

## QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE GRÃOS DE MILHO ARMAZENADOS EM SILOS DE ALAMBRADO E SECADOS COM AR NATURAL FORÇADO

JOÃO ANARACY SANTIN<sup>1</sup>, LUIZ CARLOS GUTKOSKI<sup>2</sup>, LUIZ EICHELBERGER<sup>3</sup>, JOSÉ ANTÔNIO PORTELLA<sup>4</sup> e ANGELISE DURIGON<sup>5</sup>

<sup>1</sup>*Químico Industrial, Doutor, Professor da Universidade de Passo Fundo, Rodovia BR 285, km 171, Bairro São José, Caixa Postal 611, 99001-970, Passo Fundo, RS - santin@upf.tche.br.*

<sup>2</sup>*Engenheiro Agrônomo, Doutor, Professor da Universidade de Passo Fundo, Rodovia BR 285, km 171, Bairro São José, Caixa Postal 611, 99001-970, Passo Fundo, RS - gutkoski@upf.tche.br.*

<sup>3</sup>*Engenheiro Agrônomo, Doutor, Pesquisador da Embrapa Trigo, Rodovia BR 285, km 294, Caixa Postal 451, 99001-970, Passo Fundo, RS - luizei@cnpt.embrapa.br.*

<sup>4</sup>*Engenheiro Mecânico, Doutor, Pesquisador da Embrapa Trigo, Rodovia BR 285, km 294, Caixa Postal 451, 99001-970, Passo Fundo, RS - portella@cnpt.embrapa.br.*

<sup>5</sup>*Acadêmica de Engenharia de Alimentos da Universidade de Passo Fundo, Rodovia BR 285, km 171, Bairro São José, Caixa Postal 611, 99001-970, Passo Fundo, RS – angelisedurigon@yharoo.com.br*

*Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.8 n2, p. 131-144, 2009*

**RESUMO** – O trabalho objetivou avaliar a qualidade microbiológica de grãos de milho armazenados em três silos de alambrado e secados com ar natural forçado. Em cada silo, foram acondicionados 4.200 kg de grãos, com grau de umidade de 17,8%, 18,9% e 20,5%. As avaliações foram realizadas na colheita, ao final da secagem e durante o armazenamento, nas alturas de 60, 160, e 260 cm a partir do fundo do silo. Foram avaliadas a perda de água em estufa a 105 °C, a incidência de fungos em meio BSA e ocorrência de aflatoxinas e de fumonisinas por CLAE-EM. Os grãos com 17,8%, 18,9% e 20,5% resultaram em graus de umidade médios de 12,5%, 12,8% e 13,0%, respectivamente, após 22 dias de secagem, indicando que o processo é tecnicamente viável. A mais elevada quantificação das fumonisinas (FB1) foi de 20.257 µg kg<sup>-1</sup> no silo A, na camada de 160 cm da altura e a de aflatoxinas (AFB1) foi de 192 µg kg<sup>-1</sup>, ao final da secagem. A secagem dos grãos de milho com ar natural forçado possibilitou a preservação da qualidade microbiológica, o que permite recomendar o processo para silos de alambrado.

**Palavras chave:** *Zea mays*, fungos, secagem, micotoxinas, armazenamento

## MICROBIOLOGICAL QUALITY OF CORN GRAIN STORED IN STEEL SILOS AND DRIED UNDER FORCED NATURAL AIR

**ABSTRACT** – The study aimed to evaluate the microbiological quality of corn grains stored and dried under forced natural air in three steel silos. In each silo, 4200kg of grains were placed, presenting 17.8%, 18.9% and 20.5% humidity. The evaluations were carried out at harvest time, at the end of the drying process and during the storage, at 60, 160, and 260 cm from the bottom of the silo. Water loss in greenhouse at 105 °C, incidence of fungus in BSA environment and the occurrence of aflatoxins and fumonisins by CLAE-EM were evaluated. Grains with 17.8%, 18.9% and 20.5% resulted in average humidity of 12.5%, 12.8% and 13.0%, respectively, after 22 days of drying, revealing that the process is technically feasible. The highest value observed for fumonisin (FB1) was 20257 µg kg<sup>-1</sup> at 160 cm of silo A, and for aflatoxin B1 was 192 µg/kg at the end of the drying process. The drying of corn grains under natural forced air enabled the preservation of the microbiological quality, which permits to recommend the process for steel silos.

**Key words:** *Zea mays*, fungi, drying, mycotoxins, storage.

O milho (*Zea mays L.*) é originário da América Central, provavelmente da região onde hoje se situa o México, tendo sido domesticado no período entre 7.000 e 10.000 anos atrás (CASTRO e KLUGE, 1999). A área cultivada com milho, no Brasil, em 2008, foi superior a 14 milhões de hectares, com produção de 58.663 milhões de toneladas. Essa cultura pode ser considerada uma das mais importantes, tanto sob ponto de vista econômico como social. No aspecto econômico, destaca-se por ser a segunda maior produção entre os grãos, superada pela soja. A importância social se evidencia por ser componente essencial da dieta da população de menor poder aquisitivo e constituir produto típico de pequeno produtor rural, sendo 92,3 % da produção oriunda de propriedades com área inferior a 100 hectares (IBGE, 2008).

No Brasil, a maior parte do milho é colhida tardiamente e armazenada em sistemas

tecnicamente deficientes, em condições inadequadas de umidade e temperatura, resultando em consideráveis perdas qualitativas e quantitativas. Estima-se que o estado do Rio Grande do Sul perde, anualmente, cerca de 700 mil toneladas de milho, o que equivale a 70 milhões de dólares. Os prejuízos são substancialmente maiores se forem levadas em consideração perdas de qualidade e perdas indiretas ocasionadas pelo desenvolvimento de fungos, muitos dos quais são produtores de toxinas (Mundstock & Bredemeier, 2006).

Os grãos armazenados ficam suscetíveis à ação de vários fatores, como calor, umidade, oxigênio, organismos associados, atividades enzimáticas, dentre outros. O início do processo degenerativo dos grãos e a sua intensidade de ação estão relacionados a suas características específicas, que variam desde o tipo de tegumento à composição química. Essas características

e sua relação com o ambiente a que estiverem expostos determinam propriedades como conservação e valor comercial (Athié et al., 1998).

A manutenção das características nutritivas e da qualidade comercial de grãos durante o armazenamento depende de fatores como: baixo teor de umidade, baixo percentual de grãos danificados e de impurezas e manutenção da umidade relativa intergranular entre 65 e 75% (Lázzari, 1997).

De acordo com Elias (2000), é importante aerar os grãos durante o armazenamento, de forma a mantê-los frios, complementar a secagem e pequenas variações de umidade. Isso reduz os riscos de perdas e evita a migração da umidade, em consequência da formação de correntes convectivas. O ambiente de armazenamento comporta-se como um ecossistema onde os grãos, juntamente com outros elementos, como fungos, os ácaros e os insetos, são seus principais componentes bióticos. Essa atmosfera pode causar a deterioração dos grãos, caso haja crescimento de fungos, devido à transferência de umidade e calor entre a superfície e o interior dos grãos.

A tecnologia de aeração consiste em forçar um fluxo de ar através de uma camada de grãos, com o objetivo de modificar o microclima da massa armazenada, tornando-o desfavorável ao desenvolvimento de organismos nocivos ou prejudiciais e, ao mesmo tempo, criar condições favoráveis à conservação prolongada das mesmas (Faroni & Devilla, 2001). O resfriamento até 8

°C, em regiões temperadas, ou 12 a 15 °C, em regiões subtropicais, é suficiente para deter a proliferação de insetos e limitar a contaminação por fungos (Lasseran, 1993).

Segundo Roa & Villa (1977), a secagem de grãos utilizando-se ar natural forçado é um processo simples e pode ser realizada em silos completamente cheios, obtendo-se alta eficiência térmica. Para Elias (2000), a secagem artificial com ar natural forçado é dependente das características climáticas da região ou da época em que é praticada, sendo favorável quando a umidade relativa do ar for inferior ao equilíbrio higroscópico, entre a umidade dos grãos e a umidade do ambiente de armazenamento.

Os fatores que favorecem o desenvolvimento de fungos e a produção de micotoxinas podem ser classificados em físicos, químicos e biológicos e estão relacionados às condições do próprio grão e do ambiente que o envolve. A colonização de grãos de milho por fungos patogênicos causadores de podridão de espigas e de grãos ardidos é a principal causa de deterioração do produto, pois leva à redução do teor de matéria seca, podendo ocorrer produção de micotoxinas. Os fungos que mais contribuem para esse quadro são as espécies dos gêneros *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium*, sendo que as espécies de maior incidência na lavoura são de *F. verticillioides* (*F. moniliforme*), *F. graminearum*, *F. proliferatum*, *Cephalosporium acremonium* e no armazenamento *A. flavus* e *A. parasiticus* (Santin et al., 2004). Enquanto as espécies de *Fusarium* são patogênicas das plantas

e dos grãos, produzindo micotoxinas antes ou logo após a colheita, as espécies de *Penicillium* sp e de *Aspergillus* sp são consideradas como contaminantes de produtos durante a secagem e o armazenamento. (Sweeney et al., 1998).

Lorini, Miike e Scussel (2002) afirmam que as micotoxinas são substâncias tóxicas que ocorrem naturalmente, sendo produzidas por fungos que infectam produtos agrícolas, tanto durante seu crescimento, no campo, quanto na armazenagem, bem como alimentos processados e rações. As aflatoxinas são aguda e cronicamente tóxicas. A aflatoxina B1 (AFB1) é a mais potente substância natural conhecida de efeito hepatocarcinogênico. A exposição crônica a níveis extremamente baixos de aflatoxinas tem efeito tóxico cumulativo e afeta a saúde humana e animal (Eaton & Groopman, 1994). A toxicidade da fumonisina B<sub>1</sub> (FB1) é conhecida em diversas espécies de animais domésticos. Induz a leucoencefalomalacia em equinos (Mallmann et al., 1999), edema pulmonar em suínos (Osweiler et al., 1992), diminuição do ganho de peso em frangos e aumento da massa de órgãos como o fígado, o proventrículo e a moela (Ledoux et al., 1992). Em humanos, o consumo de alimentos contaminados com FB<sub>1</sub> vem sendo estatisticamente relacionado à incidência de câncer esofágico (Rheeder et al., 1992).

Os grãos de milho destinados a alimentação são submetidos às operações de colheita, transporte, secagem e armazenamento e a fatores físicos, químicos e biológicos; por isso, torna-se necessário planejar e estudar ações que

preservem a inoquidade dos grãos, bem como a classificação comercial. Objetivou-se, com este trabalho, avaliar a qualidade microbiológica de grãos de milho armazenados e secados com ar natural forçado, em silos de alambrado com diâmetro de 1,5 m e 3,2 m de altura.

### Material e Métodos

O trabalho foi desenvolvido no Centro de Pesquisas Agropecuárias (Cepagro) da Universidade de Passo Fundo (UPF), onde foram implantadas três lavouras de milho (*Zea mays*, L) do híbrido 30R32, com intervalo de semeadura de 20 dias, a partir de 10 de outubro de 2005 e conduzidas com tecnologia recomendada para a cultura. O produto das três lavouras foi colhido com automotriz marca John Deere 1160, no mesmo dia, em 13 de março de 2006.

O milho colhido foi destinado ao armazenamento e à secagem com ar natural forçado. Cada silo recebeu 4.200 kg de grãos, oriundos de cada época de semeadura, sem pré-limpeza e com grau de umidade de 20,5% (silo A), 18,9% (silo B) e 17,8% (silo C). Os silos foram divididos longitudinalmente em três partes, consideradas repetições dos tratamentos.

Os silos, do Grupo Fockink, são constituídos pelo corpo, sistema de secagem com ar natural forçado, com motor de 1,5 CV, sistema de descarga e sistema controlador de termometria. Durante a secagem, o sistema de secagem foi acionado ininterruptamente, nos 14 dias iniciais. Ocorreu chuva no décimo dia de secagem. Do décimo-quinto ao vigésimo-

segundo dia, a aeração foi acionada durante o dia. Não houve chuvas nesse intervalo de secagem. A operação da secagem foi encerrada no vigésimo-segundo dia, quando a média do grau de umidade alcançou 13,0 % (b.u.) na superfície da massa dos grãos. Durante o armazenamento, as condições de temperatura e de umidade dos grãos foram mantidas por meio do sistema de aeração. Tanto o grau de umidade como a temperatura dos grãos foi monitorada por meio de cabos termossensores, com ponto de conexão externa do sistema de termometria.

A amostragem do milho foi executada tomando-se como base as recomendações dos planos de amostragem para análise de aflatoxinas em milho (FAO – Alimentação e Nutrição, 1993) e a norma de amostragem (International, 1979).

As amostragens de grãos foram realizadas com o auxílio de calador, nos intervalos de tempo zero (dia da colheita), 04, 08, 14, 22, 114 e 206 dias do experimento. Foram amostrados grãos nas alturas das camadas de 60, 160 e 260 cm, a partir da base dos silos. A massa de 2 kg de grãos constituiu a amostra laboratorial, coletada através de três orifícios laterais equidistantes na parede do silo, em cada altura.

Foram realizadas análises de grau de umidade, incidência de fungos patogênicos e de micotoxinas. A umidade relativa do ar, a temperatura e a precipitação durante o período de secagem foram monitoradas através da Estação Meteorológica da Embrapa Trigo.

O grau de umidade dos grãos foi determinado por meio de método da estufa a

105 ± 3 °C, com circulação de ar, durante 24 horas (BRASL, 1992). O grau de umidade dos grãos nos silos foi monitorado diariamente, sendo transpostos os resultados dos intervalos do tempo zero (colheita), 04, 08, 14, 22, 114 e 206 dias de armazenamento.

A porcentagem de incidência de fungos nos grãos foi determinada nos intervalos de tempos zero (colheita), ao final da secagem, aos 112 dias e aos 206 dias de armazenamento. As amostras foram desinfetadas superficialmente, através da imersão dos grãos de milho em etanol, a 70 %, por dois minutos; em seguida, em solução de hipoclorito de sódio a 2 %, por um período de dois minutos, e, por fim, os grãos foram passados duas vezes em água destilada. Os grãos foram dispostos em caixa de gerbox esterilizada, contendo ¼ do meio de cultura BSA (Batata Sacarose Agar) (50 g de batata, 5 g de sacarose, 15 g de ágar e 500 ppm de sulfato de estreptomicina /litro de água) (Fernandez, 1994).

Foram incubados quatrocentos grãos, arranjados em quatro repetições de cinco gerbox com vinte grãos, em câmara de crescimento com temperatura de 25±2 °C e fotoperíodo de 12 h, durante sete dias. A leitura foi realizada com o auxílio de microscópio estereoscópio, complementada com microscópio ótico, quando necessário, para identificação dos gêneros ou espécie dos fungos e os resultados, expressos em porcentagem de grãos infectados.

A avaliação da ocorrência de aflatoxinas AFB1, AFB2, AFG1 e AFG foi realizada na colheita, ao final da secagem e aos 112 dias



de armazenamento. As fumonisinas FB1 e FB2 foram analisadas na colheita e aos 112 dias de armazenamento. As análises das micotoxinas foram realizadas pelo Laboratório de Análises Micotoxicológicas (Lamic) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, acoplada a Espectrometria de Massa (CLAE-EM). Os resultados foram expressos em  $\mu\text{g}/\text{kg} = \text{ppb}$ . O Lamic é credenciado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (Port. 34 de 23 de agosto de 2000. D.O.U., Seção 1, pág. 168 de 30 de agosto de 2000) e INMETRO (CRL 0189).

O experimento foi organizado em delineamento inteiramente casualizado, com três fatores: grau de umidade dos grãos, altura da camada e tempo de secagem de armazenamento. As incidências de fungos foram comparadas pelas médias de quatro repetições e o tempo de secagem e armazenamento, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando-se o sistema SAS.

### **Resultados e Discussão**

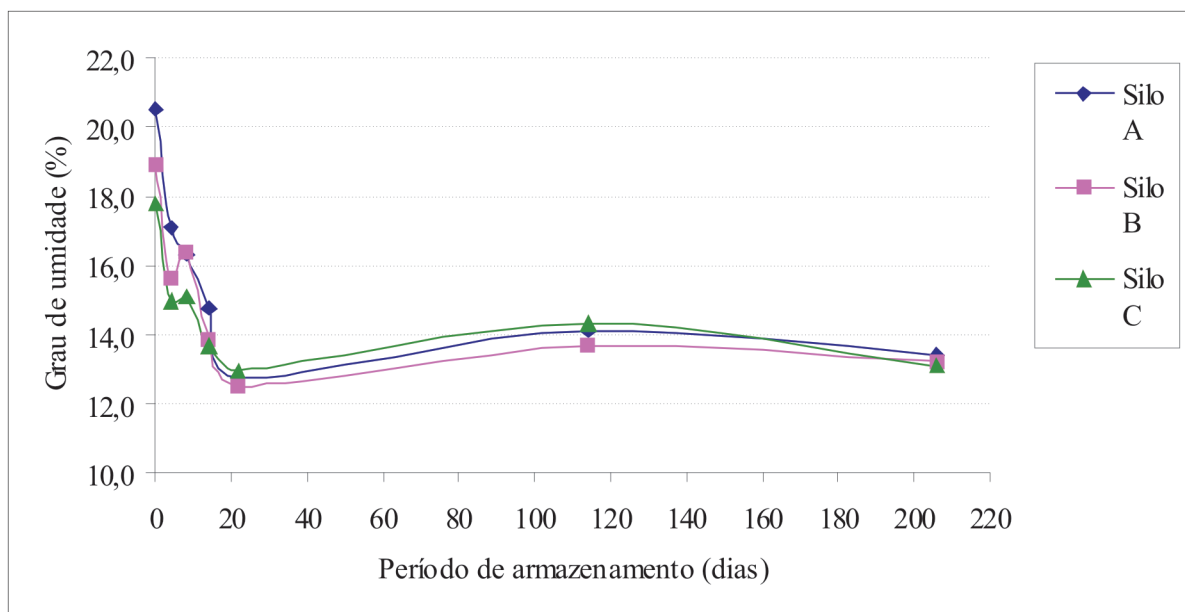
O milho destinado ao armazenamento requer a secagem como forma de garantir a preservação das substâncias de reserva. A operação de secagem com ar quente caracteriza-se por proporcionar uma secagem rápida, segura e uniforme dos grãos, resultando em rapidez e economia de tempo entre a pós-colheita e a comercialização do produto. A secagem com ar quente é mais adequada a grandes volumes

de grãos. A temperatura de secagem elevada pode comprometer a qualidade do produto. A secagem com ar natural forçado se processa com temperatura ambiente. A rapidez e a eficiência do processo dependem do potencial de secagem da região e dos grãos. A secagem com ar natural é eficiente em relação à quantidade de energia fornecida ao sistema e à quantidade de água retirada. Reduzir o gasto de energia constitui um benefício para esse sistema de secagem, o que somente poderá ser obtido se não houver risco de deterioração. Esse sistema pode ser implantado em pequenas propriedades rurais.

Analisando-se os graus de umidade dos grãos da Figura 1, verifica-se que o processo foi eficiente ao fornecer, após 22 dias de secagem, milho com teor de umidade de 13% b.u., nos três silos e nas camadas monitoradas, que representam o total da massa de grãos dos silos. Esse período de secagem pode ser considerado seguro, pois o ar alcançou as camadas superiores dos grãos, secando-os, e não ocorreu a deterioração do produto úmido.

A Figura 1 revela o efeito da secagem sobre a queda média do grau de umidade, nas camadas avaliadas. Observa-se que, no início do processo, a perda de água é mais rápida e, com o passar do tempo, essa perda vai se tornando mais lenta. Esse comportamento pode ser atribuído à afinidade das moléculas de água com as substâncias de reserva dos grãos.

A secagem proporcionou redução regular do grau de umidade, porém, no décimo dia da operação, houve precipitação pluviométrica e,



**FIGURA 1.** Variação da média do grau de umidade (% b.u.) dos grãos das três camadas de milho, cultivar 30R32, durante o período de secagem e de armazenamento, nos três silos de alambrado secador.

por consequência, aumentou a umidade relativa do ar. O grau de umidade elevou-se nos grãos. Isso indica que, na ocorrência de chuvas, o sistema de secagem deve ser desligado, tendo em vista que os grãos de milho possuem características higroscópicas e, por isso, pode-se estender o período de secagem. Essa característica do milho requer que a operação de secagem seja monitorada e desligada durante a precipitação de chuvas ou quando a umidade relativa do ar elevar a umidade dos grãos.

O grau de umidade de 13 % b.u. é considerado ideal para o armazenamento dos grãos de milho e a manutenção do equilíbrio higroscópico aceitável para o controle da flora fúngica natural. Os resultados indicam, conforme a Figura 1, que os grãos tiveram variação do grau

de umidade em cerca de um grau, aos 112 dias de armazenamento, porém essa variação não é significativa sob ponto de vista estatístico e pode ter sido influenciada pelo período de chuvas, que se intensifica com a aproximação do inverno, no sul do país. Essa variação não comprometeu as condições de armazenamento, que foram mantidas adequadas com o acionamento do sistema de aeração dos silos e, dessa maneira, a qualidade dos grãos foi preservada.

No final do experimento, aos 206 dias, o método de secagem e de armazenamento proporcionou grãos com grau de umidade adequado para armazenagem segura. Essa resposta reflete que o método de secagem e o modelo de silo de alambrado podem ser implantados em pequenas propriedades

produtoras de milho, no Sul do Brasil, tendo o cuidado de escolher cultivares de milho precoce e a época correta de plantio, prevendo a colheita do produto nos meses de janeiro e fevereiro, período de poucas chuvas e baixa umidade relativa do ar, condições climáticas que favorecem o sistema de secagem com ar natural forçado.

A incidência de fungos nas camadas de 60 cm de altura dos silos, como destacado na Tabela 1, revela que estes colonizam os grãos, ainda na lavoura, durante o desenvolvimento e a maturação, quando apresentam elevado grau de umidade. A espécie mais incidente foi o *F. verticillioides*, embora seja observada a incidência de *F. graminearum*, *Penicillium* e *Aspergillus*, todos com características toxigênicas, pois foi detectada a presença de micotoxinas nas amostras da colheita (Tabela 4).

As espécies de *F. verticillioides* e de *F. graminearum* apresentaram redução do percentual de incidência com o processamento da secagem e durante o armazenamento. Esses resultados encontram corroboração de Santin *et al.* (2004): “a incidência de *F. verticillioides* foi reduzindo à medida que diminuía o teor de água dos grãos tanto no campo quanto no armazenamento”. O surgimento de *F. graminearum* ao final da secagem e aos 112 dias de armazenamento, no silo B, não encontra relação com as características do fungo e pode ser associado às condições de condução do trabalho.

Os fungos do gênero *Penicillium* apresentaram elevação do percentual de incidência, nos silos A, que passou de 5,5 para 10,7%, e no

silo B, de 3,7 para 7,2%; no silo C, a incidência se manteve em 2,5%. A incidência do *Aspergillus* permaneceu estável no silo A, com 3%, e indicou diminuição significativa no silo B, que passou de 5,5 para 2%, e no silo C, de 3 para 1,2%.

Os resultados da Tabela 2 indicam que houve aumento significativo de incidência dos fungos *Aspergillus* e *Penicillium* no silo A. O fungo *Aspergillus* alcançou 20,2% e o *Penicillium* alcançou 11,7% no silo A e 8,2% no B, no final do armazenamento. Esses fungos dependem da umidade para germinar e colonizar os substratos infectados.

Observa-se, na Tabela 2, que o percentual de incidência do *F. verticillioides* e do *F. graminearum* foi diminuindo a partir da colheita e durante o período de armazenamento, alcançando a perda total de viabilidade do inóculo do *F. graminearum* 112 dias após a colheita.

Na Tabela 3, observam-se os resultados da incidência na camada de 260 cm de altura, dos grãos no interior dos silos A, B e C. No milho armazenado nos silos A e B, houve redução de incidência de *F. verticillioides* e *F. graminearum*. Por outro lado, observa-se aumento significativo da incidência de *Aspergillus* nos três silos e do *Penicillium* nos silos B e C. Esse aumento significativo de incidências pode ser relacionado ao grau de umidade do milho, que esteve próximo de 14%. Esse grau de umidade pode ter criado ambiente favorável à germinação e colonização dos grãos pelos fungos de armazenamento. Quando este proporciona umidade adequada,



**TABELA 1.** Incidência (%) de fungos nos grãos oriundos dos silos A, B e C, na camada de 60 cm de altura, e grau de umidade (% b. u.) de grãos do milho da cultivar 32R22, na colheita, ao final da secagem e durante o armazenamento.

Fungos	Colheita	Final da secagem	112 dias	206 dias
<b>Silo A</b>				
<i>F.graminearum</i>	1,2a	1,2a	0,5b	0,2c
<i>F. verticillioides</i>	30,7a	29,0a	22,0b	22,7b
<i>Aspergillus</i> sp	3,0b	4,2a	3,2ab	3,0b
<i>Penicillium</i> sp	5,5b	10,2a	8,5ab	10,7a
Grau de umidade (%)	20,5	12,4	13,9	12,9
<b>Silo B</b>				
<i>F.graminearum</i>	0,0b	1,0ab	1,7a	0,0b
<i>F. verticillioides</i>	20,0a	17,7ab	18,0ab	18,0ab
<i>Aspergillus</i> sp	5,7a	0,5b	0,5b	2,0b
<i>Penicillium</i> sp	3,7b	3,0b	6,5a	7,2a
Grau de umidade (%)	18,9	12,4	13,1	12,8
<b>Silo C</b>				
<i>F.graminearum</i>	1,0a	0,7ab	0,2b	0,2b
<i>F. verticillioides</i>	19,7a	13,0b	13,b	13,b
<i>Aspergillus</i> sp	3,0a	0,0c	0,5bc	1,2b
<i>Penicillium</i> sp	2,5a	0,5b	2,5a	2,5a
Grau de umidade (%)	17,8	12,8	13,5	12,6

Letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente a 5 %

os esporos germinam e o micélio do fungo se desenvolve, colonizando os grãos.

A Tabela 4 revela a ocorrência de micotoxinas produzidas por várias espécies de fungos, tanto na lavoura como no armazenamento. As fumonisinas (FB1 e FB2) foram analisadas na colheita e aos 112 dias de armazenamento dos grãos. A quantidade de fumonisinas detectadas é considerada elevada, porém, no Brasil, ainda não existe regulamentação que limita a quantidade dessas micotoxinas nos alimentos para humanos ou animais. Os resultados das análises micotoxicológicas das fumonisinas

(FB1 e FB2), na colheita e após 112 dias de armazenamento, revelam que todas as amostras estavam contaminadas.

O resultado mais elevado, de 20.257 µg/kg de FB1 detectado na amostra de grãos da camada de 160 cm de altura, do silo A, destaca-se, mostrando que os resultados da quantificação das fumonisinas são preocupantes, tendo em vista que a sua ingestão provoca efeitos nocivos à saúde humana e animal. Sydenham et al. (1991) e Thiel et al. (1991), em seus estudos, indicam que as fumonisinas mais identificadas são a FB<sub>1</sub>,

**TABELA 2.** Incidência (%) de fungos nos grãos oriundos dos silos A, B e C, na camada de 160 cm de altura, e grau de umidade (% b. u.) em grãos de milho da cultivar 30R32, na colheita, ao final da secagem e durante o armazenamento.

Fungos	Colheita	Final da secagem	112 dias	206dias
<b>Silo A</b>				
<i>F.graminearum</i>	1,5a	0,7ab	0,0b	0,0b
<i>F.moniliforme</i>	25,5a	24,5a	21,2b	20,0b
<i>Aspergillus</i> sp	3,5d	5,7c	16,5b	20,2a
<i>Penicillium</i> sp	5,2c	7,7bc	8,7b	11,7a
Grau de umidade (%)	20,5	12,8	14,2	14,3
<b>Silo B</b>				
<i>F.graminearum</i>	0,5a	0,2b	0,0b	0,0b
<i>F.moniliforme</i>	19,2a	14,2b	14,5b	13,5b
<i>Aspergillus</i> sp	5,0a	4,5ab	4,2ab	4,5ab
<i>Penicillium</i> sp	3,2b	4,5b	7,0a	8,2a
Grau de umidade (%)	18,9	12,8	13,8	15,2
<b>Silo C</b>				
<i>F.graminearum</i>	0,5a	0,0b	0,0b	0,0b
<i>F.moniliforme</i>	17,2ab	17,7ab	19,0a	15,0b
<i>Aspergillus</i> sp	2,7a	1,5ab	1,2b	1,2b
<i>Penicillium</i> sp	4,5a	4,0a	3,2ab	3,5ab
Grau de umidade (%)	17,8	13,5	14,7	14,2

Letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem significativamente a 5 %

FB<sub>2</sub> e FB<sub>3</sub>, sendo que a mais abundante em alimentos naturalmente contaminados é a FB<sub>1</sub>, que representa 70% do total das fumonisinas detectadas. As fumonisinas são produzidas por fungos do gênero *Fusarium*, considerados fungos de campo, com destaque para a espécie *F. verticillioides*. Essas micotoxinas são identificadas com surtos de doenças e morte de animais, além de estarem estatisticamente correlacionadas com o aumento do risco de câncer de esôfago, em humanos consumidores de milho contaminado (Marasas, 1995).

As análises quantificaram aflatoxinas (AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2) na colheita e durante o armazenamento. A presença de aflatoxinas na colheita introduz uma situação pouco evidenciada, a colonização de grãos por fungos do gênero *Aspergillus* na lavoura. Essa habilidade ainda é pouco citada e discutida pela literatura, que os classifica como fungos de armazenamento ou de pós-colheita. A importância mais significativa desses resultados é a quantidade de aflatoxinas detectadas nos silos B e C, na amostra da colheita, nas camadas de 60 cm e 260

**TABELA 4.** Micotoxinas quantificadas em grãos de milho da cultivar 32R22, oriundos dos silos A, B e C, nas camadas de 60, 160 e 260 cm de altura, na colheita, ao final da secagem e aos 112 dias de armazenamento.

Silos Camadas	Grau de umidade %	Micotoxinas ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )					
		AFB1	AFB2	AFG1	AFG2	FB1	FB2
<b>Colheita</b>							
<b>Silo A</b>							
60 cm	20,5	1,0	ND	ND	ND	4.896	1,600
160 cm	20,8	ND	ND	ND	ND	713	264
260 cm	19,6	ND	ND	ND	ND	833	487
<b>Silo B</b>							
60 cm	18,9	95,7	6,3	1,0	ND	2.656	1.317
160 cm	18,7	ND	ND	ND	ND	1.651	561
260 cm	18,7	1,0	ND	ND	ND	2.028	281
<b>Silo C</b>							
60 cm	17,7	ND	ND	ND	ND	713	46,0
160 cm	18,0	ND	ND	ND	ND	618	73,0
260 cm	17,8	65,8	2,7	ND	ND	1.280	98,0
<b>Final da secagem</b>							
<b>Silo A</b>							
60 cm	12,4	ND	ND	ND	ND	NA	NA
160 cm	12,9	49,4	3,7	8,3	ND	NA	NA
260 cm	14,8	192	9,5	21,2	1,8	NA	NA
<b>Silo B</b>							
60 cm	12,4	21,8	1,0	ND	ND	NA	NA
160 cm	13,8	ND	ND	ND	ND	NA	NA
260 cm	14,4	62,6	5,1	3,0	ND	NA	NA
<b>Silo C</b>							
60 cm	12,8	ND	ND	ND	ND	NA	NA
160 cm	12,9	1,8	ND	ND	ND	NA	NA
260 cm	13,8	5,0	ND	ND	ND	NA	NA
<b>112 dias</b>							
<b>Silo A</b>							
60 cm	13,6	ND	ND	ND	ND	14.134	2.619
160 cm	13,6	44,4	3,4	ND	ND	20.257	5.954
260 cm	14,1	188	12,0	18,0	2,9	2.436	248
<b>Silo B</b>							
60 cm	13,1	13,6	ND	ND	ND	1.982	609
160 cm	13,8	3,0	ND	ND	ND	9.054	2.016
260 cm	14,1	ND	ND	ND	ND	2.000	190
<b>Silo C</b>							
60 cm	13,5	2,1	ND	ND	ND	2.105	256
160 cm	13,6	ND	ND	ND	ND	1.724	583
260 cm	13,9	ND	ND	ND	ND	1.260	438

Limites de Quantificação/Coefficiente de Recuperação: AFB1 (Aflatoxina B1)  $1\mu\text{g kg}^{-1}/94,5\%$ ; AFB2 (Aflatoxina B2)  $1\mu\text{g kg}^{-1}/80,0\%$ ; AFG1 (Aflatoxina G1)  $1\mu\text{g kg}^{-1}/88,5\%$ ; AFG2 (Aflatoxina G2)  $1\mu\text{g kg}^{-1}/88,1\%$ ; AFM1 (Aflatoxina M1)  $0,015\mu\text{g kg}^{-1}/78\%$ ; Fumonisinias B1 e B2 (FB1 e FB2),  $30\mu\text{g kg}^{-1}$  cada/ $95,0\%$ ; ND – Não Detectado; NA - Não Avaliado.

cm de altura, que alcançam 95,7  $\mu\text{g kg}^{-1}$  e 65,8  $\mu\text{g/kg}$ , respectivamente, várias vezes superiores ao limite de 20  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , estabelecido pelos órgãos reguladores, como Ministério da Saúde e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. A AFB1 é a aflatoxina mais frequente nas amostras de grãos dos silos, bem como aquela que apresentou as quantificações mais elevadas, sendo que, na camada de 260 cm de altura do silo A, foi de 192  $\mu\text{g kg}^{-1}$  ao final da secagem e de 188  $\mu\text{g kg}^{-1}$  ao final do armazenamento.

Os resultados das análises micotoxicológicas indicam variações na quantificação das micotoxinas para os grãos da mesma camada, em épocas diferentes, evidenciando que a sua distribuição no substrato é irregular e que a amostragem é um fator que pode influenciar os resultados e a conclusão do trabalho. Miraglia *et al.* (2005) destacam como sendo a amostragem a atividade mais importante no monitoramento de micotoxinas, já que a distribuição das mesmas na massa de grãos é heterogênea.

As micotoxinas causam extensos efeitos toxicológicos e afetam diversos processos celulares. Algumas, entre as quais a mais estudada, a AFB<sub>1</sub>, é considerada carcinogênica e afeta vários órgãos, mas especialmente fígado e rins. Atividades teratogênicas, imunossupressoras e neurotóxicas, além de perturbações gastrointestinais, irritações de pele e efeitos hematológicos, também são atribuídas a diversas espécies de micotoxinas. A leucoencefalomalácia equina é uma doença não infecciosa esporádica e altamente fatal que afeta

o sistema nervoso central de cavalos e outros equídeos (Marasas *et al.*, 1988).

As incidências de fungos toxigênicos em todas as etapas do ciclo produtivo dos grãos tornam difícil a tarefa de gerenciar estratégias de controle, porém a compreensão dos fatores relevantes para a produção de micotoxinas por um dado gênero de fungos numa dada comunidade agrícola permite desenvolver planos para combater e minimizar esse problema. Os fatores envolvidos na produção de micotoxinas no período pré-colheita são distintos dos envolvidos na pós-colheita. As micotoxinas podem funcionar como sinais químicos, entre os fungos, num microclima e desempenhar uma função na ocorrência das espécies, prevalecendo aquelas melhor adaptadas ao meio, mais competitivas e resistentes às variações meteorológicas. Não há um único conjunto de condições que favorecem a germinação, a colonização e a produção de micotoxinas. Esses fungos diferem nas suas características ecológicas, bioquímicas e nichos ecológicos.

### Conclusões

É possível reduzir a porcentagem de água nos grãos de milho à porcentagem aceitável de armazenamento, através da secagem com ar natural forçado, em silos de alambrado.

A secagem com ar natural forçado, em silos de alambrado, preserva a qualidade microbiológica dos grãos de milho.

Os grãos de milho são contaminados por micotoxinas na lavoura, predominando a ocorrência de fumonisinas do gênero *Fusarium*.

### Literatura Citada

ASSOCIAÇÃO DE ANALISTAS QUÍMICOS OFICIAIS. **Métodos Oficiais de Análise** AOAC, 15. ed. 1990.

ATHIE, I.; CASTRO, M. F. P. M. de; GOMES, R. A. R.; VALENTINI, S. R. T. **Conservação de grãos**. Campinas: Fundacao Cargill, 1998. 236 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF, 1992. 365 p.

CASTRO, P. R. C; KLUGE, R. A. (Ed.). **Ecofisiologia de cultivos anuais**: trigo, milho, soja, arroz e mandioca. São Paulo: Nobel, 1999. 126 p.

ELIAS, M. C. **Secagem e armazenamento de grãos, em médias e pequenas escalas**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas: FAEM: Pólo de Modernização Tecnológica em Alimentos da Região Sul do Rio Grande do Sul: COREDE-SUL, 2000. 147 p.

EATON, D. L.; GROOPMAN, J. D. **The toxicology of aflatoxins**. New York: Academic Press, 1994. p. 383-426.

FAO. **Planos de amostragem para análise de aflatoxinas em milho e amendoim**. Roma, 1993. (FAO Alimento e Nutrição. Boletim, 55).

FARONI, L. R. D.; DEVILLA, I. A. **Tecnologia de aeração e resfriamento de grãos**. In: Valorização da Produção e Conservação de Grãos no Mercosul, 2001, Londrina - PR. II Conferência nacional de Pós-Colheita SAG-MERCOSUL - II Simpósio em armazenagem

qualitativa do mercosul. Londrina: FAPEAGRO, v. 2. p. 298-327. 2001.

FERNANDEZ, M. R. **Manual para laboratório de fitopatologia**. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 1993. 128 p. (EMBRAPA-CNPT. Documentos, 6).

IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em 12 fev. 2008.

INTERNATIONAL ORGANIZATION STANDARTIZATION. **ISO 950:1979**. Cereals - Sampling (as grain). Genebra, 1979.

LÁZZARI, F. A. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações**. Curitiba: Paranaset, 1997. 133p.

LASSERAN, J.C. Mejoramiento del manejo de la ventilación y del sistema de conductos para controlar la calidad de los granos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE CONSERVAÇÃO DE GRÃOS, 1993, Canela. **Anais...** Canela: CESA / FAO, p.197-213. 1994.

LEDOUX, D. R. et al. Fumonisin toxicity in broiler chicks. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Davis, v. 4, p. 330-333, 1992.

LORINI, I; MIIKE, L. H.; SCUSSEL, V. M. **Armazenagem de grãos**. Campinas: IBG, 2002.

MALLMANN, C. A.; SANTURIO, J. M.; DILKIN, P. Equine leukoencephalomalacia associated with ingestion of corn contaminated with fumonisin B<sub>1</sub>. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 30, p. 249-252, 1999.

MARASAS, W. F. O.; KELLERMAN, T. S.; GELDERBLOM, W. C. A. *et al.* Leukoencephalomalacia in horse induced

by fumonisin B<sub>1</sub> isolated from *Fusarium moniliforme*. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, Pretoria, v. 55, p.197-203, 1988.

MARASAS, W. F.O. Fumonisin: Their implications for humans e animal health Roa, G.; Villa, L. C. **Secagem e armazenamento de grãos e sementes em silos mediante a utilização do ar ambiente com auxílio de coletores solares**. Campinas: UNICAMP, 1977. 51p.

MARASAS, W. F. O. Fumonisin: their implications for human and animal health. **Natural Toxins**, New York, v.3, p.193-198, 1995.

MIRAGLIA, M; DE SANTIS, B.; MINARDI, V.; DEBEGNACH, F.; BRERA, C. The role of sampling in mycotoxin contamination: An holistic view. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 22, n. 6, p. 31-36, 2005. Supplement 1.

MUNDSTOCK, C. M.; BREDEMEIER, C. **Qualidade de grãos de milho**. Porto Alegre: Departamento de Plantas de Lavoura da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.

NELSON, P. E.; PLATTNER, R. D.; SHACKLEFORD, D. D. DESJARDINS, A. E. Fumonisin B<sub>1</sub> production of by *Fusarium* species other than *F. moniliforme* in section *Liseola* and by some related species. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v. 58, p. 984-989, 1992.

OSWEILER, G. D. et al. Characterization of an epizootic of pulmonary edema in swine associated with fumonisin in corn screenings. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Davis, v. 4, p. 53-59, 1992.

RHEEDER, J. P.; MARASAS, W. F. O.; THIEL, P. G. *Fusarium moniliforme* and fumonisin in corn in relation to human esophageal cancer in Transkei. **Phytopathology**, Lancaster, v. 82, p. 253-257, 1992.

SANTIN, J. A.; REIS, E. M.; MATSUMURA, A. T. S.; MORAES, M. G. Efeito do retardamento da colheita de milho na incidência de grãos ardidos e de fungos patogênicos, **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 3, n. 2, p.182-192, 2004.

SWEENEY, M. J.; DOBSON, A. D. W. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 43, p.141-158, 1998.

SYDENHAM, E. W.; GELDERBLUM, W. C. A.; THIEL, P. G. et al. Evidence for the natural occurrence of fumonisin B<sub>1</sub> a mycotoxin produced by *Fusarium moniliforme* in corn. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 39, p. 2014-2018, 1991.

THIEL, P. G.; SHEPHARD, G. S.; SYDENHAM, E. W. et al. Levels of fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in feeds associated with confirmed cases of equine leukoencephalomalacia. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 39, p. 109-111, 1991.