



## Isolamento de *Aspergillus flavus* em amostras de amendoim

### ISOLATION OF *ASPERGILLUS FLAVUS* FROM PEANUT SAMPLES

Marcio Vinicius Zwierzykowski\*, Elisabete Hiromi Hashimoto†.

#### RESUMO

Na cadeia produtiva dos grãos, a contaminação por fungos causam perdas econômicas e também geram perigo à segurança alimentar. Produtos do metabolismo secundário de fungos, as micotoxinas podem causar intoxicação em animais e humanos. Dentre as micotoxinas, destacam-se as aflatoxinas, produzidas pelo fungo *Aspergillus flavus*, causam dentre outros males intoxicações agudas e crônicas ao fígado com sintomas de vômito, convulsões, coma, hiperamonemia e câncer. O Brasil apresenta condições favoráveis para o desenvolvimento desta espécie fúngica, que se usufrui do nosso clima úmido e altas temperaturas. Outra problemática é a resistência da toxina ao processamento industrial. O objetivo deste estudo foi isolar cepas de *A. flavus* aflatoxigênico para posterior estudos de biocontrole. O isolamento foi realizado em amostras de amendoim provenientes do estado do Paraná em ágar batata dextrose. Bolores com características de *A. flavus* foram repicadas em ágar coco. Nas amostras analisadas foram isoladas 2 placas com colônias características de *A. flavus*.

**Palavras-chave:** Aflatoxina, micotoxinas, amendoim, *Aspergillus flavus*

#### ABSTRACT

In the grain production chain, fungal contamination causes economic losses and also poses a danger to food safety. Products of the secondary metabolism of fungi, mycotoxins can cause poisoning in animals and humans. Among the mycotoxins, aflatoxins, produced by the fungus *Aspergillus flavus*, which cause, among other diseases, acute and chronic liver poisoning with symptoms of vomiting, convulsions, coma, hyperammonemia and cancer stand out. Brazil has favorable conditions for the development of this fungal species, which takes advantage of our humid climate and high temperatures. Another problem is the toxin's resistance to industrial processing. The aim of this study was to isolate aflatoxigenic *A. flavus* strains for further biocontrol studies. The isolation was performed in peanut samples from the state of Paraná on potato dextrose agar. Molds with characteristics of *A. flavus* were subcultured on coconut agar. In the samples analyzed, 2 plaques with characteristic colonies of *A. flavus* were isolated.

**Keywords:** Aflatoxin, Mycotoxins, Peanuts, *Aspergillus flavus*.

## INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de grãos do mundo. Na cadeia de processamento, principalmente durante a armazenagem, pode ocorrer o desenvolvimento de fungos (NUNES, 2009). A contaminação fúngica pode ocasionar perdas econômicas, devido a deterioração dos grãos, por perda de nutrientes, alterações na aparência e sabor dos alimentos, além do risco da produção das micotoxinas (PEREIRA, 2005).

As aflatoxinas se destacam perante as outras micotoxinas devido a sua frequência e toxicidade para humanos e animais. Elas são produzidas principalmente pelos fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* (TRAVAGLIA, 2011, p. 5 apud PITT, 2000; RICHARD, 2003). A temperatura ideal para o

\* Estudante do curso Técnico em química, Colégio Estadual Professor João Ricardo Von Borell du Vernay, Ponta Grossa, Paraná, Brasil; [marcioviniciuszwierzykowski@gmail.com](mailto:marcioviniciuszwierzykowski@gmail.com)

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Ponta Grossa; [elisabete@utfpr.edu.br](mailto:elisabete@utfpr.edu.br)



desenvolvimento fúngico é na faixa de 25 e 28°C e para produzir a aflatoxina 27°C (SCHNEIDER, 2007, p. 45-52 apud SABINO, 2003), também necessita uma atividade de água mínima entre 0,78 e 0,80 para o crescimento e 0,83 a 0,87 para produção de toxina (TRAVAGLIA, 2011, p. 8 apud BEAUCHAT, 1981). Portanto, a incidência das aflatoxinas é relativamente maior em países de clima tropical ou subtropical, onde a temperatura e a umidade são favoráveis para o crescimento dos fungos. A ocorrência de contaminação das aflatoxinas ocorre principalmente em culturas de grãos como arroz, feijão, amêndoa, coco e o amendoim. No caso do amendoim o fungo apresenta condições favoráveis para contaminação devido à composição ideal de nutrientes, ser rico em proteínas e um alimento de alta energia, além de que suas vagens se encontram no solo ficando expostas ao ataque dos fungos (SCHNEIDER, 2007). Em geral, a produção das aflatoxinas ocorre facilmente em substratos de açúcares simples, como glicose, sacarose e maltose.

Em 1963 as aflatoxinas foram subdivididas em dois grupos, que remetem a resposta da aflatoxina à luz UV: B (Blue/Azul) e G (Green/Verde). As aflatoxinas podem causar intoxicações agudas e crônicas ao fígado com sintomas de vômito, convulsões, coma, hiperamonemia e câncer. As aflatoxinas possuem estabilidade ao calor, sendo degradada apenas a altas temperaturas torna inviável para o processamento de alimentos e rações (OLIVEIRA, 1997 apud OSWEILER, 1990). Bem como a remoção física de grãos e a degradação por substâncias químicas ou microrganismos são economicamente inviáveis, assim essas substâncias permanecem nos produtos podendo contaminar pessoas e animais (TRAVAGLIA, 2011, p. 12 apud SOUZA, 2003).

Como poderia ser realizado o isolamento de *Aspergillus flavus* produtor de aflatoxinas?

O objetivo do presente trabalho foi isolar *Aspergillus flavus* produtores de aflatoxina.

## PROCEDIMENTOS OPERACIONAIS DA PESQUISA

A pesquisa foi realizada na UTFPR no Campus da cidade de Ponta Grossa, Paraná. Foram selecionadas para análise duas amostras de amendoim; ambas com origem no estado do Paraná e sua distribuição efetuada no ano de 2021; em seguida foram submetidas pelo processo de quarteamento até a redução em 25 g de cada amostra.

Em seguida as amostras foram diluídas em 225 mL de peptona 0,1% formando a diluição inicial ( $10^{-1}$ ), a partir dessa se realizou as diluições seriadas até  $10^{-6}$ . A inoculação foi realizada em duplicata adicionando uma alíquota de 1mL seguido da adição do meio de cultura ágar batata dextrose (BDA) "pour plate" em cada placa. Em seguida as placas foram incubadas por 7 dias a 25°C.

Foi então realizada a contagem de unidades formadoras de colônia (UFC/g) e a seleção de placas as quais demonstravam ter as colônias de *Aspergillus flavus*. As colônias selecionadas então passaram por repique em meio sólido de estria por esgotamento em meio BDA e incubadas por 7 dias a 25°C.

Essas Colônias com aspecto de *A.flavus* foram repicadas em ágar coco (o mesmo feito a partir de ágar bacteriológico e leite de coco), foram incubadas por 7 dias a 25°C.

## RESULTADOS

Na tabela 1 estão contidos a contagem de colônias resultantes da diluição seriada.



**Tabela 1 - Aspectos da colônias de bolores presentes em amostras de amendoim**

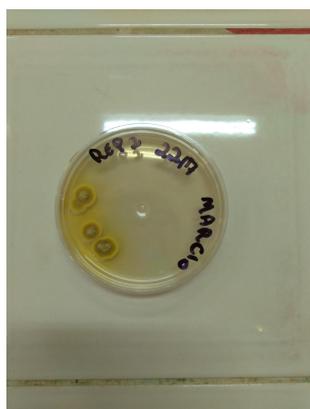
Amostra	Colônias de bolores (UFC/ g)
1	2,5 x 10 <sup>3</sup> UFC/g colônias amarelo esverdeadas 1,9 x 10 <sup>4</sup> UFC/ g colônias amarelo
2	8 x 10 <sup>3</sup> UFC/g colônias brancas 2,1 x 10 <sup>4</sup> UFC/ g colônias cinza esverdeadas 1 x 10 <sup>3</sup> colônias brancas

**Fonte: Autoria própria, (2021).**

Os resultados demonstram possível ocorrência do fungo de interesse na amostra de amendoim e também temos uma visível diferença na quantidade e tipo de colônias, o que reflete, ao fato de serem de duas marcas diferentes. Outro ponto a se destacar é que a possibilidade de desenvolvimento de *A.flavus* no amendoim pode ser explicada pelo local em qual foi produzido, onde a amostra 2 foi processada na região de Araruna, região do Paraná em que tem suas médias térmicas em 21,5°C e um clima predominante subtropical (SAGRILO, 2002), onde cria as condições perfeitas para a contaminação e desenvolvimento de *A.flavus*. A outra amostra foi processada na cidade de Cambará, também possui sua temperatura média em 21°C (NOGAROLI, 2007 apud SIMEPAR, 1997), porém a marca da presente amostra possui o selo “Qualidade Certificada Pró-Amendoim ABICAB”, o qual é promovido pela Associação Brasileira da Indústria de Chocolate, Cacau, Amendoim, Balas e Derivados (ABICAB) monitora a qualidade dos produtos de amendoim e assegura se a quantidade de aflatoxinas estão em conformidade com a legislação nacional.

A figura 1 apresenta uma placa de ágar batata dextrose (BDA) com crescimento de colônias com aspectos típicos de *A.flavus*, com micélios de cor verde amarelada e esporuladas.

**Figura 1 - Colônias com aspecto de *Aspergillus flavus* isoladas de amendoim em meio BDA**



**Fonte: Autoria própria, (2021).**



A figura 2 apresenta uma placa de ágar coco com crescimento de colônias de *A.flavus* resultante do repique da placa da fig. 1.

**Figura 2 - Colônias com aspecto de *Aspergillus flavus* isoladas de amendoim em meio ágar coco**



**Fonte: Autoria própria, (2021).**

Para observação de possível produção de aflatoxina na ágar coco, uma luz UV de 365 nm é incidida sobre a placa e a produção pode ser confirmada pela emissão de uma fluorescência azul ou verde. Até o momento as placas não emitiram essa fluorescência, que será confirmada com um tempo maior de cultivo.

## CONCLUSÃO

Nas duas amostras de amendoim foi possível isolar *Aspergillus flavus*. O experimento sobre a produção de aflatoxina ainda está em andamento. O isolamento de espécies aflatoxigênicas é importante para continuidade do trabalho que visa a seleção e estudo de microrganismos capazes de realizar o biocontrole deste fungo e degradação da aflatoxina.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pelo apoio financeiro e também à UTFPR pela infraestrutura.

## REFERÊNCIAS

NOGAROLLI, Mozart. **Evolução climática do estado do Paraná 1970 - 1999**. 2006. 153 f. Dissertação (Doutorado) - Curso de Geografia, Ufpr, Curitiba, 2007

NUNES, José Luis da Silva. **Produção de micotoxinas em grãos armazenados**. 2009. Disponível em: [https://www.agrolink.com.br/armazenagem/artigo/producao-de-micotoxinas-em-graos-armazenados\\_86926.html](https://www.agrolink.com.br/armazenagem/artigo/producao-de-micotoxinas-em-graos-armazenados_86926.html). Acesso em: 24 ago. 2021.

OLIVEIRA, C. A. F. D; GERMANO, P. M. L. **Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular**. Revista de saúde pública: subtítulo da revista, USP, v. 31, n. 4, p. 417-424, dez./2005.



SEI-SICITE 2021

Pesquisa e Extensão para um  
mundo em transformação

XI Seminário de Extensão e Inovação  
XXVI Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica  
08 a 12 de Novembro - Guarapuava/PR



PEREIRA, M. M. G.; CARVALHO, E.P.; PRADO, G.; ROSA, C.A.R.; VELOSO, T.; SOUZA, L.A.F.; RIBEIRO, J.M.M. **Aflatoxinas em alimentos destinados a bovinos e em amostras de leite da região de Lavras, Minas Gerais – Brasil**, Ciência e Agrotecnologia, v. 29, n. 1, p.106-112, 2005.

SAGRILO, Edvaldo. **Efeito da época de colheita no crescimento vegetativo, na produtividade e na qualidade de raízes de três cultivares de mandioca**. 2001. 13 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Uem, Maringá, 2002.

SCHNEIDER, Eliane Maria. **Aflatoxinas em amendoim e toxicidade no organismo humano**. Contexto e Saúde, Ijuí, v. 7, n. 13, p. 45-52, dez. 2007.

TRAVAGLIA, Diana Paris. **Crescimento de Aspergillus Flavus e produção de aflatoxina em grãos de milho armazenados sob diferentes temperaturas**. 2011. 64 f. Dissertação (mestrado) - Curso de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.