

AVALIAÇÃO DA DESCONTAMINAÇÃO FÚNGICA EM RAÇÃO HUMANA PELO TRATAMENTO POR RADIAÇÃO GAMA EM AMOSTRAS COLETADAS NA ZONA CEREALISTA DA CIDADE DE SÃO PAULO

EVALUATION OF FUNGAL DECONTAMINATION IN HUMAN RATION BY GAMMA RADIATION TREATMENT IN SAMPLES COLLECTED IN THE RETAIL SALE OF GRAINS IN SÃO PAULO CITY

Simone Aquino^{1*}, Cirlene da Cunha Caldas², Camille de la Cruz Lui³, Regina Hiroko Hassegawa³

¹Mestrado Profissional em Administração-Gestão Ambiental e Sustentabilidade da Universidade Nove de Julho.

²Mestra pela Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

³Departamento de Saúde - Universidade Nove de Julho.

²Professor assistente do Departamento de Ciências Básicas da Saúde / Setor de Parasitologia - Universidade Estadual de Maringá. Docente do curso de Medicina do Centro Universitário Ingá.

*Endereço para correspondência: Rua Deputado Salvador Julianelli, s/n - Barra Funda, São Paulo - SP, CEP: 01156-000.

Email: siaq06@hotmail.com

RESUMO

Nos últimos anos a ração humana ganhou o mercado como um produto à base de cereais indicado para controle intestinal, redução de peso e consumo de dietas mais saudáveis, principalmente na população feminina. Entretanto, o produto não apresenta uma fórmula padronizada, sendo possível encontrá-lo como produto industrializado embalado ou vendido a granel em lojas do ramo, apresentando riscos de consumo pela presença de microrganismos contaminantes. O presente estudo teve como objetivo analisar a contaminação fúngica de 30 amostras comerciais e 30 amostras de produtos vendidos a granel coletadas na zona cerealista da cidade de São Paulo, bem como analisar os efeitos do tratamento por radiação gama na descontaminação dos produtos. As amostras foram fracionadas pelos grupos não irradiados e tratados com a dose de radiação gama de 5 e 10 kGy, com o emprego de uma fonte Cobalto 60 do irradiador multipropósito do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-CNEN). O método de isolamento dos fungos foi realizado em diluição seriada pelo plaqueamento em superfície em ágar Sabouraud e incubação em temperatura de 25 °C (±2), na Universidade Nove de Julho. Foi possível observar a elevada contaminação por diversos gêneros fúngicos, incluindo os potencialmente toxigênicos como *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp., porém, com predomínio da contaminação por leveduras em 70% das amostras embaladas e 100% das amostras vendidas a granel. A dose de 10 kGy foi efetiva na redução da microbiota em todas as amostras irradiadas.

Palavras-Chave: fungos; leveduras; contaminação; cereais; ionização.

ABSTRACT

In recent years, human ration gained market as a cereal based product indicated for bowel control, weight reduction and healthier diets, especially in the female population. However, the product does not have a standardized formula, and it can be encountered as an industrialized packaged product or sold in bulk in retail stores, presenting consumption risks by the presence of contaminating microorganisms. This study aimed to analyze the fungal contamination in 30 commercial samples and 30 samples of products sold in bulk, collected in retail sale of cereals area of São Paulo, and to examine the effects of treatment by gamma radiation in the decontamination of the products. The samples were fractionated by non-irradiated groups and treated with gamma radiation dose of 5 kGy and 10 kGy, with the use of a cobalt 60 source multipurpose irradiator of the *Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares* (IPEN-CNEN). The method of isolation of fungi was carried out in the serial dilution plating on Sabouraud agar surface and incubation temperature of 25 °C (± 2) at Universidade Nove de Julho. It was possible to observe the high contamination by various fungal genera, including potentially toxigenic ones as *Aspergillus* spp. and *Penicillium* spp., but with a prevalence of contamination by yeast in packed samples in 70% and 100% of the samples sold in bulk. The dose of 10 kGy was effective in reducing microbiota in all the irradiated samples.

Key Words: fungi; yeast; contamination; cereals; ionization.

INTRODUÇÃO

A “ração humana” surgiu no ano de 2005, com o objetivo de complementar a alimentação, introduzindo alimentos com boas propriedades nutricionais. Segundo Braga e Mendonça (1), com relação à propaganda livremente distribuída nos estabelecimentos comercializadores da Ração Humana, alguns fabricantes, na época, com o intuito de persuadir o público, intensificaram a divulgação de que o produto contribui diretamente para o emagrecimento.

O produto se popularizou, se tornando um modismo, devido ao fato de conter componentes que auxiliam no bom funcionamento do aparelho digestivo, evitando a prisão de ventre. Ainda de acordo com os autores, esses folhetos promocionais traziam orientações sobre o uso, além de sugerir a substituição de uma das refeições essenciais por este produto. Graças às informações encontradas no rótulo e nos materiais promocionais, o seu consumo cresceu, podendo ser encontrado no comércio formal e informal, em embalagens e formulações variadas (1).

A ração humana é um alimento constituído a base de cereais integrais, farinhas e sementes, ricos em fibras, que ajudam no funcionamento do intestino, no controle de doenças crônicas não transmissíveis, além de proporcionar uma dieta rica em nutrientes essenciais, que se encontram ausentes nos alimentos de maior consumo utilizados pela população (1).

Dietas ricas em fibras auxiliam o aumento do bolo fecal e diminuem o desconforto causado pelo sintoma de constipação intestinal. Alimentos fibrosos também têm auxiliado na redução de doenças cardiovasculares, sendo inclusive, indicados aos pacientes portadores de diabetes insulino dependente, por seu potencial de redução de níveis de insulina no sangue e da concentração de lipídios (2).

Desde seu surgimento o produto causa polêmica, uma vez que possui algumas restrições quanto ao seu uso, pois não apresenta uma fórmula padronizada, além de não conter padrão de embalagem para a comercialização, podendo ser vendida a granel ou em embalagens contendo o produto já processado (3) Há contradições entre especialistas, pois alguns defendem

que a Ração pode atuar como alimento funcional, por ser constituída pela mistura nutritiva de cereais e fibras que, em conjunto, contribuem para o bem-estar fisiológico dos sistemas. Outros especialistas alertam que os componentes da ração humana não se encontram em quantidades suficientes e adequadas para que haja efeito benéfico ao organismo (1).

Em função das controvérsias relacionadas aos produtos, comercializados com a denominação *ração humana* e, por se tratar de um produto popular no mercado e, portanto, ainda carente de informações e pesquisas, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) por meio do Informe Técnico (I.T.) nº 46, de 20 de maio de 2011 veio prestar esclarecimentos sobre o enquadramento e a necessidade de registro de produtos, que vem sendo comercializados como “Ração Humana”; bem como sobre as alegações comumente veiculadas nos rótulos e no material publicitário (4). O produto não pode ser designado como “Ração”, uma vez que esta denominação não indica a verdadeira natureza e as características do alimento de acordo com a Resolução RDC nº 259 de 20 de setembro de 2002 (5):

A denominação de venda do alimento é o nome específico e não genérico que indica a verdadeira natureza e as características do alimento e será fixado no Regulamento Técnico específico que estabelece os padrões de identidade e qualidade inerentes ao produto.

A Ração Humana, pela Resolução nº 23 de 15 de março de 2000, que dispõe sobre o Manual de Procedimentos Básicos para Registro e Dispensa da Obrigatoriedade de Registro de Produtos Pertinentes à Área de Alimentos, vigente até hoje, pode ser classificada como um produto alimentício, à saber: Produto Alimentício é todo alimento derivado de matéria-prima alimentar ou de alimento “in natura”, adicionado, ou não, de outras substâncias permitidas, obtido por processo tecnológico adequado (6).

Como ainda não existem estudos conclusivos sobre a funcionalidade desse produto, atualmente ele ainda é tratado como alimento comum. Por outro lado, levando em consideração as funções evidenciadas pelos materiais promocionais, a ração humana

deveria seguir legislação específica. De acordo com a RDC nº 27 de 6 de agosto de 2010, ela seria passível de registro pelo Ministério da Saúde, por conter, em sua composição, substâncias que auxiliam no equilíbrio dos sistemas biológicos do corpo (7).

De acordo com Borré e colaboradores (8), como a ração humana se tornou uma das novas tendências de dietas da moda, os autores avaliaram a qualidade nutricional e higiênico-sanitária de dez diferentes marcas disponíveis no mercado da cidade de Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. Foram realizadas análises da rotulagem nutricional e composição física dos produtos. Os resultados mostraram que todas as marcas apresentam informações nutricionais incorretas, relacionadas às informações de rotulagem e/ou composição química. Além disso, todas as marcas analisadas apresentaram a qualidade comprometida, segundo aspectos físicos (ranço, mudança na coloração, alterações nas características sensoriais, etc.) e, portanto, todas as amostras estavam impróprias para o consumo, além de não apresentarem informações nutricionais e de rotulagem fidedignas.

Borré et al. (9) avaliaram o efeito do consumo do produto sobre o peso corporal, perfil lipídico e glicemia em ratos. Apesar de ser divulgado pela mídia que o complemento alimentar ração humana contribui para a redução de peso corporal, este fato não foi demonstrado no estudo realizado. Da mesma forma, não foi observado efeito benéfico deste complemento sobre o perfil lipídico ou a glicemia dos animais estudados. Assim, o estudo contribui para mostrar aos consumidores que o uso deste complemento alimentar, como proposto pela mídia, não traria os benefícios divulgados.

Machado e Navarro (10) verificaram se a suplementação diária de duas colheres de sopa ao dia (20 gramas) de ração humana, sem modificação na dieta usual, alteraria as concentrações de glicose, colesterol total e triglicerídeos séricos em mulheres praticantes de exercício físico 3 vezes por semana, durante 1h15min (exercício aeróbico, de força e alongamento) com idades entre 58 e 71 anos. Os autores observaram que a suplementação da dieta usual com não demonstrou benefícios na

redução de glicose, colesterol total e triglicerídeos séricos.

A ração apresentou ótimo valor energético uma vez que fornece em média 362,09 Kcal em 100g da amostra. De acordo o cálculo da TMB (taxa de metabolismo basal) a partir do peso corporal (p) para uma mulher numa faixa etária de 18-30 anos pesando 60 Kg com atividade física moderada precisa diariamente de 2.259,92 Kcal, para o homem com a mesma faixa etária, pesando 80 Kg, com atividade moderada necessitaria de 3.387,34 Kcal ao dia, por este motivo a ANVISA passou a alertar às pessoas que utilizam a chamada ração humana em substituição das refeições habituais que estão colocando a saúde em risco, pois esses produtos não fornecem todos os nutrientes necessários para uma alimentação adequada, conforme o informe técnico, publicado pela ANVISA (4).

Alguns especialistas definem alimento funcional como o alimento que contém uma ou mais substâncias que atuem no metabolismo trazendo benefícios para a saúde do organismo. Essas substâncias atuam na prevenção de doenças crônicas não transmissíveis, além de promoverem um equilíbrio nutricional, melhorando a qualidade de vida de quem as consomem. Elas precisam estar presentes nos alimentos funcionais em quantidades significativas e adequadas ao consumo, para que se possa ter o efeito desejado (11). Por essa razão, em um futuro próximo, somente após comprovação científica da funcionalidade do mix ou mistura, a ração humana deverá ser registrada e tratada comercialmente como um alimento funcional. Como ainda não existem estudos conclusivos sobre a funcionalidade desse produto, atualmente ele ainda é tratado como alimento comum (1).

Também são importantes estudos sobre a qualidade deste mix. No estudo de Borré et al. (9), todas as marcas analisadas apresentam informações nutricionais incorretas, sejam estas relacionadas as informações de rotulagem e/ou composição química. Isto induz o consumidor ao erro, por não mostrar a real informação nutricional do produto. Outra questão importante apontada por Braga e Mendonça (1) é a exposição à contaminação causada por microrganismos patogênicos presentes no produto vendido a granel.

A micobiota e a contaminação de rações para consumo animal por micotoxinas vêm sendo estudadas no Brasil e, diversos autores apontaram a contaminação por fungos toxigênicos em rações compostas de grãos para animais, mas nenhum estudo avaliou a contaminação fúngica em ração humana. O crescimento fúngico reduz o valor nutricional e a digestibilidade do alimento. Ademais, os fungos podem ocasionar danos diretos à saúde por meio de casos de intoxicação, chamados de micotoxicoses, que podem se apresentar de forma aguda, subaguda ou, mais comumente, crônica (12).

A irradiação de alimentos é um dos métodos de conservação mais amplamente estudado. A radiação ionizante consiste na exposição de materiais diversos aos raios gama, ondas eletromagnéticas com alta energia, emitidos por uma fonte de cobalto 60. A quantidade de energia de radiação ionizante absorvida (ou dose) por unidade de massa equivale a um joule de radiação absorvida por um quilograma de matéria (J/kg) e é expressa pela unidade Gray (Gy). A energia da radiação ionizante afeta diretamente as moléculas de DNA, causando danos nas células de fungos e bactérias (conhecido como efeito direto). Outra forma de controle é o chamado efeito indireto da radiação ionizante, que consiste na interação da radiação gama com moléculas de água presentes na célula do microrganismo ou em torno do substrato, produzindo os chamados radicais livres ou produtos da radiólise, que afetam os componentes celulares do microrganismo causando sua morte (13).

O tratamento por irradiação, além de eliminar ou reduzir o número de patógenos presentes na ração, tem por objetivo melhorar a qualidade higiênica pela redução de agentes deteriorantes, especialmente fungos, e eliminar insetos em estágio de reprodução (14). Chen et al. (15), ao analisarem o uso da irradiação com cobalto-60 em rações para animais SPF (*Specific Pathogen Free*), verificaram que a dose 8 kGy foi eficiente em eliminar os microrganismos e não ocasionou alterações na composição nutricional.

Embora a ração humana seja um produto de uso polêmico, pelas questões apontadas sobre a qualidade, sua venda ainda é presente no mercado, tanto em embalagens comerciais como também são encontrados os ingredientes vendidos

separadamente. O presente estudo teve como objetivo analisar a presença de fungos contaminantes (bolores e leveduras) em amostras de ração humana industrializadas e ingredientes vendidos a granel, coletados no comércio varejista da zona cerealista da cidade de São Paulo, SP, Brasil, bem como avaliar os efeitos da radiação ionizante na descontaminação fúngica das amostras, nas doses de 5 e 10 kGy.

METODOLOGIA

As amostras de produtos industrializados (embalados diretamente na fábrica) foram adquiridas em diferentes pontos de venda na zona cerealista de São Paulo, SP, Brasil e amostras de lojas que realizavam a mistura da ração humana, no momento da compra a granel, no período de janeiro a julho de 2014. Foi coletado 1 kg por amostra embaladas do mesmo lote de ração humana (n=30) e trinta amostras (n=30) de 1 kg cujos ingredientes foram vendidos separadamente a granel, com base na formulação comercial da ração humana, composta por: 250 gramas de fibra de trigo; 125 gramas de leite de soja em pó; 125 gramas de linhaça marrom; 100 gramas de açúcar mascavo; 100 gramas de aveia em flocos; 100 gramas de gergelim com casca; 75 gramas de gérmen de trigo; 50 gramas de gelatina sem sabor comprada em casa de produtos naturais; 25 gramas de guaraná em pó; 25 gramas de levedo de cerveja; 25 gramas de cacau em pó.

Cada uma das amostras foi dividida em 10 frações de 300 gramas, separadas em três grupos para diferentes tratamentos: não irradiadas (grupo controle); irradiadas com dose de 5 kGy (kilogray) e irradiadas com a dose de 10 kGy. As alíquotas foram colocadas em sacos de polietileno esterilizados, previamente irradiados com uma dose de 20 kGy. As amostras foram submetidas ao processo de radiação (raios gama), no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN - USP), localizado na cidade de São Paulo. Foi utilizado um irradiador multipropósito industrial, contendo uma fonte de cobalto 60 com taxa de dose de 3 kGy/h a temperatura de 25 °C (± 2).

Para a análise da micobiota foi realizada uma contagem total de bolores e leveduras. A fim de identificar os gêneros de fungos, adotou-se o método de

plaqueamento em superfície, empregando o meio ágar Batata Dextrose (ABD), em placas de Petri. Para tanto, as amostras foram ressuspendidas em água destilada estéril, após foram realizadas diluições seriadas até a diluição de 10^{-10} . O procedimento foi realizado em triplicata. As placas foram incubadas a 25 °C (\pm 2 °C) até o desenvolvimento das colônias de fungos, entre 7 e 10 dias. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônia por grama de amostra (UFC g⁻¹). Para a observação microscópica de hifas e estruturas conidiogênicas, utilizou-se a técnica de exame micológico direto entre lâmina e lamínula, contendo uma gota de azul de lactofenol ou azul de algodão e posterior emprego da técnica de microcultura. A identificação dos fungos foi

realizada de acordo com critérios descritivos macroscópicos e microscópicos, com base nas chaves taxonômicas descritas por Pitt e Hocking (16).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise de amostras embaladas

Todas as amostras (n=10) do grupo controle de produtos adquiridos embalados, apresentaram contaminação fúngica. Foi observado que 70% das amostras controle industrializadas apresentaram contaminação predominantemente por leveduras, 40% por Fungo Não Esporulados (FNE) e 30% por *Penicillium* spp., seguido de 20% de *Cladosporium* spp. e 10% de *Aspergillus* spp. (Tabela 1).

Tabela 1. Contagem (UFC g⁻¹) de fungos em amostras embaladas (controle e irradiadas).

Amostras	Gênero	0 kGy	5 kGy	10 kGy
1	<i>Cladosporium</i> spp.	4 x 10 ²	ND	ND
	FNE	6 x 10 ³	ND	ND
	<i>Penicillium</i> spp.	5 x 10 ²	ND	ND
2	Leveduras	7 x 10 ³	2 x 10 ²	ND
3	<i>Aspergillus</i> spp.	3 x 10 ²	ND	ND
4	<i>Penicillium</i> spp.	6 x 10 ³	ND	ND
	Leveduras	5 x 10 ³	1x 10 ²	2 x 10 ¹
5	Leveduras	2 x 10 ²	ND	ND
	FNE	3 x 10 ²	ND	ND
6	Leveduras	2 x 10 ³	ND	ND
	FNE	3 x 10 ²	ND	ND
7	Leveduras	1 x 10 ²	ND	ND
	<i>Penicillium</i> spp.	1 x 10 ³	ND	ND
8	Leveduras	2 x 10 ³	2 x 10 ¹	ND
	FNE	1 x 10 ²	ND	ND
9	Leveduras	1 x 10 ⁴	ND	ND
10	<i>Cladosporium</i> spp.	3 x 10 ⁴	ND	ND

Nota: ND- Não detectado; FNE – Fungo Não Esporulado.

Ainda foi observado nas amostras embaladas (Tabela 1) que a dose de 5 kGy foi eficiente na descontaminação de 70% das amostras, porém 30% das amostras com contagens de leveduras com contagens acima de 5 x 10³UFC g⁻¹ apresentaram radiorresistência à 5 kGy, como observado nas amostras 2, 4 e 8. Em relação à dose de 10 kGy, 90% das amostras foram

eficientemente descontaminadas, exceto a amostra 4, a qual apresentou o crescimento de leveduras, a despeito da redução em dois ciclos logarítmicos da carga inicial.

Borré et al. (8) reportaram em seu estudo que, muito embora não tenham realizado uma análise microbiológica nas amostras comerciais de ração humana, os autores observaram que a qualidade

nutricional de todas as marcas analisadas estava comprometida devido à presença de “ranço”, tornando-as imprópria para o consumo humano, indicando a necessidade de fiscalização de contaminação microbiológica pelos órgãos competentes a fim de garantir ao consumidor clareza e idoneidade das informações descritas nos rótulos e produtos de boa qualidade.

Tal descrição do aspecto rançoso da ração humana encontrada por Borré e autores pode ser explicada pela presença de bactérias e leveduras, ou seja, fungos unicelulares que se multiplicam rapidamente quando as condições do meio são propícias e, para isso, as leveduras utilizam açúcares como substrato para seu metabolismo. A fermentação é um processo de obtenção de energia utilizado por algumas bactérias e outros organismos, como as leveduras e ocorre com a quebra da glicose (8).

O crescimento da levedura pode ocorrer através da utilização de matéria-prima barata, como caldo ou melaço de cana-de-açúcar, soro do leite, mosto, farinha de feijão hidrolisada, extratos de soja e farinha de milho (17, 18). São classificadas como microrganismos facultativos, podem catabolizar açúcares para a produção de energia celular pelas vias aeróbia e anaeróbia (19). Tal fato explica o predomínio de leveduras associadas ao açúcar mascavo, além do componente levedo de cerveja da ração, substratos ideais para o processo fermentativo em embalagens fechadas.

Também foram isolados das amostras embaladas três gêneros fúngicos filamentosos: *Cladosporium*, *Penicillium* e *Aspergillus*. Fungos filamentosos também conhecidos como bolores ou mofo, são microrganismos eucariotos, heterotróficos e multicelulares. Estes microrganismos estão presentes em todos os ambientes e são economicamente importantes no campo da indústria, além de serem ecologicamente importantes como decompositores. No entanto, também podem contaminar os alimentos, causando sua deterioração, reduzindo seu valor nutricional, alterando suas qualidades organolépticas e tornando-se, em alguns casos, problema de saúde pública (20).

Os maiores problemas do desenvolvimento de fungos em grãos e

sementes estão relacionados à produção de micotoxinas e à perda do poder germinativo e de matéria seca, alterando o valor nutricional (21). Alguns gêneros deste grupo de microrganismos são responsáveis pela produção de micotoxinas, com destaque para: a aflatoxina, ocratoxina A, zearalenona, patulina, fumonisina, tricoteceno e citrinina (22). Os fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* são considerados importantes produtores de micotoxinas, metabólitos tóxicos naturais e frequentemente encontrados em alimentos (23).

Ribeiro e colaboradores (24) reportaram o isolamento de fungos filamentosos dos gêneros *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Penicillium* e fungos da ordem Mucorales (*Mucor* spp.) em amostras de farelo de soja destinado à formulação de ração animal. Nas amostras de fubá empregada como ingrediente da ração, houve predominância de *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp., *Eurotium* spp., *Penicillium* spp. e *Cladosporium* spp. Segundo os autores, muitas das espécies fúngicas isoladas estão associadas com a redução da qualidade da ração e são potenciais produtoras de micotoxinas. Muitos fungos filamentosos capazes de produzir micotoxinas são também frequentes contaminantes de alimentos e produtos agrícolas, ou seja, os fungos micotoxigênicos estão associados com a cadeia alimentar (25).

Amostras de ingredientes vendidos a granel

O presente estudo também apontou o predomínio de leveduras (100%) nas amostras formuladas com ingredientes vendidos a granel, mas com maior diversidade de fungos filamentosos (Tabela 2), como *Penicillium* spp. (60%), *Aspergillus* spp. (40%), *Cladosporium* spp. (20%), *Alternaria* spp. (20%), FNE (20%), *Curvularia* spp. (10%) e *Fusarium* spp. (10%). Os fungos filamentosos *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Fusarium* spp. isolados em ração humana são conhecidos por possuírem espécies produtoras de micotoxinas (24).

Tabela 2. Contagem (UFC g⁻¹) de fungos em amostras (controle e irradiadas) de ingredientes misturados vendidos a granel.

Amostras	Gênero	0 kGy	5 kGy	10 kGy
1	<i>Aspergillus</i> spp.	4 x 10 ²	ND	ND
	Leveduras	6 x 10 ⁴	ND	ND
	<i>Penicillium</i> spp.	3 x 10 ²	ND	ND
	<i>Cladosporium</i> spp.	7 x 10 ³	ND	ND
2	Leveduras	1 x 10 ⁴	ND	ND
	FNE	5 x 10 ³	ND	ND
	<i>Alternaria</i> spp.	2 x 10 ²	ND	ND
3	Leveduras	3 x 10 ⁴	ND	ND
	<i>Penicillium</i> spp.	2 x 10 ³	ND	ND
	<i>Fusarium</i> spp.	1 x 10 ²	ND	ND
4	<i>Penicillium</i> spp.	1 x 10 ²	ND	ND
	Leveduras	3 x 10 ⁴	1 x 10 ²	2 x 10 ¹
	<i>Rhizopus</i> spp.	1 x 10 ³	ND	ND
5	Leveduras	5 x 10 ²	ND	ND
	<i>Aspergillus niger</i>	1 x 10 ⁴	ND	ND
6	Leveduras	2 x 10 ¹	ND	ND
	<i>Rhodotorula</i> spp.	5 x 10 ²	2 x 10 ¹	ND
7	Leveduras	6 x 10 ²	ND	ND
	<i>Penicillium</i> spp.	1 x 10 ⁴	ND	ND
	<i>Alternaria</i> spp.	2 x 10 ²	ND	ND
8	Leveduras	4 x 10 ²	ND	ND
	<i>Aspergillus</i> spp.	2 x 10 ⁴	ND	ND
	FNE	2 x 10 ²	ND	ND
	<i>Penicillium</i> spp.	5 x 10 ³	ND	ND
9	<i>Cladosporium</i>	2 x 10 ²	1 x 10 ¹	ND
	Leveduras	7 x 10 ³	ND	ND
	<i>Aspergillus niger</i>	2 x 10 ²	ND	ND
10	Leveduras	6 x 10 ³	2 x 10 ²	ND
	<i>Curvularia</i> spp.	3 x 10 ²	ND	ND
	<i>Penicillium</i> spp.	5 x 10 ³	ND	ND
	<i>Rhizopus</i> spp.	1 x 10 ³	ND	ND

Nota: ND- Não detectado; FNE – Fungo Não Esporulado.

Foi encontrada a maior diversidade de fungos filamentosos em amostras de ração humana adquiridas a granel, em relação às amostras comercializadas em embalagens fechadas, com sete gêneros: *Aspergillus*; *Penicillium*; *Cladosporium*; *Alternaria*; *Fusarium* *Rhizopus*, e *Curvularia* (Tabela 2).

O nível de contaminação pode variar em função das condições climáticas do período de coleta e também da grande influência das condições de processamento do alimento. O processo de invasão por

fungos em grãos podem ocorrer no campo e durante os processos de colheita, secagem, transporte e armazenamento do produto (25-27). O crescimento de fungos é determinado por vários fatores, entre os quais, destacam-se: o teor de umidade, aeração, dano provocado por insetos e ácaros, temperatura e tempo de armazenamento (28). Os fungos *Aspergillus* e *Penicillium* são comumente encontrados como contaminantes de alimentos durante a secagem e armazenamento, enquanto o último é descrito como patógeno de plantas que

produz micotoxinas antes ou imediatamente após a colheita (29). Em condições fabris, o controle de qualidade ambiental reflete na diminuição da contaminação fúngica (24).

Além da presença de vários outros fungos, foi isolado o gênero fúngico *Rhizopus* como contaminante em ração humana a granel. Vecchia e Castilho-Fortes (30) também encontraram o fungo *Rhizopus* spp. como contaminante de granel. São normalmente encontrados em solos, vegetais, frutas e grãos armazenados, e são considerados contaminantes e deteriorantes comuns dos locais onde os produtos armazenados são processados (26).

Os limites e tolerâncias para as diferentes classes de produtos alimentícios constantes no regulamento da Portaria nº 451 de 19 de setembro de 1997 (revogada pela Portaria nº 12 de 2001) determinava como critérios e respectivos limites para sementes comestíveis cruas, torradas, salgadas o limite máximo de 5×10^3 /g de bolores e leveduras (31, 32). Observa-se que se tais limites fossem empregados hoje, visto que a RDC nº 12 não determina mais limites máximos para bolores e leveduras, 70% das amostras comerciais do grupo controle estariam em desacordo com a antiga legislação e 90% das amostras de ingredientes vendidas a granel seriam consideradas impróprias para consumo (Tabela 1 e Tabela 2).

A mesma preocupação foi apontada por Vecchia e Castilho-Fortes (30). Os autores reportaram que a ANVISA, que gerencia o Programa Nacional de Monitoramento da Qualidade Sanitária de Alimentos (PNMQSA), estabelece a presença de aflatoxina como um dos parâmetros analisados na verificação da qualidade dos produtos, a fim de prevenir e garantir a melhoria da qualidade sanitária dos alimentos comercializados no país. Porém a resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 não faz referência à contagem de fungos e leveduras (32).

Durante a coleta de amostras a granel, foi observado que os recipientes estavam protegidos por tampas, mas com colheres coletoras jogadas sobre os mesmos. Alguns recipientes estavam expostos (sem tampa), o que indica a maior contaminação de fungos do ar (anemófilos).

Dentre os fungos, as leveduras são reconhecidamente mais radorresistentes que

os filamentosos. Alguns pesquisadores postularam que os fungos produzem muitos metabólitos, tais como álcoois, ácidos, enzimas, pigmentos, polissacarídeos, e esteroides, bem como alguns compostos complexos, tais como ergotina, e antibióticos. Além disso, os componentes fúngicos intracelulares (compostos sulfídricos, pigmentos, aminoácidos, proteínas e ácidos graxos) têm sido relatados como responsáveis pela radorresistência de fungos, devido à sua propriedade antioxidante (33).

As leveduras, isoladas das amostras com ingredientes vendidos a granel, também apresentaram radorresistência nas doses de 5 (30%) e 10 kGy (10%), dentre elas, a *Rhodotorula*. O que pode conferir a radorresistência as leveduras do gênero *Rhodotorula* é sua capacidade de sintetizar pigmentos carotenoides intracelularmente, além de outras substâncias ativas exocelularmente (17, 34).

Em geral, leveduras são mais resistentes à radiação do que fungos filamentosos. A aplicação de diferentes doses de feixe de elétrons e radiação gama (0, 2.5, 5, 7.5, 10, 15 e 30 kGy) para a descontaminação de sementes de flor de Lótus, revelaram uma diminuição dose dependente significativa nos fungos contaminantes. No entanto, os autores observaram que as leveduras contaminantes sobreviveram em doses de até 10 kGy, mas que foram completamente eliminadas na dose de 15 kGy. Durante a fermentação das leveduras é produzido ácido láctico, ácido acético e álcool que atuam como sequestradores de radicais livres (gerados pela radiólise), dando um efeito protetor para leveduras contra os radicais livres formados por irradiação (35).

Altas doses de radiação gama são aplicadas para o controle de fungos, como demonstrado por Aziz e Abd El-Aal (36), que mostrou a completa eliminação de bolores toxigênicos em grãos de café e produtos alimentares com doses de 5 a 10 kGy.

No presente estudo, a amostra 9 apresentou o fungo filamentoso *Cladosporium* spp. como resistente à radiação ionizante na dose de 5 kGy (Tabela 2). Fungos filamentosos altamente radorresistentes também foram observados por Silva et al. (37), e dentre os fungos mais resistentes, relatam o gênero

Cladosporium spp., corroborando como os achados desta amostra. Diferenças na radiosensibilidade entre gêneros fúngicos são discutidas na literatura e, como apontado, *Alternaria* spp., *Curvularia* spp. e *Cladosporium* spp. foram pelo menos três vezes mais resistentes à irradiação, quando comparados aos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. A resposta diferencial desses fungos pode ser em função da presença de macroconídeo de parede espessa, o qual pode conferir proteção (24). Além disso, *Cladosporium* spp. pertence aos grupos de fungos que contém melanina, um pigmento preto (um polímero), que protege os organismos contra os raios UV e radiação ionizante. Este pigmento tem também sido associado com radiorresistência fúngica, especialmente entre fungos negros (38).

CONCLUSÕES

A inclusão do produto ou formulação da chamada “ração humana” na dieta da população, ainda gera controvérsias e é presente na vida de consumidores que buscam dietas mais saudáveis e ricas em fibras.

O presente estudo demonstrou a grande variedade de fungos filamentosos, incluindo gêneros produtores de micotoxinas e a elevada contaminação por leveduras, o

que torna o produto impróprio para consumo. Os limites de contaminação para bolores e leveduras devem ser incluídos novamente nas normas e legislações brasileiras, que deveriam ser revisadas e atualizadas à medida que novas formas de consumo de alimentos surgem ao longo dos anos.

Por outro lado, poucos estudos associando a ração humana e contaminantes fúngicos foram desenvolvidos, a fim de estabelecer normas sanitárias seguras como medidas de segurança alimentar.

É importante ressaltar que estudos sobre a presença de micotoxinas em ração humana também é necessário, visto que o presente estudo detectou fungos de armazenamento como *Penicillium* spp. e *Aspergillus* spp., potencialmente toxigênicos.

Neste contexto, a irradiação dos ingredientes e produtos comerciais embalados previamente com doses até 10 kGy conferiu a eliminação da contaminação fúngica de ração humana, de fungos filamentosos. Para o controle de leveduras contaminantes, estudos complementares com ensaios de doses acima de 10 kGy ainda são necessários, visto que a radiação gama (nesta dose) não eliminou totalmente as leveduras, das amostras analisadas das duas formas encontradas no comércio varejista de ração humana.

REFERÊNCIAS

- (1) BRAGA, E. O.; MENDONÇA, L. G. Discussão do uso racional da ração humana, com enfoque para seus principais constituintes: linhaça e quinoa. **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v.2, n.1 /2, p. 32-43, 2010.
- (2) GRANADA, G. et al. Caracterização de granolas comerciais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 1, p. 87-91, 2003.
- (3) AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Consumo de “ração humana” pode ser prejudicial à saúde, **jun. 2011**. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/anvisa/busca/!ut/p/c4/04_SB8K8xLLM9MSSzPy8xBz9CP0os3jvQA9PdwMDI0v_EAsXA0-TkCAPS29nfzdDQ_2CbEdFAMdr5_s!/?1](http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/anvisa/busca/!ut/p/c4/04_SB8K8xLLM9MSSzPy8xBz9CP0os3jvQA9PdwMDI0v_EAsXA0-TkCAPS29nfzdDQ_2CbEdFAMdr5_s!/?1dmy&urile=wcm%3Apath%3A//Anvisa%20Portal/Anvisa/Sala%20de%20Imprensa/Menu%20-%20Noticias%20Anos/2011%20Noticias/Consumo%20de%20raca0%20humana%20pode%20ser%20prejudicial%20a%20saude)>.
- (4) BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Informe Técnico nº 46, de 20 de maio de 2011. Esclarecimentos sobre produtos comercializados com a denominação “ração humana”. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/anvisa/home/alimentos/!ut/p/c4/04_SB8K8xLLM9MSSzPy8xBz9CP0os3hnd0cPE3MfAwMDMydnA093Uz8z00B_A3cvA_2CbEdFADQgSKI!/?1dmy&urile=wcm%3Apath%3A/anvisa+portal/anvisa/inicio/ali>.

- mentos/publicacao+alimentos/informes+alimentos/20110523>. Acessado em: 12 fev. 2016.
- (5) BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada nº 259, de 20 de setembro de 2002. Regulamento Técnico sobre Rotulagem de Alimentos Embalados. Disponível em: <<http://www.ibrafin.org.br/admin/arquivos/informes/1455824267-1ed.pdf>>. Acessado em: 12 fev. 2016.
- (6) BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da Diretoria Colegiada nº 23 de 15 de março de 2000. Dispõe sobre o Manual de Procedimentos Básicos para Registro e Dispensa da Obrigatoriedade do Registro de Produtos Pertinentes à Área de Alimentos. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/scriptsweb/anvisa/legis/VisualizaDocumento.asp?ID=2243&Versao=1>>. Acesso em: 10 jun. 2016.
- (7) BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da Diretoria Colegiada nº 27 de 06 de agosto de 2010. Dispõe sobre as categorias de alimentos e embalagens isentos e com obrigatoriedade de registro sanitário. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0027_06_08_2010.html>. Acesso em: 10 jun. 2016.
- (8) BORRÉ, J. L.; GALVÃO, P. N.; AZEREDO, V. B. Análise da rotulagem e qualidade nutricional de diferentes marcas de “ração humana”. **Nutrição Brasil**, v.13, n.2, p.86-90, 2014.
- (9) BORRÉ, J. L et al. Efeito do consumo da ração humana sobre o perfil lipídico e glicemia de ratos. **Cadernos do IME – Série Estatística**, v. 33, p. 19 - 33, 2012.
- (10) MACHADO, M. M.; NAVARRO, A. C. Suplementação com “ração humana” e o perfil metabólico de mulheres praticantes de exercício físico com idades entre 58 a 71 anos. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 4. n. 19. p. 59-68, 2010.
- (11) SGARBIERI, V.C., PACHECO, M.T.B. Alimentos Funcionais Fisiológicos. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 2, n. 1, p. 7-19, 1999.
- (12) FIGUEIRA, E.L.Z. et al. Milho: riscos associados à contaminação por *Fusarium verticillioides* e fumonisinas. **Semina: Ciências Agrárias**, v.24, n.2, p.359-378, 2003.
- (13) AQUINO, S. Gamma radiation against toxigenic fungi in food, medicinal and aromatic herbs In: A. Méndez-Vilas, A. (Org.) **Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances**. Badajoz: Formatex, 2011.
- (14) INTERNATIONAL CONSULTATIVE GROUP ON FOOD IRRADIATION (ICGFI). Code of good irradiation practice for the control of pathogenic microorganisms in poultry feed. Document n. 19. Vienna, 1995. Disponível em: <[http://www.acronymfinder.com/International-Consultative-Group-on-Food-Irradiation-\(ICGFI\).html](http://www.acronymfinder.com/International-Consultative-Group-on-Food-Irradiation-(ICGFI).html)>. Acesso em: 11 mar. 2016.
- (15) CHEN, Q.; HA, Y.; CHEN, Z. A study on radiation sterilization of SPF animal feed. **Radiation Physics and Chemistry**, v.57, n.3-6, p.329-330, 2000.
- (16) PITT, J.I.; HOCKING, A.D. **Fungi and food spoilage**. New York: Springer Verlag, 2009.
- (17) BARBATO, J. **Estudo da obtenção de carotenóides por fermentação empregando a levedura *Rhodotorula* SP. em melão e caldo de cana-de-açúcar como meio de cultura**. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2014.
- (18) BRANCO, L. S. C. et al. Estudo da ampliação de escala na produção de biomassa de *Rhodotorula* sp. CNPAT02 em processo batelada para obtenção de carotenóides. **Anais... Congresso Brasileiro de Engenharia Química**. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2010.
- (19) FILHO, W.G.V. et al. Método simples para quantificar o metabolismo aeróbio e anaeróbio de levedura alcoólica. **Boletim do centro de pesquisa de processamento de alimentos**, v. 31, n. 2, p. 227-236, 2013.
- (20) RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2001.

- (21) LIMA, I. P. M.; PORTELLA, J. A.; ARIAS, G. **Comunicado Técnico Embrapa Trigo nº 56**, Ministério da Agricultura e do Abastecimento: Passo Fundo, 2000.
- (22) RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; SABINO, M. Pesquisa em micotoxinas no Brasil: a última década em foco. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 33, n. 1, p.1-11, 2002.
- (23) NUNES, I. L. et al. Arroz comercializado na região sul do Brasil: aspectos micotoxicológicos e microscópicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 190-194, 2003.
- (24) RIBEIRO, J. M. M. et al. Radiação gama sobre a microbiota de ração avícola e *Aspergillus* spp. **Ciência Rural**, v. 39, n. 5, p.1452-1458, 2009.
- (25) PITT, J. I. Toxigenic fungi: which are important? **Medical Mycology**, v. 38, Supplement 1, p. 17-22, 2000.
- (26) CALDAS, E. D.; SILVA, S. C.; OLIVEIRA, J. N. Aflatoxinas e ocratoxina A em alimentos e riscos para a saúde humana. **Revista de Saúde Pública**, v. 36, n. 3, p. 319-323, 2002.
- (27) RUPOLLO, G. et al. Sistemas de armazenamentos hermético e convencional na conservabilidade de grãos de aveia. **Ciência Rural**, v. 34, n. 6, p. 1715-1722, 2004.
- (28) MARCIA, 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.
- (29) SWEENEY, M. J.; DOBSON, A. D. W. Molecular biology of mycotoxin biosynthesis. **FEMS Microbiology Letters**, v. 175, n. 2, p. 149-163, 1999.
- (30) VECCHIA, A. D.; CASTILHOS-FORTES, R. Contaminação fúngica em granola comercial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 324-327, 2007.
- (31) BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA Portaria nº 451, de 19 de setembro de 1997. Regulamento técnico princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <<http://oads.org.br/leis/1337.pdf>>. Acesso em: 11 mar. 2016.
- (32) BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da Diretoria Colegiada nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 21 mar. 2016.
- (33) AZIZ, N.H. et al. Effect of gamma radiation on the survival of fungal and actinomycetal florae contaminating medicinal plants. **Applied Radiation and Isotopes**, v. 48, p. 71-76, 1997.
- (34) VALDUGA, E. et al. Produção de carotenoides: Microrganismos com fonte de pigmentos naturais. **Revista Química Nova On-Line**, v. 32, n. 9, p. 2429 – 2436, 2009.
- (35) BHAT R.; SRIDHAR, K.R.; KARIM, A. A. Microbial quality evaluation and effective decontamination of nutraceutically valued lotus seeds by electron beams and gamma irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 79, p. 976-981, 2005.
- (36) AZIZ, N.H.; ABD EL-AAL, S. S. Occurrence of aflatoxin and aflatoxigenic molds in coffee beans and decontamination by gammairradiation. **Journal of The Egyptian Veterinary Medical Association**, v. 49, p. 951-962, 1990.
- (37) SILVA, M. et al. Inactivation of fungi from deteriorated paper materials by radiation. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.57, n.3, p.163-167, 2006.
- (38) DADACHOVA, E. et al. Ionizing Radiation Changes the Electronic Properties of Melanin and Enhances the Growth of Melanized Fungi. **PLoS ONE**, v. 2, n. 5, e457, 2007.

Enviado: 29/01/2018
 Revisado: 22/11/2019
 Aceito: 15/04/2020