

INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO GAMA EM SEMENTES DE MILHO (*Zea mays* L) PARA O CONTROLE DE MICOTOXINAS

Maria Allana Juca Rodrigues da Silva¹
Ivanesa Gusmão Martins Soares²
Tatiane de Lima Nunes³
Patrícia Barbosa Pereira⁴
Helder Santos de Figueirêdo⁵

RESUMO

O milho (*Zea mays* L) é um dos grãos mais consumidos no Brasil e no mundo, com grande influência no agronegócio devido sua versatilidade e seu valor nutricional, podendo ser utilizado na alimentação humana e de animais, além de ser componente básico na indústria para fabricação de diversos produtos. Apesar da inestimável importância socioeconômica, os grãos de milho estão sujeitos a diversos fungos produtores de micotoxinas que são prejudiciais tanto a saúde pública quanto ao comércio de exportação. Com o intuito de se obter o controle dessas toxinas, o presente estudo utilizou tratamento através da radiação gama oriunda de fonte Co⁶⁰, com doses de 2 kGy, 5 kGy, 10 kGy e a dose controle (não irradiado), após a irradiação foi realizado o método de plaqueamento direto e ao sétimo dia realizada a análise microbiológica, na qual foi possível observar que ocorreu maior inibição fúngica nas doses maiores e que a dose de 10 kGy permitiu inibição de 100% dos fungos dentro das condições estudadas.

Palavras-chave: Radiação gama. Grãos de milho. Conservação. Fungos

ABSTRACT

Corn (*Zea mays* L) is one of the most consumed grains in Brazil and in the world, with great influence in agribusiness due to its versatility and nutritional value, being able to be used in human and animal feeding, besides being a basic component in the industry for manufacturing of various products. In spite of the inestimable socioeconomic importance, corn kernels are subject to several fungi that produce mycotoxins that are harmful to both public health and export trade. In order to obtain the control of these toxins, the present study used gamma radiation from Co⁶⁰ source, with doses of 2 kGy, 5 kGy, 10 kGy and the control dose (non-irradiated), after irradiation a direct plating method and on the seventh day, the microbiological analysis showed that greater fungal inhibition occurred at higher doses and that the 10 kGy dose allowed 100% inhibition of fungi under the conditions studied.

Keywords: Gamma radiation. Corn grains. Conservation. Fungi

¹ Tecnóloga em Radiologia/ FIP. Paraíba, Brasil. E-mail: allanajuka@gmail.com

² Professora Doutora do Curso Superior de Tecnologia em Radiologia das FIP, Patos, Paraíba, Brasil. E-mail: ivanesagusmao@ymail.com

³ Biomédica, Doutoranda em psicologia social, Faculdades Integradas de Patos, Patos – PB. E-mail: esminharocha@hotmail.com.

⁵ Tecnólogo em Radiologia/FIP. Paraíba, Brasil. E-mail: heldsantos2012@gmail.com

INTRODUÇÃO

O milho, cientificamente nomeado *Zea mays* L, é um dos principais grãos cultivados, e dispõe de uma grande influência no agronegócio a nível mundial. Considerando à ordem de produção de grãos, o milho é o segundo mais produzido no Brasil (AGRIANUAL, 2006; CONAB, 2014).

Segundo Cruz et al. (2008) e dados da Embrapa (2006) além da relevância no agronegócio, o milho assume uma importância socioeconômica ainda maior devido sua matéria-prima ser muito versátil e de baixo custo. Este cereal apresenta ainda, um elevado valor nutricional, podendo ser empregado tanto na alimentação humana quanto em várias espécies de animais de grande e pequeno porte, além de ser utilizado na indústria, como um componente básico na fabricação de utensílios, bebidas e combustível.

No território brasileiro, o cultivo do grão de milho é tipificado por duas épocas. A primeira safra que acontece no período chuvoso, que varia no final de agosto, na região Sul, até os meses de outubro/novembro, no Sudeste e Centro-Oeste. Todavia no nordeste esse período ocorre no início do ano. A segunda safra (safrinha) é plantada extemporaneamente. O milho segunda safra não deve ser plantado em sequência ao da primeira, devido ao aumento do risco de contaminação, como por exemplo, as podridões de colmo (MELO, 2011).

Os grãos de milho estão sujeitos a diversos fungos prejudiciais, durante as diferentes fases de plantio e colheita, assim como no armazenamento, e estes ocasionam mudanças químicas e nutricionais, perda da qualidade e a produção de micotoxinas. De acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação (FAO), o problema fitossanitário com micotoxinas ocorre mundialmente. Fato que também pode ser observado em estudos realizados por Sassi (2015) o qual através de suas pesquisas chegou a uma estimativa de que 25 a 30% dos alimentos consumidos no mundo apresentam contaminação por fungos, acarretando prejuízo anual de 1,4 bilhões de dólares incluídos gastos com a saúde pública (RAMOS, 2014).

Bento et al (2012) afirma que para a agricultura, foram reconhecidas mais de quinhentas micotoxinas. Essas toxinas são substâncias químicas tóxicas produzidas por fungos filamentosos, que através do consumo, contato ou inalação, afetam significativamente a saúde humana e animal, além de conter elevada atividade mutagênica, carcinogênica e teratogênica. Diversos tipos de fungos podem produzir micotoxinas, entretanto, as toxinas mais prejudiciais são frequentemente geradas pelos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. Estes fungos agem nos grãos de milho e prolifera podridão, o que prejudica sua

comercialização tanto no mercado interno quanto no de exportação. A existência do fungo no alimento não quer dizer que haja obrigatoriamente a micotoxina, assim como, a toxina pode estar presente no alimento mesmo na inexistência do fungo (RAMOS et al, 2014; ALMEIDA, 1991; MAZIERO; BERSOT, 2010).

Logo, dentre as tecnologias de conservação de alimentos considerada eficazes no controle fitossanitário, no aumento do tempo de prateleira e tem ganhado destaque é o tratamento com radiação ionizante (do tipo gama). As doses são antecipadamente estipuladas, de modo que, todas as características físico-químicas e nutricionais sejam preservadas. A irradiação dos alimentos a nível industrial ocorre em um lugar apropriado que contém sala de irradiação, piscina de armazenamento, sistema transportador, console de controle e depósito para separar o material irradiado. Todos os alimentos que passaram pelo processo de irradiação são deslocados ao interior da câmara de radiação onde esta localizada o elemento radioativo, cada alimento recebe uma dosagem de radiação gama pré-estabelecida através de cálculos (MENDES et al. 2012; COSTA, 2016).

A principal fonte de radiação gama utilizada é o Cobalto-60 (Co^{60}) devido a sua disponibilidade, custo, apresentar-se na forma metálica e ser insolúvel em água, possibilitando uma maior segurança ambiental. A unidade de medida utilizada é o Gray (Gy) ou quilogray (kGy), sendo que um Gray equivale a um Joule de energia por quilograma de alimento irradiado (COSTA, 2016).

Os alimentos não tem contato direto com o elemento radioativo e o símbolo chamado de Radura deve está presente nos rótulos da embalagem dos alimentos irradiados, assim além de representar um cumprimento à legislação nacional, também em respeito ao consumidor. Devem constar na embalagem os dizeres: “alimento tratado por processo de irradiação” (COSTA 2016; ANVISA, 2001).

A ingestão de alimentos irradiados não apresenta efeitos nocivos à saúde humana. Desde que seja identificado qual o limiar de dose para cada alimento estudado, ou seja, a dose permissível para se alcançar a eliminação atingir a finalidade de eliminar agentes decompositores e patogênicos (BRASIL, 2001).

Diante do exposto, o presente estudo tem como meta a avaliação da influência da radiação gama na inibição dos fungos patogênicos nos grãos de milho, no intuito de oferecer ao consumidor um alimento de qualidade e ao mesmo tempo fortalecer o agronegócio.

METODOLOGIA

MATÉRIA PRIMA

Esta pesquisa é de natureza básica do tipo descritiva-qualitativa de caráter não documental, que foi realizado por meio da análise microbiológica de grãos de milho (*Zea mays* L.), os quais foram coletados na fase de maturação fisiológica, estágio onde o grão apresenta a camada negra, no cultivo localizado no Sítio Emas, na cidade de Diamante- PB. O plantio foi realizado em 10/11/2017, sendo o mesmo conduzido em regime de irrigação, sem o uso de adubação no seu manejo, ou seja, um alimento orgânico. Como critério de inclusão, os grãos terem sido cultivados na mesma região, mesmo cultivo e condições climáticas, e recebido os mesmos critérios de irrigação. Como critério de exclusão, foram desconsiderados os grãos que apresentaram aparência externa comprometida por danos mecânicos, brotamento ou podridão.

Em seguida, os grãos foram separados em sacos plásticos de polietileno de baixa densidade, em conformidade com a dose a ser aplicada. Desde modo foram utilizados 240 grãos de milho (*Zea mays* L.), os quais foram divididos em quatro grupos representados por suas respectivas doses: Controle (0,00); (2,00 kGy); (5,00 kGy) e (10,00 kGy), sendo cada grupo constituído por quatro repetições contendo cada uma delas 15 grãos, o que totaliza 60 grãos por tratamento aplicado.

IRRADIAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

Os grãos foram transportados em bolsa térmica ao DEN-UFPE (Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco) para serem tratados no irradiador tipo Gamma Cell, Modelo 220, Excel MDS Nordion, cuja taxa no momento da irradiação foi em torno de 2,043 kGy/h, utilizando fonte Co⁶⁰. Em seguida, foram transportados para armazenamento sob temperatura de $\pm 25^{\circ}$ C, no Laboratório de Microbiologia das Faculdades Integradas de Patos – PB.

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Foi realizada através do método de plaqueamento direto, ou seja, foram utilizados no total 240 grãos, sendo distribuídos 60 grãos para cada dose de radiação (2, 5,10 kGy) e a dose

controle não irradiada, com 4 repetições para cada tratamento, totalizando 16 amostras em placas de petri. Nestas, foram distribuídos 15 grãos na superfície do meio de cultura BDA (Ágar Dextrose Batata) para identificação na microscopia, no Laboratório de Microbiologia das Faculdades Integradas de Patos – PB.

De acordo com Brasil (2009) na Regra de Análise de Sementes, a análise é realizada após sete dias do plaqueamento direto do experimento.

ESTATÍSTICA DOS DADOS

Os resultados encontrados foram submetidos à análise descritiva qualitativa conforme Gomes (2002) e expressos em percentual (%) de incidência dos fungos nos respectivos tratamentos aplicados. Para o cálculo de incidência dos fungos, foi adotada a Regra de Análise de Sementes por Brasil (2009) com a expressão:

$$IA (\%) = (A/B)*100$$

IA = percentual de incidência do fungo

A = nº de incidência do fungo

B = nº total de repetição por tratamento

RESULTADOS E DISCURSSÃO

Por meio da análise qualitativa dos dados, foi possível observar que houve a ocorrência dos fungos *Curvularia spp.*, *Cladosporium spp.*, *Microsporum spp.*, e *Fusarium Graminearum*. Com os respectivos percentuais 20%, 20%, 13,3% e 14%, conforme a tabela 1. Também constatou-se que a irradiação a partir de 5 kGy conseguiu minimizar a germinação nas sementes de milho, no entanto, com a dose de 10 kGy foi possível atingir 100% de inibição, que pode contribuir para o aumento do tempo de conservação.

Tabela 1- Percentual de incidência fungica de acordo com os tratamentos aplicados.

Dose (kGy)	Fungos	Incidência (%)
1. Controle (0,00)	<i>Curvularia spp</i>	20
	<i>Cladosporium spp</i>	20
2. (2,00)	<i>Microsporium spp</i>	13,3
3. (5,00)	<i>Fusarium Graminearum</i>	14
4. (10,00)	-	-

Fonte: Os autores, 2018.

Segundo Prado (2005), os principais gêneros de fungos de ambiente são *Cephalosporium*, *Fusarium*, *Gibberella*, *Nigrospora*, *Helminthosporium*, *Alternaria* e *Cladosporium*, que apoderam dos grãos e sementes durante o amadurecimento, causando destruição antes da colheita.

No presente trabalho foi verificado que no tratamento controle (não irradiado) houve crescimento de fungos, com incidência de 20% do gênero *Curvularia spp.*, assim o *Cladosporium spp.* com o mesmo percentual de incidência.

De acordo com Costa (2016), em seus estudos com mix de farinha, quando analisou a linhaça, observou que na dose controle houve o aparecimento de *Curvularia spp.* Do mesmo modo na pesquisa de Bento et al (2012) quando avalia a microbiota fúngica e espécies produtoras de micotoxinas em grãos de milho. Araújo (2010) define em sua pesquisa esses fungos como, fungos de campo, ou seja, os mesmos contaminam os grãos ainda em cultivo por estes necessitar de ambientes com umidade relativa superior a 80% .

Na dose de 2 kGy foi observado apenas a ocorrência de *Microsporium spp* com incidência de 13,3%, nenhum outro surgiu na menor dose, com exceção *Microsporium spp*, porém a mesma foi capaz de inibir os fungos *Curvularia spp* e *Cladosporium spp* que estavam presentes na dose controle . Logo, conforme o aumento da dose foi possível observar uma redução na ocorrência de fungos.

Prado et al. (2006) ao pesquisar os amendoins irradiados com radiação gama do Cobalto-60, observaram que em grãos irradiados com dose de 5 kGy houve uma redução da infecção fúngica, com uma total eliminação na 10 kGy. Estes dados estão em conformidade com os resultados encontrados na presente pesquisa, na qual foi alcançado redução fúngica com o aumento da dose de irradiação, tendo maior destaque as doses de 5 kGy e 10 kGy, esta última com 100% de inibição.

Costa (2011) evidencia no seu trabalho com amendoim quando trabalhou com a dose de 9 kGy, que as doses maiores de irradiação, é possível alcançar uma inibição total dos fungo e de germinação, suas pesquisas também corroboram com a presente pesquisa, que obteve o mesmo resultado.

Na presente pesquisa foi utilizado um alimento orgânico, ou seja, uma agricultura orgânica. Neves et al. (2004), vão definir a agricultura orgânica como um sistema de uso sustentável da unidade de produção, com objetivo a preservação ambiental em sua totalidade incluindo a qualidade de vida do homem. Haja em vista que, a utilização de fontes de radiação ionizante não é permitida pela agricultura orgânica. No entanto, foi observado no presente estudo, que apesar do alimento ser orgânico, o mesmo não está livre de agentes etiológicos, principalmente os fungos causadores de micotoxinas que afetam a saúde dos seres humanos, nessa perspectiva viu-se que a radiação ionizante teve um poder de inibição contra esses agentes, fato que consequentemente irá corroborar para o aumento da segurança alimentar.

CONCLUSÃO

De acordo com a presente pesquisa, observou-se que doses maiores permitem maior inibição fungica, e que a dose de 10 kGy apresentou-se mais satisfatória para o controle fitossanitário dos grãos de milho dentro das condições estudadas, ou seja, sem deixar de correlacionar os fatores intrínsecos e extrínsecos do alimento a ser tratado. Com os resultados encontrados neste estudo, é possível comprovar a eficiência do tratamento através da tecnologia de irradiação de alimentos, o que garante maior segurança alimentar e fortalecimento do mercado interno e externo.

Diante do exposto, o que pode ser recomendado para futuras pesquisas que envolvam a tecnologia de Irradiação de alimentos, no caso específico das sementes de milho (*Zea mays* L), será de grande importância associar análises físicas, físico-químicas, nutricionais e sensoriais, a fim de se alcançar maior precisão entre a dose de radiação aplicada e o alimento estudado.

REFERÊNCIAS

AGRIANUAL – **Anuário da Agricultura Brasileira** – 2006, Instituto FNP, 504 p, 2006.

ALMEIDA, R.M. A.; GAMBALE, W.; CORREA, B.; PAULA, C.R.; ASE VEDO, I. G. Mycoflora and aflatoxigenic species of *Aspergillus* spp. isolated from rice. **Rev. Microbiol.**, V. 22, p. 161-163,1991.

ARAÚJO, A. G. S; SANTOS, T. M. C; FILHO, A. M. E; CALHEIROS, A. K. L; MONTALDO, Y. C. Ocorrência de fungos de campo e de armazenamento em ingredientes e ração para tambaqui (*Colossoma macropomum*). **PUBVET**, v. 4 No. 35 p, 2010.

BENTO, L.F.; CANEPPELE, M.A.B.; ALBUQUERQUE, M.C.F.; KOBAYASTI, L.; CANEPPELE, C.; ANDRADE, P.J. Ocorrência de fungos e aflatoxinas em grãos de milho. **Rev Inst Adolfo Lutz**. São Paulo, 2012; 71(1):44-9.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Resolução nº 21**, de 26 janeiro 2001. Disponível em: <http://anvisa.gov.br/legis/resol/21_01rdc.htm>. Acesso em: 11 agosto. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009.p.289.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 21, de 26 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico para irradiação de alimentos.

Conab (2014) Companhia Nacional de Abastecimento. Safras / Séries Históricas. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 11 de novembro de 2017.

COSTA, Laury Francis. **Influência da Radiação Gama sobre Fungos Aflatoxigênicos e Composição Nutricional em Mix de Cereais e seus Componentes.** 2016. 95f. Tese de Doutorado - Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2016.

COSTA, Laury Francis. **Influência da Radiação Gama na Composição Nutricional e na Contaminação por *Aspergillus* Aflatoxigênicos em Amendoim.** 2011. 60f. Tese de Mestrado - Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2011.

CRUZ, J. C.; KARAM, D.; MONTEIRO, M.A.R.; MAGALHÃES, P.C. **A Cultura do Milho.** Embrapa Milho e Sorgo, Minas Gerais, Vol 1, 517p. 2008. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho.** EMBRAPA Milho e Sorgo. Sete Lagoas, Circular Técnica 75, 2006. 2 - 6p. FAOSTAT. Disponível em: Acesso em 05 Out. 2017.

FAO. Micotoxinas em grãos. Disponível em:
<<http://www.fao.org/wairdocs/X5012O/X5012o01.htm>>. Acesso em:05 de maio. 2018.

MAZIERO, M. T.; BERSOT, L. S. Micotoxinas em alimentos produzidos no Brasil. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande. v.12, n.1, p. 89-99, 2010.

MELO, Maruzete Pereira de. **Detecção de espécies de fusarium potencialmente Produtoras de micotoxinas em grãos de milho no Nordeste do Brasil**. 2011. 63f. Dissertação de Mestrado- Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco, 2011.

MENDES, M.C.; PINHO, R.G.V.; PINHO, E.V.R.V.; FARIA, M.V. Comportamento de híbridos de milho inoculados com os fungos causadores do complexo grãos ardidos e associação com parâmetros químicos e bioquímicos. **Rev do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais**, V. 8 N. 2, p. 275 - 292, Maio/Ago. 2012.

NEVES, M. C. P.; ALMEIDA, D. L. de; DE-POLLI, H.; GUERRA, J. G. M.; RIBEIRO, R. de L. D. **Agricultura orgânica - uma estratégia para o desenvolvimento de sistemas agrícolas sustentáveis**. Seropédica: EDUR, 2004. 98 p.

PAES, Maria C.D. Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho. **Rv Embrapa**. Minas Gerais, Circular 75, Pág 1-6, 2006.

PRADO, G.; CARVALHO, E. P.; MADEIRA, J. E. G. C.; MORAIS, V. A. D.; OLIVEIRA, M. S.; CORRÊA, R. F.; CARDOSO, V. N. Efeito da irradiação gama (Co-60) na frequência fúngica de amendoim in natura em função do tempo de prateleira. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 30, n. 5, p. 930-936, set./out., 2006.

PRADO, G. **Influência da radiação gama (⁶⁰Co) na microbiota fúngica e na aflatoxina B₁ em amendoim (*Arachis hypogaea* L.)** / Tese de doutorado em ciências dos alimentos. UFLA. Lavras-MG, 2005.

RAMOS, D.P; BARBOSA, R. M; VIEIRA, B. G. T. L; PANIZZI, R. C; VIEIRA, R. D. Infecção por *Fusarium graminearum* e *Fusarium verticillioides* em sementes de milho. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 44, n. 1, p. 24-31, jan./mar. 2014

SASSI, F.. Estudo sobre a presença de fungos e micotoxinas em barras de cereais e seus ingredientes. **Revista da Graduação**, v. 8, n. 2, 2015.