

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA E DO AMBIENTE**

**ESTUDO DA INFLUÊNCIA DE MANEJOS PÓS-COLHEITA NA INCIDÊNCIA  
DE FUNGOS E MICOTOXINAS NO ARROZ (*Oryza sativa* L.)**

**Michele Hoeltz**  
Bióloga - UNISC

**Profa. Dra. Isa Beatriz Noll**  
(Orientadora)

**Prof. Dr. Eduardo Aléxis Lobo Alcayaga**  
(Co-orientador)

Porto Alegre, abril de 2005

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA E DO AMBIENTE**

**ESTUDO DA INFLUÊNCIA DE MANEJOS PÓS-COLHEITA NA INCIDÊNCIA  
DE FUNGOS E MICOTOXINAS NO ARROZ (*Oryza sativa* L.)**

Michele Hoeltz  
Bióloga

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção do grau de Mestre em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, ênfase em Microbiologia de Alimentos.

Porto Alegre, RS, Brasil  
Abril, 2005

Dedico esta conquista a todos que amo e que em algum momento, por atitudes ou palavras, me incentivaram a não desistir dos meus sonhos e a concluir mais esta etapa da minha vida.

### **Em especial**

Aos meus pais, **Hilton e Dirce Hoeltz**,  
pelo incentivo e amor em todos os dias da  
minha vida.

A minha querida irmã, **Mirela Hoeltz**,  
um exemplo de dedicação e  
inteligência.

A minha orientadora, **Isa Beatriz Noll**, que  
sempre esteve ao meu lado, me incentivando e  
compreendendo meus defeitos.

Ofereço, também, àqueles que mais aguçaram a minha curiosidade, mostrando com suas lindas formas e cores, que ainda há muito a se aprender, os fungos.

## AGRADECIMENTOS

À **Fundação para Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pela bolsa de mestrado concedida.

Ao **Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA)**, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela estrutura disponibilizada.

Ao **Instituto Riograndense do Arroz (IRGA)**, pela parceria realizada e por todas as análises prestadas a este trabalho, em especial ao **Ms. Carlos Alberto Fagundes** e ao funcionário **João**.

À Empresa **Dryeration** Indústria, Comércio, Projetos e Representações LTDA, pela implantação de um sistema automatizado de leituras no silo testado.

Ao funcionário do ICTA, **Roberval Bittencourt**, pela colaboração e ajuda na preparação de reagentes e meios de culturas.

Aos amigos e colegas do curso de Microbiologia Agrícola e do Ambiente, pela troca importante de experiências e pela amizade, em especial a colega e amiga **Letícia Sopeña**.

Ao professor **Dr. Eduardo Aléxis Lobo Alcayga**, da Universidade de Santa Cruz do Sul, pela ajuda nas análises estatísticas.

Aos bolsistas e grandes amigos que colaboraram, aprenderam e ensinaram com esse trabalho, **Samira Emi Kitazawa**, **Eduardo Balardin**, **Sonia Antoniazzi**, **Giuliana de Moura Pereira** e **Samanta Guzzon**.

Em especial à professora, orientadora e amiga, **Dra. Isa Beatriz Noll**, por acreditar em mim e me dar esta e tantas outras oportunidades ao longo do mestrado, além da dedicação e do carinho na condução deste trabalho.

## ESTUDO DA INFLUÊNCIA DE MANEJOS PÓS-COLHEITA NA INCIDÊNCIA DE FUNGOS E MICOTOXINAS NO ARROZ (*Oryza sativa* L.)<sup>1</sup>

Michele Hoeltz  
Isa Beatriz Noll (Orientadora)

Cerca de 15% da safra de arroz é perdida anualmente, principalmente em práticas inadequadas de pós-colheita. Nesse contexto, a avaliação de técnicas de secagem e armazenamento é necessária em função das perdas quali e quantitativas de grãos, resultantes do desenvolvimento de fungos. O objetivo desse trabalho foi analisar a contaminação fúngica e por micotoxinas do arroz submetido aos sistemas de secagem intermitente e estacionário, com armazenamento em sacaria e em silo-secador, avaliando o comportamento das principais variáveis de influência no processo. O trabalho foi realizado entre os meses de maio de 2003 a maio de 2004. As amostras de arroz com casca foram coletadas a cada dois meses, em duplicatas. Foram, ainda, analisadas amostras de arroz branco polido e parboilizado de ambos sistemas. O número de colônias de bolores e leveduras foi determinado e a capacidade produtora de micotoxinas dos isolados do gênero *Aspergillus* foi investigada. A detecção de aflatoxinas, ocratoxina A, zearalenona e citrinina foi realizada por cromatografia em camada delgada. Os grãos secados no sistema estacionário apresentaram maior contagem de colônias fúngicas. Enquanto no sistema intermitente, a contaminação foi mais uniforme ao longo do armazenamento. Predominaram representantes do gênero *Penicillium* nos dois sistemas, principalmente *P. commune* e *P. islandicum*. Entre os isolados do gênero *Aspergillus*, destacou-se *A. flavus*. Foram encontrados 7 (13, 20%) isolados de *A. flavus* produtores de aflatoxina B<sub>1</sub>, mas não foram detectadas micotoxinas nas amostras. A umidade dos grãos afetou significativamente a contaminação fúngica no manejo intermitente e no terço superior (altura 2) do silo-secador. A temperatura no interior do silo influenciou a contaminação no terço inferior (altura 1).

Palavras-chave: arroz, secagem, armazenamento, fungos, micotoxinas

<sup>1</sup>Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente – Microbiologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (77p.) Abril, 2005.

## STUDY OF POST-HARVEST METHODS INFLUENCE ON FUNGI AND MYCOTOXINS INCIDENCE IN RICE IN RICE (*Oryza sativa* L.)<sup>1</sup>

Michele Hoeltz

Isa Beatriz Noll (supervisor)

Inefficient post-harvesting activities account for at least 15% yearly of losses in rice crops. In this context, the evaluation of drying and storage methods is necessary in regard qualitative and quantitative losses, as consequence of fungi development. The objective of this work was to analyze the fungi and mycotoxins contamination of rice submitted to intermittent drying system with storage in bags and stationary bin drying and storage, evaluating the influence variables behavior in the process. The work was done between may 2003 to may 2004. Samples of rough rice were collected to each two months, in duplicates and also collected for processing (polished and parboiled). The number of fungi and yeasts colonies was determined and the *Aspergillus* toxigenic potential was investigated. Aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and citrinin detection was carried out by thin-layer chromatography. In the intermittent method, the fungi contamination was more stable. *Penicillium* genus was predominant in the two methods, mainly *P. commune* and *P. islandicum*, while *A. flavus* was predominant among *Aspergillus* genus. Seven (13,2%) isolates of *A. flavus* produces aflatoxin B<sub>1</sub>, but it had not been detected mycotoxins in the samples. Grain moisture influenced significantly fungal contamination in the intermittent handling and in height two of the bin, while temperature inside the bin influenced contamination in height one.

Keywords: rice, drying, storage, fungi, mycotoxins

<sup>1</sup>Master of Science Dissertation in Agricultural and Environmental Microbiology – Food Microbiology, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (77p.) April, 2005.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS .....	iii
1 INTRODUÇÃO .....	01
2 OBJETIVOS .....	03
2.1 Objetivo Geral.....	03
2.2 Objetivos Específicos .....	03
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	05
3.1 Arroz: história, importância e aspectos gerais.....	05
3.2 Manejos pós-colheita.....	07
3.2.1 Secagem do arroz .....	07
3.2.2 Armazenamento de grãos .....	10
3.3 Perdas de grãos em manejos pós-colheita.....	11
3.4 Micoflora de grãos armazenados .....	13
3.5 Fungos Toxigênicos .....	15
3.6 Principais fatores que influenciam o desenvolvimento fúngico e a produção de micotoxinas.....	17
3.6.1 Umidade .....	18
3.6.2 Temperatura .....	20
3.6.3 Atividade de água (aw).....	22
3.6.4 Condições físicas do grão .....	23
3.6.5 Atmosfera favorável.....	24
3.6.6 pH.....	25
3.7 Micotoxinas.....	26
3.8 Micotoxinas em arroz.....	27
3.9 Legislação Brasileira.....	29
4 MATERIAIS E MÉTODOS .....	30
4.1 Coleta das amostras.....	32
4.2 Fatores analisados .....	33
4.3 Enumeração e isolamento da micoflora.....	34
4.4 Identificação dos isolados fúngicos .....	34
4.5 Detecção do potencial toxigênico de <i>Aspergillus</i> spp.....	35
4.6 Determinação de micotoxinas nas amostras .....	35
4.7 Análises confirmatórias.....	37
4.8 Análise estatística.....	38
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	39
5.1 Amostragens .....	39
5.2 Enumeração e isolamento da micoflora.....	40
5.3 Detecção do potencial toxigênico de <i>Aspergillus</i> spp.....	49
5.4 Determinação de micotoxinas nas amostras .....	50

5.5 Fatores analisados: Manejo Intermitente.....	51
5.5.1 Umidade dos grãos (% bulbo úmido).....	51
5.6 Fatores analisados: Manejo Estacionário.....	53
5.6.1 Umidade dos grãos (% bulbo úmido) e temperatura da massa de grãos .....	53
5.6.2 Temperatura e umidade no interior do silo-secador .....	60
5.7 Grãos danificados e picados/manchados .....	65
6 CONCLUSÕES .....	69
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	71



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Armazenamento em sacaria referente ao manejo intermitente de secagem.....	31
FIGURA 2. Silo metálico referente ao manejo de secagem e armazenamento estacionário, indicando as duas alturas analisadas.....	32
FIGURA 3. Fluxograma do método de extração de micotoxinas utilizado no trabalho.....	36
FIGURA 4. Cubas utilizadas para o desenvolvimento de placas cromatográficas por CCD.....	37
FIGURA 5. Contaminação fúngica, durante o período analisado, no manejo intermitente de secagem e armazenamento em sacaria.....	40
FIGURA 6. Contaminação fúngica, durante o período analisado, nas duas alturas do silo-secador, no manejo de secagem estacionário e armazenamento no próprio silo.....	42
FIGURA 7. Incidência dos gêneros isolados na amostra inicial (Época 0) e durante a secagem e o armazenamento os dois manejos analisados.....	43
FIGURA 8. Incidência das espécies de <i>Penicillium</i> e <i>Aspergillus</i> encontradas na amostra inicial (E0).....	44
FIGURA 9. Placa cromatográfica, sob luz ultra-violeta, após a confirmação da identidade da aflatoxina B <sub>1</sub> produzida pelos isolados de <i>A. flavus</i> .....	50
FIGURA 10. Umidade do grão durante o manejo intermitente de secagem e armazenamento em sacaria.....	52
FIGURA 11. Influência da umidade dos grãos na contaminação fúngica durante o armazenamento em sacaria.....	53
FIGURA 12. Umidade dos grãos do terço inferior durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.....	54
FIGURA 13. Umidade dos grãos do terço superior durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.....	54
FIGURA 14. Influência da umidade dos grãos da altura 1, na contaminação fúngica, durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.....	55
FIGURA 15. Influência da umidade dos grãos da altura 2, na contaminação fúngica, durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.....	56
FIGURA 16. Temperatura da massa de grãos no terço inferior do silo durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.....	57
FIGURA 17. Temperatura da massa de grãos no terço superior do silo durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.....	57
FIGURA 18. Influência da temperatura da massa de grãos na contaminação fúngica da altura 1, durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.....	58
FIGURA 19. Influência da temperatura da massa de grãos na contaminação fúngica da altura 2, durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.....	58

FIGURA 20. Temperatura no interior do silo-secador durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento. ....	60
FIGURA 21. Umidade no interior do silo-secador durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.....	61
FIGURA 22. Influência da temperatura do interior do silo-secador na contaminação fúngica da altura 1, durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.....	61
FIGURA 23. Influência da temperatura do interior do silo-secador na contaminação fúngica da altura 2, durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.....	62
FIGURA 24. Influência da umidade do interior do silo-secador na contaminação fúngica da altura 1, durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.....	64
FIGURA 25. Influência da umidade do interior do silo-secador na contaminação fúngica da altura 2, durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.....	64
FIGURA 26. Percentual de defeitos nos grãos branco-polido durante o manejo intermitente de secagem e armazenamento.....	66
FIGURA 27. Percentual de injúrias nos grãos parboilizados durante o manejo intermitente de secagem e armazenamento.....	66
FIGURA 28. Percentual de injúrias nos grãos branco-polido durante o manejo estacionário de secagem e armazenamento.....	67
FIGURA 29. Percentual de injúrias nos grãos parboilizados durante o manejo estacionário de secagem e armazenamento.....	67

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Grau de umidade (%), em base úmida, recomendado para o armazenamento a granel de diversas espécies de grãos e diferentes períodos de estocagem, em condições padronizadas de 65% de umidade relativa e temperatura ambiente. Para o armazenamento em sacaria, diminui-se 0,5 a 1,0% o teor de umidade, para manter-se similar conservabilidade.....	08
TABELA 2. Temperatura do ar de secagem (°C), na entrada do secador, para diferentes sistemas de secagem.....	09
TABELA 3. Micotoxinas produzidas pelas espécies de <i>Aspergillus</i> .....	16
TABELA 4. Micotoxinas produzidas pelas espécies de <i>Penicillium</i> .....	17
TABELA 5. Micotoxinas produzidas pelas espécies de <i>Fusarium</i> .....	18
TABELA 6. Teor de umidade de alguns grãos em equilíbrio com umidades relativas de 65% a 85% em temperaturas de 29 a 25°C (em percentagem).....	19
TABELA 7. Condições de crescimento para alguns fungos de armazenamento.....	21
TABELA 8. Produção de diferentes aflatoxinas por <i>Aspergillus flavus</i> a diferentes temperaturas.....	21
TABELA 9. Atividade de água (aw) mínima para o crescimento de diferentes microrganismos.....	23
TABELA 10. Composição da atmosfera e a formação de toxina.....	24
TABELA 11. pH necessário para o crescimento de algumas espécies fúngicas.....	25
TABELA 12. Prováveis lesões bioquímicas primárias e os eventos celulares na cascata de reações que promovem a injúria celular ou a sua desregulação por algumas micotoxinas.....	27
TABELA 13. Períodos das realizações das coletas nos dois manejos estudados nesse trabalho.....	39
TABELA 14. Percentual de incidência das espécies de <i>Penicillium</i> e <i>Aspergillus</i> durante o manejo intermitente.....	45
TABELA 15. Percentual de incidência das espécies de <i>Penicillium</i> e <i>Aspergillus</i> durante o manejo estacionário.....	46
TABELA 16. Percentual das espécies de <i>Aspergillus</i> e <i>Penicillium</i> isoladas das duas alturas do silo-secador.....	47
TABELA 17. Resultados da análise de regressão linear múltipla para a contaminação fúngica na altura 1, tendo como variáveis temperatura e umidade da massa de grãos.....	59
TABELA 18. Resultados da análise de regressão linear múltipla para a contaminação fúngica na altura 2, tendo como variáveis temperatura e umidade da massa de grãos.....	59

## 1 INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva do arroz passa por um excelente momento no Brasil. Com o incremento da produtividade favorecido pelas novas tecnologias adotadas no manejo dessa cultura, o país pode, em pouco tempo, apresentar-se como um celeiro, para alimentar a demanda interna e, inclusive, para competir com muita força no mercado internacional.

Devido a grande procura comercial pela maior produtividade e produtos com cada vez mais qualidade, a pesquisa de pontos críticos, relacionados às perdas na cadeia produtiva desse cereal, cresce cada vez mais.

Sabe-se que cerca de 15% do arroz produzido no mundo é perdido anualmente. Os principais fatores responsáveis por esse fenômeno ocorrem durante a colheita e em manejos pós-colheita, como o transporte e o armazenamento.

No Rio Grande do Sul, principal produtor brasileiro de arroz, a produção do cereal é realizada principalmente, por pequenos e médios produtores, que não possuem, lamentavelmente, condições econômicas e estruturais para a aplicação de manejos eficientes. Por isso, uma parte do arroz ainda é armazenada em sacaria depois de passar pela secagem intermitente. Outra forma que vem sendo bastante empregada utiliza secagem e

armazenamento no próprio silo e essa, depende de fatores psicométricos que devem ser avaliados diariamente, tornando dispendiosos sua implantação e todo o monitoramento.

Durante o armazenamento, os grãos são submetidos a variações ambientais de temperatura e umidade, ficando suscetíveis ao ataque de insetos, roedores e fungos, bem como à influência do tipo de manejo empregado.

O desenvolvimento fúngico em grãos armazenados pode ocasionar, entre outros danos, a deterioração, a perda do valor nutricional e a produção de micotoxinas, tornando o produto impróprio ao consumo e acarretando sérios prejuízos econômicos.

As micotoxinas resultam do metabolismo secundário de algumas espécies fúngicas, comumente encontradas no armazenamento e que podem causar danos agudos e/ou crônicos à saúde, tanto do homem como de animais. As principais micotoxinas que já foram observadas no arroz são as aflatoxinas, ocratoxina A, zearalenona, citrinina e fumonisinas.

Neste contexto, este trabalho se mostra relevante pois se propõe avaliar a qualidade microbiológica e toxicológica do arroz durante manejos de secagem e armazenamento bastante empregados pela cadeia orizícola, através da observação de fatores que influenciam esses processos, com o objetivo de contribuir para o melhoramento da eficácia dos mesmos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

No trabalho o objetivo geral foi avaliar dois manejos diferentes de pós-colheita do arroz: secagem intermitente com posterior armazenamento em sacaria e secagem estacionária com armazenamento no próprio silo-secador, em relação à contaminação fúngica e por micotoxinas.

### 2.2 Objetivos Específicos

→ Comparar os dois manejos estudados quanto à sua eficácia na redução da contaminação fúngica e por micotoxinas, bem como na manutenção da qualidade dos grãos durante o armazenamento;

→ Avaliar a contaminação fúngica do arroz com casca nos dois manejos pesquisados, identificando gêneros e espécies de *Aspergillus* e *Penicillium*;

→ Determinar o potencial toxigênico das espécies de *Aspergillus* isoladas;

→ Pesquisar a presença de aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>, ocratoxina A, zearalenona e citrinina no arroz com casca e no beneficiado pelos processos de pré-industrialização empregados;

→ Analisar se o beneficiamento dos grãos em branco-polido e parboilizado interferem na presença de micotoxinas;

→ Verificar as influências da temperatura e da umidade dos grãos, da umidade relativa e do percentual de grãos trincados e manchados, na contaminação fúngica e por micotoxinas.

## 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 3.1 Arroz: história, importância e aspectos gerais

O arroz (*Oryza sativa* L.) teve origem no sudoeste da Ásia, sendo as regiões de Bengala, Assam e Mianmar, na Índia, referidas como centros de origem dessa espécie. Da tribo *Oryzeae*, o mais importante é o gênero *Oryza* que engloba cerca de 23 espécies. *O. sativa* é considerada polifilética, resultante do cruzamento espontâneo de formas variadas (Embrapa Arroz e Feijão, 2004).

O arroz foi, provavelmente, o primeiro alimento e a primeira planta cultivada na Ásia, sendo posteriormente introduzido na Europa, na África e nas Américas. O Brasil é apontado como o primeiro país do continente americano a cultivar este cereal, iniciado pelos índios tupis. Entretanto, a prática da orizicultura no Brasil, de forma racional e organizada, aconteceu em meados do século XVIII (Embrapa Arroz e Feijão, 2004).

O ano de 2004, por determinação da Organização Mundial para a Agricultura e a Alimentação (FAO), organismo das Nações Unidas (ONU), foi o Ano Internacional do Arroz que teve como *slogan* “o arroz é vida”. O arroz é o alimento básico para 17 países da Ásia e do Pacífico, 8 da África, 7 da América Latina e do Caribe e 1 do Oriente Médio, fornecendo 27% da dieta calórica do mundo e 20% da proteína. Além disso, estima-se que mais de um bilhão de



lares na Ásia, na África, na América Latina e no Caribe dependem da atividade arrozeira como fonte alimentar; de emprego e renda (FAO, 2004).

Os constituintes do arroz são: amido, água, proteína, lipídeos, fibras, sais minerais e vitaminas (Schirmer, 2003). Sua composição química é vantajosa sob vários aspectos, conferindo a este cereal uma enorme versatilidade para o desenvolvimento de produtos alimentícios. Neste contexto, o arroz e produtos derivados, além de suprirem o organismo com calorias e nutrientes, apresentam benefícios à saúde. Como exemplo, pode-se citar: alimentos infantis à base de arroz, cujas proteínas são facilmente digeridas e possuem propriedades hipoalergênicas; outros produtos foram desenvolvidos devido à ausência de glúten no arroz, usados por portadores da doença celíaca. Pesquisas demonstram que o farelo do arroz ou o óleo dele extraído contêm substâncias capazes de prevenir doenças do coração e câncer; entre outros (Marquez, 2003).

De acordo com o Anuário Brasileiro do Arroz (2004), o Brasil como um todo, registra grandes avanços na colheita do arroz com o aumento da área plantada e também da produtividade. Entre as regiões, o Rio Grande do Sul se destaca, contribuindo com cerca de 50% de toda a produção nacional deste cereal, ou 25% daquilo que se produz na América Latina – o que corresponde a 1% de toda a produção mundial (Conab, 2004; Rigotto, 2004).

O Rio Grande do Sul tem uma agricultura diversificada devido aos tipos de solos, relevo e clima. A lavoura de arroz irrigado, na metade sul do estado, é a que apresenta maior expressão econômica representando uma área em torno de 950.000 ha cultivados anualmente (Macedo et al., 2003). São

seis as regiões orizícolas onde o sistema irrigado é empregado: Depressão Central, Fronteira Oeste, Campanha, Planície Costeira Interna, Planície Costeira Externa e o Litoral Sul, caracterizadas por diferentes condições edafoclimáticas.

## **3.2 Manejos pós-colheita**

### **3.2.1 Secagem do arroz**

A secagem constitui uma das principais operações no sentido de se obter um produto de boas características e deve ser realizada em menor tempo possível após a colheita dos grãos. Esse procedimento tem como finalidade reduzir o teor de umidade do produto até um nível adequado à sua estocagem por um período elevado (Puzzi, 2000).

Existem diversas formas de secagem do arroz, mas as mais usuais são a natural em terreiro, e artificiais em silos aerados e em secadores mecânicos (Groff, 2003).

Conforme Athié et al. (1998), os parâmetros que influenciam a taxa de secagem e a eficiência do processo são: a temperatura e umidade relativa do ambiente, temperatura e fluxo do ar de secagem e o grau de umidade inicial e final do produto (ideal de 12 - 13% para arroz com casca). Estes parâmetros influem no sistema de secagem de uma forma conjunta (Tabela 1).

A umidade de colheita dos grãos quase sempre é maior (entre 19 e 26%) do que a necessária para o armazenamento, o que torna a secagem uma operação praticamente obrigatória (Boemeke et al., 2001).

O emprego de calor excessivo, o uso de ar muito quente ou com alta umidade, a alternância de ar quente e frio, assim como o uso inadequado das

vazões de ar, durante o processo de secagem, podem ocasionar danos físicos, químicos e bioquímicos nos grãos de arroz (Brooker apud Elias, 2000).

De acordo com Athié et al. (1998) é necessário que a umidade relativa do ar de secagem seja inferior àquela em que o grão está em equilíbrio, para que o mesmo possa ceder água para o ambiente e secar. Além disso, a temperatura de secagem deve proporcionar a evaporação de água do grão em velocidade proporcional à migração de umidade do interior para a superfície do produto.

TABELA 1. Grau de umidade (%), em base úmida, recomendado para o armazenamento a granel de diversas espécies de grãos e diferentes períodos de estocagem, em condições padronizadas de 65% de umidade relativa e temperatura ambiente. Para o armazenamento em sacaria, diminui-se 0,5 a 1,0% o teor de umidade, para manter-se similar conservabilidade.

Espécie	Meses de Armazenamento			
	6	12	24	60
Feijão	14,5	13,5	12,5	11,5
Milho	14	13	12	11
Trigo, Sorgo, <b>Arroz</b> , Centeio, Aveia, Triticale	13,5	12,5	11,5	10,5
Azevém	13	12	11	10
Soja	12,5	11,5	10,5	9,5
Amendoim	12	11	10	9
Colza	9	8	7	7

Fonte: Elias, 2000.

A secagem intermitente é o método artificial mais empregado para a secagem de grãos de arroz no Rio Grande do Sul. Caracteriza-se pela passagem descontínua do ar aquecido (Tabela 2) pelas camadas de grão que recirculam no secador, permitindo que a transferência de água do centro para a periferia do grão se processe. Como há recirculação dos grãos no secador e o

contato ar-grão é descontínuo, observa-se alguma danificação mecânica e uma boa uniformidade de secagem (Milman et al., 2001; Boemke et al., 2001; Elias, 2000).

Outro método de secagem artificial que está sendo utilizado com êxito por muitos produtores é a secagem estacionária, realizada em silo-secador. Este sistema caracteriza-se pela passagem de ar forçado através da camada de grãos que permanecem parados no compartimento de secagem. Dos sistemas artificiais, é o único que pode utilizar ar não aquecido sendo esta dependente das condições psicométricas do ar ambiente. É um processo lento e tem como agravante o risco de desenvolvimento microbiano durante o processo (Fagundes, 2003a).

De acordo com a Sociedade Sul-brasileira de Arroz Irrigado (SOSBAI), se tratando de grãos, a temperatura do ar nos silos-secadores não deve ultrapassar 40°C e deve haver maior rigor no controle e uniformidade da temperatura, a fim de se reduzir os choques térmicos (Tabela 2)

TABELA 2. Temperatura do ar de secagem (°C), na entrada do secador, para diferentes sistemas de secagem.

Estacionário		Intermitente	
Grão	Semente	Grão	Semente
30-40	40	70-110	40-70

Fonte: Arroz Irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o sul do Brasil, 2003.

Segundo Barbosa et al. (2001), os combustíveis mais utilizados na secagem do arroz são os sólidos como a lenha e a casca, entretanto, esses não garantem uniformidade na secagem pois causam grandes oscilações na

temperatura durante o processo. Por esta razão, depois da liberação por parte do governo, a busca por combustíveis fluídos como o gás liquefeito de petróleo (glp), parece ser uma saída para esse problema.

Para Fagundes et al. (2001b), o glp pode vir a ocupar um grande espaço no complexo arroseiro do Brasil, em princípio na secagem dos grãos na propriedade rural, em cooperativas agrícolas e em prestadores de serviços e, num outro momento, em agroindústrias como a da parboilização.

### **3.2.2 Armazenamento de grãos**

Segundo Andrade et al. (2003), o armazenamento é parte integrante da cadeia produtiva de produtos agrícolas, sendo responsável pela preservação da qualidade dos grãos evitando perdas.

O armazenamento de grãos em pequenas quantidades pode ser efetuado em tonéis, bombonas plásticas, caixas e sacaria. O sistema convencional, mais aplicado no Brasil, é o armazenamento em sacaria que, embora não permita o manuseio automatizado, nem o controle da qualidade durante o processo, permite a estocagem de vários produtos na mesma construção, otimizando a estrutura do produtor (Elias, 2000).

O sistema de armazenamento para grandes quantidades é normalmente feito a granel, em silos adequados. Com este sistema, ganha-se tempo, evita-se perdas, faz-se o trabalho mais higiênico, podendo-se preservar as qualidades do produto por longos períodos de tempo (Puzzi, 2000; Elias et al, 2004).

Segundo Andrade et al. (2003), para pequenos e médios produtores, a aquisição de silos metálicos e a implantação do sistema dependem do seu poder aquisitivo, pois o custo dessa implantação é bastante elevado.

Ainda conforme esse autor, as interações entre fatores como temperatura, grau de umidade, concentração de gás, umidade relativa ambiente, tipo e condições do armazém, e características do sistema de aeração, grãos, insetos, ácaros, fungos e bactérias, fazem com que o produto armazenado se torne um ecossistema e dependendo dos níveis dos fatores e do grau das interações, o processo de deterioração pode ser acelerado ou não.

Em grandes volumes de grãos, armazenados a granel, se o conteúdo de água é baixo, o efeito da temperatura sobre os grãos não é muito pronunciado devido a sua baixa condutividade térmica. Entretanto, quando o volume é baixo ou estão em sacarias, o efeito da temperatura ambiente é maior e ocorre dentro de um período de tempo mais curto (Athié et al., 1998).

Conforme Elias (2000), a determinação do peso seco, da composição química, do grau de umidade e da temperatura dos grãos, da carga microbiana, da presença e ataque de pragas, das características higrométricas do ar, do teor de micotoxinas, do rendimento industrial, da classificação comercial, do valor nutricional e avaliação sensorial dos grãos de arroz constituem importantes parâmetros de controle de qualidade durante o armazenamento.

### **3.3 Perdas de grãos em manejos pós-colheita**

Segundo dados da FAO (2004), cerca de 15 a 16% da safra de arroz é perdida anualmente, principalmente durante operações críticas de pós-

colheita desses grãos, como a secagem, o armazenamento e o processamento.

Há muito o homem se defronta com a perda de produtos agrícolas como consequência do metabolismo do próprio grão, por causas físicas ou por ação de microrganismos, insetos, ácaros, roedores, aves e/ou outros agentes (Elias, 2000).

Das grandes lavouras de grãos de verão (arroz, soja, milho e feijão), o arroz apresenta maiores perdas, chegando a 22% onde, 12,6% se dá na colheita; 7% no armazenamento e 2,4% no processamento (Alonço, 2003).

Segundo Athié et al. (1998), as perdas que ocorrem após a colheita, em sua maior parte, se devem a infestações por insetos, deterioração por fungos e ataque por roedores e pássaros.

De acordo com Boemeke et al. (2001), as variedades de arroz cultivadas no Rio Grande do Sul apresentam alta produtividade e qualidade de consumo, entretanto, são suscetíveis a fatores adversos do meio e do manejo operacional, os quais podem provocar redução na qualidade do grão, com consequências no armazenamento, na industrialização e no consumo.

Quanto às perdas, de um modo geral, pode-se classificá-las em dois tipos, perda física – quando o produto sofre uma queda de peso por danos causados, principalmente, por insetos ou roedores – e perda da qualidade – quando as qualidades intrínsecas essenciais do produto são alteradas pela ação de fungos, fermentações, modificações organolépticas, contaminações por matérias estranhas, etc. (Puzzi, 2000).

De acordo com Groff (2003), a obtenção da qualidade envolve todo o processo de produção do arroz, começando pelo desenvolvimento de novas variedades de sementes, passando pelas práticas culturais, pelas técnicas de colheita, secagem e armazenagem e terminando no beneficiamento e embalagem.

### **3.4 Micoflora de grãos armazenados**

O ambiente de produtos armazenados é o ideal para o estabelecimento e o desenvolvimento de muitas espécies de insetos e microrganismos. Uma das características desses microrganismos é seu alto poder de proliferação e, embora presentes no campo em baixa porcentagem, multiplicam-se rapidamente, desde que tenham condições ambientais favoráveis (Molinié et al., 2004; Garcia et al., 2002). Neste contexto, os fungos são um dos principais responsáveis por perdas na qualidade do arroz durante o armazenamento (Druvefors & Schnürer, 2004; Bianchini et al., 2003; Coelho et al., 1999).

São organismos aclorofilados, saprófitas ou parasitas, unicelulares (leveduras) ou pluricelulares (bolors ou fungos filamentosos), mais tipicamente filamentosos. Possuem paredes celulares compostas de quitina e/ou celulose, além de outros carboidratos complexos. O crescimento é em geral apical, mas normalmente qualquer fragmento hifálico pode dar origem à outra formação micelial. As estruturas reprodutivas são diferenciadas das vegetativas, o que constitui a base da sistemática dos fungos onde cada estrutura apresenta uma variação morfológica muito grande (Putzke & Putzke, 1998).



Os fungos estão presentes em vários ambientes, incluindo o ar, a água, o solo e a poeira. Esta população é composta de espécies capazes de tornar um lote de sementes ou grãos totalmente sem valor, sob condições de ineficientes de armazenamento empregadas (Garcia et al, 2003; Taniwaki & Silva, 2001; Filho et al., 1995; Alexopoulos & Mims, 1979).

Os fungos que atacam grãos e sementes são divididos em dois grupos: fungos de campo e fungos de armazenamento. Fungos do primeiro grupo são espécies que contaminam grãos antes da colheita, pois necessitam uma umidade do grão acima de 30%, enquanto que os do segundo grupo contaminam os grãos após a colheita, com umidade entre 13 e 18% (Athié et al., 1998).

Os fungos de armazenamento normalmente não invadem os grãos antes da colheita, porém como esses microrganismos têm alto poder de propagação, podem se multiplicar em poucos dias, tendo condições ambientais favoráveis (Wetzel, 1987).

Os principais fungos de campo incluem as espécies dos gêneros *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium* e *Helminthosporium* e *Pullularia*. Os principais fungos de armazenamento são constituídos por algumas espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* (Puzzi, 2000).

Conforme Rovaris et al. (2003), um terceiro grupo proposto por Pelhate (1979) foi denominado de intermediário, e é representado principalmente por *Cladosporium* spp, diversas leveduras, *Aureobasidium pullulans*, *Mucor* spp e *Trichoderma* spp.

Para Garcia et al. (2002), há vários efeitos visíveis da atividade fúngica em sementes e grãos armazenados, sendo importante observar que o efeito geral é o aumento gradativo no teor de água e na temperatura do produto, resultado do metabolismo dos fungos.

A presença de bolores pode causar um sério prejuízo para grãos armazenados. Calor, mofo, redução do valor nutricional e formação de micotoxinas estão entre as características típicas de danos gerados por esses microrganismos, as quais tornam o grão inaceitável para o consumo resultando em perdas econômicas (Hussein & Brasel, 2001; Paster & Bullerman, 1988).

### **3.5 Fungos Toxigênicos**

O crescimento fúngico ocorre sob condições ambientais favoráveis e está associado com a produção de grande número de metabólitos secundários, muitos dos quais são prejudiciais a vertebrados. Estes metabólitos são coletivamente chamados de micotoxinas (Rizzo et al., 2004).

De acordo com Smedsgaard (1997), a produção de determinadas micotoxinas está contribuindo para a classificação e identificação de espécies fúngicas.

Os fungos toxigênicos invadem os grãos em diferentes fases da produção, podendo ser desde a colheita até o armazenamento. A contaminação por micotoxinas é geralmente um processo aditivo, iniciando-se no campo, aumentando durante a colheita e secagem e continuando durante o armazenamento (Scussel, 1998).

Os principais fungos toxigênicos estão entre as espécies dos gêneros *Aspergillus* (Tabela 3), *Penicillium* (Tabela 4) e *Fusarium* (Tabela 5)

(Aziz & Moussa, 2002; Thrane et al., 1996). Entretanto, nem todos os fungos são produtores de toxinas, de forma que a simples presença de fungos em um alimento não implica na presença de micotoxinas. Por outro lado, a simples ausência de sinais visíveis de embolramento também não pode ser interpretada como ausência de toxinas, pois esses metabólitos podem permanecer no alimento mesmo depois que o fungo produtor tenha desaparecido do produto processado (Oga, 1996).

De acordo com Hussein & Brasel (2001), é interessante salientar que uma única espécie fúngica pode produzir uma ou várias micotoxinas ao tempo que, uma mesma micotoxina, pode ser produzida por várias espécies diferentes.

TABELA 3. Micotoxinas produzidas pelas espécies de *Aspergillus*.

<b>Espécie fúngica</b>	<b>Toxinas</b>
<i>A. candidus</i>	Candidulina, terfenilina, xantoascina
<i>A. carbonarius</i>	Ocratoxina
<i>A. clavatus</i>	Ascladiol, clavatul, ácido kójico, patulina
<i>A. flavus</i>	Aflatoxinas, aflatrem, ácido aspergílico, ácido ciclopiazônico
<i>A. fumigatus</i>	Fumiglacavina, fumigalina, fumigatina, fumitoxonas, gliotoxina
<i>A. niger</i>	Malformina, naftoquinonas
<i>A. nomius</i>	Aflatoxinas
<i>A. oryzae</i>	Aspergilomarasmina, orizacidina, maltorizina
<i>A. parasiticus</i>	Aflatoxinas, ácido aspergílico, ácido kójico
<i>A. sydowii</i>	Esterigmatocistina, griseofulvina
<i>A. tamarii</i>	Ácido ciclopianozônico, fumigaclavina A
<i>A. terreus</i>	Citreoviridina, citrinina, patulina, terreina
<i>A. ustus</i>	Austamide, austadiol, austinas, austocistinas
<i>A. versicolor</i>	Esterigmatocistina, nidulotoxina
<i>A. wentii</i>	Emodina, ácido kójico, wentilactona

Fonte: Taniwaki & Silva (2001)

TABELA 4. Micotoxinas produzidas pelas espécies de *Penicillium*.

<b>Espécie fúngica</b>	<b>Toxinas</b>
<i>P. aurantiogriseum</i>	Ácido penicílico, xantomegnina, viomelina, viridicatina
<i>P. brasilianum</i>	Ácido penicílico, verrucologeno, verruculotoxina, toxina viridicatum
<i>P. brevicompactum</i>	Brevianamides, ácido micofenólico, botriodiploidina
<i>P. camemberti</i>	Ácido ciclopiazônico
<i>P. chrysogenum</i>	Roquefortina C, toxina PR
<i>P. citreonigrum</i>	Citreoviridina, citrinina
<i>P. citrinum</i>	Citrinina
<i>P. commune</i>	Ácido ciclopiazônico, ácido ciclopaldico, rugulovasinas
<i>P. coprophilum</i>	Griseofulvina, roquefortina C
<i>P. crustosum</i>	Penitrem A, roquefortina C, isomiglacavinas, ácido terrestreco
<i>P. echinulatum</i>	Viridicatina
<i>P. expansum</i>	Patulina, citrinina, roquefortina C
<i>P. glabrum</i>	Citromicetina
<i>P. griseofulvum</i>	Patulina, ácido ciclopiazônico, roquefortina C, griseofulvina
<i>P. islandicum</i>	Ciclocorotina, luteoskirina, islanditoxina, emodina
<i>P. italicum</i>	Deoxibrevianamida E
<i>P. hirsutum</i>	Roquefortina C, ácido terrestreco
<i>P. hordei</i>	Roquefortina C, ácido terrestreco
<i>P. verrucosum</i>	Ocratoxina, Citrinina

Fonte: Taniwaki & Silva (2001)

### **3.6 Principais fatores que influenciam o desenvolvimento fúngico e a produção de micotoxinas**

As condições que levam ao desenvolvimento de micotoxinas em cereais, antes da colheita e após ela ainda não estão totalmente entendidas, mas são de particular importância na manutenção da qualidade dos grãos. Assim, muitas relações de causa-efeito ainda vêm sendo investigadas, alguns fatores que

afetam a formação de micotoxinas são: umidade, temperatura, tempo, condições físicas do grão, níveis de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, atividade de água do produto, composição do substrato, nível do inóculo, prevalência de linhagens toxigênicas e interações microbiológicas. O crescimento fúngico e a produção dos compostos tóxicos resultam da interação de muitos desses fatores em produtos armazenados (Jayas & White, 2003; Taniwaki & Silva, 2001; Abramson et al., 1999).

TABELA 5. Micotoxinas produzidas pelas espécies de *Fusarium*.

<b>Espécie fúngica</b>	<b>Toxinas</b>
<i>F. acuminatum</i>	Tricotecenos
<i>F. avenaceum</i>	Moniliformina
<i>F. culmorum</i>	Zearalenona, tricotecenos, culmorina, butenolide
<i>F. equiseti</i>	Equisetina, zearalenona, tricotecenos
<i>F. graminearum</i>	Zearalenona, tricotecenos, butenolide, culmorina, fusarina C
<i>F. oxysporum</i>	Moniliforminas, ácido fusárico, fusarina C
<i>F. pallidoroseum</i>	Zearalenona, tricotecenos A
<i>F. poae</i>	Tricotecenos A, butenolide
<i>F. sambucinum</i>	Zearalenona, eniatinas
<i>F. solani</i>	Naftoquinonas, ácido fusárico
<i>F. sporotrichioides</i>	Tricotecenos A, butenolide
<i>F. tricinctum</i>	Butenolide
<i>F. verticilloides</i>	Fumonisinias, moniliformina, fusarina C, giberelinas, ácido fusárico, naftoquinonas

Fonte: Taniwaki & Silva (2001)

### 3.6.1 Umidade

A umidade relativa mínima para a germinação de esporos fúngicos deve estar, geralmente, acima de 70% na atmosfera da massa de grãos. O

conteúdo de água do grão em equilíbrio com esse valor de umidade relativa varia de acordo com a espécie, por isso é importante que se conheça o valor de umidade relativa e temperatura no ambiente que abriga a massa de grãos. Assim, para que seja observada a faixa de segurança de 12-13% de umidade nos grãos de arroz, a umidade relativa deve ser mantida abaixo de 70% (Tabela 6), enquanto a temperatura deverá permanecer entre 18 e 20°C. Observa-se ainda que, se os grãos estiverem quebrados ou trincados ou se o armazenamento for por um período superior a dois anos, o conteúdo máximo de umidade dos grãos deve ser aquele em equilíbrio com um valor de umidade relativa de 65% (Hoseney apud Bianchini, 2003; Silva apud Bianchini, 2003; Athié et al., 1998).

TABELA 6. Umidade (%) de alguns grãos em equilíbrio com umidades relativas de 65% a 85% em temperaturas de 29 a 25°C.

Umidade Relativa	Trigo e Milho	Arroz em casca	Arroz polido	Soja	Girassol
65%	12,5-13,5	12,5	14,0	12,5	8,0
70%	13,5-14,0	13,5	15,0	13,0	9,0
75%	14,5-15,0	14,0	15,5	14,0	10,0
80%	16,0-16,5	15,0	16,5	16,0	11,0
85%	18,0-18,5	16,5	17,5	18,0	13,0

Fonte: Puzzi, 2000

Segundo Scussel (1998), *Aspergillus flavus* é um fungo mesófilo, ou seja, ele cresce tanto em substratos com umidade entre 22-23% e UR entre 90-100%, quanto com umidade de 15% e UR de 70-90%. A faixa de umidade relativa para a produção de aflatoxinas: de 80 a 85%; umidade relativa ótima

para esporulação: 85%; umidade relativa máxima para a produção de aflatoxinas: 95-99%.

Alta umidade relativa ou umidade do grão estimulam o crescimento dos fungos e aumentam o potencial para a formação de aflatoxinas. No armazenamento, os grãos infectados por *Aspergillus* continuam a produzir aflatoxina mesmo com os grãos apresentando umidades inferiores a 15%. A respiração continuada dos fungos usa oxigênio e carboidratos para formar dióxido de carbono e água, promovendo desta maneira água livre para auxiliar o crescimento fúngico (Osweiler, 1998).

### **3.6.2 Temperatura**

A temperatura mínima para que ocorra crescimento fúngico não é necessariamente a temperatura mínima na qual a toxina é produzida. O mesmo acontecendo com a temperatura máxima. Geralmente, a temperatura mínima na qual os fungos produzem toxina é mais elevada do que a necessária para crescer e a temperatura máxima em que há produção de toxina é mais baixa do que aquela necessária para o crescimento. A temperatura ótima para o crescimento é a temperatura onde ocorre produção mais elevada de toxina. Temperaturas maiores ou menores que esse valor (Tabela 7) retardam a produção de toxina (Athié et al., 1998).

A temperatura é menos restritiva do que a umidade no que diz respeito ao crescimento fúngico e produção de micotoxinas. A temperatura ótima de crescimento dos fungos encontra-se na faixa de 25 a 28°C, não crescendo bem nas temperaturas de 35 a 37°C e raramente na temperatura de 45°C. Seu crescimento não é incomum em temperatura de refrigeração (5°C),

porém abaixo de  $-10^{\circ}\text{C}$  os alimentos podem ser considerados microbiologicamente estáveis, embora alguns relatos reportem crescimento de espécies de *Fusarium*, *Cladosporium*, *Penicillium* e *Thamnidium* na faixa de 0 a  $-7^{\circ}\text{C}$  (Taniwaki & Silva, 2001).

TABELA 7. Condições de crescimento para alguns fungos de armazenamento.

Fungos	Temperatura Mínima $^{\circ}\text{C}$	Temperatura Ótima $^{\circ}\text{C}$	Temperatura Máxima $^{\circ}\text{C}$	UR Mínima %
<i>Aspergillus restrictus</i>	5 – 10	30 – 35	40 – 45	70
<i>Aspergillus glaucus</i>	0 - 5	30 – 35	40 – 45	73
<i>Aspergillus candidus</i>	10 – 15	45 – 50	50 – 55	80
<i>Aspergillus flavus</i>	10 – 15	40 – 45	45 - 50	85
<i>Penicillium spp</i>	-5 – 0	20 – 25	35 – 40	80-90

Fonte: Adaptado de Puzzi, 2000 e Rovaris et al, 2003.

A faixa ótima de temperatura para a formação de aflatoxina é de  $25^{\circ}\text{C}$  a  $32^{\circ}\text{C}$ , apesar de que temperaturas de  $13^{\circ}\text{C}$  por dois ou mais dias ainda permitem a formação de aflatoxina (Osweiler, 1998).

O *Aspergillus flavus* produz diferentes proporções de aflatoxinas  $B_1$  e  $G_1$  a diferentes temperaturas (Tabela 8).

TABELA 8. Produção de diferentes aflatoxinas por *Aspergillus flavus* a diferentes temperaturas

Temperatura $^{\circ}\text{C}$	Produz aflatoxinas	Na proporção de
Abaixo de 25	$B_1$ e $G_1$	1/1
25	$B_1$ e $G_1$	2/1
28	$B_1$ e $G_1$	4/1
32	$B_1$ e $G_1$	2/1

Fonte: Scussel, 1998.



Conforme Park & Bullerman (1983), a produção de aflatoxinas por cepas de *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus* pode ser afetada pela flutuação de temperatura. A exposição de *A. parasiticus* a temperaturas altas (entre 40 e 50°C), por um curto período de tempo, reduz o crescimento e a produção de aflatoxina. Entretanto, a exposição a temperaturas tão baixas quanto 10°C não afeta o crescimento e a produção da toxina.

A produção de zearalenona por espécies de *Fusarium* não se dá, ao contrário de outros tipos de fungos, na sua temperatura ótima de crescimento, nem em temperaturas próximas. *Fusarium* cresce na faixa de 0 a 40°C, sendo que a temperatura ótima é de 20 a 25°C. A toxina, contudo, pode ser produzida a temperaturas baixas, em torno de 12°C (Lazzari apud Hermanns, 2002).

### **3.6.3 Atividade de água (aw)**

A atividade de água do grão é também de fundamental importância para o desenvolvimento do fungo e a produção de toxinas. A atividade de água é definida como a relação entre a pressão de vapor de água de um determinado substrato e a pressão de vapor da água pura na mesma temperatura e pressão (Pardo et al., 2004).

O comportamento microbiano frente à atividade de água é extremamente variável. Os substratos com aw inferior a 0,60 estão assegurados quanto à contaminação microbiana. A partir de aw 0,65 começa ocorrer a proliferação de microrganismos específicos, sendo que até 0,75 somente algumas bactérias halofílicas, leveduras osmofílicas e fungos xerofílicos podem se desenvolver (Tabela 9). A atividade de água para a

produção de micotoxinas varia de 0,80 a 0,99, normalmente maior do que para o desenvolvimento do fungo (Mallmann, 2002).

De uma maneira geral, as aflatoxinas são produzidas a valores de aw variando de 0,95 a 0,99, com um valor mínimo de 0,82 para *A. flavus* (ICMSF, 1996). Para a produção de ocratoxina, *A. ochraceus* tolera atividades de água tão baixas como 0,80 (Adebajo et al., 1994).

TABELA 9. Atividade de água (aw) mínima para o crescimento de diferentes microrganismos.

Microrganismos	aw
Maioria dos bolores	0,85
<i>Aspergillus glaucus</i>	0,70
<i>Aspergillus conicus</i>	0,70
<i>Aspergillus echinulatus</i>	0,64
<i>Xeromyces bisporius</i>	0,61
<i>Botrytis cinerea</i>	0,93
<i>Rhizopus stolonifer</i>	0,93
<i>Mucor spinosus</i>	0,93
<i>Alternaria citri</i>	0,84

Fonte: Adaptado de Franco & Landgraf (1999) e Taniwaki & Silva (2001).

### 3.6.4 Condições físicas do grão

Grãos danificados de alguma forma, favorecem a absorção de umidade e facilitam a invasão e a penetração de microrganismos no interior altamente nutritivo destes substratos, levando ao desenvolvimento rápido dos fungos e conseqüentemente aumento de toxinas (Purchase, 1974).

Os danos podem ocorrer no campo; antes, durante e após a colheita; durante o transporte; na estocagem; e sua causa é o ataque de

insetos; ação de ventos violentos; quebra durante a secagem; uso de equipamentos de colheita, secagem e descarga (Scussel, 1998).

### 3.6.5 Atmosfera favorável

Bolores são normalmente considerados como organismos altamente aeróbicos e por isso a depleção no teor de oxigênio ou o aumento no teor de CO<sub>2</sub> limitam sua atividade. Entretanto, certas espécies que causam deterioração de grãos armazenados podem continuar a crescer em baixas concentrações de O<sub>2</sub> e altas concentrações de CO<sub>2</sub> (Athié et al., 1998).

De acordo com Paster & Bullermann (1988), algumas espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* são afetadas somente quando a concentração de O<sub>2</sub> está abaixo de 5%. A habilidade de fungos em tolerar altos níveis de CO<sub>2</sub> também é bem conhecida, sendo que *A. flavus*, *A. ochraceus*, *P. patulum*, *A. glaucus* e *Fusarium sporotrichioides* são espécies inibidas somente quando os níveis de CO<sub>2</sub> excedem a 50%.

Conforme Scussel (1998), ambientes com atmosfera controlada têm sido muito usados durante o transporte e o armazenamento de produtos para prevenir o crescimento fúngico e a produção de toxinas (Tabela 10). Entretanto, não são usuais para arroz.

TABELA 10. Composição da atmosfera e a formação de toxina.

Atmosfera	Inibição
40-60% CO <sub>2</sub> , a 25°C e 86% de UR	Inibe o crescimento e a formação da toxina.
20% CO <sub>2</sub>	Inibe a formação, porém não inibe o crescimento.
100% CO <sub>2</sub>	Inibe totalmente o crescimento e formação de toxina.

Fonte: Scussel (1998).

### 3.6.6 pH

Segundo Taniwaki & Silva (2001), na faixa de 3,0 a 8,0, os fungos são muito pouco afetados pela variação do pH. Entretanto, quando o pH afasta-se do ótimo (geralmente próxima a 5,0) a velocidade de crescimento diminui, e se houver outros fatores de inibição como, por exemplo, a temperatura e a atividade de água, seu efeito restritivo sobre a velocidade de crescimento torna-se mais acentuado (Tabela 11).

TABELA 11. pH necessário para o crescimento de algumas espécies fúngicas.

Fungos	pH
<i>Aspergillus oryzae</i>	1,6 – 13,0
<i>Penicillium italicum</i>	1,9 (mínimo)
<i>P. variable</i>	1,6 (mínimo)
<i>P. verrucosum</i>	< 2,1 - >10,0
<i>Fusarium oxysporum</i>	1,8 (mínimo)
<i>F. miniliforme</i>	< 2,5 - >10,6

Fonte: adaptado de Taniwaki & Silva (2001) e Forsythe (2002).

Segundo Wheeler et al. (1991), o pH tem pouca influência sobre a colonização de alimentos por espécies de fungos micotoxigênicos. Em situações de pH próximo ao neutro, fungos podem competir com bactérias por nichos, mas em níveis elevados de atividade de água, a maioria dos fungos não é competitiva em culturas mistas. Entretanto, quando a  $a_w$  está abaixo de 0,90, fungos se tornam dominantes, independentemente do pH.

### **3.7 Micotoxinas**

No Brasil, a pesquisa de micotoxinas em alimentos destinados ao consumo humano e animal vem crescendo. De 1991 a 2000 foram publicados 128 artigos sobre o assunto, ultrapassando os 85 artigos publicados entre 1961 e 1990. As pesquisas mostram dados preocupantes como os altos níveis de aflatoxinas encontrados em amendoim e de fumonisinas em milho e derivados (Rodriguez-Amaya & Sabino, 2002).

A exposição humana a micotoxinas pelo consumo de alimento contaminado é questão de saúde pública no mundo todo, uma vez que a presença dessas toxinas tem sido correlacionada a várias patologias humanas (Caldas et al., 2002; Hussein & Brasel, 2001).

Alguns desses metabólitos secundários produzidos por fungos, em diferentes fases da produção de grãos, são carcinogênicos em animais de laboratório e para alguns considera-se a possibilidade de terem efeitos correspondentes em humanos (Berg, 2003) (Tabela 12). Este é o caso das aflatoxinas, já consideradas pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer – IARC (1993) como carcinogênicas (Grupo 1) para humanos.

Está crescendo o interesse pela pesquisa de ocratoxina A em alimentos, rações e matérias-primas, em função do seu caráter nefrotóxico em suínos, além de trabalhos que relatam efeitos mutagênicos, teratogênicos e carcinogênicos, dessa toxina (Speijers & Speijers, 2004; Milanez & Leitão, 1994).

TABELA 12. Prováveis lesões bioquímicas primárias e os eventos celulares na nas reações que promovem a injúria celular ou a sua desregulação por algumas micotoxinas.

Micotoxinas	Lesão inicial → reações
Aflatoxinas	Ativação metabólica → modificação do DNA → desregulação celular → morte celular/transformação.
Citrinina	Perda da permeabilidade seletiva da membrana → ruptura celular → morte celular.
Ocratoxina	1) Ruptura do metabolismo da fenilalanina → redução do PEPCK → redução da glicogênese → morte celular. 2) Ativação metabólica → inibição de proteína: síntese de DNA → apoptose. 3) Alteração da permeabilidade da membrana → ruptura do transporte de cálcio → desregulação celular → morte celular.
Zearalenona	Receptor estrógeno → resposta estrogênica → ruptura do controle hormonal → ?

Fonte: adaptado de Speijers & Speijers (2004)

### 3.8 Micotoxinas em arroz

Molinié et al. (2004) analisaram arroz, entre outros produtos, mais comercializados na França, quanto à presença de ocratoxina A, citrinina e fumonisina B<sub>1</sub>. Encontraram níveis de 1 a 1110 µg/Kg de fumonisina nas amostras.

Ao analisar arroz com casca durante a secagem e o armazenamento em silo metálico, quanto a presença de aflatoxinas, ocratoxina A e zearalenona, Bianchini (2003) encontrou resultados mostrando a presença de zearalenona em níveis de 5850 e 1840 µg/Kg. Além disso, de um total de 137 isolados de *A. flavus* apenas dois se mostraram produtores de aflatoxinas B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>.

Em análises de aflatoxinas e ocratoxina A em 68 amostras de arroz polido e integral, Sylos et al. (2003) não encontraram ocratoxina em nenhuma

delas, porém, aflatoxina B<sub>1</sub> foi detectada em duas amostras de arroz polido, com níveis de 9 e 6 µg/Kg.

Nunes (2001), pesquisando aflatoxinas, ocratoxina A, zearalenona, desoxinivalenol e toxina T-2 em arroz branco-polido, parboilizado e integral, comercializados nas cidades de Pelotas e Rio Grande/RS, identificou a presença de ocratoxina A, com níveis de 104 e 128 µg/Kg; zearalenona, com níveis de 559, 1117 e 1955 µg/Kg e desoxinivalenol, com níveis de 206 e 300 µg/Kg.

Em pesquisa sobre a migração de micotoxinas durante o processo de parboilização do arroz, Coelho et al. (1999) verificaram a migração da casca para o endosperma amiláceo, nas seguintes proporções: 32% de aflatoxina B<sub>1</sub>, 44% de aflatoxina B<sub>2</sub>, 36% de aflatoxina G<sub>1</sub> e 22% de aflatoxina G<sub>2</sub>.

Scudamore et al (1998) analisaram 40 amostras de farelo de arroz quanto à presença de 20 micotoxinas. Entre as micotoxinas encontradas, destacou-se a aflatoxina B<sub>1</sub> em níveis de 28 µg/Kg; ocratoxina A foi detectada em duas amostras com níveis de 12 e 3 µg/Kg.

Calvette et al. (1993), analisaram amostras de arroz integral comercializados em estabelecimentos de Florianópolis/SC quanto à presença de aflatoxinas, ocratoxina A e zearalenona. Os resultados não mostraram contaminação em nenhuma das amostras pelas micotoxinas pesquisadas.

Da mesma forma, pesquisando arroz com casca e derivados (arroz brunido, farelo e palha) armazenados em silo, Lima et al. (2000) não verificaram a presença de aflatoxinas, mesmo com a detecção de 52,6% dos 19 isolados de *Aspergillus flavus* produtores de aflatoxinas do grupo B.

Furlong et al. (1999) analisaram 47 amostras de arroz comercializadas nas cidades de Rio Grande e Pelotas quanto a presença de aflatoxinas, ocratoxina A e zearalenona. Encontraram contaminação de ocratoxina A em níveis de 48 e 19 µg/Kg.

### **3.9 Legislação Brasileira**

No Brasil, as aflatoxinas são as únicas micotoxinas cujos níveis máximos em alimentos estão previstos na legislação (Caldas, 2002).

O Ministério da Saúde através da Resolução RDC nº274, da ANVISA, de 15 de outubro de 2002, estabelece os seguintes limites para alimentos de consumo humano:

→ Amendoim e pasta de amendoim:  $B_1+B_2+G_1+G_2 = 20$  ppb

→ Milho em grão:  $B_1+B_2+G_1+G_2 = 20$  ppb

→ Leite fluído:  $M_1 = 0,5$  ppb

→ Leite em pó:  $M_1 = 5$  ppb

O Ministério da Agricultura através da Portaria MAARA nº183 de 21 de março de 1996, estabelece o limite de 20 ppb ( $B_1+B_2+G_1+G_2$ ) em alimentos para consumo humano, internacionalizando as normas do Mercosul GMC/RES N° 56/94.

Para alimentos de consumo animal, matérias primas e rações, o Ministério da Agricultura através da Portaria MA/SNAD/SFA nº07 de 09 de novembro de 1988, estabelece valores máximos de 50 ppb de aflatoxinas.



## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado em parceria com a Estação Experimental do Arroz do Instituto Riograndense do Arroz – IRGA, situado no município de Cachoeirinha, RS, Brasil, de maio de 2003 a maio de 2004.

Neste estudo foram avaliados dois manejos distintos de secagem e armazenamento de arroz: secagem intermitente com posterior armazenamento em sacaria e a secagem estacionária com armazenamento em silo-secador (leito fixo).

No primeiro manejo os grãos passavam, em pequenas bateladas, por um sistema cilíndrico onde foi insuflado o ar, aquecido por resistências elétricas a temperaturas próximas a 70°C. Após essa passagem, os grãos passaram por uma câmara de equalização que tem como finalidade a migração da umidade interna do grão para a superfície do mesmo (característica de higroscopicidade), facilitando assim o processo de secagem. Os grãos passaram intermitentemente pelo sistema até alcançarem umidade de 13% (base úmida), processo que durou 7 horas. O produto foi então armazenado em sacos acondicionados em pilhas sobre um estrado de madeira, em condições ambientais como pode ser visualizado na Figura 1.



FIGURA 1. Armazenamento em sacaria referente ao manejo intermitente de secagem.

No segundo manejo, os grãos foram depositados no interior de um silo metálico cilíndrico com capacidade para 7 toneladas de arroz com casca (Figura 2). Durante a secagem, o ar aquecido pela queima de gás liquefeito de petróleo (glp) com temperatura de aproximadamente 40°C foi insuflado pela parte inferior do silo chamada de plenum. Quando os grãos, da parte inferior do silo, atingiram a umidade de 13% (b.u.) o sistema foi desligado, totalizando um período de secagem de 30 dias. O produto foi então armazenado dentro do próprio silo.

Neste manejo, a fim de controlar fatores como temperatura e umidade dentro do silo e da massa de grãos, foi instalado, no silo, um sistema computadorizado de controle, cedido pela empresa Dryeration Indústria, Comércio, Projetos e Representações LTDA.

Por este sistema, as condições de temperatura e umidade foram monitoradas por 24 horas diárias durante todo o período da pesquisa, sendo os dados coletados em intervalos de 15 minutos. Desta forma, para manter a qualidade do produto durante o armazenamento, no momento em que o sistema detectava umidade no interior do silo-secador superior ou igual a 70%

e temperatura superior ou igual a 19°C, o ar ambiente era automaticamente insuflado para dentro do silo.



FIGURA 2. Silo metálico referente ao manejo de secagem e armazenamento estacionário, indicando as duas alturas analisadas.

#### **4.1 Coleta das amostras**

As amostras foram coletadas na Estação Experimental do Arroz - IRGA, que doou o arroz da cultivar IRGA – 419 para esse trabalho.

A primeira amostragem realizada foi do arroz recém colhido (Época 0). Após esta coleta, o arroz com casca foi então seco nos dois sistemas distintos analisados neste trabalho e armazenados de acordo com o manejo.

Referente ao manejo de secagem intermitente e armazenamento em sacaria, a primeira coleta (E1) foi feita após sete dias do início da secagem, correspondendo aos grãos já secos, de seis sacos dispostos no centro da pilha

(Figura 1). As demais amostragens (E2, E3, E4, E5, E5, E6, E7), durante o armazenamento, foram realizadas a cada dois meses e em duplicatas.

Referente ao manejo de secagem estacionária e armazenamento em silo, duas coletas foram realizadas durante o processo de secagem, a primeira aos quinze dias (E1) e a segunda aos trinta dias (E2), quando a secagem foi concluída. As demais amostragens (E3, E4, E5, E6, E7, E8), durante o armazenamento, foram realizadas a cada dois meses, sendo todas retiradas de duas alturas do silo-secador, altura 1 (terço inferior) e altura 2 (terço superior) (Figura 2), para fins comparativos, em duplicatas.

A partir da quarta coleta realizada no silo (E4) e da segunda realizada na sacaria (E2), duas porções eram retiradas para serem beneficiadas em arroz branco-polido e arroz parboilizado, para posterior análise da influência deste sistema na presença de micotoxinas. O beneficiamento foi realizado pelo Instituto Rio Grandense do Arroz.

Para as coletas foram utilizados sacos plásticos estéreis e retiradas amostras com cerca de 1 Kg de arroz para cada duplicata.

Após cada coleta, as amostras foram levadas ao Laboratório de Toxicologia do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos – UFRGS, onde foram realizadas as análises fúngicas e de micotoxinas.

#### **4.2 Fatores analisados**

Durante todo o período da pesquisa, foram monitorados, pelo IRGA, vários fatores atuantes sobre a massa de grãos.

Em relação ao manejo de secagem intermitente com posterior armazenamento em sacaria, foram monitorados: umidade dos grãos e percentual de grãos trincados e/ou manchados.

Em relação ao manejo de secagem estacionária com armazenamento no silo, foram monitorados: umidade e temperatura dentro do silo e da massa de grãos e percentual de grãos trincados e/ou manchados.

Os dados foram registrados, em médias, de acordo com cada período das coletas.

### **4.3 Enumeração e isolamento da micoflora**

Para a enumeração da micoflora contaminante, foram retirados, de cada amostra, 25g do arroz com casca e misturados em 225 mL de água peptonada (Merck) 0,1% para a obtenção da diluição  $10^{-1}$ , e a partir desta foram feitas diluições seriadas até  $10^{-5}$ . De cada diluição foram retirados 0,1 mL em duplicatas e espalhados em placas de Petri contendo Agar Batata Dextrose (Biobrás) acidificado. As placas foram incubadas a 25°C por 5 dias, sendo observadas diariamente. Placas que continham entre 10 e 150 colônias foram utilizadas para a contagem, sendo o resultado expresso em unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de amostra (FDA, 1992).

Colônias morfologicamente distintas desenvolvidas nas placas de contagem foram isoladas em tubos inclinados contendo Agar Sabouraud (Biobrás) e reincubadas a 25°C por 14 dias (Lacaz, 1991).

### **4.4 Identificação dos isolados fúngicos**

Os gêneros fúngicos foram identificados segundo Barnett *et al.* (1972). As espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* foram identificadas seguindo

método proposto por Klich & Pitt (1988), Pitt (1988) respectivamente e Singh *et al* (1991).

As identificações foram realizadas através de chaves de identificação proposta pelos autores citados, levando em consideração aspectos macro e microscópicos das colônias em diferentes meios de cultura e temperaturas de crescimento.

#### **4.5 Detecção do potencial toxigênico de *Aspergillus* spp.**

As colônias de *Aspergillus*, após o período de 14 dias de incubação a 25°C, foram repicadas para o centro de placas de Petri contendo Ágar Coco (600 mL de leite de coco, 200 mL de água destilada, 16 g de ágar) e incubadas a 25°C por 7 dias. Após este período, o micélio do fungo foi raspado na parte central da placa. O meio foi cortado em tiras e macerado em aproximadamente 1 mL de clorofórmio. Os extratos foram acondicionados em frascos âmbar e cromatografados pelo método de Cromatografia em Camada Delgada (CCD) como pode ser visualizado na Figura 3 (Lin & Dianese, 1976). As micotoxinas testadas nesta etapa foram as aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> e ocratoxina A.

#### **4.6 Determinação de micotoxinas nas amostras**

Para a determinação de micotoxinas no arroz com casca, branco-polido e parboilizado, as amostras foram trituradas em um moinho de faca.

A determinação das aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>, ocratoxina A, zearalenona e citrinina foi feita por CCD, de acordo com o método multi-toxinas descrito por Soares & Rodriguez-Amaya (1989). O processo envolveu extração com metanol/KCl 4% (9:1) seguido de clarificação do extrato com sulfato de

cobre 10% e partição líquido-líquido com clorofórmio, como detalhado na figura

3.

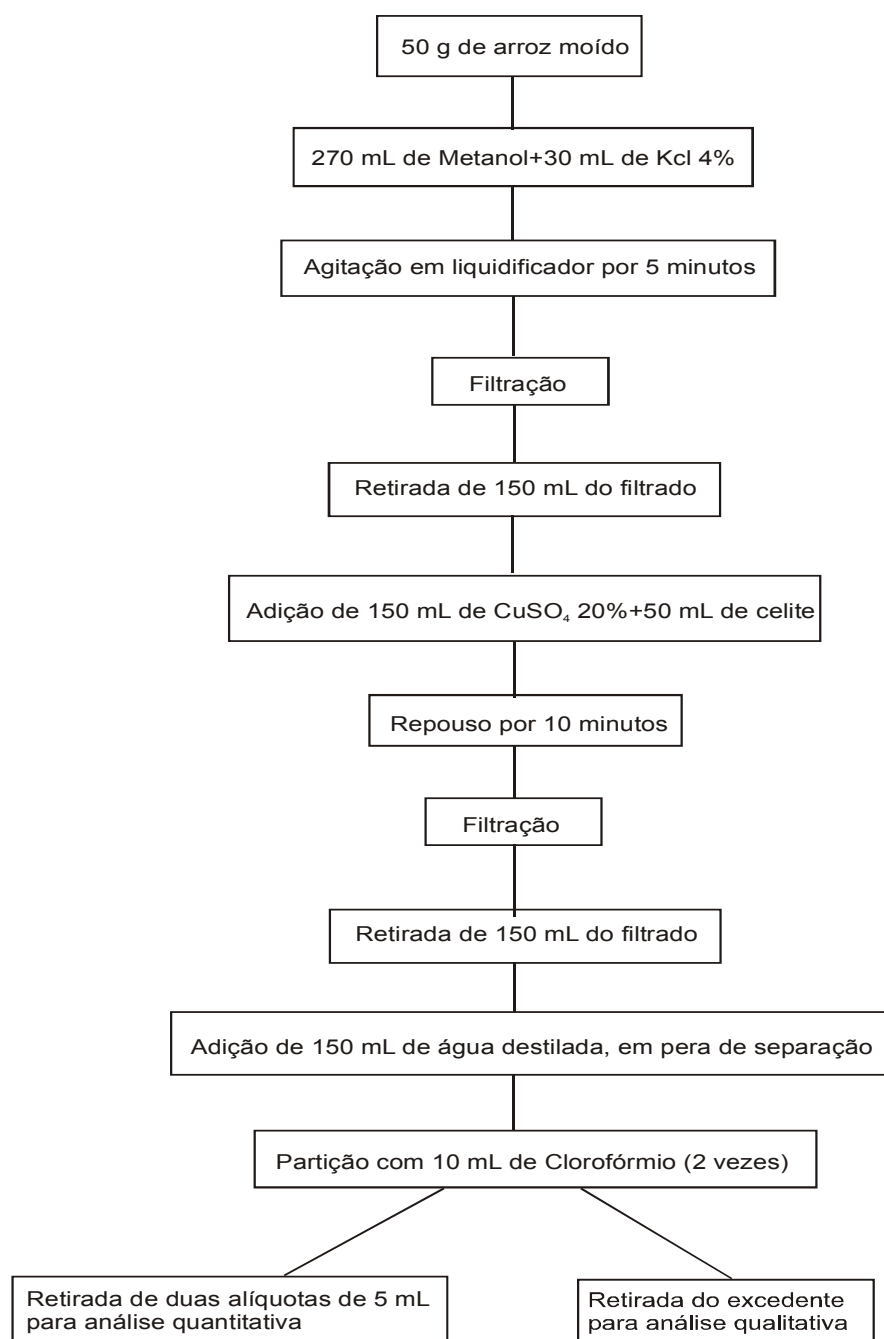


FIGURA 3. Fluxograma do método de extração de micotoxinas utilizado no trabalho.

Os extratos foram secos e redissolvidos em 100  $\mu$ L de clorofórmio, sendo aplicados juntamente com os padrões das micotoxinas em cromatofolhas de alumínio 60 (Merck) (Figura 4). As placas foram eluídas com tolueno: acetato de etila: clorofórmio: ácido fórmico (35:25:25:10). A determinação dos compostos foi realizada pela comparação das fluorescências das amostras com a dos padrões, sob luz ultra-violeta.



FIGURA 4. Cubas utilizadas para o desenvolvimento de placas cromatográficas por CCD.

#### **4.7 Análises confirmatórias**

Todas as amostras passaram pela triagem de micotoxinas, ou seja, presença ou ausência dos compostos. Aquelas amostras que, nesta etapa, apresentaram alguma semelhança em relação aos padrões de micotoxinas analisados, foram submetidas a análises confirmatórias.

A confirmação da identidade das aflatoxinas foi realizada através do borrifamento direto na folha cromatográfica de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  25% e por derivatização com ácido trifluoracético (Przybylski, 1975).



Para a confirmação da zearalenona, foi utilizado o método descrito por Golinski & Grabarkiewicz-Szczesna (1984), seguido da revelação com  $AlCl_3$  (20%, em álcool).

Para ocratoxina A e citrinina não foram realizadas análises confirmatórias, uma vez que nenhuma das amostras apresentou esses compostos na triagem.

#### **4.8 Análise estatística**

Com a finalidade de determinar se houve diferenças significativas, em relação à contaminação fúngica entre os dois manejos e entre as duas alturas do silo-secador, foi utilizada a prova não-paramétrica “U” de Mann-Withney. Da mesma forma, essa análise foi utilizada para comparar os vários fatores analisados.

Para verificar a influência desses fatores sobre a contaminação fúngica, nos dois manejos estudados, foi aplicada uma análise de regressão linear múltipla. Para isso, foi necessária a transformação logarítmica da enumeração de células fúngicas viáveis (UFC/g), sendo essa, considerada a variável dependente. Os fatores temperatura do ar, umidade relativa (UR), umidade e temperatura dos grãos, temperatura e umidade no interior do silo-secador, corresponderam as variáveis independentes.

Para tais análises foi utilizado o programa GraphPad Instat, com o auxílio de Johnson & Bhattacharyya (1986) e Siegel (1975).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Amostragens

Foram coletadas, no período de 12 meses, um total de 72 amostras, sendo 50 delas de arroz com casca, 11 de arroz branco-polido e 11 de arroz parboilizado. Referente ao manejo de secagem intermitente e posterior armazenamento em sacaria, foram 14 amostras de arroz com casca e 6 de arroz branco-polido e 6 do parboilizado. Referente ao manejo de secagem estacionário e armazenamento em silo, foi 36 amostras de arroz com casca e 5 de arroz branco-polido e 5 do parboilizado.

Os períodos de coleta, as datas e a simbologia utilizada para identificá-los estão contemplados na tabela 13.

TABELA 13. Períodos das realizações das coletas nos dois manejos estudados nesse trabalho.

Épocas	Períodos das coletas	
	Manejo Intermitente	Manejo Estacionário
1	07/05/03 – 14/05/03	05/05/03 – 19/05/03
2	15/05/03 – 13/07/03	20/05/03 – 03/06/03
3	14/07/03 – 11/09/03	04/06/03 – 01/08/03
4	12/09/03 – 11/11/03	02/08/03 – 30/09/03
5	12/11/03 – 09/01/04	01/10/03 – 29/11/03
6	10/01/04 – 09/03/04	30/11/03 – 28/01/04
7	10/03/04 – 08/05/04	29/01/04 – 28/03/04
8		29/03/04 – 27/05/04

## 5.2 Enumeração e isolamento da micoflora

A amostra inicial (E0) mostrou uma contaminação fúngica de  $5,4 \times 10^4$  UFC/g.

No manejo de secagem intermitente e armazenamento em sacaria, a contaminação fúngica não se alterou significativamente durante todo o período, permanecendo com uma média de  $10^4$  UFC/g de amostra. Somente houve uma redução significativa para  $10^3$  UFC/g, no período correspondente as épocas 5 e 7 (Figura 5). Essa redução pode ser, em parte, atribuída ao expurgo, realizado pelo Instituto Rio-Grandense do Arroz, na sacaria com os biocidas Gastoxin Fosfeto Alumínio e Fermag Fosfeto Magnésio, pelas condições ambientais de altas temperaturas no período (Figura 13). Esse expurgo foi feito com a finalidade de diminuir a presença de roedores e insetos no local de armazenamento.

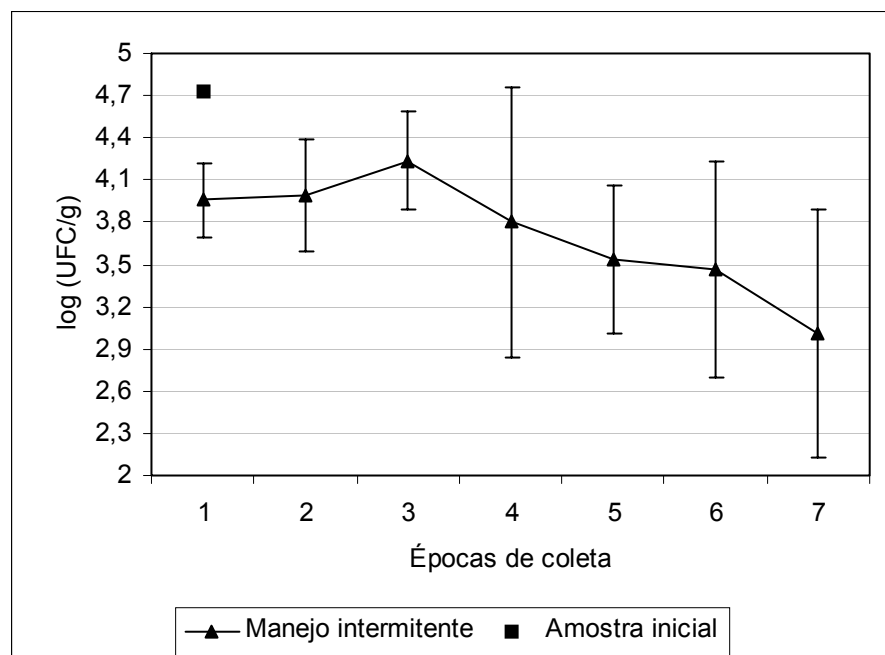


FIGURA 5. Contaminação fúngica, durante o período analisado, no manejo intermitente de secagem e armazenamento em sacaria.

Quando comparada à contaminação da amostra inicial, pode-se observar que nesse manejo, logo após a secagem, houve uma pequena redução na enumeração fúngica, e durante o período de armazenamento, nenhuma das épocas, apresentou contagem de bolores maiores ou igual à amostra inicial. Isso se explica pela umidade dos grãos (Figura 10).

Nunes (2001), analisando a contaminação fúngica de arroz polido, parboilizado e integral, observou com a enumeração de bolores e leveduras que, 3,6% das amostras tinham valores superiores a  $10^4$  UFC/g e 11% apresentavam valores muito próximos a esse.

No manejo de secagem estacionária e armazenamento no próprio silo, a contaminação fúngica não decresceu, ao contrário, aumentou em certos períodos, chegando à média de  $10^5$  UFC/g. Esse aumento está intimamente ligado ao alto nível de contaminação observado, durante todo o período, no terço superior do silo (Figura 6). Observou-se também um decréscimo significativo para  $10^3$  UFC/g nas épocas 7 e 8.

Ao comparar diferentes condições de secagem e armazenamento do arroz em silo metálico, Bianchini (2003) também observou uma diferença significativa em relação à enumeração fúngica entre duas alturas do silo-secador. Nesse experimento, a altura 2 (superior) apresentou maior contaminação, em determinados períodos, quando comparado a altura 1 (inferior). As contagens de bolores ficaram em valores próximos a  $10^5$  UFC/g, chegando a  $10^7$  UFC/g durante a secagem dos grãos.

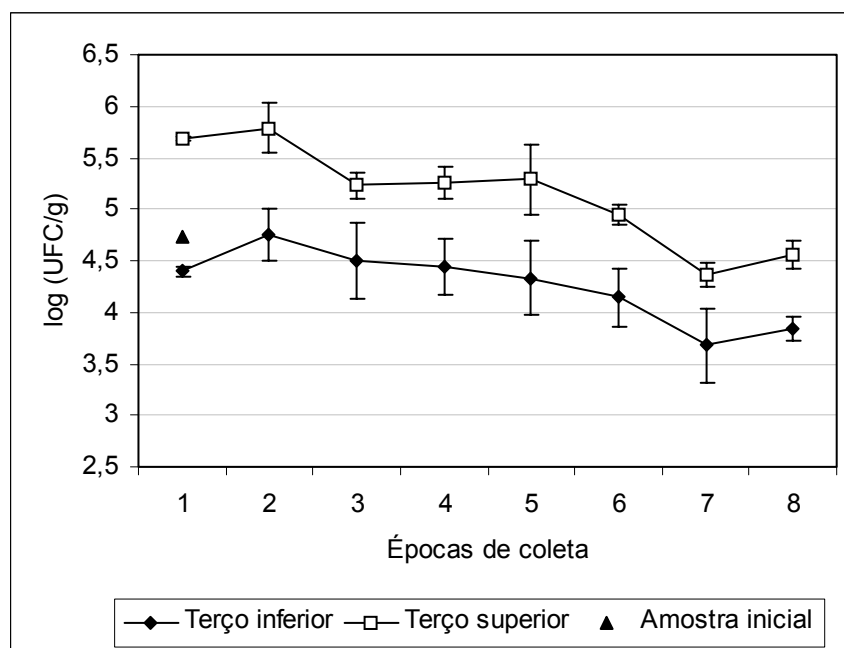


FIGURA 6. Contaminação fúngica, durante o período analisado, nas duas alturas do silo-secador, no manejo de secagem estacionária e armazenamento no próprio silo.

Os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* foram os mais observados durante todo o experimento. A presença dominante desses gêneros também foi observada em arroz por Tonon et al (1997), Lima et (2000) e Nunes (2001) e em milho armazenado por Garcia et al (2002).

Representantes do gênero *Aspergillus* e *Fusarium* tiveram maior predominância na amostra inicial. Posteriormente espécies do gênero *Penicillium* dominaram. Além disso, colônias de outros gêneros foram mais observadas durante o manejo de secagem intermitente e armazenamento em sacaria (Figura 7).

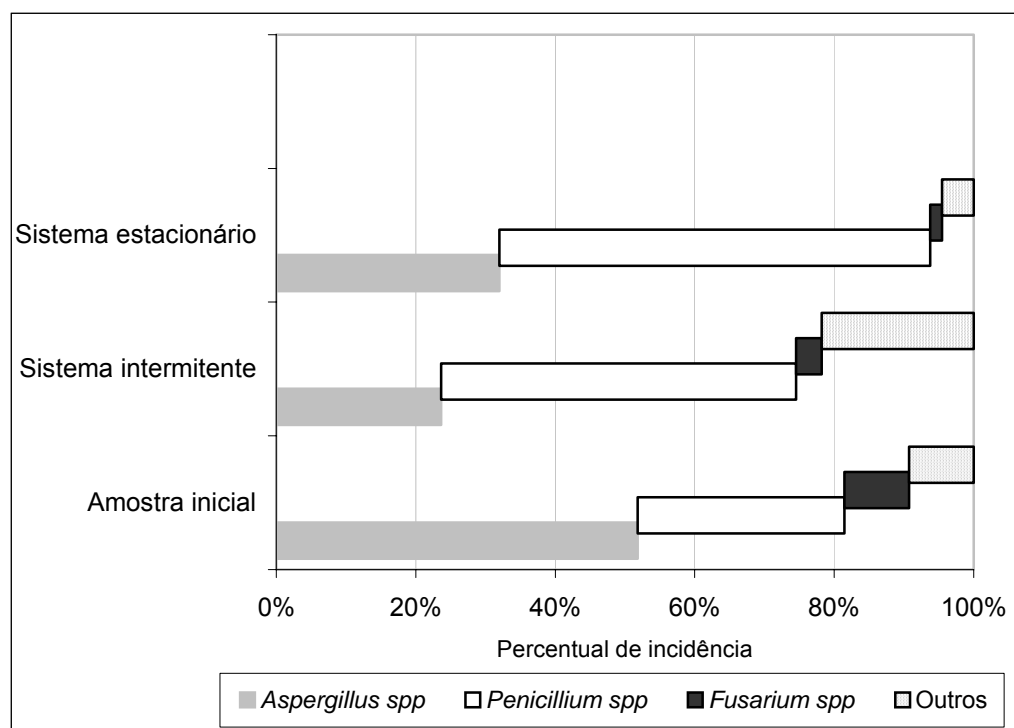


FIGURA 7. Incidência dos gêneros isolados na amostra inicial (Época 0) e durante a secagem e o armazenamento dos dois manejos analisados.

Garcia et al (2002), analisando a sucessão de espécies fúngicas em milho armazenado, também observou a maior abundância dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. Entretanto, para esses autores, espécies do gênero *Aspergillus* tenderam a aumentar durante o armazenamento desse produto, enquanto que espécies do gênero *Penicillium* tendem a diminuir.

Da amostra inicial foram isoladas 15 colônias do gênero *Penicillium* e 28 colônias do gênero *Aspergillus*. As espécies identificadas foram: *P. solitum* Westling, *P. corylophilum* Dierckx, *P. commune* Thom, *P. griseofulvum* Dierckx, *A. flavus* Link, *A. parasiticus* Speare e *A. oryzae* (Ahlburg) Cohn (Figura 8).

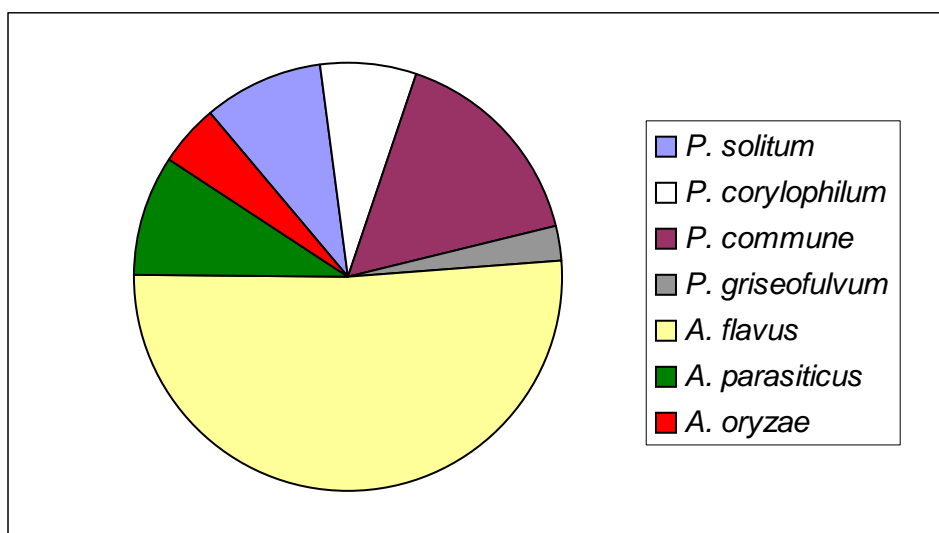


FIGURA 8. Incidência das espécies de *Penicillium* e *Aspergillus* encontradas na amostra inicial (E0).

Referentes ao manejo de secagem intermitente e armazenamento em sacaria, foram isoladas 28 colônias do gênero *Penicillium* e 13 colônias do gênero *Aspergillus*. As espécies de *Penicillium* identificadas foram, em ordem decrescente de frequência, *P. islandicum* Sopp, *P. solitum*, *P. waksmanii* Zaleski, *P. griseofulvum*, *P. corylophilum* e *P. commune*. As espécies de *Aspergillus* identificadas foram, em ordem decrescente de frequência, *A. flavus*, *A. oryzae*, *A. parasiticus* e *A. niger* van Tieghem var. *niger*. Nem todas as espécies foram isoladas de todas as épocas de coletas, como pode ser observado na Tabela 14.

Na época 1 de coleta, representando os grãos recém secos, houve uma maior contaminação por *A. flavus* e espécies de *Penicillium* não foram isoladas, mas durante o restante do período, outras espécies foram encontradas apresentando um aumento de representantes do gênero *Penicillium*.

TABELA 14. Percentual de incidência das espécies de *Penicillium* e *Aspergillus* durante o manejo intermitente.

Espécies	Períodos das coletas						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>P. islandicum</i>	0	10,71	3,57	3,57	14,28	3,57	0
<i>P. corylophilum</i>	0	3,57	0	0	0	0	0
<i>P. griseofulvum</i>	0	7,14	3,57	0	0	0	0
<i>P. solitum</i>	0	0	3,57	7,14	3,57	3,57	7,14
<i>P. commune</i>	0	0	3,57	0	0	0	0
<i>P. waksmanii</i>	0	0	0	7,14	3,57	7,14	3,57
<i>A. flavus</i>	30,76	0	0	7,69	7,69	7,69	0
<i>A. parasiticus</i>	0	0	0	0	0	7,69	0
<i>A. oryzae</i>	7,69	15,38	0	0	0	0	0
<i>A. niger var niger</i>	0	0	0	0	0	0	0

Referentes ao manejo de secagem estacionário e armazenamento no próprio silo, foram isolados 107 representantes do gênero *Penicillium* e 55 do gênero *Aspergillus*. As espécies de *Penicillium* encontradas, em ordem decrescente de incidência, foram: *P. commune*, *P. corylophilum*, *P. islandicum*, *P. griseofulvum*, *P. solitum*, *P. variable* Sopp, *P. canescens* Sopp, *P. waksmanii* e *P. citrinum* Thom. As espécies de *Aspergillus*, foram isoladas, em ordem decrescente de frequência, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. oryzae*, *A. fumigatus*, *A. japonicus* var. *japonicus* e *A. niger* var. *niger*. A incidência das espécies identificadas variou de acordo com as épocas das coletas e as alturas do silo-secador como pode ser observado nas Tabelas 15 e 16.



TABELA 15. Percentual de incidência das espécies de *Penicillium* e *Aspergillus* durante

Espécies	Épocas das coletas							
	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>P. griseofulvum</i>	1,86	0,93	3,73	5,6	1,86	0	0	0,93
<i>P. commune</i>	4,67	10,28	6,54	5,6	6,54	3,73	1,86	0
<i>P. solitum</i>	2,8	0,93	0	0,93	0	0	0	0
<i>P. islandicum</i>	0,93	4,67	3,73	0	0,93	2,8	0,93	1,86
<i>P. variable</i>	1,86	0	0,93	0	0	0	0	0
<i>P. corylophilum</i>	0	5,6	2,8	5,6	0,93	0	1,86	2,8
<i>P. waksmanii</i>	0	0,93	0	0	0	0	0	0
<i>P. citrinum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0,93
<i>P. canescens</i>	0	0	0	0	0	0	0	0,93
<i>A. flavus</i>	16,36	12,72	0	1,82	10,91	9,09	1,82	7,27
<i>A. parasiticus</i>	5,45	0	5,45	0	0	1,82	1,82	7,27
<i>A. oryzae</i>	1,82	3,63	0	0	0	0	1,82	1,82
<i>A. fumigatus</i>		0	0	0	0	1,82	1,82	0
<i>A. japonicus</i> var <i>japonicus</i>	0	0	0	0	1,82	0	1,82	0
<i>A. niger</i> var <i>niger</i>	0	0	0	0	1,82	0	0	0

o manejo de secagem estacionário e armazenamento no silo.

No manejo estacionário, as épocas 1, 2, 5 e 6 de coleta apresentaram maior predominância de *A. flavus*; nas épocas 3 e 4 predominou *P. commune*; nas épocas 7 e 8 houve uma distribuição mais constante das espécies.

Comparando as duas alturas do silo-secador (Tabela 16), fica mais uma vez clara a predominância de *A. flavus* e *P. commune*, sendo que a maior incidência das duas espécies foi na altura 1. Na altura 1 (grãos localizados no terço inferior do silo) também ocorreu, mesmo em baixa frequência, a espécie *P. citrinum*, conhecida como potencialmente produtora de citrinina. A altura 2 apresentou uma incidência maior de *A. parasiticus*, produtora de aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>.

TABELA 16. Percentual das espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* isoladas das duas alturas do silo-secador.

Espécies	Altura 1	Altura 2
<i>P. griseofulvum</i>	22	8,77
<i>P. commune</i>	40	38,6
<i>P. solitum</i>	4	5,26
<i>P. islandicum</i>	12	19,3
<i>P. variable</i>	0	5,26
<i>P. corylophilum</i>	18	21,06
<i>P. waksmanii</i>	0	1,75
<i>P. citrinum</i>	2	0
<i>P. canescens</i>	2	0
<i>A. flavus</i>	64,28	46,16
<i>A. parasiticus</i>	19,05	30,77
<i>A. oryzae</i>	11,9	0
<i>A. fumigatus</i>	4,77	0
<i>A. japonis</i> var <i>japonicus</i>	0	15,38
<i>A. niger</i> var <i>niger</i>	0	7,69

Além das espécies de *Aspergillus* e *Penicillium*, foram isoladas das amostras, *Fusarium* spp, *Cladosporium* spp, *Phoma* spp, *Mucor* spp, *Curvularia* spp, *Verticillium* spp e fungos não esporulados.

Esses resultados estão de acordo com Lima et al (2000) que, além de isolar um percentual significativo de *A. flavus* de derivados de arroz, encontraram representantes dos gêneros *Fusarium*, *Mucor*, *Cladosporium* e fungos não esporulados, além de *Nigrospora* spp.

Da mesma forma, Nunes (2001) encontrou em amostras de arroz, representantes dos gêneros, *Phoma*, *Curvularia*, *Cladosporium*, entre outros.

Tonon et al (1997), analisando a micoflora do arroz com casca e moído, provenientes do nordeste da Argentina e sul do Paraguai, verificaram

um domínio das espécies *Penicillium citrinum*, *P. islandicum*, *Aspergillus niger*, *A. flavus* e *Fusarium semitectum*. Embora os gêneros predominantes tenham sido os mesmos, os resultados obtidos por esses autores diferem no domínio de espécie dos apresentados neste trabalho. Essas diferenças podem ser explicadas principalmente pelas diferenças climáticas entre as regiões de desenvolvimento das culturas.

As espécies *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. oryzae*, *P. griseofulvum*, *P. waksmanii*, *P. corylophilum*, *P. solitum* e *P. canescens* encontradas nesse trabalho estão de acordo com Bianchini (2003), que também analisou arroz com casca. Outras espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* também foram encontradas por pela mesma autora como: *P. crustosum*, *P. implicatum*, *P. sclerotium*, *P. verrucosum*, *P. viridicatum*, *P. melinii*, *A. clavatus*, *A. sojae* entre outros.

Segundo Pitt (1988), *P. canescens*, *P. waksmanii*, *P. variable* e *P. citrinum* são espécies amplamente distribuídas, encontrando-se no solo, ar e vegetação em decomposição. *P. solitum* é um agente deteriorante comum de carnes processadas e maçã. *P. corylophilum*, *P. griseofulvum* e *P. islandicum* são espécies amplamente distribuídas em regiões tropicais e consideradas deteriorantes de cereais armazenados. *P. commune* é comumente encontrado em alimentos junto com outros representantes do gênero.

*Aspergillus flavus* está mundialmente distribuído e é predominante em áreas tropicais e subtropicais em solos cultivados ou não. *A. oryzae*, *A. fumigatus* e *A. japonicus* var. *japonicus* são espécies comumente isoladas de plantas, solo e sementes. *A. parasiticus* é mais encontrado em sementes,

plantas e insetos. *A. niger* var. *niger* é o fungo mais encontrado em alimentos, mas também é isolado de sementes, plantas, solo e frutas secas (Klich & Pitt, 1988).

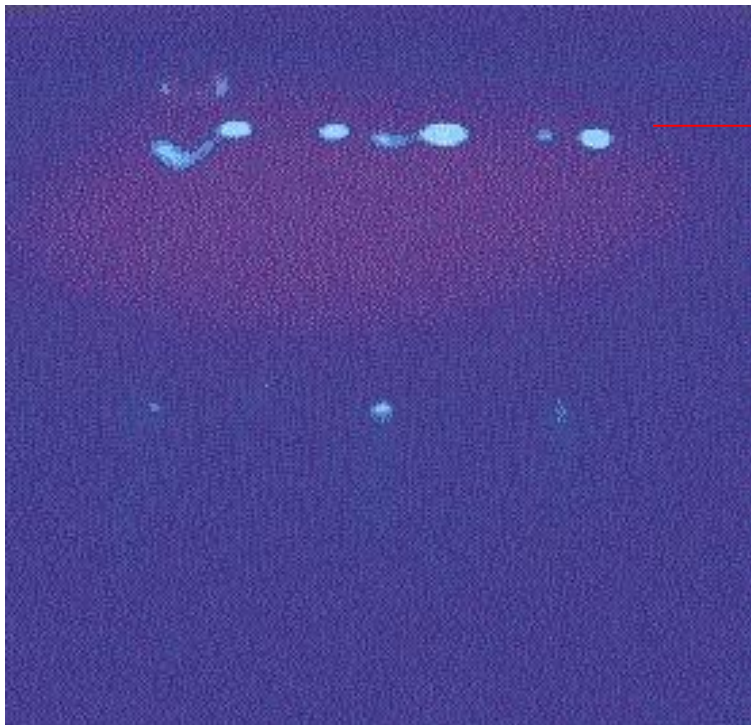
### **5.3 Detecção do potencial toxigênico de *Aspergillus* spp.**

Foram testados, quanto à capacidade de produção de aflatoxinas, 40 isolados de *A. flavus* e 13 isolados de *A. parasiticus*, espécies conhecidas como produtoras desses compostos.

Dos 53 isolados testados, apenas 7 (13,20%), da espécie *A. flavus*, produziram aflatoxina B<sub>1</sub> nas condições testadas. Dessas, três foram isolados da amostra inicial (E0), três da época 1 de coleta referente ao manejo intermitente e uma isolada na época 2 do manejo estacionário, da altura superior do silo-secador (FIGURA 9).

A baixa incidência de fungos produtores de aflatoxinas nas amostras de arroz com casca, está de acordo com Bianchini (2003), que testando 137 isolados de *A. flavus* e 85 de *A. parasiticus*, nas mesmas condições dessa pesquisa, encontrou somente 2 produtores.

Já Lima et al (2000), de 19 isolados de *A. flavus*, observaram 52,6% deles produtores de aflatoxinas do grupo B. Entretanto, não confirmaram as identidades dos compostos, o que poderia reduzir consideravelmente esse percentual.



Manchas características da aflatoxina B<sub>1</sub> derivatizada com ácido trifluoracético.

FIGURA 9. Placa cromatográfica, sob luz ultra-violeta, após a confirmação da identidade da aflatoxina B<sub>1</sub> produzida pelos isolados de *A. flavus*.

As colônias isoladas nesse trabalho continuam sendo mantidas em cultura sob refrigeração e preservadas em óleo mineral.

#### 5.4 Determinação de micotoxinas nas amostras

Embora tenham sido encontrados alguns fungos produtores de aflatoxinas, não foram encontradas aflatoxinas, ocratoxina A, zearalenona e citrinina nas amostras de arroz com casca, branco-polido e parboilizado analisadas.

O mesmo ocorreu para Lima et al (2000), que pesquisando arroz com casca e derivados, não verificaram a presença de aflatoxinas, mesmo com a detecção de 52,6% dos 19 isolados de *Aspergillus flavus* produtores de aflatoxinas do grupo B.

Molinié et al (2004), analisando arroz, quanto à presença de ocratoxina A, citrinina e fumonisina B<sub>1</sub>, encontraram somente a última.

Embora tenham encontrado aflatoxina B<sub>1</sub> em amostras de arroz polido e integral, Sylos et al (2003) não encontraram ocratoxina em nenhuma das 68 amostras analisadas.

Calvette et al (1993), analisaram amostras de arroz integral e, da mesma forma, não verificaram a presença de aflatoxinas, ocratoxina A e zearalenona nas amostras analisadas.

Tanto no manejo intermitente como no estacionário, logo após a secagem, os grãos já apresentavam umidade inferior a 14% e esse pode ter sido um dos fatores que contribuiu para o não desenvolvimento de micotoxinas durante o armazenamento. De acordo com um experimento realizado por Abramson et al (1999) a umidade dos grãos parece ter sido um dos fatores decisivos na produção de toxinas. Isso porque, amostras de cevada mantidas em condições simuladas de estocagem com conteúdo de umidade de 19% permitiram a produção de ocratoxina A, citrinina e esterigmatocistina, enquanto que amostras mantidas com umidade de 15% não apresentaram essas toxinas.

## **5.5 Fatores analisados: Manejo de secagem intermitente e armazenamento em sacaria.**

### **5.5.1 Umidade dos grãos (% em base úmida)**

A Figura 10 mostra o comportamento da umidade dos grãos no manejo intermitente.

Pode-se observar que logo após a secagem (Época 1) os grãos já apresentavam umidade considerada segura para o armazenamento (<13%). Nas

demais épocas de coletas, pequenas variações ocorreram, sendo a média durante todo o período de 13%.

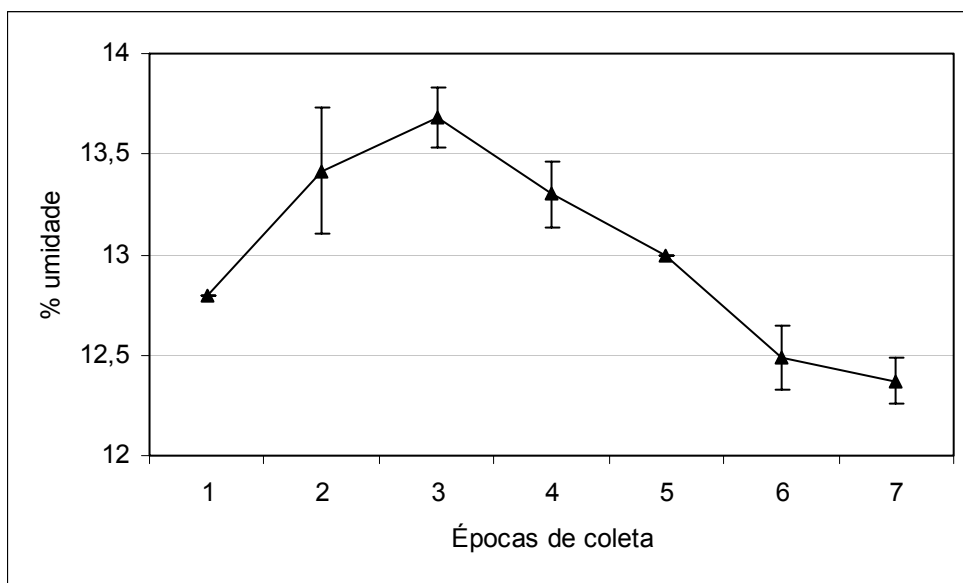


FIGURA 10. Umidade do grão durante o manejo intermitente de secagem e armazenamento em sacaria.

Quando verificada a influência desse fator sobre a contaminação fúngica (Figura 11), observa-se que o fator umidade do grão afetou significativamente a contaminação fúngica (correlação positiva), quando considerada uma confiança de 90% ( $P < 0,10$ ), uma vez que apresentou valor  $P = 0,0845$  e coeficiente de correlação  $r = 0,6926$ . Ou seja, na medida que a umidade dos grãos aumentava, a enumeração fúngica também crescia.

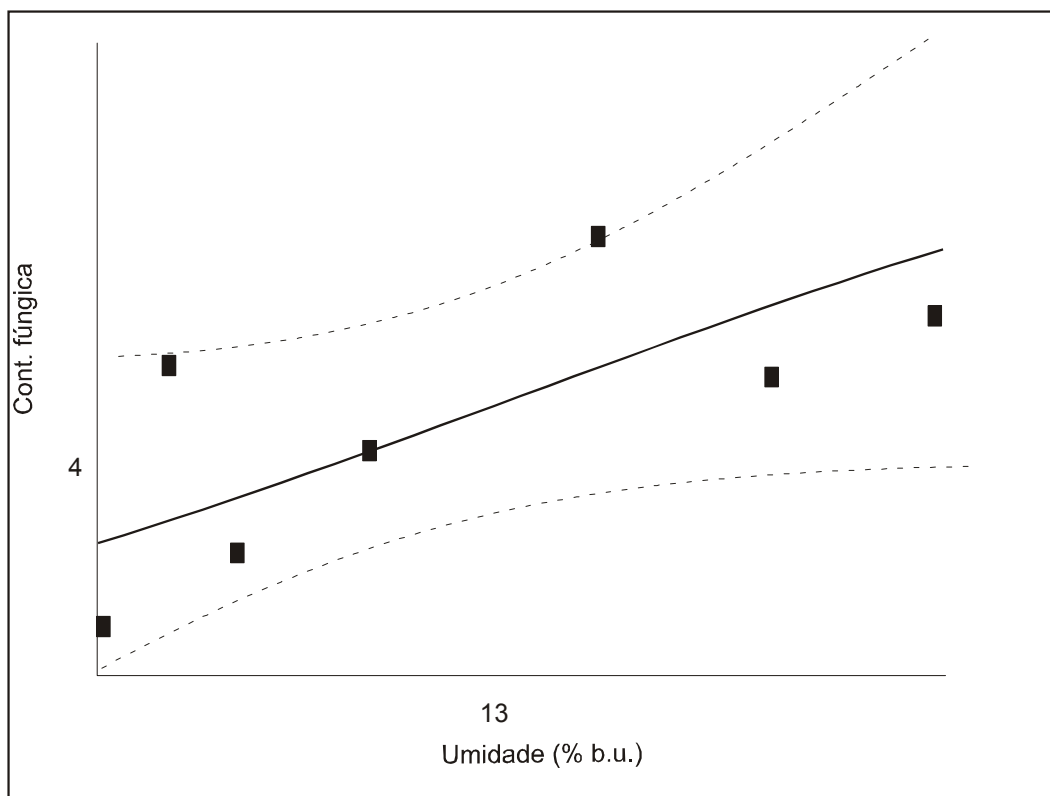


FIGURA 11. Influência da umidade dos grãos na contaminação fúngica durante o armazenamento em sacaria.

## 5.6 Fatores analisados: Manejo de secagem estacionária e armazenamento no próprio silo

### 5.6.1 Umidade dos grãos (% base úmida) e temperatura da massa de grãos

As figuras 12 e 13 mostram o comportamento da umidade dos grãos, nas duas alturas do silo-secador, no manejo estacionário de secagem e armazenamento no silo-secador.

Os resultados indicam que os grãos no terço inferior (altura 1) apresentaram valores inferiores de umidade quando comparados àqueles que estavam no terço superior (altura 2), durante todo o período.



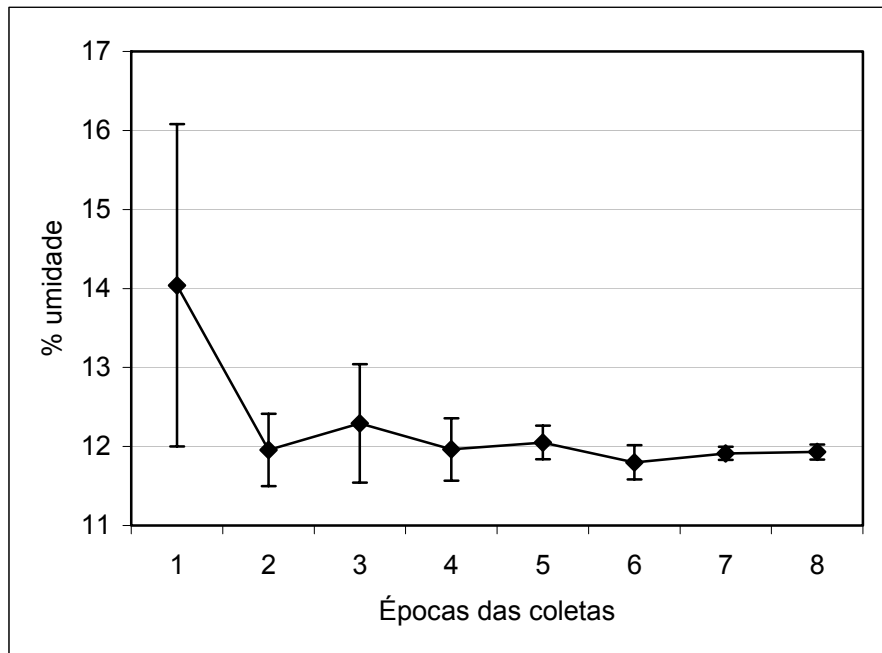


FIGURA 12. Umidade dos grãos do terço inferior do silo durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.

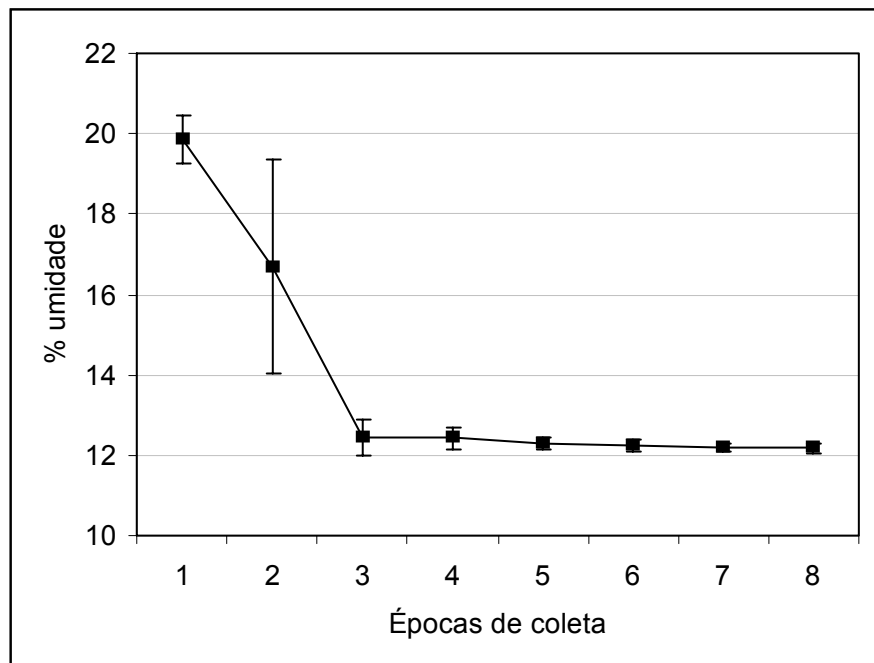


FIGURA 13. Umidade dos grãos do terço superior do silo durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.

Durante a secagem (Épocas 1 e 2), esse fato se evidenciou uma vez que os grãos da altura 1 apresentaram uma redução de umidade rápida e já considerada segura para o armazenamento.

A partir da época 3, os grãos apresentaram, de modo geral, umidade inferior a 13%.

Através da análise estatística, pode-se afirmar que as umidades dos grãos nas alturas 1 e 2 do silo-secador diferem significativamente entre si, com  $P = 0,0281$  e confiança de 95%.

Na análise de regressão linear, esse fator não mostrou ter influenciado a contaminação fúngica nas duas alturas analisadas como pode ser verificado nas figuras 14 e 15.

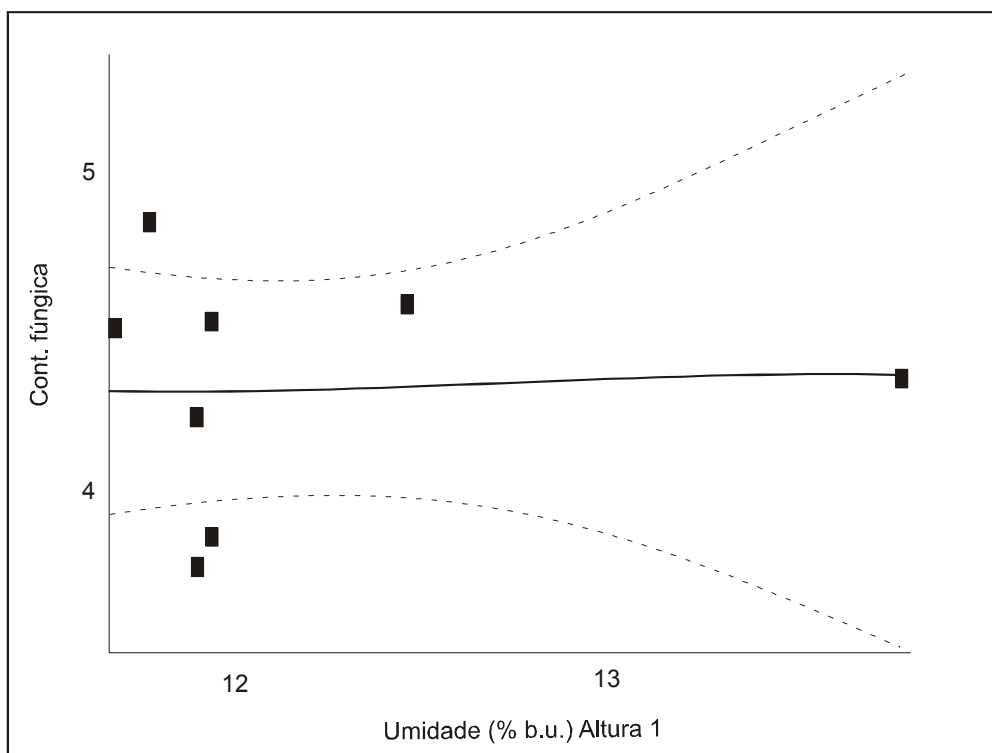


FIGURA 14. Influência da umidade dos grãos da altura 1, na contaminação fúngica, durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.

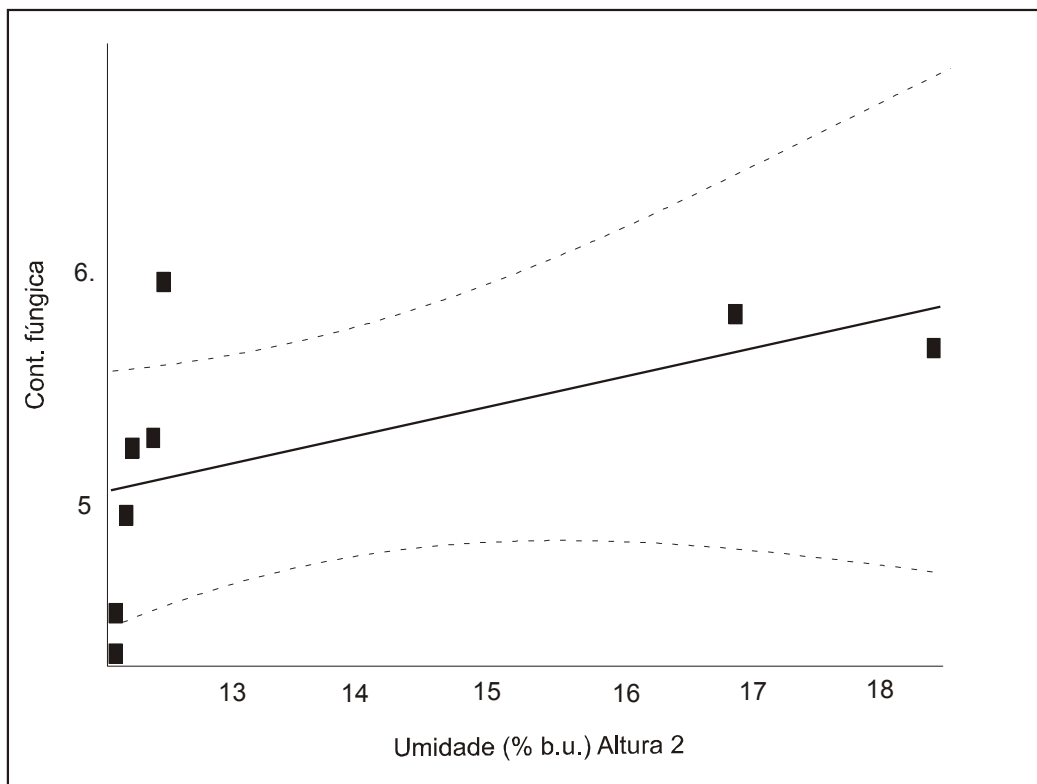


FIGURA 15. Influência da umidade dos grãos da altura 2, na contaminação fúngica, durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.

Em relação à temperatura da massa de grãos, a altura 1 (terço inferior) apresentou uma temperatura maior em 75% do período, quando comparada à altura 2 (terço superior) (Figura 16 e 17).

Mesmo assim, essa diferença não se mostrou estatisticamente significativa.

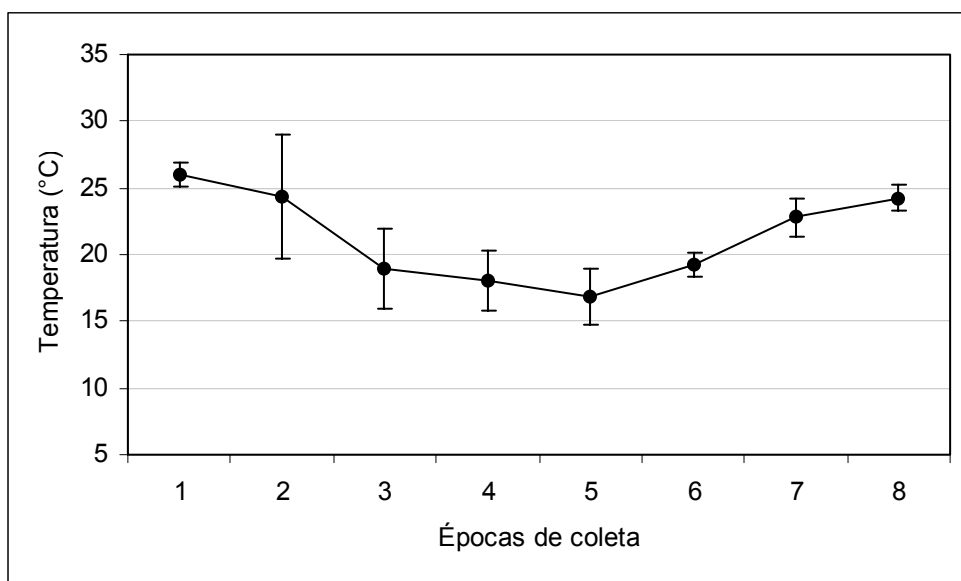


FIGURA 16. Temperatura da massa de grãos no terço inferior do silo durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.

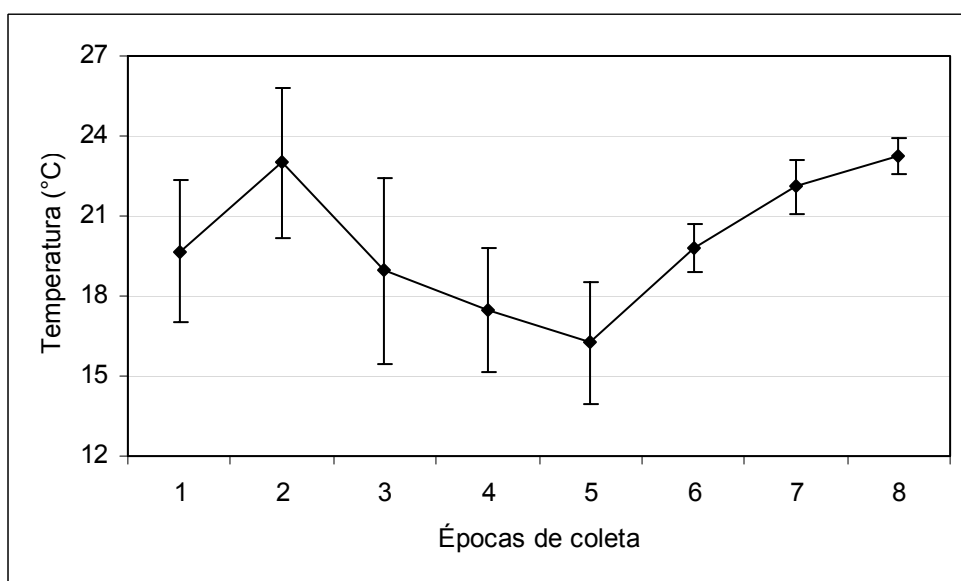


FIGURA 17. Temperatura da massa de grãos no terço superior do silo durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.

As figuras 18 e 19 mostram os resultados da regressão linear para a influência da temperatura da massa de grãos sobre a contaminação fúngica.

Pode-se observar que não houve influência significativa desse fator na contaminação fúngica nas duas alturas do silo-secador.

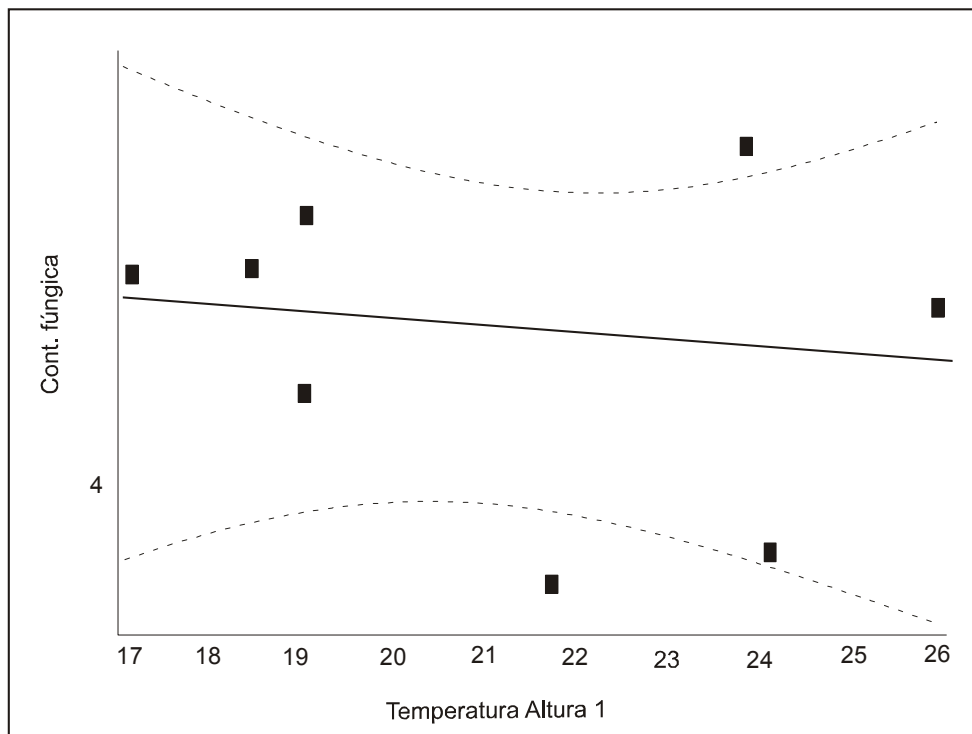


FIGURA 18. Influência da temperatura da massa de grãos na contaminação fúngica da altura 1, durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.

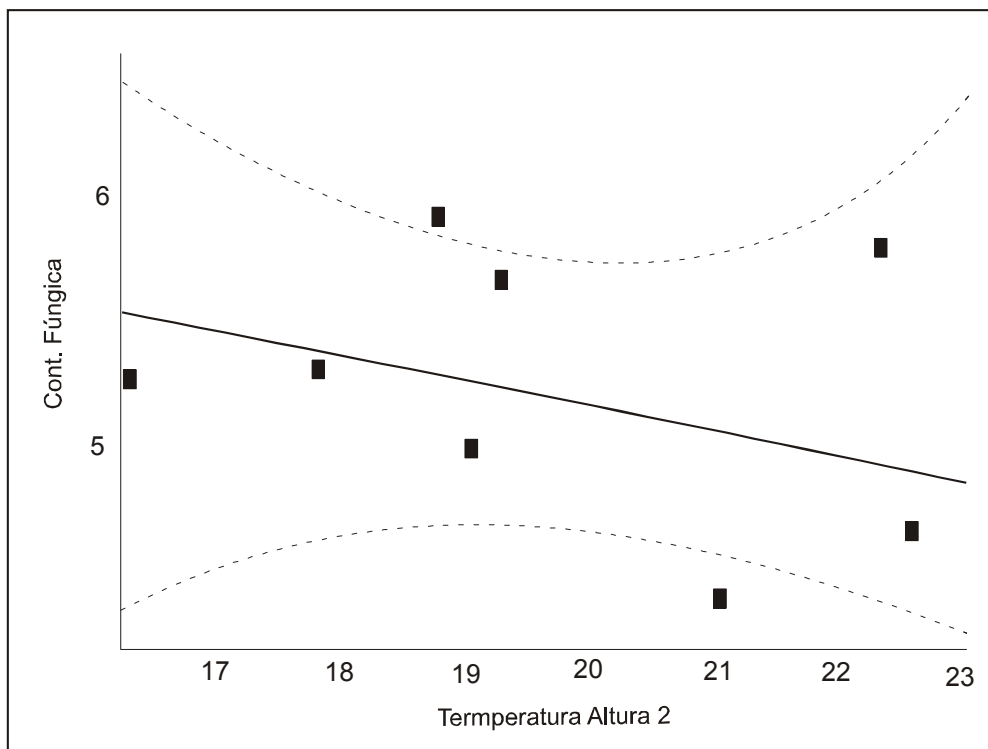


FIGURA 19. Influência da temperatura da massa de grãos na contaminação fúngica da altura 2, durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.

Quando verificada a influência do conjunto dos fatores umidade e temperatura dos grãos, observou-se que no terço inferior do silo-secador (altura 1) não houve nenhuma influência dos dois fatores sobre a contaminação fúngica (Tabela 18) . No terço superior (altura 2), porém, houve uma influência significativa da umidade do grão na contaminação fúngica, quando considerada uma confiança de 90% ( $P < 0,10$ ) (Tabela 19). Isso significa que na medida que a umidade do grão demorava a diminuir, a contaminação fúngica crescia (correlação positiva).

TABELA 17. Resultados da análise de regressão linear múltipla para a contaminação fúngica na altura 1, tendo como variáveis temperatura e umidade da massa de grãos.

	Coeficiente	Desvio-padrão	Razão T (*)	Valor P
Contaminação Fúngica	3,384	2,852	1,186	0,2888
Temperatura	-0,03263	0,05322	0,6130	0,5667
Umidade	0,1347	0,2685	0,5017	0,6372

(\*) = Coeficiente/Desvio-padrão

TABELA 18. Resultados da análise de regressão linear múltipla para a contaminação fúngica na altura 2, tendo como variáveis temperatura e umidade da massa de grãos.

	Coeficiente	Desvio-padrão	Razão T (*)	Valor P
Contaminação Fúngica	5,255	1,550	3,389	0,0195
Temperatura	-0,09997	0,07438	1,344	0,2367
Umidade	0,1453	0,06858	2,118	0,0877

(\*) = Coeficiente/Desvio-padrão

O fato de a temperatura ser maior no terço inferior (altura 1), discorda de Andrade et al (2003) que, analisando a qualidade de sementes de milho armazenadas em silo metálico, observaram uma temperatura menor na superfície inferior da massa de grãos. Este fato pode ser explicado pelo sistema de manejo empregado na secagem e manutenção desse produto que foi bastante diferente do utilizado para o arroz, nesse trabalho.

Em relação à umidade das sementes de milho, os mesmos autores verificaram que a superfície superior da massa de grãos apresentava umidade maior que as sementes da parte inferior, durante todo o período de armazenamento (170 dias), como o verificado neste trabalho.

### 5.6.2 Temperatura e umidade no interior do silo-secador

As figuras 20 e 21 mostram o comportamento da temperatura e da umidade no interior do silo-secador, durante o manejo estacionário de secagem e no armazenamento.

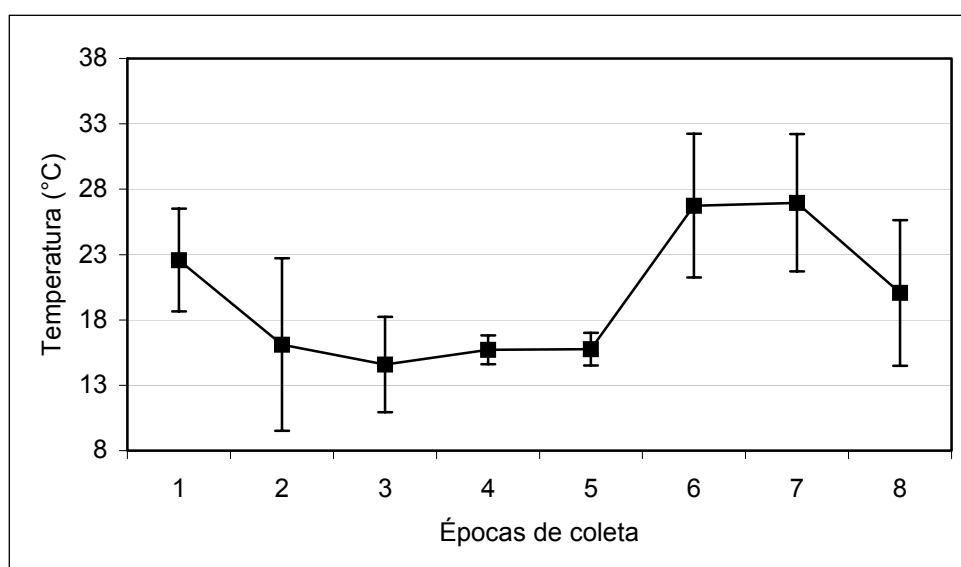


FIGURA 20. Temperatura no interior do silo-secador durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.

Ao verificar a influência da temperatura na contaminação fúngica, em cada uma das alturas, observa-se que no terço inferior (altura 1), esse fator foi significativo, quando considerada uma confiança de 95% ( $P < 0,05$ ). Ou seja, na medida que a temperatura aumentava, a contaminação fúngica decrescia (correlação negativa) (Figura 22).

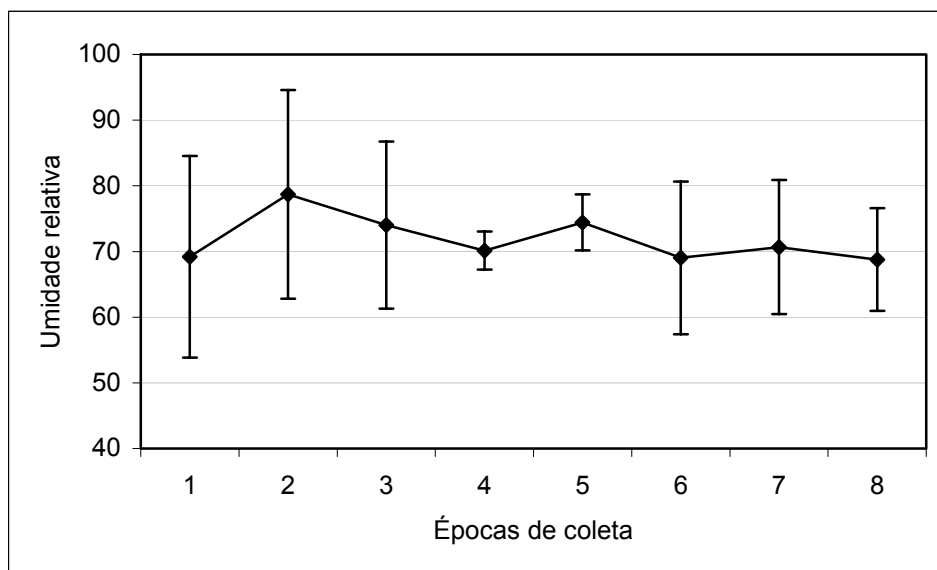


FIGURA 21. Umidade no interior do silo-secador durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.

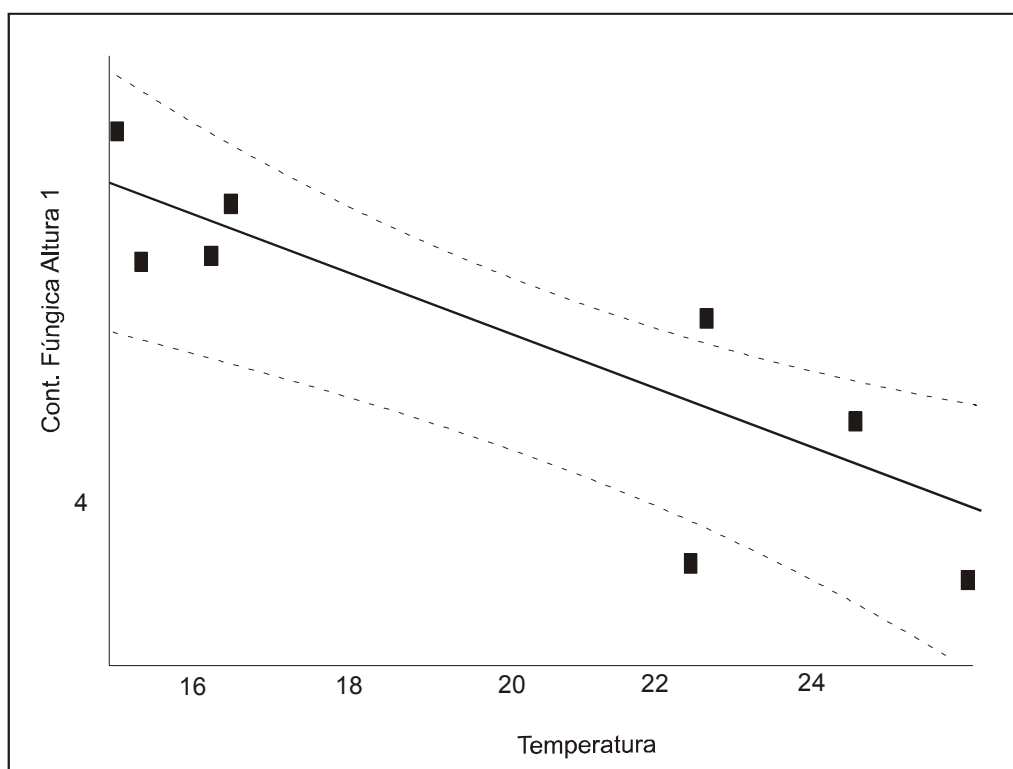


FIGURA 22. Influência da temperatura do interior do silo-secador na contaminação fúngica da altura 1, durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.



No terço superior (altura 2), essa relação não foi tão evidente, mas também pode ser considerada significativa quando analisada com uma confiança de 90% ( $P < 0,10$ ) (Figura 23).

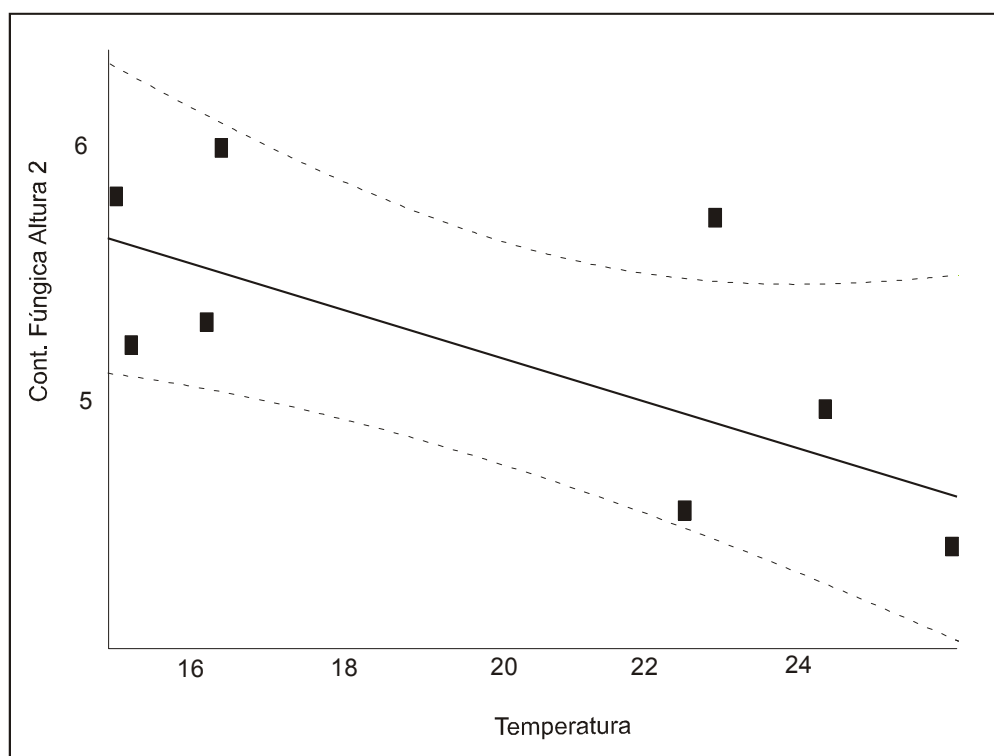


FIGURA 23. Influência da temperatura do interior do silo-secador na contaminação fúngica da altura 2, durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.

Em relação à umidade no interior do silo-secador, não foi observada sua influência sobre a contaminação fúngica em nenhuma das alturas analisadas (Figuras 24 e 25).

Ao verificar a influência dos dois fatores, concomitantemente, sobre a contaminação fúngica nas duas alturas do silo-secador, foi observado que não houve influência significativa dos mesmos.

Interessante salientar que, durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento, o fator que mais teve efeito sobre a

contaminação fúngica foi a temperatura no interior do silo-secador. Pode-se dizer que esse efeito foi de certa forma, positivo, uma vez que na medida que a temperatura aumentava, a enumeração fúngica diminuía significativamente.

De um modo geral, pode-se dizer que esse manejo é extremamente dependente de várias variáveis que devem ser analisadas isoladamente e no contexto. Essa relação pode ser melhor observada pelo fato que, nas condições dessa pesquisa, a maior contaminação fúngica na altura 2 (terço superior) está relacionada com a umidade e temperatura dos grãos. Quando analisados concomitantemente, o primeiro apresentou influência significativa ( $P < 0,10$ ) a contaminação fúngica. Isso significa que na medida que a umidade do grão demorava a diminuir, a contaminação fúngica aumentava (correlação positiva).

Na altura 1 (terço inferior), entretanto, a maior influência foi da temperatura no interior do silo-secador, que na medida que aumentava, decrescia a contaminação fúngica.

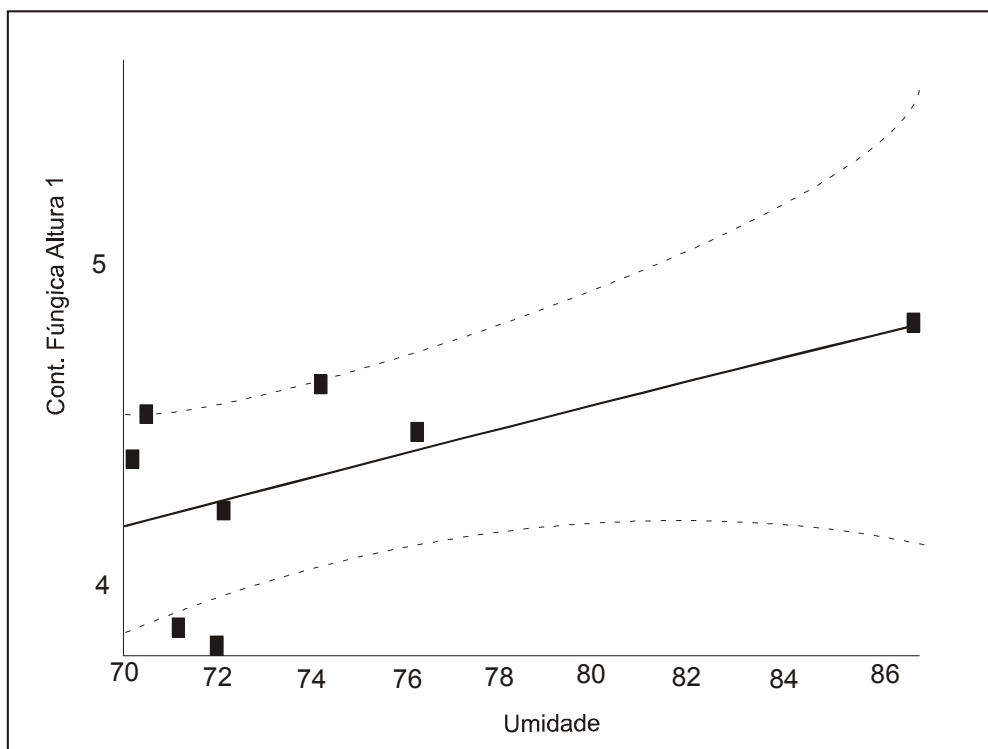


FIGURA 24. Influência da umidade do interior do silo-secador na contaminação fúngica da altura 1, durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.

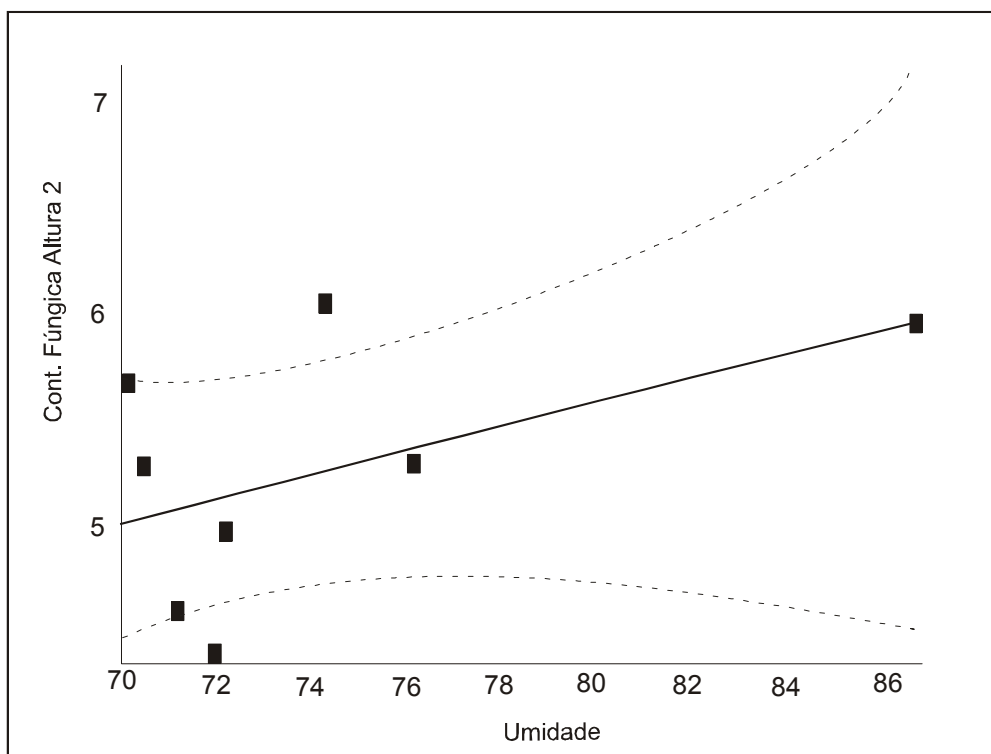


FIGURA 25. Influência da umidade relativa do interior do silo-secador na contaminação fúngica da altura 2, durante o manejo estacionário de secagem e durante o armazenamento.

Resultados semelhantes foram observados por Bianchini (2003) pesquisando a relação de fatores abióticos sobre a contaminação fúngica em arroz com casca armazenado em silos-secadores. Neste trabalho, a autora verificou influência dos fatores umidade, tempo, temperatura e UR, em ordem decrescente de importância. O mesmo foi observado em relação à temperatura, quando analisada isoladamente, nas duas alturas do silo-secador. Já Paster & Bullerman (1988) observaram uma redução em peso de micélio com a redução da temperatura.

Da mesma forma para Bianchini (2003), a umidade do grão apresentou uma correlação positiva, ou seja, o aumento dessa, é refletido positivamente no crescimento fúngico.

### **5.7 Grãos danificados e picados/manchados**

As figuras 26, 27, 28 e 29 mostram o percentual de defeitos nos grãos branco-polido e parboilizado, durante os manejos estacionário e intermitente.

Pode-se observar que o percentual de grãos danificados foi maior que o de grãos picados/manchados referentes aos dois manejos analisados e ao tipo de beneficiamento. Os resultados estatísticos demonstraram que o percentual de grãos danificados não diferiu significativamente entre os dois tipos de beneficiamento, nos dois manejos analisados. O mesmo foi observado em relação ao percentual de grãos picados/manchados.

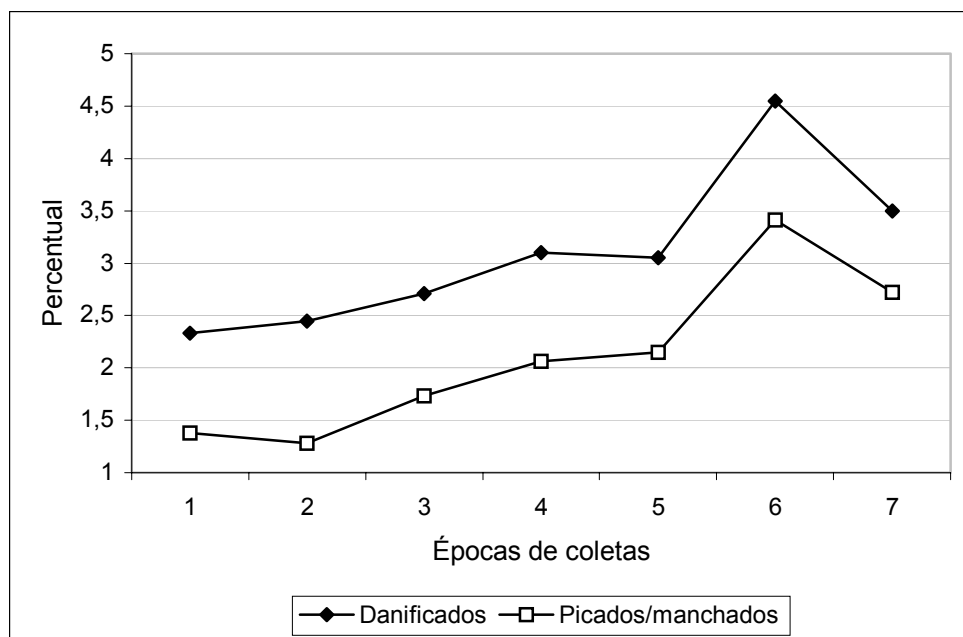


FIGURA 26. Percentual de defeitos nos grãos branco-polido durante o manejo intermitente de secagem e armazenamento.

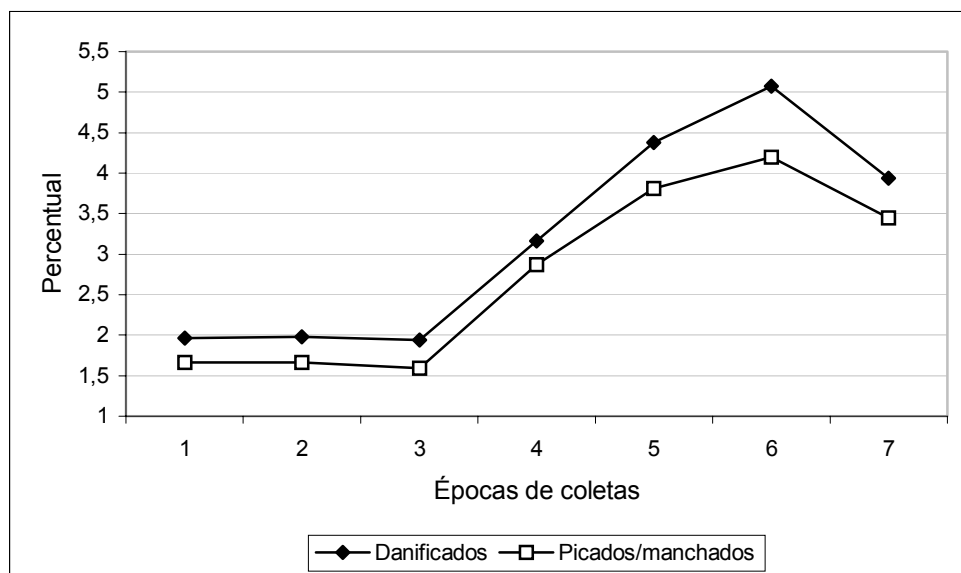


FIGURA 27. Percentual de defeitos nos grãos parboilizados durante o manejo intermitente de secagem e armazenamento.

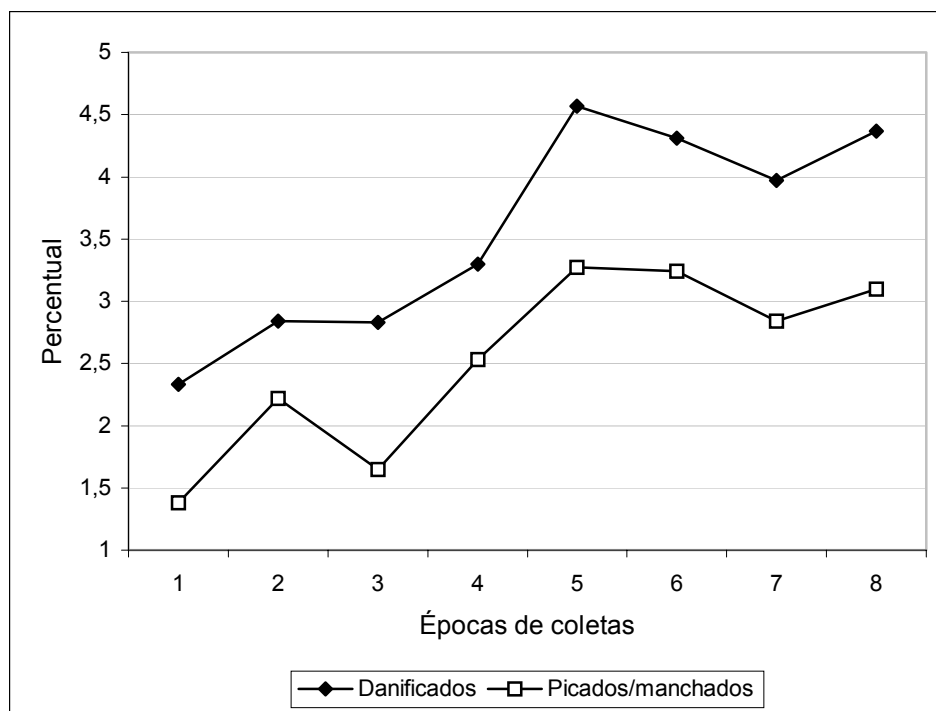


FIGURA 28. Percentual de defeitos nos grãos branco-polido durante o manejo estacionário de secagem e armazenamento.

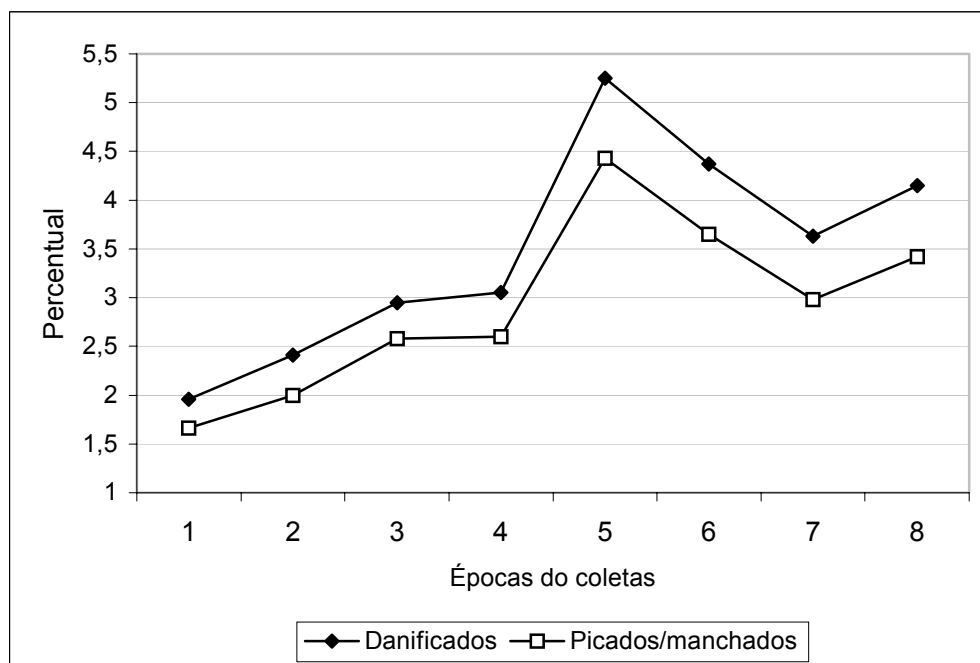


FIGURA 29. Percentual de defeitos nos grãos parboilizados durante o manejo estacionário de secagem e armazenamento.

Com o exposto acima, pode-se afirmar que o manejo de secagem intermitente com posterior armazenamento dos grãos em sacaria, mesmo sob influência de fatores ambientais, mostrou ser mais eficiente na manutenção da qualidade microbiológica dos grãos de arroz. Esse fato pode ser, entre outros motivos, explicado pela eficiência da secagem empregada nesse manejo.

O manejo de secagem estacionário e armazenamento no próprio silo, apresentou maior contaminação fúngica em função da má distribuição do ar durante a secagem que manteve as condições propícias para a conservação dos grãos no terço inferior, mas não no terço superior. Esse fato, era esperado, uma vez que para não danificar os grãos e em consequência do grande tempo levado na secagem, o produto que encontrava-se no terço superior foi prejudicado. Uma das soluções que poderia ser empregada nesse manejo para minimizar o problema e conseguir equilibrar suas características sem danificar os grãos, seria não encher completamente o silo-secador (altura de, no máximo, 1,5 m) ou periodicamente, revolver a massa de grãos ali instalada.

Cabe salientar que o fato de terem sido isolados, em ambos os manejos, *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus* produtores de aflatoxina B<sub>1</sub>, mas essa toxina não ter sido encontrada em nenhuma das amostras, pode ser explicado em função dos fatores temperatura (< 25°C) e umidade (< 80%), que durante o experimento, tiveram valores mais baixos dos que os normalmente considerados ótimos para a produção desses compostos.

## 6 CONCLUSÕES

No manejo de secagem intermitente e armazenamento dos grãos em sacaria a enumeração fúngica permaneceu constante ao longo do período.

No manejo de secagem estacionária e armazenamento no próprio silo, a enumeração foi significativamente maior na massa de grãos que estava situada no terço superior do mesmo (altura 2)

Espécies do gênero *Penicillium* se destacaram com maior incidência em ambos manejos, sendo que espécies de *Aspergillus* só foram mais abundantes na amostra inicial. No manejo de secagem intermitente e armazenamento em sacaria destacaram-se as espécies *Penicillium islandicum* e *Aspergillus flavus*. No manejo de secagem estacionária e armazenamento no próprio silo as espécies de maior incidência foram *P. commune* e *A. flavus*.

Sete isolados de *A. flavus* apresentaram capacidade de produção da aflatoxina B<sub>1</sub>, sendo três da amostra inicial (E0), três da época 1 de coleta referente ao manejo de secagem intermitente e 1 da época 2 do manejo de secagem estacionária, do terço superior do silo-secador.

As condições de manejo empregadas não favoreceram a produção de micotoxinas, propiciando produtos de qualidade do ponto de vista toxicológico.



No manejo de secagem intermitente e armazenamento em sacaria, a umidade dos grãos afetou significativamente a contaminação fúngica (correlação positiva), quando considerada uma confiança de 90%.

No manejo de secagem estacionária e armazenamento no próprio silo, no terço superior (altura 2), houve uma influência significativa da umidade do grão na contaminação fúngica (correlação positiva). No terço inferior (altura 1), a maior influência foi da temperatura no interior do silo-secador, com confiança de 95% (uma correlação negativa).

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMSON, D. et al. Mycotoxin formation in hulles barley during granary storage at 15 and 19% moisture content. **Journal of Stored Products Research**, Kindlington, v. 35, p. 297-305, 1999.

ADEBAJO, L.O. et al. Mold contamination and the influence of water activity and temperature on mycotoxin production by two *Aspergilli* in melon seed. **Nahrung**, Weinheim, v. 38, p. 209-217, 1994.

ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M. **Introductory Micology**. 4 ed. New York: John Wiley&Sons, 1979. 487p.

ALONÇO, A. S. Perdas de coheita e regulagens de colhedoras de arroz. In: SIMPÓSIO SUL-BRASILEIRO DE QUALIDADE DO ARROZ, 2003, Pelotas. **Anais**. Pelotas, 2003. 83-108p.

ANDRADE, E. T. et al. Qualidade de sementes de milho armazenadas em silo metálico. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. 28, n. 2, p. 23-30, 2003.

*ANUÁRIO BRASILEIRO (do) ARROZ*. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2004. 136p.

*ARROZ irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o sul do Brasil*. 2003, Camboriú. 125p.

ATHIÉ, I. et al. **Conservação de grãos**. Campinas: Fundação Cargill, 1998. 236p.

AZIZ, N. H.; MOUSSA, L. A. A. Influence of gamma-radiation on mycotoxin producing moulds and mycotoxins in fruits. **Food Control**, Guildford, v. 13, p. 281-288, 2002.

BARBOSA, F. F. et al. GLP para o aquecimento do ar na secagem estacionária do arroz irrigado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 2., 2001, Porto Alegre. **Anais**. Porto Alegre, 2001. 664-666p.

BARNETT, H.L.; HUNTER, BARRY B. **Illustrated Genera of Imperfect Fungi**. 4 ed. New York: Macmillian, 1986. 217 p.

BERG, T. How to establish international limits for mycotoxins in food and feed. **Food Control**, Guildford, v. 14, p. 219-224, 2003.

BIANCHINI, A. **Estudo Comparativo entre Manejos de Secagem e Armazenamento de Arroz na Incidência de Fungos Toxigênicos e Micotoxinas**. 2003. 103 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

BIANCHINI, A. et al. Influência dos fatores abióticos sobre a microbiota fúngica potencialmente toxigênica isolada de arroz armazenado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 3., 2003, Camboriú. **Anais**. Camboriú, 2003. 638-640p.

BOEMEKE, L. R. S. et al. Manejo térmico e consumo de energia na secagem intermitente de grãos de arroz.. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 2., 2001, Porto Alegre. **Anais**. Porto Alegre, 2001. 711-714p.

CALDAS, E. D. et al. Aflatoxinas e ocratoxina A em alimentos e risco para a saúde humana. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 319-323, 2002.

CALVETTE, K. L. et al. Análise de micotoxinas e microscopia de arroz integral, farinha de centeio e farelo de trigo em estabelecimentos de Florianópolis-SC. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 40-40, 1993.

COELHO, C. S. P. et al. Migração de micotoxinas durante a parboilização do arroz. **Brazilian Journal of Food Technology**, Champaign, v. 2, n.1,2, p. 39-44, 1999.

DRUVEFORS, U. Ä.; SCHNÜRER, J. Mold-inhibitory activity of different yeast species during airtight storage of wheay grain. **FEMS Yeast Research**, 2004. Article in Press.

ELIAS, M. C. **Tecnologia em secagem e armazenamento de grãos: sistemas, processos e métodos**. Pelotas: Coredesul, 2000.

EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO. **Informações**. Disponível em <<http://www.cnpaf.embrapa.br>, acesso em: 28/06/2004.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **All about rice**. Genova: FAO, 2004. Disponível em <http://www.fao.org/rice2004/em/rice9.htm>, acesso em: 28/06/2004.

FAGUNDES, C. A. A. Secagem estacionária de arroz em baixas temperaturas. In: SIMPÓSIO SUL-BRASILEIRO DE QUALIDADE DO ARROZ, 2003, Pelotas. **Anais**. Pelotas, 2003. 275-278p.

FAGUNDES, C. A. A. et al. GLP para o aquecimento do ar na secagem intermitente do arroz. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 2., 2001, Porto Alegre. **Anais**. Porto Alegre, 2001. 660-663p.

FDA. Food and Drug Administration. **Bacteriological Analytical Manual**. 6 ed. Arlington, EUA, 1992. 529p.

FILTENBORG, O. et al. Moulds in food spoilage. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 33, p. 85-102, 1996.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002. 424p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1999. 182 p.

FURLONG, E. B. et al. Aflatoxinas, ocratoxina A e zearalenona em alimentos da região sul do Rio Grande do Sul. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 58, n. 2, p. 105-111, 1999.

GARCIA, M. J. M. et al. Sucessão de espécies de fungos em milho armazenado em sistema aerado. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. 27, n. 2, p. 14-22, 2002.

GOLINSKI, P.; GRABARKIEWICZ-SZCZESNA, J. Chemical confirmatory tests for ochratoxin A, citrinin, penicillic acid, sterigmatocystin, and zearalenone performed directly on thin layer chromatographic plates. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Arlington, v. 67, n. 6, p. 1108-1110, 1984.

GROFF, R. Secagem convencional do arroz. In: SIMPÓSIO SUL-BRASILEIRO DE QUALIDADE DO ARROZ, 2003, Pelotas. **Anais**. Pelotas, 2003. 263-274p.

HERMANN, G. **Fungos toxigênicos e micotoxinas durante o processo produtivo e armazenamento do milho em pequenas propriedades rurais**. 2002. 124 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

HUSSEIN, H. S.; BRASEL, J. M. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. **Toxicology**, Amsterdam, v. 167, p. 101-134, 2001.

IARC – International Agency for Research on Cancer. **Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins**. Lyon: OMS, 1993. Monografia 56.

ICMSF – International Commission on Microbiological Specifications for Foods, **Microorganisms in Foods**. Londres: Academic Press, 1996. p. 347-381.

JAYAS, D.; WHITE, N. D. G. Storage and drying of grain in Canada: low cost approaches. **Food Control**, Guildford, v. 14, p. 255-261, 2003.

KLICH, M. A.; PITT, J. I. **A Laboratory Guide to Common Aspergillus Species and their teleomorphs**. Victoria, Austrália: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization. Division of Food Processing, 1988. 116p.

KOKKONEN, M. et al. The effect of substrate on mycotoxin production of selected *Penicillium* strains. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, Article in Press, 2004.

LACAZ, C. S. **Micologia Médica**. São Paulo: Sarvier, 1991. p. 695.

LIMA, C. A. P. et al. Mycoflora and aflatoxigenic species in derivatives of milled rice. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 1, p. 37-39, 2000.

LIN, M. T.; DIANESE, J. C. A coconut-agar medium for rapid detection of aflatoxin production by *Aspergillus* spp. **Phytopathology**, Washington, p. 1466-1469, dez. 1976.

MACEDO, V. R. M. et al. Nutrientes nas águas da bacia hidrográfica do rio vacacaí-mirim durante o período de cultivo de arroz irrigado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 3., 2003, Camboriú. **Anais**. Camboriú, 2003. 218-220p.

MALLMANN, C. A. **Atividade de água**. Laboratório de Análises Micotoxicológicas da Universidade Federal de Santa Maria. Disponível em: <http://www.ufsm.br/lamic>. Acesso em: 5/07/2002.

MARQUEZ, U. M. L. O uso do arroz como alimento funcional. In: III CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 3., 2003, Camboriú. **Anais**. Camboriú, 2003. 777-779p.

MILANEZ, T.; LEITÃO, M. F. F. Atividade de água na produção de ocratoxina A por *Aspergillus alutaceus* Bert & Curt em feijão. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 14, n. 2, p. 238-246, 1994.

MILMAN, M. J. et al. Avaliação do desempenho industrial do arroz secado num secador intermitente variando as relações de intermitência e a temperatura do

ar de secagem. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 2., 2001, Porto Alegre. **Anais**. Porto Alegre, 2001. 651-653p.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA. Comissão Técnica de Normas e Padrões. **Regras para Análises de Sementes**. Brasília, 1992. p. 365.

MOLINIÉ, A. et al. Analysis of some breakfast cereals on the French market for their contents of ochratoxin A, citrinin and fumonisin B<sub>1</sub>: development of a method for simultaneous extraction of ochratoxin A and citrinin. **Food Chemistry**, London, Article in Press, 2004.

MOSS, M. O. Mycotoxin review – *Aspergillus* e *Penicillium*. **Mycologist**, Cambridge, v. 16, n. 3, 2002.

NUNES, I. L. **Micotoxinas, micoflora e seu potencial toxigênico em arroz destinado ao consumo humano**. Rio Grande, FURG, 2001. 95 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Fundação Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, 2001.

OGA, S. **Fundamentos de Toxicologia**. São Paulo: Atheneu, 1996. 515 p.

OSWEILER, G. D. **Toxicologia Veterinária**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1998. 526 p.

PARDO, E. et al. Modeling of germination and growth of ochratoxigenic isolates of *Aspergillus ochraceus* as affected by water activity and temperature on a barley-based medium. **Food Microbiology**, London, v. 21, p. 267-274, 2004.

PARK, K. Y.; BULLERMAN, L. B. Effect of cycling temperatures on aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus* in rice and cheddar cheese. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 48, p. 889-896, 1983.

PASTER, N.; BULLERMAN, L. B. Mould spoilage and mycotoxin formation in grains as controlled by physical means. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 7, p. 257-265, 1988.

PETZINGER, E.; WEIDENBACH, A. Mycotoxins in the food chain: the role of ochratoxins. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 76, p. 245-250, 2002.

PITT, J. I. **A Laboratory Guide to Common Penicillium Species**. Victoria, Australia: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization – Division of Food Processing, 1988. 187p.

PRZYBYLSKI, W. Formation of aflatoxin derivatives on thin layer chromatographic plates. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Arlington, v. 58, n. 1, p. 163-164, 1975.

PURCHASE, I.F.H. **Micotoxins**. Amsterdam: Elsevier Scientific, 1974. 443 p.

PUTZKE, J., PUTZKE, M. T. L. **Os Reinos dos fungos**. Santa Cruz do Sul: EDUNISC, 1998. 606p.

PUZZI, D. **Abastecimento e Armazenagem de grãos**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 2000. 666 p.

RIGOTTO, G. **Arroz**: alimentando a prosperidade do Rio Grande do Sul. In: ANUÁRIO Brasileiro do Arroz. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2004. p. 4-4.

RIZZO, A. et al. The effect of substrate on mycotoxin production of selected *Penicillium* strains. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, 2004. Article in Press.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.; SABINO, M. Mycotoxin research in Brazil: the last decade in review. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 33, p. 1-11, 2002.

ROVARIS, M. L. et al. Fungos e micotoxinas em arroz armazenado. In: SIMPÓSIO SUL-BRASILEIRO DE QUALIDADE DO ARROZ, 2003, Pelotas. **Anais**. Pelotas, 2003. 109-126p.

SCHIRMER, M. A. Análise de umidade: equalização de medidas de umidade de empresas e produtores da região sul-Rs, Brasil. In: SIMPÓSIO SUL-BRASILEIRO DE QUALIDADE DO ARROZ, 2003, Pelotas. **Anais**. Pelotas, 2003. 45-56p.

SCUSSEL, V. M. **Micotoxinas em Alimentos**. Florianópolis: Insular, 1998. 144p.

SYLOS, C. M. et al. Ocorrência de ocratoxina A e aflatoxinas em arroz. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 62, n. 2, p. 123-130, 2003.

SINGH, K. et al. **An Illustrated Manual on Identification of some Seed-borne Aspergilli, Fusaria, Penicillia and their Mycotoxins**. Denmark: Aio Tryk, 1991. 113p.

SMEDSGAARD, J. Micro-scale extraction procedure for standardized screening of fungal metabolite production in cultures. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 706, p. 264-270, 1997.

SPEIJERS, G. J. A.; SPEIJERS, M. H. M. Combined toxic effects of mycotoxins effects of mycotoxins. **Toxicology Letters**, Amsterdam, v. 153, p.91-98, 2004.

SOARES, L. M. V.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. Screening and quantification of ochratoxin A in corn, peanuts, beans, rice and cassava. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Arlington, v. 68, n. 6, p.1128-1130, 1985.

SOARES, L. M. V.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and sterigmatocystin in some brazilian foods by using multi-toxin thin-layer chromatographic method. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Arlington, v. 72, n. 1, p. 22-26, 1989.

TANIWAKI, M. H.; SILVA, Neusely Silva. **Fungos em alimentos: ocorrência e detecção**. Campinas: Núcleo de Microbiologia/ITAL, 2001. 82p.

THRANE, F. U. et al. Moulds in food spoilage. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 33, p. 85-102, 1996.

TONON, S. A. et al. Mycoflora of paddy and milled rice produced in the region of Northeastern Argentina and Southern Paraguay. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 37, p. 231-235, 1997.

WETZEL, M. M. V. S. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 2., 1987. **Anais**. São Paulo: Fundação Cargill, 1987. 480 p.

WHEELER, K. A. et al. Influence of pH on the growth of some toxigenic species of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 12, p. 141-150, 1991.