
RISCO DA PRODUÇÃO DE AFLATOXINA EM SOJA

TÂNIA MARA MEGUMI SHIBATA¹
MARIA DE LOURDES RIBEIRO DE SOUZA DA CUNHA²
ELISA YOKO HIROOKA¹

SHIBATA, Tânia Mara M.; SOUZA-CUNHA, Maria de Lourdes Ribeiro; HIROOKA, Elisa Yoko. Risco da Produção de aflatoxina em soja. *Semina: Ci. Agr., Londrina*, v.16, n.1, p. 168-177, mar. 1995.

RESUMO: Soja, classificada como substrato inadequado para produção de aflatoxina poderá ter a resistência natural alterada, em vista de constantes modificações oriundas da busca de novas variedades, visando a um maior valor nutritivo, produtividade, resistência e adaptações a diferentes regiões brasileiras. A revisão analisa os riscos potenciais emergentes de modificações, somados à elevada toxigenicidade do grupo *Aspergillus flavus* de origem tropical.

PALAVRAS-CHAVE: Soja; aflatoxina; *Aspergillus flavus*.

1 - INTRODUÇÃO

Os produtos agrícolas destinados ao consumo humano e animal estão constantemente sujeitos à contaminação fúngica (HESSELTINE, 1974; BULLERMAN et al., 1984).

Controles são exigidos durante o cultivo, colheita, transporte e armazenamento, principalmente no tocante à umidade do produto, a fim de evitar a produção de micotoxinas (ARAÚJO et al., 1983).

Entre os inúmeros fungos, os gêneros comumente envolvidos na produção de micotoxinas em grãos ole-

aginosos e cereais estão *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Claviceps* por serem substratos excelentes para o seu desenvolvimento (O,DELL ; SAVAGE, 1960; STOLOFF,1977; BENNET & LEE, 1979; HENSARLING et al., 1983) .

Os alimentos de origem animal, incluindo o leite, carne, ovo e queijo são completos por natureza, porém seu elevado custo os torna fora do alcance da população carente. Esta repressão qualitativa e quantitativa na aquisição indica claramente como solução imediata e viável, o estímulo ao uso de produtos acessíveis, com qualidade nutritiva e de ampla disponibili-

1- Depto. de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos / CCA - Universidade Estadual de Londrina, Cx. Postal 6001, Londrina, PR, Brasil, CEP 86051-970

2- Depto. de Microbiologia e Imunologia, UNESP - Campus de Botucatu, SP, CEP 18618-000.

Semina Ci. Agr., v. 16, n. 1, p. 158-168

dade no mercado (CARRÃO-PANIZZI, 1988; SFREDO & CARRÃO-PANIZZI, 1990).

Com esta finalidade, as proteínas vegetais têm emergido como importantes complementos nutricionais, em vista do baixo preço e alto valor nutritivo, destacando-se os derivados de soja (COSTA et al., 1974; SILVA, 1982; RESENDE, 1987).

Soja (*Glycine max* L Merr) é uma das melhores fontes protéica complementares, rica em óleo comestível e seu resíduo aproveitável para fortalecer a dieta e enriquecer a qualidade dos alimentos destinados ao consumo humano e animal (NAGARAJAN et al., 1973; CARRÃO-PANIZZI, 1987, 1988).

Apesar da imunidade da soja frente à contaminação por micotoxinas (GUPTA & VENKITASUBRAMANIAN, 1975), recentes relatos indicam a possibilidade da produção de aflatoxina nesta oleaginosa (BEAN et al., 1972; BONERA et al., 1982; SHIBATA, 1992).

2 - SOJA NO BRASIL

Nos primeiros relatos, consta que a soja originou-se na Ásia há mais de 3000 A.C., precisamente na China, embora somente no final do século passado tenha sido introduzida na América (BONATO & BONATO, 1987).

No Brasil, esta oleaginosa ingressou na Bahia em 1882, porém não obteve sucesso, devido à elevada temperatura e períodos chuvosos da Região Norte, dificultando a produção de sementes dentro dos padrões desejáveis. A Região Sul oferece temperatura amena, períodos secos entre a maturação e colheita e fotoperiodicidade favorável para a produção de sementes de alta qualidade (ARAÚJO et al., 1983; COSTA et al., 1987; VIEIRA, 1986).

Atualmente o Brasil produz 22 milhões de toneladas de soja, sendo 4 milhões de toneladas exportadas (GLOBO RURAL, 1990) e novas variedades testadas e lançadas no mercado.

O desenvolvimento de cultivares adaptadas às condições da Região Central do Brasil permitiu a expansão da fronteira agrícola brasileira para novas áreas no cerrado. As recomendações são feitas por Estado, incluindo variações que atendam condições específicas de cada Região (RECOMENDAÇÕES TÉCNICAS DA XII REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 1990). Por outro lado, esta versatilidade em produção pode resultar em alteração nas características nutricionais do grão, tornando-o vulnerável a ataque fúngico e conseqüentemente a produção de aflatoxinas.

3 - VALOR NUTRICIONAL DA SOJA

O valor biológico da soja, baseado no coeficiente de eficiência protéica (CEP) corresponde a 80% do

valor da proteína do leite, já que o CEP da caseína é de 2,50 e da soja 2,00 (CARRÃO-PANIZZI, 1987; 1988; SFREDO & CARRÃO-PANIZZI, 1990).

A soja apresenta bom balanceamento de aminoácidos essenciais, porém com baixo teor de metionina e cistina (SHIH, 1970; KAKADE et al., 1972; SNYDER & KWON, 1987; CARRÃO-PANIZZI, 1988; SFREDO & CARRÃO-PANIZZI, 1990). Contudo, a dieta com uma combinação de soja e cereal complementa os aminoácidos sulfurados (WOLF, 1972; LAM-LANCHEZ, 1978; CARRÃO-PANIZZI, 1987; 1988).

Comparando a composição química da soja, evidencia-se sua superioridade em relação aos outros vegetais e equivalência aos produtos animais, com quantidade razoável de minerais, principalmente o ferro em concentração superior à recomendação diária (CARRÃO-PANIZZI, 1988; SFREDO & CARRÃO-PANIZZI, 1990). Porém, não é uma boa fonte de cálcio e zinco, apresentando cerca de um terço e um quarto, respectivamente, da recomendação diária (CARRÃO-PANIZZI, 1987; SFREDO & CARRÃO-PANIZZI, 1990). Provavelmente este fator esteja relacionado com a restrição na produção de aflatoxina em soja, já que o zinco é um cofator biossintético desta toxina.

Por apresentar baixo teor de sódio (260 mg/100g) e elevado teor de potássio (760 mg/100g), recomenda-se para dietas de tratamento de pressão arterial (CARRÃO-PANIZZI, 1987; 1988; SFREDO & CARRÃO-PANIZZI, 1990).

A soja é uma boa fonte de vitaminas do complexo B exceto B12, com quantidades significativas de vitaminas E e K. Os grãos maduros apresentam baixos teores de beta-carotenos e ácido ascórbico, embora os grãos verdes e os brotos apresentem maiores teores destas vitaminas (SNYDER & KWON, 1987).

4 - FATORES ANTINUTRICIONAIS

A qualidade nutricional da soja é prejudicada pela presença de fatores antinutricionais (KAKADE et al., 1972; LIENER, 1981; SNYDER & KWON, 1987). Em contrapartida, os mesmos componentes trazem benefícios para o grão, impedindo ataque e desenvolvimento de predadores, inclusive fúngicos.

O mais estudado é o inibidor de tripsina, que forma um complexo inativo com a enzima, resultando em hipertrofia pancreática, e conseqüente inibição do crescimento (ARKROLL, 1976; LIENER, 1981; SNYDER & KWON, 1987; CARRÃO-PANIZZI, 1987). O mecanismo envolvido relaciona-se à perda de controle sobre a secreção pancreática, resultando em eliminação contínua de tripsina e quimotripsina, ricas em aminoácidos sulfurados, levando à deficiência nutricional (ARKROLL, 1976; LIENER, 1981; SNYDER & KWON, 1987; CARRÃO-PANIZZI, 1987). Entretanto,

to, esses inibidores podem ser inativados pelo calor e umidade, já que 30 minutos a 100 °C destroem 90% da atividade (SNYDER e KWON, 1987; CARRÃO-PANIZZI, 1987; JAIN, 1988).

Outros fatores termolábeis presentes na soja são as antivitaminas e hemaglutininas (LIENER, 1981). As antivitaminas prejudicam a ação de vitaminas D, E e B12, porém apresentam significado nutricional somente em alimentos crus (LIENER, 1981; CARRÃO-PANIZZI, 1987).

A soja é constituída de 30% de carboidratos, sendo 5% de sacarose, 1% de rafinose e 4% de estaquiose (WOLF e COWAN, 1975; SNYDER & KWON, 1987). A rafinose e estaquiose causam a flatulência (HYMOWITZ et al., 1972; LIENER, 1981; SNYDER & KWON, 1987; CARRÃO-PANIZZI, 1987), limitando o seu uso principalmente por serem termoestáveis (LIENER, 1981; CARRÃO-PANIZZI, 1987).

Na soja, salienta-se a presença do ácido fítico, um fator antinutricional formador de complexos insolúveis com cálcio, zinco, magnésio e ferro (LIENER, 1981; SNYDER e KWON, 1987), comprometendo o crescimento através de hipoglicemia, injúria pancreática e hepática (ERDMAN JUNIOR, 1979; SNYDER & KWON, 1987).

O ácido fítico é um inositol com seis grupos fosfatos esterificados a seis hidroxilas e o termo descreve o ácido livre, encontrado em sementes, principalmente em grãos oleaginosos (ERDMAN JUNIOR, 1979; SNYDER & KWON, 1987).

A função do ácido fítico, encontrado em forma de inclusões nos corpos protéicos da semente de soja, é desconhecida (SNYDER & KWON, 1987). Por outro lado, fitatos são excelentes queladores de minerais (O,DELL & SAVAGE, 1960; ERDMAN JUNIOR, 1979; BERNAL-LUGO et al., 1992), sendo o zinco o mineral mais afetado, reduzindo-se a disponibilidade para 50 a 60%.

5 - SUSCEPTIBILIDADE A CONTAMINAÇÃO

As características agronômicas da soja que dificultam a infecção das sementes por patógenos, são: altura da planta, inserção das vagens e ciclo de maturação (PINTO et al., 1991). A impermeabilidade concedida pelo tegumento maduro resguarda o grão da livre penetração de água e agentes fitopatogênicos (COSTA et al., 1987).

Temperaturas elevadas aumentam a atividade fisiológica e absorção de água pelas sementes, seguida de redução nos índices de vigor e germinação, predispondo ao ataque de patógenos (COSTA et al., 1987).

A soja é susceptível a danos, principalmente quando colhida com umidade inferior a 13 - 14% (RECOMENDAÇÕES TÉCNICAS DA XII REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 1990). A injúria mecânica acarreta vários efeitos imediatos e latentes, como abrasões que impe-

dem a germinação e submetem a frequentes contaminações, expondo o cotilidone durante a armazenagem (COSTA et al., 1987).

Somam-se a isso, os danos causados por insetos e roedores que propiciam desenvolvimento fúngico (SANDERS et al., 1968), responsáveis pela redução de produtividade, valor comercial e qualidade da semente (COSTA et al., 1987).

Já é sabido que os fatores cruciais para o crescimento fúngico e produção de micotoxinas são umidade e temperatura (SNOWS, 1945; AYERST, 1969; BULLERMAN, et al., 1984; França NETO & HENNING, 1986). Estes parâmetros estão intimamente relacionados, embora a umidade do substrato seja decisiva no crescimento e produção de micotoxinas (ROSS et al., 1979).

A atividade do fungo é maior quando a semente apresenta umidade entre 10 a 30% (SANDERS et al., 1968). Conservando-se a umidade ambiente abaixo de 70% (PIXTON, 1976) e a dos grãos em torno de 10%, ocorre desenvolvimento fúngico, porém sem produção de micotoxinas (BULLERMAN et al., 1984). Desta maneira, controlando-se a temperatura, condição atmosférica de armazenagem e mantendo a atividade da água abaixo do nível crítico, aumenta-se o tempo de estocagem (SHARMA et al., 1987). Aliado a estes fatores, o uso de alta concentração de gases deprimem fungos micotoxigênicos, visto que são altamente aeróbios (BULLERMAN et al., 1984).

6 - SOJA COMO SUBSTRATO PARA PRODUÇÃO DE AFLATOXINAS

Em consideração ao potencial toxigênico e, por outro, sendo o amendoim brasileiro o alimento que mais repercutiu internacionalmente na década de 60, aflatoxinas produzidas por *Aspergillus flavus* têm despertado maior interesse dos nossos pesquisadores (FONSECA, 1968; PURCHIO, 1970; GONÇALVES & FONSECA, 1991). O clima tropical favorece a predominância de *Aspergillus* sp e *Penicillium* sp, cuja presença de toxinas provavelmente constitua problema crônico no Brasil (PURCHIO, 1970; SABINO, 1980; 1987; FIGUEIRA et al., 1991).

A produção de metabólitos secundários não depende somente da linhagem, mas também do meio ambiente e fatores nutricionais, que regulam e limitam o crescimento (L,VOVA et al., 1989; LUCHESE & HARRIGAN, 1990; 1993). Em culturas nutricionalmente ricas, o nível de metabólitos secundários eleva-se após completo desenvolvimento micelial (DEMAIN, 1986).

Entre os mecanismos de controle do metabolismo primário, ressalta-se a indução do substrato, repressão e inibição do "feed back", repressão e inibição do catabolismo e regulação de ATP (CALTRIDER & NISS, 1966; ATKINSON, 1971).

Biorregulação da síntese de aflatoxina requer uma complexa integração de loci regulatório sobre o

catabolismo de acetil CoA, bem como seu desvio para formação de policetidas (BENNETT & CHRISTENSEN, 1983).

Aflatoxinas são metabólitos secundários produzidos no final da fase estacionária (SHERETZ et al., 1976), a partir de número restrito de precursores simples (DEMAIN, 1981; BENNETT & CHRISTENSEN 1983), frequentemente presentes em substratos vegetais (STOLOFF, 1977). Os componentes que desencadeiam a sua via biossintética derivam do metabolismo primário e edificam rotas metabólicas semelhantes (BENNET & CHRISTENSEN, 1983).

As aflatoxinas são compostos heterocíclicos tóxicos e carcinogênicos pertencentes ao grupo das furocumarinas complexas, produzidas pelo grupo *Aspergillus flavus* (PURCHIO, 1970; BENNET & LEE, 1979; MOREAU, 1979). Outras cumarinas oriundas do reino vegetal apresentam ampla propriedade farmacológica, caracterizada pelo efeito anticoagulante, estrogênico, antibacteriano, vasodilatador, moluscida, antihelmíntico, sedativo, analgésico e hipotérmico (PURCHIO, 1970).

O grupo *Aspergillus flavus* é constituído de várias espécies, sendo toxigênicas *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. versicolor* e *A. clavato-flavus* (RAPER & FENNELL, 1977; MOREAU, 1979; LANDERCKER, 1982), com ênfase às duas primeiras.

A produção das quatro principais aflatoxinas denominadas AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2 varia conforme a constituição genética das linhagens e com os parâmetros ambientais associado com o crescimento (LUCHESE & HARRIGAN, 1993), assim como a disponibilidade de determinados elementos traços (MAGGON et al., 1977; RAPER & FENNELL, 1977; MOREAU, 1979).

A. flavus produz aflatoxinas B1 e B2 e *A. parasiticus* é altamente toxigênico e sintetiza AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2, podendo algumas linhagens contribuir também com AFM1 e AFM2 (MOREAU, 1979; SCHMIDT & ESSER, 1985).

A toxicidade de *A. parasiticus* é praticamente de 100%, enquanto que em *A. flavus* depende de interação genotípica com o ambiente (BENNET & LEE, 1979; MOREAU, 1979; BETINA, 1984), embora linhagens tropicais apresentem maior toxigenicidade em relação às isoladas de regiões temperadas (MOREAU, 1979).

Entre as aflatoxinas, considera-se a AFB1 como hepatocarcinógeno mais potente podendo em doses elevadas causar toxicose aguda (SCHMIDT & ESSER, 1985). As AFB2, AFG1 e AFG2, derivam da AFB1 e caracterizam-se pela menor toxicidade, porém acarretam sinergismo tóxico (BENNETT & CHRISTENSEN, 1983). O fígado é o principal órgão afetado na intoxicação aguda, assim como alvo de carcinogênese resultante de ingestão prolongada de doses subclínicas, em vista da presença de elevadas

concentrações de enzimas microsossomais digestivos (BENNET & CHRISTENSEN, 1983).

As linhagens toxigênicas produzem AFB1 em maior quantidade, enquanto que AFB2, AFG1 e AFG2, sintetizadas em menor extensão, são ocasionalmente metabolizadas a aflatoxinas hidroxiladas, a AFB2a e AFG2a (BENNET & CHRISTENSEN, 1983).

Sendo a aflatoxina carboidrato policíclico, caracteriza-se pela degradação lenta. Além disso, a monoaminoxidase do sistema microsossomal hepático, responsável pela detoxificação, conduz à ativação metabólica, resultando em mutagenicidade, carcinogenicidade e efeitos teratogênicos (SCHMIDT & ESSER, 1985).

Aspergillus sp pertence à categoria de fungos de armazenamento, capaz de crescer em cereais contendo umidade de 13 a 18% (MOREAU, 1979; CORREA et al., 1982). Todavia, o alto conteúdo de lipídios torna as oleaginosas susceptíveis ao desenvolvimento, mesmo abaixo de 13% de umidade (BULLERMAN et al., 1984).

A umidade mínima requerida para o crescimento de *A. flavus* é de 85% (AUSTWICK & AYERST, 1963) e a produção máxima de aflatoxinas ocorre em 25°C (STUTZ & KRUMPERMAN, 1976). Em 83% de umidade, a produção de aflatoxina em amendoim por *A. flavus* ocorre a 25°C e por *A. parasiticus*, de 25°C a 30°C (DIENER & DAVIS, 1969).

Apesar de o crescimento de *A. flavus* em oleaginosas resultar em produção de aflatoxina, os dados relativos à soja são contraditórios. A soja é considerada como substrato inadequado para a biossíntese de aflatoxinas, devido à umidade desfavorável durante a maturação, tegumento impermeável, desenvolvimento da semente em vagens, presença de inibidores de tripsina, quimotripsina e ácido fítico (O,DELL & SAVAGE, 1960; GUPTA & VENKITASUBRAMANIAN, 1975; FAILLA et al., 1986; STOSSEL, 1986).

A elevada concentração de ácido fítico na soja reduz a disponibilidade de zinco, elemento essencial para a produção de aflatoxina (GUPTA & VENKITASUBRAMANIAN, 1975). Consequentemente a ausência de zinco reduziu a produção de aflatoxina em 88% (MATELS & ADYE, 1965). Todavia DAVIS & DIENER, (1970), SHERETZ et al., (1976), EHRlich & CIEGLER, (1985), PINTO et al., (1991) e SHIBATA, (1992) relataram produção substancial de aflatoxinas em soja.

Análise cromatográfica de extrato de linhagens toxigênicas de *A. flavus* cultivadas em soja, feijão, trigo, sementes de algodão e ração para aves, desenvolveram manchas fluorescentes, típicas de aflatoxina (RICHMOND et al., 1962 apud PURCHIO 1970).

Glycine max variedade Bragg inoculada com *A. parasiticus* incubado por 21 dias apresentou produção de 48 a 138 µg/ml de AFB1 (DAVIS & DIENER, 1970)

e 2609,22 ug/g AFB1 e 343,91ug/g AFB2 a 75% de umidade relativa (SHIBATA, 1992).

O cozimento da soja propicia maior produção de aflatoxina, já que testes com diferentes variedades de soja e linhagens fúngicas indicaram destruição térmica de fitato e consequente liberação de zinco (SHERETZ et al., 1976).

HENSARLING et al (1983) obtiveram crescimento de *A. flavus* em soja crua, com baixa produção de aflatoxina. A adição de 500mg de fitato de sódio em 10g de soja moída e crua, estimulou a produção de aflatoxina, mostrando que o fitato não inibiu a síntese.

A produção de aflatoxina em soja moída 2,4 e 3,7 ug/g de AFB1 e AFG1, respectivamente, aumentou para 2,6 e 4,6 ug/g, com a adição de 330mg de fitato de sódio, propondo-se possível degradação do fitato pela fitase fúngica (EHRlich & CIEGLER, 1985).

BONERA et al. (1982) relataram isolamento frequente de grupo *A. flavus* toxigênico de variedades de soja argentina, cujo risco foi analisado por PINTO et al. (1991). Os autores inocularam 3 linhagens isoladas de soja em 13 cultivares argentinas, obtendo grande produção de AFB1. A comprovação de produção substancial de aflatoxinas em soja, sob condições ótimas, indica que a baixa incidência talvez seja oriunda de características agrônômicas, citando-se o tegumento impermeável, sementes em vagem e baixo conteúdo de umidade durante o período de maturação.

Em suma a predisposição à produção se deve particularmente à variedade da soja e da linhagem fúngica (BULLERMAN et al, 1984). O fato é explicado pela alteração na resistência natural do substrato resultante de variações genéticas, somado ao potencial toxigênico do grupo *Aspergillus flavus* presente na região tropical (O,DELL & SAVAGE, 1960).

Os fatores acima mencionados, em combinação ou isoladamente com a composição nutricional do substrato, resultariam num relacionamento específico e uniforme de crescimento fúngico com a produção de aflatoxina (HENSARLING et al., 1983)

7 - MECANISMOS E FATORES BIOQUÍMICOS ENVOLVIDOS NA PRODUÇÃO DE AFLATOXINA

A biossíntese de aflatoxina é intensificada pela presença de determinados aminoácidos, ácidos graxos e íons (BULLERMAN et al., 1984). Os íons zinco, cádmio, magnésio e ferro ativam enzimas envolvidas no seu metabolismo (MARSH et al., 1975; MOREAU, 1979).

Os íons zinco, manganês e ferro desempenham atividade específica (PARISI & VALLEE, 1969; OBIDOA & NDUBUISI, 1981), salientando-se o zinco, componente essencial de aproximadamente uma centena de enzimas. Este íon desempenha papel de destaque na biossíntese de diversos metabólitos se-

cundários, incluindo a via de policetidas que tem como produto final as aflatoxinas (MATELS e ADYE, 1965; MARSH et al., 1975; WEINBERG, 1978; FAILLA & NIEHAUS, 1986; TIWARI et al., 1986 apud WLOSTOWSKI et al., 1989).

O zinco está presente em desidrogenases NAD⁺ e NADP⁺ dependentes, polimerases do DNA e do RNA, participando das reações envolvidas na replicação e transcrição da informação genética (LEHNINGER, 1985), além da atuação em enzimas da via glicolítica e ciclo de Krebs (GUPTA et al., 1976; 1977). O elemento é requerido na síntese de fumarato e, possivelmente, desempenha função no metabolismo de carboidratos, visto que o zinco afeta a eficiência de sua utilização (BERRY, 1975). Em meio de cultura, o zinco estimula a glicólise pela via EMP de *A. parasiticus*, resultando em acúmulo de piruvato e consequente desvio para o metabolismo secundário (LUCHESE & HARRIGAN, 1993).

A quantidade de zinco necessária para a biossíntese de versicolorina A, um precursor de aflatoxina, é diretamente proporcional ao conteúdo de zinco micelial na fase de crescimento vegetativo (FAILLA & NIEHAUS, 1986).

A ocorrência de duas fases na biossíntese de aflatoxinas por *A. parasiticus*, ambas estreitamente relacionadas com o zinco micelial, determinam as vias subsequentes do metabolismo (WLOSTOWSKI et al., 1989). A indução se desencadeia no final da fase exponencial e exige níveis elevados de metais (WLOSTOWSKI et al., 1989), atingindo 0,4 a 2,0 mg de Zn²⁺/l para a produção de aflatoxina (LEE et al., 1966). Todavia, a variabilidade pode ser estendida para 0,4 a 50 mg de Zn²⁺/Kg, conforme o substrato (OBIDOA & NDUBUISI, 1981). Em soja, a disponibilidade deste íon está em torno de 50 a 60% (SNYDER & KWON, 1987).

Aspergillus cultivado sob depleção de zinco libera pouca aflatoxina, sugerindo a provável função do mon em auxiliar a secreção, já que ocorre permanência de concentração significativa de toxina no micélio (LUCHESE & HARRIGAN, 1993).

Soma-se a isto a limitação da produção de aflatoxinas pela disponibilidade de fontes adequadas de carbono e nitrogênio nos alimentos (OBIDOA & NDUBUISI, 1981). A concentração ótima de zinco, necessária para produção máxima, baseia-se no número de enzima, zinco dependente e fontes específicas de carbono e nitrogênio (OBIDOA & NDUBUISI, 1981).

A glucose inibe a biossíntese da maioria dos metabólitos secundários, principalmente de antibióticos (MARTIN & DEMAÏN, 1980). Todavia, a iniciação da síntese de aflatoxinas requer a sua presença ou um subproduto de conversão metabólica (ABDOLLAHI & BUCHANAN, 1981). Além de glucose, outras fontes favorecem a produção, citando-se a manose, frutose

e gliceraldeído, que apresentam a mesma configuração nas posições de carbono 3 e 4 (MOREAU, 1979). Os compostos degradados pelas vias hexose monofosfato e glicolítica constituem substratos adequados para o desenvolvimento de *A. parasiticus* e consequente síntese de aflatoxina (DAVIS & DIENER, 1968).

A utilização de carboidrato de elevado estado energético desencadeia a biossíntese de aflatoxina por processo análogo, porém oposto à repressão catabólica (ABDOLLAHI & BUCHANAN, 1981).

O catabolismo de glucose reprime enzimas chaves da via das pentoses fosfato, "shunt" de manitol e ciclo de Krebs (BUCHANAN & LEWIS, 1984). Considerando que a glucose inativa a mitocôndria pela glucose sugere que a síntese de aflatoxina não é regulada por qualquer estado de energia da célula fúngica, mas pela energia de um compartimento subcelular específico (BUCHANAN et al., 1987). O acúmulo de aflatoxina coincide com a diminuição da concentração de glucose e AMPc (LUCHESE & HARRIGAN, 1993). Em contrapartida, a suplementação abundante de glucose no meio resulta em aumento significativo da capacidade respiratória, desenvolvendo-se o metabolismo anaeróbio (SHIH & MARTH, 1974b).

A fonte de nitrogênio, principalmente na forma orgânica, e sua concentração afetam significativamente a biossíntese de aflatoxina (LUCHESE & HARRIGAN 1993).

Nitrogênio amoniacal, ácido úrico, ácido glutâmico, glicina, tiamina e vitamina B, assim como os íons cádmio, magnésio, ferro, fosfatos e alguns elementos-traços desempenham função importante na regulação do metabolismo de aflatoxinas (WEINBERG, 1978; MOREAU, 1979; MARTIN & DEMAIN, 1980; WLOSTOWSKI et al., 1989). Comparado com aminoácidos, as fontes complexas de nitrogênio, fornecido sob forma de extrato de levedura e peptona conduzem a maior rendimento de aflatoxina (DAVIS et al., 1967).

A participação de nitrogênio no metabolismo secundário é controlada pela repressão de enzimas ligadas ao catabolismo de amônia ou degradação rápida de aminoácidos em amônia (DEMAIN, 1986).

Por outro lado, nitratos, riboflavina, piridoxina, alanina e ácido aspartico, além dos íons cobalto, cromo, cálcio e manganês dificultam a produção de aflatoxina (MOREAU, 1979).

Alguns componentes lipídicos de oleaginosas representados por triglicérides, ácidos graxos e estéreis, estimulam o crescimento fúngico sem afetar a síntese de aflatoxina (FANELLI & FABBRI, 1981). Entretanto, lipoperóxidos sintéticos, presentes em agrotóxicos ou constituintes naturais em grãos oleaginosos envelhecidos provocam significativo aumento na produção de

aflatoxina (FABBRI et al., 1983), enfatizando a possibilidade de sua ocorrência em soja armazenada.

Aflatoxina em substratos contaminados com *A. parasiticus* provavelmente seja devida ao efeito de lipoperóxidos, que também podem resultar em muitos outros produtos tóxicos (LUCHESE & HARRIGAN, 1993).

8 - PREVENÇÃO E CONTROLE

Todo o cuidado para impedir a produção de aflatoxina em grãos através de controle de umidade e temperatura, assim como preocupação com fatores que impedem a sua formação, se devem à estabilidade física, que dificulta a detoxificação uma vez presente em produtos alimentícios (SHOTWELL, 1977).

Soja, devido ao seu interesse econômico, constantemente é submetida a modificações genéticas, em busca de novas variedades com maior valor nutricional, produtividade e resistência, adaptadas às condições de cada região (BOLLER & SCHROEDER, 1974ab; HESSELTINE, 1974; BULLERMAN et al., 1984; COSTA et al., 1987;).

O lançamento de novas variedades implica alterações qualitativas e quantitativas de componentes dos grãos (COSTA et al., 1987). O resultado se traduz em variação na composição nutricional do substrato soja, direcionando os fungos a utilizar outras vias metabólicas com formação de diferentes produtos finais. Exemplifica-se o acetil coenzima A, cujo excesso intracelular desencadeia reações sequenciais, originando uma vastidão de micotoxinas e outros metabólitos correlatos, pertencentes à família de ácidos graxos, isoprenóides, policetidas e mevalonatos (LASKIN, 1982; BETINA, 1984). Modificações na composição, quantidade, assim como presença de um dos metabólitos finais no meio de cultivo afetam o fluxo da rota, formando-se maior ou menor quantidade de determinadas micotoxinas (SHANK, 1981).

Aliado a este fato, a baixa especificidade das enzimas envolvidas no metabolismo secundário conduz à diversidade molecular do produto final, dependendo de precursores incorporados ao substrato (BETINA, 1984; RAO et al., 1979).

Desconhece-se a susceptibilidade da soja a ataque de fungos e consequente produção de micotoxinas, resultante do lançamento de novas variedades economicamente viáveis por entidades brasileiras.

O questionamento sobre perigo de produtos de soja contaminados com aflatoxinas toma-se cada vez maior em consequência do estímulo para o consumo de proteínas alternativas de elevado valor nutricional, custo reduzido e acessível à população carente (SFREDO & CARRÃO-PANIZZI, 1990). Por outro lado, os avanços tecnológicos em produtos alimentícios exigem lançamento de cultivares com características

nutricionais melhoradas, em relação às utilizadas nas indústrias de óleos refinados.

Salienta-se que o Estado do Paraná é o segundo maior produtor de soja, cuja comercialização dos grãos depende da demanda do mercado internacional (CÂMARA et al., 1982). A soja é mantida sob armazenamento até a exportação e, se as condições de silagem forem inadequadas, não se pode descartar o desenvolvimento fúngico, oriundo da contaminação natural da matéria-prima.

Qualquer indício de contaminação de soja por aflatoxina compromete a exportação e prejudica a economia nacional.

Os países asiáticos e europeus controlam a importação, restringindo o limite de tolerância para 10µg de AFB1/kg, presente em grãos para consumo humano (KAMIMURA, 1992). Este limite é rigorosamente respeitado, já que os países orientais têm, na soja, base da alimentação protéico-calórica (SNYDER & KWON, 1987).

No contexto geral, conclui-se que, apesar do ácido fítico na soja reduzir a produção de aflatoxina, não se assegura a resistência total à contaminação, principalmente sob condições de armazenamento utilizadas nas regiões paranaenses (SHIBATA, 1992).

Por outro lado, a busca por variedades cada vez mais produtivas e de maior teor nutritivo vem lançan-

do anualmente, no mercado, cultivares com modificações genéticas, podendo aumentar a susceptibilidade da soja ao ataque fúngico. A necessidade é explicada, já que o estímulo ao consumo de alimentos com alto teor protéico e baixo custo visa aumentar a demanda de produtos contendo proteínas de soja (BARONE, 1989; PINTO, 1991; YOUSSEF, 1992) ampliando a possibilidade de frequentes intoxicações crônicas e sub-agudas.

Tendo em vista a estes fatores, o estudo da composição química é de suma importância na produção de micotoxinas em cultivares de soja oriundas de melhoramento genético. A identificação de componentes nutricionais, capazes de estimular ou inibir a biossíntese de determinados metabólitos, permite interpolar a suscetibilidade, direcionando as medidas a serem tomadas no controle de fungos micotoxigênicos.

Em suma, paralelamente ao melhoramento de qualidade nutricional e aumento de produtividade da soja, seria de extrema importância o acompanhamento da susceptibilidade das novas variedades ao ataque fúngico, oriunda de modificações genéticas das plantas assim como as condições de cultivo e manejo no campo, estocagem e transporte de soja, no sentido de controlar e garantir a qualidade dos produtos.

SHIBATA, Tânia Mara M.; SOUZA-CUNHA, Maria de Lourdes Ribeiro; HIROOKA, Elisa Yoko. Risk of aflatoxin production in soybean. *Semina: Ci. Agr., Londrina*, v.16, n.1, p. 168-177, Mar. 1995.

ABSTRACT: Soybean, considered as inadequate substrate for aflatoxin production, may have an alteration in its natural resistance as a result of the frequent changes it was submitted for the development of new varieties, aiming at better nutritional value, productivity, resistance and adaption to different Brazilian Regions. The potential risks which arose from the modifications, in addition to the high toxigenicity of tropical origin *Aspergillus flavus* group are reported.

KEY-WORDS: Soybean; Aflatoxin; *Aspergillus flavus*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOLLAHI, A.; BUCHANAN, R.L. Regulation of aflatoxin biosynthesis: characterization of glucose as an apparent inducer of aflatoxin production. *J. Food Sci.*, v.46, p.143-146, 1981.

ARAÚJO, J.A., DINIZ, T.D.A.S.; BASTOS, T.X. *Viabilidade de secadores solares para grãos no trópico úmido brasileiro*. (s.l.): EMBRAPA-CPATU, 1983.

ARKROLL, D.B. Inibidores nutricionais de soja. *Bol. Inst. Tecnol. Alim.*, Campinas, v.48, p.31-47, 1976.

ATKINSON, D.E. Adenine nucleotides as stoichiometric coupling agents in metabolism and as regulatory modifiers. The adenylate energy charge. In: VOGEL, H.J. (ed.) *Metabolic regulations*. 3.ed. New York: Academic, 1971. (Metabolic Pathways), vol. V, p.1-21)

AUSTWICK, P.K.C.; AYERST, G. Toxic products in groundnuts. groundnut microflora and toxicity. *Chem. Ind.*, v.2, p.55-61, 1963.

AYERST, G. The effects of moisture and temperature on growth and spore germination in some fungi. *J. Stores Prod. Res.*, v.5, p.127-141, 1969.

BARONE, R.M. *Valor biológico da proteína de um produto tipo iogurte, a base de extrato aquoso de soja e soro de leite*. Londrina, 1989. 73p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Londrina, 1989.

BEAN, G.A.; SCHILLINGER, J.A.; KLARMAN, W.L. Occurrence of aflatoxins and aflatoxin producing strain of *Aspergillus* spp in soybeans. *Applied Microbiology*, v.24, n.3, p. 437-439, 1972.

- BENNETT, J.W.; LEE, L.S. Mycotoxins - Their biosynthesis in fungi: Aflatoxins and other bisfuranoids. *J. Food Protection*, v.42, n.10, p.805-809, 1979.
- BERNAL-LUGO, I.; CASTILLO, A.; DIAZ DE LEON, F.; MORENO, E.; RAMIREZ, J. Does phytic acid influence cooking rate in common beans? *J. Food Biochemistry*, v.15, n.5, p.367-374, 1992.
- BERRY, D.R. The environmental control of the physiology of filamentous fungi. In SMITH, J.E (ed); BERRY, D.R. *The filamentous fungi*. London: Edward Arnold, 1975. v.1, p.16-32.
- BETINA, V. *Mycotoxins production, isolation, separation and purification*. Amsterdam: Elsevier, 1984. v.8. (Development in Food)
- BOLLER, R.A.; SCHROEDER, H.W. Influence of relative humidity on production of aflatoxins in rice by *Aspergillus parasiticus*. *Phytopathology*, v.64, p.17-21, 1974a.
- BOLLER, R.A.; SCHROEDER, H.W. Influence of temperature on production of aflatoxin in rice by *Aspergillus parasiticus*. *Phytopathology*, v.64, p.283-286, 1974b.
- BONATO, E.R.; BONATO, A.L.V. *A soja no Brasil. História e estatística*. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1987, 61p. (Documentos 21).
- BONERA, N.; PINTO, F.V.; VAAMONDE, G.; VARSAWSKY, E. Hongos toxigênicos en la flora fúngica de semillas de soja. *Anales Assoc. Quim. Arg.*, v.70, p.773-781, 1982.
- BUCHANAN, L.R.; LEWIS, D.F. Regulation of aflatoxin biosynthesis: effect of glucose on activities of various glycolytic enzymes. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.48, p.306-310, 1984.
- BUCHANAN, R.L.; JONES, S.B.; GERASIMOWICZ, S.V.; ZAIKA, L.L.; SIAHL, H.G.; OCKER, L.A. Regulation of aflatoxin biosynthesis: assessment of the role of cellular energy status as a regulator of induction of aflatoxin production. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.53, p.1224-1231, 1987.
- BULLERMAN, L.B.; SCHROEDER, L.L.; PARK, K.Y. Formation and control of mycotoxins in food. *J. Food Protection*, v.4, n.8, p.637-646, 1984.
- CALTRIDES, P.G.; NISS, H.F. Role of methionine in cephalosporin synthesis. *Appl. Microbiol.*, v.14, p.746-753, 1966.
- CÂMARA, G.M.S.; GODOY, O.P.; MARCOS FILHO, J.; DARCE, M.A.B.R. *Soja - Produção, pré processamento e transformação agroindustrial*. Hamburg: Ed.Hamburg, 1982 (Série extensão agro-industrial 7).
- CARRÃO-PANIZZI, M.C. Proteína para milhões. *Ciência Hoje*, São Paulo, v.6, n.33, p.25-31, 1987.
- CARRÃO-PANIZZI, M.C. *Valor nutritivo da soja e potencial de utilização na dieta brasileira*. Londrina: EMBRAPA, 1988. 13p.
- CORREA, A.R.; GODOY, H.; BERNADES, L.R.M. *Características climáticas de Londrina*. 2. ed. Londrina: IAPAR, 1982. 16p.
- COSTA, A.V.; SEDIYAMA, T.; SILVA, R.F.; SEDIYAMA, C.S.; FONTES, L.A.N.; GOMES, J.L.; ROLIM, R.B.; MONTEIRO, P.M.F.O. *Alguns fatores que afetam a qualidade fisiológica da semente de soja*. Goiânia: EMGOPA, 1987, 48p. Doc.2.
- COSTA, S.I.; MIYA, E.E.; FUJITA, J.T. Composição química e qualidades organolépticas e nutricionais das principais variedades de soja cultivadas no Estado de São Paulo. *Colet. Inst. Tecnol. Alim.*, Campinas, v.5, p.305-319, 1974.
- DAVIS, N.D.; DIENER, U.L.; AGNIHOTRI, V.P. Production of aflatoxins B1 and G1 in chemically defined medium. *Mycopat. Mycol. Appl.*, v.31, p.251-256, 1967.
- DAVIS, N.D.; DIENER, U.L. Growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* from various carbon sources. *Appl. Microbiol.*, v.16, p.158-159, 1968.
- DAVIS, N.D.; DIENER, U.L. Environmental factors affecting the production of aflatoxin. In: PROC. U.S. JAPAN CONF. TOXIC. MICROORGANISMS., p.43-47, 1970.
- DEMAIN, A.L. Regulation of secondary metabolism in fungi. *Pure Appl. Chem.*, v.58, p.219-226, 1986.
- DIENER, V.L.; DAVIS, N.D. Effect of environment on aflatoxin production in freshly dug peanuts. *Trop. Sci.*, v.10, p.22-28, 1969.
- EHRlich, K.; CIEGLER, A. Effect of phytate on aflatoxin formation by *Aspergillus parasiticus* grown on different grains. *Mycopathologia*, v.92, p.3-6, 1985.
- ERDMAN JUNIOR, J.W. Oilseed Phytates: nutritional implications. *J. American Oil Chemists Society*, v.56, n.8, p.736-741, 1979.
- FABBRI, A.A.; FANELLI, C.; PANFILI, G.; PASSI, S. FASELLA, P. Lipoperoxidation and aflatoxin biosynthesis by *Aspergillus parasiticus* and *A. flavus*. *J. Gen. Microbiol.*, v.126, p.3447-3452, 1983.
- FAILLA, L.J.; LYNN, D.; NIEHAUS JUNIOR, W.G. Correlation of zinc content with aflatoxins content of corn. *Applied and Environmental Microbiology*, v.52, n.7, p.73-74, 1986.
- FAILLA, L.J.; NIEHAUS, W.G. Regulation of Zn²⁺ uptake and versicolorin A synthesis in a mutant strain of *Aspergillus parasiticus*. *Exp. Mycol.*, v.10, p.35-41, 1986.
- FIGUEIRA, A.C.; TAYLOR, K.D.A.; BARLOW, P.J.; MORGAN, M.R.A. Anomalous aflatoxin B1 recoveries from whole peanuts and Brazil nuts measured by enzyme-linked immunosorbent assay. *Food & Agricultural Immunology*, v.3, p.13-19, 1991.
- FONSECA, H. Ocorrência de aflatoxina no amendoim (*Arachis hypogea* L) do comércio. *Arq. Bras. Nutr.*, v.24, n.1 e 2, p.127-133, 1968.
- FRANÇA NETO, J.B.; HENNING, A.A. *Qualidades fisiológicas e Sanitárias de sementes de soja*. Londrina: Embrapa-CNPSo, 1986 (Circular técnica 9)
- GONÇALVES, C.M.R.; FONSECA, H. Ocorrência de aflatoxinas em farelo de algodão (*Gossypium hirsutum* L) na safra de 1986. *Anais da ESALQ*, v.48, p.317-333, 1991.
- GLOBO RURAL ECONOMIA. *Oportunidades na crise*. Rio de Janeiro: J. Globo, Maio 1990.
- GUPTA, S.K.; VENKITASUBRAMANIAN, T.A. Production of aflatoxin on soybeans. *Applied Microbiology*, v.29, n.6, p.883-836, 1975.

- GUPTA, S.K.; VENKITASUBRAMANIAN, T.A. Zinc dependence of glycolytic enzymes of an aflatoxigenic strain of *Aspergillus parasiticus*. *Microb. Lett.*, v.3, p.89-92, 1976.
- GUPTA, S.K.; MAGGON, K.K.; VENKITASUBRAMANIAN, T.A. Effect of zinc on tricarboxylic acid cycle intermediates and enzymes in relation of aflatoxin biosynthesis. *J. Gen. Microbiol.*, v.99, p.43-48, 1977.
- HENSARLING, T.P.; JACKS, T.J.; LEE, L.S.; CIEGLER, A. Production of aflatoxins on soybeans and cotton seed meals. *Mycopathologia*, v.90, p.125-127, 1983.
- HESSELTINE, C.W. Natural occurrence of mycotoxins in cereals. *Mycopathologia et Mycologia Applicata*, v.53, p.141-153, 1974.
- HYMOWITZ, T.; COLLINS, F.I.; PANCZNER, J. Relationship between the content of oil, protein, and sugar in soybean seed. *Agron. J., Madison*, v.61, p.613-616, 1972.
- JAIN, M. Education health workers and villagers on the dietary uses of soy foods in Madhya Pradesh, India. *Food Nutr. Bull., Tokyo*, v.10, n.4, p.41-44, 1988.
- KAKADE, M.L.; SIMONS, N.R.; LIENER, I.E. Biochemical and nutritional assessment of different varieties of soybeans. *J. Agric. Food Chem., Washington*, v. 20, n.1, p.87-90, 1972.
- KAMIMURA, H. Problems with mycotoxin in food sanitation. Hyogo International Center, 1992. Apostila de Japan International Cooperation Agency - JICA.
- LAM-SANCHEZ, A. Production and nutritive value of soybeans. *Arch. Lationan. Nutr., Guatemala*, v.28, n.2, p.155-168, 1978.
- LANDERCKER, E.M. *Fundamentals of the fungi*. 2.ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1982. 578p.
- LASKIN, A.I. *Advance in Applied Microbiology*. New York: Academic Press, 1982. v.28.
- LEE, E.G.H.; TOWNSLEY, P.M.; WALDEN, C.C. Effect of bivalent metals on the production of aflatoxin in submerged cultures. *J. Food Sci.*, v.31, p.432-436, 1966.
- LEHNINGER, A.L. *Principios de Bioquímica*. São Paulo: Sarvier, 1985. 725p.
- LIENER, I.E. Factors affecting the nutritional quality of soya products. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, Champaign, v.58, n.3, p. 406-515, 1981.
- LUCHESE, R.H.; HARRIGAN, W.F. Growth of, and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* when in the presence of either *Lactococcus lactis* or acid and at different initial pH value. *J. Appl. Bacteriology*, v.60, p.512-519, 1990.
- LUCHESE, R.H.; HARRIGAN, W.F. Biosynthesis of aflatoxin the role of nutritional factors. *J. Appl. Bacteriol.*, v.74, p. 5-14, 1993.
- LVOVA, L.S.; SOSEDOV, N.I.; SHATILOVA, T.I.; SHULGINA, A.P. Dynamic of aflatoxin accumulation in viable wheat grain inoculated with *Aspergillus flavus* NRRL 2999 and distribution of aflatoxins in milling products. *Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych*, v.189, p.89-97, 1989.
- MAGGON, K.K.; GUPTA, S.K.; VENKITASUBRAMANIAN, T.A. Biosynthesis of aflatoxins. *Bacteriol. Rev.*, v.41, p.822-855, 1977.
- MARSH, P.B.; SIMSON, M.E.; TRUCKSESS, M.W. Effects of trace metals on the production of aflatoxins by *Aspergillus parasiticus*. *Appl. Microbiol.*, v.30, p.52-57, 1975.
- MARTIN, J.F.; DEMAIN, A.L. Control of antibiotic biosynthesis. *Microbiol. Rev.*, v.44, p.230-251, 1980.
- MATELS, R.I. ADYE, J.C. Production of aflatoxins in submerged cultures. *Appl. Microbiol.*, v.13, p.208-211, 1965.
- MOREAU, C. *Moulds, Toxins and Food*. New York: A Wiley Interscience, 1979. 477p.
- NAGARAJAN, V. BHAT, R.V.; TULPUL, P.G. Aflatoxin in some varieties of soybeans (*Glycine max*, L.) *Experientia*, v.5, n.10, p.1302-1303, 1973.
- OBIDO, O.; NDUBUISI, I.E. The role of zinc in the aflatoxigenic potential of *A. flavus* NRRL 3251 on foodstuffs. *Mycopathologia*, v.74, p.3-6, 1981.
- O'DELL, B.L.; SAVAGE, J.E. Effect of phytic acid on zinc availability. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, v.103, p.304-305, 1960.
- PARISI, A.; VALLEE, B.L. Zinc metalloenzymes: characteristics and significance in biology and medicine. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.22, p.1222-1239, 1969.
- PINTO, V.E.F.; VANMONDE, G. BRIZZIO, S.V.; APRO, N. Aflatoxin production in soybean varieties grown in Argentina. *J. Food Protection.*, v. 54, n.7, p.542-545, 1991.
- PIXTON, S.W. Moisture content - Its significance and measurement in stored products. *J. Stored Prod. Res.*, v.3, p. 35-47, 1976.
- PURCHIO, A. Fungos e metabólitos tóxicos -In: LACAZ, C.S.; MINAMI, P.S.; PURCHIO, A. *O grande mundo dos fungos*. São Paulo: Polígono, 1970. 255p. cap.5.
- RAO, V.M.; MAGGON, K.K.; VENKITASUBRAMANIAN, T.A. Primary metabolism of *Aspergillus parasiticus* in relation to aflatoxin biosynthesis. *European J. Appl. Microbiol. and Biotechnol.*, v.7, p.307-312, 1979.
- RAPER, K.G.; FENNELL, D.I. *The genus Aspergillus*. Florida: Robert; Krieger, 1977. 686p.
- RESENDE, E.B. *Comportamento microbiológico do Bacillus cereus em carnes puras e suplementadas com soja*. Londrina: UEL, 1987. 70p. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos)-Universidade Estadual de Londrina, 1987.
- ROSS, I.J.; LOEWER, O.J.; WHITE, G.M. Potential for aflatoxin development in low temperature drying systems. *Trans. Am. Soc. Agric. Eng.*, v.22, n.6, p.1439-1443, 1979.
- SABINO, M. Variação de níveis de aflatoxina B1 em alimentos e rações animais no período de 1971 a 1979. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v.40, n.2, p.153-158, 1980.
- SABINO, M. *Aflatoxin contamination of groundnuts: proceedings of the International Workshop, International Crops Research Institute for Semi Arid Tropics - ICRISAT*. India: ICRISAT Center, 1987. p.115-120: National monitoring and control program on mycotoxins in Brazil
- SANDERS, T.H.; HILL, R.A.; COLE, R.J.; BLANKENSHIP, P.D. Effect of drought on occurrence of *A. flavus* in maturing peanuts. *J. Am. Oil. Chem. Assoc.*, v.58, p.966A-970A, 1968.

- SCHMIDT, F.R.; ESSER, K. AFLATOXINS: medical, economic impact and prospects for control. *Process Biochemistry*, p.167-174, 1985.
- SFREDO, G.; CARRC-PANIZZI, M.C. *Importância da adubação e da nutrição na qualidade da soja*. Londrina: EMBRAPA, 1990. 57p.
- SHANK, R.C. *Mycotoxins and N-nitroso compounds environmental risks*. Florida: CRC Press, 1981. 121p. v.1.
- SHARMA, A.; PADWAL-DESAI, S.R.; NADKARNI, G.B. A new method for aflatoxin free storage of agricultural commodities. *J. Food Sci.*, v.52, n.2, p.497, 1987.
- SHERETZ, P.C.; EADIE, T.; YORK, J.W.; LLEWELLYN, G.C. Aflatoxin occurrence in raw and cooked York soybeans inoculated with three *Aspergillus* isolates. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, v.59, p.662-665, 1976.
- SHIBATA, T.M.M. *Aflatoxina: influência de umidade, ácido fítico e zinco em cultivares de soja*. Londrina: UEL, 1992. 107p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, 1992.
- SHIH, U.E. Soybean milk. *J. Am. Diet. Assoc.* Chicago, v.57, p.520-522, 1970.
- SHIH, C.N.; MARTH, E.H. Some cultural conditions that control biosynthesis of lipid and aflatoxin by *Aspergillus parasiticus*. *Appl. Microbiol.*, v.27, p.452-456, 1974.
- SHOTWELL, O.L. Aflatoxin in corn. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, v.54, p. 216A-224A, 1977.
- SILVA, S.R.C. *Aspectos microbiológicos das misturas de carne e soja*. Londrina: UEL, 1982. 95p. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) Universidade Estadual de Londrina, 1982.
- SNOW, D. Mould deterioration of feeding stuffs in relation to humidity of storage - III. The isolation of mould species from feedingstuffs stored at different humidities. *Ann. Appl. Biol.*, v.32, p. 40, 1945.
- SNYDER, H.E.; KWON, T.W. *Soybean utilization*. New York: AVI van Nostrand Reinhold Company, 1987. 346p.
- STOLOFF, L. Aflatoxin - An overview. In: RODRICK, J.V.; HESSELTINE, C.W.; MEHLMAN, M.A. *Mycotoxin in human and animal health*. Park Forest South I.L. Pathtox Publishers, 1977. p.7-28.
- STOSSEL, P. Aflatoxin contamination in soybeans. Role of proteinase inhibitors, zinc availability, and seed coat integrity. *Applied and Environmental Microbiology*, v.52, p.68-72, 1986.
- STUTZ, H.K.; KRUMPERMAN, P.H. Effect of temperature cycling on the production of aflatoxin by *Aspergillus parasiticus*. *Applied and Environmental Microbiology*, v.32, n.3, p.327-332, 1976.
- THOMPSON, D.B.; ERDMAN JUNIOR, J.W. Phytic acid determination in soybeans. *J. Food Sci.*, v.47, p.513-517, 1982.
- TUITE, J.; FOSTER, G.H. Control of storage diseases of grain. *Ann. Rev. Phytopathol.*, v.17, p. 346-366, 1979.
- VIEIRA, S.A. *Alguns aspectos relacionados com a cultura da soja*. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1986.
- WEINBERG, E.D. Secondary metabolism: regulation by phosphate and trace elements. *Folia Microbiol.*, v.23, p.496-504, 1978.
- WLOSTOWSKI, T., BERNACKA, B.; PEPINSKI, W. The relationship of mycelial zinc to the aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Acta. Microbiol. Pol.*, v.38, n.1, p.37-44, 1989.
- WOLF, W.J. What is a soy protein: a review. *Food Technol.*, Chicago, v.26, p. 44-54, 1972.
- WOLF, W.J.; COWAN, J.C. *Soybeans as a food source*. Cleveland: CRC Press, 1975. 101p
- YOUSSEF, E.Y. *Fermentação do extrato hidrossolúvel de soja com culturas lácticas específicas (Filantes)*. Londrina: UEL, 1992. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimento) Universidade Estadual de Londrina, 1992.

Recebido para publicação em 30/08/1994