

# POTENCIAL DO ÓLEO DE ANDIROBA (*Carapa guianensis* Aubl.) COMO MÉTODO BRANDO DE CONTROLE FÚNGICO EM GRÃOS DE MILHO (*Zea mays* L.)

<sup>1</sup>Bruna A. da Silva; Carlos E. Soares; Clarissa de Aquino; Cristina L. Runtzel; Joyce Pereira Marques; Vildes Maria Scussel<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Rod. Admar Gonzaga, 1346, Itacorubi, Santa Catarina, Brasil. 88034-000. E-mail: brunasilva\_94@hotmail.com

## Resumo

A alimentação (humana e animal) tem o milho (*Zea mays* L.) e seus derivados como fonte de carboidratos. É um dos grãos mais cultivados no Brasil e representa uma fatia significativa do Produto Interno Bruto (PIB) nacional. Os grãos de milho têm a sua qualidade alterada direta ou indiretamente quando infectados por fungos, que podem produzir micotoxinas, gerando danos à saúde humana e animal em razão da sua atividade tóxica. Na região Amazônica, a biodiversidade da flora viabiliza a produção e utilização de óleos essenciais e extratos conhecidos popularmente, no tratamento de doenças (inclusive infecções fúngicas) e se destaca o óleo de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.). Nesta pesquisa foram utilizadas cepas isoladas de grãos de milho (naturalmente contaminados) e expostas ao óleo de andiroba em diferentes porcentagens (1-5%) com o objetivo de avaliar a ação antifúngica. O efeito antifúngico do óleo de andiroba foi mais eficaz em colônias de *Aspergillus* sp. Já as cepas dos gêneros *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp. apresentaram resultados inconsistentes frente ao agente descontaminante, portanto, é necessário maior aprofundamento nessa investigação.

**Palavras-chave:** andiroba, milho, segurança alimentar, fungos, região Amazônica

## Introdução

O milho (*Zea mays* L.) e seus derivados são fontes de carboidratos muito utilizadas na alimentação humana e de diversas espécies de animais. Representa uma fatia significativa do PIB (produto interno bruto) nacional (SILVA, 2016). Além de energético, é fonte de vitaminas A e do complexo B, amido, carboidratos, proteínas, gorduras, minerais (ferro, fósforo e cálcio) e seu pericarpo é rico em fibras (PAES, 2006). A importância socioeconômica do milho como alimento essencial da dieta, é evidenciada pela diversidade de produtos alimentícios. Esse cereal se destaca pela sua maior versatilidade aplicativa em relação a outros cereais, desde a planta, como forrageira (destinada a ração animal), bem como alimentos e base para bebidas fermentadas para humanos (DOWSWELL et al., 1996). Essa versatilidade no uso, também se traduz em substrato adequado a microrganismos indesejáveis (fungos da microbiota de cereal) capazes de produzir metabólitos secundários tóxicos (FIGUEIRA et al., 2000).

Os fungos que invadem grãos são geralmente divididos em dois grupos: de campo e de armazenagem (MARCIA, 1998). Os principais gêneros de fungos de campo são *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Alternaria* e *Cladosporium* que invadem grãos durante o amadurecimento, onde o dano é observado antes da colheita (SCUSSEL et al., 2018). Já os fungos de armazenagem, como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* e *Mucor*, são encontrados em silos, moinhos, equipamentos e lugares onde são manuseados os grãos (MARCIA, 1998). É de grande importância, o estudo de métodos alternativos eficientes para o controle desses fungos, uma vez que esses micro-organismos acarretam um significativo prejuízo para a agricultura. Diversas alternativas têm sido estudadas, dando destaque para os métodos brandos de descontaminação, devido ao interesse mundial de utilizar produtos menos agressivos ao ambiente e que sejam mais saudáveis (CHRIST, 2016). Inúmeras pesquisas estão sendo realizadas no sentido de tentar estabelecer produtos naturais capazes de inibir o crescimento de fungos. Dentre estes produtos há um grande interesse na utilização de óleos essenciais extraídos de vegetais, principalmente da Amazônia. Principalmente, por serem produtos cuja matéria

prima é facilmente encontrada na natureza, já conhecidos (sabedoria popular) e por eles se mostrarem eficientes no controle de micro-organismos (LIMA et al., 2009).

O óleo de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) é um dos óleos medicinais mais conhecidos na Amazônia, fonte rica de ácidos graxos essenciais (oleico, palmítico, místico e ácidos de linoleico) e componentes não graxos (triterpenos, taninos e alcalóides - andirobina/ carapina) (SOUZA et al., 2006). Foi constatadas propriedades anti-parasíticas e anti-malarias desse óleo, devido à presença de gedunina, uma meliacina (MACKINNON et al., 1997). Propriedades anti-inflamatórias, cicatrizantes e insetífugas/repelente, as quais são conhecidas e atribuídas ao óleo de andiroba devido à presença de limonoides, especificamente andirobina (ROY, 2006). Porém, ainda é pouco estudado cientificamente quanto a sua utilização em alimentos.

Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo, avaliar o possível efeito antifúngico do óleo de andiroba no crescimento/desenvolvimento de fungos de diferentes gêneros toxigênicos que infectam grãos de milho e suas diferentes suscetibilidades.

## Material e Métodos

As análises micológicas foram realizadas no Laboratório de Micologia do Departamento de Ciência dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Catarina. Os grãos de milho (contaminados naturalmente) foram gentilmente cedidos pela Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina (CIDASC) e o óleo de andiroba foi obtido na cidade de Belém, no estado do Pará (Figura 1.b). As amostras de milho foram separadas para o estudo e denominados Grupo 1 (G1), Grupo 2 (G2), Grupo 3 (G3) onde se deu início as análises. Foi avaliada a carga fúngica através do método de contagem total por grama de alimento (UFC g<sup>-1</sup>), tanto para (a) a amostra de grãos de milho como (b) de óleo de andiroba, realizada segundo metodologia de SILVA et al. (2013)/APHA (2015). Foram selecionadas para enumeração as placas que continham entre 15 a 150 UFC e realizada contagem das colônias. Em seguida, as colônias foram isoladas por repicagens sucessivas ( $n=3$ ) para posterior identificação e transferência para placas de Petri contendo o antifúngico- óleo de andiroba. A identificação microscópica e características macro e microscópicas, as identificações dos gêneros fúngicos foram realizadas de acordo com as chaves de identificação de RAPER; FENNEL (1965) e PITT (1979). A transferência para placas de Petri contendo o antifúngico - óleo de andiroba foi realizada através da retirada de um disco de 7 mm de cada colônia, repassando asépticamente para meio de cultura PDA (20 mL) contendo de óleo de andiroba (1, 2, 3 e 5%), e incubado a 25° C ( $n=3$ ). A evolução do diâmetro das colônias *versus* sua exposição ao agente antifúngico foi acompanhada durante o período com auxílio de paquímetro.

**Figura 1.** Andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) (a) sementes e (b) óleo (RIBEIRO et al, 2018).



## Resultados e Discussão

### Fungos isolados de grãos de milho

**Carga fúngica** - como esperado, a contagem das unidades formadoras de colônias no Grupo Controle (sem adição de antifúngico), de grãos de milho utilizados no presente estudo foi elevada (Tabela 1). Embora legislação nacional quanto aos parâmetros relativos à contagem padrão em placa, não estabeleça limite máximo para fungos em cereais, sua presença no milho (especialmente fungos toxigênicos) é indicativo de deterioração e possível contaminação por micotoxinas (VALMORBIDA et al., 2018). Foi observado já no início do período de incubação que as colônias das amostras de milho G1 e G2, (diluições 10<sup>-1</sup> e 10<sup>-2</sup>), não puderam ser contadas, devido à alta carga contaminante presente. Diferente da amostra G3 a qual apresentou contaminação significativamente menor desde o

início da incubação. Como outros cereais, o milho é exposto à contaminação por esporos de fungos e inicia sua proliferação no campo, durante o desenvolvimento da planta. A contaminação pode ocorrer devido à presença de fragmentos de micélio e esporos no solo, restos de plantas e sementes ou podem ser transportados pelo vento, chuva ou insetos (MILLS, 1989). Durante a armazenagem, os grãos devem ser mantidos em condições adequadas para evitar danos e infecção por fungos (LORINI et al., 2010). Contudo, quando essas condições não podem ser aplicadas/controladas, há a possibilidade de utilização/aplicação de métodos de descontaminação/inativação dos fungos.

**Tabela 1.** Carga fúngica<sup>a</sup> das amostras de grãos de milho (*Zea mays* L.) e óleo de andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.)<sup>b</sup>

| Amostra                             | Carga fúngica (UFC/g) / diluição |                       |                       |
|-------------------------------------|----------------------------------|-----------------------|-----------------------|
|                                     | 10 <sup>-1</sup>                 | 10 <sup>-2</sup>      | 10 <sup>-3</sup>      |
| <b>Milho</b>                        |                                  |                       |                       |
| G1                                  | Incontável                       | Incontável            | 0,4 x 10 <sup>4</sup> |
| G2                                  | I                                | 9,4 x 10 <sup>3</sup> | 0,3 x 10 <sup>4</sup> |
| G3                                  | 4,3 x 10 <sup>2</sup>            | 1,0 x 10 <sup>3</sup> | 0,2 x 10 <sup>4</sup> |
| <b>Óleo de andiroba<sup>b</sup></b> |                                  |                       |                       |

<sup>a</sup>média de 3 replicatas<sup>b</sup> agente descontaminante<sup>c</sup> não houve crescimento

**Gêneros contaminantes:** no que tange aos gêneros fúngicos isolados dos grãos de milho em estudo, foram identificados *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.* e *Mucor spp.* (Figura 2), sendo os 3 primeiros selecionados para avaliação da susceptibilidade frente ao agente antifúngico - por serem gêneros possíveis produtores de toxinas (fumonisinas/ deoxinivalenol, aflatoxinas - AFLs/ocratoxina A – OTA e citrinina - CTR, respectivamente). Embora o milho seja infectado por diversos gêneros fúngicos, os gêneros *Fusarium* (fungo de campo) e *Aspergillus/Penicillium* (fungos de armazenagem) são os mais frequentemente isolados tanto em grãos de milho quanto em seus derivados (FARIAS et al., 2000). Espécies de *Aspergillus* são consideradas iniciadoras de deterioração de grãos durante a armazenagem, podendo crescer com baixo teor de água. Tanto *Aspergillus* quanto *Penicillium*, com umidade relativa mais elevada decorrente da atividade metabólica dos primeiros invasores, podem se desenvolver. Estes fungos são potencialmente micotoxigênicos (AFLs, OTA, CTR) e sua presença em amostras de milho pode ser preocupante (MERONUCK, 1987). Diversos trabalhos relatam o *Fusarium sp.* como o gênero de fungos mais importante no milho e seus derivados (BOTTALICO et al., 1995). O resultado do presente trabalho corrobora com os dados acima reportados. A contaminação das amostras de grãos de milho por *Fusarium sp.* explica-se pelo fato deste fungo infectar extensivamente certas porções desse grão (contato com o embrião e tecidos externos e internos próximos a espiga) (LAZZARI, 1996). Os fungos do gênero *Mucor* estão presentes geralmente no solo, frutas, vegetais, grãos armazenados e são contaminantes comuns de locais onde se processam produtos armazenados, o que também explica a presença deste gênero nas amostras (SINHA, 1991).

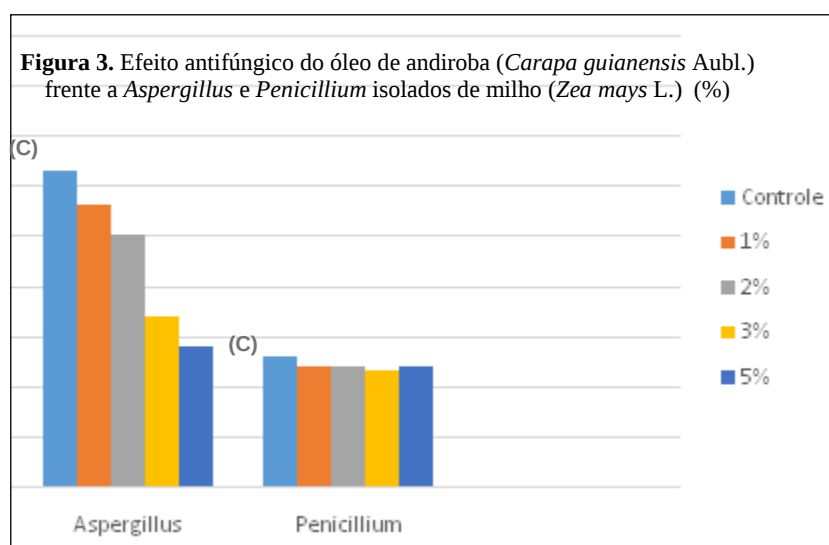
**Figura 2.** Gêneros isolados em grãos de milho (*Zea mays* L.): (a) *Fusarium*, (b) *Penicillium* e (c) *Mucor* e (d) *Aspergillus*.



#### **Efeito antifúngico do óleo de andiroba**

Quando esses fungos isolados dos grãos de milho foram submetidos ao efeito antifúngico do óleo de andiroba (em diferentes concentrações), o desenvolvimento das colônias de *Fusarium sp.*, *Aspergillus sp.* e *Penicillium sp.* variaram. A Figura 3 apresenta o efeito antifúngico desse óleo no

desenvolvimento das colônias de *Aspergillus sp.* e *Penicillium sp.* isoladas de milho em diferentes concentrações (período de 3 dias). De acordo com os dados obtidos durante o período de incubação, foi observado que as colônias dos gêneros *Penicillium sp.* e *Aspergillus sp.* apresentaram crescimento de forma lenta e em número reduzido variando de 8,0 a 28,0 mm, enfatizando o efeito inibitório. Por outro lado, foi observado que o gênero *Fusarium sp.* apresentou maior resistência frente ao óleo de andiroba (independente da porcentagem presente no meio). Portanto o gênero *Aspergillus sp.* foi o que apresentou maior suscetibilidade seguido do *Penicillium sp.*. Cabe salientar que também possível observar que o óleo de andiroba apresentou maior capacidade de inibição no que tange ao aparecimento/dispersão (de conídios) formando novas colônias à medida que sua concentração foi aumentada. Mesmo com 5%, embora viabilizasse o controle das colônias, a capacidade antifúngica do óleo não foi total. Sousa (2012) apresentaram dados utilizando o óleo de andiroba como um agente antifúngico em pimenta. Os autores observaram ação inibitória no crescimento de fungo deteriorante (*Colletotrichum gloeosporioides*).



## Conclusões

Dentre as amostras de grãos de milho testadas, todas apresentaram contaminação por fungos dos gêneros *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Fusarium sp.* e *Mucor sp.*, sendo os mais frequentes os gêneros *Fusarium sp.* e *Aspergillus sp.*. O efeito antifúngico do óleo de andiroba foi mais eficaz em colônias de *Aspergillus sp.*, seguido pelo gênero *Penicillium sp.*. Devido ao fato do *Fusarium sp.* ter apresentado resultados inconsistentes, há necessidade de avaliar mais profundamente as características desse fungo de campo e sua resistência ao óleo. Novos estudos são necessários com relação ao efeito antifúngico do óleo de andiroba, como um possível descontaminante de forma branda.

## Referências

APHA - American Public Health Association. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 5ª ed. Ed: Salfinger e Tortorello. APHA press: 2015.

BOTTALICO, A. LOGRIECO, A., RITIENI, A., MORETTI, A., RANDAZZO, G., CORDA. Beauvericin and fumonisin B1 in preharvest *Fusarium moniliforme* maize ear rot in Sardinia. **Food Additives & Contaminants**, v. 12, n. 4, p. 599-607, 1995.

CHRIST, D.; SAVI, G. D.; SCUSSEL, V. M. Effectiveness of ozone gas in raw and processed food for fungi and mycotoxin decontamination—a review. **Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences**, v. 6, p.326-348, 2016.

DOWSWELL, C. R.; PALIWAL, R. L.; CANTRELL, R. P. **Maize in the third world**. Oxford: Westview Press, 1996.

FIGUEIRA, G.M.; CAVALCANTI, T.B.; SILVA, G.P.; RAMOS, A.E.; SILVA, M.C.; ALVES, R.N.; DIAS, T.A.B. Avaliação de metabólitos secundários em cultivo. **Tópicos Atuais em Botânica**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2000.

LAZZARI, F.A. **Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações**. Ed. LFA, 1996.

LIMA, R. K., CARDOSO, M. G., MORAES, J. C., MELO, B. A., RODRIGUES, V. G., & GUIMARÃES, P. L. Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797)(Lepidoptera: Noctuidae). **Acta amazônica**, v. 39, n. 2, p. 377-382, 2009

LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA-NETO, J.D.B.; HENNING, A.A. Principais pragas e métodos de controle em sementes durante o armazenamento. **Circular Técnica Embrapa**, Londrina, n. 73, p. 1 -10, jan. 2010.

MACKINNON, S.; DURST, T.; ARNASON, J.T.; ANGERHOFER, C.; PEZZUTO, J.; SANCHEZ-VINDAS, P.E., GBEASSOR, M. Anti-malarial activity of tropical Meliaceae extracts and gedunin derivatives. **Journal of Natural Products**, v. 60, n. 4, p. 336-341, 1997.

MÁRCIA, B. A.; LAZZARI, F. A. Monitoramento de fungos em milho em grão, grits e fubá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n.4, p. 363-367, 1998.

MERONUCK, R. The significance of fungi. **Plant Diseases**, v. 71, p. 287, 1987.

MILLS, J.T. Ecology of mycotoxigenic *Fusarium* Species on cereal seeds. **Journal of Food Protection**, v. 52, n. 10, p. 737-742, 1989.

PAES, M.C.D. **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho**. Sete Lagoas, MG, 2006.

RAPER, K.B.; FENNELL, D.I. **The genus *Aspergillus***. Baltimore: The Williams e Wilkins Company, 686p., 1965.

ROY, A.; SARAF, S. Limonoids: overview of significant bioactive triterpenes distributed in plants kingdom. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 29, n. 2, p. 191-201, 2006.

SCUSSEL, V. M. Fungos em grãos armazenados In LORINI, I.; MIIKE, L.H.; SCUSSEL, V.M. (Eds.), **Armazenagem de grãos**. Biogeneziz: Campinas, p. 675–691, 2002.

SILVA, B.A. **Características e segurança de pamonhas tipo doce *in natura* e congelada quanto à contaminação por fumonisinas**. 2016. Monografia (Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

SINHA, K.K.; SINHA, A.K. Effect of *Sitophilus oryzae* infestation on *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination in stored wheat. **Journal of Stored Products Research**, v.27, n.1, p.65-68, 1991.

SOUSA, R.M.S.; SERRA, I.M.R.S.; MELO, T.A. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 1, p.42-47, 2012.

SOUZA, C.R.; de AZEVEDO, C.P.; ROSSI, L. Andiroba (*Carapa guianenses* Aubl.). **Embrapa Amazônia Ocidental-Documentos (INFOTECA-E)**, 2006.

VALMORBIDA, R.; SAVI, G.D.; SILVA, J.R.; YANEZ, M.M.; SOARES, C.E.; RUNTZEL, C.; SCUSSEL, V.M. Quality and safety of maize (*Zea mays* L.) from Rondônia state storage units, Northern Brazil. **Food Additives & Contaminants: Part B**, v. 11, n. 1, p. 54-63, 2018.