

Evento: XXV Jornada de Pesquisa

ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS POTENCIALMENTE TOXIGÊNICOS EM AMOSTRAS DE AMENDOIM (*ARACHIS HYPOGAEA* L.) COMERCIALIZADAS NA CIDADE IJUÍ, RS ¹

IDENTIFICATION OF POTENTIALLY TOXYGENIC FUNGI IN PEANUT SAMPLES (*ARACHIS HYPOGAEA* L.) COMMERCIALIZED IN CITY IJUÍ, RS

Caroline de Oliveira Krahn², Agatha do Canto Shubeita³, Anik Scherbach Fauerharmel⁴,
Juliana Souza da Silva Bruinsma⁵

¹ Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas pela Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul- UNIJUÍ.

² Bacharela em Ciências Biológicas UNIJUÍ; carolkrahn1234@gmail.com

³ Aluna do Curso de Graduação em Ciências Biológicas da UNIJUÍ; agathacanto@yahoo.com.br

⁴ Aluna do Curso de Graduação em Ciências Biológicas da UNIJUÍ; faueranik@gmail.com

⁵ Docente do Departamento de Ciências da Vida (DCVida) da UNIJUÍ; juliana.sbruinsma@unijui.edu.br

Resumo

O amendoim, *Arachis hypogaea*, é considerado um grão amplamente utilizado na alimentação humana devido as suas características nutricionais. Apesar dos benefícios a saúde, os grãos podem ser frequentemente contaminados com toxinas produzidas por algumas espécies de fungos. O presente estudo avaliou a presença de fungos potencialmente toxigênicos em três amostras distintas de amendoim, em grão com casca, grão a granel e grão sem casca, adquiridas em estabelecimentos comerciais na cidade de Ijuí, RS. As amostras foram plaqueadas em meio de cultura Ágar Batata Dextrose para identificação e contagem. Os fungos potencialmente toxigênicos identificados nas amostras foram *Apergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nidulans* e *Penicillium* ssp. A incidência de fungos nas três amostras analisadas foi expressivos, principalmente em relação ao gênero *Aspergillus*.

Abstract

The present study evaluated the presence of potentially toxinogenic fungi in three distinct peanut samples obtained from commercial establishments in the city of Ijuí, RS. The samples were divided into A1 (shelled peanuts), A2 (bulk peanuts sold in bulk) and A3 (industrialized shelled peanuts), and samples A1 and A2 were from agricultural products and A3. For each sample used, 10 grains were sown in Petri dishes containing Potato Dextrose Agar culture medium for identification and counting. Potentially toxinogenic fungi found were *Apergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nidulans* and *Penicillium* ssp. The results can be considered, since the fungi found are responsible for the production of mycotoxins relevant to consumer health.

Evento: XXV Jornada de Pesquisa**ODS:** 3 - Saúde e Bem-estar**Palavras-chave:** *Penicillium. Aspergillus. Arachis hypogaea.***Key words:** *Penicillium. Aspergillus. Arachis hypogaea.*

Introdução

O amendoim, *Arachis hypogaea* L., é uma herbácea leguminosa e oleaginosa de pequeno porte pertencente à família Fabaceae, com origem na América do Sul (GONÇALVES et al., 2004). No Brasil durante os anos 70 e 80 a cultura tornou-se uma das principais economias existentes nas pequenas propriedades agrícolas e o Brasil chegou a ser um dos maiores produtores mundiais com uma produção de 900.000 toneladas de grãos. Com a expansão das áreas destinadas a soja, introdução do gado bovino, alta dos preços e problemas relacionados a micotoxinas, o cultivo do amendoim entrou em declínio por certos períodos, mudando o destino do grão para outros mercados, principalmente da alimentação humana in natura (FREITAS; AMARAL, 2002). Apesar disso a representatividade do Brasil no cenário mundial de amendoim tem mostrado crescimento e maior inserção do agronegócio brasileiro de amendoim no cenário mundial (LOURENZANI; LOURENZANI, 2009).

Dados do último levantamento da safra de grãos de 2018/2019 divulgado em setembro de 2019 pela CONAB (Companhia Nacional de abastecimento), indicaram uma produção total 434,6 mil toneladas no país, sendo a região sudeste a que mais se destaca com 410,7 mil toneladas. O Rio Grande do Sul registrou na mesma safra uma produção de 11,4 mil toneladas em 3,4 mil ha de área cultivada. Ainda segundo informações do CONAB, na região sudeste, o principal produtor é o estado de São Paulo, que utiliza o amendoim na rotação de lavoura com a cultura canavieira, reduzindo impactos no solo por meio da fixação de nitrogênio e tolerância a pragas.

Atualmente consiste em um importante grão largamente utilizado na alimentação humana devido aos seus valores nutricionais, ao fato de poder ser consumido de diversas formas e por apresentar em sua composição óleos, ricos em ácidos graxos, proteínas, vitaminas, B e complexo E. Possui também diversos minerais, dentre eles magnésio, fósforo, cálcio, ferro, zinco, manganês e potássio. O amendoim contém ainda o resveratrol, substância que auxilia na proteção do sistema cardiovascular, e ácido linoleico conjugado (CLA), que fornece benefícios como agente anticarcinogênico. (FREIRE; NARAIN; SANTOS et al., 2005).

Evento: XXV Jornada de Pesquisa

ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

Apesar de possuir diversos benefícios a saúde humana, as culturas de grãos são constantemente contaminadas por diferentes seres patogênicos e não patogênicos, como insetos, bactérias e fungos. Essas contaminações são resultantes de fatores, como disponibilidade de água, pH, temperatura e carga nutritiva ideal para a proliferação de parasitas, além das condições impróprias de manuseio, armazenamento e processamento (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009). No caso do amendoim, a variedade cultivada, o período correto da colheita, uso excessivo e equivocado de agrotóxicos, falta de higiene no manuseio do produto, secagem e armazenamento incorretos, são os principais fatores relacionados a qualidade fitossanitária do grão (SUASSUNA et al., 2009).

Em sementes de amendoim, são frequentemente detectados fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Fusarium* (ITO et al., 1992) e *Alternaria*, *Nigrospora*, *Trichoderma*, *Dothiorella* e *Pestalotia*, sendo que os fungos de maior incidência são *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp, que tem sido associado às sementes de baixa qualidade fisiológica (MARIOTTO et al., 1982).

Os fungos possuem um destaque por provocarem mudanças na qualidade dos alimentos. Tais mudanças são causadas por toxinas produzidas pelos fungos, que são substâncias metabólicas, liberadas ou não, em substratos, no caso os grãos (SANTOS; LOPES; KOSSEKI, 2001). Uma das substâncias encontradas nos grãos de amendoim é a micotoxina, principalmente a chamada aflatoxina, um metabólico secundário produzido por fungos do gênero *Aspergillus*, sendo considerada tóxica para o homem e os animais (ARAÚJO; CASTRO; ROSSETTO, 2004).

Os fungos causadores de aflotoxinas podem surgir devido deficiência hídrica antes da colheita, no qual o estresse torna mais suscetível a contaminação dos grãos, pois afeta o seu metabolismo alterando sua capacidade de defesas, causando contaminações. Além disso, o baixo teor de umidade pode ser considerado um fator de redução do metabolismo, tornando as plantas mais suscetíveis a colonização por fungos toxigênicos (SUASSUNA et al., 2009). Enquanto no armazenamento a produção desses metabólitos secundários é favorecida pelo alto teor de umidade dos grãos (FONSECA, 2009), sendo que a condição climática no Rio Grande do Sul, na qual as precipitações pluviais costumam ser acima da média no período de colheita, favorece o aparecimento a ocorrências dos fungos (LIMA; PORTELA; ARAIS, 2000).

As aflatoxinas encontradas naturalmente são: AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2, sendo que a AFB1 é classificada como a mais tóxica. Elas podem causar diversos problemas à saúde humana, dentre eles câncer e distúrbios no sistema imunológico causando reações alérgicas devido ao seu potencial tóxico, carcinogênico e mutagênico (RAJARAJAN; RAJASEKARAN; DEVI, 2013; SUASSUNA,

Evento: XXV Jornada de Pesquisa

ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

et al., 2009).

O gênero *Penicillium*, especialmente *Penicillium citrinum* e *Penicillium veredicattum*, é responsável pela produção de micotoxinas, incluindo a citrina, que também possui potencial carcinogênico (FOOD INGREDIENTES BRASIL, 2009). Além disso, algumas espécies de *Penicillium* e *Aspergillus* produzem a Ocratoxina A (OTA), um metabólito secundário com ações nefrotóxicas, hepatotóxicas, genotóxicas, teratogênicas, imunossupressoras e carcinogênicas e Patulina, composto responsável por distúrbios cromossomais (PFOHL-LESZKOWICZ; MANDERVILLE, 2007; FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009).

Considerando a relevância nutricional, a utilização em larga escala do amendoim na alimentação humana e possíveis contaminações com micotoxinas decorrentes de fungos toxigênicos, este trabalho teve por objetivo analisar a presença de fungos em diferentes amostras de amendoim utilizadas no consumo humano.

Material e métodos

No estudo realizado foram analisadas três amostras de amendoim em grãos. Sendo identificadas como: A1, amendoim grão com casca; A2, amendoim grão comercializado a granel e A3 amendoim industrializado (grão sem casca). As amostras A1 e A2 foram provenientes de agropecuárias e A3 de supermercado, todas do município de Ijuí/RS.

As amostras foram analisadas individualmente no Laboratório de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, no período de agosto a outubro de 2019.

A partir de cada uma das três amostras foram selecionados aleatoriamente 400 grãos inteiros, de acordo com o indicado pelas Regras de Análise de Sementes do Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária, sendo que na amostra A1 foi preciso remover a casca manualmente antes do plaqueamento.

Para cada amostra os 400 grãos foram divididos e plaqueados 10 grãos por placa de Petri contendo o meio de cultura Ágar Batata Dextrose (200g de batata; 20g de dextrose; 20g ágar/ 1L de água destilada) totalizando 40 placas para cada amostra. Após o plaqueamento, a incubação foi realizada em estufa pelo período de sete dias à temperatura de 25°C, controlada e monitorada diariamente.

Evento: XXV Jornada de Pesquisa
ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

Após o período de incubação, para cada uma das amostras, foi realizada a identificação e contagem das colônias fúngicas pertencentes aos gêneros *Penicillium* e *Aspergillus*. A identificação ocorreu através da caracterização visual das colônias considerando as diferenças morfológicas que apresentaram utilizando lupas e a confirmação das espécies/gênero a nível microscópico ocorreu por meio da preparação de lâminas para a visualização no microscópio ótico. A contagem foi realizada considerando a presença ou ausência das colônias em cada um dos 400 grãos plaqueados.

Resultados e discussão

As três amostras analisadas apresentaram a presença de fungos toxigênicos, com o gênero *Aspergillus* sendo mais incidente que *Penicillium*. Na amostra A1 houve uma incidência de 40,45% de *Apergillus niger*, 26,50% de *Aspergillus flavus*, 4% de *Aspergillus nidulans* e 29% de *Penicillium* ssp. Na amostra A2 não foram identificadas espécies de *Apergillus*, apenas o gênero *Penicillium* em 17,75% dos grãos. Na amostra A3 houve a incidência de 32,5% de *Apergillus niger*, 83,25% de *Aspergillus flavus*, 4% de *Aspergillus nidulans* e 43% de *Penicillium* ssp (Tabela 1).

Tabela 1: Presença de fungos toxigênicos em três diferentes amostras de amendoim

	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus nidulans</i>	<i>Penicillium</i> ssp.
Amostra A1	40,45%	25,50%	4%	29%
Amostra A2	*	*	*	17,75%
Amostra A3	32,50%	83,25%	4%	43%

Fonte: O autor

A amostra A1 já apresentava índices de contaminação por *Penicillium* visível a olho nu, logo após a remoção da casa, juntamente com quantidades consideráveis de resíduos de terra e sujeiras, o que sugere que o grão não havia passado por processos de higienização.

Os grãos industrializados apresentaram maior incidência de fungos, seguido dos grãos in natura e grãos a granel, o que sugere que a qualidade do seu processamento e/ou armazenamento pode estar comprometida, assim como a saúde do consumidor. O momento em que ocorre as contaminações em culturas de grãos é incerta, pois ela pode ocorrer tanto na pré-colheita, colheita ou armazenamento, sendo que a contaminação por micotoxinas podem ocorrer simultâneo ou em fases posteriores (LOGRIECO et al., 2003).

Evento: XXV Jornada de Pesquisa

ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

Os altos índices de contaminação em grãos de amendoim processados e torrados já foi relatado nos trabalhos realizados por Ferreira e colaboradores (2017), destacando que apesar do processamento em altas temperaturas ainda pode-se observar os fungos toxigênicos em 40% das amostras. Segundo Santurio (2000), um fator que também favorece a proliferação de fungos é a atividade da água no grão, pois, à medida que ela aumenta o crescimento microbiano se beneficia. O fato do grão ser embalado limita a perda de água, enquanto os amendoins comercializados com casca e que ficaram ao ar livre, permaneceram secando de forma contínua.

Além da umidade relativa, muito comum nos países tropicais, outros fatores também podem influenciar no aparecimento dos fungos, como temperatura, danos mecânicos, infestações por insetos, períodos de seca, pH e tipos de substratos (PRADO et al., 2005), assim como, outro fator importante consiste no tempo de armazenamento do grão (LAZZARI, 1997).

A espécie *Aspergillus flavus*, e linhagens relacionadas, encontrada em duas das três amostras, se destaca por produzir aflotoxinas do grupo B1 e B2 (BALDISSERA et al., 1992). De acordo com o Manual das doenças transmitidas por alimentos do Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo, as aflotoxinas são responsáveis pela Aflatoxicose, uma intoxicação resultante da ingestão de alimentos contaminados, podendo causar necrose aguda, cirrose e carcinoma de fígado, sendo que a aflotoxina B1 é considerada o agente natural mais carcinogênico (FOOD INGREDIENTES BRASIL, 2009).

A espécie *Aspergillus niger*, também encontrada em duas amostras, possui baixa toxicidade, mas alguns isolados desse fungo produziram Ocratoxinas em baixas quantidades em um estudo realizado por Abarca et al (1994).

Mesmo que o presente estudo não contou com a análise das micotoxinas presentes, muitos autores relatam a incidência delas em seus estudos, Oliveira e Koller (2011) detectaram aflotoxinas em 58% das amostras de amendoim in natura e 60% em paçocas, dentre elas aflotoxina B1, B2, G1 e G2 produzidas pelos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Caldas e colaboradores (2002) detectaram que grãos de amendoim e derivados apresentaram maior incidência de contaminação por aflatoxinas (34,7%) em relação a outros alimentos, como milho de pipoca, milho em grão e castanha-do-pará.

Imanura e colaboradores (2014), detectaram aflatoxinas acima do limite máximo tolerado pela legislação em 12,6 % e 19,5 % das amostras de grãos cru em casca. Estes estudos indicam que não se pode descartar a presença de aflotoxinas nas amostras do presente estudo devido a espécie *Aspergillus flavus* ter sido amplamente encontrada. Além disso destaca-se que mesmo que o fungo seja eliminado

Evento: XXV Jornada de Pesquisa

ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

em algum período, como pode ter acontecido na amostra A2, as toxinas podem permanecer no alimento (NUNES et al., 2003).

Além disso, a amostra A2 é proveniente de uma produção orgânica, sendo assim uma produção de menor escala com menos impactos, o que pode ter resultado em um nível de contaminação reduzido em relação as outras amostras.

Por ser amplamente consumido no país, o amendoim deve receber uma atenção sanitária rigorosa, pois sua origem, armazenamento e processamento incorreto podem causar problemas sérios a saúde humana, assim como produtores devem levar em consideração cuidados em suas propriedades a fim de evitar problemas com contaminação.

Conclusão

As incidências de fungos nas três amostras analisadas foram expressivas, principalmente em relação ao gênero *Aspergillus* potencialmente toxigênico e produtor de micotoxinas relevantes para saúde. Todas as amostras obtiveram a presença, mas os resultados obtidos nos grãos industrializados se destacam devido a todos os processos industriais que não garantiram a qualidade, o que sugere a importância de existir uma fiscalização mais eficiente no processamento da indústria.

Referências bibliográficas

ABARCA, M. L. et al. Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 60, p. 650–2652, 1994.

Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos. V. 6 – SAFRA 2018/19 - N. 12. Décimo Segundo Levantamento, setembro 2019. Disponível em: <www.conab.gov.br>. Acesso em: 20 nov. 2019.

ARAÚJO, A. E. S.; CASTRO, A. P. G.; ROSSETO, C. A. V. Avaliação de metodologia para detecção de fungos em sementes de amendoim. **Revista Brasileira de Sementes**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 2, p. 45-54, maio. 2004.

BALDISERA, M. A. et al. Aflotoxinas em amendoim e farinha de milho usados na alimentação humana. **Rev. Bras. Farm.**, Santa Maria, v. 73, n. 4, p. 87-90, 1992.

BRASIL Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Secretária da Defesa Agropecuária. **Regras para Análises de Semente**, Brasília, D.F., 1992, 365p.

CALDAS, E. D. SILVA, S. C.; OLIVEIRA, J.N. Aflatoxinas e ocratoxina A em alimentos e riscos

Evento: XXV Jornada de Pesquisa

ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

para a saúde humana. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 319-23, 2002.

FERREIRA, I. C; BARROS, R. A. M. B; FORTUNA, J. L. Fungos potencialmente toxigênicos em amostras de amendoim disponível para o consumo humano. **Higiene Alimentar**, v. 31, n. 266/267, p. 85-90, março/abril, 2017.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. As micotoxinas. **Revista Food Ingredients**, América do Sul, n. 7, p. 33-40, 2009.

FONSECA, H. Preservação e controle de micotoxina em produtos agrícolas. (Boletim Técnico, 7). Disponível em: < www.micotoxinas.com.br>. Acesso em: 04 nov. 2019.

FREITAS, S. M.; AMARAL, A. M. P. Alterações nas variações sazonais dos preços de amendoim nos mercados primário e atacadista, 1990-2001. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 32, n. 5, p. 45-55, maio 2002.

FREIRE, R. M. M.; NARAIN, N. & SANTOS, R. C. Aspectos nutricionais de amendoim e seus derivados. In: Santos, R.C. (Ed.). **O agronegócio do amendoim no Brasil**. Campina Grande. Embrapa Algodão, p. 389-420, 2005.

GONÇALVES, J. A; PEIXOTO, C.P; LEDO, C. A. S. Componentes de produção de amendoim em diferentes arranjos espaciais, no Recôncavo Baiano. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, São Paulo, v. 8, n. 2/3, p. 801-812, 2004.

IMAMURA, K. B. et al. Incidência de aflatoxinas no amendoim (*Arachis hypogaea* L) cru em casca da região da Alta Paulista-SP, durante o período de 2011 a 2012. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 73, n. 2, p.178-87, abr 2014.

I. M. F. et al. Comparação de métodos para detecção de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. em sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.). **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 18, n. 3, p. 262-268, 1992.

LAZZARI, F. A. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações**. 2. ed. Curitiba, 1997, p.148.

LIMA, M. I. P. M.; PORTELLA, J. A.; ARIAS, G. Fungos de grãos de cereais de inverno em função de épocas de colheita. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2000 (Embrapa Trigo. Comunicado Técnico Online, 56). Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_co56.htm> Acesso em: 03 dez. 2019.

LOGRIECO, A. et al. Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops. **European Journal of Plant Pathology**. v. 109, p. 645-667. 2003.

LOURENZANI, W. L. LOURENZANI, A. E. B. S. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 39, n. 2, p. 55-68, fev, 2009.

MANUAL das doenças transmitidas por alimentos: aflatoxinas e outras micotoxinas. Disponível em:

Evento: XXV Jornada de Pesquisa

ODS: 3 - Saúde e Bem-estar

<<http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/Aflatoxinas.htm>>. Acesso em: 20 nov. 2019.

MARIOTTO, P.R et al. Efeito do tratamento de sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) com fungicidas. **O Biológico**, Campinas, v. 48, n. 3, p. 56-60, 1982.

NUNES, I. L. et al. Arroz comercializado na região sul do Brasil: aspectos micotoxicológicos e microscópicos. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 190-194, 2003.

OLIVEIRA, L.S.F; KOLLER, F.F. Ocorrência de *Aspergillus* spp. e aflatoxina em amostras de amendoim in natura e paçoca. **Rev Ciênc Ambientais**, Canoas, v. 5, n. 1, p.57-58, 2011.

PFOHL-LESZKOWICZ, A.; MANDERVILLE, R. A. Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. **Molecular Nutrition and Food Research**, Weinheim, v. 51, n. 1, p. 61-99, 2007.

PRADO. G. et al. Influência da irradiação gama (60°C) na destruição da aflatoxina B1 em amendoim (*Arachis hypogaea* L.). **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 64, n. 2, p. 186-192, 2005.

RAJARAJAN P. N.; RAJASEKARAN K. M.; DEVI N. K. Isolation and Quantification of Aflotoxin from *Aspergillus flavus* Infected Stored Peanuts. **Indian J. Pharm. Biol. Res.**, Indian, v. 1, n. 4, p. 76-80, 2013.

SANTOS, C. C. M.; LOPES, M. R. V.; KOSSEKI, S. Y. Ocorrência de aflatoxinas em amendoim e produtos de amendoim comercializados na região de São José do Rio Preto/SP. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.60 n.2, p.153-157, 2001.

SANTURIO, J. M. Micotoxinas e Micotoxicoses na Avicultura. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 2, n. 1, p. 01-12, 2000.

SUASSANA, N. D. et al. Amendoim: o produtor pergunta, a Embrapa responde. **Embrapa Informação Tecnológica**, Brasília, 2009. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/578407>>. Acesso em: 01 nov. 2019.

Parecer CEUA: Protocolo nº 2260474