

Inativação de Fungos em Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) Armazenado *in natura* através do Tratamento com Gás Ozônio

140

Cristina Link Rüntzel¹; Carlos Eduardo da Silva Soares¹; Bruna Aparecida da Silva¹; Joyce Pereira Marques¹; Clarissa Maia de Aquino¹; Neyele Cristine da Silva¹; Vildes Maria Scussel¹

RESUMO

O feijão armazenado é suscetível ao ataque de fungos, que podem produzir micotoxinas, levando a danos irreversíveis aos grãos. Novos métodos de descontaminação *greenvêm* sendo estudados visando à inativação de microrganismos, é o caso do ozônio (O₃). Portanto o trabalho objetivou verificar a eficiência do tratamento com O₃ na descontaminação de fungos no feijão preto (*Phaseolus vulgaris* L.). Para isso, os grãos de feijão foram expostos em diferentes concentrações de O₃ (TI= 20 µmol/mol, TII= 40µmol/mol e TIII=60 µmol/mol) e em tempos distintos (30 e 60 min), posteriormente os mesmos foram incubados e avaliada a eficiência dos tratamentos. O tratamento mais eficaz foi o de 60 µmol/mol/60 min onde os fungos se desenvolveram em apenas 10% dos grãos, por outro lado, quando as amostras foram submetidas a concentrações menores (20 µmol/mol/30min) somente 50% dos grãos estavam contaminados. É relevante enfatizar que quando comparados com a amostra Controle, todos os tratamentos apresentaram diminuição da carga fúngica. Mesmo em altas concentrações do gás o feijão apresentou elevada taxa de germinação, ou seja, o O₃ não interfere nesse processo, por meio disso, o emprego deste método constitui um potencial descontaminante fúngico.

Palavras-chave: Feijão; Fungos; Ozônio; descontaminação.

INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) possui grande importância econômica e social no Brasil. É notável que a sua produção e consumo seja difundida por todo o país, principalmente nos estados do Paraná e Minas Gerais (CONAB, 2018). O consumo desta leguminosa é muito expressivo, uma vez que apresenta alto valor nutricional por

¹Laboratório de Micotoxinas e Contaminantes Alimentares, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina; Florianópolis, SC, Brasil. link.cristina12@gmail.com

fornecer proteínas, minerais, carboidratos, ácidos graxos insaturados, fibra alimentar e vitaminas do complexo B.

Há grande preocupação quanto à qualidade durante toda a cadeia de produção, pois seja no campo ou durante a armazenagem, as condições as quais o feijão é submetido podem o tornar suscetível à deterioração. Desta forma, o controle, de umidade e da temperatura nas etapas de produção e armazenagem é necessário, pois às taxas elevadas destes índices indicam um ambiente microbiologicamente instável e propício ao desenvolvimento de fungos (BRAGANTINI, 2005). Os fungos por sua vez, são um dos principais fatores biológicos relacionados à vida de prateleira do feijão, podendo produzir metabólitos secundários (micotoxinas), como as aflatoxinas, a ocratoxina A e zearalenona (SCUSSEL; BEBER; TONON, 2011,).

Para manter a qualidade do produto, são utilizados métodos brandos na eliminação de fungos e degradação de micotoxinas. O gás ozônio (O_3), é usado como estratégia, por manter as características originais da leguminosa, não gerar resíduos e possuir alto poder oxidante e desinfetante (CHRIST et al, 2017). Portanto há a necessidade de apresentar um estudo a fim de avaliar a eficiência do tratamento por O_3 , usado na descontaminação de fungos (incluindo os produtores de micotoxinas), os possíveis efeitos nas características (germinação) da matéria-prima e sua aplicabilidade na indústria de alimentos.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de feijão, Classe preto (500 g), foram obtidas pela Companhia integrada Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina (CIDASC). Os grãos de feijão foram separados em dois grupos, sendo um denominado Controle (GC – sem ozônio) e o outro Tratado (GT – com aplicação de gás ozônio). O GT foi subdividido para a aplicação de três concentrações do gás em GTI, GTII e GTIII para 20, 40 e 60 $\mu\text{mol/mol}$, respectivamente com tempos de 30 e 60 min. Os testes foram realizados em triplicata ($n=3$) para cada grupo. O gerador de ozônio usado é do tipo descarga corona (faixa de operação: 5-60 $\mu\text{mol/mol}$). O ozônio, por sua vez, foi aplicado em câmaras de vidro sinterizado (70x50 mm, comprimento e diâmetro) com duas aberturas (para entrada e saída do gás) conectadas por tubo (silicone, 9 mm) e tampa (poliestireno). *Aplicação de gás ozônio*: os grãos, escolhidos aleatoriamente, foram inseridos nas câmaras (30 sementes/ câmara). O O_3 foi aplicado sobre as amostras em três concentrações (20, 40 e 60 $\mu\text{mol/mol}$) e a corrente de gás mantida durante 30 e 60 min para cada GT. O gás O_3 foi introduzido através de um tubo na abertura de cada câmara permitindo o ar sair pelo segundo tubo (localizado na extremidade oposta) conforme a figura 1. O GC foi exposto somente a uma corrente de ar ambiente. *Testes micológicos* - após o tratamento com O_3 , os grãos de feijão ($n=30$) foram selecionados ao acaso e semeados diretamente em placas de Petri contendo Ágar PDA. Foram utilizadas três placas para cada GT contendo 10 grãos / placa. As placas foram incubadas a 25°C por 6 dias e após o tempo

de incubação foi avaliado o efeito descontaminante do gás através do desenvolvimento de fungos, sendo os resultados expressos em porcentagem do total de grãos inoculados infectados por fungos, comparando com o GC (Berjak, 1984). As colônias características que se desenvolveram foram submetidas ao exame microscópico direto, a fim de realizar a identificação dos fungos em nível de gênero, observado as diferenças morfológicas nas estruturas dos fungos. *Germinação*: a capacidade germinativa dos grãos foi acompanhada macroscopicamente nos dias 1, 3 e 6 através do desenvolvimento das estruturas iniciais presentes no processo de germinação (radícula).

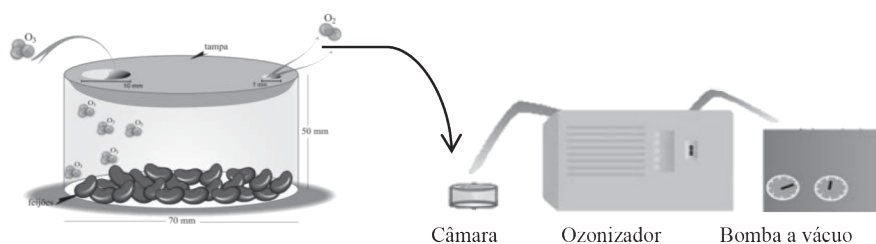


FIGURA 1. Câmara de vidro usada para a aplicação do gás O₃ em amostras de feijão in natura

Fonte: SOARES et al. (2018), adaptado

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após seis dias de incubação das amostras, procedeu-se a contagem de carga fúngica, a identificação do gênero presentes no feijão e a análise das características de germinação.

CARGA FÚNGICA E IDENTIFICAÇÃO DE GÊNEROS

O tratamento com O₃ mostrou-se efetivo quando comparado com a amostra controle que apresentou 70% dos grãos contaminados por fungos. Como é possível observar na Figura 2, as concentrações e tempos de exposição eminentes foram os tratamentos mais eficazes. A exposição do feijão em um intervalo de 30 min com uma corrente de O₃ a 20 μmol/mol apresentou o maior desenvolvimento de fungos (50% dos grãos) dentre os grupos, em contrapartida, os grãos quando submetidos a 60 μmol/mol/60min, apenas 10% dos grãos apresentaram colônia fúngicas, ou seja, o aumento na concentração de O₃ leva a uma maior redução dos fungos. Em ambos os tempo é notório uma redução progressiva no desenvolvimento fúngico com o aumento da concentração de O₃, sendo essa redução de 50% para 20% em t=30 min e de 25% para 10% em t=60 min.

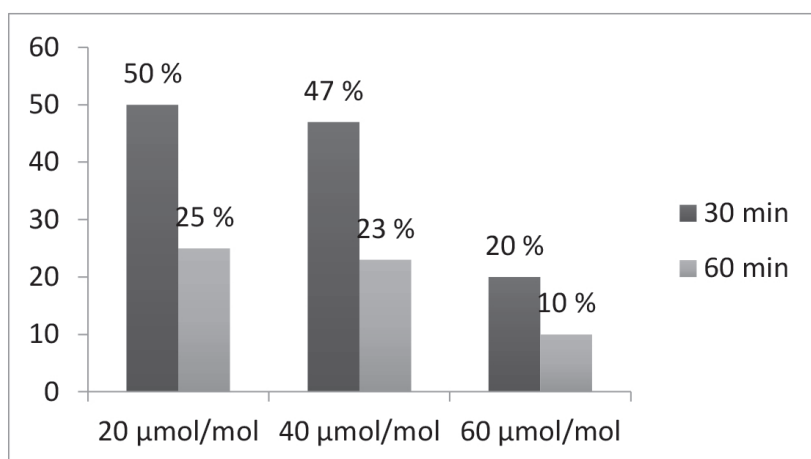


FIGURA 2. Gráfico da carga fúngica total expressa em porcentagem (%) do total de grãos inoculados infectados por fungos e ação descontaminante pela aplicação do gás ozônio em três concentrações e dois tempos de exposição.

Esses resultados vão ao encontro de inúmeros estudos que demonstram a eficiência do gás na descontaminação de fungos e micotoxinas. Giordano et al. (2010) observaram que a aplicação de O_3 inibiu a viabilidade de fungos bem como de aflatoxinas em amostras de castanha-do-brasil. Do mesmo modo, Chen et al. (2014) obtiveram resultados satisfatórios ao empregar a técnica de ozonização em amendoins. No estudo em questão, aflatoxinas demonstram ser sensíveis ao O_3 sem alterar as características do amendoim. A redução da carga total de fungos após o tratamento com O_3 em 31 mg/l (300 min) também foi descrita por Giordano; Nones, Scussel (2012) em castanhas-do-Brasil.

Apesar da ampla redução da carga total de fungos, foi verificado que os gêneros *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. foram resistentes ao O_3 , presentes inclusive nas concentrações mais elevadas, contudo em menor proporção. No tratamento mais efetivo (60 µmol/mol/ 60 min) o gênero *Aspergillus* foi o único que apresentou alguma resistência ao gás. Segundo Allen et al. (2003) e White et al. (2013) a efetividade do O_3 na inativação fúngica depende de várias condições como o fungo a ser inativado, o produto usado como substrato pelo fungo e as condições de temperatura e teor de água.

Os dados obtidos corroboram com o relatado por White et al (2007). O estudo avaliou a degradação de fungos pelo O_3 em milho, onde os autores observaram a sensibilidade dos gêneros ao gás variava na seguinte ordem: *Rhizopus* > *Fusarium* > *Aspergillus* > *Mucor* > *Penicillium*. Os mesmos também sugerem que o O_3 pode ser mais eficaz para determinados gêneros de fungos em diferentes concentrações.

É importante lembrar que os gêneros presentes nas amostras analisadas (*Aspergillus* e *Penicillium*) juntamente com *Fusarium* spp. configuram os principais fungos de armazenamento e campo do feijão. Esses microrganismos podem produzir micotoxinas e consequentemente comprometer a saúde humana e animal, devido a suas características carcinogênicas, hepatotóxica, nefrotóxicas, imunossupressoras e/ou mutagênicas (BORÉM, 2006; PRADO, 2014).

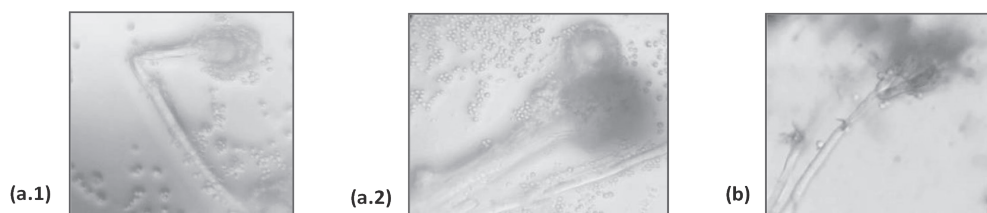


FIGURA 3. Gêneros de fungos resistentes aos tratamentos por O_3 presentes em amostras de feijão *in natura*: (a.1) e (a.2) *Aspergillus* spp. e (b) *Penicillium* spp. obtidos por microscópio óptico (40X)

GERMINAÇÃO

O processo de germinação foi verificado nos (dia 1), (dia 3) e (dia 6) após a aplicação do O_3 . Os grãos de feijão apresentaram alta taxa de germinação, uma vez que sua radícula, raiz do embrião responsável por dar origem o sistema radicular, foi verificada em todos os tratamentos, sendo assim, a aplicação desse gás não interferiu no processo de germinação do feijão,

No (dia 1) não houve desenvolvimento da radícula, contudo no (dia 3) foi observada sua presença, sendo mais acentuada nos tratamentos realizados em $t=30$ min. Com relação ao $t=60$ min a estrutura em questão também estava presente, contudo, as porcentagens de germinação foram reduzidas. É importante enfatizar que, visualmente o comprimento das radículas foram maiores nos tratamentos realizados em 30 min quando comparados aos efetuados em 60 min. No (dia 6), todas as amostras exibiram altas taxas de germinação, incluindo aquelas que foram submetidas a concentrações e tempos mais elevados. Com relação ao tamanho das radículas, não houve diferenças de comprimento em ambos os tempos de exposição. Com isso, é possível concluir que durante o período de incubação as amostras submetidas ao O_3 por 60 min germinaram de forma mais lenta quando comparado a Controle e ao tratamento de 30 min, entretanto não interferindo na porcentagem final. As considerações mencionadas acima podem ser observadas na Figura 4.

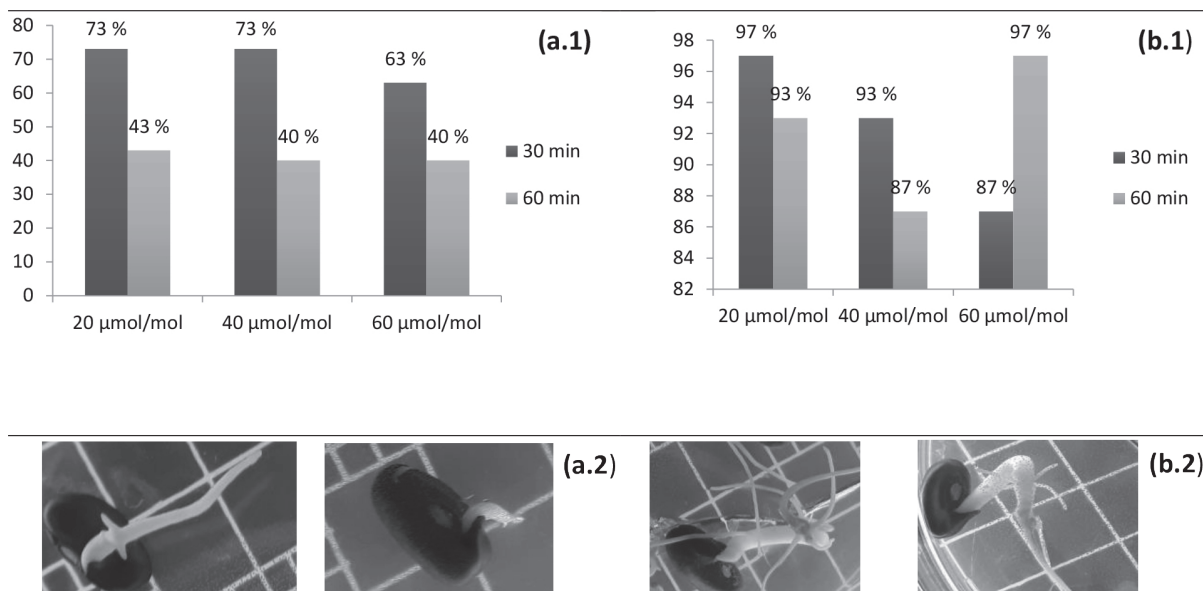


FIGURA 4. Gráficos da porcentagem de germinação das amostras de feijão nos tratamentos e imagens das concentrações de ozônio (menor e maior) aplicadas nos dias (a.1) e (a.2) dia 3 e (b.1) e (b.2) dia 6

Além da sua eficácia relacionada à descontaminação, pesquisas demonstram que o O_3 não promove mudanças significativas nas características dos grãos e sementes, inclusive no poder germinativo. Fato observado por Savi, Piacentini e Scussel (2014), ao exporem grãos de trigos em vários tempos (30, 60, 120 e 180 min) e concentrações (40 e 60 mmol / mol), constaram que o tratamento com O_3 afetou a germinação apenas em 180 min de exposição reduzindo a capacidade de germinação em 12,5%. Fato também esclarecido por Santo et al, (2007), em que amostras de milho quando expostas ao O_3 na concentração de 100 mg/l durante 70 min não sofreram mudanças significativas quanto aos parâmetros de germinação, condutividade elétrica e teor de água.

CONCLUSÃO

O método de descontaminação através do O_3 mostrou-se efetivo na redução da carga fúngica, principalmente em concentrações mais elevadas sem afetar as características germinativas do feijão. Logo o O_3 representa um potencial agente descontaminante de fungos e micotoxinas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLEN, B., et al. Inactivation of Fungi Associated with Barley Grain by Gaseous Ozone. *Journal of Environmental Science and health*, v.35, n.5, p. 617-30, set.2003.

BERJAK, P. Report of Seed Storage Committee Working Group on the effects of storage fungi on seed viability. 1980–1983. **Seed Science and Technology**, v.12, p. 233-253, 1984.

BORÉM F.M., et al. Controle de fungos presentes no ar e em sementes de feijão durante armazenamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.10, n.3, p.651–659, 2006.

BRAGANTINI, C. **Alguns Aspectos do Armazenamento de Sementes e Grãos de Feijão**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa, 2005. 28 p.

CHEN, R. et al. Effect of ozone on aflatoxins detoxification and nutritional quality of peanuts. **FoodChemistry**, v. 146, n.1, p. 284-288, 2014.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento-. **Acompanhamento safra brasileira grãos: safra 2017/18**. 8. ed. Brasília, 2018. 145 p.

GIORDANO, B.N.E. et al. **Reduction of in-shell Brazil nut (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) aflatoxin contamination by ozone gas application during storage**. In: 10th International Working Conference on Stored Product Protection, 2010. Abstract book. Estoril: IWCSPP, 2010. p. 451.

GIORDANO, B.N.E., NONES, J., SCUSSEL, V.M. Susceptibility of the in-shell Brazil nut mycoflora and aflatoxin contamination to ozone gas treatment during storage. **Journal of Agricultural Science**, v.4 n.8, p.1-10, 2012.

GUZEL-SEYDIM, Z. B.; GREENE, A. K.; SEYDIM, A. C. Use of ozone in the food industry. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, San Diego, v.37, n.4, p. 453-460, 2004.

SANTOS, J.E. dos et al. Ozonization process: Saturation time, decomposition kinetics and quality of maize grains (*Zea mays* L.). In: Ioa Conference and Exhibition Valencia, 1., 2007, Spain, 2007. p. 29 - 31.

SAVI, G.D., PIACENTINI, K.B., SCUSSEL, V.M. Ozone Treatment Efficiency on *F. graminearum* & Deoxynivalenol Degradation and its Effects on Whole Wheat Grains (*Triticumaestivum* L.)Quality and Germination.**Journal of Stored Products Research**, v.59, p.245-253, out.2014.

SCUSSEL, V.M.; BEBER, M.; TONON, K.M. **Efeitos da infecção por *Fusarium/ Gibberella* na qualidade e segurança de grãos, farinhas e produtos derivados**. In: REIS, E.M. (Org). Seminário sobre *Giberella* em cereais de inverno. 1ed. Passo Fundo: Berthier, 2011. p. 131-175.