

25 e 26 de setembro de 2007



em Passo Fundo, RS

## QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE GRÃOS DE MILHO ARMAZENADOS EM SILOS VENTILÁVEIS COM AERAÇÃO NATURAL

Cibele Mariano Brehm<sup>1</sup>, Franciela Spier<sup>2</sup>, João Anaracy Santin<sup>3\*</sup>, Luiz Carlos Gutkoski<sup>2</sup>, Luiz Eichelberger<sup>4</sup>, José Antônio Portella<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Passo Fundo (UPF); <sup>2</sup>Laboratório de Cereais do Centro de Pesquisa em Alimentação da UPF; <sup>3</sup>Instituto de Ciências Exatas e Geociências da UPF; <sup>4</sup>Embrapa Trigo. \*Email: [santin@upf.br](mailto:santin@upf.br)

### RESUMO

O trabalho objetivou avaliar a incidência de fungos e a quantificação de micotoxinas em função do grau de umidade de colheita de grãos de milho e tempo de armazenamento em silos ventiláveis com aeração natural. Amostras de grãos de milho (*Zea mays*, L) do híbrido simples Pioneer 32R21 foram semeadas em três épocas espaçadas em dez dias, sendo a primeira semeadura realizada em 30/9/2005. A colheita foi realizada por colhedora John Deere 1165, e os grãos acondicionados em silos tipo alambrado ventilado e seco com ar natural forçado. Em cada silo foram acondicionados 4.200 kg de milho com 17,8%, 18,9% e 20,5% de umidade, respectivamente. As amostras de grãos foram coletadas periodicamente em três camadas internas de cada silo (60 cm, 160 cm, e 260 cm) a partir da base do silo. As análises de grau de umidade foram realizadas, no Laboratório de Análise de Sementes da Embrapa Trigo, das amostras colhidas nos dias 13, data da colheita, após a secagem, em 4 de abril (silo com 17,8%), 7 de abril (silo com 18,9%), 12 de abril (silo com 20,5%), com grau de umidade final de 14%. O armazenamento de grão tem por finalidade preservar a qualidade tecnológica dos mesmos. A incidência de fungos dos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium* foi determinada por plaqueamento direto de 400 grãos em ¼ do meio BSA. A quantificação de aflatoxinas, fumonisinas e zearalenona foi realizada por CLAE-EM. Os resultados revelaram a presença de micotoxinas na colheita e durante o armazenamento. Os fungos do gênero *Fusarium* apresentaram redução de incidência durante a secagem e estabilidade do armazenamento, ao passo que os gêneros *Aspergillus* *Penicillium* apresentaram pequena elevação.

Palavras-chave: *Zea mays*, fungos, micotoxinas, armazenamento.

### 1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um dos cereais de maior importância econômica e social para o estado do Rio Grande do Sul, em razão de sua participação na cadeia alimentar humana e animal.

O armazenamento de grãos de milho em silos tem o objetivo de manter a qualidade produto até o seu consumo ou industrialização. Os grãos de milho têm boa capacidade de armazenamento, e o tempo de sua conservação aumenta quando se reduzem a umidade e a temperatura da massa de grãos, sendo a umidade dos grãos o fator principal, sendo recomendado grau de umidade entre 13-14%.

A colonização por fungos em grãos ocorre na lavoura e nos armazéns e é uma das principais causas de deterioração do produto reduzindo seu teor de matéria seca, podendo ocorrer a formação de micotoxinas. As micotoxinas são substâncias tóxicas naturais e devem receber atenção especial por serem consideradas potenciais fontes de micotoxicoses em animais e humanos. Entre as micotoxinas que ocorrem em milho enfatizam-se as aflatoxinas produzidas por *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus* e as fumonisinas, produzidas por fungos de gênero *Fusarium*, sendo citadas com maior frequência as espécies de *F. moniliforme*, *F. proliferatum*, *F. nygamai*, *F. anthophilium* e *F. napiforme* e as zearalenona produzidas pela espécie *Fusarium graminearum* (NELSON et al., 1992). A pesquisa objetivou avaliar a incidência de fungos e a quantificação de micotoxinas na colheita e durante o armazenamento de grãos de milho.

## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 Material e métodos

O trabalho foi desenvolvido utilizando-se grãos de milho (*Zea mays*, L) do híbrido simples Pioneer 32R21, semeado em três épocas espaçadas em dez dias, sendo a primeira semeadura feita em 30/9/2005. A colheita foi realizada por colhedora John Deere 1165 e os grãos acondicionados, sem pré-limpeza, em três silos alambrados ventilados, secador com diâmetro de 1,5 m e 3,2 m de altura, equipados com ventilador acionado por motor de 1,5 HP, gerando fluxo de ar de 4,0 m<sup>3</sup>/min/t com os silos cheios. Em cada silo foram acondicionados 4.200 kg de milho. As análises foram realizadas nos dias 13, data da colheita, e 4 de abril (silo com 17,8%), 7 de abril (silo com 18,9%), 12 de abril (silo com 20,5%). Amostras foram coletadas nas camadas internas de cada silo (60 cm, 160 cm e 260 cm) a partir do fundo do silo.

As análises de grau de umidade foram realizadas no Laboratório de Análise de Sementes da Embrapa Trigo. A temperatura e a umidade relativa do ar ambiente foram monitoradas através da Estação Meteorológica da Embrapa Trigo durante o período de secagem. O grau de umidade foi determinado pelo método da estufa a 105 (± 3) °C.

Na avaliação da incidência de fungos a amostra laboratorial de grãos proveniente da partição foi desinfestada. Inicialmente os grãos foram imersos em etanol a 70% por dois minutos; em seguida, em solução de hipoclorito de sódio a 2% pelo mesmo período e após foram enxaguados duas vezes com água destilada. Os grãos foram dispostos em placas gerbox contendo meio de cultura ¼ de BSA (50 g de batata, 5 g de sacarose, 15 g de ágar e 500 ppm de sulfato de estreptomicina) por litro de meio de cultura, foram plaqueados quatrocentos grãos, arranjados em quatro repetições de quatro gerbox com vinte e cinco grãos; após, foram incubados em câmara de crescimento com temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas por um período de cinco a sete dias.

A quantificação das micotoxinas foi realizada pelo LAMIC – Laboratório de Análises Micotoxicológicas da UFSM pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa. Os resultados foram expressos em µg/kg = ppb. O laboratório é credenciado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (Port. 34 de 23 de agosto de 2000. D.O.U., Secção 1, p. 168 de 30 de agosto de 2000) e INMETRO (CRL 0189).

### 2.2 Resultados e discussão

Verifica-se pela Tabela 1 a ocorrência de fumonisina B1 e B2 nos grãos na colheita e ao final do período de armazenamento. A quantidade detectada foi considerada um valor elevado, porém, no Brasil, não existe regulamentação para essa micotoxina. Apesar de a fumonisina ser produzida por fungos do gênero *Fusarium*, considerados fungos de campo, foi preservada no período de armazenamento. Essa micotoxina é identificada com surtos de doenças e morte de animais, além de estar

estatisticamente correlacionada com o aumento do risco de câncer de esôfago em humanos consumidores de milho contaminado (MARASAS, 1995). Foi quantificada a presença de aflatoxinas consideradas carcinogênicas e de zearalenona com atividade estrogênica em humanos e animais.

**Tabela 1** - Ocorrência de micotoxinas em grãos de milho na colheita e no armazenamento

Silos	Grau de umidade	Micotoxinas						
		Colheita 13/03/2007						
camadas	%	Zea	AFB1	AFB2	AFG1	AFG2	FB1	FB2
<b>Silo A</b> 60 cm	20,0	-	1,0	ND	ND	ND	4896,1	1599,8
160 cm	20,8	-	ND	ND	ND	ND	712,6	263,6
260 cm	19,6	-	ND	ND	ND	ND	832,2	486,4
<b>Silo B</b> 60 cm	18,8	-	95,7	6,3	1,0	ND	2652,5	1316,9
160 cm	18,7	-	ND	ND	ND	ND	1651,1	560,8
260 cm	18,7	-	1,0	ND	ND	ND	2028,4	280,1
<b>Silo C</b> 60 cm	17,7	-	ND	ND	ND	ND	712,8	46,3
160 cm	18,0	-	ND	ND	ND	ND	617,4	73,1
260 cm	17,8	-	65,8	2,7	ND	ND	1279,9	98,1
22 dias – Início do armazenamento (04/04/2007)								
<b>Silo A</b> 60 cm	12,4	-	ND	ND	ND	ND	-	-
160 cm	12,9	-	49,4	3,7	8,3	ND	-	-
260 cm	14,8	-	191,7	9,5	21,2	1,8	-	-
<b>Silo B</b> 60 cm	12,4	-	21,8	1,0	ND	ND	-	-
160 cm	13,8	-	ND	ND	ND	ND	-	-
260 cm	14,4	-	62,6	5,1	3,0	ND	-	-
<b>Silo C</b> 60 cm	12,8	-	ND	ND	ND	ND	-	-
160 cm	12,9	-	1,8	ND	ND	ND	-	-
260 cm	13,8	-	5,0	ND	ND	ND	-	-
112 dias de armazenamento (04/07/2007)								
<b>Silo A</b> 60 cm	13,6	40,3	ND	ND	ND	ND	14134,0	2619,0
160 cm	13,6	20,9	44,4	3,4	ND	ND	20257,0	5954,0
260 cm	14,1	224,0	188,0	12,0	18,0	2,9	2436,0	248,0
<b>Silo B</b> 60 cm	13,1	66,2	13,6	ND	ND	ND	1982,0	609,0
160 cm	13,8	14,0	3,0	ND	ND	ND	9054,0	2016,0
260 cm	14,1	64,6	ND	ND	ND	ND	2000,0	190,0
<b>Silo C</b> 60 cm	13,5	ND	2,1	ND	ND	ND	2105,0	256,0
160 cm	13,6	24,0	ND	ND	ND	ND	1724,0	583,0
260 cm	13,9	10,0	ND	ND	ND	ND	1260,0	432,7

O percentual de incidência de fungos da colheita do milho (Tabela 2) revela que estes colonizam os grãos ainda na lavoura, durante o desenvolvimento e a maturação, quando apresentam elevado grau de umidade. A espécie mais incidente foi o *Fusarium moniliforme*, embora tenha sido observada a incidência de *F. graminearum*, *Penicillium* sp e *Aspergillus* sp, todos classificados como toxigênicos.

O período de armazenamento revela variações de incidências de fungos. Desse modo, se observa redução de incidência das espécies de *F. graminearum* e de *F. moniliforme*, ao passo que ocorre aumento de incidência de *Penicillium* sp. Santin et al. (2004) verificaram que a sobrevivência do *F. moniliforme* foi diminuída em sementes de milho armazenado por um período de doze meses sob condições de temperatura e umidade relativa não controladas. O *Fusarium* é considerado um fungo de campo, por isso não se desenvolve durante o armazenamento, exceto ocasionalmente, em milho armazenado com alto teor de umidade ou que foi reumidificado.

A incidência dos fungos dos gêneros *Fusarium*, *Penicillium* e *Aspergillus*, determinada em grãos de híbridos oriundos de lavouras comerciais conduzidas de diferentes manejos, pode ser atribuída a restos culturais de milho infectado remanescente sobre a superfície do solo. Pela sua capacidade de habitar o solo, restos culturais e hospedeiros secundários, os fungos sobrevivem e infectam, por via sistêmica, os grãos de milho. A

semente infectada, os restos culturais e as plantas voluntárias são considerados as principais fontes de inóculo dos fungos não controlados pelo sistema de rotação de culturas.

Os fungos do gênero *Aspergillus* sp apresentaram baixa incidência nas amostras de grãos, embora ocorra o início da infecção ainda na lavoura, podendo comprometer a qualidade do produto antes de chegar aos silos e ao armazém ou durante o armazenamento, em condições favoráveis. O fungo *Penicillium* sp apresentou elevada incidência, porém se observou variação entre as amostras, o que pode ser atribuído ao grau de umidade dos grãos.

**Tabela 2** - Incidência de fungos patogênicos em grãos de milho na colheita e após secagem com ar natural forçado e durante o armazenamento

Incidência média de fungos (%)					
COLHEITA (16/03/2007)					
Silos	Grau de umidade (%)	<i>Aspergillus</i> sp	<i>Fusarium Graminearum</i>	<i>Furarium moniliforme</i>	<i>Penicillium</i> sp
Silo A	20,5	2,1	1,0	82,0	9,0
Silo B	18,9	2,5	4,5	61,0	5,1
Silo C	17,8	3,1	6,0	41	9,0
FINAL DA SECAGEM (04/04/2007)					
<b>Silo A</b> 60 cm	11,8	4,2	1,5	29	10,2
160 cm	12,8	5,8	0,8	24,5	7,8
260 cm	14,7	8,3	0,0	19,5	9,2
<b>Silo B</b> 60 cm	11,5	0,5	1,0	14,5	3,0
160 cm	12,8	2,2	0,2	14,2	4,5
260cm	14,2	5,0	0,0	18,2	4,5
<b>Silo C</b> 60 cm	12,0	0,0	0,8	13,0	9,0
160 cm	13,5	1,5	0,0	15,0	2,0
260 cm	14,1	1,8	0,0	10,5	3,0
202 DIAS DE ARMAZENAMENTO					
<b>Silo A</b> 60 cm	12,9	4,2	0,0	23,0	11,0
160 cm	13,3	20,0	0,0	20,0	12,0
260 cm	14,3	23,0	0,0	20,0	10,2
<b>Silo B</b> 60 cm	12,8	2,0	0,0	20,0	7,0
160 cm	12,8	3,0	0,0	19,0	8,2
260cm	15,2	1,8	0,0	22,8	10,0
<b>Silo C</b> 60 cm	12,6	1,2	0,5	13,0	2,5
160 cm	13,0	1,8	0,0	17,0	2,0
260 cm	14,2	9,0	0,0	14,5	8,0

### 3 CONCLUSÃO

Os fungos de pré-colheita que apresentaram a maior incidência foram da espécie de *Fusarium moniliforme*. Os grãos são contaminados com micotoxinas ainda na lavoura, predominando a presença de Fumonisin. Os silos alambrado ventilável secador possibilitam o controle do grau de umidade dos grãos e a incidência dos fungos.

### 4 REFERÊNCIAS

- MARASAS, W. F. O. Biology of the fumonisins: carcinogenic metabolites of *Fusarium* species. **Plant Pathology Journal**, U. K, v. 15, p. 251-258, 1995.
- NELSON, P. E. et al. Fumonisin B<sub>1</sub> production of by *Fusarium* species other than *F. moniliforme* in section *Liseola* and by some related species. **Appl. Environmental Microbiol**, Baltimore, v. 58, p. 984-989, 1992.
- SANTIN, J. A. et al. Efeito do retardamento da colheita de milho na incidência de grãos ardidos e de fungos patogênicos. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 3, n. 2, p. 182-192, 2004.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem ao MCT/CNPq pelo apoio financeiro e bolsas de iniciação científica e produtividade em pesquisa. Ao Grupo Fockink pelo apoio financeiro ao projeto.