



Identificação e quantificação de fungos e aflatoxinas em amendoim (*Arachis hypogaea* L)

Identification and quantification of fungi and aflatoxins in peanut (*Arachis hypogaea* L)

Identificación y cuantificación de hongos y alfatoxinas em maní (*Arachis hipogaeal*)

Rosália de Fátima Ferreira Martins¹, Djavanira Azevêdo da Luz Silva¹, Adenilde Nascimento Mouchrek², Roselita Ferreira Martins¹, Victor Elias Mouchrek Filho², Fabiana Nascimento Prazeres Martins², Arlan Silva Freitas³, Aliny Rafaela Martins Foicinha⁴, Rosely Ferreira Martins⁴.

RESUMO

Objetivo: Identificar e quantificar fungos e aflatoxinas em amendoim (*Arachis hypogaea* L). **Métodos:** Foram analisadas 24 amostras, sendo: 14 *in natura* a granel, 5 industrializadas, e 5 torradas, adquiridas em comércios da cidade de São Luís - MA. O teor de umidade foi realizado segundo as "Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz" e a quantificação de bolores, por método horizontal. A identificação das cepas, por Sistema MALDI-TOF e as aflatoxinas por LC MS/MS. **Resultados:** Os valores de umidade variaram de 3,1% a 8,1%, adequados para o controle de contaminantes fúngicos. Da contagem de bolores, apenas 15 amostras (62,5%) foram consideradas satisfatórias e adequadas, e 9 (37,5%) insatisfatórias e inadequadas. O *Aspergillus flavus* foi o mais evidenciado com 17 amostras (39,5%), seguida por *Aspergillus montevidensis* e *Aspergillus niger* 10 amostras (23,2%); *Aspergillus mini sclerotigenes* 3 amostras (6,9%); *Aspergillus parasiticus*, *Purpureocillium lilacinum* e *Rhizopus sexualis* em 01 amostra (6,9%). Nas aflatoxinas, 9 amostras (37,5%) apresentaram níveis detectáveis, que variaram de 1 a 82,3 µg/Kg, ou seja, as aflatoxinas não representam perigo para ingestão eventual, contudo, outras micotoxinas podem ser produzidas por essas espécies fúngicas. **Conclusão:** Novos estudos são necessários, para monitoramento do *Aspergillus* nos alimentos, ante os impactos envolvendo as mudanças climáticas sobre este gênero.

Palavras-chave: Segurança alimentar, fungos filamentosos, aflatoxinas, MALDI-TOF.

ABSTRACT

Objective: Identify and quantify fungi and aflatoxins in peanut (*Arachis hypogaea* L). **Methods:** A total of 24 samples were analyzed, including: 14 raw bulk samples, 05 industrialized samples, and 05 roasted samples acquired from markets in the city of São Luís - MA. The moisture content was determined according to the "Analytical Standards of the Adolfo Lutz Institute," and mold quantification was performed using the horizontal method. Strain identification was conducted using the MALDI-TOF system, and aflatoxins were measured by LC MS/MS. **Results:** Moisture values ranged from 3.1% to 8.1%, which are adequate for controlling fungal contaminants. Of the mold counts, only 15 samples (62.5%) were considered satisfactory and adequate, while 09 samples (37.5%) were unsatisfactory and inadequate. *Aspergillus flavus* was the most prevalent, found in

¹ Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís - MA.

² Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente, Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís - MA.

³ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA), São Luís - MA.

⁴ Faculdade Estácio de Sá, São Luís - MA.

17 samples (39.5%), followed by *Aspergillus montevidensis* and *Aspergillus niger* in 10 samples (23.2%); *Aspergillus minisclerotigenes* in 03 samples (6.9%); *Aspergillus parasiticus*, *Purpureocillium lilacinum*, and *Rhizopus sexualis* in 01 sample each (6.9%). Regarding aflatoxins, 09 samples (37.5%) showed detectable levels, ranging from 1 to 82.3 µg/Kg, indicating that aflatoxins do not pose a danger for occasional consumption; however, other mycotoxins may be produced by these fungal species. **Conclusion:** News studies are necessary to monitor *Aspergillus* in food give the impacts of climate change on this genus.

Keywords: Food safety, filamentous fungi, Aflatoxins, MALDI-TOF.

RESUMEN

Objetivo: Identificar y cuantificar hongos y aflatoxinas en cacahuetes (*Arachis hypogaea* L). **Métodos:** Se analizaron 24 muestras, incluyendo: 14 crudas a granel, 5 industrializadas y 5 tostadas adquiridas en comercios de la ciudad de São Luís - MA. El contenido de humedad se determine según las "Normas Analíticas del Instituto Adolfo Lutz" y la cuantificación de mohos se realice mediante el método horizontal. La identificación de las cepas se llevó a cabo mediante el sistema MALDI-TOF y las aflatoxinas se midieron por LC MS/MS. **Resultados:** Los valores de humedad variaron de 3,1% a 8,1%, adecuados para el control de contaminantes fúngicos. De los recuentos de mohos, solo 15 muestras (62,5%) se consideraron satisfactorias y adecuadas, mientras que 9 muestras (37,5%) fueron insatisfactorias e inadecuadas. *Aspergillus flavus* fue el más prevalente, encontrado en 17 muestras (39,5%), seguido por *Aspergillus montevidensis* y *Aspergillus niger* en 10 muestras (23,2%); *Aspergillus minisclerotigenes* en 3 muestras (6,9%); *Aspergillus parasiticus*, *Purpureocillium lilacinum* y *Rhizopus sexualis* en 1 muestra cada uno (6,9%). En cuanto a las aflatoxinas, 9 muestras (37,5%) mostraron niveles detectables, que variaron de 1 a 82,3 µg/Kg, indicando que las aflatoxinas no representan un peligro para el consume ocasional; sin embargo, otras micotoxinas pueden ser producidas por estas especies fúngicas. **Conclusión:** Se necesitan más estudios para monitorear *Aspergillus* en los alimentos dados los impactos del cambio climáticos obre este género.

Palabras clave: Seguridad alimentaria, Hongos filamentosos, Aflatoxinas, MALDI-TOF.

INTRODUÇÃO

O amendoim (*Arachis hypogaea* L) é uma planta da família da *Leguminosae* (CARVALHO PER, 2014), de importante valor nutritivo (ARAUJO IMS, et al., 2007), porém, é também um dos mais susceptíveis a contaminações, por fungos, bactérias, vírus ou parasitas, podendo acontecer durante o processo produtivo, resultando em prejuízos físicos, nutricionais e econômicos relacionados a este alimento (SAATH R, et al., 2021).

Os principais fatores que influenciam nesse processo, são as condições climáticas (tropicais, quentes e úmidas) (ROCHA MP, et al., 2020) e umidade relativa, temperatura, transporte, estocagem e deficiência no manuseio e infestações por insetos (SAITA AC e PANDOLFI MAC, 2019; SAATH R, et al., 2021).

Os fungos tem sido tema de grande importância relacionados à segurança alimentar, principalmente pela capacidade destes microrganismos produzir metabólitos secundários, como as micotoxinas, que tem sido relacionadas em uma variedade de doenças e síndromes clínicas em seres humanos e animais (MURRAY PR et al, 2009).

Dentre os gêneros fúngicos, o *Fusarium spp*, *Aspergillus spp* e *Penicillium spp*, estão entre os mais importantes produtores de micotoxinas em alimentos (IAMANAKA BT et al,2010), e dentre as micotoxinas produzidas, destacam-se as Aflatoxinas (AFs) (B₁, B₂, G₁, G₂ e M₁), as Fumosinas (FUMO), a Patulina, o Desoxinivalenol (DON), a Ocratoxina A (OCRA) e a Zearalenona (ZON) (OMS, 2018).

As aflatoxinassão consideradas as micotoxinas mais tóxicas e são produzidas principalmente por *A. flavus* e *A. parasiticus*, presente no solo, vegetação em decomposição, feno e grãos (OMS, 2018). No Brasil, a RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011 do Ministério da Saúde, alterada pela RDC Nº 138 de 8 de fevereiro de 2017 (BRASIL, 2017), estabelecem limites máximos (LM) admissíveis para micotoxinas em alimentos prontos para

oferta ao consumidor. Em amendoim (com casca, descascado, cru ou tostado), pasta ou manteiga de amendoim, o limite máximo tolerado (LMT) das AFLs totais é de 20µg/kg (BRASIL, 2011).

Referentes a epidemia global de Carga de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), a inspeção e monitoramento de bolores presentes nos grãos, faz parte de um série de medidas para minimizar os riscos de micotoxinas (OMS, 2018).

No entanto, a identificação bolores, sempre foi um processo desafiador, que dependem de análises fenotípicas, associado à avaliação dos aspectos macro e microscópicos, técnicas consideradas demoradas, muitas vezes subjetivas (MOREIRA FM, et al., 2021).

Diante de tantos desafios para o monitoramento de contaminação de alimentos por fungos e suas micotoxinas, o presente trabalho teve como objetivo principal, identificar e quantificar fungos e aflatoxinas em amendoins disponíveis em comércio local de São Luís – MA para consumo humano.

MÉTODOS

Foram analisadas 24 amostras de amendoins, divididas em 3 categorias. Categoria 1 (CAT1) 14 amostras *in natura* e vendidas a granel; Categoria 2 (CAT2) 05 amostras Industrializadas e comercializadas em supermercados e Categoria 3 (CAT3) 05 amostras torradas vendidas à granel, distribuídas nos comércios e prontas para o consumo humano.

Teor de umidade

Os teores de umidade foram realizadas nas dependências do laboratório de análises físico-químicas do Programa de Controle de Qualidade de Água e Alimentos-UFMA, seguindo as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008, p. 98), por processo de dessecação a 105°C, em período de 30 minutos, utilizando abalança determinadora de umidade.

Contagem de bolores e leveduras

Estas análises foram realizadas no Laboratório de microbiologia do Hospital Universitário Materno Infantil. Realizou-se por método horizontal-NBR ISO 21527-2:2021. Diluiu-se 25g de cada amostra de amendoim moído em 225 mL de água peptonada a 0,1% e agitou-se por 3 minutos em vórtex, obteve-se desta maneira amostra 10⁻¹. Em seguida, preparou-se 2 tubos contendo 9 mL de água peptonada a 0,1% (10⁻² e 10⁻³). Acrescentou-se, 1 mL da solução 10⁻¹ ao tubo 10⁻², e 1 mL da solução 10⁻² ao tubo 10⁻³. Três placas contendo o Ágar Dicloran Glicerol com cloranfenicol (DG18), foram previamente identificadas referentes as diluições, foram transferidas 0,1 mL das soluções e distribuídas nas superfícies com o auxílio de uma alça de Drigalsk e incubadas em estufa bacteriológica a 25°C + 2, por período de 5 dias.

Na contagem de bolores e leveduras, foram selecionadas as placas de petri com um número inferior a 150 colônias. Os cálculos foram realizados pela conversão do número de colônias para Unidades formadoras de colônias (UFC), onde a divisão entre o somatório das colônias contadas nas placas consideradas ($\sum$ cplacas) e a multiplicação do volume de inóculo pipetado para cada placa de DG18 (V), diluição correspondente à contagem de colônias (d) e a constante 1,1 (MAIA BBF, 2022).

$$\text{Equação: } \text{UFC/g} = \frac{\sum \text{cplacas}}{1,1 \times V \times d}$$

A Instrução Normativa Nº 161, de 1º de julho de 2022, estabelece que a contagem de bolores e leveduras em amendoim deva ser ausente ou menor igual a 5 x 10² UFC/g. Os resultados foram expressos em um plano de duas classes, onde separa unidades amostrais entre "Satisfatório com Qualidade Aceitável" e "Insatisfatório com Qualidade Inaceitável".

Identificação fúngica por espectrometria de massa MALDI-TOF

Processo de extração

Realizou-se a extração em um Caldo Batata Dextrose, onde inoculou-se os micélios dos bolores e colocados em processo de rotação intensa por período de 48 horas. Após repouso, transferiu-se 1,5 ml do sedimento para eppendorf e centrifugou-se em micro centrífuga por 2 minutos a 14.000 RPM. Removeu-se o sobrenadante, adicionou-se 1 mL de água ao pellet e agitou-se em vórtex por 2 minutos. Posteriormente, suspendeu-se o pellet em 300ul de água, adicionar 900 µL de etanol e levou-se ao vórtex. Nova etapa de centrifugação a 14.000 RPM por 2 minutos, após isso, removeu-se o sobrenadante. Levou-se o pellet a estufa a 37°C para que secasse o máximo possível. Adicionou-se ao pellet, já seco, 20µl de ácido fórmico (70%), e o mesmo volume de acetonitrila ao tubo e agitado cuidadosamente. Mais uma vez centrifugou-se a 14000 RPM por 2 minutos, adicionou-se 1,5 µL do sobrenadante na placa, deixamos secar e cobriu-se com 1 µL de HCCA matriz.

Ionização por dessorção a Laser

As amostras secas foram submetidas a um analisador, onde ocorreram a liberação e ionização das moléculas da matriz e das proteínas do microrganismo sob a influência de um laser. Os íons de massa e carga diferentes foram submetidos a um campo elétrico que os deslocarão, e a distância percorrida em determinado tempo (relação carga/massa) ou seja, o tempo de voo de cada partícula até o detector foi utilizado para calcular sua massa. A soma de íons analisados formaram o espectro de massa da amostra analisada (DA SILVA FC, et al., 2015) .

Análises de aflatoxinas por LC-MS/MS

As análises de aflatoxinas foram realizadas no Laboratório de análises Micotoxicológica (LAMIC) da Universidade Federal de Santa Maria UFSM-RS. No sistema LC-MS/MS, a amostra inicia-se na fase móvel que passa por uma coluna com fase estacionária, ocorrendo a separação dos compostos com diferentes tempos de retenção, baseados na interação entre a coluna e a fase móvel. Após a eluição, os compostos são submetidos a fonte de ionização do espectrômetro de massas, onde sofreram ionização e perda de solvente. Os íons formados serão direcionados para o primeiro analisador quadrupolo, que determinará os íons precursores ($[M+H]^+$ ou $[M-H]^-$) com base na razão massa/carga (m/z).

Em seguida, esses íons precursores são encaminhados para uma célula de colisão, um segundo quadrupolo, onde colidem com gás nitrogênio, gerando fragmentos que são analisados no terceiro quadrupolo, o segundo analisador. Esse processo é conhecido como "Multiple Reaction Monitoring MRM", permitindo o monitoramento de íons precursores e produtos selecionados, aumentando a sensibilidade na análise (JORNALISMO-ANALYTICA, 2020).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Teor de umidade

Das 24 amostras analisadas, 19 (79.1%), apresentaram teores de umidade entre de 5-7 %, ou seja, dentro dos padrões de conformidade quando se refere ao controle do crescimento de *Aspergillus* no alimento, enquanto, apenas 1 amostra (4,1 %), estava com a umidade de 8%, ideal para a segurança higroscópica dos grãos.

Nas análises por categorias, a CAT1, apresentou umidades de 5,31% a 8,1%, com média geral de 5,93%. É a faixa mais ampla entre as categorias, ligeiramente acima do limite de 8%, com média de (5% a 7%). Na CAT2, os valores foram relativamente mais estreitos, variando de 5,44% e 6,75% e média geral de 6,09%, confortavelmente dentro da faixa para prevenir a proliferação de bolores. Isso se deve aos processos industriais, que geralmente incluem etapas de secagem e embalagem hermética para manter a qualidade e a segurança dos produtos.

Já a CAT3, exibem a menor faixa de umidade (3,1% a 5,14 %) e a menor média de 4,05% entre todas as categorias. Isso se deve ao processo de torrefação, que remove significativamente a água dos grãos. Embora a média de 4,05% esteja abaixo da faixa de 5% a 7%, essa menor umidade pode ser vantajosa em termos de armazenamento prolongado, pois reduz ainda mais o risco de proliferação de fungos e outras contaminações.

Em um estudo que avaliou o impacto na umidade dos amendoins que tinham umidade de 8% e os impactos em relação a temperatura e tempo de armazenamento, revelaram que independente do tempo de armazenamento, a perda de água dos grãos foi mais intensa em temperatura elevada (25°C) do que as mantidas a temperatura baixa (18°C), quando ocorreu o balanço higroscópico e com maior teor de umidade presente, mantendo-se próximo a 7,5 % (FLORIANO FC, et al., 2023).

Em uma análise geral, o amendoim CAT1, são os mais afetados pela variação de umidade, com valores que podem exceder o limite de segurança higroscópica, aumentando o risco de deterioração e crescimento de fungos. Já a CAT2, mostram um controle mais uniforme da umidade, mantendo-se dentro da faixa segura para evitar proliferação de fungos. Referente a CAT3 apresentam a menor umidade, devido ao processo de torrefação, que é eficaz na remoção de água e, portanto, minimiza os riscos de contaminação por fungos. Todos os resultados estão descritos na **Tabela 1**.

Tabela 1 - Teores de umidade do amendoim.

Categorias	Amostras	Média + Desvio padrão
<i>In natura a granel</i>	1	5,33 + 0,47
	2	6,16 + 0,11
	3	5,97 + 0,01
	4	8,1 + 0,02
	5	6,39 + 0,26
	6	6,82 + 0,14
	7	6,07 + 0,08
	8	5,33 + 0,05
	9	5,63 + 0,03
	10	5,31 + 0,02
	11	5,41 + 0,00
	12	5,38 + 0,14
	13	5,34 + 0,57
	14	5,9 + 0,23
Industrializados	15	5,44 + 0,01
	16	5,38 + 0,01
	17	6,69 + 0,01
	18	6,75 + 0,21
	19	6,22 + 0,11
Torrado	20	4,24 + 0,06
	21	3,62 + 0,03
	22	3,1 + 0,02
	23	5,14 + 0,01
	24	4,19 + 0,11

Fonte: Martins RFF, et al., 2025.

Contagem de bolores e leveduras

Após período de 5 dias de incubação, verificou-se que 15 (62,5%) amostras apresentaram resultados satisfatórios com qualidade aceitável, enquanto 09 (37,5%), foram insatisfatórios com qualidade inaceitável. A ausência de formas leveduriformes em todas as amostras sugere que a contaminação por leveduras não é um problema significativo em nenhum dos tipos de amendoim analisados. Na CAT1, das 14 analisadas, 7 (50%) foram satisfatórios e aceitáveis e os outros 7 (50%), insatisfatórios e inaceitáveis. A alta proporção de amostras insatisfatórias sugere maior susceptibilidade à contaminação por bolores, possivelmente devido ao

manuseio e armazenamento inadequado, comuns em vendas a granel. Para as 5 amostras CAT2, a maioria 4 (80%) foram satisfatórias e aceitáveis, enquanto 1 (20%) insatisfatória e inaceitável, indicando que o processo de industrialização é eficaz na redução da contaminação por bolores.

Nas amostras CAT3, a maioria foram satisfatórias e aceitáveis 4 (80%), enquanto 1 (20%) insatisfatória e inaceitável, sendo que, em 2 amostras não houve crescimento de bolores e leveduras na menor diluição realizada. O processo de torrefação elimina grande parte da umidade e dos microrganismos, contribuindo para uma menor contaminação por bolores e leveduras.

Spinelli, et al. (2018), em um estudo com 06 amostras de amendoim torrados, realizou uma análise de bolores e leveduras pelo método horizontal e os resultados não apresentaram crescimento para nenhum dos microrganismos pesquisados, e a autora relata que as possíveis contaminações oriundas dos processos de colheita e armazenamento, possam ter sido eliminados na torra. Os resultados foram descritos em UFC/g como demonstrados na **Tabela 2**.

Tabela 2 - Contagem de bolores e leveduras.

Categoria	Amostra	Bolores UFC/g	LevedurasUFC/g	Resultado
In natura	1	$4,7 \times 10^5$	ND	Insatisfatório com qualidade inaceitável
	2	6	ND	Satisfatório com qualidade aceitável
	3	10	ND	Satisfatório com qualidade aceitável
	4	$3,6 \times 10^4$	ND	Insatisfatório com qualidade inaceitável
	5	10	ND	Satisfatório com qualidade aceitável
	6	3	ND	Satisfatório com qualidade aceitável
	7	6	ND	Satisfatório com qualidade aceitável
	8	6	ND	Satisfatório com qualidade aceitável
	9	$8,6 \times 10^5$	ND	Insatisfatório com qualidade inaceitável
	10	15	ND	Satisfatório com qualidade aceitável
	11	$2,3 \times 10^5$	ND	Insatisfatório com qualidade inaceitável
	12	$3,2 \times 10^4$	ND	Insatisfatório com qualidade inaceitável
	13	$2,7 \times 10^3$	ND	Insatisfatório com qualidade inaceitável
	14	$2,6 \times 10^4$	ND	Insatisfatório com qualidade inaceitável
Industrializado	15	13	ND	Satisfatório com qualidade aceitável
	16	3	ND	Satisfatório com qualidade aceitável
	17	$3,7 \times 10^3$	ND	Insatisfatório com qualidade inaceitável
	18	15	ND	Satisfatório com qualidade aceitável
	19	10	ND	Satisfatório com qualidade aceitável
Torrado	20	$< 1 \times 10^{-1}$	ND	Satisfatório com qualidade aceitável
	21	$12,9 \times 10^4$	ND	Insatisfatório com qualidade inaceitável
	22	$< 1 \times 10^{-1}$	ND	Satisfatório com qualidade aceitável
	23	9	ND	Satisfatório com qualidade aceitável
	24	15	ND	Satisfatório com qualidade aceitável

Legenda: UFC: Unidade Formadora de Colônias; ND: Não detectado. **Fonte:** Martins RFF, et al., 2025.

Segundo Choi Y, et al. (2022), a maioria das espécies do gênero *Aspergillus* se propaga através da liberação de esporos no ambiente, e que embora algumas espécies possam produzir esporos sexuais, a reprodução predominante ocorre por meio de esporos assexuais denominados conídios, que são transportados por estruturas especializadas chamadas conidióforos, que ao contrário das hifas, os conídios possuem uma parede celular espessa que proporciona resistência às condições ambientais e proteção contra o sistema imunológico do hospedeiro.

Identificação de bolores

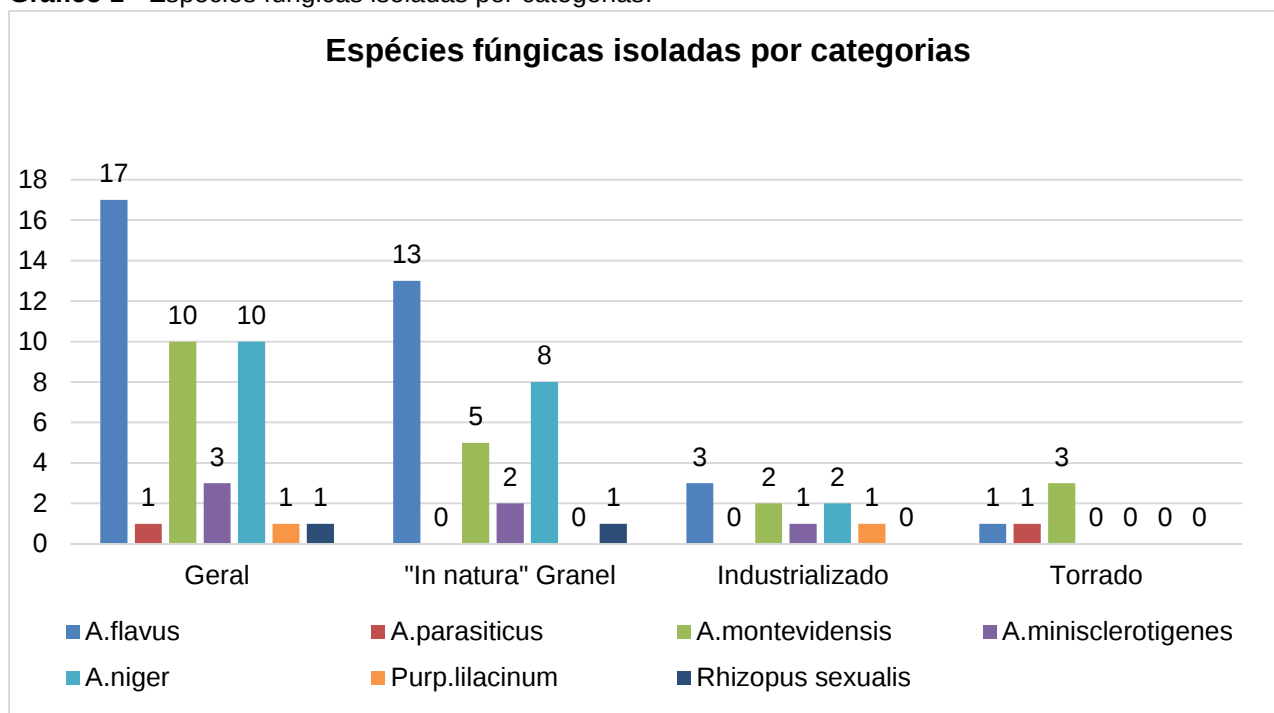
Espectrometria de massa Sistema MALDI-TOF

Identificou-se 43 cepas e os resultados encontrados revelaram uma predominância do gênero *Aspergillus* 41 (95,3 %) presentes no amendoim. Quanto a espécie, o *A. flavus* foi o mais prevalente com 17 (39,5%) cepas identificadas, seguido por *A. montevicensis* 10 (23,2%), *A. niger* 10 (23,2%), *A. minisclerotigenes* 3 (6,9%), *A. parasiticus* 1 (2,3%), *Purpureocillium lilacinum* 1 (2,3%) e *Rhizopus sexualis* 1 (2,3%).

Adetunji MC, et al. (2021) investigaram a diversidade de microbiota cultivável em amendoins de supermercados e vendidos à beira da estrada, encontrando predominância de espécies de *Aspergillus*, especialmente *fumigatus*, em ambos os locais. Além disso, *A. flavus* e *A. niger* também mostraram alta incidência, com mais de 40% de ocorrência em pelo menos um dos ambientes.

O *Aspergillus flavus* foi o mais isolado em todas as categorias. Trata-se de uma espécie com capacidade adaptativa muito grande, ou seja, consegue se desenvolver em ambientes que podem ser favoráveis ou hostis a determinados fungos, portanto, é considerado o fungo mais comumente isolado nesse contexto e o principal fator de preocupação é a sua capacidade de produzir micotoxinas. Todos os isolados estão demonstrados no **Gráfico 1**.

Gráfico 1 - Espécies fúngicas isoladas por categorias.



Fonte: Martins RFF, et al., 2025.

A espécie *niger*, foi a segunda mais isolada, presente nas CAT1 e CAT2. Apesar de ser reconhecidamente como valiosa para a indústria na produção de ácidos orgânicos, também pode ser responsável por infecções invasivas em seres humanos. Em um caso de síndrome respiratória aguda grave por SARS-CoV-2, suspeitou-se de aspergilose. Após o isolamento do fungo no lavado brônquico e análises morfológicas padrão, foi a análise proteômica por MALDI-TOF que identificou *A. niger* como agente causador (KATSIARI M, et al., 2022).

O *A. parasiticus* teve um percentual de detecção relativamente baixo, apenas 1 cepa foi isolada na amostra torrada. Trata-se de um fungo de solo, cuja população é encontrada principalmente em campos de amendoim nos EUA, Uganda, Argentina e Botsuana. Também possui a capacidade de sintetizar micotoxinas que afetam a saúde humana e animal (NIKOLIĆ M, et al., 2021). A produção de aflatoxinas por esta espécie é influenciada pela temperatura, dias de incubação/armazenamento e teor de umidade (AKINOLA EA, et al., 2021).

Três amostras apresentaram o *A. minisclerotigenes*, também dentro da categoria a granel, e industrializada. Trata-se de uma nova espécie produtora de aflatoxina, pertencente a seção *Flavi*, que foram isoladas de diferentes espécies de amendoim (NORLIA M, et al., 2019). Esta espécie é muito isolada de amostras de regiões quenianas, sendo considerado um risco para a segurança alimentar. Vários registros de casos de aflatoxicoses por este fungo já foram relatados (SCHAMANN A, et al., 2023).

Purpureocillium lilacinum tem sido muito estudado como um potencial agente de biocontrole de alguns fitopatógenos fúngicos, estando entre os mais promissores agentes contra fitopatógenos e pragas (KHAN M e TANAKA K, 2023). A espécie AUMC 10149, foi analisado por Isaac GS, et al. (2021), avaliando seus efeitos promissores no controle do nematoide das galhas *Meloidogyne*, conhecido como nematoides-das-galhas, considerado um dos fatores bióticos que mais afetam a produção e a qualidade dos tomates.

Análise de aflatoxinas por LC-MS/MS

Das 24 amostras analisadas, 09 (37.5%) apresentaram níveis de aflatoxinas detectáveis, com valores que variaram de 1 a 82,3 µg/Kg de aflatoxinas totais (AFT), porém, apenas 2 estavam acima dos limites máximos toleráveis (20µg/Kg) (BRASIL, 2011), como descritos na **tabela 2**.

Tabela 2 - Análise de aflatoxinas em amendoim, por LC-MS/MS.

Categoria	Amostra	AFB1 µg/Kg	AFB2 µg/Kg	AFG1 µg/Kg	AFG2 µg/Kg	AFTs µg/Kg
In natura	1	ND	ND	ND	ND	ND
	2	6,8	1	ND	ND	ND
	3	ND	ND	ND	ND	ND
	4	ND	ND	ND	ND	ND
	5	ND	ND	ND	ND	ND
	6	ND	ND	ND	ND	ND
	7	ND	ND	ND	ND	ND
	8	74,3	8,0	ND	ND	82,3
	9	ND	ND	ND	ND	ND
	10	1	ND	ND	ND	1
	11	1	ND	ND	ND	1
	12	ND	ND	ND	ND	ND
	13	ND	ND	ND	ND	ND
	14	ND	ND	ND	ND	ND
Industrial	15	1	ND	ND	ND	1
	16	ND	ND	ND	ND	ND
	17	1	ND	ND	ND	ND
	18	1	ND	ND	ND	ND
	19	ND	ND	ND	ND	ND
Torrado	20	ND	ND	ND	ND	ND
	21	54,5	7,9	ND	ND	62,4
	22	1	ND	ND	ND	1
	23	ND	ND	ND	ND	ND
	24	ND	ND	ND	ND	ND

AFB₁: AflatoxinaB₁; **AFB₂**: AflatoxinaB₂; **AFG₁**:AflatoxinaG₁; **AFG₂**: AflatoxinaG₂. **AFT**: Aflatoxinas Totais; **ND**: Não detectado. **Fonte**: Martins RFF, et al., 2025.

Estes resultados demonstram um cenário de segurança em relação à presença de aflatoxinas, devido à quantidade de amostras e os baixos níveis detectados. De fato, um cenário melhorado quando comparado com uma análise realizada em 2014, em que 12 amostras de amendoim, comercializado à granel e industrializados vendidos em comércio formal de São Luís do Maranhão, revelaram resultados preocupantes, onde, 1 (16%) de 6 amostras industrializada apresentou aflatoxinas totais com níveis de 71 µg/kg, e 5 (83.3%) das 6 amostras à granel, continham níveis de aflatoxinas B1 que variaram de 27 a 3000 µg/kg com níveis de AFT, que variaram de 23 µg/kg a 2.175 µg/kg (MARTINS RFFM, et al., 2017).

Muitos processos implementados no setor agrícola, podem estar diretamente relacionados a esta mudança, como os avanços tecnológicos e aplicação de biocontrole podem ter levado a práticas mais eficazes de prevenção e controle de fungos, reduzindo assim a contaminação. O uso de bioprodutos no setor agrícola tem sido mundialmente implementado há décadas e as estratégias tem sido bem sucedidas com o uso de cepas nativas não produtoras de aflatoxinas, do gênero *A. flavus* (OKUN DO, et al., 2015). Os biofungicidas registrados no Brasil, são a base de bactérias do tipo *Bacillus*, e são combinados com fungicidas químicos. As expectativas para o mercado nacional é registrar produtos que contenham uma mistura de espécies de microrganismos ou múltiplas cepas de mesma espécie como forma mais segura e eficiente para os biocontrole fúngicos (BETTIOL W e MEDEIROS FHV, 2023).

Com os resultados das análises, revelou-se a presença de cepas fúngicas com um potencial para bioproduto. O *Purpureocillium lilacinum*, onde estudos ressaltam o potencial desta cepa como bioproduto promissor (KHAN M e TANAKA K, 2023), além disso, detectou-se também, a presença de *Aspergillus flavus* não aflatoxigênico, também utilizado na agricultura no controle de cepas aflatoxigênicas. Entretanto, análise mais aprofundada com relação a esta competitividade entre espécies e impacto nas contaminações dos grãos precisam ser realizadas.

Embora o método de identificação por morfologia, ainda seja muito aplicada em laboratórios e de fato, essa é uma etapa importante para a identificação, ainda é muito imprecisa em relação as espécies, principalmente do gênero *Aspergillus*. Isso reforça a importância da utilização de tecnologia para a identificação das espécies fúngicas de forma rápida e eficiente, como é o caso da espectrometria de massa MALDI-TOF. Outra causa sobre o impacto na produção de aflatoxinas diz respeito aos cenário climático mundial previsto, estima-se um aumento de temperatura para o próximo século de +2°C e +5°C, com isso, as espécies termo adaptáveis como o *Aspergillus flavus*, se tornará um problema de segurança alimentar (ZINGALES V, et al., 2022). Estudos relacionados aos contaminantes alimentares retratam a capacidade dos fungos de se adaptarem a mudanças ambientais (ZHOU LW e MAY TW, 2023).

Uma das maiores ameaças à segurança alimentar e à saúde humana em todo o mundo é a contaminação de culturas básicas com micotoxinas e as alterações climáticas têm e terão, um maior efeito sobre o crescimento e a distribuição dos fungos micotoxigênicos e das micotoxinas subsequentemente produzidas (MENEELYJP, et al., 2023). Embora as análises tenham indicado um controle satisfatório sobre a presença de aflatoxinas no amendoim, é importante notar que houve uma incidência considerável de fungos produtores dessas toxinas. Nesse contexto, não podemos descartar a possibilidade de que a produção de outras micotoxinas possa ser mais expressiva do que a aflatoxina.

A espécie *flavus* é capaz de produzir tanto aflatoxinas quanto o ácido ciclopiazônico em alimentos, que frequentemente são encontrados em amendoim (GONÇALEZ E, et al., 2013), no entanto, diante do cenário adaptativo por mutação e recombinação sexual devido ao aumento da temperatura, trará mudanças na dominância de espécies termotolerantes como as de *Aspergillus* toxigênicos sobre espécies de *Penicillium*, assim como, o *A. flavus*, mudando a produção de aflatoxinas para ácido ciclopiazônico (ZHOU LW e MAY TW, 2023). De acordo com Frisvad JC, et al. (2019) o *A. flavus*, é capaz de produzir aflatoxina B1, G1, M1, ácido ciclopiazônico e ácido 3-nitropropionico, enquanto o *A. minisclerotigenes* pode produzir aflatoxina B1, G1, M1 e ácido ciclopiazônico, já o *A. parasiticus*, produz aflatoxina B1, G1.

Com isso, demonstra-se que mesmo que os resultados apontem baixos níveis de aflatoxinas, outras micotoxinas podem estar sendo produzidas por essas cepas de *Aspergillus*. Com isso, ressalta-se a importância da vigilância e do controle contínuo ao longo da cadeia de produção e armazenamento de alimentos, visando garantir a segurança alimentar e a saúde pública.

CONCLUSÃO

O amendoim, devido à sua composição nutricional, apresenta uma alta suscetibilidade à contaminação por fungos, sendo o *Aspergillus flavus* um dos principais responsáveis pela produção de aflatoxinas. Embora os níveis detectados dessas substâncias geralmente não representam um risco significativo para o consumo

ocasional, é importante destacar que outras espécies fúngicas isoladas também podem produzir micotoxinas prejudiciais à saúde humana e animal. Este risco é exacerbado pela capacidade adaptativa de certas espécies fúngicas em resposta às mudanças climáticas. Assim, torna-se imperativo realizar análises contínuas e monitoramento rigoroso para controlar as cepas colonizadoras e as micotoxinas presentes nesses alimentos, garantindo a segurança alimentar e a saúde pública.

REFERÊNCIAS

1. ADETUNJI MC, et al. Phylogenetic diversity and prevalence of mycoflora in ready-to-eat supermarket and roadside-vended peanuts. *Mycologia*, 2021; 113(1): 1–11.
2. AKINOLA EA, et al. Behaviour of *Aspergillus parasiticus* in aflatoxin production as influenced by storage parameters using response surface methodology approach. *International Journal of Food Microbiology*, 2021; 357: 109369.
3. ARAUJO IMS, et al. Características físico-químicas de sementes de diferentes genótipos de amendoim. *Revista Brasileira de Biociências*, 2007; 5(S1): 870–872.
4. BETTIOL W e MEDEIROS FH V. Como o Brasil se tornou o maior produtor e consumidor de produtos de biocontrole. 2023. EMBRAPA. BR. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/79156418/artigo-como-o-brasil-se-tornou-o-maior-produtor-e-consumidor-de-produtos-de-biocontrole>. Acessado em: 16 de setembro de 2023.
5. BRASIL. Ministério da Saúde. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA RDC Nº 138 DE 08 DE FEVEREIRO DE 2017.
6. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. 2011. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0007_18_02_2011_rep.html. Acessado em: 17 de março de 2023.
7. CARVALHO PER. Espécies arbóreas brasileiras. 2014; 1: 77.
8. CHOI Y, et al. Performance Evaluation of Bruker Biotyper, ASTA MicroIDSys, and VITEK-MS and Three Extraction Methods for Filamentous Fungal Identification in Clinical Laboratories. *Journal of Clinical Microbiology*, 2022; 60(11): e00812-22.
9. DA SILVA FC, et al. Taxonomiapolífásica para identificação de *aspergillus* seção *flavi*: uma revisão. *Revista Ifes Ciência*, 2015; 1(1): 18–40.
10. FLORIANO RF, et al. Effect of storage on the quality of peanut grain oil. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2023; 124: 105688.
11. FRISVAD JC, et al. Taxonomy of *Aspergillus* section *Flavi* and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins. *Studies Mycology, Taxonomy of Industrially Important Fungi*, 2019; 93: 1–63.
12. GONÇALEZ E, et al. Produção de aflatoxinas e ácido ciclopiazônico por cepas de *Aspergillus flavus* isoladas de amendoim. *Arquivos do Instituto Biológico*, 2013; 80(3): 312–317.
13. IAL. Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos. 1ª, 2008 (Digital). Disponível em: [analisedealimentosial_2008.pdf](#). Acessado em: 6 de abril de 2022.
14. IAMANAKA BT, et al. Micotoxinas em alimentos. *Academia Pernambucana de Ciência Agronômica*. 2010; 7: 138–161.
15. ISAAC GS, et al. Efficacy of *Purpureocillium lilacinum* AUMC 10149 as biocontrol agent against root-knot nematode *Meloidogyne incognita* infecting tomato plant. *Brazilian Journal of Biology*, 2021; 84: e253451.
16. JORNALISMO-ANALYTICA. A cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em Tandem HPLC-MS/MS. 2020. *Revista Analytica*. 2023.
17. KATSIARI M, et al. Possible COVID-19-Associated Pulmonary Aspergillosis Due to *Aspergillus niger* in Greece. *Antibiotics*, 2022; 11(3): 300.
18. KHAN M e TANAKA K. *Purpureocillium lilacinum* for plant growth promotion and biocontrol against root-knot nematodes infecting eggplant. *PLOS ONE*, 2023; 18(3): e0283550.
19. MAIA BBF. Implementação dos métodos de detecção de *cronobacter* spp. E enumeração de fungos em géneros alimentícios no laboratório microchem. 2022.

20. MENEELY JP, et al. The Challenge of Global Aflatoxins Legislation with a Focus on Peanuts and Peanut Products: A Systematic Review. *Exposure and Health*, 2023; 15(2): 467–487.
21. MOREIRA FM, et al. Identificação de fungosfilamentosos em indústrias farmacêuticas: uma revisão integrativa da literatura. *Revista Científica do UBM*, 2021; 124–144.
22. MURRAY PR, et al. *Microbiologia Médica*. 6ªed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009; 224p.
23. NIKOLIĆ M, et al. Toxigenic Species *Aspergillus parasiticus* Originating from Maize Kernels Grown in Serbia. *Toxins*, 2021; 13(12): 847.
24. NORLIA M, et al. Molecular Characterisation of Aflatoxigenic and Non-Aflatoxigenic Strains of *Aspergillus* Section *Flavi* Isolated from Imported Peanuts along the Supply Chain in Malaysia. *Toxins*, 2019; 11(9): 501.
25. OKUN DO, et al. Distribution of indigenous strains of atoxigenic and toxigenic *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* in maize and peanuts agro-ecological zones of Kenya. *Agriculture & Food Security*, 2015; 4(1): 14.
26. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Mycotoxins. 2018. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mycotoxins>. Acessado em: 26 de agosto de 2023.
27. ROCHA MP, et al. Sistema de armazenamento e incidência dos principais fungos produtores de micotoxinas em grãos. *Brazilian Journal of Development*, 2020; 6(7): 50176–50193.
28. SAATH R, et al. Gestão da qualidade na pós-colheita do amendoim como ferramenta à competitividade. *Revista em Agronegócio e Meio Ambiente*, 2021; 14(1): e007927.
29. SAITA AC e PANDOLFI MAC. Efeitos da aflatoxina na comercialização do amendoim. 2019; 11.
30. SCHAMANN A, et al. Whole-Genome Sequences of Two Kenyan *Aspergillus minisclerotigenes* Strains. *Microbiology Resource Announcements*. 2023; 12(8): e00219-23.
31. ZHOU LW e MAY TW. Fungal taxonomy: current status and research agendas for the interdisciplinary and globalisation era. *Mycology*, 2023; 14(1): 52–59.
32. ZINGALES V, et al. Climate Change and Effects on Molds and Mycotoxins. *Toxins*, 2022; 14(7): 445.