

CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS EM FUBÁ E IDENTIFICAÇÃO DE GÊNEROS POTENCIALMENTE TOXIGÊNICOS

COUNTING OF MOULDS AND YEASTS IN CORN MEAL AND IDENTIFICATION OF POTENTIALLY TOXIGENIC GENERA

ALHADAS, R. V. ¹; STUART, R. M. ¹; BEUX, M. R. ²; PIMENTEL, I. C. ^{3*}

¹ Biólogos, Laboratório de Microbiologia, Departamento de Patologia Básica, Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba, PR, Brasil. ² Coordenadora do Laboratório de Alimentos, Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos (CEPPA), UFPR. ³ Professora Adjunta III, Laboratório de Microbiologia, Departamento de Patologia Básica, UFPR.

*Autor para correspondência: ida@brturbo.com

Recebido em: 08/2004 Aprovado em: 09/2004

RESUMO

O fubá é um alimento muito popular que está presente em quase todos os lares brasileiros. Assim como todos os produtos a base de milho, o fubá é suscetível a contaminação por bolores e leveduras. Muitos bolores são potencialmente micotoxigênicos, produzindo toxinas que são prejudiciais à saúde humana. Os resultados obtidos após a análise de cinco marcas de fubá comercializadas em Curitiba, Paraná, Brasil, demonstraram que todas apresentaram contaminação por bolores e leveduras. A contaminação por bolores foi, em média, dez vezes superior à contaminação por leveduras. Foi observada a presença de sete gêneros distintos de bolores: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Acremonium*, *Paecilomyces* e *Cunninghamella*. Os generos *Aspergillus* e *Penicillium* são potencialmente micotoxigênicos e sua presença em fubá é alarmante.

Palavras-chave: fubá; fungos micotoxigênicos; *Aspergillus*; *Penicillium*

ABSTRACT

Corn meal is a very popular food that is present in almost every Brazilian home. As well as all the corn-based products, corn meal is likely to be contaminated by moulds and yeasts. Many moulds are potentially mycotoxigenic and therefore they produce toxins that are harmful to human health. The results obtained after the analysis of five brands of corn meal, commercialized in Curitiba, State of Paraná, Brazil, showed that all of them were contaminated by moulds and yeasts. On average, the contamination by moulds was ten times higher compared to yeasts. The following seven distinct genera of moulds were observed: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Acremonium*, *Paecilomyces* and *Cunninghamella*. The genera *Aspergillus* and *Penicillium* are potentially mycotoxigenic and their presence in corn meal is alarming.

Keywords: corn meal; mycotoxigenic fungi; *Aspergillus*; *Penicillium*

INTRODUÇÃO

Os produtos derivados de milho são bastante apreciados na culinária brasileira, tendo participação efetiva como componentes básicos na dieta alimentar das camadas mais pobres da população (MELO-FILHO; RICHETTI, 1997). O fubá, produzido pela moagem de grãos de milho (*Zea mays* L.) degerminados, está presente na cesta básica e é utilizado na merenda escolar em creches de Curitiba e região metropolitana. A contaminação de derivados de milho por fungos representa um problema de saúde pública, uma vez que muitos fungos são potencialmente micotoxigênicos.

As micotoxinas são metabólitos secundários, que podem apresentar atividade mutagênica, carcinogênica e teratogênica, sintetizados no final da fase de crescimento exponencial de alguns fungos (FARIAS *et al.*, 2000).

A contaminação dos grãos por fungos pode ocorrer ainda no campo ou durante o armazenamento do produto. Os fungos de armazenamento *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* e *Mucor* são encontrados em grande número em armazéns, moinhos, silos, moendas, elevadores, equipamentos e nos lugares onde são processados produtos agrícolas (MÁRCIA;

LÁZZARI, 1998). De acordo com RODRÍGUEZ-AMAYA e SABINO (2002) os fungos mais freqüentemente isolados de milho e seus derivados em todo o Brasil são *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Acremonium*, *Cladosporium*, *Neurospora* e *Paecilomyces*. Dentre os gêneros isolados de cereais, os mais freqüentemente associados à produção de micotoxinas são *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* (KIESSLING, 1986). A identificação das espécies fúngicas contaminantes é um importante sinalizador quanto à presença de micotoxinas nos substratos, indicando um caminho para a prevenção da produção das mesmas (FARIAS *et al.*, 2000). Deste modo, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a contaminação fúngica de 5 diferentes marcas de fubá comercializadas na região de Curitiba.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram adquiridas, em estabelecimentos comerciais de Curitiba, PR, 5 diferentes marcas de fubá em embalagens originais e invioladas, identificadas por letras de "A" a "E" (uma unidade por fabricante). A análise dos fungos contaminantes do fubá foi realizada por meio da contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) observadas através de plaqueamento em superfície, utilizando-se a diluição de 25g de produto em 225mL de água peptonada 0,1% (1:10). A seguir, foram feitas diluições de 1:100 e 1:1000, realizando-se 2 repetições. De cada uma das diluições foram retiradas e transferidas alíquotas de 0,1 mL para placas de Petri com o meio de cultura Ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC) (KING *et al.*, 1979), em duplicata. As placas foram mantidas em estufa incubadora por 5 dias a $25^{\circ}\text{C} \pm 1$, sendo posteriormente contadas as colônias existentes. Os diferentes morfotipos coloniais foram isolados em tubos de ensaio com meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA), sendo os isolados identificados com base nas características microscópicas, por meio da técnica do microcultivo (KERN; BLEVIS, 1999).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A contagem das unidades formadoras de colônias em meio de cultura DRBC, demonstrou que todas as marcas apresentaram contaminação por bolores e leveduras (Tabela 1). Para a contagem foram consideradas somente as placas de mesma diluição que apresentaram de 15 a 150 colônias (MISLIVEC *et al.*, 1992).

TABELA 1 – MÉDIA DA CONTAGEM DE BOLORES E LEVEDURAS (UFC G⁻¹) EM AMOSTRAS DE 5 MARCAS DE FUBÁ

Marcas	Bolores	Leveduras	Bolores e Leveduras
A	$5,2 \times 10^3$	$6,2 \times 10^2$	$5,8 \times 10^3$
B	$1,1 \times 10^4$	$1,9 \times 10^3$	$1,3 \times 10^4$
C	$2,8 \times 10^3$	$7,2 \times 10^2$	$3,5 \times 10^3$
D	$3,8 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$	$5,7 \times 10^4$
E	$1,7 \times 10^4$	$1,8 \times 10^3$	$1,8 \times 10^4$

Todas as marcas analisadas apresentaram contaminação por bolores em média dez vezes superior à contaminação por leveduras, representando um risco em potencial para a saúde humana, uma vez que muitas espécies de bolores são responsáveis pela produção de micotoxinas. Das marcas analisadas, a marca D, distribuída para creches de Curitiba e região metropolitana, apresentou a maior contaminação por bolores e leveduras ($5,7 \times 10^4$),

sendo a marca C aquela com menor contaminação ($3,5 \times 10^3$). Segundo MÁRCIA e LÁZZARI (1998), a presença de bolores e leveduras em fubá pode ser decorrente das condições de preparo, armazenamento ou matéria prima do produto.

A identificação dos fungos filamentosos demonstrou a presença dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Acremonium*, *Paecilomyces* e *Cunninghamella* (Tabela 2).

TABELA 2 – MÉDIA DA CONTAGEM (UFC G⁻¹) DOS DIFERENTES GÊNEROS DE BOLORES ENCONTRADOS NAS 5 MARCAS DE FUBÁ ANALISADAS

Gêneros de fungos	UFC g ⁻¹ nas 5 marcas analisadas				
	A	B	C	D	E
<i>Aspergillus</i> sp.	$2,0 \times 10^3$	$2,5 \times 10^2$	$1,0 \times 10^3$	$5,0 \times 10^3$	$2,5 \times 10^3$
<i>Penicillium</i> sp.	$7,5 \times 10^1$	$3,7 \times 10^2$	$5,2 \times 10^2$	-	$2,5 \times 10^2$
<i>Cladosporium</i> sp.	$6,2 \times 10^1$	-	$2,5 \times 10^1$	-	-
<i>Rhizopus</i> sp.	-	-	-	$1,7 \times 10^4$	-
<i>Acremonium</i> sp.	$5,0 \times 10^1$	$2,9 \times 10^2$	$6,8 \times 10^3$	$2,1 \times 10^2$	$2,9 \times 10^2$
<i>Paecilomyces</i> sp.	-	-	$5,0 \times 10^1$	-	-
<i>Cunninghamella</i> sp.	-	$2,5 \times 10^1$	-	$5,0 \times 10^3$	-

De acordo com ADEBAJO *et al.* (1994), MÁRCIA e LÁZZARI (1998) e FARIAS *et al.* (2000), os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* são os mais freqüentemente isolados de milho e derivados. Praticamente todas as amostras de fubá analisadas apresentaram *Aspergillus* e *Penicillium*. No entanto, nenhuma das marcas apresentou *Fusarium*. A ausência de *Fusarium* pode ser associada à sua ausência na matéria prima. Segundo MÁRCIA e LÁZZARI (1998) *Fusarium* é considerado um fungo de campo que invade grãos e sementes durante o amadurecimento, sendo o dano causado antes da colheita. Segundo os mesmos, este fungo não se desenvolve durante o armazenamento. De acordo com MERONUCK (1987), espécies de *Aspergillus* são consideradas iniciadoras de deterioração de sementes e grãos, podendo crescer com baixo teor de água; segue-se a contaminação por *Penicillium*, com umidade relativa mais elevada decorrente da atividade metabólica dos primeiros invasores. Estes fungos são potencialmente micotoxigênicos e sua presença em amostras de fubá é preocupante.

Os gêneros *Acremonium*, *Rhizopus*, *Cladosporium* e *Paecilomyces* foram também observados por ASEVEDO (1994) em milho. Os gêneros *Rhizopus*, *Cladosporium* e *Paecilomyces* foram observados como contaminantes de outros alimentos, como farinha de mandioca (KRAEMER; STUSSI, 1998), arroz (NUNES *et al.*, 2003) e erva-mate (BORGES *et al.*, 2002), indicando que os mesmos são contaminantes comuns em diversos tipos de alimentos.

O gênero *Cunninghamella*, observado nas amostras D e B, foi observado por GAYAKWAD e colaboradores (2001) como contaminante em ração de aves domésticas, porém sua presença em alimentos é pouco descrita.

CONCLUSÕES

Das cinco marcas de fubá analisadas, todas apresentaram contaminação por bolores e leveduras, sendo a contaminação por bolores em média dez vezes superior à contaminação por leveduras. A identificação dos bolores demonstrou a presença dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Acremonium*, *Paecilomyces* e

Cunninghamella, sendo os dois primeiros potencialmente micotoxigênicos e presentes em praticamente todas as marcas. A grande incidência de bolores em fubá e a identificação de gêneros potencialmente micotoxigênicos como *Aspergillus* e *Penicillium* caracterizam um risco à saúde humana, uma vez que em condições favoráveis tais microrganismos podem se desenvolver e contaminar os produtos com micotoxinas.

REFERÊNCIAS

- ADEBAJO, L.O.; IDOWU, A. A.; ADESANAYA, O. O.; Mycoflora, and mycotoxins production in Nigerian corn and corn-based snacks. **Mycopathologia**, v.126, p.183-192, 1994.
- ASEVEDO, I. G., GAMBALE, W.; CORREA, B.; PAULA, C. R.; ALMEIDA, R. M. A., SOUZA, V. M. Mycoflora and aflatoxigenic species of *Aspergillus* spp. isolated from stored maize. **Revista de Microbiologia**, v.25, p.46-50, 1994.
- BORGES, L. R.; PIMENTEL, I. C.; BEUX, M. R.; TALAMINI, A. Contagem de fungos no controle de qualidade da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) e isolamento de gêneros potencialmente micotoxigênicos. **Boletim do CEPPA**, v.20, n.1, p.103-110, 2002.
- FARIAS, A. X.; ROBBS, C. F.; BITTENCOURT, A. M.; ANDERSEN, P. M.; CORRÊA, T. B. S. Contaminação endógena por *Aspergillus* spp. em milho pós-colheita no Estado do Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.3, p.617-621, 2000.
- GAYAKWAD, S. R.; HARNE, S. D.; KALOREY, D. R.; INGLE, V. C. Prevalence of toxigenic fungi in poultry feed of Nagpur region. **Indian Journal of Comparative Microbiology Immunology and Infections Diseases**, v.22, n.1, p.78-80, 2001.
- KIESSLING, K. H. Biochemical mechanism of action of mycotoxins. **Pure and Applied Chemistry**, v.58, n.2, p.327-338, 1986.
- KING, A. D.; HOCKING, A. D.; PITT, J. I. Dichloran-rose bengal medium for enumeration and isolation of fungi from foods. **Applied and Environmental Microbiology**, v.37, p.959-964, 1979.
- KERN, M. E.; BLEVIS, K. S. **Micologia Médica**. 2ª ed. São Paulo: Editora Premier. p.256, 1999.
- KRAEMER, F. B.; STUSSI, J. S. P. Avaliação micológica de farinha de mandioca (*Manihot utilissima*): incidência de *Aspergillus* e *Penicillium* com potencial micotoxigênico. **Higiene Alimentar**, v.12, n.57, p.38-40, 1998.
- MÁRCIA, B. A.; LÁZZARI, F. A. Monitoramento de fungos em milho em grãos, grits e fubá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.4, p.363-367, 1998.
- MELO-FILHO, G. A.; RICHETTI, A. **Aspectos socioeconômicos da cultura de milho**. Embrapa, Circular Técnica, v.5, p.12-21, 1997.
- MERONUCK, R. A., The significance of fungi in cereal grains. **Plant Disease**, v.71, p.287-291, 1987.
- MISLIVEC, P.B.; BEUCHAT, L.R.; CAUSIN, M. A.; **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3ª ed., Washington, 1992.
- NUNES, I. L. MAGAGNIN, G.; BERTOLIN T. E.; FURLONG, E. B. Arroz comercializado na região sul do Brasil: aspectos micotoxicológicos e microscópicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.2, p.190-194, 2003.
- RODRÍGUEZ-AMAYA, D. B.; SABINO, M. Mycotoxins research in Brazil: the last decade in review. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.33, n.1, p.1-11, fev. 2002.