

Comparação de metodologias para detecção de fungos em arroz irradiado

Comparison of methodologies for detecting fungi in gamma-ray irradiated rice

RIALA6/1277

Ívina Catarina de Oliveira GUIMARÃES^{1*}, Joelma PEREIRA², Vanda Maria de Oliveira CORNÉLIO³, Luís Roberto BATISTA⁴, Roseane Maria EVANGELISTA¹, Eric Batista FERREIRA⁵

*Endereço para correspondência: ¹Departamento de Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras - MG, Brasil, (35) 99216671, e-mail: ivinacath@yahoo.com.br; rmeevangelista@hotmail.com

²Laboratório de Grãos e Cereais, Departamento de Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras - MG, Brasil

³Centro Tecnológico do Sul de Minas – CTSM, Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG, Campus UFLA, Lavras - MG, Brasil

⁴Laboratório de Microbiologia, Departamento de Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras - MG, Brasil

⁵Departamento de Ciência Exatas, Universidade Federal de Alfenas - EFOA, Alfenas, MG, Brasil

Recebido: 16.11.2009 – Aceito para publicação: 14.06.2010

RESUMO

O monitoramento da contaminação fúngica do arroz é imprescindível para assegurar a qualidade e segurança desse cereal. Atualmente, para avaliar a qualidade microbiológica dos alimentos, diferentes métodos têm sido propostos. Duas diferentes metodologias, plaqueamento direto e *blotter test*, foram comparadas quanto à eficiência em efetuar a detecção de fungos em arroz branco polido irradiado. Para realizar o *blotter test*, foram utilizadas placas de Petri contendo três folhas de papéis de filtro esterilizados, umedecidas em água destilada esterilizada e acrescidas com 5 mL de ágar água 0,5%. Na técnica de plaqueamento direto, os grãos foram plaqueados em meio de cultura DRBC. As amostras foram incubadas a 25°C por sete dias e analisadas em microscópio estereoscópico. Os gêneros fúngicos presentes no arroz irradiado foram *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* e *Trichoderma*, com a predominância de *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp., cujas frequências foram, respectivamente, de 5,2% e 5,6% no plaqueamento direto e de 34,5% e 5,6% no *blotter test*. Observou-se que a irradiação gama diminuiu consideravelmente o número de grãos contaminados, sendo 96,7% pela metodologia de plaqueamento direto e até 100% pelo *blotter test*. O *blotter test* possibilitou efetuar maior contagem dos gêneros fúngicos presentes no arroz, constando-se que o método de detecção escolhido pode interferir na quantificação fúngica presente nesse cereal.

Palavras chaves. detecção de fungos, arroz, *blotter test*, plaqueamento direto, fungos, irradiação de alimentos.

ABSTRACT

Monitoring the fungal contamination of rice is essential for ensuring the product quality and safety. Different methods have been proposed for assessing the microbiological quality of foods. Two methodologies based direct plating and blotter test were compared for detecting fungi in irradiated polished white rice. For performing the blotter test, the Petri dishes containing three sterile filter paper sheets were moistened with sterile distilled water, and 5 mL of 0.5% water-agar were added onto them. For carrying out the direct plating technique, the rice samples were plated onto DRBC medium. The samples were incubated at 25°C for seven days, and analyzed under a stereomicroscope. The fungi genera found in irradiated rice were: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* and *Trichoderma*, being *Penicillium* sp. and *Aspergillus* sp. the mostly predominant, with the prevalence of 5.2% and 5.6% by direct plating and 34.5% and 5.6% by blotter test, respectively. The gamma-ray irradiation significantly decreased the proportions of contaminated grains, being 96.7% by means of direct plating technique and 100% by blotter test. The blotter test showed highest efficiency in fungal genera counting found in rice samples, which evidences that the chosen detection methodology may interfere on quantifying the fungi contaminants in cereals.

Key words. detection of fungi, rice, blotter test, direct plating, fungi, food irradiation.

INTRODUÇÃO

Os fungos estão amplamente distribuídos na natureza e são contaminantes comuns de alimentos, grãos e rações, que, por apresentarem nutrientes como carboidratos, proteínas e lipídeos, constituem um substrato adequado para o desenvolvimento de micro-organismos¹. Determinados fungos contaminantes de produtos agrícolas produzem metabólitos secundários tóxicos denominados micotoxinas, que se ingeridas, podem repercutir em sérios efeitos deletérios à saúde humana, incluindo atividade mutagênica, carcinogênica e teratogênica, além do impacto econômico e social, devido a perdas de vidas humana e animal, despesas com tratamentos médicos e veterinários, perdas na produtividade, e redução da disponibilidade de alimentos^{2,3}.

Os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* são os mais frequentemente associados com micotoxinas que ocorrem naturalmente em cereais, grãos e sementes em níveis que tornam os alimentos impróprios para consumo⁴. De acordo com Santos et al⁵, os países de origem asiática não só consomem o arroz diariamente como dão ênfase ao problema da contaminação fúngica e por micotoxinas neste cereal.

Desta maneira, a caracterização e identificação de fungos contaminantes de alimentos são essenciais para o controle da contaminação por estes micro-organismos e a possível produção de micotoxinas⁶.

A detecção de fungos em alimentos pode ser realizada, de maneira geral, para detecção de todos os fungos presentes, um fungo específico ou um grupo de fungos relacionados⁷.

A quantificação de fungos filamentosos em alimentos geralmente envolve a inoculação da amostra em meios de cultivo sólidos, através de plaqueamento em superfície ou em profundidade⁸. De modo geral, os meios de cultura para avaliação fúngica são altamente seletivos, suprimindo contaminações bacterianas⁹ e limitando o crescimento e disseminação das colônias fúngicas¹⁰. Infelizmente não se dispõe de um único meio que seja satisfatório para detecção ou quantificação de leveduras e fungos filamentosos em todos os tipos de alimentos.

Os meios suplementados com antibióticos e tinturas, como o ágar dicloram rosa de bengala e cloranfenicol¹¹, surgiram como alternativa aos meios acidificados por serem menos inibitórios a células injuriadas, mais efetivos na inibição do desenvolvimento bacteriano e produzirem menor precipitação de partículas de alimento, devido ao pH mais elevado (5-6)¹². Rotineiramente o dicloram e o corante rosa de bengala têm sido aplicados no controle da velocidade

de disseminação de espécies fúngicas, restringindo, principalmente, os zigomicetos de rápido crescimento¹¹.

Dentre as metodologias de testes de sanidade para a detecção de fungos em sementes, os testes com incubação sob condições controladas tem o objetivo de facilitar o crescimento e esporulação dos fungos, o que permite uma identificação rápida e segura do micro-organismo envolvido. Os métodos desenvolvidos nos últimos anos incluem técnicas que variam em grau de complexidade. Dentre os métodos considerados simples cita-se o *Blotter Test*¹³ com suas variações na metodologia. Atualmente, este método é de uso rotineiro em laboratórios de análise por preencher os requisitos de rapidez, simplicidade, baixo custo e permitir o levantamento da microflora associada a diversos tipos de sementes e quantificação do inóculo^{14,15}. Apesar das características favoráveis à sua utilização, não há dados na literatura que reportem sua utilização em análise da sanidade de alimentos.

Embora o plaqueamento direto seja considerado, por Pitt e Hocking¹⁶, a metodologia mais adequada para o isolamento de fungos nos alimentos, uma vez que utiliza meio de cultura padronizado, possibilitando condições mais estáveis para o crescimento e o desenvolvimento fúngico, o *Blotter Test*¹³ é muito utilizado para testes de sanidade em semente, justamente por possibilitar maior contagem fúngica e variedade de espécies, levantando questionamentos sobre o método mais adequado a ser utilizado para este fim.

Assim sendo, o presente trabalho teve por objetivo avaliar dois diferentes métodos usados em laboratório, com a finalidade de selecionar o mais sensível na detecção de fungos em arroz exposto a diferentes doses de irradiação gama.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização do experimento

Foram selecionadas, para serem submetidas à irradiação, seis amostras comerciais de arroz branco polido, longo fino, tipo 1, que se apresentavam em perfeito estado de integridade física, dentro dos prazos de validade e oriundas de distintas empresas de beneficiamento. Das seis amostras de arroz, três estavam contidas em embalagens de 5kg (adquiriu-se um pacote por amostra), e as outras três, contidas em embalagens de 2kg (adquiriu-se dois pacotes por amostra).

Processo de irradiação

Preparo das amostras

Cada amostra de arroz branco polido foi homogeneizada dentro da própria embalagem e, logo

em seguida, subdividida em cinco subamostras de 500g: uma delas foi reservada como amostra controle (0kGy) e cada uma das outras quatro subamostras foi destinada às respectivas doses de irradiação sob investigação (2,5kGy, 5,0 kGy, 7,5 kGy e 10 kGy). Para conferir condições mais uniformes durante o tratamento, todas as amostras foram acondicionadas em embalagens plásticas de polietileno, devidamente lacradas e identificadas. Todo o procedimento foi executado em capela de fluxo laminar.

Procedimento de irradiação e acondicionamento das amostras

As amostras de arroz branco polido foram irradiadas em irradiador Gammacell panorâmico GB-127, IR-214 (MDS Nordion, Canadá), com fonte de cobalto⁶⁰ (Co⁶⁰) armazenada a seco, localizado no Laboratório de Irradiação Gama (LIG) do Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear. As amostras foram dispostas em mesa giratória localizada ao redor da fonte de Co⁶⁰, com distância à fonte mediante às doses empregadas de 2,5kGy, 5kGy, 7,5kGy e 10,0kGy, proporcionando a irradiação simultânea de todas as amostras, com tempo de exposição de 25 min, 50 min, 75 min e 100 min, respectivamente a cada dose. Para a otimização do processo, utilizou-se a taxa de dose 6,0 kGy/hora. O tempo de exposição (dose/distância) para se obter cada uma das doses médias absorvidas foi calculado levando-se em consideração a fonte, sendo todo o controle realizado automaticamente pelo próprio irradiador. Foram mantidas condições de temperatura ambiente, $\pm 25^{\circ}\text{C}$, antes, durante e após o processo de irradiação.

Avaliação Micológica

Isolamento e quantificação dos fungos presentes no arroz

Após o processo de irradiação, as amostras de arroz branco polido foram conduzidas ao Laboratório de Patologia de Sementes do Departamento de Fitopatologia e ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos, localizados na Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde se procedeu ao plaqueamento dos grãos e à contagem fúngica, por meio de dois diferentes métodos descritos a seguir.

Blotter Test

Para o isolamento e a contagem fúngica pelo *Blotter Test*¹³, foram analisados, sem desinfecção, 200

grãos de arroz branco polido por amostra, em duas repetições com 100 grãos cada (50 grãos/placa de Petri), conforme Samson et al¹⁷.

O plaqueamento foi realizado em placas de Petri de 15 cm de diâmetro, contendo três papéis de filtro previamente esterilizados, umedecidos em água destilada esterilizada e acrescidos com 5 mL de ágar água 0,5%. Logo após este procedimento, as amostras foram conduzidas para a câmara de incubação a 25°C, onde permaneceram de cinco a sete dias. Após o período de incubação, cada placa foi colocada debaixo do microscópio estereoscópico para contagem e identificação macroscópica dos gêneros fúngicos presentes nos grãos. Os resultados foram expressos em percentagem de grãos contaminados.

Plaqueamento direto

Para o isolamento e a contagem dos fungos por meio do plaqueamento direto¹⁸, foram utilizados 100 grãos de arroz branco polido por amostra¹⁷, plaqueados em placas de Petri (50 grãos/placa de Petri) contendo o meio de cultura DRBC (ágar dicloran rosa de bengala cloranfenicol). Logo após esse procedimento, as amostras foram incubadas a 25°C, permanecendo de cinco a sete dias. Após o período de incubação, cada placa foi colocada debaixo do microscópio estereoscópico para contagem e identificação macroscópica dos gêneros fúngicos presentes nos grãos. Os resultados foram expressos em percentagem de grãos contaminados.

Delineamento experimental e análise dos resultados

O delineamento experimental utilizado nesta pesquisa ocorreu em blocos casualizados (DBC), sendo: tratamentos = doses de irradiação investigadas (0kGy, 2,5kGy, 5,0kGy, 7,5 kGy e 10 kGy); blocos = as seis diferentes amostras de arroz branco polido; e variáveis respostas, a incidência de fungos.

Para a análise dos resultados, considerou-se a percentagem média de fungos presentes nos grãos de arroz branco polido, para cada dose de irradiação gama (Co⁶⁰) investigada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A percentagem média (%) de gêneros fúngicos presentes nos grãos de arroz branco polido, de acordo com dois métodos de detecção utilizados na pesquisa, é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Percentagem média (%) de gêneros fúngicos presentes nos grãos de arroz branco polido (seis amostras), determinados pelo método do plaqueamento direto e *Blotter Test*

Método	Amostras*	Percentagem média (%) de gêneros fúngicos				
		<i>Fusarium</i> sp	<i>Trichoderma</i> sp	<i>Aspergillus</i> sp	<i>Penicillium</i> sp	<i>Cladosporium</i> sp
1	1	4,5	0,0	1,5	10,0	0,5
1	2	1,0	2,0	6,0	2,5	0,0
1	3	0,5	0,0	15,0	10,0	0,0
1	4	1,0	2,5	2,0	4,0	0,0
1	5	2,0	0,0	4,0	4,5	0,0
1	6	0,0	3,0	5,0	0,0	0,0
Média	-	1,5	1,2	5,6	5,2	0,1
2	1	4,5	0,0	11,0	90,0	4,0
2	2	1,0	1,5	17,0	13,0	4,0
2	3	0,5	0,0	18,0	10,0	3,0
2	4	2,0	2,5	5,0	34,0	2,0
2	5	2,0	0,0	4,0	52,0	1,0
2	6	2,0	0,0	24,0	8,0	1,0
Média	-	2,0	0,67	13,2	34,5	2,5

*1 - Plaqueamento direto (média de 100 grãos); 2 - *Blotter Test* (média de 200 grãos)

Os gêneros fúngicos presentes nas amostras de arroz sob investigação foram: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* e *Trichoderma*. Contudo, o *Penicillium* sp. e o *Aspergillus* sp. foram os gêneros predominantes nas amostras de arroz branco polido, com incidência de 5,2% e 5,6% no plaqueamento direto e 34,5% e 5,6% no *Blotter Test*, respectivamente. A presença dominante desses gêneros no arroz também foi observada por Tonon et al¹⁸, Lima et al¹⁹, Nunes²⁰, Hoeltz²¹ e Carvalho²².

Comparativamente às metodologias utilizadas, o *Blotter Test* possibilitou maior contagem dos gêneros fúngicos presentes no arroz branco polido. Este fato pode estar relacionado com a utilização de papéis de filtro embebidos com água no *Blotter Test*, o que poderia ter possibilitado maior disponibilidade de água livre, fator favorável para o crescimento e o desenvolvimento fúngico. Outra hipótese seria o fato de o escasso conteúdo de substrato do meio de cultura utilizado ter ocasionado um estresse por falta de nutrientes, induzindo um aumento da reprodução de fungos mais resistentes em prol da sobrevivência da espécie. Segundo Castelvechchi²³ os fungos crescem e proliferam quando possuem condições favoráveis

ou desfavoráveis, neste último caso, o estresse extenuante permite seleção natural de espécies mais resistentes que não terão competidores e por isso proliferam.

O efeito das doses de irradiação gama no controle fúngico nos grãos de arroz branco polido é referenciado na Tabela 2.

O *Aspergillus* sp., gênero mais incidente nas amostras de arroz branco polido, indiferente do método de detecção, foi substancialmente eliminado ao longo das doses de irradiação gama.

O gênero *Penicillium*, detectado em todas as seis amostras de arroz branco polido analisadas pelo *Blotter Test*, foi completamente eliminado em cinco amostras com 2,5kGy e, em uma delas, com 5kGy. Pelo plaqueamento direto, as seis amostras de arroz contaminadas apresentaram-se livres deste gênero com a dose de 2,5kGy.

A incidência de *Fusarium* spp., detectado em cinco amostras de arroz branco polido por meio do plaqueamento direto, foi nula com a utilização da dose 2,5kGy. Pelo *Blotter Test*, das seis amostras de arroz contaminadas, três apresentaram ausência deste gênero pela exposição a 2,5kGy e as outras três, com a dose 5kGy.

Tabela 2. Percentagem média (%) de gêneros fúngicos presentes nos grãos de arroz branco polido irradiados com 0kGy, 2,5kGy, 5kGy, 7,5kGy e 10kGy, segundo os métodos de detecção *Blotter Test* e plaqueamento direto

Gêneros fúngicos	Amostras (arroz)	Percentagem média (%) de gêneros fúngicos									
		Doses de irradiação (kGy)/método de detecção*									
		0,0		2,5		5,0		7,5		10,0	
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
<i>Aspergillus sp.</i>	1	1,5	11,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Aspergillus sp.</i>	2	6,0	17,0	1,0	0,5	0,0	0,5	1,0	0,5	1,0	0,0
<i>Aspergillus sp.</i>	3	15,0	18,0	0,0	1,0	11,0	0,5	0,0	0,0	3,0	0,0
<i>Aspergillus sp.</i>	4	2,0	5,0	1,0	0,5	0,0	0,5	1,0	0,5	0,0	0,0
<i>Aspergillus sp.</i>	5	4,0	4,0	0,0	3,5	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0
<i>Aspergillus sp.</i>	6	5,0	24,0	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Penicillium sp.</i>	1	10,0	90,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Penicillium sp.</i>	2	2,5	13,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Penicillium sp.</i>	3	10,0	10,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Penicillium sp.</i>	4	4,0	34,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0
<i>Penicillium sp.</i>	5	4,5	52,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Penicillium spp.</i>	6	0,0	8,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Fusarium spp.</i>	1	4,5	4,5	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Fusarium spp.</i>	2	1,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Fusarium sp.</i>	3	0,5	0,5	0,0	0,0	11,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Fusarium sp.</i>	4	1,0	2,0	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Fusarium sp.</i>	5	2,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Fusarium sp.</i>	6	0,0	2,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	1,5	0,0	0,0
<i>Trichoderma sp.</i>	1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Trichoderma sp.</i>	2	2,0	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0	1,0	0,0
<i>Trichoderma sp.</i>	3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0
<i>Trichoderma sp.</i>	4	2,5	2,5	1,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Trichoderma sp.</i>	5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Trichoderma sp.</i>	6	3,0	0,0	1,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0
<i>Cladosporium sp.</i>	1	0,5	4,0	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,5	0,0	0,0
<i>Cladosporium sp.</i>	2	0,0	4,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Cladosporium sp.</i>	3	0,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Cladosporium sp.</i>	4	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Cladosporium sp.</i>	5	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Cladosporium sp.</i>	6	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

*1 - Plaqueamento direto (média de 100 grãos); 2 - *Blotter Test* (média de 200 grãos)

O *Cladosporium* sp., presente em apenas uma amostra de arroz branco polido pelo plaqueamento direto, foi completamente eliminado com a utilização da dose 2,5kGy. No *Blotter Test*, este gênero, detectado nas seis amostras de arroz branco polido, foi eliminado em cinco delas com a utilização de 2,5kGy e em uma, com a exposição a 10kGy.

O gênero *Trichoderma*, presente naturalmente em três amostras de arroz branco polido, segundo o plaqueamento direto, e em uma amostra pelo *Blotter Test*, foi reduzido ou até mesmo completamente eliminado com o emprego de 2,5kGy.

Quanto às doses de irradiação utilizadas na descontaminação dos alimentos, autores sugerem que doses entre 5kGy a 10kGy promovem a completa eliminação de fungos toxigênicos em grãos de café, amendoim e algumas commodities²⁴. Os efeitos nocivos da irradiação sobre os micro-organismos dependem de alguns fatores, tais como a dose total de radiação absorvida, o tamanho e o tipo de micro-organismo envolvido, além do intervalo de tempo de recepção da dose²⁵.

A incidência de fungos, mesmo após exposição a altas doses de irradiação gama, sugere que os mesmos podem apresentar algum mecanismo de resistência a este tratamento ou, até mesmo, colocar em dúvida a vida útil da fonte de Co⁶⁰, taxa de dose utilizada no presente estudo, dentre outras possíveis variáveis desta técnica.

Recentemente, espécies de fungos chamados de radiotróficos foram descobertos vivendo no interior e em torno do reator nuclear de Chernobyl, na Ucrânia, célebre pelo acidente ocorrido na década de 1980. De acordo com Dadachova et al²⁶, a resistência destas espécies à irradiação pode estar relacionada à presença de melanina.

Estudo realizado por Castelvechi²³ mostrou que três fungos melanizados, *Cladosporium sphaerospermum*, *Wangiella dermatitidis* e *Cryptococcus neoformans*, aumentaram sua biomassa e acumularam acetato mais rapidamente quando expostos à irradiação, sugerindo que a irradiação pode alterar as propriedades eletrônicas da melanina, de forma a transformar o pigmento em transdutor de energia utilizada para o crescimento e a sobrevivência das espécies.

Embora a legislação vigente do Ministério da Saúde não estabeleça limites de fungos para o arroz, o gerenciamento desse tipo de contaminação é muito importante. Dessa forma, apesar do *Blotter Test* não ser utilizado em análise de alimentos, ele apresentou maior poder de detecção dos fungos do que o plaqueamento

direto. E isso, do ponto de vista de segurança alimentar, deve ser considerado, uma vez que poderá permear um consumo mais seguro dos alimentos.

CONCLUSÃO

Indiferentemente dos métodos de detecção, os gêneros fúngicos detectados na amostras de arroz branco polido foram de *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* e *Trichoderma*.

A irradiação gama (Co⁶⁰) diminuiu consideravelmente o número de grãos de arroz branco polido contaminados: 96,7%, segundo metodologia do plaqueamento direto e até 100% pelo *Blotter Test*.

O *Blotter Test* possibilitou maior contagem dos gêneros fúngicos presentes no arroz branco polido, constando-se que o método de detecção escolhido pode interferir na quantificação fúngica presente nesse cereal.

Sugere-se em próximos estudos utilizar paralelamente o DG18 (Agar Dicloran 18% Glicerol), recomendado para alimentos com atividade de água menor que 0,95 e comparação dos resultados.

AGRADECIMENTO

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de mestrado.

REFERÊNCIAS

1. Gourama H, Bullerman LB. Detection of molds in food and feeds: potential rapid and selective methods. *J Food Prot*. 1995;58(12):1389-94.
2. Bennet GA, Richard JL. Liquid chromatographic method for analysis of the naphthalene dicarboxialdehyde derivative of fumonisins. *J Assoc Offic Anal Chem*. 1994; 77(2):501-6.
3. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. *Microorganismos de los alimentos*. 2 ed. Zaragoza: Acribia; 2000.
4. American Public Health Association. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 4 ed. Washington: APHA; 2001.
5. Santos AB, Stone LF, Vieira NR. *A cultura do arroz no Brasil*. 2ed. Santo Antonio de Goiás: EMBRAPA Arroz e Feijão; 2006.

6. Meirelles PG, Biazon L, Ono MA, Hirooka EY, Ono EYS. Imunoensaios: uma alternativa para a detecção de fungos toxigênicos em alimentos. *Semina: Ciências Agrárias*. 2006;27(4):617-28.
7. Cousin MA, Dufrenne J, Rombouts FM, Notermans S. Immunological detection of Botrytis and Monascus species in food. *Food Microbiol*. 1990;7:227-35.
8. Beuchat LR. Media for detecting and enumerating yeasts and moulds. *Int J Food Microbiol*. 1992;17:145-58.
9. Skaar I, Stewing H. Malt-Yeast Extract-Sucrose Agar: A suitable medium to enumeration and isolation of fungi from silages. *Appl Environ Microbiol*. 1996;62:3614-9.
10. Bragulat MR, Abarca ML, Castella G, Cabañes FJ. Dyes as fungal inhibitors: effects on colony enumeration. *J Appl Bacteriol*. 1995;79:578-82.
11. King AD, Hocking AD, Pitt JL. Dichloran rose bengal medium for enumeration and isolation of molds from foods. *Appl Environ Microbiol*. 1979;37:959-64.
12. Samson RA, Hoekstra ES, Frisvad JC, Filteborg O. Methods for the detection and isolation of food-borne fungi. In: Samson RA, Hoekstra ES, Frisvad JC, Filteborg O. *Introduction to food-borne fungi*. 5ed. CBS: The Netherlands; 1996.
13. Neergaard P. *Seed pathology*. v.1. London: The Macmillan Press; 1983.
14. Lucca Filho OA. Metodologia dos testes de sanidade de sementes. In: Soave J, Wetzell MMVS. *Patologia de Sementes*. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 276-98.
15. Tanaka MAS. Recentes avanços no desenvolvimento de métodos de detecção de fungos em sementes, no Brasil. *Informativo Abrates*. 2001;11(1):24-31.
16. Pitt JI, Hocking AD. *Fungi and food spoilage*. Weimar: Blackie Academic & Professional; 1999.
17. Samson RA, Hoekstra ES, Frisvad JC, Filteborg O. *Introduction to food and air-borne fungi*. 6ed. Baarn: CBS; 2000.
18. Tonon SA, Marucci RS, Jerke G, Garcia A. Mycoflora of paddy and milled rice produced in the region of Northeastern Argentina and Southern Paraguay. *Int J Food Microbiol*. 1997;37(213):231-5.
19. Lima CAP, Orsi RB, Dilkin P, Corrêa B. Mycoflora and aflatoxigenic in derivatives of milled rice. *Cienc Tecnol Aliment*. 2000;20(1):7-39.
20. Nunes IL. *Micotoxinas, micoflora e seu potencial toxigênico em arroz destinado ao consumo humano*. [dissertação de Mestrado]. Porto Alegre (RS): Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2001. 95pp.
21. Hoeltz M. *Estudo da influência de manejos pós-colheita na incidência de fungos e micotoxinas no arroz (Oryza sativa L.)*. [dissertação de Mestrado]. Porto Alegre (RS): Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2005. 77pp.
22. Carvalho RA. *Incidência de fungos e aflatoxinas em arroz (Oryza sativa L.)* [dissertação de Mestrado]. Lavras (MG): Universidade Federal de Lavras; 2008. 55pp.
23. Castelvechi D. Dark power: pigment seems to put radiation to good use. *Sci News*. 2007;171(21):235.
24. Rodrigues JM, Garzón ES. Control mediante radiaciones gamma de flora fungica presente en alimentos de consumo humano y animal. *Alimentaria: Madrid*. 1993; 95:115-17.
25. Urbain WM. Biological effects of ionizing radiation. In: *Food irradiation*. Orlando: Academic; 1986. p 83-117.
26. Dadachova E, Bryan RA, Huang X, Moadel T, Schweitzer AD, Aisen P et al. Ionizing radiation changes the electronic properties of melanin and enhances the growth of melanized fungi. *Cr Rev Food Sci Nut*. 2007;30(6):403-39.