

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DA VITÓRIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

ÁLVARO RODRIGO DA CONCEIÇÃO

**ANÁLISE DA CONTAMINAÇÃO POR FUNGOS TOTAIS E AFLATOXIGÊNICOS
EM SEMENTES DE SOJA E PROTEÍNA TEXTURIZADA DE SOJA**

Vitória de Santo Antão

2022

ÁLVARO RODRIGO DA CONCEIÇÃO

**ANÁLISE DA CONTAMINAÇÃO POR FUNGOS TOTAIS E AFLATOXIGÊNICOS
EM SEMENTES DE SOJA E PROTEÍNA TEXTURIZADA DE SOJA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Graduação em Nutrição do Centro Acadêmico da Vitória da Universidade Federal de Pernambuco em cumprimento a requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Nutrição, sob orientação da Professora Dra. Idjane Santana de Oliveira.

Vitória de Santo Antão

2022

Catálogo na Fonte
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Jaciane Freire Santana, CRB-4/2018

C744a Conceição, Álvaro Rodrigo da.
Análise da contaminação por fungos totais e aflatoxigênicos em sementes de soja e proteína texturizada de soja / Álvaro Rodrigo da Conceição. - Vitória de Santo Antão, 2022.
27 f.; il.: color.

Orientadora: Idjane Santana de Oliveira.
TCC (Nutrição) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Bacharelado em Nutrição, 2022.
Inclui referências.

1. Grão comestível. 2. Aflatoxinas. 3. Contaminação de alimentos. 4. Fungos. 5. Soja. I. Oliveira, Idjane Santana de (Orientadora). II. Título.

641.35655 CDD (23. ed.) BIBCAV/UFPE - 113/2022

ÁLVARO RODRIGO DA CONCEIÇÃO

**ANÁLISE DA CONTAMINAÇÃO POR FUNGOS TOTAIS E AFLATOXIGÊNICOS
EM GRÃOS DE SOJA E PROTEÍNA TEXTURIZADA DE SOJA.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Colegiado do Curso de Graduação em
Nutrição do Centro Acadêmico da Vitória da
Universidade Federal de Pernambuco em
cumprimento a requisito parcial para obtenção
do grau de Bacharel em Nutrição

Data: 30/05/2022

Banca Examinadora:

Profa Idjane Santana de Oliveira – UFPE/CAV

Prof. Gustavo Rubens de Castro Torres - FASUP

Prof. Allyson Rodrigo de Oliveira Lopes - UNIFACOL

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que tem sido meu refúgio e fortaleza nos momentos de incerteza e dificuldade durante a realização deste trabalho.

Aos meu pais, que me deram suporte para ingressar na graduação, e a quem devo tudo que logrei até aqui.

Por fim, mas não menos importante, à professora Idjane Santana de Oliveira, que tem sido minha principal motivadora na empreitada difícil que é concluir este trabalho sob condições adversas.

RESUMO

A soja é um alimento importante no Brasil, tanto do ponto de vista nutricional, quanto do social e econômico. O principal objetivo do presente trabalho foi analisar a possível contaminação de sementes de soja e proteína de soja texturizada de marcas comercializadas em Recife (PE) quanto à presença de fungos totais e fungos e produtores da micotoxina aflatoxina. Para tanto foram adquiridas 11 amostras de soja de 7 marcas comerciais. No laboratório as amostras do tipo semente foram desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio a 0,4% por 1 minuto e em seguida lavadas em água destiladas estéril e secas em papel de filtro estéril. Tal procedimento não foi feito com a proteína texturizada, por não se tratar de um grão. Para todas as amostras o semeio foi feito pelo método de plaqueamento direto, com 10 unidades para amostra, em quintuplicata, nos meios de cultura DG-18 e AFPA, para avaliação da taxa de contaminação por fungos totais e fungos produtores de aflatoxina, respectivamente. Todas as amostras (100%) apresentaram algum nível de contaminação. A taxa média de contaminação variou de 30 a 94% para fungos totais e de 2 a 54% para fungos aflatoxigênicos. As amostras mais contaminadas foram S7 (94%) e S8 (92%), ambas da mesma marca, sendo proteína de soja texturizada escura e clara, respectivamente. Os fungos filamentosos ocorreram em 100% das amostras, enquanto os fungos leveduriformes apareceram em 45,4% das amostras. Quanto a frequência de ocorrência dos gêneros fúngicos, o *Aspergillus* Seção *Flavi* foi único encontrado em 100% das amostras. Também ocorreram nas amostras de soja analisadas os seguintes gêneros fúngicos: *Aspergillus* Seção *Nigri* (36,4%), *Fusarium* sp, *Rhizopus* sp, *Eurotium* sp, apresentando esses 3 gêneros a mesma taxa de ocorrência (45,4%), e *Alternaria* sp (18,1%). Esse trabalho evidenciou que as amostras de proteínas texturizada de soja, bem como a semente de todas as 7 marcas testadas apresentaram algum nível de contaminação por fungos totais e por fungos produtores de aflatoxina, representando assim possível risco para a saúde humana.

Palavras-chave: grão; fungo; aflatoxina; soja

ABSTRACT

Soybean is an important food in Brazil from a nutritional, social and economic point of view. The main objective of the research was to analyze the possible contamination of soybean seeds and textured soy protein from trademarks sold in Recife - PE regarding the presence of total fungi and fungi and producers of mycotoxin aflatoxin. For that, 11 samples of soybeans from 7 trademarks were acquired and in the laboratory the seed samples, but not the textured soybean protein, were disinfected with a 0.4% sodium hypochlorite solution for 1 minute and then washed in sterile distilled water and dried on sterile filter paper. For all samples, seeding was the same, by the direct plating method of 10 units of each sample, in quintuplicate, in DG-18 and AFPA culture media, to evaluate the rate of contamination by total fungi and aflatoxin-producing fungi, respectively. All samples (100%) showed some level of contamination. The average contamination rate ranged from 30 to 94% for total fungi and from 2 to 54% for aflatoxigenic fungi. The most contaminated samples were S7 (94%) and S8 (92%), both of the same brand, being dark and light textured soy protein, respectively. Filamentous fungi occurred in 100% of the samples, while yeast-like fungi appeared in 45.4% of the samples. As for the frequency of occurrence of fungal genera, *Aspergillus* Section Flavi was the only one found in 100% of the samples. The following fungal genera also occurred in the analyzed soybean samples: *Aspergillus* Section Nigri (36.4%), *Fusarium* sp, *Rhizopus* sp, *Eurotium* sp, with these 3 genera having the same occurrence rate (45.4%), and *Alternaria* sp (18.1%). This work showed that the textured soy protein samples, as well as the seeds of all 7 tested trademarks, showed some level of contamination by total fungi and aflatoxin-producing fungi, thus representing a possible risk to human health.

Key words: grain; fungus; afltoxin; soy

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS	12
3 JUSTIFICATIVA	13
4 REVISÃO DA LITERATURA	14
5 MATERIAL E MÉTODOS	17
6 RESULTADOS	17
7 DISCUSSÃO	23
8 CONCLUSÕES	25
REFERÊNCIAS	26

1 INTRODUÇÃO

A soja é um produto de importância nutricional, social e econômica no Brasil, sendo este país o maior produtor mundial e exportador do grão, com safra estimada em mais de 140 milhões de toneladas para o ano de 2022 (CONAB)

No mundo, há uma crescente demanda por alimentos de alta qualidade nutricional e com o menor nível possível de contaminantes, tais como fungos e micotoxinas. Como resultado, é crescente, também, a demanda por parte da indústria alimentícia por matérias-primas que estejam em conformidade com os limites estatutários estabelecidos para micotoxinas, prevista na legislação de cada país.

A soja é frequentemente atacada por fungos durante o seu cultivo, bem como no pós-colheita — durante o transporte ou em armazenamento —, afetando significativamente sua produtividade e seu valor comercial.

A ocorrência de fungos em sementes de soja tem sido relatada em diversos países do mundo onde a cultura é explorada. Até 1981, já haviam sido encontradas 35 espécies de fungos transmitidos pelas sementes dessa leguminosa.

Os contaminantes de soja na produção de alimentos para humanos e animais mais frequentes são os gêneros fúngicos *Eurotium* sp, *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp, *Alternaria alternata*, *Chaetomium* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia lunata*, *Epicoccum* sp., *Rhizopus stolonifer*, *Nigrospora* sp. e *Trichoderma* sp.). (GOULART, 2018).

Embora na literatura nacional e internacional encontrem-se vários estudos com soja em grão e seus produtos — a exemplo do óleo e da soja processada em pó —, não há estudos sobre a possível contaminação com fungos e aflatoxinas em amostras de proteína de soja texturizada. Sendo este um produto muito consumido no Brasil, foi oportuna e justificada a realização do presente trabalho.

2 OBJETIVOS

Geral:

Analisar a contaminação por fungos totais e aflatoxigênicos em amostras de sementes de soja e proteína texturizada de soja comercializadas em Recife – PE. Pernambuco.

Específicos;

1. Identificar e preservar os principais gêneros de fungos contaminantes das amostras comerciais de soja;
2. Conhecer a taxa de contaminação por fungos totais e aflatoxigênicos nas amostras analisadas de soja;
3. Conhecer a frequência de ocorrência dos gêneros fúngicos nas amostras de soja.

3 JUSTIFICATIVA

O presente estudo justificou-se pela importância nutricional, social e econômica da soja e seus produtos, bem como pela pouca disponibilidade de literatura na temática sobre fungos e micotoxinas em soja e seus derivados de marcas comercializadas e consumidas no Brasil. Outro fator é que, em virtude crescente do aumento do valor da proteína de origem animal, aumentou a procura interna por fontes proteicas alternativas, tornando a soja e a proteína de soja alimentos cada vez mais presentes na mesa dos brasileiros. Tal fato também relaciona-se com a versatilidade da soja e proteína de soja texturizada, sendo apresentada na composição de farofas, hambúrgueres e bifes vegetais, almôndegas, leite vegetal, entre outros. Não obstante, o consumo de soja é descrito, com relativo grau de comprovação, pela literatura científica, como um importante aliado na redução dos sintomas da menopausa.

A existência de legislação brasileira publicada em 18/02/11 pela ANVISA, RDC 07 que estabelece o limite máximo de tolerância de micotoxinas em alimentos, especialmente grãos, cereais e seus produtos industrializados, é outro fator influente para a realização do presente trabalho, uma vez que a soja e seus derivados estão inclusos na referida legislação. Além disso, não há informação sobre análise da presença de fungos e aflatoxinas em amostras de soja (grão e texturizada) de marcas comercializadas em Recife – PE. Tornando este trabalho relevante para consumidores e pesquisadores da área.

4 REVISÃO DA LITERATURA

SOJA E SEU VALOR NUTRICIONAL, SOCIAL E ECONÔMICO

A soja (*Glycine max L. Merr.*) é uma leguminosa asiática cultivada em muitas partes do mundo devido à importância do seu óleo e proteínas, que são amplamente utilizados na fabricação de alimentos para humanos e animais (GOULART, 2018).

Segundo dados da CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento), o Brasil é maior produtor e exportador de soja do mundo, com produção em maio de 2022 de 122 milhões de toneladas, sendo os estados da região Centro-Sul a principal produtora de soja do país e envolvendo milhares de empregos diretos e indiretos na cadeia produtiva da soja e seus produtos (CONAB, 2022).

O principal e mais conhecido uso da soja é para extração de óleo comestível, sendo sua proteína residual amplamente empregada em ração para animais e formulações para consumo humano. Após a segunda metade do século XX, quando produtos como farinha, farinha desengordurada, proteína texturizada, proteína isolada de soja e extratos hidrossolúveis passaram a constituir formulações de produtos com baixo teor de gordura (SILVA, 2016).

Do ponto de vista nutricional, a soja é composta por lipídeos, carboidratos, proteínas e vários micronutrientes. A porção lipídica presente nos grãos é a principal responsável pelo sabor característico em produtos a base de soja, sendo representada por aproximadamente 20% da composição do grão, correspondendo a aproximadamente 15% de lipídeos saturados, 61% lipídeos poliinsaturados e 24% lipídeos monoinsaturados, variando de acordo com as cultivares e as condições ambientais a que são expostas. Os principais ácidos graxos encontrados na soja são o palmítico, esteárico, oléico, linoleico e linolênico, nas respectivas proporções de aproximadamente 10, 4, 18, 55 e 10% (SILVA, 2016).

Ainda de acordo com Silva (2016), as proteínas da soja correspondem a uma fração de 30 a 40% da composição do grão, dependendo da variedade da soja, sendo deste total, aproximadamente 80% representado pelas frações de globulinas. As proteínas presentes na soja também apresentam algumas vantagens como

conter todos os aminoácidos essenciais, apresentar um bom balanço de aminoácidos e diminuir o colesterol, levando a diminuição do risco de doenças cardiovasculares, além de conferirem excelentes propriedades para o processamento.

A quantidade de carboidratos presentes na soja está ao redor de 25%, distribuídos entre solúveis – sacarose, rafinose e estaquiose, principalmente - e insolúveis – celulose e hemicelulose. A relação entre a dieta e a redução de doenças crônicas é bem reconhecida e tem estimulado pesquisadores a buscar soluções para a prevenção destas doenças em compostos específicos presentes nos alimentos. A respeito de diversos compostos funcionais da soja, estes estão associados funções benéficas como antioxidantes, antiestrogênicos, antitumorais, entre outras (SILVA, 2016).

PRINCIPAIS FUNGOS E MICOTOXINAS CONTAMINANTES DA SOJA

Os fungos que ocorrem em grãos simplificadaamente podem ser classificados em dois grupos, conforme o período de contaminação, de campo ou de armazenamento. No primeiro grupo, estão, entre outros, os do gênero *Fusarium*, que contaminam os grãos no período de pré-colheita, pois necessitam de teores de umidade de no mínimo 20% para o seu crescimento. Os fungos de armazenamento, onde se incluem *Aspergillus* e *Penicillium*, necessitam de teor de umidade, em torno de 14%, para que ocorra o crescimento micelial. Ambos os gêneros possuem espécies toxigênicas (SILVA, 2016).

A soja é frequentemente atacada por infecções fúngicas durante o cultivo, ou pós-colheita (em trânsito ou em armazenamento), afetando significativamente sua produtividade. Sementes e restos de colheita infectados são as principais fontes de infecções primárias, e o nível de dano das sementes depende condições ambientais, como alta umidade relativa, orvalho e temperaturas acima de 25 °C. Essas espécies podem ser potenciais produtoras de (OLIVEIRA *et al* 2010)

Micotoxinas são produtos metabólicos secundários fúngicos de peso molecular relativamente baixo que pode afetar vertebrados expostos, como animais,

de várias maneiras. As micotoxinas são considerados metabólitos secundários porque não são necessários para o crescimento de fungos e são simplesmente um produto de processos metabólicos primários. As funções das micotoxinas não foram claramente estabelecidas, mas acredita-se que desempenham um papel na eliminação de outros micro-organismos competindo no mesmo ambiente. Acredita-se que também ajudam fungos parasitas a invadirem os tecidos do hospedeiro. A quantidade de toxinas necessárias para produzir efeitos adversos na saúde varia amplamente entre as toxinas, bem como dentro do sistema imunológico de cada pessoa (BARROS *et al.*, 2011).

Algumas micotoxinas são cancerígenas, algumas são vasoativas e algumas causam doenças do sistema nervoso central. As micotoxinas podem ser agudas ou cronicamente tóxicas, ou ambas, dependendo do tipo e dose da toxina, bem como da saúde, idade e estado nutricional do indivíduo ou animal exposto, e os possíveis efeitos sinérgicos entre as micotoxinas. A maioria das micotoxinas frequentemente estudadas são produzidas por espécies de *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* e *Alternaria* (KIM *et al.*, 2013)

Há uma crescente demanda do consumidor mundial por alimentos de alta qualidade e inócuos, e bebidas com o menor nível possível de contaminantes, como micotoxinas. Como resultado, a indústria alimentícia do mundo desenvolvido exige matérias-primas da melhor qualidade e que estejam em conformidade com os limites estatutários estabelecidos para micotoxinas. Como as micotoxinas são inevitáveis, é importante saber que as concentrações das micotoxinas presentes nas matérias-primas mudam ao longo das cadeias de processamento para fabricação de alimentos e rações. (SILVA, 2016)

A ocorrência de fungos em sementes de soja tem sido relatada em diversos países do mundo onde a cultura é explorada. Até 1981, já haviam sido encontradas 35 espécies de fungos transmitidos pelas sementes dessa leguminosa. Os principais fungos patogênicos são: *Phomopsis sojae*, *Colletotrichum truncatum*, *Fusarium semitectum* – Syn, *F. pallidoroseum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Cercospora kikuchii*, *Corynespora cassiicola* e *Aspergillus flavus*. Os contaminantes de alimentos para humanos e animais detectados com bastante frequência são: *Eurotium sp.*, *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Alternaria alternata*, *Chaetomium sp.*, *Cladosporium*

sp., *Curvularia lunata*, *Epicoccum sp.*, *Rhizopus stolonifer*, *Nigrospora sp.*, *Trichoderma sp.* (GOULART, 2018)

Diversas espécies de *Aspergillus* ocorrem em sementes de soja, porém a mais frequente é *Aspergillus flavus* (*A. flavus*). Tem sido observado que, em sementes colhidas com teores elevados de umidade, um retardamento do início da secagem por alguns dias é suficiente para reduzir sua qualidade, por causa da ação desse fungo. O grupo *Aspergillus flavus* é caracterizado pela formação de colônias de coloração esverdeada e pela produção de aflatoxinas (SILVA, 2016).

Aflatoxinas são as toxinas que causam maiores danos aos seres humanos e animais, pela sua alta toxicidade e ampla ocorrência. Elas são produzidas por fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* e, embora existam aproximadamente 20 compostos, todos designados aflatoxinas, apenas as aflatoxinas B1 (AFLAB1), B2 (AFLAB2), G1 (AFLAG1) e G2 (AFLAG2), cuja nomenclatura é baseada na cor da fluorescência sob luz UV, em inglês (*blue ou green*) são encontradas naturalmente em alimentos de origem vegetal. Outros membros importantes da família das aflatoxinas são a M1 e M2, formas oxidadas da AFLAB1, isoladas do leite, urina e fezes de animais (Oliveira *et al.*, 2019).

Dentre as AFLAs B1, B2, G1 e G2 3, a AFLAB1 é a mais tóxica e está classificada pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer, no Grupo 1 de toxicidade (IARC, 1993), porém todas podem afetar a síntese proteica, devido a sua capacidade de se ligar ao DNA, além de contribuírem para deficiência da imunidade celular, induzindo infecções em pessoas expostas a essas substâncias. O fígado é o primeiro órgão afetado, pois promove a transformação na forma oxidada 8,9-óxido de AFLAB1 ou AFLAB1-epóxido, originada da epoxidação da dupla ligação do éter vinílico presente na estrutura bi-furanóide da molécula de AFLAB1. Este composto é altamente eletrofílico, capaz de formar ligações covalentes com o DNA, RNA e proteínas (OLIVEIRA *et al.*, 2019).

A ocorrência de aflatoxinas em alimentos começou a ser estudada quando mais de 100.000 mil perus morreram na Inglaterra na década de 60, após ingestão de farelo de amendoim brasileiro. Os principais fatores que afetam a produção de aflatoxinas são a cepa do fungo, o substrato, teor de umidade, temperatura e umidade relativa. Condições quentes e úmidas são favoráveis para a produção de

aflatoxinas e podem ser proporcionadas pela má qualidade de armazenamento (IEMANAKA *et al.*, 2010).

Os níveis máximos permitidos para aflatoxinas em alimentos e ração animal são controlados por legislação de abrangência mundial cujas doses máximas permitidas variam entre 1 e 20 µg Kg⁻¹ para alimentação humana e entre 0 e 50 µg Kg⁻¹ para alimentação animal. A ANVISA preconiza limite máximo de 5 µg Kg⁻¹ para feijão, cereais e produtos de cereais, porém não estabelece limite específico para grãos de soja (OLVEIRA *et al.*, 2019).

Oliveira *et al.* (2010) em seu estudo sobre as micotoxinas e a segurança alimentar na soja encontraram aflatoxina B1 em grãos armazenados, sendo os valores próximos ao limite máximo legislado, e atribuíram às impurezas que são admitidas em limite de 1% na soja como a principal fonte do problema.

Alem das aflatoxinas, outra micotoxina de importância que pode contaminar grãos de soja é a classe das fumonisinas, toxinas produzidas por espécies do gênero *Fusarium*. As espécies que mais comumente contaminam soja são: *F. verticillioides*, *F. proliferatum*., *F. semitectum*. Existem pelo menos três fumonisinas ocorrendo naturalmente FB1, FB2 e FB3. A fumonisina FB1 ocorre em concentração maior seguida pela FB2 e FB3. As fumonisinas têm exibido uma atividade promotora de câncer em ratos, mas não são mutagênicas. Ainda não há informação suficiente para determinar se as fumonisinas são carcinogênicas ao homem, contudo existe uma possível associação do câncer esofágico humano, causado pela ingestão de grãos contaminados por *F. verticillioides* contendo fumonisinas e fusarina C. As fumonisinas são estáveis na maioria dos alimentos processados. (LAMANAKA *et al.*, 2010).

Egbuta *et al.* (2016) avaliaram a contaminação de amostras comerciais de sementes de soja e soja processada em pó por fungos e micotoxinas, na Nigéria. Os autores encontraram que nas sementes de soja e na soja em pó maior incidência de espécies de fungos como *Alternaria* (52,4%) e *Aspergillus flavus* (42,9%). As micotoxinas detectadas nessas amostras incluíram aflatoxinas, ocratoxina A e fumonisina B. O estudo mostrou que houve co-ocorrência de aflatoxinas e fumonisina B1 em ambas as amostras e mesmo com valores dentro do LMT (limite

máximo de tolerância), não devem ser ignorados como resultado para a saúde humana e os riscos associados à exposição crônica e constante a esses compostos.

Não há no Brasil estudos com fungos contaminantes em proteína de soja texturizada. Pois geralmente, os artigos analisam os produtos alimentícios finais produzidos com a soja processada e os poucos artigos que encontram-se na literatura são relacionados à soja em pó (EGBUTA *et al.*, 2016). A proteína processada (texturizada) de soja é muito usada na indústria alimentícia humana, a saber fabricação de hambúrguer (LIMA *et al.* 2020), linguiça de tilápia (REZENDE *et al.*, 2020), entre outros alimentos, bem como na alimentação animal e também como componente para meios de cultura para fungos

Diante do exposto, fica evidenciada a necessidade de mais pesquisas sobre fungos e micotoxinas ocorrentes em soja e seus produtos, em Pernambuco e no Brasil, envolvendo toda a cadeia produtiva da soja.

5 MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de Soja

Foram adquiridas amostras de soja e proteína texturizada de soja em mercados e supermercados do Recife - PE. Em seguida, as amostras foram analisadas no laboratório de Microbiologia e Imunologia do CAV (Centro Acadêmico de Vitória), da UFPE, onde foi feita a identificação das amostras de acordo com o tipo e marca comercial de soja. Foram analisadas as seguintes amostras: semente de soja a granel, semente de soja embalada, proteína de soja texturizada a granel, proteína de soja embalada tipo branca, proteína de soja embalada tipo escura, e amostra de proteína texturizada de soja escura a granel.

Processamento das Amostras de Soja

As amostras de soja do tipo semente passaram pela desinfestação da superfície do grão com solução de hipoclorito de sódio a 0,4% durante um minuto. As sementes desinfestadas foram lavadas com água destilada estéril e em seguida, secadas em papel de filtro estéril. As amostras de proteína de soja texturizada não passaram pelo processo de desinfestação da superfície com hipoclorito de sódio, pois devido à estrutura porosa possivelmente haveria absorção da solução, não sendo possível efetuar a retirada total do hipoclorito, o que comprometeria a análise.

Determinação da taxa de contaminação da soja por Fungos Totais e Aflatoxigênicos

Todas as amostras de soja foram semeadas pelo método de plaqueamento direto de grãos para análise de fungos em alimentos sólidos. Foram distribuídos 10 grãos em 5 repetições em placas de Petri, totalizando 50 grãos para cada amostra, tanto no meio de cultura DG-18 (Dicloran Glicerol agar) para determinação da taxa média de contaminação por fungos totais quanto no meio de cultura AFPA (*Aspergillus Flavus Parasiticus* Agar) para determinação da taxa média de contaminação por fungos aflatoxigênicos, adaptado do método de Goulart (2018), que estabeleceu o método apenas o meio BDA (Batata dextro Agar). Após a distribuição das amostras de soja, as placas foram incubadas a temperatura

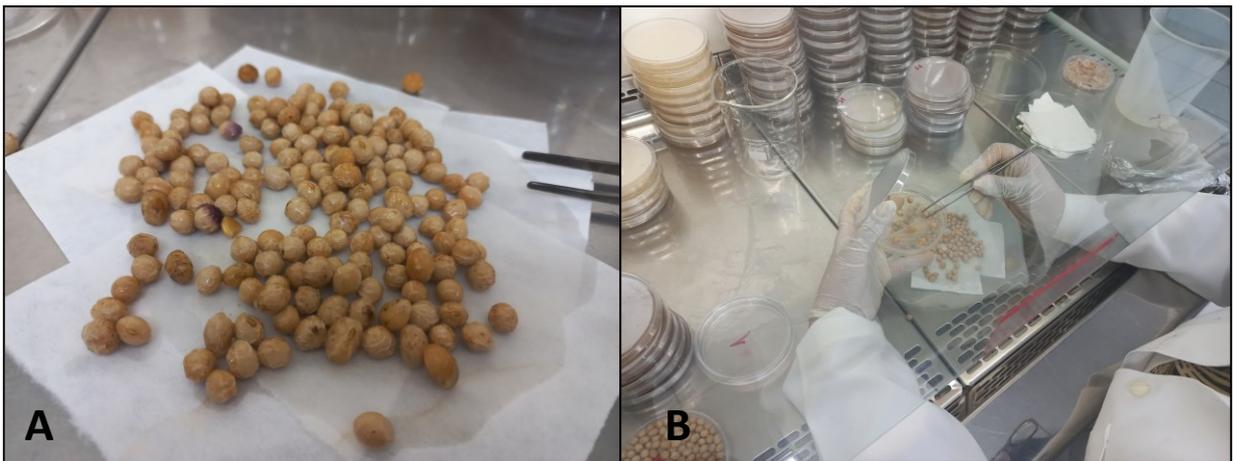
ambiente e avaliadas por 5 (tempo padrão) e no máximo 7 dias para as placas que não apresentaram contaminação aos 5 dias.

6 RESULTADOS

Foram obtidas após execução do trabalho, 11 amostras de soja, contemplando sete marcas comerciais, cujos nomes não foram citados devido à questão ética, uma vez que não foi solicitada autorização das marcas para divulgação de seus nomes. Destas 11 amostras analisadas, três (27,3%) foram de soja em grão (S1, S2 e S3, contemplando 2 marcas) e oito (72,7%) amostras foram do tipo proteína de soja texturizada, sendo 4 escuras e 4 brancas, perfazendo análise de 5 marcas (Tabela 1).

Algumas amostras demonstraram durante o seu processamento, possível contaminação com visível alteração na coloração dos grãos. (Figura 1)

Figura 1. Amostra S1 de grão de soja com aparente contaminação evidenciadas durante o processamento (desinfestação) (A) e plaqueamento no meio de cultura (B).



Fonte: O autor, 2022.

As amostras de soja variaram em percentual médio de contaminação por fungos totais no meio de cultura DG-18 entre 30% a 94%. Em relação aos fungos aflatoxigênicos (produtores de aflatoxina) a taxa média de contaminação variou entre 2% a 54%. (Figura 2 e Tabela 1).

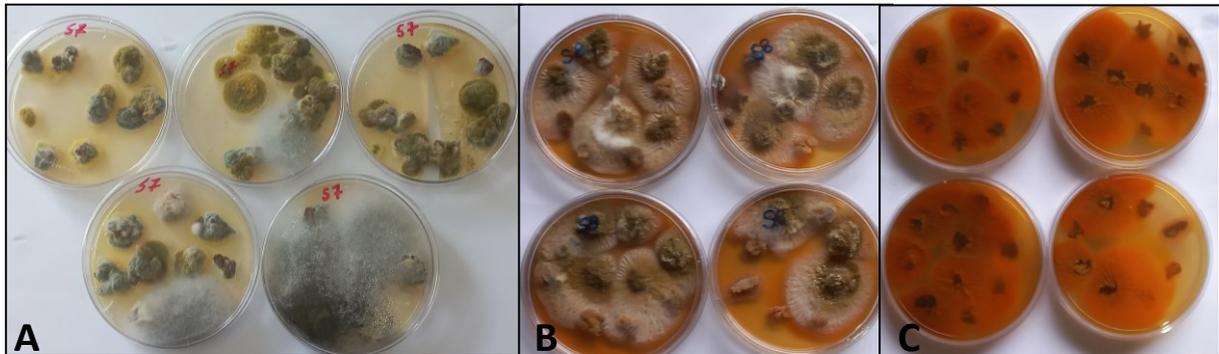
As amostras consideradas mais contaminadas por fungos totais foram S7 (94%) e S8 (92%), ambas da mesma marca comercial e do mesmo tipo: proteína de soja texturizada escura (S7) e proteína de soja texturizada clara (S8) (Tabela 1). As amostras menos contaminadas por fungos foram S1, S2 e S6, todas de marcas distintas (Tabela 1).

Tabela 1. Taxa média de contaminação por fungos totais (meio de cultura DG-18), e fungos aflatoxigênicos (meio de cultura AFPA) em diferentes tipos e amostras comerciais de soja em Pernambuco.

Amostras	Tipo de amostra	Taxa média de contaminação por Fungos Totais em % (meio DG-18)	Taxa média de contaminação por Fungos Aflatoxigênicos em % (meio AFPA)
*C	Controle positivo	72	6
S1	Soja em grão a granel	30	10
S2	Soja em grão marca 1	36	10
S3	Soja em grão marca 2	56	32
S4	Proteína Soja Texturizada escura Marca 3	56	12
S5	Proteína de Soja texturizada clara Marca 3	72	48
S6	Proteína de Soja texturizada escura Marca 4	36	2
S7	Proteína de Soja texturizada escura Marca 5	94	52
S8	Proteína de Soja texturizada clara Marca 5	92	54
S9	Proteína de Soja texturizada clara Marca 6	40	2
S10	Proteína de Soja texturizada grossa clara Marca 7	74	16
S11	Proteína de Soja texturizada escura a granel	54	20

Legenda: * Amostra controle positiva do experimento incubado em meio de cultura AFPA usando grão de amendoim reconhecidamente contaminado com fungo aflatoxigênico. Fonte: O autor, 2022.

Figura 2. (A). Cinco placas de Petri (repetições) evidenciando a contaminação da amostra S7 no meio DG-18. Figura (B) (Frente) e (C) (reverso) da amostra S8 evidenciando a contaminação pelo fungo *Aspergillus* Seção *Flavi* produtor de aflatoxinas (cor laranja do reverso da colônia).



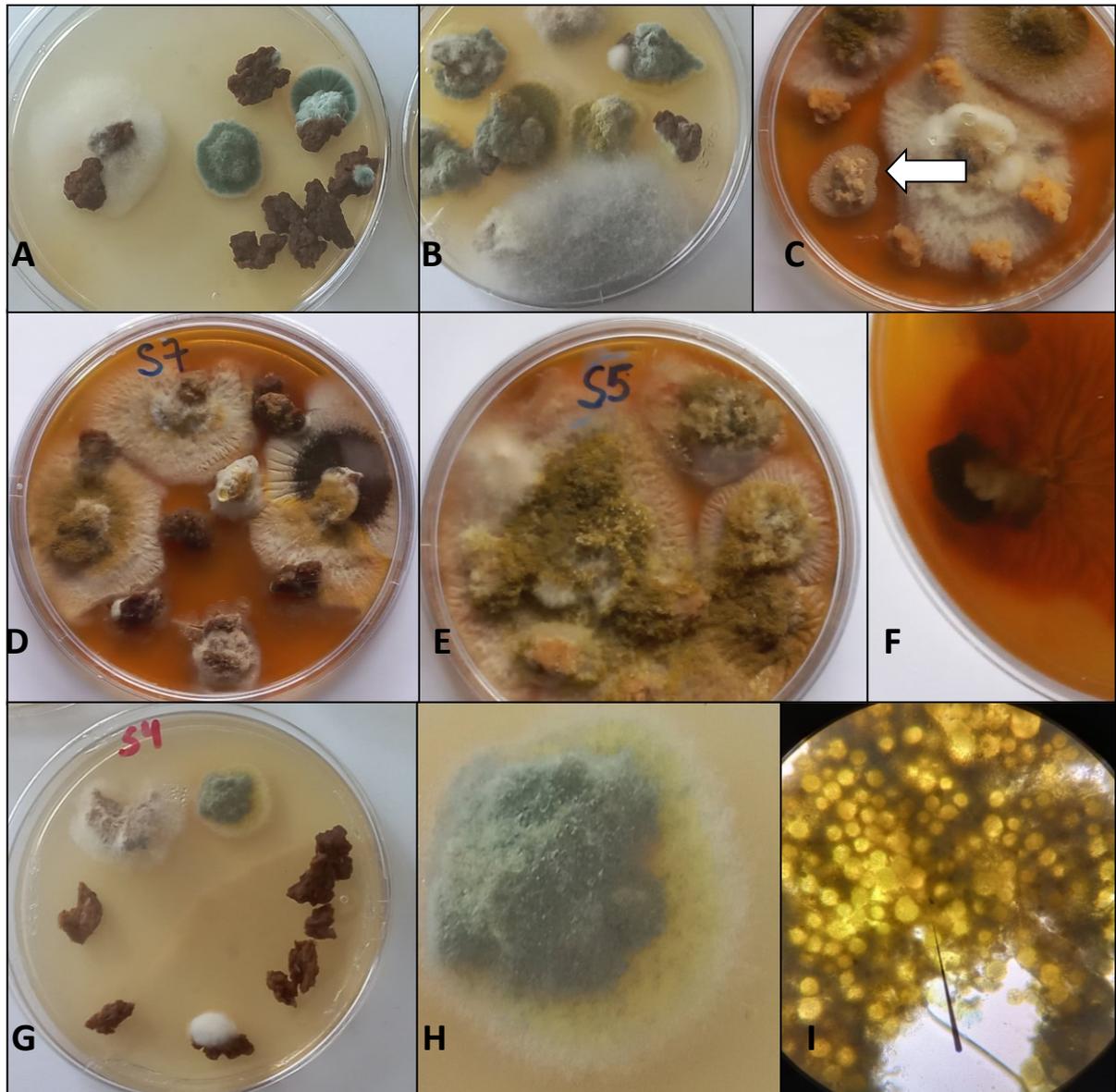
Quanto à frequência dos gêneros fúngicos encontrados nas amostras analisadas, o gênero *Aspergillus* foi o único encontrado em todas (100%) as amostras, independente do tipo e marca, variando apenas a frequência de contaminação em cada amostra. (Tabela 2). Os fungos filamentosos foram maioria nas amostras aparecendo em 100% das amostras, enquanto os fungos leveduriformes ocorreram em cinco (45,4%) das amostras e todas de proteína de soja texturizada. Nenhuma levedura foi observada contaminando amostras de soja em grão.

Tabela 2 Frequência de ocorrência dos principais gêneros de fungos contaminantes das amostras de soja analisadas.

Gêneros Fúngicos	Amostras de Soja	Frequência de ocorrência
<i>Aspergillus</i> Seção <i>Flavi</i>	Todas as 11 amostras	100%
<i>Aspergillus</i> Seção <i>Nigri</i>	S5, S7, S9 e S11	36,4%
<i>Fusarium</i> sp.	S2, S5, S6, S7, S10	45,4%
<i>Rhizopus</i> sp.	S1, S5, S7, S8, S10	45,4%
<i>Eurotium</i> SP	S2, S3, S5, S9, S11	45,4%
<i>Alternaria</i> sp.	S5, S6	18,1%

Fonte: O autor, 2022.

Figura 3. Principais gêneros de Fungos contaminantes das amostras de soja. (A). *Fusarium* spp. (micélio branco) e *Penicillium* sp. (micélio verde). (B) *Rhizopus* sp. (C). Leveduras (seta). (D) *Aspergillus* seção Nigri e seção Flavi. (E) *Alternaria* sp. (frente da colônia). (F). *Alternaria* sp. (reverso da colônia). (G). *Eurotium* sp. (H). Visão macro da colônia de *Eurotium* sp. (I). Cleistotécios de *Eurotium* sp. visualizados em microscopia ótica (objetiva de 10x).



Fonte: O autor, 2022.

7 DISCUSSÃO

Foi possível observar que as amostras de soja em grão apresentaram menor taxa de contaminação por fungos em relação as amostras de soja tipo texturizada. Isso se deve, em parte, à possível contaminação fúngica durante o processamento para transformar a semente de soja em proteína de soja. Além disso, no processamento das amostras analisadas no trabalho, foi realizada apenas desinfestação da superfície dos grãos de soja, uma vez que a proteína iria possivelmente se desintegrar durante o processamento devido as lavagens em solução de hipoclorito de sódio e posterior lavagem em água destilada. Portanto, esta desinfestação pode ser um fator que contribui para a diferença na taxa de contaminação entre grão e proteína texturizada.

Kim *et al.* (2013) estudaram a micoflora de grãos de soja usadas por 10 fábricas de meju, tradicional alimento fermentado coreano. É conhecido que diversos fungos estão presentes no meju tradicional coreano e são conhecidos por desempenhar um papel importante na fermentação produtos de soja. Eles testaram amostras de soja tratadas e não tratadas no hipoclorito de sódio. E encontraram diferenças de prevalência de gêneros fúngicos nas sementes de soja. Dentre os 41 gêneros identificados, as amostras não tratadas apresentaram as seguintes taxas de ocorrência: *Cladosporium* (55%), *Eurotium* (51%), *Fusarium* (33%), *Penicillium* (22%) e *Aspergillus* (20%), incluindo a Secção Flavi (7%) reconhecidamente produtor de aflatoxina. Entre as amostras desinfestadas com hipoclorito de sódio houve inversão, o gênero *Eurotium* prevaleceu mais com 31% de taxa de ocorrência, enquanto *Cladosporium* apareceu em 5%. Os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* não apareceram nas amostras tratadas. Esses resultados não corroboram com os encontrados no presente trabalho, considerando que apesar da taxa de contaminação ter sido menor em amostras de grãos de soja — que neste caso foram tratadas com hipoclorito —, o gênero *Aspergillus* foi prevalente.

Escamilla *et al.* (2019) fizeram desinfestação de sementes de soja com hipoclorito de cálcio a 2% e ácido acético a 5% por 10 minutos e encontraram redução significativa na contaminação fúngica de sementes.

Souza *et al.* (2011) analisaram a contaminação de fungos em sementes de soja transgênica e foram identificados cinco gêneros de fungos: *Aspergillus* sp.

8,53% (*Aspergillus flavus* e *Aspergillus niger*), *Rizopus* sp. 8,53%, *Colletotrichum truncatum* 23,64%, *Fusarium semitectum* 25,58%, *Penicillium* sp. 33,72%. Apesar das taxas de ocorrências serem diferentes, os gêneros de fungos presentes em soja transgênica corroboram com os encontrados no presente artigo.

Egbuta *et al.* (2016) avaliaram a contaminação de amostras de marcas comerciais de sementes de soja e soja processada em pó por fungos e micotoxinas, na Nigéria. Os autores encontraram que nas sementes de soja e soja em pó houve maior incidência de espécies de fungos como *Alternaria* (52,4%) e *Aspergillus flavus* (42,9%). As micotoxinas detectadas nessas amostras incluíram aflatoxinas, ocratoxina A e fumonisina B. O estudo mostrou que houve co-ocorrência de aflatoxinas e fumonisina B1 em ambas as amostras e mesmo com valores dentro do LMT (limite máximo de tolerância), não devem ser ignorados como resultado para a saúde humana e os riscos associados à exposição crônica e constante a esses compostos. Mesmo que o nosso trabalho não tenha feito a determinação quantitativa de aflatoxina (produzidas por 100% das amostras de soja) e nem mesmo a pesquisa de co-ocorrência de aflatoxina com fumonisina, uma vez que 45,4% das amostras de soja estavam contaminadas com *Fusarium*, ainda sim o nosso estudo sinaliza um alerta para essa possibilidade.

8 CONCLUSÕES

Não existem artigos no Brasil sobre a análise de contaminantes fúngicos em proteína de soja texturizada, bem como no exterior. Em geral, os artigos analisam os produtos alimentícios finais produzidos com a soja processada, na forma de óleo ou pó. Além de ser muito usada na indústria alimentícia humana, a soja constitui importante matéria-prima na alimentação animal e também como componente para meios de cultura para fungos. Esse trabalho evidenciou que as amostras de proteínas texturizada de soja, bem como a semente soja, de 7 marcas comercializadas em Recife, apresentaram algum nível de contaminação por fungos totais e por fungos produtores de aflatoxina, representando assim risco para a saúde humana.

REFERÊNCIAS

BARROS, G.; Oviedo, M.; Ramirez, M.; Chulze, S. Safety aspect in soybean food and feed chains: Fungal and Mycotoxins. Contamination. In: NG, Tzi-Bun (ed.). **Soybean Biochemistry, Chemistry and Physiology**. Croácia: IntechOpen, 2011.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Safra 2021/2022**. Brasília: CONAB, 2022. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 20 maio 2022.

EGBUTA, M. A. et al. Comparative Analysis of Mycotoxigenic Fungi and Mycotoxins Contaminating Soya Bean Seeds and Processed Soya Bean from Nigerian Markets. **Advances in Microbiology**, Mmabatho, v. 06, n. 14, p. 1130–1139, 2016.

ESCAMILLA, D.; ROSSO, M.L.; ZHANG, B. Identification of fungi associated with soybeans and effective seed disinfection treatments. **Food Science & Nutrition**, Virginia, v. 7, n.10, p. 3194-3205, 22 ago 2019.

GOULART, A.C.P. **Fungos em semente de soja: detecção, importância e controle**. 2.ed. Brasília: Embrapa, 2018.

IAMANAKA, B. T.; OLIVEIRA, I. S.; TANIWAKI, M. H. MICOTOXINAS EM ALIMENTOS. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, v.7, p. 138–161, 2013.

KIM, D.-H. et al. Mycoflora of Soybeans Used for Meju Fermentation. **Mycobiology**, Seoul, v. 41, n. 2, p. 100–107, jun. 2013.

LIMA, A. L. S.; Lobato, B.; Leite, D. Q. Elaboração de hambúrguer de castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*). **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.6, n.4, p.19189-19199, apr. 2020.

OLIVEIRA, A., Marcelo. As micotoxinas e a segurança alimentar na soja armazenada. **Brazilian Journal of Food Technology**. Matão, III SSA, novembro, 2010. DOI: 10.4260/BJFT20101304114.

REZENDE, A. N. V.; Almedia, J. C. DE; Gherardi, S. R. M. Linguiça de tilápia elaborado com proteína texturizada de soja. **Revista Científica Agropampa**, Bagé v. 3, n. 3, p. 80-89, 2020.

SANTANA OLIVEIRA, I. et al. Biosensors for early detection of fungi spoilage and toxigenic and mycotoxins in food. **Current Opinion in Food Science**, Oxford, v. 29, p. 64–79, 1 out. 2019.

SILVA, B. **Soja: compostos funcionais e contaminantes fúngicos**. 2016. 101 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande - RS, 2016.

SOUSA, T. P.; Nascimento, I. O; Maia, C.B; Morais, J; Bezerra., G. A; Bezerra, J. W. T. Incidência de fungos associados a sementes de soja transgênica variedade BRS Valiosa RR. **Revista Agroecossistemas**, Maranhão, v. 3, n. 1, p. 52-56, 2011.