

ASPECTOS RELEVANTES DA PRESENÇA DA PATULINA NA MAÇÃ E SEUS DERIVADOS

RELEVANT ASPECTS OF THE PRESENCE OF PATULIN IN APPLE AND APPLE'S BY-PRODUCTS

Gabriela Viana da Silva*

Resumo: As micotoxinas são metabólitos secundários de fungos presentes na cadeia alimentar como contaminantes, causando diversos efeitos toxicológicos e imunológicos. A patulina é uma micotoxina produzida por várias espécies de *Penicillium*, *Aspergillus* e *Byssochlamys* tem sido frequentemente encontrada em maçãs e derivados. Em experimentos com animais, ela demonstrou ter atividade mutagênica, carcinogênica e teratogênica. Esta revisão bibliográfica tem como objetivos descrever as principais características da patulina, a ocorrência, os aspectos toxicológicos e os métodos desenvolvidos para seu controle durante os estágios da produção da maçã.

Palavras-chave: fungos, micotoxinas, toxicologia.

Abstract: Mycotoxins are fungi secondary metabolites present as contaminants in the food chain, causing various toxicological and immunological effects. Patulin is a mycotoxin produced by several species of *Penicillium*, *Aspergillus* and *Byssochlamys* and has often been found in apples and apple products. In animal experiments, has shown to be mutagenic, carcinogenic and teratogenic. This literature review aims to describe the main features of patulin, occurrence, toxicological aspects and methods developed for their control during the production stages of the apple.

Keywords: fungi, mycotoxins, toxicology.

INTRODUÇÃO

A maçã é uma das culturas frutícolas mais importantes no âmbito mundial, só superada em volume pela cultura de videira e cítricos (MACHUCA, 1988). A cultura da maçã tem apresentado expansão no cenário brasileiro, sendo que o estado de Santa Catarina se destaca como o maior produtor nacional (BRASIL, 2012; CENTRO DE SOCIOECONOMIA E PLANEJAMENTO AGRÍCOLA, 2008)

O consumo de maçã *in natura* ou processada é amplamente difundido, sendo seus produtos derivados: suco, polpa, purê, produtos fermentados e desidratados, conservas e doces (MACHUCA, 1988).

No Brasil, o comércio interno de suco de fruta é em torno de 5 a 7 litros anuais por habitante, decorrente do alto preço, falta de divulgação, incentivo, investimentos e de disponibilidade de variedades. Essa produção e comercialização de suco é insignificante quando comparado com a Europa e os Estados Unidos, onde o consumo de sucos de fruta chega a 30 litros anuais por habitante, destacando-se o suco de maçã como o mais popular e segundo suco mais consumido no mundo (IBRAF, 2008).

O suco e os demais derivados da maçã são elaborados, principalmente, a partir de frutas que não alcançam o

padrão exigido para consumo, por defeitos diversos, como picadas de insetos, injúrias mecânicas, cicatrizes na epiderme, má formação do fruto e problemas fitossanitários (MELO, 2007). Essas frutas podem estar contaminadas com fungos, causadores de deterioração e produtores de metabólitos tóxicos, as micotoxinas e, dentre essas, a patulina (CIEGLER, 1976).

A maçã constitui uma das frutas mais susceptíveis à contaminação por patulina, por ser um excelente substrato para *Penicillium expansum* e *Byssochlamys fulva* que são reconhecidamente produtores de patulina em maçãs e seus produtos (DRUSCH & RAGAB, 2003; MOAKE et al., 2005; SANT'ANA, 2007; SALOMÃO et al., 2008). A presença de patulina em maçã e produtos derivados vem sendo motivo de constantes investigações, devido a frequente contaminação natural (FRISVALD & FILTEMBORG, 1988; HOPKINS, 1993; BROWN & SYDENHAM, 1996). Além disso, *Byssochlamys fulva* apresenta esporos termoresistentes capazes de se manterem viáveis após a pasteurização do suco, além de possuir habilidade de produzir enzimas pectinolíticas que deterioram o produto final (HOCKING & PITT, 1984; SANT'ANA et al., 2009; TOURNAS, 1994).

A patulina vem sendo empregada como indicador da qualidade nos frutos e produtos de maçã (MOSS, 1996). Essa micotoxina tem demonstrado potencial carcinogênico

*autor para correspondência

Recebido para publicação em 11/06/2012; aprovado em 29/12/2012

* Médica Veterinária, Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rodovia BR 465, km 7, Seropédica – RJ CEP: 23.890-000. E-mail: gabrielaufrrj@ig.com.br

(BECCI et al., 1981), mutagênico (SCHUMACHER et al., 2005) e teratogênico (CIEGLER, 1976) em animais.

O objetivo desta revisão bibliográfica é apresentar os principais aspectos relacionados à patulina na maçã e seus produtos derivados, incluindo a ocorrência, os aspectos toxicológicos, e as formas de controle.

Propriedades físico-químicas da patulina

A patulina pode ser produzida como metabólito secundário por várias espécies de fungos para inibir o crescimento de outros microrganismos. Foi isolada pela primeira vez de *Penicillium claviforme*, nomeada claviformina, mas em razão de seu frequente isolamento partindo de *Penicillium patulum*, chama-se patulina (SCUSSEL, 1998).

Descrita pela primeira vez na década de 1940, como um antibiótico, logo após a descoberta da penicilina, mas pelos seus efeitos tóxicos em animais, foi classificada como uma toxina (WINDHOLZ, 1983; GÖNÇALEZ, 2001).

Quimicamente, a patulina é 4-hidróxi-4Hfuro[3,2-c]piran-2(6H)-ona, uma lactona do grupo dos policetídeos, apresenta fórmula empírica $C_7H_6O_4$ e seu peso molecular é de 150,12 Da (WINDHOLZ, 1983). Apresenta-se como sólido branco, cristalino, com ponto de fusão entre 105 a 108 °C. É solúvel em água, etanol, acetato de etila, clorofórmio, acetona; ligeiramente solúvel em éter etílico e benzeno; insolúvel em éter de petróleo, pentano e hexano (POHLAND et al., 1982). A patulina perde sua atividade biológica em meio alcalino e em presença de moléculas contendo grupo sulfidríla, tais como cisteína e glutatona (CODEX COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS, 1998). Sua quantidade em suco de maçã é reduzida por estocagem prolongada, ação de sulfito e alta temperatura, adição de ácido ascórbico, fermentação alcoólica e tratamento com carvão ativo (CODEX COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS, 1998).

Sua atividade carcinogênica é atribuída à insaturação α , β , junto com uma dupla ligação conjugada externa, unida na posição 4 do anel lactona. Apresenta absorção UV máxima de 256,5 nm e solubilidade em água e solventes orgânicos comuns, exceto éter de petróleo (MAJERUS & KAPP, 2002; MOAKE et al., 2005; RYCHLIK & SCHIEBERLE, 2001).

Fungos produtores de patulina

A patulina é uma micotoxina termo resistente com potencial carcinogênico, mutagênico (KRYGER, 2001) e teratogênico (BISSESSUR et al., 2001) é produzida por mais de 60 espécies de fungos e cerca de 30 gêneros (LAI et al., 2000). Dentre esses *Penicillium expansum*, *P. patulum* (*P. urticae*, *P. griseofulvum*), *P. crustosum*, *P. roqueforti*, *P. claviforme*, *Saccharomyces vesicarium*, *Alternaria alternata*, *Byssochlamys nivea*, *B. fulva*, *Aspergillus giganteus*, *A. terreus*, e *A. clavatus* (AYTAC

& ACAR, 1994; LAIDOU et al., 2001; MOSS & LONG, 2002).

A produção de patulina ocorre quando a taxa de crescimento diminui em virtude das limitações do consumo de nitrogênio (GROOTWASSINK & GAUCHER, 1980). O fungo desenvolve-se em partes da fruta danificadas mecanicamente ou por pragas, onde se observa o apodrecimento; todavia, a patulina pode ser detectada em frutas visivelmente sadias (JACKSON et al., 2003). Normalmente encontrada em altas concentrações na parte da fruta onde há presença de esporos (93 a 95% de toda toxina), difundindo-se para outras partes sadias do fruto devido sua hidrossolubilidade, até 4 cm além da lesão (LAIDOU et al., 2001).

Penicillium expansum é o fungo psicotróficotoxigênico de maior incidência em maçãs, considerado um parasita facultativo que invade frutas danificadas causando podridão, cresce em atividade de água (aw) entre 0,83 a 0,99 e tem a capacidade de tolerar até 80% de sacarose (p/v) no meio de crescimento, causando podridão de coloração azul na parte externa da maçã e bege ou marrom-clara no tecido, deixando o fruto aguado e mole (PITTET, 2001; HEFNAWY & ABOU-ZEID, 2003). É o principal produtor de patulina (MUTLU et al., 1997), sendo reportado como responsável por 70 a 80% da deterioração de frutas armazenadas e em especial de maçãs (LEGGOTT & SHEPHARD, 2001). Embora *P. expansum* prefira atividade de água em torno de 0,95 e temperatura ideal na faixa de 20 a 25°C para o crescimento e produção de toxina (NORTHOLT et al., 1978; ROLAND; BEUCHAT, 1984), o fungo produz patulina em refrigeração comumente empregada na armazenagem de frutas (ROSS & HIROOKA, 1996).

O gênero *Byssochlamys* possui duas espécies economicamente importantes, *B. nivea* e *B. fulva*, sendo que ambas causam deterioração de frutas e produtos processados a partir delas. Esse gênero fúngico é o principal causador da deterioração pós-tratamento térmico em derivados de frutas (TOURNAS, 1994). As espécies de *Byssochlamys* são capazes de crescer fermentando em baixos níveis de oxigênio, produzindo pectinases, resultando em uma desintegração da estrutura da fruta, além de serem potencialmente produtoras de patulina (HOCKING & PITT, 2001).

Aspectos toxicológicos

A patulina causa efeitos tóxicos em animais, de caráter teratogênico e cancerígeno em camundongos, além de lesões pulmonares, hepáticas e renais (GÖKMEN & ACAR, 1998), efeitos gastrointestinais e neurotóxicos (HOPKINS, 1993) e imunotóxicos (SHARMA, 1993). Intoxicações agudas experimentais, em animais, demonstraram a ocorrência de edema pulmonar, processos hemorrágicos, danos nos capilares do fígado, do baço e rins, bem como edema cerebral (MACHINSKI JR. & MÍDIO, 1995).

A dose de letalidade – DL50 para camundongos varia de 5 a 30 mg/kg de peso corpóreo (BOONZAAIJER et al., 2005). Em 1995, o Joint Expert Commiteeon Food Additives (JECFA) estabeleceu como ingestão diária tolerável máxima provisória (PMTDI) a dose de 0,4 µg kg⁻¹ de peso corpóreo (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2001).

Em 1986, a Agência Internacional de Pesquisa para o Câncer (IARC, 1986), concluiu que não há evidências suficientes sobre a carcinogenicidade da patulina em animais e que não se pode fazer qualquer afirmação sobre a carcinogenicidade em humanos. Entretanto, nos últimos anos, inúmeros estudos têm sido realizados com o objetivo de evidenciar a toxicidade dessamicotoxina (FLIEGE & METZLER, 2000; MAHFOUD et al., 2002; RYCHLIK et al., 2004; SCHUMACHER et al., 2005; WU et al., 2005; SCHUMACHER et al., 2006). Em 2010 a Agência Internaciolnal para Pesquisa em Câncer (IARC) classificou a patulina como carcinógeno do grupo 3 – Confirmado carcinógeno animal com relevância desconhecida para seres humanos (IARC, 2010).

Mahfoudet al. (2002), propuseram que a patulina altera a função de barreira das células do epitélio intestinal, levando a injúrias e degeneração celular com consequente inflamação e hemorragia. Wichmann et al. (2002) demonstraram que esta micotoxina seria capaz de diminuir a produção de γ -interferon (IFN-gama) por linfócitos T-helper (Th1), sendo um fator de risco para o desenvolvimento de doenças alérgicas.

Ao nível celular, a patulina tem mostrado efeitos que incluem rompimento da membrana de células plasmáticas (MAHFOUD et al., 2002) e inibição da síntese de DNA (WICHMANN et al., 2002). Em estudo in vitro, a patulina se mostrou capaz de inativar várias enzimas, incluindo as polimerases de ácido ribonucléico e de ácido desoxirribonucléico. Isso também afeta a transcrição e a tradução, tendo um efeito direto no DNA (RILEY & SHOWKER, 1991).

Aspectos epidemiológicos

Pesquisas apontam que maçãs orgânicas apresentam maiores níveis de patulina que maçãs convencionais, sendo que essa maior contaminação se deve ao não tratamento com fungicidas, o que provavelmente resultou em maior incidência de fungos toxigênicos e, conseqüentemente, de patulina nessas frutas (PIEMONTESE et al., 2005). Em contraponto a pesquisa realizada por Boonzaaijer et al. (2005) onde foi avaliado a presença de patulina em 63 produtos comerciais derivados de maçã comercializados na Holanda e não encontraram níveis quantificáveis da toxina na maioria das amostras, porém a amostra de suco orgânico de maçã apresentou a toxina. Em estudo realizado por Jackson et al. (2003), avaliou-se como as condições de armazenamento afetam os níveis de patulina. A patulina não foi detectada em maçãs selecionadas, colhidas diretamente das árvores e não pasteurizadas, mas foi detectada, em altos níveis, em

maçãs que tiveram contato com o solo no momento da colheita, durante seu armazenamento ou processamento e que também não foram pasteurizadas. O mesmo foi observado no concentrado desses dois tipos de maçãs armazenado por 4 a 6 semanas em temperatura de 0 a 2°C. Beretta et al. (2000) demonstraram que a concentração de patulina em maçãs com áreas deterioradas é extremamente elevada e esta também pode ser observada nas partes não afetadas pelos fungos. Na Itália, Beretta et al. (2000) avaliaram os níveis de patulina em maçãs e produtos derivados e observaram que em sucos de maçã e produtos “baby- foods” a concentração da micotoxina foi quase sempre abaixo dos limites estabelecidos, enquanto em algumas amostras de suco com polpa as concentrações excederam os níveis aceitáveis.

Bebidas fermentadas não devem apresentar teores detectáveis de patulina, uma vez que as leveduras fermentativas degradam a toxina em condições anaeróbias. Em meio contendo patulina a levedura é induzida a produzir composto(s) capaz(es) de degradar a toxina. (LIPOWSKA et al., 1990). Sumbuet al. (1983) mostraram que a degradação de patulina por leveduras está associada a um mecanismo de defesa do microrganismo e depende da síntese de proteínas, uma vez que esta micotoxina não era degradada quando adicionada simultaneamente com ciclo-heximida, um inibidor de síntese protéica. Em 2003 a Agência Britânica de Segurança Alimentar (FOOD STANDARDS AGENCY – FSA, 2003) realizou um estudo em 100 amostras de sidras comerciais, não encontrando concentrações detectáveis de patulina (limite de detecção de 3 µg/L). Enfatiza que o processo fermentativo por *S. cerevisiae* é capaz de degradar de 93 a 99% da toxina inicial.

Controle da produção de patulina

Vários métodos são frequentemente utilizados para reduzir os níveis de patulina em sucos de maçã, dentre eles destacam-se o tratamento com carvão (KADAKAL & NAS, 2002), dióxido de enxofre, irradiação gama, fermentação e lavagem das maçãs infectadas pelo fungo. Muitos desses processos são caros e demorados (BISSESSUR et al., 2001). Com este objetivo, muitos pesquisadores, de diversos países, têm desenvolvido estudos visando diminuir o teor de patulina durante a produção da maçã.

Os métodos físicos e biológicos constituem alternativas viáveis e desejáveis, que vêm ocupando o espaço dominado atualmente pelo produto químico tradicional, principalmente em função de não deixarem resíduos tóxicos nas frutas tratadas (DROBY, 1994). O controle biológico através de metabólitos bacterianos demonstrou perspectivas promissoras para restringir o uso de agrotóxicos químicos (SANHUEZA et al., 1992).

Embora se desconheça leveduras toxigênicas (HOFFMAN, 1995), já é de conhecimento a sua capacidade produtora do fator "killer" (STEIMAN et al., 1974), um grupo de compostos com característica

peptídica e inibitória a outras leveduras. Walker et al. (1995), observaram um efeito antagônico bastante interessante de fator "killer" sobre outros grupos microbianos, incluindo fungos filamentosos. Provavelmente, o efeito antagônico aliado à atividade de degradação, resultaram na substituição da microbiota e detoxicação da patulina nas maçãs inoculadas com *Penicillium* spp.

O uso de leveduras com o objetivo de degradar a patulina foi demonstrado por Moss&Long (2002). Os níveis da toxina foram reduzidos na presença de *Saccharomyces cerevisiae*, sob condições fermentativas, o que não ocorreu quando a levedura foi cultivada em condições aeróbias.

No Brasil, Tavares (1996) obteve uma redução de *P. expansum* em até 80%, utilizando *Bacillus subtilis* e *B. thuringiensis*, sendo o resultado obtido superior ao controle químico. As perspectivas também indicaram resultado satisfatório no controle simultâneo de diversos fitopatógenos, aplicando metabólitos de *Bacillus* spp. (MOTOMURA et al., 1997).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através do consumo de maçãs e de seus produtos industrializados, como o suco, existe a possibilidade de um grande número de pessoas estarem expostas à patulina, portanto, um problema de saúde pública. A sua presença em alimentos também é um problema que preocupa as indústrias alimentícias, pois pode repercutir em perdas econômicas, principalmente para aquelas que exportam seus produtos à países que controlam os níveis desta micotoxina nos alimentos consumidos por sua população. Apesar dos estudos não provarem conclusivamente os efeitos da patulina na saúde humana, há pouca dúvida a respeito do potencial perigo inerente a contaminação de alimentos pela toxina. A melhor alternativa seria prevenir os danos que ocorrem na superfície das maçãs e a consequente colonização de fungos, que, por sua vez, podem produzir micotoxinas. O aperfeiçoamento de técnicas de remoção e de degradação de patulina em alimentos contaminados, preservando sua qualidade e valores nutricionais, também se mostra de grande interesse para a segurança alimentar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AYTAC, S. A.; ACAR, J. Einfluss von L-Ascorbinsäure und Schwefeldioxidzusatz auf die Stabilität von Patulin in Apfeläften und Pufferlösungen. Ernährung, Berlin, v. 1, p. 15-17, 1994.

BECCI, P. J.; HESS, F. G.; JOHNSON, W. D.; GALLO, M.A.; BABISH, J. G.; DAILEY, R. E.; PARENT, R. A. Long-term carcinogenicity and toxicity studies of patulin in therat. Journal of Applied Toxicology, Chichester, v.1, n.5,p.256-261, 1981.

BERETTA, B.; GAIASCHI, A.; GALLI, C. L.; RESTANI, P. Patulin in apple-based foods: occurrence and safety evaluation. Food Additives & Contaminants, London, v. 17, n. 5, p. 399-406, 2000.

BISSESSUR, J.; PERMAUL, K.; ODHAV, B. Reduction of patulin during apple juice clarification. Journal of Food Protection, Des Moines, v.64, n.8, p.1216-1219, 2001.

BOONZAAIJER, G.; BODELDIJK, I.; VANOSENBRUGGEN, W. A. Analysis of patulin in dutch food, an evaluation of a SPE based method. Food Control, Guildford, v. 16, n. 7, p. 587-591, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Produção de lavouras temporárias e permanentes. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br> 09 jul. 2012.

BROWN, N. L.; SYDENHAM, E. W. , et al. Patulin in Apples: Influence of Deck Storage and Initial Processing, IUPAC, p. 189. Rome, may 1996.

CENTRO DE SOCIO ECONOMIA E PLANEJAMENTO AGRÍCOLA. Síntese anual da agricultura de Santa Catarina, 2007-2008. Disponível em: http://cepa.epagri.sc.gov.br:8080/cepa/Publicacoes/sintese_2008/maca.pdf. 09 jul. 2012.

CIEGLER, A. Teratogenicity of patulin and patulin adducts formed with cysteine. Applied and Environmental Microbiology, v.31, n.5, p.664-667, 1976.

DROBY, S.; CHALUTZ, E. Mode of action of biocontrol agents of postharvest diseases. In: Wilson, C.L.; Wisniewski, M.E. (Ed.). Biological control of postharvest diseases-theory and practice. Boca Raton: CRC Press, 1994. p.63-75.

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

FLIEGE, R.; METZLER, M. Electrophilic properties of patulin. N-acetylcysteine and glutathione adducts. Chemical Research in Toxicology, v.13, n.5, p.373-381, 2000.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Título. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/opamirc.html> 11 jul. 2012.

FOOD STANDARDS AGENCY – FSA. Patulin not detected in cider, 2003. Disponível em: <http://www.food.gov.uk> 11 jul. 2012

FRISVALD, J. C.; Filteborg, O. Especific micotoxina producins *Penicillium* and *Aspergillus mycoflora* of

- different foods. Mycotoxins and Phycotoxins. Edit. Elsevier, p.163-166, 1988.
- GÖKMEN, V.; ACAR, J. Incidence of patulin in apple juiceconcentrates produced in Turkey. *JournalofChromatography A*, v.815, n.1, p.99-102, 1998.
- GÖNÇALEZ, E.; PINTO, M. M.; FELICIO J. D. Análise de micotoxinas no instituto biológico de 1989 a 1999. *Biológico, São Paulo*, v. 63, n. 1-2, p. 15-19, jan./dez., 2001.
- GROOTWASSINK, J. W. D.; GAUCHER, G. M. De novo biosynthesis of secondary metabolism enzymes in homogeneous cultures of *Penicilliummurticae*. *Journal of Bacteriology*, Washington, v. 141, n. 2, p. 443-455, 1980.
- HEFNAWY, M. A.; ABOU-ZEID, A. M. Differential adaptation of membranes of two osmotolerant fungi, *Aspergillus chevalieri* and *Penicillium expansum* to high sucrose concentrations. *Acta Microbiologica Polonica*, Warszawa, v. 52, n. 1, p. 53-64, 2003.
- HOCKING, A. D.; PITT, J. I. Food spoilage fungi. II. Heat resistant fungi. *CSIRO Food Res. Q.*, v. 44, n. 4, p. 73-82, 1984.
- HOCKING, A. D.; PITT, J. I. Moulds. In : MOIR, C. J.; ANDREW-KABILAFKAS, C.; ARNOLD, G.; COX, B. M.; HOCKING, A. D.; JENSON, I. Spoilage of Processed Foods: Causes and Diagnosis. Australia: AIFST, 2001. p. 361-381.
- HOFFMAN, F. L. Ocorrência de leveduras numa planta de processamento de refrigerantes de pequeno porte. Rio Claro: USP, 1995. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo.
- HOPKINS, J. The toxicological hazards of patulin. *Food and Chemical Toxicology*, Oxford, v. 31, n. 6, p. 455-459, 1993.
- HOPKINS, J. The Toxicological Harzads of Patulin - Information Section. *Food Chemical Toxicological*, v.31, n.6, p. 455-459, 1993.
- IARC-International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemical to humans, v.40, p.83-98, 1986.
- IBRAF. Instituto Brasileiro de Frutas. Disponível em: www.ibraf.org.br .Acesso em: 09 jul. 2012.
- JACKSON, L. S.; BEACHAM-BOWDEN, T.; KELLER, S. E.; ADHIKARI, C.; TAYLOR, K. T.; CHIRTEL, S. J.; MERKER, R. I. Apple quality, storage, and washing treatments affect patulin levels in apple cider. *Journal of Food Protection*, Des Moines, v.66, n.4, p.618-624, 2003.
- KADAKAL, C.; NAS, S. Effect of activated charcoal on patulin, fumaric acid and some other properties of apple juice. *Nahrung-Food*, Malden, v. 46, n. 1, p. 31-33, 2002.
- KRYGER, R. A. Volatility of patulin in apple juice. *Journalof Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v.49, n.8,p.4141-4143, 2001.
- LAI, C.; FUH, Y.; SHIH, D.Y. Detection of mycotoxin patulinin apple juice. *Journal of Food and Drug Analysis*, Taiwan,v.8, n.2, p.85-96, 2000.
- LAIYOU, A.; THANASSOULOPOULOS, C. C.; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, M. Diffusion of patulin in the flesh of pears inoculated with four post-harvest pathogens. *Journal of Phytopathology*, Berlin, v. 149, n. 7-8, p. 457-461, 2001.
- LEGGOTT, N. L.; SHEPHARD, G. S. Determiration of patulin in apple juice by high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 897, n. 1-2, p. 365-374, 2000.
- LIPOWSKA, T.; GOSZCZ, H.; KUBACKI, S.; JANUSZEWSKI, T. Studies of changes in patulin content during apple wine production and must sulphurization. *Journal of Food Processing and Preservation*, Westport, v. 14, n. 1, p. 7-19, 1990.
- MACHINSKI JR., M.; MÍDIO, A. F. Patulina em alimentos: aspectos toxicológicos e analíticos. *Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo*, São Paulo, v.31, n.1, p.1-19, 1995.
- MACHUCA, M. N. Aspectos gerais da cultura da macieirano estado de Aomori-Japão. Florianópolis: M. Machuca Meto, 1988. 90p.
- MAHFOUD, R. et al. The mycotoxinpatulin alters the barrierfunction of the intestinal epithelium: Mechanism of action ofthe toxin and protective effects of glutathione. *Toxicologyand Applied Pharmacology*, v.181, n.3, p.209-218, 2002.
- MAJERUS, P.; KAPP, K. Reports on tasks for scientific cooperation, task 3.2.8 – Assessment of dietary intake of patulin by the population of EU member States. 2002. Disponível em: http://www.europa.eu.int/comm/food/fs/scoop/3.2.8_en.pdf.11 jul. 2012.
- MELO, L. M. R. Produção e Mercado Brasileiro de maçã:comunicado técnico n.50-EMBRAPA-2004. Disponível em: <http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/comunicad/.pdf>11 jul. 2012.

- MOAKE, M. M.; PADILLA-ZAKOUR, O.; WOROBO, R. W. Comprehensive review of patulin control methods in foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Chicago, v. 4, n. 1, p. 8-21, 2005.
- MOSS, M. Mycotoxins. *Mycological Research*, v.100, n. 5, p.513 - 523, 1996.
- MOSS, M. O.; LONG, M. T. Fate of patulin in the presence of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Additives & Contaminants*, London, v. 19, n. 4, p. 387-399, 2002.
- MOTOMURA, M.; SUWA, S.; HIROOKA, E.Y. Biological control: microbial versus chemical fungicide on the growth of rice infected with *Fusarium moniliforme*. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v.28, n.1, p.11-16, 1997.
- MUTLU, M.; HIZARCIOGLU, N.; GÖKMEN, V. Patulin Adsorption Kinetics on Activated Carbon, Activation Energy and Heat of Adsorption. *Journal of Food Science*, Chicago, v. 62, n. 1, p. 128-130, 1997.
- NORTHOLT, M. D.; VAN EGMOND, H. P.; PAULSCH, W.E. Patulin production by some fungal species in relation to water activity and temperature. *Journal of Food Protection*, Des Moines, v.41, n.11, p.885-890, 1978.
- Piemontese, L.; Solfrizzo, M.; Visconti, A. Occurrence of patulin in conventional e organic fruit producing in Italy and subsequent exposure assessment. *Food Additives & Contaminants*, London, v. 22, n. 5, p. 437-442, 2005.
- PITTET, A. Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds: a decade in review. In: KOE, W.J.; SAMSON, R. A.; VAN EGMOND, H. P.; GILBERT, J.; SABINO, M. *Mycotoxins and phycotoxins in perspective at the turn of the millenium*. Wageningen: Ponsen e Looyen, 2001. p.159.
- POHLAND, A. E.; SCHULLER, P. L.; STEYN, P. S. Physicochemical data for some selected mycotoxins. *Pure and Applied Chemistry*, Oxford, v.54, n.11, p.2219-2284, 1982.
- RILEY, R. T.; SHOWKER, J. L. The mechanism of patulin cytotoxicity and the antioxidant activity of indole tetramic acids. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v. 109, p.108-126, 1991.
- ROLAND, J. O.; BEUCHAT, L. R. Biomass and patulin production by *Byssoschlamys nivea* in apple juice affected by sorbate, benzoate, SO₂ and temperature. *Journal of Food Science*, Chicago, v.49, p.402-406, 1984.
- ROSS, G.; HIROOKA, E.Y. PATULIN: Factors affecting production and risk of contamination through consume of apple (*Malus domestica* B.) cultivar Gala and Fuji. IUPAC, p.296, Rome, 1996.
- RYCHLIK, M.; SCHIEBERLE, P. Model studies on the diffusion behavior of the mycotoxin patulin in apples, tomatoes, and wheat bread. *European Food Research & Technology*, Berlin, v. 212, n. 3, p. 274-278, 2001.
- RYCHLIK, M. et al. Absorption of the mycotoxin patulin from the rat stomach. *Food and Chemical Toxicology*, v.42, p.729-735, 2004.
- SALOMÃO, B. C. M.; MASSAGUER, P. R.; ARAGÃO, G. M. Isolamento e seleção de fungos filamentosos termorresistentes do processo produtivo de néctar de maçã. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 1, n. 28, p. 116-121, 2008.
- SANHUEZA, R. M.; KRETZCHMAR, A. A.; BORSÓI, M. Avaliação de organismos antagonistas a *Penicillium expansum* em maçãs cv. Fuji em pós colheita. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.17, n.4, 1992.
- SANT'ANA, A. S. Avaliação quantitativa do risco da patulina em suco de maçã. 2007. 373f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.
- SANT'ANA, A. S.; Rosenthal, A.; Massaguer, P. R. Heat resistance and the effects of continuous pasteurization on the inactivation of *Byssoschlamys fulva* ascospores in clarified apple juice. *J. Appl. Microbiol.*, v. 107, p. 197-209, 2009.
- SCHUMACHER, D. M. et al. Mutagenicity of the mycotoxin patulin in cultured Chinese hamster V79 cells, and its modulation by intracellular glutathione. *Archives of Toxicology*, v.79, n.2, p.110-121, 2005.
- SCHUMACHER, D. M. et al. DNA-DNA cross-links contributed to the mutagenic potential of the mycotoxin patulin. *Toxicology Letters*, v.166, n.3, p.268-275, 2006.
- SCUSSEL, V. M. Patulina. In: *Micotoxinas em alimentos*. Florianópolis: Insular, 1998. p. 47-48.
- SHARMA, R. P. Immunotoxicity of mycotoxins. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 76, n. 3, p. 892-897, 1993.
- STEIMAN, R.; EIGLE, M. L. S.; KRIVOBOK, S. Production of patulin by micromycetes. *Mycopathology*, v.28, n.4, p.589-593, 1974.
- SUMBU, Z. L.; THONART, P.; BECHET, J. Action of patulin on a yeast. *Applied and Environmental*

Microbiology, Washington, v. 45, n. 1, p. 110-115, jan.1983.

TAVARES, S. C. C de H. Controle biológico clássico de patógenos de frutos no Brasil –situação atual. In: SINCOBIOL, 5., 1996, Foz do Iguaçu. Anais... Foz do Iguaçu, 1996..p. 57-68

TOURNAS, V. Heat resistant fungi of importance to the food and beverage industry. Crit. Rev. Microbiol., v. 20, n. 4, p. 243-263, 1994.

WALKER, G. M.,MCLEOD, A. H.;HODGSON, V. J. Interactions between killer yeasts and pathogenic fungi.FEMS Microbiology Letters, p.213-222, 1995.

WINDHOLZ, Martha (Ed.). The Merck Index. 10th ed.Rahway: Merck & Co, 1983.

WICHMANN, G.; HERBARTH, O.; LEHMANN, I. The mycotoxinscitrinin, gliotoxin, and patulin affect interferon_ rather than interleukin-4 production in human blood cells. Environmental Toxicology, New York, v. 17, n. 3, p. 211-218, 2002.

WU, T. et al. Activation of ERK mitogen-activatedprotein kinase in human cells by the mycotoxin patulin. Toxicology and Applied Pharmacology, v.207, n.2, p.103-111, 2005.