


**AVALIAÇÃO DA AÇÃO INIBITÓRIA DO CLORIDRATO DE QUITOSANA SOB  
ASPERGILLUS SP E DA PRODUÇÃO DE AFLATOXINAS *IN VITRO***

**EVALUATION OF THE INHIBITORY ACTION OF CHITOSAN  
HYDROCHLORIDE ON ASPERGILLUS SP. AND AFLATOXIN PRODUCTION *IN  
VITRO***

**EVALUACIÓN DE LA ACCIÓN INHIBITORIA DEL CLORHIDRATO DE  
QUITOSANO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE ASPERGILLUS SP. Y  
AFLATOXINAS *IN VITRO***

 <https://doi.org/10.56238/arev8n3-040>

**Data de submissão:** 12/02/2026

**Data de publicação:** 12/03/2026

**Joelma Maria da Silva**

Doutoranda em Nutrição

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

E-mail: joelma.msilva3@ufpe.br

Lattes: <https://lattes.cnpq.br/8165039207193132>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0087-4600>

**Idjane Santana de Oliveira**

Doutorado em Ciências Biológicas

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

E-mail: Idjane.oliveira@ufpe.br

Lattes: <https://lattes.cnpq.br/5131850918162406>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8854-5018>

**Ana Cláudia da Silva**

Graduanda em Ciências Biológicas

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

E-mail: claudia.silva2@ufpe.br

Lattes: <https://lattes.cnpq.br/9949836988619094>

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-0860-4144>

**Rayssa Franciely Temudo de Oliveira**

Mestre em Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco – Centro Acadêmico de Vitória

E-mail: rayssa.temudo@ufpe.br

Lattes: <https://lattes.cnpq.br/4514703456454729>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3061-2801>

**Thayza Christina Montenegro Stamford**

Doutorado em Ciências Biológicas

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

E-mail: thayza.stamford@ufpe.br

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1950477597035594>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8544-5057>

**Margarida Angélica da Silva Vasconcelos**

Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

E-mail: margarida.vasconcelos@ufpe.br

Lattes: <https://lattes.cnpq.br/2592810874850058>

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0389-6899>

## RESUMO

**Introdução:** A contaminação fúngica é um problema que compromete a qualidade dos alimentos e representa riscos à saúde humana. Os fungos do gênero *Aspergillus* são os principais contaminantes e produtores de aflatoxinas (AF). As AFs são metabólitos secundários quimicamente estáveis, termorresistentes e altamente tóxicos. Nessa perspectiva, a o uso de compostos naturais, capazes de prevenir esses agravos, surge como uma alternativa promissora. **Objetivo:** No presente trabalho, foi avaliado o potencial do cloridrato de quitosana (CQ) com ação antifúngica e inibidora de AF. **Métodos:** Foram realizados experimentos *in vitro* com a técnica de microdiluição para avaliar viabilidade celular, assim como experimentos *in vitro* em meios de cultura *Aspergillus flavus* e *Parasiticus agar* (AFPA) e Leite de Coco Agar (LCA), para avaliar produção de AF. **Resultados:** Nos testes *in vitro*, os tratamentos com CQ inibiram o crescimento fúngico ( $p>0,05$ ) nos meios AFPA e LCA. houve alterações macroscópicas na estrutura fúngica, sendo observado que o micélio manteve seu crescimento com característica esférica, no entanto apresentou centro elevado, como sinal de afastamento do meio de cultura em todas placas com tratamento, como também alterações na coloração das colônias dos grupos testes, em comparação ao controle, apresentando coloração de verde opaco para marrom, desde o terceiro dia de avaliação e houve inibição da produção de AF em todos os meios de cultura testados. **Conclusão:** O CQ apresentou resultados satisfatórios e espera-se que sua ação possa ser potencializada pela sinergia com outros compostos antifúngicos, o que representa um potencial campo de estudo para pesquisas futuras.

**Palavras-chave:** *Aspergillus*. Aflatoxinas. Quitosana.

## ABSTRACT

**Introduction:** Fungal contamination is a problem that compromises food quality and poses risks to human health. Fungi of the genus *Aspergillus* are the main contaminants and producers of aflatoxins (AF). AFs are chemically stable, heat-resistant, and highly toxic secondary metabolites. From this perspective, the use of natural compounds capable of preventing these problems emerges as a promising alternative. **Objective:** In this work, the potential of chitosan hydrochloride (CQ) with antifungal and AF-inhibiting action was evaluated. **Methods:** In vitro experiments were performed using the microdilution technique to evaluate cell viability, as well as in vitro experiments in *Aspergillus flavus* and *Parasiticus agar* (AFPA) and Coconut Milk Agar (LCA) culture media to evaluate AF production. **Results:** In in vitro tests, treatments with CQ inhibited fungal growth ( $p>0.05$ ) in AFPA and LCA media. Macroscopic changes in fungal structure were observed; the mycelium maintained its spherical growth, but presented an elevated center, indicating separation from the culture medium in all treated plates. Changes in colony coloration were also observed in the test groups compared to the control, showing a change from opaque green to brown from the third day of evaluation. AF production was also inhibited in all culture media tested. **Conclusion:** CQ showed satisfactory results, and it is expected that its action can be potentiated by synergy with other antifungal compounds, representing a potential field of study for future research.

**Keywords:** *Aspergillus*. Aflatoxin. Chitosan.

## RESUMEN

**Introducción:** La contaminación fúngica es un problema que compromete la calidad de los alimentos y representa riesgos para la salud humana. Los hongos del género *Aspergillus* son los principales contaminantes y productores de aflatoxinas (AF). Las AF son metabolitos secundarios químicamente estables, termorresistentes y altamente tóxicos. Desde esta perspectiva, el uso de compuestos naturales capaces de prevenir estos problemas surge como una alternativa prometedora. **Objetivo:** En este trabajo, se evaluó el potencial del clorhidrato de quitosano (CQ) con acción antifúngica e inhibidora de AF. **Métodos:** Se realizaron experimentos in vitro mediante la técnica de microdilución para evaluar la viabilidad celular, así como experimentos in vitro en medios de cultivo de agar *Aspergillus flavus* y *Parasiticus* (AFPA) y agar leche de coco (LCA) para evaluar la producción de AF. **Resultados:** En las pruebas in vitro, los tratamientos con CQ inhibieron el crecimiento fúngico ( $p>0,05$ ) en los medios AFPA y LCA. Se observaron cambios macroscópicos en la estructura fúngica. Si bien el micelio mantuvo su crecimiento esférico, presentó un centro elevado, lo que indica separación del medio de cultivo en todas las placas tratadas. También se observaron cambios en la coloración de las colonias en los grupos de prueba en comparación con el control, pasando de verde opaco a marrón a partir del tercer día de evaluación. También se observó inhibición de la producción de AF en todos los medios de cultivo analizados. **Conclusión:** El CQ mostró resultados satisfactorios y se espera que su acción pueda potenciarse mediante la sinergia con otros compuestos antifúngicos, lo que representa un potencial campo de estudio para futuras investigaciones.

**Palabras clave:** *Aspergillus*. Aflatoxinas. Quitosano.

## 1 INTRODUÇÃO

Os contaminantes biológicos presentes no solo, especialmente fúngico, são um grande desafio na produção agrícola, sendo os principais contaminantes de alimentos e comprometendo a qualidade dos alimentos e à saúde humana [1,2]. Diversas espécies fúngicas podem colonizar alimentos, sendo a contaminação visível apenas em estágios avançados de crescimento, uma vez que esses organismos são microscópicos. Entre os fungos filamentosos destacam-se aqueles pertencentes ao gênero *Aspergillus* [3].

O gênero *Aspergillus* apresenta rápido crescimento e morfologia característica, com hifas hialinas e septadas, conidióforo dilatado e vesículas rodeadas por métulas que sustentam as células produtoras de conídios [4,5]. Diferentes espécies do gênero *Aspergillus*, a saber: *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius*, *A. oryzae*, *A. sojae* e *A. tamaritii*, apresentam ampla capacidade de adaptação, podendo se desenvolver em faixas de temperatura entre 12 °C e 85 °C, decorrente da presença dos genes *thtA* e *cgrA*, responsáveis pela termotolerância, além de resistirem à variação de umidade [6]. Seus conídios são resistentes à luz e a agentes químicos favorecendo sua propagação e competitividade no ambiente [7].

Diversos estudos comprovam que alguns gêneros de fungos, tais como, *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, produzem metabólitos secundários tóxicos, chamados micotoxinas [8,9,10]. Dentre mais de 300 micotoxinas já identificadas, as aflatoxinas (AFs) são as mais estudadas devido à sua elevada toxicidade e estabilidade química [11]. Produzidas principalmente por *A. flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius* (12). As AFs são compostos termorresistentes e cumulativos no organismo humano, podendo causar doenças graves, como câncer hepático, pois segundo o IARC (Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer), as AFs são carcinógenos do grupo 1 [12,4,13,14,15,16].

Em sua estrutura química, as AFs são cumarinas altamente substituídas e apresentam estruturas carbônicas, porém apenas seis são consideradas as mais tóxicas. Em ordem decrescente de importância clínica, são: B1 > M1 > G1 > B2 > M2 > G2. Quando observadas sob luz ultravioleta, fluorescem nas seguintes colorações: azul (B1, B2), verde (G1), verde-azulado (G2), azul-violeta (M1) e violeta (M2). As Aflatoxinas M1 e M2 são comumente encontradas no leite, enquanto as demais ocorrem em diversos alimentos [13].

Em razão de sua toxicidade, órgãos internacionais como a Food and Drug Administration (FDA), a Organização Mundial da Saúde (OMS), a Food and Agriculture Organization (FAO) e a European Food Safety Authority (EFSA) estabeleceram limites máximos de aflatoxinas em alimentos. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) regulamenta o limite máximo tolerado de 20 µg/kg [17]. Entretanto, a ausência de fiscalização efetiva ainda dificulta o controle

dessa contaminação, tornando-a um problema de saúde pública, especialmente em oleaginosas. Os riscos aos agravos à saúde são aumentados três vezes, mesmo com o consumo de AFs em pequenas quantidades ao longo do tempo [18].

Diante desse cenário, a busca por alternativas sustentáveis e seguras para inibir o crescimento fúngico e a produção de aflatoxinas tem se intensificado. Destacando-se a quitosana, por suas propriedades biológicas, incluindo biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa toxicidade e atividade antimicrobiana [19]. A quitosana é um derivado da quitina, um polissacarídeo cuja estrutura é formada por 2-amino-2-deoxi-D-glicopirranose e 2-acetamido-2-deoxi-D-glicopirranose, unidos por ligações  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) glicosídicas. A quitosana varia de acordo com o grau de desacetilação e a massa molar [20].

A quitosana pode ser obtida a partir da quitina por meio de sua desacetilação com álcalis. A quitina é encontrada no exoesqueleto de crustáceos e insetos e é o principal polímero estrutural da parede celular de fungos. Um derivado da quitosana, cloridrato de quitosana, que é solúvel em água com carga positiva, apresenta um grau de desacetilação entre 70% e 95% e um teor de cloretos entre 10% e 20% [20]. Este mantém todas propriedades da quitosana e apresenta alta eficiência antifúngica, sem necessidade de dissolução em soluções ácidas [21,22]. Estudos demonstram que esse composto pode reduzir espécies reativas de oxigênio (EROs), provocando danos às células fúngicas e interferindo na síntese de aflatoxinas [23].

Dessa forma, o cloridrato de quitosana surge como uma alternativa promissora, por apresentar-se como um conservante natural substituindo os agrotóxicos convencionais, contribuindo para a segurança alimentar e para um sistema de produção mais sustentável, alinhado aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS). Assim, sendo avaliado seu potencial antifúngico e inibidor de AFs por espécies do gênero *Aspergillus* sp.

## 2 MÉTODOS

O (CQ) utilizado foi da marca Sigma® com peso molecular médio de 75- 80% de desacetilação, sendo preparadas as soluções nas concentrações 1%, 2% e 3% com água destilada, mantidas sob agitação até completa dissolução e autoclavadas por 15 minutos a 121°C. Para o controle positivo de atividade antifúngica foram utilizados o óleo de coco e óleo de linhaça, obtidos em comércio de produtos naturais.

A cepa de *Aspergillus* sp produtor da micotoxina AF utilizada foi obtido da coleção de cultura do laboratório de Microbiologia e Imunologia da UFPE/CAV e foi mantido sob refrigeração (5°C) em meio de cultura extrato de malte ágar (MEA). Posteriormente, a cepa do fungo *Aspergillus* sp foi

semeada em placa de Petri contendo meio de cultura MEA e incubada por 7 dias a 25°C para nova esporulação.

Os meios de cultura AFPA e LCA utilizados foram preparados de acordo com a metodologia estabelecida por [22]. Todos os meios foram autoclavados a 120°C por 15 minutos.

Os conídios foram coletados com swab e suspensos em água destilada estéril. O número de esporos foi padronizado a  $10^6$  esporos/mL, com a contagem na câmara de Neubauer para a determinação da atividade antifúngica através da concentração inibitória mínima (CIM) das coberturas de quitosana pelo método de microdiluição.

Na placa de microdiluição de 96 poços de fundo chato contendo meio caldo AFPA com a padronização dos esporos e foram utilizadas crescentes das coberturas (1%,2%,3%) e os óleos (óleo de coco e óleo de linhaça) como os controles. Foi utilizado em cada poço, 25µl meio caldo AFPA, acrescidos de 50µl de cada substância teste (CQ, óleos) 25µl da suspensão de esporos e no grupo controle foi usado 75µl de meio caldo AFPA, acrescido de 25µl da suspensão de esporos. A placa foi incubada até o crescimento micelial visível dos poços controle (sem a substância teste) e em seguida foi adicionado o corante resazurina e armazenado na estufa (35°C) durante 60 minutos para verificação da viabilidade celular. Cor azul a violeta indica morte celular (ausência de crescimento fúngico) e cor de rosa a vermelho viabilidade celular (crescimento fúngico). A CIM foi determinada pela taxa de inibição do crescimento fúngico [24], sendo realizada a leitura em leitor ELISA a 550nm através da densidade óptica.

Para avaliação do crescimento micelial radial foi utilizada a técnica do envenenamento do substrato em meio de cultura *Aspergillus Flavus* e *Parasiticus Agar* (AFPA) [25], e, em seguida, realizado por diluição das substâncias testes no meio de cultura. Foram usadas as concentrações das substâncias teste (CQ1%, CQ2%, CQ3% e as concentrações (1%, 2% e 3%) do controle positivo (óleo de coco e óleo de linhaça), em placas de Petri, contendo 20ml de meio de cultura AFPA, em triplicata. Foi adicionado ao centro de cada placa de Petri um disco de micélio do fungo com espessura de 3 mm, retirado de uma colônia de sete dias de cultivo em meio de cultura extrato de malte ágar (MEA). O crescimento micelial, bem como a produção de AFs foram avaliadas pela observação das placas aos 3, 5 e 7 dias de cultivo, em temperatura ambiente.

Para avaliar a produção de AF, foi utilizado o cloridrato de quitosana em pó diluído em meio de cultura AFPA, calculado para atingir as concentrações 1%, 2% e 3%, distribuídas em placas de Petri, todas em triplicatas. Após o meio solidificar, foi utilizado um disco de micélio de 3 mm do fungo, retirado de uma colônia com sete dias de cultivo em meio MEA a 25°C. Nas placas com os controles positivos, foram mantidos os meios de cultura com óleo de coco e óleo de linhaça com as

substâncias testes e no controle negativo o mesmo procedimento sem as substâncias testes. Todos foram incubados em temperatura ambiente durante 7 dias.

Para a identificação da classe de AF produzida pelo fungo foi utilizado o meio LCA, aplicado todo o procedimento anterior, sendo utilizado nessa etapa o meio LCA. Foram incubados em temperatura ambiente durante 7 dias. E observado através da luz ultravioleta, em que a cor azul representa presença do grupo B e a verde do grupo G.

Os experimentos foram realizados em triplicatas e os resultados expressos como uma média dos valores encontrados em cada experimento. As análises estatísticas foram realizadas a normalidade dos dados testada pelo teste de Shapiro-Wilk e utilizando testes de estatística descritiva ANOVA one-way (média e desvio padrão) e inferencial (teste de Tukey) para determinação de diferenças significantes ( $p < 0,05$ ) entre as médias dos resultados obtidos. Para o tratamento estatístico, foi utilizado o software Graphpad prism versão 9.

### 3 RESULTADOS

Os resultados da determinação da concentração inibitório mínima (CIM) através do ensaio de microdiluição em caldo na placa de 96 poços após 3 dias de incubação contendo o CQ em diferentes concentrações, óleos de coco e linhaça, são apresentados na tabela 4.

Os resultados encontrados mostram que houve atividade antifúngica nos tratamentos com os cloridratos de quitosana. Os tratamentos com CQ1%, CQ2%, CQ3% e apresentaram menor número de células vivas comparado ao grupo controle, com uma taxa 69% de esporos vivos (Tabela 1). O CQ1, CQ2 e CQ3 de inibição de crescimento da cepa de *Aspergillus* sp, os resultados apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos e controle (meio de cultura e suspensão de esporos), assim conclui-se que os tratamentos agiram sobre a morte dos fungos (Figura 1). No entanto, não foi possível determinação a concentração inibitória mínima (CIM) para da cepa de *Aspergillus* sp usado no estudo (Tabela 1).

Tabela 1. Atividade inibitória de diferentes concentrações do cloridrato de quitosana frente ao fungo aflatoxigênico *Aspergillus* sp

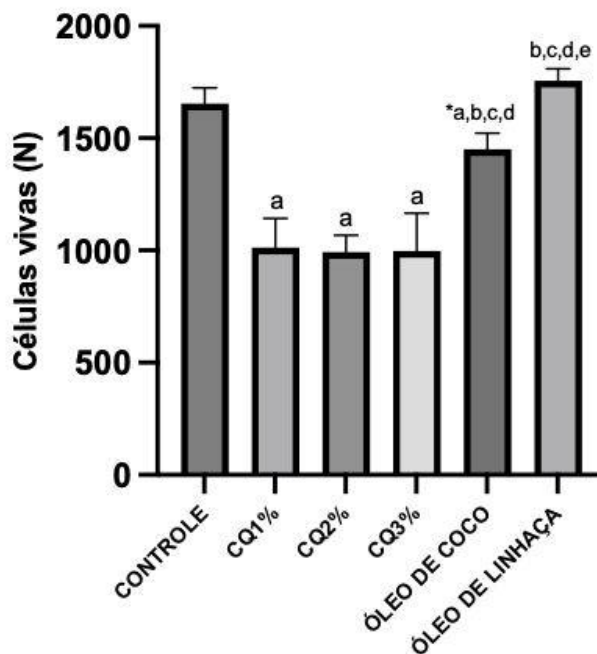
	Controle	CQ1	CQ2	CQ3	O.C	O.L
Média células vivas	1.654	1.216	1.153	1.147	1.451	1.758
Taxa de células vivas	100%	73,5%	69,7%	69,3%	87,7%	106,2%

Cloridrato de Quitosana 1 (CQ1); Cloridrato de Quitosana 2 (CQ2); Cloridrato de Quitosana 3 (CQ3); Óleo e Coco (O.C); Óleo de Linhaça (O.L)

Fonte: Autores.

Figura 1. Conídios vivos em números absolutos

### Atividade antimicrobiana



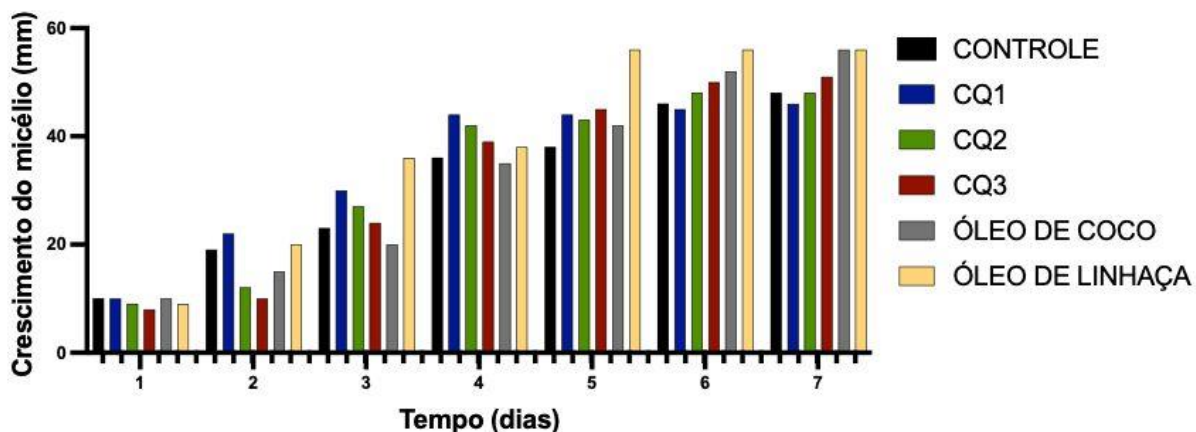
Legenda: Controle; Cloridrato de Quitosana 1 (CQ1); Cloridrato de Quitosana 2 (CQ2); Cloridrato de Quitosana 3 (CQ3); Óleo e Coco (O.C); Óleo de Linhaça (O.L)

Fonte: Autores.

O efeito inibitório do crescimento micelial do *Aspergillus* spp sob diferentes concentrações das substâncias testadas foram acompanhados o crescimento até atingir o diâmetro total da placa em um dos tratamentos avaliados. Observa-se que os tratamentos CQ2 e CQ3 apresentaram inibição do crescimento de 1mm e 2mm, respectivamente, no 1o dia (24h) de avaliação. Esses tratamentos apresentaram inibição mais acentuada no 2o dia (48h) da avaliação, com 7mm e 9mm, respectivamente, em comparação ao tratamento controle. Os demais tratamentos, assim como, os grupos controles positivos não apresentaram inibição crescimento micelial, não expressando diferença significativa ( $p > 0,005$ ) (Figura 2). O fungo apresentou rápido desenvolvimento e atingiu seu crescimento em toda a placa no 5o dia.

Os tratamentos testados não foram efetivos na inibição do crescimento micelial do *Aspergillus* sp. Essa ação antifúngica encontrada é explicada pela presença de cargas negativas na parede celular do *Aspergillus* interagindo com as cargas positivas da quitosana, alterando assim a permeabilidade da membrana plasmática fúngica.

Figura 2. Crescimento micelial de *Aspergillus flavus* frente aos tratamentos com cloridrato de quitosana 1%, 2% e 3% (CQ1, CQ2, CQ3), Controles positivos (Óleo de coco e óleo de linhaça) e controles negativos (controle) por envenenamento do meio de cultura AFPA.

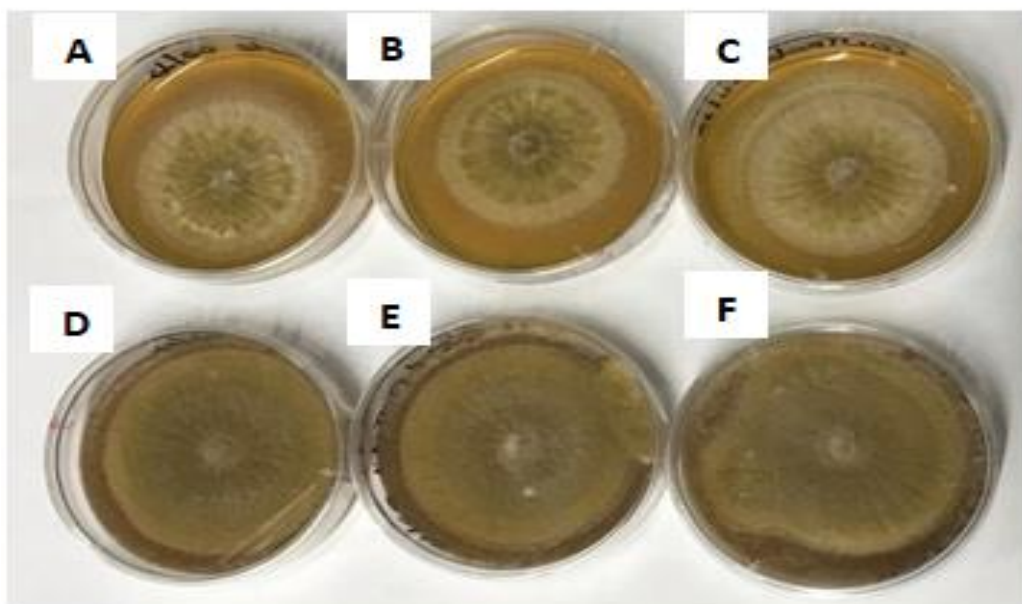


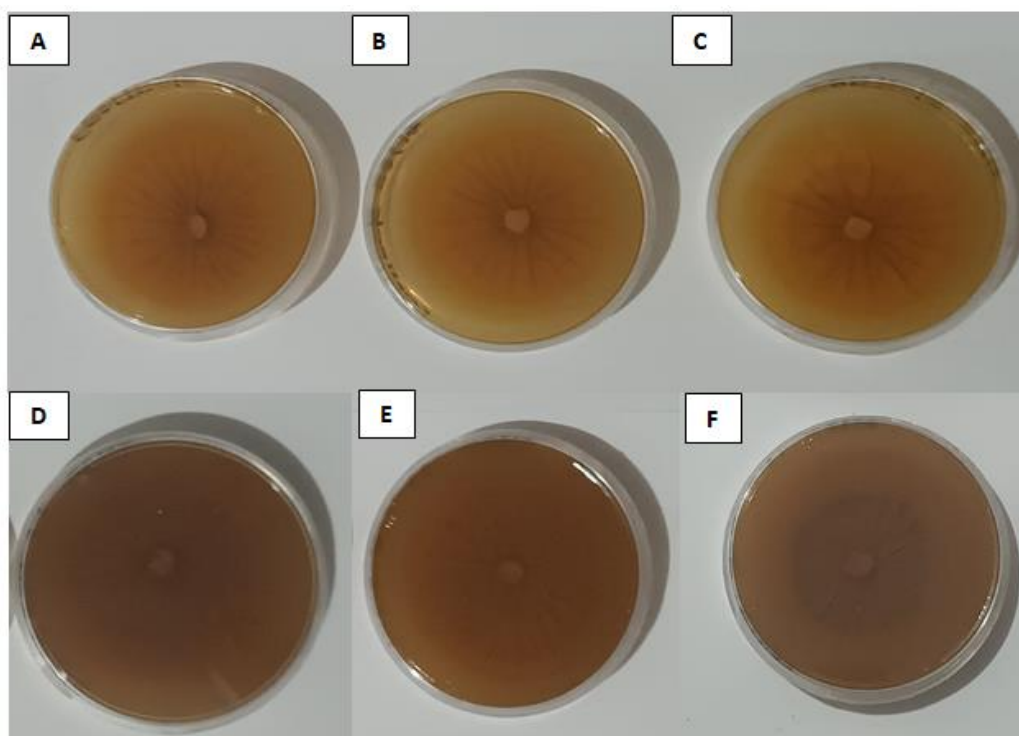
Fonte: Autores.

Foram observadas alterações macroscópicas no crescimento micélio frente aos grupos do tratamento. O micélio manteve seu crescimento com característica esférica, no entanto apresentou centro elevado, como sinal de afastamento do meio de cultura em todas placas com tratamento, com destaque para o CQ3, com diferença de 3 mm do grupo controle (Figura 3).

Ademais, nos tratamentos avaliados foram evidenciadas alterações da coloração das colônias dos grupos testes, em comparação ao controle, apresentando coloração de verde opaco para marrom, (Figura 3) desde o terceiro dia de avaliação.

Figura 3. Alteração nas características de crescimento micelial de *Aspergillus* sp quando tratado com CQ1 (D), CQ2 (E) e CQ3 (F) em comparação com o grupo controle (A,B,C) e reverso das respectivas placas.





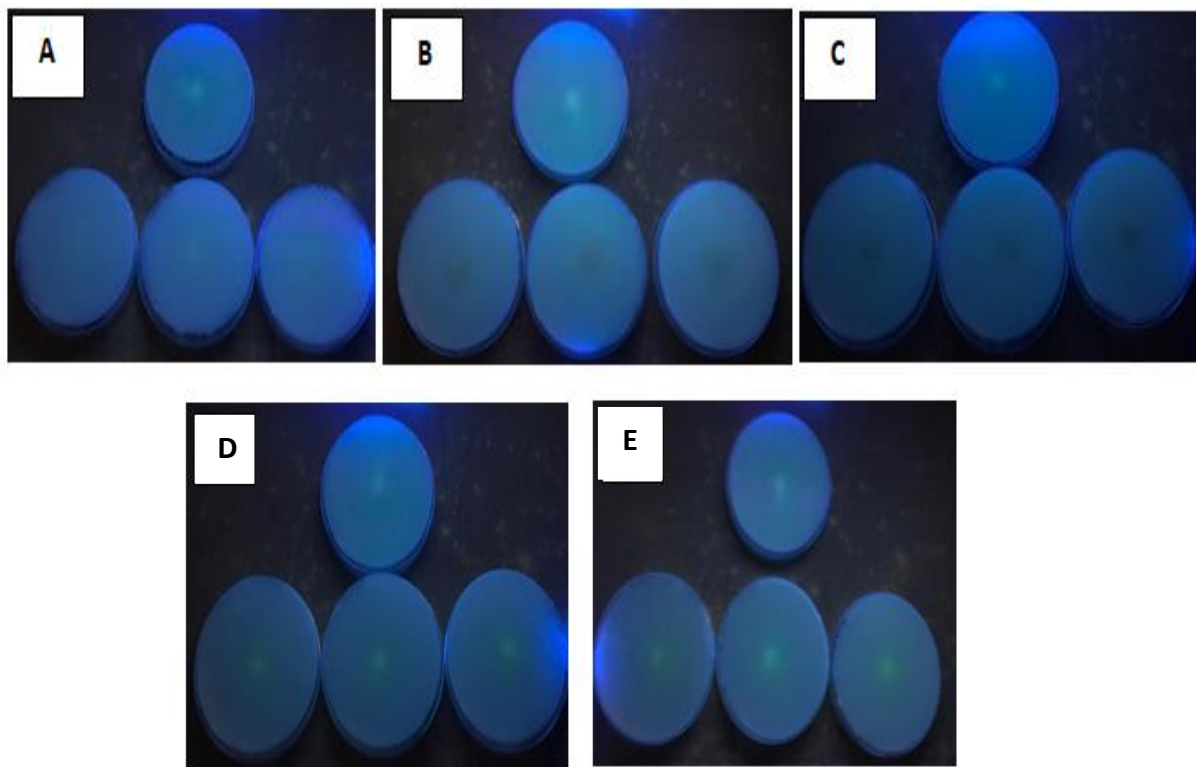
Fonte: Autores.

Os resultados da inibição da produção de AF obtidos usando os meios de cultura reveladores, AFPA e LCA, comprovaram que as substâncias testes inibiram a produção de AF *in vitro* no meio de cultura AFPA. O reverso das placas com as amostras em meio e cultura AFPA (figura 3) apresentou coloração alaranjada no grupo controle, confirmando a produção da AF, enquanto que, nos tratamentos com os cloridratos de quitosana não houve a presença dessa coloração.

As amostras avaliadas no meio de cultura AFPA também tiveram alterações na morfologia e esporulação frente às substâncias testes e aos controles positivos (figura 3). Esse dado confirmou que as substâncias testadas em meios de culturas diferentes apresentaram ação sobre o fungo, mesmo não atingindo inibição de crescimento, mas futuros estudos podem ser desenvolvidos para aprofundar a compreensão e aprimorar as técnicas empregadas para melhores resultados.

Conclui-se que o cloridrato de quitosana apresenta potencial para futuros estudos diante da inibição confirmada da produção de AF *in vitro*, possibilitando investigar possíveis mecanismos de ação envolvidos. No experimento em meio LCA, os tratamentos avaliados não produziram fluorescência, na luz ultravioleta (365 nm) (Figura 4), enquanto que as amostras controles produziram fluorescência verde, indicando a produção de AF do tipo G, que pode ser observado na Figura 4. Nas amostras do grupo controle positivo também apresentaram produção de AF.

Figura 4. Padrão de Fluorescência da produção de AF na amostra controle (placa acima) e inibição da produção pelas Substâncias testes: CQ1 (A), CQ2 (B), CQ3 (C) e controle positivo: óleo de coco (D) e óleo de linhaça (E).



Fonte: Autores.

#### 4 DISCUSSÃO

Observou-se que não foi possível atingir a CIM *Aspergillus* sp utilizada, conforme observado (Tabela 1). A metodologia de microdiluição em meio líquido é padrão da ANVISA para fornecer o CIM de substância teste e fármacos [26]. Alcantara (2011) utilizando o CQ com dissolução de 1g de CQ para 1ml de ácido clorídrico, conseguiu atingir a CIM nas concentrações a partir de 1,25mg/mL e 2,5mg/mL para inúmeras cepas de fungos filamentosos, enquanto que para os principais fungos produtores de AF foi atingida na concentração 1,25mg/ml de cloridrato de quitosana [27].

**D** Os tratamentos testados em **E** meio de cultura não foram efetivos para a inibição do crescimento micelial do *Aspergillus* sp. havendo crescimento fúngico em todas as placas testadas, conforme observado na figura 3. não foi possível avaliar por mais de 7 dias, pois o crescimento expandiu por completa toda a extensão das placas de Petri. Os resultados diferem dos obtidos por Alcantara (2011) em que se observou inibição radical total após 7 dias, com concentrações de cloridrato de quitosana a 1,25mg/ml e 2,5mg/ml frente a diferentes fungos filamentosos [27].

Souza 2013 utilizou derivado anfífilico de quitosana e obteve inibição completa do crescimento dos fungos investigados, o derivado de quitosana apresentou atividade contra o *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, com inibição completa do crescimento micelial *in vitro* a

partir de 0,7g/L a 1,0g/L., usando meio de cultura MEA, incubados durante 7 dias [28]. A ação antifúngica pode ser explicada pela presença de cargas negativas na parede celular do *Aspergillus* interagindo com as cargas positivas da quitosana, alterando, assim, a permeabilidade da membrana plasmática fúngica. Desta forma, é possível observar que diferentes derivados de quitosana podem apresentar resultados diferentes.

As características macroscópicas observadas na Figura 3 corroboraram com as encontradas por Souza (2013) utilizando radiação gama com diferentes doses, a saber alterações na coloração da colônia e do micélio, além de elevado crescimento central da colônia [28]. Essas alterações morfológicas ocorreram pela ação do cloridrato de quitosana no fungo.

Observou-se ainda produção de AF do tipo G pela cepa do gênero *Aspergillus sp*, sendo uma das principais AFs juntamente com B1, B2, G1 e G2 pela sua toxicidade para humanos e animais. A AF do grupo B1 representa a de maior grau de toxicidade [4]. A identificação qualitativa realizada através do método em meio de cultura LCA, ocorreu pela emissão de fluorescência da colônia que ocorre devido as características estruturais das AFs que apresentam essas tonalidades, a exemplo do furano, lactona que reflete a coloração azulada [29]. Sendo assim, foi possível avaliar de forma qualitativa, a presença ou ausência de AFs através da fluorescência verde que corresponde a AF do grupo B (Blue) e do grupo G a cor verde (Green).

O cloridrato de quitosana apresentou atividade inibitória da produção de aflatoxina pela cepa de *Aspergillus sp*. Silva et al 2015 verificaram redução da concentração de AF em amendoim, após tratamento das mesmas por imersão e aspersão de quitosana [22]. No entanto, ainda não é bem reconhecido o mecanismo de ação envolvido.

O uso de diversos compostos naturais e biodegradáveis vem sendo estudado em sinergia com quitosana e seus derivados no controle do crescimento fúngico aflatoxigênico e na inibição da produção de AFs mostrando resultados promissores. Alguns compostos investigados são o extrato de semente cítrica (Citrocover), extrato de resina de pinheiro (Resinadher) e mancozeb [30], óleo essencial de *Aniba rosaeodora* [31], óleo essencial de *Monarda citriodora* [32], extrato de própolis [33,34], óleo essencial de pimenta da Jamaica [35].

Diante disso, este estudo apresenta resultados promissores para a área de nutrição, visto que o cloridrato de quitosana, ao inibir a produção de aflatoxina em estudos in vitro, pode nortear pesquisas futuras para sua aplicação como conservante natural, bem como para a elaboração de conservantes em sinergia com outros compostos potencialmente antifúngicos, a fim de potencializar esses resultados e também inibir o crescimento fúngico. Dessa forma, pode-se reduzir a contaminação alimentar por essa

toxina e contribuir para a saúde pública, diminuindo o risco de doenças associadas, como hepatotoxicidade e carcinoma hepático, por meio da redução da exposição humana a essa toxina.

## 5 CONCLUSÃO

Os experimentos *in vitro* mostraram que os cloridratos de quitosanas a 1%, 2% e 3% foram eficientes na inibição da produção de AFs em meios de cultura AFPA e LCA, com inibição de 100% em todos os tratamentos. Não foi possível inibir satisfatoriamente o crescimento fúngico com o cloridrato de quitosana em teste de microdiluição ou Placa de Petri, sendo observadas algumas alterações na morfologia das colônias fúngicas. Desta forma, o cloridrato de quitosana, nas condições testadas, não apresentou ação antifúngica, apenas ação inibitória da produção e aflatoxina pela cepa de *Aspergillus* sp. testada.

## VINCULAÇÃO ACADÊMICA

O conteúdo da pesquisa é oriundo de trabalho acadêmico (dissertação de Mestrado) depositado em repositório institucional.

## REFERÊNCIAS

1. Alameri MM, Al-Kubaisi KA, Jasim SA, Al-Saadi AJ, Hussain SA, Al-Yasiri MH, *et al.* Aflatoxin contamination: an overview on health issues, detection and management strategies. *Toxins (Basel)*. 2023;15(4):246 [citado 2025 out 28]. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/toxins15040246>
2. Lopes-Ferreira M, Leandro LF, Santos JM, Lima MS, Silva RJ, Costa R, *et al.* Impact of pesticides on human health in the last six years in Brazil. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2022;19(6):3198. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijerph19063198>
3. Musangi CR, Mutegi CK, Wainaina JM, Monda EO, Okoth SA, *et al.* *Aspergillus* population diversity and its role in aflatoxin contamination of cashew nuts from coastal Kenya. *PLoS One* [Internet]. 2024;19(1):e0292519. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0292519>
4. Costa ALP, Amoras ES. Aflatoxicoses: uma revisão das manifestações clínicas em seres humanos e animais. *Rev Arq Cient IMMES* [Internet]. 2021;4(1):54-63. Disponível em: <https://revista.immes.edu.br/index.php/arquivoscientificos/article/view/111>
5. Oliboni GM. Identificação e perfil de sensibilidade de *Aspergillus* spp. presente no ar atmosférico [tese]. São Paulo (SP): Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Coordenadoria de Controle de Doenças; 2022. Disponível em: <https://repositorio.saude.sp.gov.br/handle/123456789/15519>
6. Nji QN, Babalola OO, Mwanza M. Soil *Aspergillus* species, pathogenicity and control perspectives. *J Fungi (Basel)* [Internet]. 2023;9(7):766. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof9070766>
7. Possari CK. *Aspergillus* toxigênicos em castanha de caju e seu controle pelo uso de óleos essenciais [tese]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP); 2020. Disponível em: <https://hdl.handle.net/20.500.12733/1645185>
8. Qu Z, Yang L, Zhao M, Liu C, Yang J, Zhang X, *et al.* *Fusarium* mycotoxins: the major food contaminants. *Mlife* [Internet]. 2024;3(2):176-206. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s44163-023-00072-0>
9. Mafe AN, Büsselberg D. Mycotoxins in food: cancer risks and strategies for control. *Foods* [Internet]. 2024;13(21):3502. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods13213502>
10. Zhao W, Xu L, Liu X, Wang X, Zhang H, Chen H, *et al.* Effects of temperature, pH, and relative humidity on the growth of *Penicillium paneum* OM1 isolated from pears and its patulin production. *Fungal Biol* [Internet]. 2024;128(4):1885-97. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2024.04.002>
11. Pickova D, Ostry V, Malir F, Toman J, Malir J. Aflatoxins: history, significant milestones, recent data on their toxicity and ways to mitigation. *Toxins (Basel)* [Internet]. 2021;13(6):399. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/toxins13060399>

12. Ezekiel CN, Warth B, Ogara IM, Abia WA, Ezekiel VC, Atehnkeng J, *et al.* Dietary risk assessment and consumer awareness of mycotoxins among household consumers of cereals, nuts and legumes in north-central Nigeria. *Toxins (Basel)* [Internet]. 2021;13(9):635. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/toxins13090635>
13. Hassan HF, Awada F, Dimassi H, El Ahmadieh C, Hassan NB, El Khatib S, *et al.* Assessment of mycotoxins in cornflakes marketed in Lebanon. *Sci Rep.* 2023;13(1):20944. doi:10.1038/s41598-023-48172-8. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-023-48172-8>
14. Hassan HF, Al-Zyoud W, Al-Hammadi S, Al-Mulla H, Al-Mansoori H, Hassan J, *et al.* Exposure to mycotoxins from the consumption of corn-based breakfast cereals in the United Arab Emirates. *Sci Rep* [Internet]. 2024;14(1):25761. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-024-74529-8>
15. Hassan HF, Barbour JA, Al-Zyoud W, Zein S, Hassan J, *et al.* Assessment of mycotoxins in cornflakes marketed in Lebanon. *Sci Rep* [Internet]. 2023;13(1):20944. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39468151/>
16. Borowsky AM, Rosim RE, Tonin FG, de Oliveira CAF, Corassin CH. Co-Occurrence of Mycotoxins in the Diet and in the Milk of Dairy Cows from the Southeast Region of Brazil. *Toxins.* 2024;16(11):492. [Internet]. [citado 2025 out 30]. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/toxins16110492>
17. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União* [Internet]. Brasília, DF: ANVISA; 2011 [citado 2025 out 30]. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0007\\_18\\_02\\_2011.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0007_18_02_2011.html)
18. Cristo D, Niehues JR, Adam CT, Nazário AC, Haas P. Exposição a aflatoxinas: fator de risco para câncer de fígado. *Vittalle – Revista de Ciências da Saúde.* 2015;27:13–20. Disponível em: <https://periodicos.furg.br/vittalle/article/view/6080>
19. Kumar V, *et al.* Chitin and Chitosan: The Defense Booster in Agricultural Field. In: Ahmed S, Kanchi S, Kumar G, editors. *Handbook of Biopolymers: Advances and Multifaceted Applications.* Singapore: Pan Stanford; 2019. p. 93-134. Disponível em: <https://www.routledge.com/Handbook-of-Biopolymers-Advances-and-Multifaceted-Applications/Ahmed-Kanchi-Kumar/p/book/9789814800174>
20. Crini G. Historical review on chitin and chitosan biopolymers. *Environ Chem Lett* [Internet]. 2019;17(4):1623-43. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00901-0>
21. Yan L, Wang R, Wang H, Sheng K, Liu C, Qu H, *et al.* Formulation and characterization of chitosan hydrochloride and carboxymethyl chitosan encapsulated quercetin nanoparticles for controlled applications in foods system and simulated gastrointestinal condition. *Food Hydrocolloids.* 2018;84:450–7. doi:10.1016/j.foodhyd.2018.06.025. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X17319823>

22. Silva JFM, Prado G, Abrantes FM, Soares NFF, Silva MV, Junqueira RG. Utilização de filme de quitosana para o controle de aflatoxinas em amendoim. *Bragantia* [Internet]. 2015;74(4):467-75. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-4499.0411>
23. Barros DM, Silva APF, Moura DF, Melo MA, Silva JHL, Rocha TA, *et al.* Utilização de quitosana na conservação dos alimentos. *Braz J Dev* [Internet]. 2020;6(4):1771731. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n4-081>
24. Rasooli I, Rezaei MB, Allameh A. Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus × porlock*. *Food Control* [Internet]. 2006;17(5):359-64. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.01.005>
25. Medeiros JAC. Cobertura comestível bioativa de gel e cloridrato de quitosana: biotecnologia ecossustentável para controle de contaminação fúngica em uvas de mesa [tese]. Recife (PE): Universidade Federal de Pernambuco; 2023. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/54481>
26. Alcazar-Fuoli L, Mellado E. Ergosterol biosynthesis in *Aspergillus fumigatus*: its relevance as an antifungal target and role in antifungal drug resistance. *Front Microbiol.* 2013;3:439 [citado 2025 out 28]. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00439>
27. Alcantara SRC. Utilização de quitosana como biocida na agricultura em substituição aos agrotóxicos [dissertação]. João Pessoa (PB): Universidade Federal da Paraíba; 2011 [citado 2025 out 28]. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/tede/4507>
28. Souza RHFV. Síntese, caracterização e estudo de derivados anfífilos de quitosana: estudo *in vitro* contra os fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* [dissertação]. Rio de Janeiro (RJ): Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2013. Disponível em: <https://pantheon.ufrj.br/handle/11422/10345>
29. Cançado RA, Freitas RJS. Metodologia simplificada para detecção de aflatoxinas em milho. *Visão Acadêmica* [Internet]. 2002;3(2):95-102. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/academica/article/view/508/421>
30. Segura-Palacios MA, Méndez-Albores A, Torres-Castillo JA, López-Campos C, Moreno-Martínez E, *et al.* Use of natural products on the control of *Aspergillus flavus* and production of aflatoxins *in vitro* and on tomato fruit. *Plants (Basel)* [Internet]. 2021;10(12):2553. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants10122553>
31. Singh BK, Tiwari S, Dubey NK, Das S, Deepika S, Dwivedy AK, *et al.* Chitosan-encompassed *Aniba rosaeodora* essential oil as innovative green candidate for antifungal and antiaflatoxigenic activity in millets with emphasis on cellular and its mode of action. *Front Microbiol* [Internet]. 2022;13:970670. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.970670>
32. Deepika S, Singh A, Chaudhari AK, Das S, Dubey NK. Nanoencapsulated *Monarda citriodora* Cerv. ex Lag. essential oil as potential antifungal and antiaflatoxigenic agent against deterioration of stored functional foods. *J Food Sci Technol* [Internet]. 2020;57(8):2863-76. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7316916/>

33. Aparicio-Garcia PF, Valencia-Chamorro SA, Palou L, Pérez-Gago MB. dible chitosan/propolis coatings and their effect on ripening, development of *Aspergillus flavus*, and sensory quality in fig fruit during controlled storage. *Plants (Basel)*. 2021;10(1):112 [citado 2025 out 28]. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants10010112>
34. Alarjani KM, Al-Saadi M, Al-Saeed R, Alzubaidi MA, Alhazmi HA, Khan AA, *et al.* Anti-MRSA and biological activities of propolis concentrations loaded to chitosan nanoemulsion for pharmaceuticals applications. *Pharmaceutics*. 2023;15(10):2386 [citado 2025 out 28]. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15102386>
35. Chaudhari AK, Singh VK, Das S, Dwivedy AK, Deepika S, Dubey NK *et al.* Fabrication, characterization, and bioactivity assessment of chitosan nanoemulsion containing allspice essential oil to mitigate *Aspergillus flavus* contamination and aflatoxin B1 production in maize. *Food Chem*. 2022;372:131221. [Internet]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131221>