de contaminação fúngica. *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* foram as espécies predominantes e cerca de 50% dos 40 isolados foram caracterizados como toxigênicos.

Em relação à aplicação da irradiação gama (^{60}Co) em alimentos observa-se um grande número de publicações (AHMAD et al., 2002; AQUINO, 2003; AZIZ & MOUSSA, 2002; AZIZ & YOUSSEF, 2002; FARKAS, 2006; FOONG et al., 2004; PRADO et al., 2005a,b, 2003, 2006; REFAI et al., 2003). Entretanto, poucos são os trabalhos que descrevem a utilização de ^{60}Co em plantas medicinais e produtos fitoterápicos.

Neste trabalho (Tabela 1) foi observado que o efeito da irradiação gama variou em função do tipo de planta medicinal. Doses baixas, 3 e 5k Gy, foram capazes de reduzir totalmente a contaminação fúngica em Boldo-do-Chile, Chapéu de couro e Sene. Dose de 10 kGy reduziu a Contagem Total de Fungos (UFC/g) em Alcachofra e Camomila, para níveis aceitáveis de 1×10^4 UFC/g (WHO, 1998).

Os poucos trabalhos de pesquisa que relacionam irradiação gama e plantas medicinais aborda aspectos relacionados aos efeitos do ^{60}Co nos constituintes químicos.

Koseki et al. (2002) investigaram o efeito da irradiação gama em alguns constituintes químicos em espécies botânicas cultivadas no Brasil: *Rosmarinus officinalis* L., *Nasturtium officinale* R. Br., *Cynara scolymus* L. e *Ocimum basilicum* L., nas doses de 0, 10, 20 e 30 kGy. Foi observado que os níveis de β -caroteno e taninos em amostras não irradiadas foram ligeiramente superiores quando comparados aos das amostras irradiadas. Entretanto, o conteúdo fenólico apresentou um decréscimo acentuado em Alecrim, a partir de 10 kGy.

Raízes de *Paeonia radix* Hong utilizados na Coreia como agente hipotensivo, vasodilatador e ação antioxidante foram tratadas com uma dose de 10 kGy. A concentração de paeoniflorina, principal glucosídeo monoterpeneo desta planta, não apresentou diferença significativa em amostras não irradiadas e irradiadas. O teste de mutagenicidade em *Salmonella typhimurium* revelou ausência de toxicidade em amostras irradiadas (YU et al., 2004).

Soriani et al. (2005) verificaram o efeito da irradiação gama (0, 5,5, 11,4 e 17,8 kGy) na carga microbiana e constituintes químicos de Ginkgo (*Ginkgo biloba* L.) e Guaraná (*Paullinia cupana* H. B. K.). Na doses de 5,5 kGy, a contaminação fúngica foi reduzida para níveis aceitáveis e com 17,4 kGy as concentrações dos glicosídeos flavonóides em ginkgo e de cafeína no guaraná não apresentaram variações significativas, quando comparadas aos valores determinados nas amostras não irradiadas.

Recentemente, Aquino et al. (2007) avaliaram o efeito da irradiação gama em 20 amostras de guaraná em pó, comercializadas em 5 cidades do estado de São Paulo. Foi observado que 80% apresentaram contagem de fungos acima do limite estabelecido pela WHO (1998) de 1×10^3 UFC/g. Após irradiação, a contaminação foi reduzida para níveis aceitáveis utilizando-se a dose de 5 kGy e com 10 kGy foi eliminada a presença de fungos. Neste trabalho resultados semelhantes foram encontrados para Boldo do Chile, Chapéu de Couro e Sene.

Em nosso estudo, na Camomila foram identificados 8 isolados de *Aspergillus flavus*, sendo que 2 (25%) foram produtores de aflatoxinas B₁ e B₂ e 5 isolados de *Aspergillus ochraceus*, sendo 2 (40%) produtores de ocratoxina A. Em Alcachofra foi isolado (1) *Aspergillus ostianus* produtor de ocratoxina A. A produção de ocratoxina A por *A. ochraceus* e *A. ostianus* e a existência de isolados de *A. sclerotiorum* não produtores de ocratoxina A, tem sido relatado por Batista et al. (2003). Nas amostras de Boldo, Sene e Chapéu de couro não foram identificados fungos toxigênicos. Além das espécies toxigênicas já citadas foram identificados nas amostras analisadas, *Cladosporium cladosporioides*, *Rhizopus stolonifer*, *Mucor* sp., *Eurotium chevalieri*, *Penicillium citrinum* e *Penicillium brevicompactum*.

CONCLUSÃO

A qualidade sanitária das plantas medicinais estudada foi baixa e o emprego da irradiação gama (⁶⁰Co) mostrou ser uma técnica completamente efetiva para Boldo-do-Chile, Chapéu de Couro e Sene. Para Alcachofra e Camomila a irradiação apenas reduziu o grau de contaminação com fungos.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro e a Pedro Campos Coutinho e Evaristo Rabelo Mata, da Gerência de Vigilância Sanitária da Prefeitura de Belo Horizonte (Regional Centro-Sul), pela coleta das plantas medicinais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOU-ARAB, A. A. K.; KAWTHER, M. S.; EL TANTAWY, M. E.; BADEAA, R. I.; KHAYRIA, N. Quantity estimation of some contaminants in commonly used medicinal plants in the Egyptian market. **Food Chemistry**, Oxford, v. 67, p. 357-363, 1999.

AHMAD, R.; THARAPPAN, B.; BONGIRWAR, D. R. Impact of gamma irradiation on the monsooning of coffee beans. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 39, n. 2, p. 149-157, 2002.

ANVISA. **Resolução n.21**, de 26 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico para irradiação de alimentos. Brasília, DF, 2001.

ANVISA. **Resolução RDC n.48**, de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Brasília, DF, 2004.

AQUINO, S. **Efeitos da radiação gama no crescimento de *Aspergillus flavus* produtor de aflatoxinas e no emprego da técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) em amostra de grãos de milho inoculadas artificialmente**. 2003. 85 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

AQUINO, S.; GONÇALVES, E.; REIS, T. A.; SABUNDJIAN, I. T.; TRINDADE, R. A.; ROSSI, M. H.; CORRÊA, B.; VILLAVICENCIO, A. L. C. H. Effect of gamma irradiation on mycoflora of guarana (*Paullinia cuppana*). **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, 2007. In press.

ARAÚJO, A. L. A.; OHARA, M. T. Qualidade microbiológica de drogas vegetais comercializadas em feira de São Paulo e de infusos derivados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 36, n. 1, p. 129-137, 2000.

AZIZ, N. H.; MOUSSA, L. A. A. Influence of gamma-irradiation on mycotoxin producing moulds and mycotoxins in fruits. **Food Control**, Oxford, v. 13, n. 4/5, p. 281-288, June/July, 2002.

AZIZ, N. H.; YOUSSEF, B. M. Inactivation of naturally occurring of mycotoxins in some egyptian foods a and agricultural commodities by gamma irradiation. **Egyptian Journal of Food Science**, Cairo, v. 30, n. 1, p. 167-177, 2002.

- BATISTA, L. R.; CHALFOUN, S. M.; PRADO, G.; SCHWAN, R. F.; WHEALS, A. E. Toxigenic fungi associated with processed (green) coffee beans (*Coffea arabica* L.). **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 85, n. 3, p. 293-300, 2003.
- BUGNO, A.; ALMODOVAR, A. A. B.; PEREIRA, T. C.; PINTO, T. J. A.; SABINO, M. Occurrence of toxigenic fungi in herbal drugs. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 37, p. 47-51, 2006.
- CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 33, p. 179-189, 2000.
- EFUNTOYE, M. O. Fungi associated with herbal drug plants during storage. **Mycopathologia**, Dordrecht, v. 136, p. 115-118, 1996.
- FARKAS, J. Irradiation for better foods. **Trends in Food Science Technology**, Oxford, v. 17, p. 148-152, 2006.
- FILTENBORG, O.; FRISVAD, J. C. A simple screening-method for toxigenic moulds in pure cultures. **Lebensmittel Wissenschaft und Rechnologie**, London, v. 13, p. 128-130, 1980.
- FOONG, S. C. C.; GONZALEZ, G. L.; DICKSON, J. S. Reduction and survival of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meats after irradiation. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 67, n. 1, p. 77-82, Jan. 2004.
- KLICH, M. A. **Identification of Common Aspergillus species**. The Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultuur, 2002.
- KOSEKI, P. M.; VILLAVICENCIO, A. L. C. H.; BRITO, M. S.; NAHME, L. C. Effects of irradiation in medicinal and eatable herbs. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 63, p. 681-684, 2002.
- MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JUNIOR, V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.
- MARTINS, H. M.; MARTINS, M. L.; DIAS, M. I. Evaluation of microbiology quality of medicinal plants used in natural infusions. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 68, p. 149-153, 2001.
- PITT, J. I. **A laboratory guide to common Penicillium species**. North Ryde: CSIRO, 2000. 197 p.
- PRADO, G.; CARVALHO, E. P.; CRUZ-MADEIRA, J. E. G.; MORAIS, V. D.; OLIVEIRA, M. S.; CORREA, R. F.; CARDOSO, V. N. Efeito da irradiação gama (^{60}Co) na frequência fúngica de amendoim *in natura* em função do tempo de prateleira. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 5, p. 930-936, 2006.
- PRADO, G.; CARVALHO, E. P.; OLIVEIRA, M. S.; CRUZ-MADEIRA, J. E. G.; MORAIS, V. D.; CORREA, R. F.; CARDOSO, V. N.; SOARES, T. V. Influência da irradiação gama na produção de aflatoxina B1 e no crescimento de cepa toxigênica de *Aspergillus flavus* em amendoim (*Arachis hypogaea* L.). **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 64, n. 1, p. 85-90, 2005a.
- PRADO, G.; CARVALHO, E. P.; OLIVEIRA, M. S.; CRUZ-MADEIRA, J. E. G.; MORAIS, V. D.; CORREA, R. F.; CARDOSO, V. N.; SOARES, T. V. Influência da irradiação gama (^{60}Co) na destruição da aflatoxina B1 em amendoim (*Arachis hypogaea* L.). **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 186-192, 2005b.
- PRADO, G.; CARVALHO, E. P.; OLIVEIRA, M. S.; CRUZ-MADEIRA, J. E. G.; MORAIS, V. D.; CORREA, R. F.; CARDOSO, V. N.; SOARES, T. V.; SILVA, J. F. M.; GONÇALVES, R. C. P. Effect of gamma irradiation on the inactivation of aflatoxin B1 and fungal flora in peanut. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 34, p. 138-140, 2003. Suplemento.
- REFAI, M. K.; NIAZI, Z. M.; AZIZ, N. H.; KHAFAGA, N. E. M. Incidence of aflatoxin B₁ in the egyptian cured meat basterma and control by γ -irradiation. **Nahrung Food**, Cairo, v. 47, n. 6, p. 377-382, Dec. 2003.
- RIZZO, I.; VEDOYA, G.; MAURUTTO, S.; HAIDUKOWSKI, M.; VARSAVSKY, E. Assessment of toxigenic fungi on Argentinean medicinal herbs. **Microbiological Research**, New York, v. 159, p. 113-120, 2004.

- ROCHA, L. O.; SOARES, M. M. S. R.; CORRÊA, C. L. Análise da contaminação fúngica em amostras de *Cassia acutifolia* Delile (sene) e *Peumus boldus* (Molina) Lyons (boldo-do-Chile) comercializadas na cidade de Campinas, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 40, n. 4, out./dez. 2004.
- SAMSON, R. A.; HOEKSTRA, E. S.; FRISVAD, J. C.; FILTENBORG, O. **Introduction to food-borne Fungi**. 4. ed. Baarn Delft: Centraalbureau Voor Schimmelcultures, 2000.
- SORIANI, R. R.; SATOMI, L. C.; PINTO, T. J. Effects of ionizing radiation in ginkgo and guarana. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 73, n. 4, p. 239-242, 2005.
- UNITED States Pharmacopeia. 28. ed. Rockville, 2005.
- VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Quality control methods for medicinal plant materials**. Geneva, 1998. 115 p.
- YU, Y. B.; JEONG, I. Y.; PARK, H. R.; OH, H.; JUNG, U.; JO, S. K. Toxicological safety and stability of the components of irradiated Korean medicinal herb, *Paeoniae Radix*. **Radiation Physics and Chemistry**, Oxford, v. 71, p. 115-119, 2004.