

Ocorrência de zearalenona em milho armazenado por agricultores familiares da região Central de Minas Gerais

Gilberto L. de O. Alves¹, Valéria A. V. Queiroz², Josilainne S. C. Saraiva³, Prisciula Ferreira³, Renata R. P. Conceição³, Simone M. Martins², Rodrigo V. Costa² e Maria Lúcia F. Simeone²

¹Bolsista BIC-Fapemig; ²Pesquisador Embrapa Milho e Sorgo, Cx Postal 151, Sete Lagoas, MG – Brasil, CEP 35700-970;

³Bolsista PIBIC-CNPq. E-mail: lulaalves@yahoo.com.br, queiroz@cnpms.embrapa.br, josii4p@hotmail.com, pris71@hotmail.com, renataponts@yahoo.com.br, simone@cnpms.embrapa.br, veras@cnpms.embrapa.br, malu@cnpms.embrapa.br.

Palavras-chave: micotoxinas, *Fusarium*, *Zea mays*, armazenamento.

Introdução

O Brasil está em terceira posição no ranking mundial de produtividade de milho (HAUSCHILD et al., 2007) com área de plantio de cerca de 14 milhões de hectares, o que gera uma produção média de 58,9 milhões de toneladas anual de grãos (IBGE, 2010). No entanto, o milho é altamente vulnerável ao desenvolvimento de fungos toxigênicos e, quando este cultivo é realizado em regiões de clima tropical e subtropical, a incidência desses fungos pode ocorrer com maior facilidade (KAWASHIMA; SOARES, 2006; HAUSCHILD et al., 2007).

Para Santos (2008), quando o produtor utiliza práticas agrícolas e de armazenamento de milho adequadas, como, por exemplo, combatendo infestações de pragas que poderiam auxiliar na entrada de fungos, evita perdas e preserva a qualidade dos grãos, obtendo benefícios próprios e para os demais consumidores. No entanto, o armazenamento do milho de forma inadequada pode criar um ambiente propício à ocorrência de pragas e ao desenvolvimento de patógenos, causando insanidade dos grãos e produção de micotoxinas que inviabilizam o uso do produto para o consumo humano e de animais (TANAKA, 2001). Qualquer produtor de milho está sujeito a esse tipo de problema. Entretanto, a realidade dos pequenos produtores ou dos agricultores familiares suscita maior preocupação, pois, devido a condições econômicas desfavoráveis, esse grupo, na maioria das vezes, não consegue adotar práticas corretas de cultivo e de colheita do milho e o armazena em condições extremamente precárias (SANTOS, 2008).

As micotoxinas mais encontradas no milho são produzidas principalmente pelas seguintes espécies: *Fusarium* (fumonisinas, deoxynivalenol, toxina T-2 e zearalenona), *Aspergillus* (aflatoxinas e ocratoxina) e *Penicillium* (ocratoxina) (KAWASHIMA; SOARES, 2006). A maior infecção causada pelo gênero *Fusarium* acontece no período em que o milho ainda está no campo; já os fungos do gênero *Aspergillus* se desenvolvem nas condições de armazenamento dos grãos (TANAKA et al., 2001).

No Brasil, os fungos do gênero *Fusarium* são considerados os principais causadores de danos na cultura do milho (TANAKA, 2001). Seu desenvolvimento está relacionado a temperaturas e umidades relativas elevadas, porém, para produção da micotoxina zearalenona, o ideal é que a temperatura esteja entre 8°C e 14°C (SANTURIO, 2007).

Segundo Hauschild et al. (2007), os danos causados pela zearalenona (ZEA) podem ser elevados em suínos, pois seus metabólitos possuem atividades estrogênicas e anabólicas podendo causar hiperestrogenismo e afetar o sistema reprodutivo destes animais.

Não existem, ainda, limites máximos estabelecidos de zearalenona para produtos de milho no Brasil, porém, a União Européia estabeleceu um limite de 200 µg kg⁻¹ para milho não transformado (REGULAMENTO..., 2005).



O objetivo deste trabalho foi avaliar a ocorrência de zearalenona em milho empalhado armazenado por agricultores familiares de municípios da região Central de Minas Gerais.

Material e Métodos

Contando com apoio de técnicos da Emater-MG (Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais), foram selecionados três municípios da região Central de Minas Gerais para escolha dos produtores familiares.

Foi usado como critério para seleção dos agricultores a disponibilidade de apoio à pesquisa nos meses de maio, julho, setembro e novembro do ano de 2009 (período em que foram realizadas as coletas), produtores que armazenavam o milho na forma empalhada e os que se enquadravam na classificação de agricultores familiares (Tabela 1).

Tabela 1 – Produtor, local de realização das coletas, área plantada, data de plantio e de colheita e tipo de armazenamento utilizado pelos produtores

Produtor	Local	Área Plantada	Data do Plantio	Data da Colheita	Tipo de Armazenamento
1	Esmeraldas	1,5 ha	30/11/2008	30/05/2009	Tela/Madeira/Alvenaria
2	Esmeraldas	1 ha	30/10/2008	30/04/2009	Alvenaria
3	Funilândia	ni*	ni*	ni*	Alvenaria/Madeira
4	Funilândia	3 ha	30/10/2008	15/06/2009	Madeira
5	Funilândia	3 ha	30/10/2008	30/05/2009	Alvenaria
6	Pedro Leopoldo	1 ha	15/11/2008	15/06/2009	Alvenaria/Madeira
7	Pedro Leopoldo	ni*	15/10/2008	30/05/2009	Lona
8	Pedro Leopoldo	0,5 ha	10/10/2008	30/03/2009	Alvenaria
9	Pedro Leopoldo	0,3 ha	10/10/2008	30/03/2009	Alvenaria
10	Sete Lagoas	ni*	ni*	ni*	Paiol Balaio de Milho**

*ni = não identificado

** tipo de paiol desenvolvido pela Embrapa Milho e Sorgo em parceria com a Emater-MG.

As amostras foram coletadas a cada intervalo de dois meses em paióis de nove propriedades rurais que praticam a agricultura familiar nos municípios mineiros de Esmeraldas, Pedro Leopoldo e Funilândia, além do paiol Balaio de Milho localizado na Embrapa Milho e Sorgo em Sete Lagoas-MG. A coleta ocorreu em 2009 nos meses de junho (T1), agosto (T2), outubro (T3) e dezembro (T4), seguindo metodologia abaixo descrita.

As amostras foram retiradas ao acaso, até a quantidade de um saco de espigas (aproximadamente 150) no centro e nos quatro cantos do paiol e procedeu-se a separação e a contagem das espigas mal e bem-empalhadas em local limpo: (1) Espigas bem-empalhadas (BE) foram consideradas aquelas cujas palhas protegiam muito bem os grãos, estendendo-se de 2 a 3 cm além da ponta do sabugo; (2) Espigas mal-empalhadas (ME) foram consideradas aquelas cujas palhas não cobriam totalmente a ponta do sabugo, expondo-se os grãos. Nessa categoria incluíram-se também as espigas já despalhadas. Após a contagem, fez-se o cálculo da percentagem de espigas mal e bem-empalhadas. Em seguida, retirou-se, ao acaso, 10 espigas de cada tipo (BE e ME), debulhou-se e acondicionou-se, separadamente, os grãos de cada categoria de espigas em sacolas plásticas.



Com a finalidade de compor uma amostra representativa do paiol, seguiu-se a proporção (%) das espigas BE e ME do saco de espigas coletado no paiol e o peso dos grãos das 10 espigas de cada tipo (BE e ME) encontrado no mesmo. Para se calcular a quantidade proporcional de amostras mal-empalhadas que deveriam ser misturadas às bem-empalhadas utilizou-se a equação abaixo:

$$PPME(g) = \frac{PmME \times \%ME}{(PmME \times \%ME) + (PmBE \times \%BE)} \times 1000$$

$$PPBE(g) = 1000 - PPME$$

Onde: PPME = peso (g) proporcional de grãos originários de espigas mal-empalhadas (ME) a misturar na composição de uma amostra de 1000 g; % ME = percentagem de espigas mal-empalhadas do saco de espigas coletado no paiol; PmME e PmBE = peso médio dos grãos das 10 espigas ME e BE, respectivamente; PPBE = peso (g) proporcional de grãos originários de espigas bem-empalhadas (BE) a misturar na composição de uma amostra de 1000g. Após a homogeneização da amostra de 1000 g, retirou-se 3 subamostras de 100 gramas que foram usadas para a análise de zearalenona.

Com a finalidade de homogeneizar o teor de água das amostras, os grãos foram previamente secos em estufa a 65°C por 96 horas. Em seguida, foram moídos em moinho marca Trapp - modelo TRF 90 e armazenados a -18 °C até o dia da análise.

O teor de zearalenona foi determinado em fluorímetro marca VICAN, de acordo com os procedimentos descritos nos manuais VICAN, utilizando colunas de imunoafinidade Zearala Test para purificação da amostra.

Os resultados foram avaliados por análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Os resultados da análise de variância (ANOVA) e do teor de zearalenona em milho em função do local (propriedades familiares) e da época de coleta das amostras encontram-se nas Tabelas 2 e 3, respectivamente. Observa-se que houve interação significativa entre os locais e época de coleta ao nível de 5% de probabilidade. Assim, as médias dos dados foram comparadas por meio das interações coleta x local e local x coleta.



Tabela 2 – ANOVA do teor de zearalenona em milho em função do local (propriedades familiares) e da época de coleta das amostras

Fontes de Variação	GL	Soma de Quadrado	Quadrado Médio	F	Significância
Total	79	43814,10			
Total de Redução	39	33641,70	862,6077	3,39	0,0001
Coleta	3	2611,164	870,3882	3,42	0,0261*
Local	9	6053,397	672,5997	2,64	0,0166*
Coleta x Local	27	24977,14	925,0792	3,64	0,0001*
Resíduo	40	10172,40	254,3100		

* Significativo em nível de 5% de probabilidade.

Tabela 3 – Teor de zearalenona em milho ($\mu\text{g kg}^{-1}$) em dez propriedades familiares da região Central de Minas Gerais em quatro épocas de coleta de amostras

Propriedade	Zearalenona Totais ($\mu\text{g kg}^{-1}$)							
	Mês de coleta							
	Junho (1)		Agosto (2)		Outubro (3)		Dezembro (4)	
1	35,0	AB ab	68,0	A a	9,50	B b	23,15	B a
2	26,5	A ab	33,0	A ab	34,0	A b	7,50	A a
3	33,5	A ab	9,50	A b	9,10	A b	11,5	A a
4	50,5	A ab	6,50	B b	2,75	B b	4,05	B a
5	42,5	A ab	15,5	A ab	14,50	A b	27,5	A a
6	24,5	B ab	16,0	B ab	99,0	A a	8,00	B a
7	55,5	A ab	10,5	BC b	0,0	C b	43,0	AB a
8	14,5	A ab	18,1	A ab	1,80	A b	34,0	A a
9	35,0	A ab	nd	A b	5,00	A b	32,0	A a
10	2,15	A b	9,00	A b	2,80	A b	13,0	A a

Valores seguidos de mesma letra maiúscula na linha ou minúscula na coluna não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

nd = Não detectado

Foi detectada presença da micotoxina zearalenona em 38 das 40 amostras analisadas, com teores variando entre 1,8 e 99 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Não houve diferença nos teores de Zea nas amostras coletadas nas propriedades 2, 3, 5, 8, 9, e 10. Porém, em 1, 4, 6 e 7, houve grande variação nestes níveis durante o período de armazenamento (Tabela 5). Assim, na 1ª coleta houve diferença significativa nos níveis de Zea apenas para a amostra do produtor 7. Na coleta 2 o milho coletado da propriedade 1 apresentou maior teor dessa micotoxina que as amostras dos locais 3, 4, 7, 9 e 10. Na coleta 3, a amostra do produtor 6 mostrou-se estatisticamente mais contaminada com zearalenona que aquelas coletadas nas demais propriedades. Porém, na coleta 4 não houve diferença significativa entre as amostras provenientes dos 10 diferentes locais. O fato de o teor dessa micotoxina ter sofrido grande



variação de uma coleta para outra, com redução desses níveis durante o armazenamento em alguns casos, pode ter sido ocasionado pela maior dificuldade na coleta homogênea das amostras na forma de espigas empalhadas. É possível que algumas espigas coletadas ao acaso estivessem contaminadas e outras não.

A presença de zearalenona na maioria das amostras é bastante preocupante, pois apesar dos níveis dessa micotoxina estarem abaixo do limite de $200 \mu\text{g kg}^{-1}$, aceitável pela União Europeia (REGULAMENTO..., 2005), para algumas raças e idade dos animais os níveis detectados já são considerados elevados. O LAMIC, laboratório referência em análise de micotoxinas no país, baseado em experimentos realizados, recomenda níveis máximos de zearalenona, dependendo da idade dos animais, entre 10 e $50 \mu\text{g kg}^{-1}$ para frangos e de 0 a $5 \mu\text{g kg}^{-1}$ para suínos (LAMIC, 2010).

Kawashima e Soares (2006) avaliaram a presença de fumonisina B1, aflatoxinas B1, B2, G1 e G2, ocratoxina A e zearalenona em 74 amostras de produtos à base de milho adquiridas no comércio da cidade de Recife, PE, durante o período de 1999 a 2001. Estes autores não detectaram presença de zearalenona em nenhuma das amostras analisadas, diferente dos resultados encontrados no presente trabalho. No entanto, as amostras analisadas pelos autores supracitados eram provenientes de produtos submetidos a algum tipo de processamento (fubá, flocos de milho, farinha de milho, xerém e milho p/ canjica), podendo ser esta a causa das diferenças entre os valores encontrados entre os dois trabalhos.

Conclusão

Foram observados, na maioria das amostras de milho analisadas, teores de zearalenona acima dos limites máximos aceitos para utilização na alimentação de frangos e suínos. Portanto, como os produtores familiares utilizam o milho armazenado em seus paióis, principalmente para alimentação desses animais de pequeno porte e para consumo próprio, nota-se necessidade de intervenção nas práticas agrícolas e de armazenamento desse produto a fim de minimizar as perdas provenientes do consumo pelos animais, de milho contaminado, bem como melhorar a segurança alimentar dessas famílias e dos demais consumidores desses grãos.

Agradecimentos

À Embrapa pela oportunidade de estágio, à Fapemig e ao CNPq pela concessão das bolsas de iniciação científica, à Emater-MG pelo apoio técnico e aos produtores familiares da região Central de Minas Gerais pelo apoio e amostras cedidas.

Referências

HAUSCHILD, L.; LOVATTO, P. A.; LEHNEN, C. R.; CARVALHO, A. D'A.; GARCIA, G. G.; MALLMANN, C. A. Digestibilidade e metabolismo de dietas de suínos contendo zearalenona com adição de organoaluminossilicato. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 2, p. 219-224, 2007.

IBGE. **Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA**: tabela 839 - Área plantada, área colhida, quantidade produzida e rendimento médio de milho, 1ª e 2ª safras: ano 2008.



Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?z=t&c=839>>. Acesso em: 7 jun. 2010.

KAWASHIMA, L. M.; SOARES, L. M. S. Incidência de fumonisina B₁, aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂, ocratoxina A e zearalenona em produtos de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n.3, p. 516-521, 2006.

LAMIC - Laboratório de Análises Micotoxicológicas. **Legislação sobre micotoxinas**. Disponível em: <<http://www.lamic.ufsm.br/legislacao.html>>. Acesso em: 31 maio 2010.

REGULAMENTO da Comunidade Européia (CE) Nº 856/2005 do Comitê Científico de Alimentação Humana de 6 de Junho de 2005, que altera o Regulamento (CE) n.o 466/2001, no que diz respeito às toxinas de *Fusarium*. Disponível em: <http://www.lamic.ufsm.br/info_niveis_fusariotoxinas_comunidade_europeia.pdf>. Acesso em: 31 maio 2010.

SANTOS, J. P. Controle de pragas durante o armazenamento de milho. In: CRUZ, J. C.; KARAM, D.; MONTEIRO, M. A. R.; MAGALHÃES, P. C. **A cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. p. 257-302.

SANTURIO, J. M. Micotoxinas e micotoxicoses nos Suínos. **Acta Scientiae Veterinariae**, 35, p. S1-S8, 2007. Suplemento.

TANAKA, M. A. S.; MAEDA, J. A.; PLAZAS, I. H. A. Z. Microflora fúngica de sementes de milho em ambientes de armazenamento. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 3, p. 501-508, 2001.

TANAKA, M. A. S. Sobrevivência de *Fusarium moniliforme* em sementes de milho mantidas em duas condições de armazenamento. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n.1, p. 60-64, 2001.

