

# Isotiocianato de Alilo para Controle da Contaminação Fúngica natural em Castanha do Brasil

96

*Lucas Henrique Figueiredo Prates<sup>1</sup>, Fernanda Fernandes Heleno<sup>2</sup>, Lêda Rita D'Antonino Faroni<sup>1</sup>,*

---

## RESUMO

A castanha do Brasil é um produto natural de relevante importância econômica, principalmente para a região do norte do Brasil, com diversos benefícios à saúde associados ao seu consumo. Durante a produção, processamento e armazenamento, as castanhas estão sujeitas à contaminação por fungos produtores de micotoxinas de diversas espécies. O consumo de alimentos contaminados com micotoxinas tem sido associado à vários problemas de saúde, assim como o consumo de alimentos com resíduos de agrotóxicos originalmente utilizados para controle dos fungos. Como alternativa ao uso de agrotóxicos para garantia da segurança alimentar da castanha do Brasil, avaliou-se a eficiência da fumigação das castanhas com isotiocianato de alilo (ITCA), o componente majoritário do óleo essencial de mostarda, para controle dos fungos que ocorrem naturalmente na castanha do Brasil. As castanhas, adquiridas diretamente de um atacadista, foram submetidas aos tratamentos por fumigação com ITCA nas concentrações de 0, 100 e 150  $\mu\text{L L}^{-1}_{\text{ar}}$ , pelos períodos de 4 e 7 dias. A avaliação da contaminação das castanhas pelos fungos após o período de incubação (7 dias, com alternância da exposição à luz de 12/12 h e temperatura de  $22 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) indicou a presença de *Aspergillus terreus*, *Chaetomium globosum* e *Trichoderma viride*. Os níveis de contaminação fúngica foram reduzidos em até 85,7% após o tratamento com ITCA. A fumigação de castanha do Brasil com ITCA é uma alternativa para controle da contaminação fúngica afim de garantir a segurança alimentar da castanha.

Palavras-chave: biopesticidas, fumigação, controle alternativo, fungos, *Bertholletia excelsa*.

<sup>1</sup>Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, CEP 36570-900 Viçosa, MG.

<sup>2</sup>Serviço Autônomo de Água e Esgoto, Prefeitura Municipal de Senador Firmino, CEP 36540-000 Senador Firmino, MG.

## INTRODUÇÃO

A castanha do Brasil (*Brazil nut*), também conhecida como castanha do Pará, é obtida a partir da castanheira (*Bertholletia excelsa*), pertencente à família Lecythidaceae. A castanheira e a produção de castanha do Brasil exercem relevante papel econômico e social, principalmente no norte do País (MÜLLER et al., 1995). Em 2016, foram produzidas aproximadamente 120 mil toneladas de castanha do Brasil, com 83,5% da produção com origem na América do Sul (FAOSTAT, 2018). As principais etapas na produção da castanha são: a produção e coleta nas castanheiras, o processamento, incluindo a limpeza, secagem e retirada das cascas.

O elevado conteúdo de selênio e antioxidantes na castanha do Brasil é um dos responsáveis pela sua associação com a melhora do sistema imunológico, prevenção do envelhecimento precoce e redução dos riscos de doenças cardiovasculares. Além disso, a castanha do Brasil apresenta elevado valor nutricional, considerada rica em gorduras (60 – 70%), proteína (17%), fibras, magnésio, fósforo e tiamina (BLOMHOFF et al., 2006; YANG, 2009). A FDA (*Food and Drug Administration* – Estados Unidos) considera que estudos científicos sugerem que o consumo de aproximadamente 45 g de castanhas por dia, incluindo a castanha do Brasil, como parte de uma dieta com baixo consumo de gordura saturada e colesterol, pode reduzir os riscos de doenças cardíacas (FDA, 2003).

Apesar dos benefícios da ingestão da castanha do Brasil, há uma preocupação com a sua contaminação por fungos produtores de micotoxinas, como *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* e *A. nomius* (FREITAS-SILVA e VENÂNCIO, 2011). A contaminação fúngica em castanhas do Brasil teve seus primeiros relatos de caso ainda no século XX (SPENCER, 1921). A preocupação acerca do consumo de alimentos contaminados com micotoxinas está relacionada aos sérios problemas de saúde devido à sua ingestão, como supressão do sistema imunológico, aumento do risco de infecções, potencial carcinogênico, entre outros (FREITAS-SILVA e VENÂNCIO, 2011; CALDAS et al., 2012). Agrotóxicos de diversas classes, principalmente fungicidas, têm sido utilizados como forma de tentar reduzir a contaminação fúngica. Entretanto, o uso de produtos químicos não autorizados ou em condições e quantidade inapropriadas pode levar à produção de alimentos com significativos resíduos de agrotóxicos, condição também prejudicial à saúde (FREIRE et al., 2002; CALDAS e SOUZA, 2007).

A busca por alimentos livres de contaminação biológica e de resíduos de agrotóxicos tem fomentado a busca por alternativas ao uso de agrotóxicos, capazes de garantir a segurança alimentar. Os óleos essenciais extraídos de plantas destacam-se como uma alternativa para potencial aplicação na proteção de alimentos (BURT, 2004; CALO et al., 2015) e podem apresentar variações na sua composição devido a diversos fatores ambientais no cultivo da planta ou métodos de extração (MIMICA-DUKIC et al., 2003; MSAADA et al., 2007). O isotiocianato de alilo (ITCA), no entanto, é reconhecidamente o componente majoritário do óleo essencial de mostarda, planta do gênero Brassicaceae, constituindo entre 71,0 e 99,0% do óleo (SUHR e NIELSEN, 2003; PENG et al., 2014). O óleo essencial de mostarda destaca-se pelo seu amplo espectro de atividade

antimicrobiana (NIELSEN e RIOS, 2000; HYLDGAARD et al., 2012; PENG et al., 2014). Considerando a atividade antimicrobiana do isotiocianato de alilo e a ocorrência de contaminação alimentar por fungos, o objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade antifúngica do ITCA para proteção de castanha do Brasil.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Pós-Colheita do Departamento de Engenharia Agrícola (DEA) e no Laboratório de Clínica de Plantas do Departamento de Fitopatologia (DFP), ambos localizados na Universidade Federal de Viçosa (UFV).

As castanhas do Brasil foram compradas de um estabelecimento atacadista da cidade de São Paulo (SP), pré-embaladas em três sacos de juta de 25 kg, totalizando 75 kg de castanhas. O produto, previamente seco e beneficiado, foi armazenado em câmara climática com temperatura controlada a  $24 \pm 2$  °C e umidade relativa de  $70 \pm 5\%$ . Utilizou-se isotiocianato de alilo (ITCA), componente majoritário do óleo essencial de mostarda, com pureza de 94% (Sigma Aldrich, EUA) para tratamento das castanhas.

Inicialmente as amostras de castanha do Brasil foram caracterizadas quanto ao teor de água, conforme recomendação das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), em estufa a  $103 \pm 2$  °C por  $17 \pm 1$  h.

As amostras de castanha do Brasil foram submetidas ao tratamento por fumigação com ITCA nas concentrações zero (controle), 100 e 150  $\mu\text{L L}^{-1}_{\text{ar}}$  pelos períodos de 4 e 7 dias. Para cada tratamento, as castanhas (1.500 g) foram acondicionadas em frascos cilíndricos de vidro (altura de 24,5 cm e diâmetro de 14,7 cm), com capacidade para 3,25 L e tampa rosqueável. Após o preenchimento dos frascos, aplicou-se a dose de ITCA com uma micropipeta diretamente na parede interna dos frascos, que foram fechados e vedados externamente com silicone. Os frascos vedados foram mantidos em laboratório, em condição ambiente, com temperatura entre 20 e 30 °C. Ao término do período de exposição de cada tratamento, procedeu-se o preparo das amostras das castanhas tratadas para avaliar a atividade fungicida do ITCA.

Para análise da atividade fungicida do ITCA, procedeu-se a identificação e contagem dos fungos presentes nas castanhas do Brasil após cada tratamento. Utilizou-se o método do papel filtro, ou teste *blotter*, considerado um teste simples e de baixo custo, que permite detectar fungos em sementes (DHINGRA e ACUÑA, 1997). Em resumo, as castanhas foram acondicionadas em caixas *gerbox*, de acrílico (10 x 10 x 2 cm), previamente sanitizadas com álcool etílico (97,2%), para cultivo dos fungos colonizadores. Em uma câmara de fluxo laminar, previamente exposta à luz ultravioleta por 5 min e com a chama de um bico de Bunsen permanentemente acesa, os frascos foram sanitizados externamente com álcool e abertos para que as castanhas fossem coletadas aleatoriamente. Então, os *gerbox* foram preparados com 2 folhas de papel filtro esterilizado, saturado com água destilada esterilizada, e cada *gerbox* recebeu 6 castanhas. Os *gerbox* foram devidamente fechados

e levados para câmara de fotoperíodo, submetidos a alternância contínua de exposição por 12 h de luz e 12 h sem luz, por 7 dias, a  $22 \pm 2$  °C. Após o período de incubação, verificou-se o desenvolvimento fúngico em cada *gerbox*, com identificação da espécie e contagem das castanhas contaminadas. Os resultados de contaminação foram expressos na forma de percentual de castanhas colonizadas.

Os tratamentos com ITCA em diferentes concentrações e diferentes tempos de exposição seguiram delineamento inteiramente casualizado, realizados em triplicata. A avaliação da contaminação fúngica também foi realizada em triplicata. Para avaliar o efeito dos tratamentos com 100 e 150  $\mu\text{L L}^{-1}_{\text{ar}}$  de ITCA sobre a contaminação fúngica, os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos foram comparadas com o controle (0  $\mu\text{L L}^{-1}_{\text{ar}}$ ) pelo teste de Dunnett a 5% de significância. A comparação entre os tratamentos foi realizada através da ANOVA com comparação das médias entre tratamento pelo teste de Tukey a 5% de significância. O *software* Minitab 17.1 (Lead Technologies Inc.) foi utilizada para análise dos dados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de água da castanha do Brasil foi 12,6% base úmida (b.u.). Foi identificada contaminação fúngica na castanha do Brasil com as seguintes espécies: *Aspergillus terreus*, *Chaetomium globosum* e *Trichoderma viride*.

O ITCA teve efeito diferencial para cada uma das espécies de fungos identificadas nas castanhas (Tabela 1). Ao passo que *T. viride* foi a espécie mais suscetível ao ITCA, não foi observada redução significativa na contaminação por *C. globosum*. A espécie *T. viride* teve uma ocorrência de maior destaque, com maior percentual de contaminação fúngica. Entretanto, o tratamento com ITCA na maior concentração utilizada foi capaz de reduzir o nível de contaminação por *T. viride* em até 85,7%.

**TABELA 1.** Contaminação fúngica em castanha do Brasil após fumigação com isotiocianato de alilo em diferentes concentrações por 4 e 7 dias de tratamento

| Concentração ( $\mu\text{L L}^{-1}$ ) | Período de exposição (dias) | <i>T. viride</i> (%) (média $\pm$ desvio padrão) | <i>A. terreus</i> (%) (média $\pm$ desvio padrão) | <i>C. globosum</i> (%) (média $\pm$ desvio padrão) |
|---------------------------------------|-----------------------------|--|---|--|
| 0                                     | 4                           | 64,81 $\pm$ 8,5 A                                | 12,96 $\pm$ 3,2 A                                 | 5,55 $\pm$ 0,0 A                                   |
| 100                                   | 4                           | 12,96 $\pm$ 3,2 Bab                              | 12,96 $\pm$ 3,2 Aa                                | 3,70 $\pm$ 3,2 Aa                                  |
| 150                                   | 4                           | 9,26 $\pm$ 3,2 Bb                                | 5,55 $\pm$ 0,0 Ba                                 | 1,85 $\pm$ 3,2 Aa                                  |
| 0                                     | 7                           | 66,66 $\pm$ 11,1 A                               | 12,96 $\pm$ 3,2 A                                 | 3,70 $\pm$ 3,2 A                                   |
| 100                                   | 7                           | 20,37 $\pm$ 3,2 Ba                               | 12,96 $\pm$ 3,2 Aa                                | 7,40 $\pm$ 3,2 Aa                                  |
| 150                                   | 7                           | 12,96 $\pm$ 3,2 Bab                              | 5,55 $\pm$ 0,0 Ba                                 | 7,40 $\pm$ 3,2 Aa                                  |

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Dunnett a 5% de significância em relação ao controle. Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância em relação aos tempos e concentrações dos tratamentos.

Independentemente do tempo de exposição (4 ou 7 dias), apenas o tratamento com ITCA na maior concentração foi capaz de reduzir significativamente a contaminação por *A. terreus*. Entretanto, não foi observada diferença significativa entre os tratamentos com exposição por 4 e 7 dias na concentração de  $150 \mu\text{L L}^{-1}_{\text{ar}}$  de ITCA. O componente majoritário do óleo essencial de mostarda apresenta reconhecida atividade antimicrobiana, inclusive com destaque para atividade antifúngica sobre indivíduos do gênero *Aspergillus* (SUHR e NIELSEN, 2003).

Não foi observada diferença significativa para os níveis de contaminação por *C. globosum* para os tratamentos com ITCA propostos. Observa-se, no entanto, que havia pouca contaminação natural das castanhas por fungos dessa espécie, o que pode explicar a aparente falta de ação do ITCA sobre *C. globosum*. A ocorrência de *C. globosum* e as micotoxinas produzidas por esse fungo tem sido associada à ambientes fechados com má qualidade do ar e à problemas respiratórios em pessoas convivendo nesses ambientes (FOGLE et al., 2007).

Embora o modo de ação do ITCA para controle de fungos não esteja completamente elucidado, supõe-se que o composto aumente a permeabilidade da parede celular dos fungos, causando extravasamento do conteúdo celular, o que leva a inviabilidade ou morte dos microrganismos (NIELSEN e RIOS, 2000; HYLDGAARD et al., 2012).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BLOMHOFF, R., CARLSEN, M.H., ANDERSEN, L.F., JACOBS, D.R.J. Health benefits of nuts: potential role of antioxidants. *British Journal of Nutrition*, v.96, p.S52-S60, 2006.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods – a review. *International Journal of Food Microbiology*, v.94, p.223-253, 2004.

CALO, J.R., CRANDALL, P.G., O'BRYAN, C.A., RICKE, S.C. Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. *Food Control*, v.54, p.111-119, 2015.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data> [Acessado em Julho de 2018].

FDA. Food and Drug Administration. Qualified Claims About Cardiovascular Disease Risk. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/labelingnutrition/ucm073992.htm#cardio> [Acessado em Julho de 2018]

FOGLE, M.R., DOUGLAS, D.R., JUMPER, C.A., STRAUS, D.C. Growth and mycotoxin production by *Chaetomium globosum*. *Mycopathologia*, v.164, p.49-56, 2007.

FREIRE, F.C.O., CARDOSO, J.E., SANTOS, A.A., VIANA, F.M.P. Diseases of cashew nut plants (*Anacardium occidentale* L.) in Brazil. *Crop Protection*, v.2002, p.489-494, 2002.

FREITAS-SILVA, O., VENÂNCIO, A. Brazil nuts: Benefits and risks associated with contamination by fungi and mycotoxins. *Food Research International*, v.44, p.1434-1440, 2011.

HYLDGAARD, M., MYGIND, T., MEYES, R.L. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*, v.3, p.1-24, 2012.

MSAADA, K., HOSNI, K., TAARIT, M.B., CHAHED, T., KCHOUK, M.E., MARZOUK, B. Changes on essential oil composition of coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruits during three stages of maturity. *Food Chemistry*, v.102, p.1131-1134, 2007.

MIMICA-DUKIC, N., KUJUNDZIC, S., SOKOVIC, M., COULADIS, M. Essential oil composition and antifungal activity of *Foeniculum vulgare* Mill. obtained by different distillation conditions. *Phytotherapy Research*, v.17, p.368-371, 2003.

MÜLLER, C.H., FIGUEIRÊDO, F.J.C., KATO, A.K., CARVALHO, J.E.U., STEIN, R.L.B., SILVA, A.B. *Castanho do Brasil*. Belém: EMBRAPA, 1995. 65p.

NIELSEN, P.V., RIOS, R. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *International Journal of Food Microbiology*, v.60, p.219-229, 2000.

PENG, C., ZHAO, S.Q., ZHANG, J., HUANG, G.Y., CHEN, L.Y., ZHAO, F.Y. Chemical composition, antimicrobial property and microencapsulation of Mustard (*Sinapis alba*) seed essential oil by complex coacervation. *Food Chemistry*, v.165, p.560-569, 2014.

SPENCER, E.R. Decay of Brazil nuts. *Botanical Gazette*, v.72, p.265-297, 1921.

SUHR, K.I., NIELSEN, P.V. Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. *Journal of Applied Microbiology*, v.94, p.665-674, 2003.

YANG, J. Brazil nuts and associated health benefits: A review. *LWT – Food Science and Technology*. v.42, p.1573-1580, 2009.