

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE PRÓ-REITORIA DE PESQUISA,
PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM AGROQUÍMICA

UTILIZAÇÃO DO OZÔNIO NA DESCONTAMINAÇÃO DE
GRÃOS DE MILHO

Autora: Lilian dos Santos Silva

Orientador: Osvaldo Resende

Rio Verde – GO

Agosto – 2016

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE PRÓ-REITORIA DE PESQUISA,
PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM AGROQUÍMICA

UTILIZAÇÃO DO OZÔNIO NA DESCONTAMINAÇÃO DE
GRÃOS DE MILHO

Autora: Lilian dos Santos Silva

Orientador: Osvaldo Resende

Dissertação apresentada no Programa de Pós-
Graduação em Agroquímica do Instituto
Federal Goiano – Campus Rio Verde – como
parte das exigências para obtenção do título de
MESTRE EM AGROQUÍMICA.

Rio Verde – GO

Agosto – 2016

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)
Elaborada por Izaura Ferreira Neta - Bibliotecária CRB1-2771**

Dos Santos Silva, Lilian

S586u Utilização do ozônio na descontaminação de grãos de milho/
Lilian dos Santos Silva. Rio Verde. - 2016.
62f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Federal Goiano –
Campus Rio Verde, 2016.
Orientador: Professor. Osvaldo Resende.

Bibliografia

1. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos. 2. Micotoxinas.
3. Secagem . I. Título. II. Instituto Federal Goiano – Campus
Rio Verde.

CDD633.15

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

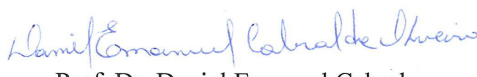
Utilização do ozônio na descontaminação de grãos de milho.

Autora: Lilian dos Santos Silva
Orientador: Osvaldo Resende


TITULAÇÃO: Mestre em Agroquímica – Área de concentração Agroquímica.

APROVADA em 19 de agosto de 2016.


Prof. Dr. José Henrique da
Silva Taveira
Avaliador externo
UEG/Santa Helena


Prof. Dr. Daniel Emanuel Cabral
de Oliveira
Avaliador interno
IF Goiano/RV


Prof.ª Dr.ª Cássia Cristina
Fernandes Alves
Avaliadora interna
IF Goiano/RV


Prof. Dr. Osvaldo Resende
Presidente da banca
IF Goiano/RV

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela proteção, força, sabedoria e estímulo para prosseguir na caminhada em busca do conhecimento.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano e a todos os professores envolvidos, que me auxiliaram na busca do conhecimento durante a pesquisa.

Ao professor Dr. Osvaldo Resende, pelo aceite como orientador do programa de pós-graduação pelo apoio e todos os ensinamentos passados na área de pós-colheita.

À minha coorientadora professora Dr.^a Cássia Cristina Fernandes Alves, por fazer parte dessa caminhada com os ensinamentos na área de Química Orgânica.

Aos professores Paulo Sérgio, Edinalva, Fabiana e Francisco, pelo apoio durante a pesquisa.

Aos colegas do Laboratório de Pós-Colheita de Produtos Vegetais, pelo auxílio e motivação.

Aos colegas dos demais laboratórios, pelo empenho e disponibilidade durante o desenvolvimento da pesquisa.

Aos Laboratórios de Nutrição Animal, BINATE, Alimentos, Química Tecnológica, Sementes.

À professora Dr.^a Silvia Tfouni, ao ITAL (Instituto de Tecnologia de Alimentos) e Fernanda, pela parceria na realização da pesquisa.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pela concessão da bolsa de estudos.

BIOGRAFIA DA AUTORA

LILIAN DOS SANTOS SILVA, filha de Rita de Cássia dos Santos Silva e Cristovão Cavalcante da Silva, nasceu em Rio Verde - GO em 19 de novembro de 1986.

Iniciou sua alfabetização na Escola Municipal Clodoveu Leão de Almeida nos anos de 1995 a 1996, continuando seus estudos no Colégio Municipal Prof.^a Selva Campos Monteiro até o ano de 1997 a 2002.

Concluiu o 2º grau nos anos de 2003 a 2005 no Colégio Estadual João Velloso do Carmo.

Cursou entre 2005 a 2007 o curso técnico em Alimentos no Instituto Federal Goiano, que nesse período se chamava CEFET (Centro Federal de Educação Tecnológica de Rio Verde).

Iniciou a graduação em Licenciatura em Química no ano de 2010 e concluiu em 2013, no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde.

No ano de 2014 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Agroquímica na área de Pós-Colheita de Produtos Vegetais em busca do título de mestre.

Defendeu sua dissertação em 19 de agosto de 2016.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE TABELAS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES.....	ix
RESUMO GERAL.....	xiii
ABSTRACT.....	xv
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1. Milho.....	1
2. Secagem	2
3. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's)	2
4. Micotoxinas.....	4
5. Gás Ozônio (O ₃).....	5
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	7
OBJETIVOS.....	12
Geral.....	12
Específicos.....	12
CAPÍTULO I – OZÔNIO NA DESCONTAMINAÇÃO DE AFLATOXINAS EM GRÃOS DE MILHO.....	13
RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	14
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
4. CONCLUSÕES.....	27
5. AGRADECIMENTOS.....	28

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
CAPÍTULO II- UTILIZAÇÃO DO GÁS OZÔNIO NA DEGRADAÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPA'S) EM GRÃOS DE MILHO.....	32
RESUMO.....	32
ABSTRACT.....	32
1. INTRODUÇÃO.....	33
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	34
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
4. CONCLUSÕES.....	41
5. AGRADECIMENTOS.....	41
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
CONCLUSÃO GERAL.....	46

ÍNDICE DE TABELAS

Páginas

CAPÍTULO I – Utilização do gás ozônio na descontaminação de aflatoxinas em grãos de milho.

Tabela 1. Resumo da análise de variância com os valores do quadrado médio para o teor de água, condutividade elétrica, porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, grãos fermentados e ardidos nos tratamentos com e sem secagem por convecção para diversos tempos de ozonização.....	19
Tabela 2. Resumo da análise de variância com os valores do quadrado médio para os parâmetros de cor: L*, a* e b* com e sem secagem por convecção para diversos tempos de ozonização.....	19
Tabela 3. Teor de água, porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, L* e a* do milho com e sem secagem por convecção natural nos diferentes tempos de ozonização.....	21
Tabela 4. Resumo da análise de variância com os valores do quadrado médio da composição centesimal: teor de água (TA), cinza, proteína bruta, fibra bruta, lipídeo e carboidratos do milho triturado, dos tratamentos com e sem secagem por convecção pelo tempo de ozonização.....	23
Tabela 5. Resultados dos espectros das amostras com presença (P) e ausência (A) de aflatoxinas AFG ₁ ; AFB ₁ ; AFG ₂ e AFB ₂ nos grãos de milho no tratamento com secagem para diferentes tempos de ozonização.....	26

Tabela 6. Resultados dos espectros das amostras com presença e ausência de aflatoxinas AFG₁; AFB₁; AFG₂ e AFB₂ nos grãos de milho no tratamento sem secagem para diferentes tempos de ozonização.....26

CAPÍTULO II - Utilização do gás ozônio na degradação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em grãos de milho.

Tabela 1. Resumo da análise de variância com os valores dos quadrados médios do teor de água, condutividade elétrica, porcentagem de germinação, ângulo hue, croma, coordenadas L*, a* e b* pelos tempos de ozonização.....37

Tabela 2. Médias dos grãos fermentados nos diferentes períodos de exposição ao ozônio.....38

Tabela 3. Resumo da análise de variância com os valores do quadrado médio das variáveis carboidrato, cinza, proteína bruta, fibra bruta, lipídeos e teor de água em função dos tempos de ozonização.....38

Tabela 4. Teores de cinzas e lipídeos em função dos tempos de ozonização.....39

Tabela 5. Resumo da análise de variância com os valores do quadrado médio dos HPAs benzo(a)antraceno (BaA), criseno (Chr), 5-metilcriseno (5MChr), benzo(b)fluoranteno (BbF), benzo(k)fluoranteno (BkF) e benzo(a)pireno (BaP) em função dos tempos de ozonização.....40

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO I - Utilização do gás ozônio na descontaminação de aflatoxinas em grãos de milho.

Figura 1. Detalhamento do aparelho gerador de ozônio vista lateral (A) e vista superior (B).....	16
Figura 2. Esquema para o processo de ozonização (equipamento gerador de ozônio acoplado ao fundo do primeiro recipiente).....	17
Figura 3. Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$) da solução de embebição de grãos de milho em diferentes tempos de ozonização com dois tratamentos com e sem secagem por convecção.....	20
Figura 4. Parâmetro b^* dos grãos de milho com e sem secagem em diferentes tempos de ozonização.....	22
Figura 5. Teor de lipídeos dos grãos de milho em função do tempo de ozonização e para o tratamento com e sem secagem.....	24
Figura 6. Espectro dos padrões Mix de aflatoxinas B_1 , B_2 , G_1 e G_2 , com comprimento de onda de 254 nm.....	25
Figura 7. Espectro da amostra 01 com as aflatoxinas (G_1 , B_1 , G_2 , B_2) em comprimento de onda de 254 nm.....	25

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

%.....	Porcentagem
%G.....	Porcentagem de germinação
°C.....	Graus Celsius
AFG ₁	Aflatoxina G1
AFG ₂	Aflatoxina G2
AFB ₁	Aflatoxina B1
AFB ₂	Aflatoxina B2
a*.....	Intensidade do vermelho ao amarelo
a, b, c.....	Constantes
b*.....	Intensidade do azul a verde
Bu.....	Base úmida
BaA.....	Benzo(a)antraceno
BaP.....	Benzo(a)pireno
BbFluo.....	Benzo(b)fluoranteno
BkFluo.....	Benzo(k)fluoranteno

C*.....	Croma	
Cm.....	Centímetro	
C 18	Carbono 18	
C.....	Concentração do gás ozônio.....mg L ⁻¹
CE.....	Condutividade elétrica.....μS cm ⁻¹ g ⁻¹
Cris.....	Criseno	
CLAE.....	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	
CV.....	Coefficiente de variação.....%
DAD.....	Arranjo de Diodo	
DBD.....	Descarga por barreira dielétrica	
DIC.....	Delineamento inteiramente ao acaso	
FV.....	Fonte de variação	
FB.....	Fibra bruta	
GL.....	Grau de liberdade	
G.....	Gramas	
H.....	Hora	
°h.....	Ângulo hue	
HCl.....	Ácido clorídrico	
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico	
HPA's.....	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	

IVG.....	Índice de velocidade de germinação
Kg.....	Quilograma
L*.....	Luminosidade
M.....	Metro
Mm.....	Milímetro
mg L ⁻¹	Miligramma por litro
Min.....	Minuto
Ml.....	Mililitro
5Mcris.....	5-Metilcriseno
N.....	Normalidade
NaOH.....	Hidróxido de sódio
Nm.....	Nanômetro
µg L ⁻¹	Microgramma por litro
µm.....	Micrômetro
µg kg ⁻¹	Microgramma por quilo
µS g ⁻¹ cm ⁻¹	Microsiemens por grama por centímetro
O ₂	Oxigênio
O ₃	Ozônio
PB.....	Proteína bruta
PVC.....	Policloreto de vinila
T.....	Tempo

TA.....	Teor de água	
TRAT.....	Tratamento	
Tsat.....	Tempo de saturação.....min
UR.....	Umidade relativa.....%

RESUMO

SILVA, LILIAN DOS SANTOS. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – GO, agosto, 2016. **Utilização do ozônio na descontaminação de grãos de milho.** Osvaldo Resende “Orientador”; Cássia Cristina Fernandes Alves “Coorientadora”.

Objetivou-se avaliar a utilização do gás ozônio na degradação e descontaminação de aflatoxinas e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos nos grãos de milho. Foram utilizados dois lotes de milho (*Zea mays* L.) produzidos na região de Rio Verde - GO: um com teor de água de aproximadamente 14% (b.u.) e contaminado com aflatoxinas, e outro recém-colhido com teor de água de aproximadamente de 16% (b.u.). Utilizou-se a secagem por convecção natural com fornalha de fogo direto em ambos os lotes, objetivando avaliar degradação de aflatoxinas com baixo teor de água e também contaminar os grãos com os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. Em seguida, foi realizada análise cromatográfica das amostras para identificar as micotoxinas e quantificar os compostos aromáticos. Posteriormente, os grãos foram ozonizados utilizando equipamento gerador de ozônio da marca VEC-XT com base na descarga dielétrica acoplado a um recipiente de PVC com concentração de 1,74 mg L⁻¹ e tempo de saturação de 112 min. O primeiro lote foi dividido em duas partes: uma com teor de água reduzido e a outra parte permaneceu sem secar. Foram utilizados os tempos de ozonização de 0, 2, 4 e 6 horas e 1,0 kg de grãos para cada repetição a fim de descontaminar os grãos. Os grãos ozonizados foram avaliados quanto ao: teor de água, porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, classificação dos grãos, análise de cor (L*, a*, b*), e composição centesimal. O experimento foi realizado utilizando um delineamento inteiramente ao acaso (DIC) em esquema fatorial simples. Os tratamentos (com e sem secagem) tiveram efeito nas variáveis condutividade

elétrica, grãos ardidos, L*, a*, b*, teor de água, índice de velocidade de germinação, na composição centesimal teor de água, cinzas, lipídeos e carboidratos. O tempo de O₃ influenciou nos grãos fermentados. Em relação às micotoxinas, o tempo de ozonização não mostrou ter eficiência. O segundo lote de milho contaminado com HPA's teve seu teor de água reduzido a aproximadamente 11% (bu). Em seguida, as amostras foram analisadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com detector de fluorescência para quantificar os compostos e, posteriormente, foram fumigadas com o gás ozônio em sete tempos, sendo: 0, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 horas em três repetições e 1,5 kg de grãos. Após o fumigamento foram realizadas as avaliações quanto ao: teor de água, porcentagem de germinação, análise de cor (L*, a*, b*, °h e C*) e composição centesimal. O experimento foi realizado utilizando delineamento inteiramente ao acaso (DIC). Os dados foram analisados por meio de análise de variância e as médias comparadas pelos testes de Scott-Knott a significância de 5%. Não houve efeito do ozônio sobre as variáveis teor de água, condutividade elétrica, porcentagem de germinação, °h, C*, L*, a* e b*, carboidrato, proteína bruta e fibra bruta. Os tempos de ozonização tiveram efeito no teor de lipídeos, cinza e teor de água. Em relação à degradação dos hidrocarbonetos, não houve efeito dos tempos de ozonização. Concluiu-se então que os tempos de ozonização e a concentração utilizada não foram suficientes para descontaminar todas as aflatoxinas e degradar os HPA's presentes nos grãos de milho.

PALAVRAS-CHAVE: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, micotoxina, secagem.

ABSTRACT

SILVA, LILIAN SANTOS. Federal Institute of Education, Science and Technology Goiano - Campus Rio Verde - GO, August, 2016. Use of **Ozone in the corn grain decontamination**. Osvaldo Resende "Advisor"; Cassia Cristina Fernandes Alves "Coadvisor".

This study aimed to evaluate the use of ozone gas in the degradation and decontamination of aflatoxin and polycyclic aromatic hydrocarbons in corn kernels. We used two lots of corn (*Zea mays* L.) produced in the Rio Verde region - GO: one with a moisture content of approximately 14% (wb) and contaminated with aflatoxins, and other newly harvested with a water content of approximately 16% (wb). It was used to dry the natural convection with direct fire furnace in both lots, to evaluate degradation of aflatoxins with low water content and also contaminate the grain with polycyclic aromatic hydrocarbons. Then chromatographic analysis of samples was performed to identify and quantify mycotoxins aromatics. Subsequently the pellets were ozonized using ozone generating equipment oVEC- XT with based dielectric discharge cm coupled to a PVC container with a concentration of 1.74 mg L⁻¹ and 112 min of soak time. The first batch was divided in two parts: one with a low moisture content and the other part remained without drying. The ozonation times used were 0, 2, 4 and 6 hours and 1.0 kg of grain for each repetition in order to decontaminate the grains. The ozonated grains were evaluated for: moisture content, germination percentage, germination speed index, classification of grain, color analysis (L *, a *, b *), and chemical composition. The experiment was conducted using a completely randomized design (CRD) in a factorial scheme. Treatments (with and without drying) had no effect on the electrical conductivity variable, rot grains, L *, a *, b *, moisture content, germination rate index, the centesimal composition moisture content, ash, lipids and

carbohydrates. The O₃ time influenced the fermented grains. Regarding mycotoxins time ozonation showed no efficiency. The second batch of corn contaminated with PAH's had its low moisture content to approximately 11% (wb). Then, the samples were analyzed by high-performance liquid chromatography (HPLC) with fluorescence detection for quantifying the compounds and then were sprayed with the ozone gas using seven times: 0, 4, 8, 12, 16, 20 and 24 h in three replicates and 1.5 kg of grains. After fumigations evaluations were carried out as: moisture content, germination percentage, color analysis (L *, a *, b *, C * and h °) and chemical composition. The experiment was conducted using a randomized design (CRD). Data were analyzed using analysis of variance and means were compared by the Scott-Knott test at 5% significance. There was no effect of ozone on the moisture content variables, electrical conductivity, germination percentage, h ° C *, L *, a * and b *, carbohydrate, crude protein and crude fiber. The ozonation times had an effect on lipid content, ash and moisture content. Regarding the degradation of the hydrocarbons, there was no effect of ozonation time. It follows then that the ozonation time and concentration used were not enough to decontaminate all aflatoxins and degrade the PAH's present in corn grain.

KEY WORDS: drying, mycotoxins, polycyclic aromatic hydrocarbons.

INTRODUÇÃO GERAL

1. Milho

O milho (*Zea mays* L.) pertencente à família *Graminaceae/Poaceae* é um cereal amplamente consumido no Brasil. Em termos de produção, fica em segundo lugar, atrás somente da soja e é a terceira maior cultura mundial, seguindo o trigo e o arroz. Na natureza é uma das plantas que mais armazenam energia. Desse cereal, podem ser obtidos cerca de 90 derivados tanto para alimentação humana como animal (GIROLAMO et al., 2016; TIECKER JÚNIOR et al., 2014).

Na produção mundial, o Brasil fica em terceiro lugar, sendo liderado pelos Estados Unidos e China. De acordo com a CONAB (2016), a produção no Brasil em 2015/2016 foi estimada em 26,2 milhões de toneladas na primeira safra. Na região Centro-Oeste, estimou-se em 2,5 milhões de toneladas na primeira safra. Dentre os principais consumidores do milho, destacam-se o Japão, Coreia do Sul, México, Egito e Taiwan (DUARTE et al., 2011).

Segundo Paes (2006) o milho é composto principalmente por carboidratos e lipídeos, tornando o cereal bastante energético. A produção é destinada também para indústrias de alta tecnologia, sendo utilizado na fabricação de filmes e embalagens biodegradáveis.

O milho se difere em dois tipos: milho doce e normal, pelo teor de açúcar presente no endosperma, tem alto valor energético e possui teores de matéria seca importantes por essas características é incluído na alimentação animal (CAMILO et al., 2015; PINTO et al., 2010).

2. Secagem

A secagem é o processo mais utilizado visando a diminuição do teor de água, com isso, a qualidade fisiológica e química do produto podem ser alteradas pelo fato de ocorrer simultaneamente a troca de calor e massa e também evita que ocorram processos biológicos durante o armazenamento (HALL, 1980; OLIVEIRA et al., 2012).

Com a secagem, os produtos têm um tempo de armazenamento maior e mais seguro, já que as reações químicas e biológicas são cessadas nesse processo.

Também consiste na remoção da água excessiva contida no produto pela evaporação através de convecção forçada do ar, mas mantendo a qualidade, podendo ser utilizado vários tipos de secadores (ALMEIDA et al., 2009).

A secagem pode ser realizada em duas formas: natural e artificial, para secagem natural, utiliza-se o sol e o vento sem o monitoramento da temperatura, porém na secagem artificial, têm-se o monitoramento da temperatura e o ar de secagem é forçado através de equipamentos mecânicos (ZONTA et al., 2011).

Vários são os tipos de secadores e um deles é o secador de camada fixa que é viável para os produtores, e não há movimentação dos grãos, os mesmos ficam em um recipiente perfurado para promover a passagem do ar (LACERDA FILHO, 1986).

3. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's)

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's) são formados por dois ou mais anéis aromáticos, que podem apresentar ramificações constituídas de cadeias hidrocarbônicas abertas. São também constituídos por uma família de moléculas diversificadas contendo mais de cem compostos orgânicos, formados de carbono e hidrogênio, não polares e hidrofóbicos (GARCIA, 2015; PARAÍBA et al., 2010).

Os HPA's são contaminantes em uma gama de alimentos como produtos lácteos, vegetais, óleos, frutas e principalmente em carnes defumadas e estão presentes no ar, solo, água e biota (TFOUNI et al., 2007; VELA et al., 2012).

Possuem alto potencial carcinogênico, mutagênico e citotoxigênico em humanos. O benzo[a]pireno é o principal HPA considerado como marcador dos efeitos

de genotoxicidade e carcinogenicidade em alimentos (ARAGÓN et al., 2015; CAMARGO & TOLEDO, 2003; RAMALHOSA et al., 2012).

A formação dos HPA's ocorre pela combustão incompleta de materiais orgânicos ou pirólise de combustíveis fósseis, plantas e biomassa, também são formados a partir do lixo, madeira e sua formação é favorecida em temperaturas de 400-800 °C (LI et al., 2015; TFOUNI et al., 2007; VELA et al., 2012; WANG et al., 2011).

Os HPA's são divididos em dois grupos: baixo peso molecular (BPM) compostos pelos naftaleno, acenaftaleno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluorantreno e pireno e alto peso molecular (APM) sendo os criseno, benzo(a)antraceno e benzo(a)pireno (VIEIRA, 2009). Na Figura 1, está apresentada a estrutura química dos 16 principais HPA's.

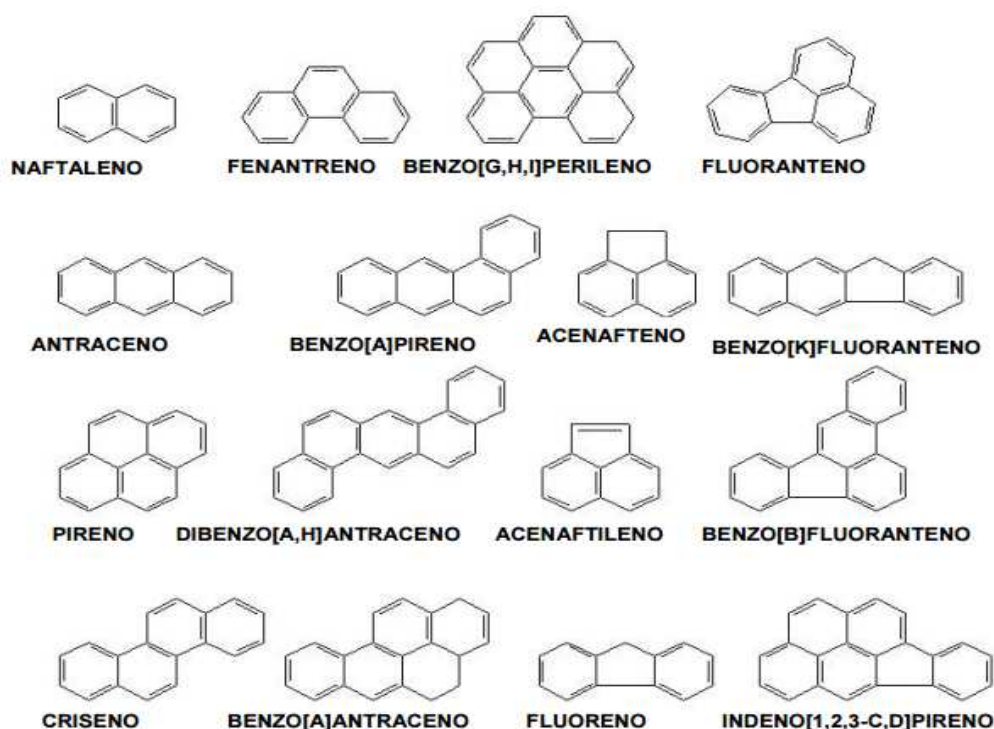


Figura 1. Estrutura química de 16 hidrocarbonetos policíclicos aromáticos como poluentes prioritários de acordo com a United States Environmental Protection Agency (USEPA).

A legislação brasileira prevê limites de apenas um HPA o α -benzopireno sendo classificado como o mais tóxico, com limite de $0,7 \mu\text{g L}^{-1}$ em água para o consumo humano e para o aroma de fumaça no produto final é de $0,03 \mu\text{g L}^{-1}$. Outros países como Alemanha, Áustria, República Tcheca, Suíça, Eslováquia, Itália e Polônia

estabeleceram um limite tolerável de $1\mu\text{g kg}^{-1}$ em alimentos defumados (SOUSA & NASCIMENTO, 2010; VIEIRA, 2009).

4. Micotoxinas

As micotoxinas são metabólitos secundários tóxicos provenientes de fungos filamentosos tais como *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. Algumas micotoxinas são cancerígenas e encontradas em alimentos, principalmente nos cereais (ALBONICO, et al., 2016; KIRINCIC et al., 2015; RODRÍGUEZ-CARRASCO et al., 2015; RUYCK et al., 2015).

As espécies *Aspergillus* são as principais produtoras de aflatoxinas, sendo *A. flavus* produtores somente de aflatoxinas B₁ e B₂ e *A. parasiticus* produtores das aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ (NOVOA & DÍAZ, 2006).

Para a produção de micotoxinas é necessário que haja um ambiente propício, como umidade, pH, temperatura e composição química do produto. Além disso, as micotoxinas são termoestáveis, ou seja, são resistentes a processos térmicos, que podem estar presentes nos alimentos mesmo sem a presença dos fungos, para a sua produção e podem contaminar humanos e animais direta e indiretamente pelos alimentos (MAZIERO & BERSOT, 2010; ROCHA et al., 2014).

Dentre as mais de 400 micotoxinas existentes, destacam-se seis mais tóxicas para humanos e animais, tais como a fumonisina, aflatoxina, ocratoxina A, patulina, zearalenona, deoxinivalenol, e ocratoxina A. Dentre essas, a aflatoxina apresenta as maiores contaminações em alimentos (KARA et al., 2015; MATUMBA et al., 2015; WAN AINIZA et al., 2015).

As aflatoxinas são divididas em três classes: B (B₁ e B₂), G (G₁ e G₂) e M (M₁ e M₂). Sendo a AFB₁ a mais tóxica e com maior poder carcinogênico, oncogênicos e imunossupressoras dentre as micotoxinas, aumentando risco de câncer de fígado em humanos. (IARC, 1993; KAWASHIMA, 2004; ROCHA et al., 2014).

São divididas quimicamente em dois grandes grupos: grupo 1 são as difuro-cumaro-ciclo-pentanonas, sendo AFB₁, AFB₂, AFB_{2A}, AFM₁, AFM₂, AFM_{2A} e aflatoxicol e grupo 2 que são difuro-cumaro-lactonas, sendo AFG₁, AFG₂, AFG_{2A}, AFGM₁, AFGM₂, AFGM_{2A} e AFB₃ (NOVOA & DÍAZ, 2006).

As aflatoxinas M_1 e M_2 são chamados de produtos de oxidação do metabolismo das aflatoxinas B_1 e B_2 que por sua vez são eliminados tanto no leite humano como animal (NOVOA & DÍAZ, 2006).

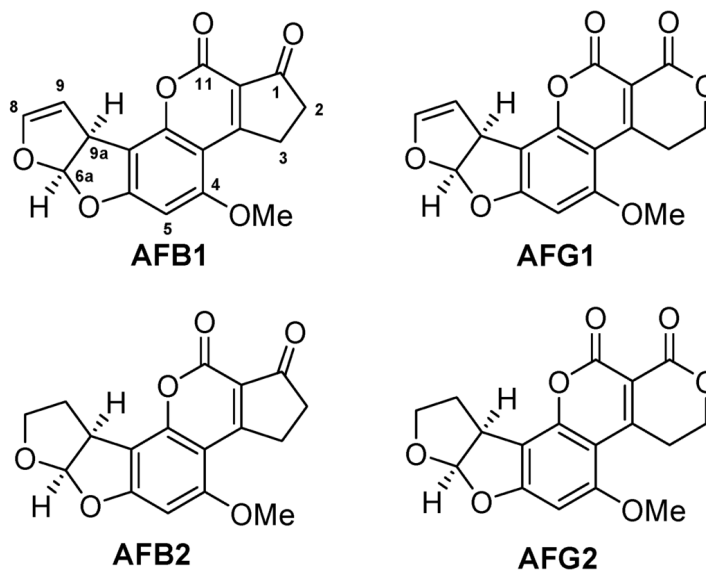


Figura 2. Estrutura das aflatoxinas B_1 , B_2 , G_1 e G_2 .

5. Gás ozônio (O_3)

O oxigênio (O_2) é abundante na natureza e inesgotável, sendo o precursor para a formação do ozônio (O_3) sua forma alotrópica. Para isso é necessário que seja submetido a alta tensão de descarga elétrica ou alta irradiação ultravioleta. Na natureza está presente tanto na troposfera com aproximadamente 10%. Na estratosfera e na superfície da Terra em pequena concentração (GABLER et al., 2010; ISIKBER, 2014; RODRIGUES, 2013).

Pode ser gerado em duas formas: ozônio gasoso e água ozonizada, sendo o O_3 gasoso usado na fumigação em vários alimentos e na armazenagem de grãos em pós-colheita. A água ozonizada é obtida a partir de um gerador específico, alcançada pela injeção de bolhas de ar com ozônio em fluxo de água, por meio de sistema venturi (processo em que o gás é misturado à água por um ejetor). Essa água possui efeito corrosivo em metais, por isso não é utilizada pelas indústrias sendo menos estável que o ozônio gasoso (ISIKBER, 2014; PEZZI, 2009; PICCIN et al., 2009).

O gás é eficaz no tratamento de frutas e hortaliças, com estudos relacionados à sua eficiência em peras, pêssegos, morangos, cenouras e maçãs, no controle de fungos e

tempo de prateleira, também é utilizado em depuração de micotoxinas e resíduos de pesticidas (GABLER, et al., 2010; PEZZI, 2009).

Segundo Silva et al. (2011) o gás ozônio é considerado seguro, de acordo com a “General Recognized As Safe” (GRAS). Em 1982, no Brasil, foi iniciada a utilização do ozônio em métodos como pré-coloração e pré-aeração, e em 1983 no tratamento de água.

Em 2001 a GRAS declarou que o ozônio era seguro como aditivo utilizado em alimentos (SILVA & GONÇALVES, 2013).

De acordo com Li et al. (2012), a elevada concentração de O₃ afeta a microbiota da cadeia alimentar sendo estas sensíveis à concentração do gás, em estudo realizado com o trigo ozônio-tolerante e trigo sensível ao ozônio, havendo diferença na sua sensibilidade ao ozônio e influências nos processos de decomposição e renovação de nutrientes nos agroecossistemas.

Segundo Pezzi (2009), o gás ozônio possui características como forte odor e ao ser inalado por longos períodos e altas concentrações, podem ocorrer lacrimação, náuseas, cefaleias e irritação das vias respiratórias. Em virtude desses efeitos ao manipulador, o órgão que trata da saúde ocupacional (Occupational Safety and Health Association-OSHA), definiu limites de exposição ao gás durante longo e curto tempo, de acordo com a jornada de trabalho.

O ozônio é um poderoso agente desinfetante com eficácia comprovada na eliminação de fungos, bactérias, protozoários, vírus, rompendo sua membrana celular por possuir ação oxidante (ALENCAR et al., 2011; GABLER et al., 2010).

O gás ozônio pode ser gerado no local, por meio de um aparelho gerador do gás sem a necessidade de manipulação e armazenamento, possui meia-vida curta, não tóxico e solúvel em água. O ozônio vem sendo utilizado para o tratamento de água potável, efluentes domésticos, branqueamento de celulose, na indústria alimentícia e na agricultura (ROZADO et al., 2008; MLLER et al., 2013).

O uso do O₃ em grãos armazenados é uma alternativa que vem sendo utilizada para melhorar sua qualidade, pois altos custos com insumos podem ser minimizados e menores perdas na produção, pois o ozônio possui potencial para controlar fungos, insetos-praga e permitir maior tempo de armazenagem dos produtos (PEREIRA et al., 2008).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBONICO, M.; SCHUTZ, L.F.; CALONI, F.; CORTINOVIS, C.; SPICER, L.J. Toxicological effects of fumonisin B₁ alone and in combination with other fusariotoxins on bovine granulosa cells. **Toxicon**, v.118, p.47-53, 2016.

ALENCAR, E.R.; FARONI, L.R.D.; MARTINS, M.A.; COSTA, A.R.; CECON, P.R. Decomposition kinetics of gaseous ozone in peanuts. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.31, n.5, p.930-939, 2011.

ALMEIDA, D.P.; RESENDE, O.; COSTA, L.M.; MENDES, U.C.; SALES, J.F. Cinética de secagem do feijão adzuki (*vigna angularis*). **Global Science and Technology**, v.2, n.1, p.72-83. 2009.

ALOMIRAH, H.; AL-ZENKI, S.; AL-HOOTI, S.; ZAGHLOUL, S.; SAWAYA, W.; AHMED, N.; KANNAN, K. Concentrations and dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from grilled and smoked foods. **Food Control**, v.22, n.12, p.2028-2035, 2011.

CAMARGO, M. C. R.; TOLEDO, M. C. F. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian vegetables and fruits. **Food Control**, v.14, p.49-53, 2003.

CAMILO, J.S.; BARBIERI, V.H.B.; RANGEL, R.M.; BONNAS, D.S.; LUZ, J.M.Q.; OLIVEIRA, R.C. Aceitação sensorial de híbridos de milho doce e híbridos de milho verde em intervalos de colheita. **Revista Ceres**, v. 62, n.1, p. 001-008, 2015.

CENDOYA, E.; MONGE, M.P.; PALACIOS, S.A.; CHIACCHIERA, S.M.; TORRES, A.M.; FARNOCHI, M.C.; RAMIREZ, M.L. Fumonisin occurrence in naturally contaminated wheat grain harvested in Argentina. **Food Control**, v.37, p.56-61, 2014.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO
COMPANHAMENTO DA SAFRA BRASILEIRA DE GRÃOS / Nono levantamento - 06/2016. < Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_06_09_16_49_15_boletim_graos_junho_2016_-_final.pdf>

COMMISSION RECOMMENDATION OF 4 FEBRUARY 2005 (2005/108/EC) on the further investigation into the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in certain foods. **Official Journal of the European Union**, v.34, n.256, p.43-45, 2005.

CORRÊA, P.C.; RESENDE, O.; MARTINAZZO, A.P.; GONELI, A.L.D.; BOTELHO, F.M. Modelagem matemática para a descrição do processo de secagem do feijão (*phaseolus vulgaris* L.) em camadas delgadas. **Engenharia Agrícola**, v.27, n.2, p.501-510, 2007.

DUARTE, J.O.; GARCIA, J.C.; MIRANDA, R.A. Economia da Produção. Embrapa Milho e Sorgo, ed. 7, 2011.

GABLER, F.M.; SMILANICK, J.L.; MANSOUR, M.F.; KARACA, H. Influence of fumigation with high concentrations of ozone gas on postharvest gray mold and fungicide residues on table grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v.55, n.02, p.85-90, 2010.

GIROLAMO, A.D.; LATTANZIO, V.M.T.; SCHENA, R.; VISCONTI, A.; PASCALE, M.; Effect of alkaline cooking of maize on the content of fumonisins B1 and B2 and their hydrolysed forms. **Food Chemistry**, v.192, p.1083–1089, 2016.

GOLGE, O.; HEPSAG, F.; KABAK, B. Determination of aflatoxins in walnut sujuk and Turkish delight by HPLC-FLD method. **Food Control**, v.59, p.731-736, 2016.

HALL, C.W. *Drying and storage of agricultural crops*. Westport: AVI, 1980. 381 p.
ISIKBER, A.A; ATHANASSIOU, C.G. The use of ozone gas for the control of insects and micro-organisms in stored products. **Journal of Stored Products Research**, p.139–145, 2015.

IARC. INTERNATIONAL AGENCY OF RESEARCH ON CANCER. Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. IAC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, v.56, p.245-395, 1993.

KARA, G.N.; OZBEY, F.; KABAK, B. Co-occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in cereal flours commercialised in Turkey. **Food Control**, v.54, p.275-281, 2015.

KIRINCIC, S.; SKRJANC, B.; KOS, N.; KOZOLC, B.; PIRNAT, N.; TAVCAR-KALCHER, G. Mycotoxins in cereals and cereal products in Slovenia – Official control of foods in the years 2008–2012. **Food Control**, v.50, p.157-165, 2015.

KLAUTAU, J.V.P. **Análise experimental de uma fornalha a lenha de fluxo cocorrente para secagem de grãos**. 2008. 193 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental) apresentada à Universidade Federal do Paraná. Paraná, 2008.

LAI, X.; LIU, R.; RUAN, C.; ZHANG, H.; LIU, C. Occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in rice samples from six provinces in China. **Food Control**, v.50, p.401-404, 2015.

LACERDA FILHO, A.F. **Avaliação de diferentes sistemas de secagem e suas influências na qualidade do café (*Coffea arabica* L.)**. 1986. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) apresentada à Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 1986.

LEE, J.; HER, J-Y.; LEE, K-G. Reduction of aflatoxins (B1, B2, G1, and G2) in soybean-based model systems. **Food Chemistry**, v.189, p.45–51, 2015.

LI, Q.; BAO, X.; LU, C.; ZHANG, X.; ZHU, J.; JIANG, Y.; LIANG, W. Soil microbial food web responses to free-air ozone enrichment can depend on the ozone-tolerance of wheat cultivars. **Soil Biology & Biochemistry**, v.47, p.27-35, 2012.

MASOOD, M.; IQBAL, S.Z.; ASI, M.R.; MALIK, N. Natural occurrence of aflatoxins in dry fruits and edible nuts. **Food Control**, v.55, p.62-65, 2015.

MATUMBA, L.; VAN POUCKE, C.; MONJEREZI, M.; EDIAGE, E.N.; SAEGER, S. Concentrating aflatoxins on the domestic market through groundnut export: A focus on Malawian groundnut value and supply chain. **Food Control**, v.51, p. 236-239, 2015.

MAZIERO, M.T.; BERSOT, L.S. Micotoxinas em alimentos produzidos no brasil. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.12, n.1, p.89-99, 2010.

MILLER, F.A.; SILVA, C.L.M.; BRANDÃO, T.R.S. A Review on Ozone-Based Treatments for Fruit and Vegetables Preservation. **Food Engineering Reviews**, v.5, n.2, p.77-106, 2013.

OLIVEIRA, D.E.C.; RESENDE, O.; SMANIOTTO, T.A.S.; CAMPOS, F.C.; CHAVES, T.H. Cinética de secagem dos grãos de milho. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, v.11, n.2, p. 190-201, 2012.

PALACIOS, S.A.; SUSCA, A.; HAIDUKOWSKI, M.; STEA, G.; CENDOYA, E.; RAMÍREZ, M.L.; CHULZE, S.N.; FARNOCHI, M.C.; MORETTI, A.; TORRES, A.M. Genetic variability and fumonisin production by *Fusarium proliferatum* isolated from durum wheat grains in Argentina. **International Journal of Food Microbiology**, v.201, p.35-41, 2015.

PARAÍBA, L.C.; QUEIROZ, S.C.N.; MAIA, A.H.N.; FERRACINI, V.L. Bioconcentration fator estimates of polycyclic aromatic hydrocarbons in grains of corn plants cultivated in soils treated with sewage sludge. **Science of the Total Environment**, v. 408, p.3270-3276, 2010.

PEREIRA, A.M.; FARONI, L.R.D.; SILVA JÚNIOR, A.G.; SOUSA, A.H.; PAES, J.L. Viabilidade econômica do gás ozônio como fumigante em grãos de milho armazenados. **Engenharia na Agricultura**, v.16, n.2, p.144-154, 2008.

PEZZI, E. **O uso do ozônio como sanitizante em pós-colheita de produtos agrícolas**. 2009. Monografia (Especialista em Fotossanidade), apresentado à Universidade Federal de Porto Alegre. Porto Alegre-RS, 2009.

PICCIN, J.S.; RISSINI, A.L.; FREDDI, J.J.; KOCH, M.M.; BRIÃO, V.B.; HEMKEMEIER, Marcelo. Otimização de sistema de autoaspiração de ar tipo Venturi para tratamento de água ferruginosa. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, n.5, p.531-537, 2010.

PINTO, A.P.; LANÇANOVA, J.A.C.; LUGÃO, S.M.B.; ROQUE, A.P.; ABRAHÃO, J.J.S.; OLIVEIRA, J.S.; LEME, M.C.J.; MIZUBUTI, I.Y. Avaliação de doze cultivares de milho (*Zea mays* L.) para silagem. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 4, p. 1071-1078, 2010.

ROCHA, M.E.B.; FREIRE, F.C.O.; MAIA, F.E.F.; GUEDES, M.I.F.; RONDINA, D. Mycotoxins and their effects on human and animal health. **Food Control**, v.36, n.1, p.159-165, 2014.

RODRÍGUEZ-CARRASCO, Y.; FATTORE, M.; ALBRIZIO, S.; BERRADA, H.; MAÑES, J. Occurrence of *Fusarium* mycotoxins and their dietary intake through beer consumption by the European population. **Food Chemistry**, v.178, p.149-155, 2015.

RODRIGUES, M.B. **Efeito do gás ozônio na qualidade micotoxicológica de arroz (*Oryza sativa* L.) em casca durante a armazenagem**. 2013. Dissertação (Mestre em Ciência dos Alimentos), apresentado à Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis-SC. 2013.

ROZADO, A.; FARONI R.L.D'A.; URRUCHI, W.M.I.; GUEDES, R.N.C.; PAES, J.L. Aplicação de ozônio contra *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, n.3, p.282-285, 2008.

RUYCK, K.; BOEVRE, M.; HUYBRECHTS, I.; SAEGER, S. Dietary mycotoxins, co-exposure, and carcinogenesis in humans: Short review. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v.766, p.32-41, 2015.

SILVA, A.M.M.; GONÇALVES, A.A. Potencialidade do uso de água ozonizada no processamento de peixes. **Acta Pesca**, v.2, n.1, p.1-14, 2013.

SILVA, S.B.; LUVIELMO, M.M.; GEYER, M.C.; PRÁ, I. Potencialidades do uso do ozônio no processamento de alimentos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.32, n.2, p.659-682, 2011.

SOUSA, M.M.; NASCIMENTO, V.L.V. Benzo(a)pireno em alimentos. **Revista Acta Tecnológica**, v.5, n.1, 2010.

TFOUNI, S.A.V.; TOLEDO, M.C.F. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in cane sugar. **Food Control**, v.18, n.8, p.948-952, 2007.

TIECKER JUNIOR, A.; GUIMARÃES, L.E.; FERRARI FILHO, E.; CASTRO, B.; DEL PONTE, E.M.; DIONELLO, R.G. Qualidade físico-química de grãos de milho armazenados com diferentes umidades em ambientes hermético e não hermético. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.13, n.2, p. 174-186, 2014.

TIWARI, B.K.; BRENNAN, C.S.; CURRAN, T.; GALLAGHER, E.; CULLEN, P.J.; O'DONNELL, C.P. Aplicação de ozono no tratamento de cereais. **Journal of Cereal Science**, v.51, n.3, p.248-255, 2010.

WAN, AINIZA, W.M.; JINAP, S.; SANNY, M. Simultaneous determination of aflatoxins and ochratoxin A in single and mixed spices. **Food Control**, v.50, p.913-918, 2015.

WANG, W.; SIMONIC, S.; GIRI, B.; CHANG, Y.; ZHANG, Y.; JIA, Y.; TAO, S.; WANG, R.; WANG, B.; LI, W.; CAO, J.; LU, X. Atmospheric concentrations and air-soil gas exchange of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in remote, rural village and urban areas of Beijing – Tianjin region, North China. **Science of The Total Environment**, v.409, p.2942-2950, 2011.

XU, X.; HU, H.; KEARNEY, G.D.; KAN, H.; SHEPS, D.S. Studying the effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on peripheral arterial disease in the United States. **Science of the Total Environment**, v.461-462, p.341-347, 2013.

ZONTA, J.B.; ARAUJO, E.F.; ARAUJO, R.F.; DIAS, L.A.S. Diferentes tipos de secagem: efeitos na qualidade fisiológica de sementes de pinhão-mansão. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.4, 2011.

OBJETIVOS

Geral

Verificar o potencial do gás ozônio na descontaminação de aflatoxinas e na degradação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's) em grãos de milho.

Específicos

Determinar as aflatoxinas e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos presentes em grãos de milho, por meio de análises cromatográficas;

Verificar o melhor tempo de exposição dos grãos de milho ao gás ozônio para promover a descontaminação das micotoxinas e HPA's;

Avaliar os efeitos do gás ozônio na qualidade dos grãos de milho.

CAPÍTULO I

OZÔNIO NA DESCONTAMINAÇÃO DE AFLATOXINAS EM GRÃOS DE MILHO

RESUMO

Os cereais são amplamente consumidos no mundo, destacando-se o milho (*Zea mays L.*) que está sujeito a contaminação por fungos que são produtores de micotoxinas. Com o intuito de preservar os alimentos de contaminações provenientes de microrganismos, o ozônio tem sido uma alternativa eficaz tendo ação antimicrobiana. Assim, objetivou-se com este trabalho verificar o efeito da utilização do gás ozônio na descontaminação de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ e avaliação da qualidade dos grãos de milho. A concentração de ozônio utilizada foi de 1,74 mg L⁻¹ e os tempos de exposição foram de 0, 2, 4 e 6 horas, com teor de água em torno de 4% (b.u.) no tratamento com secagem e aproximadamente 13% (b.u.) sem secagem por convecção. Os tratamentos foram secagem por convecção natural em fôrnelha de fogo direto e sem secagem. As análises realizadas nos grãos foram o teor de água, condutividade elétrica, porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, análise de cor (parâmetros L, a*, b*, °h e C), proteína bruta, fibra bruta, extrato etéreo, carboidrato e cinza. Para o teor de água, condutividade elétrica, porcentagem de germinação, IVG e grãos fermentados houve efeito do ozônio e para os parâmetros L, a*, b* e grãos ardidos houve efeito da secagem e dos tempos de ozonização. A secagem influenciou no teor de água, cinza,

lipídeos e carboidrato. O tempo de ozonização mostrou ter eficiência para descontaminar as AFG₁ e AFB₂ para ambos os tratamentos, para as AFB₁ e AFG₂ o tempo de ozonização não foi eficiente. Pode-se concluir que o ozônio influenciou na qualidade dos grãos de milho, porém os tempos de ozonização não foram suficientes para descontaminar todas as aflatoxinas presentes nos grãos de milho.

ABSTRACT

Cereals are widely consumed in the world, especially maize (*Zea mays* L.) that is subject to contamination by fungi that produce mycotoxins. In order to protect the food from microorganisms' contamination, ozone has been an effective alternative with antimicrobial action. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of the use of ozone gas in the decontamination of aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ and evaluating the quality of maize grain. The concentration of ozone used was 1.74 mg L⁻¹ and exposure times were 0, 2, 4 and 6 h, with a moisture content around 4% (b.u.) in the drying and treatment with approximately 13% (b.u.) without convection drying. The treatments were drying by natural convection in direct fire furnace and without drying. There were evaluated in the grains there moisture content, electrical conductivity, germination percentage, germination speed index, color analysis (parameters L, a *, b * ° h and C), crude protein, crude fiber, ether extract, carbohydrate and ash. For the moisture content, electrical conductivity, germination percentage, IVG and fermented grains was no effect of ozone and the parameters L, a*, b* and rot grains was no effect of drying and ozonation times. Drying influenced the moisture content, ash, lipids and carbohydrates. The ozonation was shown to be efficient to decontaminate the efficiency and AFG₁ AFB₂ for both treatments, for AFB₁ and AFG₂ ozonation was not efficient. It can be concluded that the ozone does not influence the quality of maize, but the ozonation time were not sufficient to decontaminate all present aflatoxins in corn grain.

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um cereal amplamente consumido por possuir componentes essenciais que oferecem energia como carboidratos, proteína e lipídeos, sendo utilizados em diversas aplicações tanto na alimentação humana como animal (RAHMAN & ROSLI, 2014).

De acordo com Sithitrai et al. (2015), foram estudados compostos bioativos em grãos de milho, por possuírem fitoquímicos semelhantes aos carotenoides, compostos fenólicos e antocianinas; estes por sua vez, possuem ação antioxidante. Além disso, outros carotenoides também estão presentes no milho, como a luteína e a zeaxantina. Pertence à família *Poaceae* seu ciclo é anual, possui alta taxa de fotossíntese, mas com baixo ponto de compensação de CO₂ (BEZERRA et al., 2010).

No campo, o milho é uma cultura susceptível à proliferação de micotoxinas que são provenientes de fungos filamentosos como *Aspergillus* e *Penicillium* por meio de seu metabolismo secundário. Os alimentos podem ser contaminados pelas micotoxinas no momento da armazenagem ou ainda no campo e os cereais ricos em carboidratos são os mais afetados. As principais classes de micotoxinas são aflatoxinas (B₁, B₂, G₁, G₂), ocratoxina A, zearalenona e deoxinivalenol, estas por sua vez possuem propriedades carcinogênicas (IQBAL et al., 2014; KARA et al., 2015; MATA et al., 2015).

Na busca pela preservação das características dos alimentos, descontaminação por microrganismos e tempo de prateleira, diversos métodos podem ser utilizados para este fim, como o uso do calor, da refrigeração, processos químicos e biológicos (MILLER et al., 2013).

Para evitar perdas nos processos de preservação dos alimentos, são utilizadas formas alternativas para preservá-los. Assim, o gás ozônio (O₃) é uma alternativa, pois é de fácil aplicação, pode ser gerado no local, por meio da descarga elétrica. O ozônio está sendo empregado em várias áreas, principalmente na indústria de alimentos pelo seu potencial descontaminante de uma gama de microrganismos, como vírus, bactérias e fungos e sua ação como agente oxidante se deve pela destruição da membrana plasmática de microrganismos, (MILLER et al., 2013; ROZADO et al., 2008; SANTOS et al., 2016; TIWARI et al., 2010).

Outra aplicação do O₃ é no armazenamento de grãos, uma vez que, os grãos estão frequentemente submetidos a diversos fatores tais como físicos, químicos e biológicos, que interferem em sua qualidade e conservação e também está sendo utilizado no controle de insetos durante o armazenamento (ROZADO et al., 2008).

Assim, objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito do gás ozônio aplicado em diversos tempos de exposição na descontaminação de aflatoxinas e na qualidade dos grãos de milho.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para a condução do experimento foram utilizados grãos de milho (*Zea mays* L.) produzidos na região de Rio Verde - GO, fornecidos pela empresa CARAMURU S/A. As amostras foram analisadas no Laboratório de Pós-Colheita de Produtos Vegetais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano (IF Goiano - Campus Rio Verde).

Uma parte dos grãos foi submetida à secagem por convecção de ar natural utilizando fornalha de fogo direto. Como combustível foram utilizados cavacos de eucalipto com tamanho ± 3 a 5 cm, controlando a temperatura do ar de secagem em torno de 55 °C por cerca de quatro horas. As amostras foram analisadas em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Arranjo de Diodo (CLAE-DAD) a fim de identificar as micotoxinas presentes nas amostras. Após as análises cromatográficas, os grãos passaram por fumigamento com o gás ozônio. Para a obtenção do ozônio (O₃) e funcionamento do sistema de aplicação do gás foi utilizado um equipamento gerador de ozônio VEC-XT da empresa parceira Interozone do Brasil LTDA. A exposição dos grãos de milho ao ozônio foi realizada conforme a metodologia descrita por Pereira et al. (2008), sendo utilizado o nível máximo de geração do gás com concentração de 1,74 mg L⁻¹.

Os grãos de milho foram divididos em parcelas de 1,0 kg para cada repetição e acondicionados em um recipiente de Policloreto de vinila (PVC) hermeticamente fechado com as dimensões de 0,40 x 0,45 x 0,55 m e acoplado ao gerador de ozônio, conforme ilustrado nas Figuras 1 e 2.



Figura 1. Detalhamento do aparelho gerador de ozônio vista lateral (A) e vista superior (B).



Figura 2. Esquema para o processo de ozonização (equipamento gerador de ozônio acoplado ao fundo do primeiro recipiente).

No fundo e na lateral superior direita de um dos compartimentos foram instaladas conexões de entrada e saída do gás. A 10 cm do fundo do recipiente, foi colocada uma tela milimetrada de polietileno para a sustentação dos grãos e formação de uma câmara plenum, para melhor distribuição do gás. A lateral de exaustão é conectada a outro recipiente de dimensões idênticas para a liberação do ozônio residual antes de ser lançado na atmosfera, de modo a garantir a neutralidade do “efeito parede”.

A concentração de ozônio foi determinada pelo método iodométrico, descrito por Clesceri et al. (2000). Para relacionar a concentração residual do gás ozônio com o tempo, foi realizado ajuste da equação sigmoideal aos dados obtidos (Equação 1):

$$C = \left[\frac{a}{1 + e^{-(t-b)/c}} \right] \quad (1)$$

Em que:

C = Concentração do gás ozônio (ppm);

t = tempo (min);

a, b e c = constantes .

A partir dos valores das constantes b e c, de acordo com Venegas et al. (1998), é possível obter o tempo de saturação para cada combinação e vazão do gás (Equação 2):

$$t_{sa} = b + 2c \quad (2)$$

Em que:

t_{sat} = tempo de saturação (min);

b e c = constantes.

A concentração do ozônio foi de $1,74 \text{ mg L}^{-1}$ e tempo de saturação foi de 112 min.

Para a ozonização dos grãos de milho com e sem secagem por convecção foram utilizados os tempos de exposição de 0, 2, 4, e 6 horas com temperatura média do ambiente de $28,8 \pm 1,4 \text{ }^\circ\text{C}$ e umidade relativa do ar (UR) de $56,5 \pm 6,9\%$.

A identificação das aflatoxinas foi realizada utilizando cromatografia líquida de alta eficiência com arranjo de diodo (HPLC/DAD), tendo como padrão utilizado Aflatoxin Mix, Varied in benzene: acetonitrile (98:2), colum: ascentis express C18 (15 cm x 2,1 mm x 2,7 μm) 60:40 water: acetonitrile/metanol (50/50), Sigma-Aldrich.

Nos grãos de milho foram avaliados o teor de água (TA) de acordo com ASAE (2003), porcentagem de germinação (%G) e índice de velocidade de germinação (IVG) segundo o método de Maguire (1962), condutividade elétrica (CE) de acordo com o método de Vieira e Krzyzanowski (1999), classificação dos grãos de acordo com Brasil (2010), análise de cor levando em consideração os parâmetros L^* , a^* , b^* , assim como a composição centesimal com grãos triturados sendo: proteínas, lipídeos, fibra bruta, cinzas, teor de água e carboidratos de acordo com Silva e Queiroz (2006).

O experimento foi realizado utilizando delineamento inteiramente ao acaso (DIC) em esquema fatorial com dois tratamentos de secagem (com e sem secagem por convecção) e quatro tempos de ozonização (0, 2, 4 e 6 horas). Os dados foram analisados por meio de análise de variância considerando um nível de significância de 5%. Para o fator qualitativo, as médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey adotando o nível de 5% de significância. Para o fator quantitativo, os modelos foram selecionados com base na significância da equação, pelo teste F, na significância dos coeficientes de regressão, adotando o nível de 5% de significância e no coeficiente de determinação (R^2 para regressão polinomial).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resumo da análise de variância e os valores dos quadrados médios das variáveis analisadas estão apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3.

Tabela 1. Resumo da análise de variância com os valores do quadrado médio para o teor de água, condutividade elétrica, porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, grãos fermentados e ardidos nos tratamentos com e sem secagem por convecção para diversos tempos de ozonização

FV	GL	TA	CE	%G	IVG	Fermentados	Ardidos
Tratamento (Trat)	1	611,70 ^{**}	2552,71 ^{**}	16774,59 ^{**}	886,23 ^{**}	9405,00 ^{**}	572,33 ^{**}
Tempo O ₃ (T)	3	0,05 ^{NS}	22,35 [*]	9,65 [*]	0,85 ^{NS}	17,26 ^{NS}	24,38 [*]
Trat xT	3	0,11 ^{NS}	27,20 ^{**}	8,68 [*]	0,75 ^{NS}	18,50 ^{NS}	24,38 [*]
Resíduo	16	0,02	4,85	12,35	1,28	18,24	5,95
CV%		1,49	6,35	11,03	18,60	19,48	49,94
Média geral		9,71	34,65	31,85	6,09	21,93	4,88

^{**}Significativo a 1% pelo teste F; ^{*}Significativo a 5% pelo teste F; NS Não significativo.

Tabela 2. Resumo da análise de variância com os valores do quadrado médio para os parâmetros de cor: L*, a* e b* com e sem secagem por convecção para diversos tempos de ozonização

FV	GL	L*	a*	b*
Tratamento (Trat)	1	1915,19 ^{**}	6,52 ^{**}	42,22 ^{**}
Tempo O ₃ (T)	3	3,04 [*]	0,30 [*]	7,60 ^{**}
Trat xT	3	2,14 [*]	0,12 [*]	7,97 ^{**}
Resíduo	16	1,06	0,29	1,30
CV%		1,80	3,92	3,29
Média geral		57,24	13,71	34,69

^{**}Significativo a 1% pelo teste F; ^{*}Significativo a 5% pelo teste F; NS Não significativo.

Em todas as variáveis houve efeito do tratamento. Para CE, %G, L*, a*, b* e grãos ardidos houve efeito na interação Tratamento x Tempo. Para os grãos ardidos também houve efeito nos tempos de exposição. Para o teor de água e o índice de velocidade de germinação o tempo de ozonização não interferiu nos resultados, apenas o tratamento com e sem secagem por convecção teve efeito.

Na Figura 3, são apresentadas as médias de condutividade elétrica da solução de embebição do milho com e sem secagem por convecção.

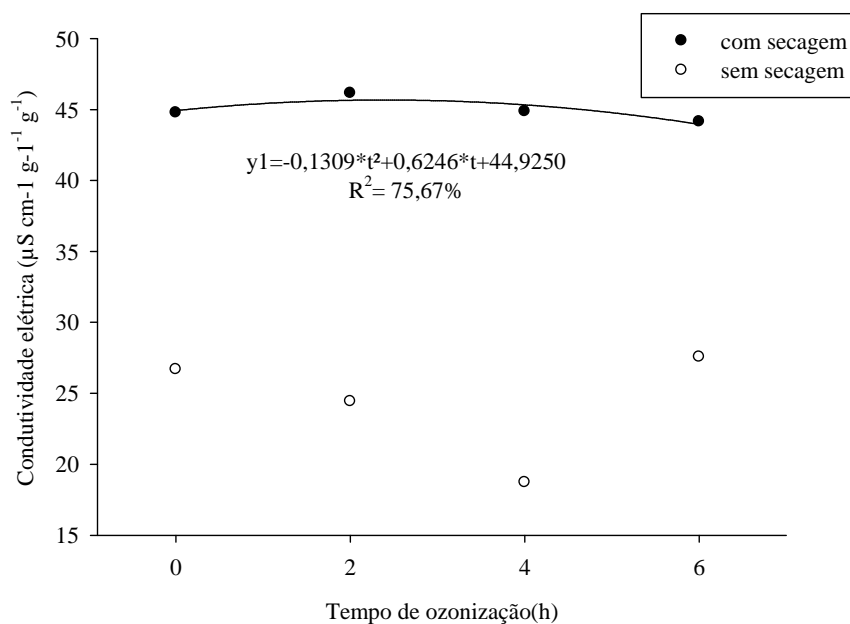


Figura 3. Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) da solução de embebição de grãos de milho em diferentes tempos de ozonização com dois tratamentos com e sem secagem por convecção.

Observa-se que a condutividade elétrica no tratamento com secagem por convecção apresenta maiores valores que os grãos sem secagem (Figura 3). A condutividade elétrica foi maior nos grãos submetidos à secagem e ozonizados por 2 horas e o ajuste da equação quadrática para o tratamento sem secagem mostrou que seu ponto máximo foi de 44,48 em 2,38 horas. As médias dos grãos sem secagem não apresentaram tendência, portanto não houve ajuste matemático. De acordo com Vieira e Krzyzanowski (1999), quanto menores os valores de condutividade, menor é a liberação de lixiviados, indicando melhor integridade dos grãos.

Faroni et al. (2005) em trabalho realizado sobre a avaliação qualitativa e quantitativa do milho em diferentes condições de armazenamento verificaram que com o aumento da temperatura os valores de condutividade elétrica aumentam, sendo importante indicativo da perda da qualidade dos grãos nos processos de secagem. O mesmo resultado foi encontrado por Rozado et al. (2008) em trabalho realizado sobre aplicação de ozônio para controle de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* em milho armazenado e também verificaram o aumento da CE nos grãos de milho em atmosfera modificada com o gás ozônio no tempo de 264 horas.

Silva (2013) em trabalho realizado com eficácia do ozônio em grãos de trigo infestados com *Rhizopertha dominica* encontrou decréscimo nos resultados de condutividade elétrica dos grãos ozonizados em relação ao controle (sem ozonização).

Ao contrário, Brito Júnior (2013) em trabalho com ozônio como agente fungicida e seu efeito na qualidade dos grãos de milho verificou que o O₃ não interferiu nos resultados de CE, utilizando tempos de 0, 10, 20, 30 e 50 horas de fumigamento com o gás.

Na Tabela 3, estão apresentadas as médias das análises dos teores de água, porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, L* e a* do milho nos tratamentos com e sem secagem.

Tabela 3. Teor de água, porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, L* e a* do milho com e sem secagem por convecção natural nos diferentes tempos de ozonização

Tratamento	TA% (bu)	%G	IVG	L*	a*
Com secagem	4,66 a	5,42 a	0,01 a	48,31 a	14,23 b
Sem secagem	14,76 b	58,29 b	12,16 b	66,17 b	13,19 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5% de significância.

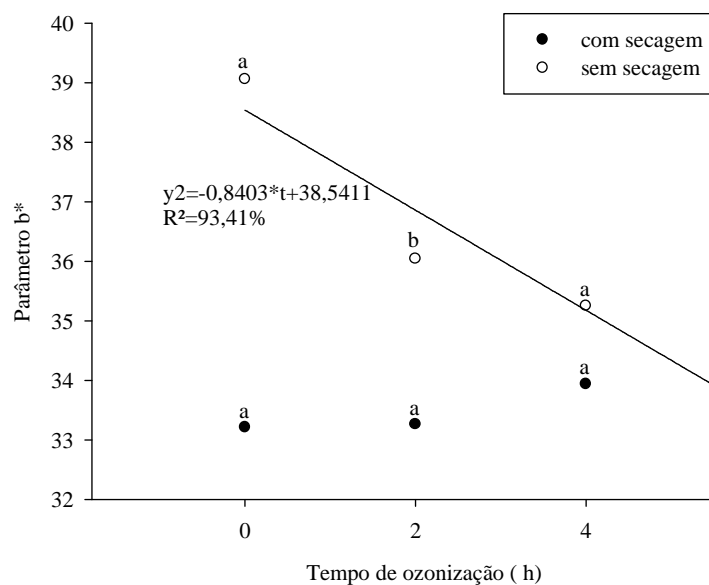
O teor de água dos grãos submetidos à secagem reduziu em torno de 10 pontos percentuais da água. Com a secagem dos grãos reduziu-se a %G e IVG, concordando com os resultados obtidos por Ullmann et al. (2010) e verificaram que a temperatura de secagem interferiu na qualidade fisiológica das sementes de pinhão-manso.

Os grãos submetidos à secagem tenderam para redução da luminosidade, pois adquiriram a coloração marrom. No parâmetro a*, em que se avalia do verde ao azul, com a secagem elevou-se a pigmentação mais azulada.

Na Figura 4, apresentam as médias do parâmetro b*. Nota-se que apenas no tempo de ozonização de 2 horas houve diferença no parâmetro b* tendendo ao vermelho, ou seja, perdeu a coloração amarela. No tratamento com a secagem houve a redução linear deste parâmetro em relação ao tempo de ozonização. Porém, no tratamento sem secagem não houve tendência em função do tempo.

Alencar et al. (2011) em trabalho realizado sobre efeito do processo de ozonização na qualidade de amendoim e óleo cru, observaram que o ozônio interferiu

na coloração dos grãos havendo a despigmentação, e o gás ozônio tem capacidade de degradação dos compostos orgânicos em alimentos.



Letras iguais no mesmo tempo de ozonização não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

Figura 4. Parâmetro b* dos grãos de milho com e sem secagem em diferentes tempos de ozonização.

Na Tabela 4, estão apresentados o resumo da análise de variância e o quadrado médio da composição centesimal dos grãos de milho: teor de água, cinza, proteína bruta, fibra bruta, lipídeo e carboidratos para os tratamentos com e sem secagem por convecção.

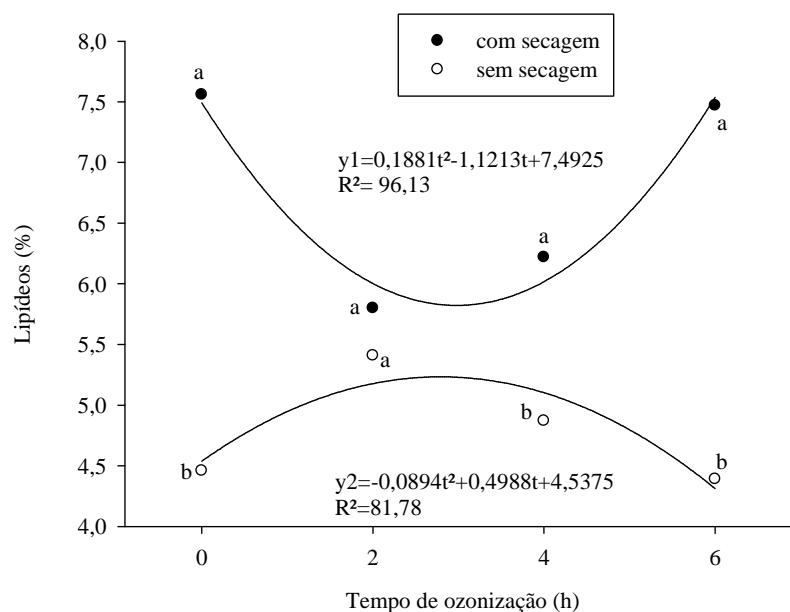
Tabela 4. Resumo da análise de variância com os valores do quadrado médio da composição centesimal: teor de água (TA), cinza, proteína bruta, fibra bruta, lipídeo e carboidratos do milho triturado, dos tratamentos com e sem secagem por convecção pelo tempo de ozonização

FV	GL	TA% (bu)	Cinza%	Proteína Bruta%	Fibra Bruta%	Lipídeos%	Carboidratos%
Tratamento (Trat)	1	420,61 ^{**}	18,47 ^{**}	0,01 ^{NS}	0,52 ^{NS}	23,51 ^{**}	162,08 ^{**}
Tempo O ₃ (T)	3	0,20 ^{NS}	0,69 ^{NS}	0,01 ^{NS}	0,34 ^{NS}	0,32 ^{NS}	1,62 ^{NS}
Trat x T	3	0,03 ^{NS}	0,49 ^{NS}	0,02 ^{NS}	0,23 ^{NS}	2,70 ^{**}	1,94 ^{NS}
Resíduo	16	0,03	0,37	0,01	0,20	0,26	2,06
CV (%)		1,86	11,31	14,36	14,01	8,83	1,93
Média Geral		8,87	5,39	0,83	3,18	5,77	74,41

^{**}Significativo a 1% pelo teste F; ^{*}Significativo a 5% pelo teste F; NS Não significativo.

Nota-se que o tratamento com e sem secagem teve efeito no teor de água, cinza, lipídeos e carboidrato. O tempo de ozonização não influenciou em nenhuma das variáveis e a interação tratamento e tempo de ozonização teve efeito apenas na variável teor de lipídeos.

Na Figura 5, estão apresentados os valores da porcentagem de lipídeos em função dos tempos de ozonização.



Letras iguais no mesmo tempo de ozonização não diferem de si pelo teste de Tukey a 5% de significância. Figura 5. Teor de lipídeos dos grãos de milho em função do tempo de ozonização e para o tratamento com e sem secagem.

Nota-se (Figura 5), que para os tempos de 2 e 4 horas houve redução no teor de lipídeos no tratamento com secagem, e no tempo de 6 horas houve aumento. Para o tratamento sem secagem, houve aumento do teor de lipídeo no tempo de 2 horas e redução para os tempos de 4 e 6 horas.

Os tratamentos com e sem secagem foram diferentes nos tempos de ozonização de 0, 4 e 6 horas e houve ajuste da equação quadrática para ambos os tratamentos.

Esses resultados mostram o contrário ao obtido por Alencar et al. (2011) em trabalho realizado com o efeito do processo de ozonização na qualidade de amendoim e óleo cru, em que observaram que os tempos de ozonização de 0, 24, 48, 72 e 96 horas não interferiram na porcentagem de lipídeos dos grãos de amendoim cru. O mesmo resultado foi encontrado por Roberto et al. (2016) com trabalho sobre saturação do ozônio em coluna de grãos de amendoim e efeito na qualidade, com tempos de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9 e 10 horas de ozonização e concentração de 1,50 e 2,78 mg L⁻¹ no qual os tratamentos não interferiram no teor de lipídeos dos grãos de amendoim.

Para a identificação das micotoxinas, na Figura 6 está apresentado o espectro dos padrões das aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂, analisados em cromatografia líquida de alta eficiência com arranjo de diodo (HPLC-DAD).

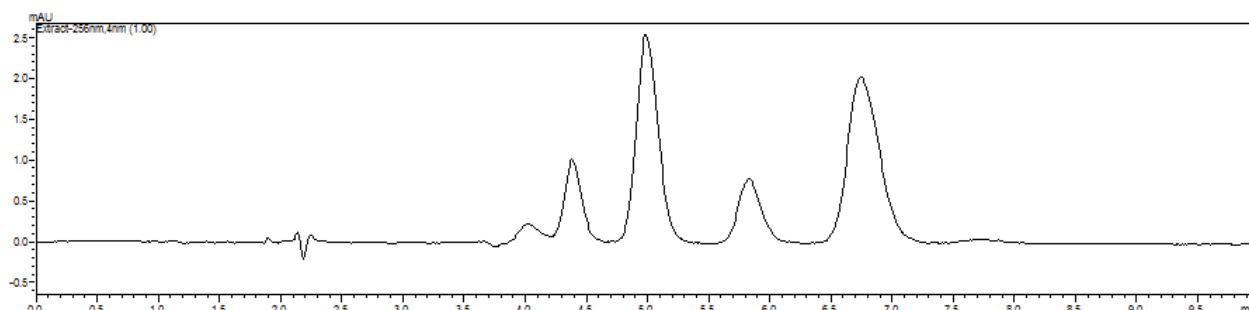


Figura 6. Espectro dos padrões Mix de aflatoxinas G₁, B₁, G₂ e B₂, com comprimento de onda de 254 nm.

As micotoxinas identificadas nesse trabalho foram as aflatoxinas (B₁, B₂, G₁ e G₂) em um comprimento de onda de 254 nm, utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodo e os padrões utilizados foram AFLA MIX Sigma Aldrich.

Na Figura 7, está apresentado o resultado obtido do espectro da amostra sem ozonização com as aflatoxinas (G₁, B₁, G₂, B₂) em comprimento de onda de 254 nm.

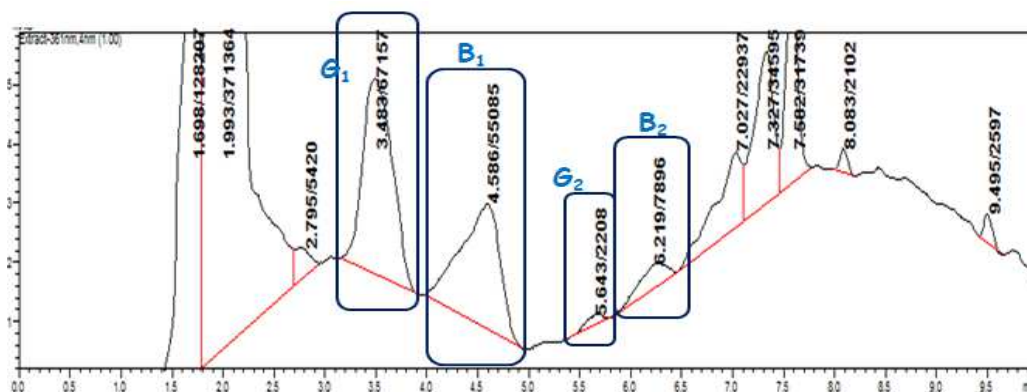


Figura 7. Espectro da amostra 01 com as aflatoxinas (G₁, B₁, G₂, B₂) em comprimento de onda de 254 nm.

Observa-se que no tempo de 3,483 min aparece o pico relacionado à aflatoxina G₁, a aflatoxina B₁ evidencia no tempo de 4,586 min, a aflatoxina G₂ aparece no tempo de 5,643 min e a aflatoxina B₂ é identificada no tempo de 6,219 min. Os resultados do espectro das amostras estão próximos aos padrões utilizados neste trabalho.

Nas Tabelas 5 e 6, estão apresentados os resultados da identificação das aflatoxinas nos grãos de milho em diferentes tempos de ozonização e em dois tratamentos: (1) com secagem e (2) sem secagem por convecção.

Tabela 5. Resultados dos espectros das amostras com presença e ausência de aflatoxinas AFG₁; AFB₁; AFG₂ e AFB₂ nos grãos de milho no tratamento com secagem para diferentes tempos de ozonização

Tratamento com secagem	Amostra	Tempo de O ₃ (h)	de	AFG ₁ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	AFB ₁ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	AFG ₂ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	AFB ₂ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
1	01	0h		P	P	P	P
1	02	0h		A	A	P	A
1	03	0h		A	A	A	A
1	04	2h		A	A	P	A
1	05	2h		A	P	P	A
1	06	2h		A	P	A	A
1	07	4h		A	P	P	A
1	08	4h		A	P	P	A
1	09	4h		A	P	A	A
1	10	6h		A	P	A	A
1	11	6h		P	P	A	A
1	12	6h		A	A	A	A

(P)Presença de aflatoxinas (A)Ausência de aflatoxinas

Tabela 6. Resultados dos espectros das amostras com presença e ausência de aflatoxinas AFG₁; AFB₁; AFG₂ e AFB₂ nos grãos de milho no tratamento sem secagem para diferentes tempos de ozonização

Tratamento sem secagem	Amostra	Tempo de O ₃ (h)	de	AFG ₁ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	AFB ₁ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	AFG ₂ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	AFB ₂ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
2	13	0h		A	A	P	A
2	14	0h		A	A	P	A
2	15	0h		A	A	P	A
2	16	2h		A	A	P	A
2	17	2h		A	A	P	A
2	18	2h		A	A	P	A
2	19	4h		A	A	P	A
2	20	4h		A	A	P	A
2	21	4h		A	A	P	A
2	22	6h		A	A	P	A
2	23	6h		A	A	P	A
2	24	6h		A	A	P	A

(P)Presença de aflatoxinas (A)Ausência de aflatoxinas

Como pode ser observado, nas Tabelas 5 e 6, notam-se a presença e ausência das aflatoxinas AFG₁, AFB₁, AFG₂ e AFB₂ para as vinte e quatro amostras analisadas. A AFG₁ esteve presente apenas nas amostras 01 e 11 do tratamento com secagem; AFB₁

esteve presente nas amostras 05, 06, 07, 08, 09, 10 e 11; AFG₂ ausente em 03, 06, 09, 10, 11 e 12 e a aflatoxina AFB₂ esteve presente apenas na amostra 01.

O tempo de ozonização mostrou ter eficiência para descontaminar as AFG₁ e AFB₂ para ambos os tratamentos com e sem secagem, apenas na amostra 11 do tratamento com secagem não houve efeito. Para as AFB₁ não foi satisfatório no tratamento com secagem, apenas nas amostras sem secagem pode ser observado efeito.

Para as AFG₂ o tempo de ozonização não foi eficiente persistindo em todas as amostras do tratamento sem secagem. Nas amostras 4, 5, 7 e 8 também não houve efeito.

De acordo com Luo et al. (2014) em trabalho realizado sobre desintoxicação de aflatoxinas em farinha de milho pelo ozônio, o gás teve efeito nas AFB₁, AFG₁ e AFB₂ durante 60 min, sendo condizente com o resultado deste trabalho, pois no tratamento 2 (sem secagem) houve efeito do ozônio estando ausente em todas as amostras deste tratamento e nos tempos de 2, 4 e 6 horas.

Chen et al. (2014) também observaram em trabalho sobre o efeito do ozônio em aflatoxinas e desintoxicação na qualidade nutricional de amendoins, que o ozônio teve efeito nas aflatoxinas com o tempo máximo de 30 min de exposição.

Raila et al. (2006) evidencia que o ozônio tem maior eficiência contra os fungos em maiores teores de água dos grãos. Este fato pode ter influenciado na eficiência do ozônio para descontaminação dos grãos de milho, pois no presente trabalho, os teores de água foram reduzidos.

4. CONCLUSÕES

O gás ozônio somente teve efeito na cor referente ao parâmetro b* e no teor de lipídeos dos grãos de milho;

A secagem dos grãos de milho por convecção reduziu a qualidade fisiológica dos grãos de milho;

Os tempos de ozonização utilizados não foram suficientes para descontaminar as aflatoxinas presentes nos grãos de milho.

5. AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal Goiano Campus Rio Verde; À Interozone do Brasil, pela disponibilidade do equipamento gerador de ozônio; à CARAMURU S/A por ceder os grãos de milho para pesquisa; ao CNPq pelo auxílio financeiro e ao Laboratório de Pós – Colheita de Produtos Vegetais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALENCAR, E.R.; FARONI, L.R.D.; SOARES, N.F.F.; CARVALHO, M.C.S.; PEREIRA, K.F. Effect of the ozonization process on the quality of peanuts and crude oil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, n.2, p.154–160, 2011.

ARAGÓN, A.; TOLEDANO, R.M.; VÁZQUEZ, A.; VILLÉN, J.; CORTÉS, J.M. Analysis of polycyclic aromatic hidrocarbons in aqueous samples by large volume injection gas chromatography-mass spectrometry using the through oven transfer adsorption desorption interface. **Talanta**, v.139, p.1-5, 2015.

ASAE. AMERICAN SOCIETY OF AGRICULTURAL ENGINEERS. ASAE EP496.2 Agricultural machinery management. In: ASAE Standards. 2003. St. Joseph: 2003. p. 366-372.

BEZERRA, A.K.P.; LACERDA, C.F.; HERNANDEZ, F.F.F.; SILVA, F.B.; GHEYI, H.R. Cowpea/corn crop rotation utilizing Waters of different] salinities. **Ciência Rural**, Santa Maria, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento técnico do milho**. Portaria nº 4, de 06/01/2010, D.O.U. 07/01/2010, Brasília/DF.

BRITO JÚNIOR, J.G. **Ozônio como agente fungicida e seu efeito na qualidade dos grãos de milho**. 2013. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) apresentada à Universidade Federal de Viçosa. Viçosa- MG, 2013.

CHEN, R.; MA, F.; LI, P.W.; ZHANG, W.; DING, X.X.; ZHANG, Q.; LI, M.; WANG, Y.R.; XU, B.C. Effect of ozone on aflatoxins detoxification and nutritional quality of peanuts. **Food Chemistry**, v. 146, p.284-288, 2014.

CLESCERI, L.S.; GREENBERG, A.E. EATON, A.D. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Denver: American Water Works Association, 2000. 1220p.

CUEVAS-RODRÍGUEZ, E.O.; VERDUGO-MONTOYA, N.M.; ÂNGULO-BEJARANO, P.I.; MILÁN-CARRILLO, J.; MORA-ESCOBEDO, R.; BELLO-PÉREZ, L.A.; GARZÓN-TIZNADO, J.A.; REUES-MORENO, C. Nutritional properties of tempeh flour from quality protein maize (*Zea mays* L.). **Food Science and Technology**, v.39, p.1072-1079, 2006.

FARONI, L.R.D.; BARBOSA, G.N.O.; SARTORI, M.A.; CARDOSO, F.S.; ALENCAR, E.R. Avaliação qualitativa e quantitativa do milho em diferentes condições de armazenamento. **Engenharia na Agricultura**, v.13, n.3, p.193-201, 2005.

GARCIA, L.F. **Detecção de fumonisinas e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em grãos de soja (*glycine max* l.) e efeito de diferentes temperaturas de secagem**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) apresentada à Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis-SC, 2015.

IQBAL, S.Z.; RABBANI, T.; ASI, M.R.; JINAP, S. Assessment of aflatoxins, ocratoxin A and zearalenone in breakfast cereals. **Food Chemistry**, v.157, p.257-262, 2014.

KARA, G.N.; OZBEY, F.; KABAK, B. Co-occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in cereal flours commercialised in Turkey. **Food Control**, v.54, p.275-281, 2015.

LI, X.; YANG, Y.; XU, X.; XU, C.; HONG, J. Air pollution from polycyclic aromatic hydrocarbons generated by human activities and their health effects in China. **Journal of Cleaner Production**, v.112, p.1360-1367, 2016.

LUO, X.; WANG, R.; WANG, L.; LI, Y.; WANG, Y.; CHEN, Z. Detoxification of aflatoxin in corn flour by ozone. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.94, n.11, 2014

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.02, n.01, p.176-177, 1962.

MATA, A.T.; FERREIRA, J.P.; OLIVEIRA, B.R.; BATORÉU, M.C.; CRESPO, M.T.B.; PEREIRA, V.J.; BRONZE, M.R. Bottled water: Analysis of mycotoxins by LC-MS/MS. **Food Chemistry**, v.176, p.455-464, 2015.

PAES, M.C.D. **Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho**. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento (MAPA). Sete Lagoas, MG. Dez. 2006.

PARAÍBA, L.C.; QUEIROZ, S.C.N.; MAIA, A.H.N.; FERRACINI, V.L. Bioconcentration fator estimates of polycyclic aromatic hydrocarbons in grains of corn plants cultivated in soils treated with sewage sludge. **Science of the Total Environment**, v. 408, p.3270-3276, 2010.

PEREIRA, A.M.; FARONI, L.R.D.; SILVA JÚNIOR, A.G.; SOUSA, A.H.; PAES, J.L. Viabilidade econômica do gás ozônio como fumigante em grãos de milho armazenados. **Engenharia na Agricultura**, v.16, n.2, p.144-154, 2008.

RAHMAN, N.A.; ROSLI, W.I.W. Nutritional compositions and antioxidative capacity of the silk obtained from immature and mature corn. **Journal of King Saud University-Science**, v.26, p.119-127, 2014.

RAMALHOSA, M.J.; PAÍGA, P.; MORAIS, S.; SOUSA, A.M.M.; GONÇALVES, M.P.; DELERUE-MATOS, C.; OLIVEIRA, M.B.P.P. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish: Optimisation and validation of microwave-assisted extraction. **Food Chemistry**, v.135, p.234-242, 2012.

RAILA, A.; LUGAUSKAS, A.; STEPONAVIČIUS, D.; RAILIENĖ, M.; STEPONAVIČIENĖ, A.; ZVICEVIČIUS, E. Application of ozone for reduction of mycological infection in wheat grain. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v.13, n.2, p.287-294, 2006.

ROBERTO, M.A.; ALENCAR, E.R.; FERREIRA, W.F. S.; MENDONÇA, M.A.; ALVES, H. Saturação do ozônio em coluna contendo grãos de amendoim e efeito na qualidade. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 19, 2016.

ROZADO, A.F.; FARONI, L.R.D.; URRUCHI, W.M.I.; GUEDES, R.N.C.; PAES, J.L. Aplicação de ozônio contra *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v.12, n.3, p.282–285, 2008.

SANTOS, R.R.; FARONI, L.R.D.; CECON, P.R.; FERREIRA, A.P.S. PEREIRA, O.L. Ozone as fungicide in rice grains. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.20, n.3, p.230–235, 2016.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. Análise de alimentos: Métodos químicos e biológicos. 3. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2006, 235p.

SILVA, G.N. **Eficácia do ozônio em grãos de trigo infestados com *rhizopertha dominica***. 2013. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) apresentado à Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG, 2013.

SILVA, R.B.; SILVA-JÚNIOR, E.V.; RODRIGUES, L.C.; ANDRADE, L.H.C.; SILVA, S.I.; HARAND, W.; OLIVEIRA, A.F.M. A comparative study of nutritional composition and potential use of some underutilized tropical fruits of Areaceae. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n.3, p. 1701-1709, 2015.

SITTHITRAI, K.; KETTHAISONG, D.; LERTRAT, K.; THANGWONGCHAI, R. Bioactive, antioxidante and enzyme activity changes in frozen, cooked, mini, super-sweet corn (*Zea mays* L. *saccharata* ‘Naulthong’). **Journal of Food Composition and Analysis**, v.44, p.1-9, 2015.

TFOUNI, S.A.V.; TOLEDO, M.C.F. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in cane sugar. **Food Control**, v.18, p.948–952, 2007.

ULLMANN, R.; RESENDE, O.; SALES, J.F.; CHAVES, T.H. Qualidade das sementes de pinhão manso submetidas à secagem artificial. **Revista Ciência Agronômica**, v.41, n.3, p.442-447, 2010.

VELA, N.; MARTÍNEZ-MENCHÓN, M.; NAVARRO, G.; PÉREZ-LUCAS, G.; NAVARRO, S. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v.32, p.32-40, 2012.

VIEIRA, R.D.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Eds.). Vigor de sementes: conceitos e testes, ed. **ABRATES**, Londrina, PR cap.4, p.1-26, 1999.

VIEIRA, M.A. **Análise de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (hpas) nas etapas do processamento da erva-mate (*ilex paraguariensis*) e caracterização química dos resíduos da trituração para o desenvolvimento de produto**. 2009. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) apresentada à Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis-SC, 2009.

WENZL, T.; SIMON, R.; KLEINER, J.; ANKLAM, E. Analytical methods for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in food and the environment needed for new food legislation in the European Union. **Trends in Analytical Chemistry**, v.25, n.7, 2006.

CAPÍTULO II

UTILIZAÇÃO DO GÁS OZÔNIO NA DEGRADAÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS E NA QUALIDADE DE GRÃOS DE MILHO

RESUMO

Dentre os alimentos que possuem fonte de energia, o milho é um cereal que apresenta características nutricionais relevantes. Entretanto, durante o pré-processamento está sujeito à contaminação por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), que são compostos considerados carcinogênicos, uma alternativa para a descontaminação é a utilização do gás ozônio (O₃). Assim, o objetivo neste trabalho foi verificar o efeito do gás ozônio em diferentes tempos de exposição na degradação de HPA's e na qualidade dos grãos de milho. Foram realizadas as avaliações de teor de água, condutividade elétrica, germinação, IVG, cor (parâmetros L*, a*, b*, °h e C*), composição centesimal e análises cromatográficas para a quantificação dos HPA's. A secagem por convecção em fornalha de fogo direto promove a contaminação dos grãos de milho por HPA's. Os tempos de ozonização não apresentaram influência na qualidade dos grãos de milho e também não promoveram a degradação dos HPA's detectados no produto.

ABSTRACT

Among the foods that have energy source, corn is a grain that has significant nutritional characteristics. However, it is subject to contamination by polycyclic aromatic

hydrocarbons (PAHs), which are considered carcinogenic compounds, so an alternative to the decontamination is the use of ozone gas (O₃). The objective of this study was to determine the effect of ozone gas at different exposure times in degradation (PAH's) and the quality of maize grain. There were evaluated the moisture content of evaluations were carried out, electrical conductivity, germination, IVG, color (L * parameters, a *, b *, C * and h °), chemical composition and chromatographic analysis to quantify the HPA's. The ozonation times showed no influence on the quality of maize grain and also did not promote the degradation of all the PAH's detected in the product.

1. INTRODUÇÃO

Para atender às necessidades tanto na alimentação humana e animal o milho que é um cereal expressivamente produzido e com características nutritivas e energéticas se tornou um dos grãos mais cultivados no mundo (CAMILO et al., 2015; PINTO et al., 2010; ROCHA-OLIVIERI et al., 2012).

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's) são compostos orgânicos formados pela combustão incompleta de materiais orgânicos. Eles são compostos por dois ou mais anéis benzênicos e são considerados contaminantes ambientais, podendo estar presentes no solo, na água, e no ar. Essa contaminação ambiental pode levar a contaminação de alimentos por HPA's ainda na lavoura. (CAMARGO & TOLEDO, 2003).

Os HPA's também são formados durante o processamento de alimentos em processos como defumação, secagem e torrefação, podendo estar presentes em uma série de produtos como óleos, gorduras, vegetais, frutas e café (CAMARGO et al., 2006; DRABOVA, et al., 2013; TFOUNI, et al., 2014; WANG et al., 2011; XU et al., 2013).

O JECFA (Comitê Conjunto FAO/OMS de Peritos em Aditivos Alimentares) considera 13 HPAs como sendo carcinogênicos e genotóxicos: benz[a]anthracene (BaA), chrysene (Chr), 5-methylchrysene (5MChr), benzo[j]fluoranthene (BjF), benzo[b]fluoranthene (BbF), benzo[k]fluoranthene (BkF), benzo[a]pyrene (BaP), dibenzo[a,l]pyrene (DalP), dibenz[a,h] anthracene (DahA), indeno[1,2,3-cd]pyrene (IcdP), dibenzo[a,e] pyrene (DaeP), dibenzo[a,i]pyrene (DaiP) and dibenzo[a,h]pyrene (DahP) (WHO, 2005). Sendo que o benzo(a)pireno está classificado no grupo 1A

(carcinogênico para humanos) pelo IARC (International Agency for Research on Cancer) (IARC, 2010).

A União Europeia estabelece limites máximos para quatro HPAs em algumas categorias de alimentos. Os limites variam de $1,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ a $6,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ para o BaP e de $1,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ a $30,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ para a soma de 4 HPAs (PAH4: BaA, Chr, BbF e BkF) (CEC, 2011). No Brasil, a legislação estabelece limites apenas para BaP nas seguintes categorias: água potável, aroma de fumaça e óleo de bagaço de oliva (Brasil, 2003, 2004, 2007).

Os HPAs são compostos que podem contaminar grãos armazenados, pois são formados nas fornalhas durante o processo de secagem utilizando a queima direta da lenha como combustível e temperaturas altas de combustão (KLAUTAU, 2008; ROSENTELE et al., 2015).

Com o intuito de melhorar a qualidade dos alimentos, o gás ozônio, um poderoso agente oxidante utilizado em operações pós-colheita para a descontaminação de microrganismos, como bactérias e fungos, mas sua eficácia abrange também protozoários, vírus e esporos de fungos, também com ação inseticida e na qualidade dos alimentos (BERMÚDEZ-AGUIRRE, et al., 2013; CANTALEJO et al., 2016; ONG et al., 2013; WHITE et al., 2010).

O ozônio tem inúmeras vantagens na sua utilização, uma delas é a manutenção das características fisiológicas dos alimentos e outra possuindo rapidez na sua degradação, sendo o oxigênio (O_2) seu produto (LAUREANO et al., 2016).

Diante o exposto, o objetivo neste trabalho foi verificar o efeito do gás ozônio em diferentes tempos de exposição na degradação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's) e na qualidade dos grãos de milho.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os grãos de milho (*Zea mays* L.) produzidos na região de Rio Verde - GO, fornecidos pela empresa CARAMURU S/A com teor de água 16,38% (b.u.) foram utilizados para a condução do experimento. As amostras foram analisadas no Laboratório de Pós-Colheita de Produtos Vegetais Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - (IF Goiano - Campus Rio Verde).

Os grãos passaram por processo de secagem por convecção natural utilizando fornalha de fogo direto para a contaminação do produto com HPA's. Os grãos

permaneceram por cerca de 30 min no secador com temperatura do ar de 113 °C e de 55 °C na massa de grãos. Como combustível foram utilizados cavacos de eucalipto com granulometria de 3 a 5 cm e o teor de água foi reduzido para 11,5% (b.u.).

Foram realizadas análises para determinação dos níveis de 13 HPA's (BaA, Chr, 5MChr, B_jF, B_bF, B_kF, BaP, DalP, DahA, IcdP, DaeP, DaiP e DahP), após a ozonização utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por fluorescência. O preparo das amostras foi baseado naquele descrito por Speer et al. (1990). Para tal foi utilizado um cromatógrafo marca Shimadzu, com bomba quaternária, injetor automático e forno de coluna estável a 30°C.

Para a separação foi utilizada uma coluna cromatográfica Vydac C18 201 TP 54 250x4,6 mm, com partículas de 5µm, fluxo de 1mL/min e gradiente de acetonitrila-água. A detecção foi feita com programação de comprimento de onda. O limite de detecção do método é de 0,12 µg/kg para todos os HP'As exceto IcdP e B_jF (1,2 µg/kg).

Após a confirmação da presença dos HPA's, as amostras passaram pela fumigação com o gás ozônio. Foi utilizado um equipamento gerador de ozônio VEC-XT da empresa parceira Interzone do Brasil LTDA, para a obtenção do ozônio (O₃) baseado no método de Descarga por Barreira Dielétrica (DBD). A exposição dos grãos de milho ao ozônio foi realizada conforme a metodologia descrita por Pereira et al. (2008).

As amostras secas por convecção natural em fornalha de fogo direto foram ozonizadas em triplicata nos diferentes tempos: 0 (sem ozonização), 4, 8, 12, 16, 20 e 24 horas em um recipiente de Policloreto de vinila (PVC) hermeticamente fechado com as dimensões de 0,40 x 0,45 x 0,55 m acoplado ao gerador de ozônio. A temperatura média do ambiente foi de 29,8 ± 2,1 °C e umidade relativa do ar de 52,6 ± 6,2%.

No fundo e na lateral superior direita de um dos compartimentos foram instaladas conexões de entrada e saída do gás. A 10 cm do fundo do recipiente, foi colocada uma tela milimetrada de PVC para a sustentação dos grãos e formação de uma câmara plenum, para melhor distribuição do gás. A lateral de exaustão é conectada a outro recipiente de dimensões idênticas para a liberação do ozônio residual antes de serem lançadas na atmosfera, de modo a garantir a neutralidade do "efeito parede".

Após a ozonização, as amostras foram analisadas novamente para a quantificação dos HPA's.

A concentração de ozônio foi determinada pelo método iodométrico, descrito por Clesceri et al. (2000). Para relacionar a concentração residual do gás ozônio com o tempo, foi realizado ajuste da equação sigmoidal aos dados obtidos (Equação 1):

$$C = \left[\frac{a}{1 + e^{-(t-b)/c}} \right] \quad (1)$$

em que:

C = Concentração do gás ozônio (mg L⁻¹);

t = tempo (min);

a, b e c = constantes.

A partir dos valores das constantes b e c, de acordo com Venegas et al. (1998), é possível obter o tempo de saturação para cada combinação e vazão do gás (Equação 2):

$$t_{\text{sat}} = b + 2c \quad (2)$$

em que:

t_{sat} = tempo de saturação (min);

a e b = constantes.

A concentração do ozônio foi de 1,74 mg L⁻¹ e tempo de saturação foi de 112 min.

As amostras foram avaliadas em triplicata quanto ao: teor de água (TA) de acordo com ASAE (2003); porcentagem de germinação (%G) de acordo com o método de Maguire (1962); condutividade elétrica (CE) de acordo com Vieira e Krzyzanowski (1999); classificação dos grãos de acordo com Brasil (2010); análise de cor levando em consideração os parâmetros luminosidade (L*), direção para o vermelho ao verde (a*) e direção para o amarelo ao azul (b*), o ângulo Hue (°h) indica a tonalidade da cor e Cromo (C*) indicando a intensidade da cor ambos são determinados pelas seguintes equações:

$$H (h) = \text{tg}^{-1} \frac{b^*}{a^*}$$

$$\text{Croma } C = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

Para a composição centesimal foram avaliadas proteínas, lipídeos, fibra bruta, cinzas, teor de água e carboidratos de acordo com Silva e Queiroz (2006).

O experimento foi realizado utilizando delineamento inteiramente ao acaso (DIC), sete tempos de ozonização (0, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 h). Os dados foram analisados por meio de análise de variância considerando o nível de significância de 5%. Para o fator qualitativo, as médias foram analisadas utilizando o teste de Scott-Knott para avaliar o efeito dos tempos de exposição, adotando o nível de 5% de significância.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, estão apresentados o resumo da análise de variância com os valores do quadrado médio do teor de água (TA), condutividade elétrica (CE), porcentagem de germinação (%G), porcentagem de grãos fermentados, ardidos, parâmetros de cor ângulo hue ($^{\circ}$ h) e croma (C*), coordenadas L*, a* e b* dos grãos de milho em diferentes períodos de ozonização.

Tabela 1. Resumo da análise de variância com os valores dos quadrados médios do teor de água, condutividade elétrica, porcentagem de germinação, ângulo hue, croma, coordenadas L*, a* e b* pelos tempos de ozonização

FV	GL	TA% (bu)	CE	%G	Fermentados %	Ardidos %	$^{\circ}$ h	C*	L*	a*	b*
Tempo	6	0,04 ^{NS}	4,43 ^{NS}	32,65 ^{NS}	10,64 ^{**}	0,18 ^{NS}	0,001*	6,40 ^{NS}	6,93 ^{NS}	4,10 ^{NS}	7,81 ^{NS}
Resíduo	14	0,09	3,57	16,63	2,10	0,27	0,0004	7,20	4,62	4,89	10,71
CV (%)		3,52	8,65	8,16	12,50	100,24	1,86	6,00	3,70	12,06	8,12
Média Geral		8,70	21,84	49,98	11,60	0,52	1,15	44,69	58,14	18,34	40,32

**Significativo a 1% pelo teste F; *Significativo a 5% pelo teste F; NS não significativo.

Nota-se que não houve efeito dos tempos de ozonização no teor de água, condutividade elétrica e porcentagem de germinação. Nota-se que houve efeito nos tempos de ozonização apenas para os grãos fermentados, para os grãos ardidos verificase que a média geral foi baixa, entre os tempos de ozonização, indicando menor dano aos grãos.

Na análise de condutividade elétrica, Nascimento et al. (2008), ao aplicarem o ozônio para o tratamento do café despulpado, também não obtiveram interferência na condutividade elétrica.

Resultados obtidos por Rozado (2013) aponta que o ozônio não interferiu na condutividade elétrica e germinação de grãos de milho, ainda verificou que o teor de

água aumentou nos grãos infestados por insetos, ozonizados e armazenados em silo metálico.

De acordo com Silva (2011), o gás ozônio não interferiu na classificação dos grãos de trigo, resultado contrário ao verificado no presente trabalho (Tabela 1).

Nota-se também (Tabela 1) que houve efeito dos tempos de ozonização apenas para o ângulo hue. Resultados se comparam para o ângulo hue que de acordo com Alencar (2009) verificando que houve efeito do ozônio em grãos de amendoim.

Na Tabela 2, estão apresentadas as médias de grãos fermentados, em função dos diferentes períodos de ozonização.

Tabela 2. Médias dos grãos fermentados nos diferentes períodos de exposição ao ozônio

Tempo O ₃ (h)	Fermentados%
0	15,53 b
4	11,90 a
8	11,63 a
12	11,40 a
16	10,50 a
20	10,30 a
24	9,93 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Os grãos sem ozonização (0 h) diferiram dos demais indicando maior valor de grãos fermentados. Com a ozonização houve diminuição dos valores de grãos fermentados, isso ocorre pelo poder oxidativo do gás ozônio (ROZADO, 2005).

Na Tabela 3, está apresentado o resumo da análise de variância para os teores de carboidrato, cinza, proteína bruta, fibra bruta, lipídeos e teor de água dos grãos de milho triturados para análise centesimal, submetidos a diferentes tempos de ozonização.

Tabela 3. Resumo da análise de variância com os valores do quadrado médio das variáveis carboidrato, cinza, proteína bruta, fibra bruta, lipídeos e teor de água em função dos tempos de ozonização

FV	GL	Carboidrato%	Cinza%	Proteína Bruta%	Fibra Bruta%	Lipídeos%	Teor de água% (bu)
Tempo	6	1,07 ^{NS}	1,01 ^{**}	0,09 ^{NS}	0,14 ^{NS}	1,17 ^{**}	0,25 ^{NS}
Resíduo	14	1,09	0,13	0,21	0,26	0,09	0,12
CV (%)		1,47	15,22	5,03	15,57	5,87	3,93
Média Geral		71,40	2,35	9,15	3,30	5,05	8,74

**Significativo a 1% pelo teste F; *Significativo a 5% pelo teste F; NS não significativo.

Houve efeito no tempo de ozonização para as variáveis cinza e lipídeos. Em relação aos lipídeos os resultados apontam o mesmo comportamento observado por Benevenuto Júnior (2013) avaliando a mistura de milho moído e farelo de soja ozonizados, verificou que houve efeito do gás promovendo a diminuição no teor de lipídeos.

Na Tabela 4, estão apresentados os valores médios dos teores de cinza e lipídeos em função dos tempos de ozonização.

Tabela 4. Médias das variáveis cinza e lipídeos em função dos tempos de ozonização

Tempo O ₃ (h)	Cinza%	Lipídeos%
0	3,06 b	4,67 a
4	2,83 b	4,32 a
8	1,68 a	5,72 b
12	1,65 a	5,73 b
16	2,95 b	5,11 b
20	2,12 a	4,30 a
24	2,02 a	5,47 b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott Knott a 5% de significância.

Nota-se o efeito do ozônio para a variável cinza com os tempos de 0, 4 e 16 horas, maiores que os tempos de 8, 12, 20 e 24 horas. Para o teor de lipídeos os tempos 8, 12, 16 e 24 horas foram maiores que os demais.

De acordo com Alencar (2009) os tempos de ozonização de 0, 24, 48, 72 e 96 horas não tiveram efeito no teor de lipídeos dos grãos de amendoim. Pereira et al. (2016) verificaram que o teor de lipídeos em grãos de milho é oxidado pelo ozônio.

Na Tabela 5, está apresentado o resumo da análise de variância para os HPA's detectados nos grãos de milho (benzo(a)antraceno, criseno, 5-metilcriseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno e benzo(a)pireno) em função dos diferentes tempos de exposição ao ozônio. Os outros sete HPAs (BjF, DalP, DahA, IcdP, DaeP, DaiP e DahP) não foram detectados nas amostras (LOD de 0,12 µg/kg, exceto para IcdP e BjF cujo LOD é 1,2 µg kg⁻¹).

Tabela 5. Resumo da análise de variância com os valores do quadrado médio dos HPAs benzo(a)antraceno (BaA), criseno (Chr), 5-metilcriseno (5MChr), benzo(b)fluoranteno (BbF), benzo(k)fluoranteno (BkF) e benzo(a)pireno (BaP) em função dos tempos de ozonização

FV	GL	BaA ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Chr ($\mu\text{g L}^{-1}$)	5MChr ($\mu\text{g L}^{-1}$)	BbF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	BkF ($\mu\text{g L}^{-1}$)	BaP ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Tempo	6	0,002 ^{NS}	0,05 ^{NS}	0,01 ^{NS}	0,02 ^{NS}	0,001 ^{NS}	0,05 ^{NS}
Resíduo	14	0,002	0,02	0,02	0,05	0,001	0,02
CV (%)		147,14	99,84	52,78	31,16	30,40	30,69
Média Geral		0,03	0,14	0,24	0,26	0,01	0,43

**Significativo a 1% pelo teste F; *Significativo a 5% pelo teste F; NS não significativo.

Os grãos de milho antes da secagem não apresentavam contaminação por nenhum HPA avaliado, e após a secagem por convecção natural utilizando fornalha de fogo direto houve a contaminação do produto pelos gases de combustão identificando a presença de diversos HPA's (Tabela 5).

Nota-se que não houve efeito do tempo de exposição nos HPA's presentes nos grãos de milho. De acordo com Letzel et al. (1999), com trabalho sobre produtos de degradação do benzo(a)pireno ozonizados utilizando a B [def] C-lactona, houve efeito do ozônio na degradação deste composto, contradizendo aos resultados do presente trabalho.

As médias dos HPA's benzo(a)antraceno, criseno e 5-metilcriseno foram: 0,03; 0,14 e 0,24 respectivamente, indicando que foram baixas as concentrações nas amostras de milho ozonizadas.

Em alimentos infantis à base de cereais, a legislação europeia prevê limite de $1,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ para o benzo(a)pireno e também de $1,0 \mu\text{g kg}^{-1}$ para o PAH4 (CEC, 2011). No Brasil, a legislação estabelece limites apenas para BaP e apenas nas seguintes categorias: água potável, aroma de fumaça e óleo de bagaço de oliva (Brasil, 2003, 2004, 2007).

Haapea e Tuhkanen (2006) estudaram o efeito do ozônio em HPA's presentes no solo e tiveram resultados de 90% na remoção desses compostos com uso do gás ozônio. No presente trabalho, não foi verificada a redução dos compostos com a utilização do ozônio. Já Alencar (2009) trabalhando com grãos de amendoim ozonizados destaca que um possível motivo da ineficiência do gás ozônio pode ser o teor de água dos grãos, pois quanto menor for esta característica, menor será a eficiência do gás.

4. CONCLUSÕES

A secagem por convecção em fornalha de fogo direto promove a contaminação dos grãos de milho por HPA's.

Os tempos de ozonização não apresentaram influência na qualidade dos grãos de milho;

Os tempos de ozonização utilizados não promoveram a degradação dos HPA's presentes nos grãos de milho.

5. AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde; ao CNPq pelo auxílio financeiro; à CARAMURU; ao Laboratório de Pós – Colheita de Produtos Vegetais; e ao Instituto de Tecnologia de Alimentos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALENCAR, E.R. **Processo de ozonização de amendoim (*arachis hypogaea* L.): cinética de decomposição, efeito fungicida e detoxificante de aflatoxinas e aspectos qualitativos.** 2009. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) apresentada à Universidade Federal de Viçosa. Viçosa - MG, 2009.

ASAE. AMERICAN SOCIETY OF AGRICULTURAL ENGINEERS. ASAE EP496.2 Agricultural machinery management. **In:** ASAE Standards. 2003. St. Joseph: 2003. p. 366-372.

BENEVENUTO JÚNIOR, A.A. **Características físico-químicas e microbiológicas da mistura milho moído e farelo de soja ozonizada na alimentação de frangos de corte.** 2013. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola), apresentada à Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG, 2013.

BERMÚDEZ-AGUIRRE, D.; VARBOSA-CÁNOVAS, G.V. Desinfection of selected vegetables under nonthermal treatments: Chlorine, acid citric, ultravioleta light na ozone. **Food Control**, v.29, p.82-90, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento técnico do milho.** Portaria nº 4, de 06/01/2010, D.O.U. 07/01/2010, Brasília/DF.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC n.281, de 06 de outubro de 2003.** Diário Oficial da União, 08 de outubro, 2003.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Portaria MS n.518 de 25 de março de 2004.** Diário Oficial da União, 26 de março, 2004.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC n.2, de 17 de janeiro de 2007**. Diário Oficial da União, 17 de janeiro, 2007.

CAMARGO, M. C. R.; TOLEDO, M. C. F. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian vegetables and fruits. **Food Control**, v.14, p.49-53, 2003.

CAMARGO, M.C.R.; TFOUNI, S.A.V.; VITORINO, S.H.P.; MENEGÁRIO, T.F.; TOLEDO, M.C.F. Determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em guaraná em pó (*Paullinia cupana*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.1, p.230-234.

CAMILO, J.S.; BARBIERI, V.H.B.; RANGEL, R.M.; BONNAS, D.S.; LUZ, J.M.Q.; OLIVEIRA, R.C. Aceitação sensorial de híbridos de milho doce e híbridos de milho verde em intervalos de colheita. **Revista Ceres**, v. 62, n.1, p. 001-008, 2015.

CANTALEJO, M.J.; ZOUAGHI, F.; PÉREZ-ARNEDO, I. Combined effects of ozone and freeze-drying on the shelf – life of *Broiler* chicken meat. **Food Science and Technology**, v.68, p.400-407, 2016.

CEC – The Commission of the European Communities. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006. **Official Journal of European Union**, 20.12.2006. Disponível em: <http://www.analitus.com.br/Documentos/DocumentosSite/277328f0-aafe-4d87-9161-7e26336d10f1.pdf>. Acesso em: 04/08/2016.

CEC e The Commission of the European Communities. (20.8.2011). Commission Regulation (EC) No 835/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. **Official Journal of European Union**. L 215/4eL 215/8.

CLESCERI, L.S.; GREENBERG, A.E. EATON, A.D. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Denver: American Water Works Association, 2000. 1220p.

DRABOVA, L.; TOMANIOVA, M.; KALACHOVA, K.; KOCOUREK, V.; HAJŠLOVA, J.; PULKRABOVA, J. Application of solid phase extraction and two-dimensional gas chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry for fast analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils. **Food Control**, v.33, p. 489-497, 2013.

HAAPEA, P.; TUHKANEN, T. Integrated treatment of PAH contaminated soil washing, ozonization and biological treatment. **Journal of Hazardous Materials**, v.136, n.2, 21, p.244–250, 2006.

HITZEL, A.; PÖHLMANN, Ma.; SCHWÄGELE, F.; SPEER, K.; JIRA, W. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and phenolic substances in meat products smoked with different types of wood and smoking spices. **Food Chemistry**, v.139, p.955-962, 2013.

IARC. (2012). Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. **In** A Review of Human Carcinogens: Chemical Agents and Related Occupations (Vol. 100F). Lyon, France: IARC.

KLAUTAU, J.V.P. **Análise experimental de uma fornalha a lenha de fluxo cocorrente para secagem de grãos**. 2008. 193 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental) apresentada à Universidade Federal do Paraná. Paraná, 2008.

LAUREANO, J.; GIACOSA, S.; RIO SEGADE, S.; TORCHIO, F.; CRAVERO F.; GERBI, V.; ENGLEZOS, V.; CARBONI, C.; COCOLIN, L.; RANTSIOU, K.; FARONI, L.R.D.; ROLLE, L. Effects of continuous exposure to ozone gas and electrolyzed water on the skin hardness of table and wine grape varieties. **Journal of Texture Studies**, v.47, p.40–48, 2016.

LETZEL, T.; ROSENBERG, E.; WISSIACK, R.; GRASSERBAUER, M.; NIESSNER, R. Separation and identification of polar degradation products of benzo[a]pyrene with ozone by atmospheric pressure chemical ionization–mass spectrometry after optimized column chromatographic clean-up. **Journal of Chromatography A**, v.855, n.2, p.501–514, 1999.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.02, n.01, p.176-177, 1962.

NASCIMENTO, L.C.; LIMA, L.C.O.; PICOLLI, R.H.; FIORINI, J.E.; DUARTE, S.M.S.; SILVA, J.M.S.F.; OLIVEIRA, N.M.S.; VEIGA, S.M.O.M. Ozônio e ultra-som: processos alternativos para o tratamento do café despulpado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.2, p.282-294, 2008.

ONG, M.K.; KAZI, F.K.; FORNEY, C.F.; ALI, A. Effect of Gaseous Ozone on Papaya Anthracnose. **Food Bioprocess Technology**, v.6, p.2996-3005, 2013.

PINTO, A.P.; LANÇANOVA, J.A.C.; LUGÃO, S.M.B.; ROQUE, A.P.; ABRAHÃO, J.J.S.; OLIVEIRA, J.S.; LEME, M.C.J.; MIZUBUTI, I.Y. Avaliação de doze cultivares de milho (*Zea mays* L.) para silagem. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 4, p. 1071-1078, 2010.

PEREIRA, A.M.; FARONI, L.R.D.; SOUSA, A.H.; MARCO, J.L.P.; SILVA, M.T.C. Evaluation of oil extracted from corn grains ozonized at different levels of grain mass temperature. **Fumigation and Control Atmosphere**, 9th International Working Conference on Stored Product Protection, 2016.

PEREIRA, A.M.; FARONI, L.R.D.; SILVA JÚNIOR, A.G .; SOUSA, A.H.; PAES, J.L. Viabilidade econômica do gás ozônio como fumigante em grãos de milho armazenados. **Engenharia na Agricultura**, v.16, n.2, p.144-154, 2008.

PÖHLMANN, M.; HITZEL, A.; SCHWÄGELE, F.; SPEER, K.; JIRA, W. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and phenolic substances in smoked

Frankfurter-type sausages depending on type of casing and fat content. **Food Control**, v.31, p.136-144, 2013.

ROCHA-OLIVIERI, C.M.; CONTI-SILVA, A.C.; LOPES-FILHO, J.F. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.71, n.4, p.728-32, 2012.

ROZADO, A.F. **Ozônio como fumigante na proteção de milho armazenado**. 2005. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) apresentada à Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – MG, 2005.

ROZADO, A.F. **Distribuição do gás ozônio em milho armazenado em silo metálico usando sistema de aeração**. 2013. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) apresentada à Universidade Federal de Viçosa. Viçosa - MG, 2013.

ROZENTĀLE, I.; STUMPE-VIKSNA, I.; ZACS, D.; SIKSNA, I.; MELNGAILE, A.; BARTKEVICS, V. Assesment of dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons from smoked meat products produced in Latvia. **Food Control**, v.54, p.16-22, 2015.

RUBIO-CLEMENTE, A.; TORRES-PALMA, R.A.; PEÑUELA, G.A. Removal of polycyclic aromatic hidrocarbons in aqueous environment by chemical treatments: A review. **Science of the Total Environment**, v.478, p.201-225, 2014.

SILVA, T.A. **Processo de ozonização dos grãos de trigo: cinética de reação e efeito na qualidade destes e da farinha**. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola), apresentada à Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG, 2011.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: Métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2006, 235p.

SOUSA, M.M.; NASCIMENTO, V.L.V. Benzo(a)pireno em alimentos. **Revista ACTA Tecnológica**, v.5, n.1, p. 124-138, 2010.

SPEER, K.; STEEG, E.; HORTSMANN, P.; KUHN, T.; MONTAG, A. Determination and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in native vegetable oils, smoked fish products, mussels and oysters, and bream from the river Elbe. **Journal of High Resolution Chromatography**, v. 13, p. 104-111, 1990.

TFOUNI, S.A.V.; PADOVANI, G.R.; REIS, R.M.; FURLANI, R.P.Z.; CAMARGO, M.C.R. Incidence of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oil blends. **Food Control**, v.46, p.539-543, 2014.

VENEGAS, J.G.; HARRIS, R.S.; SIMON, B.A. A comprehensive equation for the pulmonary pressure. **Journal of Applied Physiology**, v. 84, n.1, p. 389-395, 1998.

VEYRAND, B.; SIROT, V.; DURAND, S.; POLLONO, C.; MARCHAND, P.; DERVILLY-PINEL, G.; TARD, A.; LEBLANC, J-C.; BIZEC, B.L. Human dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: Results of the second French Total Diet Study. **Environment International**, v.54, p.11-17, 2013.

VIEIRA, R.D.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de condutividade elétrica. **In:** KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Eds.). Vigor de sementes: conceitos e testes, ed. ABRATES, Londrina, PR cap.4, p.1-26, 1999.

WANG, W.; SIMONIC, S.; GIRI, B.; CHANG, Y.; ZHANG, Y.; JIA, Y.; TAO, S.; WANG, R.; WANG, B.; LI, W.; CAO, J.; LU, X. Atmospheric concentrations and air-soil gas exchange of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in remote, rural village and urban areas of Beijing – Tianjin region, North China. **Science of The Total Environment**, v.409, p.2942-2950, 2011.

WHITE, S.D.; MURPHY, P.T.; BERN, C.J.; LEEUWEN, J. Controlling deterioration of high-moisture maize with ozone treatment. **Journal of Stored Products Research**, v.46, p.7-12, 2010.

WHO e World Health Organization. (2005). **Summary and conclusions of the sixtyfourth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives**. Rome.

XU, X.; HU, H.; KEARNEY, G.D.; KAN, H.; SHEPS, D.S. Studying the effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on peripheral arterial disease in the United States. **Science of the Total Environment**, v.461-462, p.341-347, 2013.

CONCLUSÃO GERAL

Pode-se concluir com os dados apresentados que o ozônio não alterou a qualidade dos grãos de milho;

Os tempos de ozonização utilizados não foram suficientes para descontaminar e degradar as aflatoxinas e os HPA's presentes nos grãos de milho, comprovando com este trabalho que para a descontaminação desses compostos requerem maiores concentrações e tempos de ozonização;

A secagem por convecção foi eficiente para a contaminação com os HPA's mesmo que em baixas concentrações;

A eficiência do ozônio para descontaminação dos grãos de milho pode ter sido influenciada pelos baixos teores de água dos grãos.

O uso do gás ozônio é promissor em várias áreas de aplicação. Entretanto, neste trabalho não pôde ser eficiente na descontaminação de micotoxinas e HPA's presentes em grãos de milho. Assim, faz-se necessária a execução de mais trabalhos em outras combinações de concentrações e tempos de exposição.