

AVALIAÇÃO DE MEIOS DE CULTURA PARA QUANTIFICAÇÃO DE FUNGOS EM FARELO DE ARROZ

CARMO, E.J.S.¹, SILVA-LOBO, V. L.², BASSINELLO, P.Z.², RINALDI, M.M.³, OLIVEIRA, M.G.C.⁴

INTRODUÇÃO: Pesquisas no Brasil e em diversos outros países têm sido conduzidas buscando avaliar o potencial do farelo de arroz, produto rico e abundante, para a alimentação humana quando a maioria da sua utilização tem sido para a alimentação animal. Alimentos armazenados são excelentes para a proliferação de fungos, principalmente em países onde os princípios básicos de secagem adequada e armazenamento correto, ainda são desconhecidos ou desprezados (Fonseca, 2005). Os fungos, bolores ou mofos podem, pela sua ação direta, ocasionar vários problemas aos produtos armazenados. As micotoxinas constituem-se em grupo de compostos tóxicos produzidos por fungos que crescem sob condições favoráveis em substratos variados. Cereais e sementes oleaginosas são frequentemente afetadas por estes metabólitos secundários de fungos, durante a colheita, armazenamento e industrialização. Cerca de 25% do suprimento alimentar mundial é contaminado por micotoxinas. Entre os fatores ambientais que determinam a contaminação destacam-se o excesso de umidade no campo e no armazenamento, temperaturas extremas, estiagem, práticas de colheita e infestação por insetos. Entre os inúmeros fungos, os gêneros comumente envolvidos na produção de micotoxinas em grãos oleaginosas e cereais estão *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* e *Claviceps* (Micotoxinas, 2005). Como o farelo de arroz apresenta uma contaminação por fungos desconhecida, este trabalho visa avaliar e selecionar o melhor meio de cultura para a quantificação de fungos presentes em farelo de arroz.

MATERIAL E MÉTODOS: Foi utilizada amostra de farelo de arroz integral, proveniente da Agroindustrial Urbano Ltda (Sinop/MT). A amostra foi preparada seguindo-se a metodologia de Siqueira (1995). Os meios de cultura utilizados foram o “Plate Count Agar” (PCA) e “Batata Dextrose Agar” (BDA) (Silva et al., 2001) e a inoculação da amostra nos meios foi feita pelo método de plaqueamento em profundidade. O experimento foi realizado com seis repetições para cada uma das diluições e seis tratamentos, a saber: PCA + Ácido Tartárico (10%), PCA +

¹ Estudante de Biologia, Universidade Estadual de Goiás. Anápolis,GO. Fone (62) 3533-2189. E-mail: elajacob@terra.com.br.

² Pesquisador, Embrapa Arroz e Feijão, Sto. Antônio de Goiás, GO.

³ ProfªDoutora, Universidade Estadual de Goiás. Anápolis,GO.

⁴ Estudante de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Goiás. Anápolis, GO.

Ácido Clorídrico, PCA + Tetraciclina (500µg/500mL de meio), BDA + Ácido Tartárico (10%), BDA + Ácido Clorídrico e BDA + Tetraciclina (500µg/500mL). Os ácidos tartárico e clorídrico foram utilizados em quantidades suficientes para que o meio atingisse pH final entre 4,0-4,5. O preparo das amostras e das diluições foram feitas seguindo a metodologia de Silva et al. (2001). Foi retirado 1 mL de cada diluição e inoculado no centro da placa de Petri e em seguida o meio de cultura foi vertido sobre o inóculo. A mistura do inóculo ao meio de cultura foi feita movimentando-se suavemente as placas, em superfície plana, em movimentos em forma de oito. Após a solidificação dos meios de cultura, as placas foram colocadas para incubar, na posição invertida, por um período de 72 a 120 horas a 28°C, após o qual foi feita a avaliação do crescimento das colônias de fungos, contando-se o número de colônias em cada placa. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos e seis repetições. Os dados foram expressos em unidades formadoras de colônias por grama de farelo (UFC.g⁻¹), os mesmos foram transformados em log (x+1) e submetidos à análise de variância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Não se observou diferença significativa entre os tratamentos, quanto ao crescimento de fungos (Tabela 1). No entanto, foi possível verificar a ausência de crescimento de bactérias quando se utilizou o meio BDA + ácido tartárico, ao contrário dos outros meios, em que se observou um grande número de colônias de bactérias se desenvolvendo juntamente com as colônias de fungos, algumas vezes inibindo o crescimento dos mesmos. De um modo geral, no meio de cultura PCA observou-se o desenvolvimento de um maior número de colônias de bactérias. Esse meio de cultura, normalmente é utilizado como meio padrão para contagem de bactérias em placas, e mesmo acidificando-se esse meio com ácido tartárico ou acrescentando-se o antibiótico tetraciclina, não foi possível inibir o crescimento das bactérias. O PCA acidificado apresentou um número maior de colônias de bactérias, quando comparado ao PCA + tetraciclina e o BDA + tetraciclina (Figura 1). No meio BDA acidificado com ácido tartárico não se verificou o crescimento de colônias de bactérias (Figura 1). Quando se utilizou o ácido clorídrico, para acidificação do meio, tanto o PCA quanto o BDA não se solidificaram, não sendo possível a inoculação do meio com a amostra diluída, passando-se então a analisar somente os outros quatro tratamentos. Apesar dos meios de cultura não terem diferido entre si quanto ao crescimento de fungos, o meio BDA + ácido tartárico foi selecionado para a quantificação de fungos, pelo fato deste meio ter inibido o desenvolvimento de bactérias e/ou outros contaminantes.

Tabela1- Quantificação de fungos em farelo de arroz integral, em diferentes meios de cultura. Santo Antônio de Goiás, 2006.

Meio de Cultura	UFC/g de farelo
PCA + Tetraciclina	$1,1 \times 10^{41} \text{ a}^2$
PCA + Ácido Tartárico	$1,2 \times 10^4 \text{ a}$
BDA + Tetraciclina	$1,0 \times 10^4 \text{ a}$
BDA + Ácido Tartárico	$1,4 \times 10^4 \text{ a}$
CV(%)	2,93

¹Os dados foram transformados em Log (x+1) para análise de variância.

² Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de probabilidade 5%.

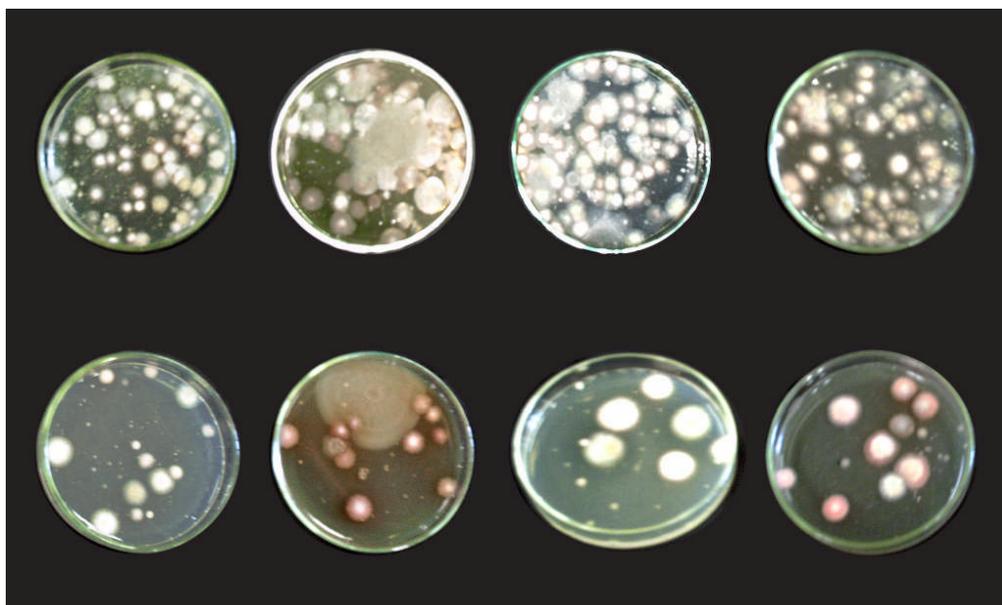


Figura 1- Comparação entre os meios de cultura PCA e BDA, acrescidos de tetraciclina e ácido tartárico, para a quantificação de fungos em farelo de arroz.

1ª linha da esquerda para a direita: PCA + Ácido Tartárico, PCA + Tetraciclina, BDA + Ácido Tartárico, BDA + Tetraciclina (diluição 10^{-2}). 2ª linha da esquerda para a direita: PCA + Ácido Tartárico, PCA + Tetraciclina, BDA + Ácido Tartárico, BDA + Tetraciclina (diluição 10^{-3}).

CONCLUSÃO: Os resultados indicaram o meio de cultura BDA + ácido tartárico como o melhor para se quantificar a presença de fungos em farelo de arroz. O meio PCA mesmo acidificado com ácido tartárico apresentou um grande número

colônias de bactérias quando comparado ao meio BDA. Tanto PCA quanto BDA não solidificaram quando foram acidificados com ácido clorídrico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FONSECA, H. **Os fungos e a deterioração de alimentos**. Disponível em: <<http://www.micotoxinas.com.br/boletim4.htm>>. Acessado em: 18/10/2005.

Micotoxinas. Disponível em:

<http://www.setor1.com.br/micotoxinas/mico_toxinas.htm>. Acessado em: 18/10/2005.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2.ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 317p.

SIQUEIRA, R. S. de. 1995. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: Embrapa, 159p.

AGRADECIMENTOS: Os autores agradecem ao Dr. Paulo Hideo Rangel Nakano (Embrapa Arroz e Feijão) pela colaboração e à Universidade Estadual de Goiás.