

GLICOSAMINA COMO INDICATIVO DE CRESCIMENTO FÚNGICO EM AMOSTRAS DE ARROZ E SUAS FRAÇÕES

Luciana Prietto¹; Paola Moraes²; Volnei Meneghetti³; Carlos Alberto Fagundes⁴; Eliana Badiale-Furlong⁵

Palavras-chave: Contaminação, Micro-organismos, Secagem.

INTRODUÇÃO

O arroz é um alimento básico na dieta da população e é consumido por aproximadamente três bilhões de pessoas (DE-XI et al., 2010). O Brasil ocupa o décimo lugar na produção desse cereal no mundo, sendo o estado do Rio Grande do Sul responsável por aproximadamente 60% da produção nacional (EMBRAPA, 2010). No entanto, o arroz pode ter seu rendimento e qualidade comprometida em caso de contaminação por pragas, como os fungos. Além disso, alguns gêneros fúngicos que se desenvolvem no arroz produzem compostos tóxicos denominados micotoxinas (DORS, PINTO e FURLONG, 2009).

O crescimento destes micro-organismos ocorre sob condições ambientais favoráveis e está associado a umidade, temperatura, tempo e condições físicas do grão, níveis de O₂ e CO₂, nível de inóculo, prevalência de linhagens toxigênicas, entre outros. Considerando que a cadeia produtiva do arroz fornece condições para o desenvolvimento de diversos fungos, estimar essa contaminação torna-se uma avaliação importante, pois trata-se de um efeito que pode ser percebido a longo prazo, quando a degradação da matéria-prima já esta instaurada e o risco de ocorrência de micotoxinas já é bastante provável, dada a estabilidade destes compostos nas condições de beneficiamento e preparo (HOELTZ et al., 2009; HACKBART et al., 2012).

Entre as etapas do processamento do arroz, a secagem tem grande importância para o armazenamento seguro, com baixo risco de contaminação microbiana. A secagem estacionária vem sendo bastante empregada em indústrias beneficiadoras de grãos, e é caracterizada pela passagem de ar aquecido ou não entre a massa dos grãos que permanece em estado estacionário. Esse tipo de secagem também pode ser utilizado associado a intermitente, para diminuir o tempo de permanência do produto em umidade elevada. A secagem intermitente é empregada para remover a umidade inicial do grão, sendo posteriormente empregada a estacionária para redução a 12 % de umidade, valor ideal para armazenamento de arroz (ELIAS, 2007).

Varios autores tem investigado técnicas para quantificar a biomassa fúngica em matérias-primas e alimentos, tais como as medidas indiretas determinando componentes celulares como glicosamina (presente na quitina), ergosterol (presente na membrana celular), proteínas ou ácidos nucleicos e, até mesmo, por enzimas exocelulares (HEIDTMANN-BEMVENUTI et al., 2012).

A glicosamina constitui unidades do biopolímero quitina e quitosana, presente em todos os fungos, considerada um bom indicativo para estimar a biomassa fúngica. O método de dosagem baseia-se na despolimerização da molécula de quitina e quitosana, seguida pela determinação espectrofotométrica do monômero liberado (AIDOO, HENDRY e WOOD, 1981; DEGRANGES et al., 1991; TOMASELLI-SCOTTI et al., 2001). Trata-se portanto de uma medida mais rápida que a enumeração ou identificação da micota para acompanhar a situação micotóxica de grãos durante o armazenamento.

¹ Engenheira de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Engenheiro Alfredo Huck, Caixa Postal 474, Cep 96200970, RS-Brasil, lucianaprietto@gmail.com.

² Iniciante Científico, Universidade Federal do Rio Grande – FURG.

³ Engenheiro Agrícola, Instituto Rio Grandense do Arroz – IRGA.

⁴ M.^o em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Instituto Rio Grandense do Arroz – IRGA.

⁵ Dr.^a em Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande – FURG.

Neste trabalho a contaminação fúngica de amostras de arroz e suas frações, armazenadas por 10 meses, foi avaliada através da determinação de glicosamina, a fim de verificar a influência da secagem estacionária e da combinação entre secagem intermitente e estacionária na atividade da micobiota presente no grão armazenado.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

As amostras de arroz foram secas até 12% de umidade, armazenadas por 10 meses e beneficiadas no Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA), localizado no município de Cachoeirinha-RS. A secagem foi realizada empregando dois sistemas convencionais, o primeiro caracterizado por uma secagem estacionária (Silo 1) e a segunda por uma combinação entre secagem intermitente e estacionária (Silo 2).

Para secagem estacionária, os grãos logo após a colheita (24% de umidade) foram transferidos para um silo secador, com ar aquecido com gás GLP injetado pela parte inferior do silo, a temperatura máxima de 40°C, até que toda a massa de grãos presente no silo atingisse umidade de 12%. Na segunda técnica empregada, os grãos foram secos em secador intermitente até que a umidade dos grãos fosse reduzida de 24 para 16%. Em seguida os grãos foram transferidos para um silo secador permanecendo em secagem estacionária até que a umidade dos grãos atingisse 12%. Após esse equilíbrio os grãos foram deixados armazenados por um período de 10 meses, e feita a coleta de amostras do ponto inferior do silo (PI), do ponto médio (PM) e do ponto superior (PS).

Durante o beneficiamento foram separadas as frações casca, farelo e endosperma amiláceo, e as amostras encaminhadas ao Laboratório de Micotoxinas e Ciência de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). As amostras de endosperma e casca foram moídas em moinho de facas e todas as frações foram separadas em peneiras de mesh 32, para determinação de glicosamina.

Determinação de Glicosamina

Foi pesado 1,0000 g de amostra moída, adicionados 10mL de HCl 6M e a mistura foi submetida a fervura por 2h com posterior filtração. Foi transferido 1mL do filtrado para um balão volumétrico de 25mL com adição de fenoltaleína. O filtrado diluído foi neutralizado com NaOH 3 M, titulado com KHSO_4 1%, e o volume do balão aferido com água destilada. Para quantificação do teor de glicosamina, 1mL dessa solução foi transferida para um tubo de ensaio, adicionado 1 mL da solução de acetil acetona em Na_2CO_3 0,25 M (1 mL de acetil acetona em 50 mL de solução Na_2CO_3 0,25 M), e fervido em banho-maria por 20 min. Os tubos permaneceram em repouso até atingirem temperatura ambiente. Foram adicionados 6mL de etanol e 1 mL de reagente Erlich (preparado pesando 2,67 g de *p*-dimetilaminobenzaldeído em um volume de 30 mL de etanol:ácido clorídrico 1:1, completando-se o volume em balão de 50 mL com água destilada). Os tubos foram colocados em estufa a 65°C por 10min, e realizada a leitura em espectrofotometrometro a 530nm. Para estimativa do conteúdo de glicosamina, foi utilizada a declividade de uma curva padrão de glicosamina gerada pela variação de concentrações entre 2,2 a 16,7 µg/mL (AIDOO, HENDRY e WOOD, 1981).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração de glicosamina, estimada pela curva padrão $y = 39,67 \text{ mg/mL}$, foi utilizada para comparar os tipos de secagem, a distribuição da micota no interior dos silos e nas frações de arroz provenientes de grãos armazenados por 10 meses.

Os conteúdos de glicosamina (Figura 1), não diferiram significativamente com relação ao ponto de coleta das amostras para cada silo em estudo. No entanto, a distribuição no grão de arroz (silo 1) apresentou maior contaminação no endosperma (4,82 mg de glicosamina/g endosperma) e farelo (4,25 mg de glicosamina/g farelo), e menor na casca

(1,83 mg de glicosamina/g casca). Nos grãos armazenados no silo 2, a contaminação foi maior no farelo (4,85 mg de glicosamina/g farelo) seguido de endosperma (3,05 mg de glicosamina/g endosperma) e casca (2,61 mg de glicosamina/g casca). Em ambos os casos os maiores níveis de contaminação foram observados nas frações mais interna do grão, podendo ser atribuído a possíveis rupturas na casca devido ao processamento, que favoreceram a contaminação pela maior disponibilidade de nutrientes no farelo e endosperma.

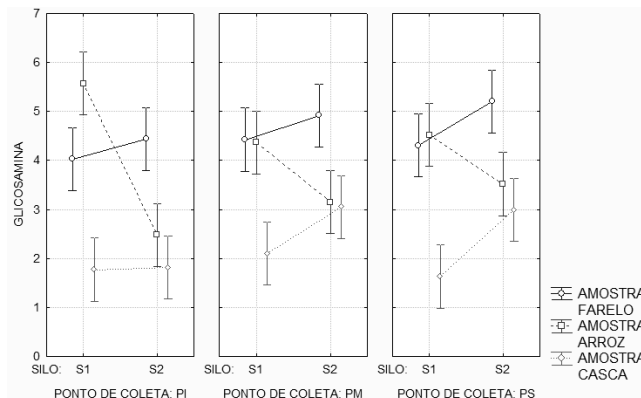


Figura 1. Teor de glicosamina (mg/g amostra) em arroz e suas frações submetidos a secagem estacionária (Silo 1) e combinação entre secagem intermitente e estacionária (Silo 2)

PI: Ponto inferior do silo, PM: Ponto médio do silo, PS: Ponto superior do silo

Heidtmann-Bemvenuti et al (2012) avaliando a contaminação de arroz recém colhido, pela medida de glicosamina, encontraram maior conteúdo no farelo seguido de casca e endosperma, sugerindo que a contaminação por micro-organismos e outras pragas se concentram nas frações mais externas do grão. Dessa forma, observa-se que o tipo de secagem e tempo de armazenamento influenciou na distribuição da contaminação no grão, visto que, o desenvolvimento fúngico está relacionado principalmente a dificuldade no controle da umidade e temperatura durante essas operações.

Quando comparado os dois tipos de secagem, observa-se que apenas no endosperma, coletado no ponto inferior dos silos mostrou valores significativamente diferentes, apresentando menor contaminação no silo 2. Isso porque a baixa velocidade e a desuniformidade de secagem são características indesejáveis da secagem estacionária, fazendo com que os grãos permaneçam em umidade elevada, favorecendo a contaminação.

CONCLUSÃO

Nesse estudo a distribuição da contaminação fúngica no interior do silo não apresentou diferença significativa, no entanto a combinação entre secagem intermitente e estacionária gerou amostras de endosperma com conteúdo de glicosamina significativamente menor, quando comparado ao endosperma resultante apenas da secagem estacionária. Além disso, o tipo de secagem influenciou significativamente no conteúdo de glicosamina entre as frações do grão de arroz, apresentando maior contaminação no endosperma e farelo nos grãos do silo 1 e menor contaminação no endosperma e casca nas amostras do silo 2.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIDDO, K. E.; HENDRY, R.; WOOD, B. J. B. Estimation of fungal growth in a solid state fermentation system. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 12, n. 1, p. 6-9, 1981.
- DESGRANGES, C.; VERGOLNAN, C.; GEORGES, M.; DURAND, A. Biomass Estimation in Solid State Fermentation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.35, p. 200-205, 1991.
- DE-XI, C.; XUE-WEI, C.; BING-TIAN, M.; YU-PING, W.; LI-HUANG, Z.; SHI-GUI, L. Genetic Transformation of Rice with *Pi-d2* Gene Enhances Resistance to Rice Blast Fungus *Magnaportheoryzae*. **China Rice Science**, 17(1): p. 19–27, 2010.
- DORS, G. C., PINTO, L. A. A., FURLONG, E. B. Migration of Mycotoxins into Rice starchy endosperm during the parboiling process. **Food Science and Technology International** . , v.42, p.433 - 437, 2009.
- ELIAS, M. C. **Pós-Colheita de Arroz: Secagem, armazenamento e qualidade**. Pelotas: Ed. UFPEL, 2007. 422p.
- EMBRAPA, (2010) – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Pragas e doenças do arroz**. Disponível em: <http://www.cnpaf.embrapa.br/eventosenoticias/anteriores/anteriores2009/0911_03.htm>. Acesso em: 10 abr 2012.
- HACKBART, H.C.S.; PRIETTO, L.; PRIMEL, E.G.; GARDA-BUFFON, J.; BADIALE-FURLONG, E. Simultaneous extraction and detection of ochratoxin A and Citrinin in rice. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v.23, n.1, 2012.
- HEIDTMANN-BEMVENUTI, R.; HACKBART, H. C. S.; SOUZA, M. M.; BADIALE-FURLONG, E. Determinação de deoxinivalenol e zearalenona em arroz natural e parboilizado e suas frações utilizando quechers e hplc/uv-fl. **Química Nova**, v. 35, n.6, p. 1-6, 2012.
- HOELTZ, M.; FAGUNDES, C. A.; ALCAYAGA, E.A.L.; NOLL, I.B.. Micobiota e micotoxinas em amostras de arroz coletadas durante o sistema estacionário de secagem e armazenamento. **Ciência Rural**, v.39, n.3, 2009.
- TOMASELLI-SCOTTI, C.; VERGOIGNAN, C.; FERON, G.; DURAND, A. Glucosamine Measurement as Indirect Method for Biomass Estimation of *Cunninghamella elegans* Grown in Solid State Cultivation Conditions. **Biochemical Engineering Journal**, v. 7, p. 1-5, 2001.