



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**OZÔNIO COMO AGENTE FUNGICIDA E EFEITO NA QUALIDADE DE
AMENDOIM**

BEATRIZ ALEJANDRA ORTEGA SÁNCHEZ

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

BRASÍLIA/DF

FEVEREIRO, 2015



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**OZÔNIO COMO AGENTE FUNGICIDA E EFEITO NA QUALIDADE DE
AMENDOIM**

BEATRIZ ALEJANDRA ORTEGA SÁNCHEZ

ORIENTADOR: PROF. DR. ERNANDES RODRIGUES DE ALENCAR

CO-ORIENTADORA: PROF^a DR^a LÍVIA DE LACERDA DE OLIVEIRA PINELI

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

PUBLICAÇÃO: 83/2015

BRASÍLIA/DF

FEVEREIRO, 2015



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**OZÔNIO COMO AGENTE FUNGICIDA E EFEITO NA QUALIDADE DE
AMENDOIM**

BEATRIZ ALEJANDRA ORTEGA SÁNCHEZ

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM AGRONOMIA. ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: SISTEMAS DE PRODUÇÃO AGRÍCOLAS SUSTENTÁVEIS.

APROVADA POR:

**ERNANDES RODRIGUES DE ALENCAR, Dr. Professor Adjunto UnB – FAV
(Orientador) /CPF: 900.558.021-68 /e-mail: ernandesalencar@unb.br**

**JEAN KLEBER DE ABREU MATTOS
(Examinador Interno) / CPF: 002.288.181-68 / e-mail: kleber@unb.br**

**STHER MARIA LENZA GRECO
(Examinador Externo) /CPF: 877.125.471-49 /e-mail: sther.lenza@gmail.com**

BRASÍLIA/DF, 27 DE FEVEREIRO DE 2015

FICHA CATALOGRÁFICA

ORTEGA S., Beatriz Alejandra.

Ozônio como Agente Fungicida e Efeito na Qualidade de Amendoim. Beatriz Alejandra Ortega Sánchez; orientação de Ernandes Rodrigues Alencar. Brasília, 2015.

102 p: il

Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2015.Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária.

1. Ozonização

2. Amendoim

3. Qualidade de grãos e óleo

4. Análises sensorial

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ORTEGA S., Beatriz Alejandra. (2015). Ozônio como Agente Fungicida e Efeito na Qualidade de Amendoim. Dissertação de Mestrado em Agronomia, Programa de Pós-graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, DF.

CESSÃO DE DIREITOS

AUTOR: Beatriz Alejandra Ortega Sánchez.

TÍTULO: Ozônio como Agente Fungicida e Efeito na Qualidade de Amendoim

GRAU: Mestre

ANO: 2015.

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva outros direitos de publicação e nenhuma parte dessa dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem autorização por escrito do autor.

Beatriz Alejandra Ortega Sánchez.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Deus, pela vida, pela oportunidade desse estudo, pela força para culminar com êxitos meus sonhos e pelo amor que constantemente tenho recebido de todos que me rodeiam;

Aos meus pais Armando e Betty, por seu amor, apoio incondicional a pesar da distância sempre senti sua companhia, por guiar meu caminho o tempo todo, por fornecer-me uma formação em valores e amor, vocês são o mais importante em minha vida;

Aos meus irmãos Carol, Monica e Daniel por sua lealdade, sua fraternidade e sua adorável companhia para alcançar o meu sonho;

Meus sobrinhos José David, Juan Felipe e Tomas Jerônimo, por tanto amor e apoio a pesar da distância, vocês são minha inspiração e fortaleza;

Meu namorado Miguel Eduardo, por estar sempre comigo cada momento importante da minha formação profissional, por ser apoio solidário e amoroso e cúmplice nestes anos da minha vida, obrigada por tanto amor e fortaleza;

Meus avós, tios e primos por sua companhia em todas as fases da minha vida;

À minha amiga Sabrina Navas pela amizade, pela colaboração e companhia durante estes dois anos;

Ao Prof. Dr. Ernandes Rodrigues de Alencar, pela orientação e apoio dados em diversos momentos da minha formação como mestre;

À Professora Livia de I. de O. Pineli pela ajuda, incentivo e colaboração na realização do trabalho;

A todas as pessoas que durante a realização de minha pesquisa prestaram muita ajuda e colaboração;

À Universidade de Brasília, Faculdade de veterinária e agronomia, aos professores do Programa de Pós-Graduação em agronomia; pela oportunidade e seus aprendizados;

À CAPES, pelo apoio financeiro durante meu curso de mestrado

Graças dou, Senhor, por ser a fonte de que dimana todo o bem que me sucede. Os que esperam no Senhor renovam suas forças, sobem com asas de águias, correm e não se cansam, caminham e não se fatigam. "... Isaías 40:31

Beatriz Alejandra Ortega Sánchez

RESUMO

O amendoim é um grão com grande importância na indústria de alimentos por seu alto valor nutricional, principalmente por seu alto conteúdo de lipídios, mas este também pode ser considerado um problema já que é mais susceptível ao ataque de fungos toxigênicos, os quais fazem que exista uma grande perda da produção durante a colheita e armazenamento. Portanto na atualidade vem sendo estudado uma alternativa para a mitigação deste problema, como a utilização do ozônio para o controle de fungos, o ozônio se destaca por seu elevado potencial oxidativo e por não deixar resíduos nos alimentos. Entretanto, é importante que seja avaliado a eficiência do ozônio no controle dos fungos e os efeitos na qualidade das características organolépticas do grão e do óleo bruto do amendoim. Dessa forma, objetivou-se avaliar o efeito da ozonização como agente fungicida, na qualidade de grãos e do óleo bruto e os efeitos nas características sensoriais. O experimento foi dividido em duas etapas: na primeira etapa, foram avaliados o processo de saturação do ozônio em coluna contendo grãos de amendoim, a capacidade do ozônio de controlar fungos, incluindo aqueles potencialmente aflatoxigênicos, e possíveis alterações na qualidade dos grãos e do óleo bruto. Na segunda etapa foi avaliado o efeito da ozonização na qualidade sensorial de grãos de amendoim. Para a avaliação da capacidade do gás ozônio em controlar os fungos, incluindo aqueles potencialmente aflatoxigênicos *A. flavus* e *A. parasiticus*, o amendoim previamente infetado foi ozonizado em coluna cilíndrica de PVC. Inicialmente, as amostras de grãos de 75 g foram acondicionadas em bolsas de organza e dispostas a 0, 0,25, 0,50 e 0,75 m na coluna preenchida de amendoim. As concentrações do ozônio utilizadas foram de 1.300 e 3.000 ppm, por períodos de exposição ao gás de 0, 3, 6, 9 e 12 horas. Essas condições também foram adotadas na avaliação do efeito do ozônio na qualidade dos grãos e do óleo bruto. As variáveis qualitativas do grão de amendoim foram teor de água, condutividade elétrica, tonalidade, saturação, diferença de cor e percentual de ácidos graxos livres e índice de peróxido do óleo bruto. Com relação a análise sensorial, realizou-se o teste de aceitação para 100 provadores utilizando a escala hedônica e avaliando a aparência, o sabor, a textura e impressão global. A primeira etapa e segunda etapa o experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com esquema fatorial 2x4x5, sendo duas concentrações, quatro posições na coluna de grãos e cinco períodos de exposição, com três repetições. Foi realizada análise de variância a 5% de probabilidade e, posteriormente, análise de regressão. Com relação à análise sensorial dos grãos de

amendoim ozonizados, avaliou-se o efeito da exposição ao gás em cada uma das duas concentrações em função dos períodos de exposição ao gás 0, 3, 6, 9 e 12 h. Os dados foram submetidos a análise de variância e em seguida teste de Tukey ($p < 0,05$). Em geral o ozônio não afetou a qualidade dos grãos e do óleo bruto. Alteração acentuada foi observada na variável diferença de cor dos grãos, sendo essa tendência explicada pela despigmentação da película que envolve os grãos de amendoim. No que tange a análise sensorial, na concentração de 1.300 ppm, houve maior aceitação dos grãos ozonizados por 12 horas. A partir dos resultados obtidos, nas condições adotadas no trabalho, pode-se concluir que a ozonização é capaz de inativar fungos potencialmente aflatoxigênicos dos gêneros *aspergillus flavus* e *aspergillus parasiticus*, sendo esse processo mais rápido nas camadas mais próximas à base da coluna de grãos; em geral a qualidade dos grãos e do óleo bruto de amendoim não foi influenciada pelo ozonização; a ozonização não afetou negativamente a aceitabilidade dos grãos de amendoim, com tendência de maior aceitação nos grãos ozonizados na concentração de 1.300 ppm.

Palavras-chave: ozônio, controle de fungos; alterações qualitativas; análise sensorial.

ABSTRACT

The peanut is a grain of great importance in the food industry for its high nutritional value, especially for its high content of lipids, but this can also be considered a problem because make more susceptible to attack by toxigenic fungi; can cause a great loss of production during harvest and storage. Therefore currently has been studied an alternative to mitigate this problem, as the use of ozone for controlling fungus, the ozone stands out for its high oxidative potential and not leave residues in food. However, it is important evaluated the efficiency of ozone in the control of fungi and the effects on the quality of the organoleptic characteristics of grain and oil gross peanut. This work aimed to evaluate the effect of ozonation as antifungal agent, acting as grains and gross oil and the effects on the sensory characteristics. The experiment was divided into two stages: the first stage, was assessed the ozone saturation process into column containing peanut kernels, ozone's ability to control fungi, including those aflatoxigenic potencial, and his possible change in the quality of grain and gross oil. In the second stage was assessed, the effects of ozonation on the sensory quality of peanut kernels. For the evaluation of ozone gas in the ability to control fungi, including those potentially aflatoxigenic *A. flavus* and *A. parasiticus*, peanuts were infected previously and ozonized in a cylindrical column PVC. Initially, 75 g samples of grain were placed in organza bags arranged at 0, 0.25, 0.50 and 0.75 column meter filled on peanuts. The ozone concentrations used were 1,300 and 3,000 ppm, for periods of exposure to the gas at 0, 3, 6, 9 and 12 hours. These conditions have also been adopted in evaluating the effect of ozone on the quality of grain and gross oil. the Qualitative variables grain peanut were water content, electrical conductivity, hue, saturation, color difference and percentage of free fatty acids and peroxide value for gross oil. Regarding sensory analysis, there was the acceptance test for 100 judges using the hedonic scale and evaluating the appearance, flavor, texture and overall impression. The first stage and second stage the experiment was conducted in a completely randomized design with factorial 2x4x5, two concentrations, four positions in the grain column and five periods of exposure, with three replications. Analysis of variance was performed at 5% probability and then regression analysis. The sensory analysis of ozonized peanut kernels, was evaluated the effect of exposure to the gas at each concentration as a function of gas exposure periods 0, 3, 6, 9 and 12 h. Data were subjected to analysis of variance and then Tukey test ($p < 0.05$). In general, ozone did not affect the quality of

grain and gross oil. Marked change was observed in the color difference, this tendency is explained by depigmentation of skin surrounding the peanut grains. With respect to sensory analysis, the concentration of 1,300 ppm, there was greater acceptance of grain ozonized for 12 hours. From the results obtained, under the conditions adopted in work, it can be concluded that the ozone is able to inactivate fungi potentially aflatoxigenic of the genera *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*, the process was faster in the layers low. In general, the quality of grain and oil gross peanut was not influenced by ozonation; the ozonation did not negatively affect the acceptability of peanut grain, with greater acceptance trend in ozonated grains at a concentration of 1,300 ppm.

Keywords: ozone, fungi control; qualitative changes; sensory analysis.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
ÍNDICE DE TABELAS.....	xv
LISTA ABREVIACÕES	xvii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Amendoim.....	3
2.1.1. Produção do amendoim no Brasil.....	4
2.1.2. Sistemas de produção.....	5
2.1.3. Qualidade dos grãos de amendoim.....	6
2.1.3.1. Teor de água.....	6
2.1.3.2. Condutividade elétrica.....	7
2.1.3.3. Coloração dos grãos.....	7
2.1.4. Subprodutos do amendoim.....	8
2.1.4.1. Métodos de Análise dos Óleos Vegetais.....	9
2.2. Fatores que influem o crescimento de fungos no amendoim.....	10
2.2.1. Micotoxinas.....	12
2.2.1.1. Natureza química das micotoxinas.....	13
2.2.2. Aflatoxinas (AFLs).....	15
2.2.2.1. Toxicidade.....	16
2.2.2.2. Legislação.....	17
2.3. Métodos para controle de micotoxinas.....	18
2.3.1. Gás ozônio.....	19
2.3.1.1. História.....	19
2.3.1.2. Propriedades do Ozônio.....	20
2.3.1.3. Produção de ozônio na indústria.....	21
2.3.1.4. Propriedades antimicrobianas do Ozônio.....	22
2.4. Análises Sensorial dos Alimentos.....	23
2.4.1. Propriedades sensoriais.....	24
2.4.2. Análise das características sensoriais.....	26
2.4.2.1. Método Sensorial Descritivo.....	26
2.4.2.2. Método sensorial afetivo.....	26
2.4.2.3. Método Sensorial Discriminativo.....	28
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.1. Obtenções do gás ozônio.....	30
3.2. Avaliação da eficácia do gás ozônio no controle de fungos em grãos de amendoim.....	31
3.3. Avaliações do efeito da aplicação do gás ozônio na qualidade de grãos de amendoim e do óleo bruto extraído desses grãos.....	32
3.3.1. Variáveis qualitativas dos grãos de amendoim ozonizados.....	33
3.3.1.1. Teor de água.....	33
3.3.1.2. Condutividade elétrica.....	33
3.3.1.3. Coloração de grãos.....	33

3.3.2. Parâmetros qualitativos do óleo bruto extraído de grãos de amendoim ozonizados.....	34
3.3.2.1. Ácidos graxos livres.....	34
3.3.2.2. Índice de peróxido.....	34
3.4. Avaliação do efeito da aplicação do gás ozônio na qualidade sensorial de grãos de amendoim.....	34
3.4.1. Teste de Aceitabilidade dos grãos de amendoim ozonizados	35
3.5. Delineamento Experimental.....	35
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4.1. Concentração Residual do gás ozônio.....	36
4.2. Avaliação da eficácia do gás ozônio no controle de fungos em grãos de amendoim.....	38
4.3. Variáveis qualitativos dos grãos de amendoim ozonizados.....	41
4.4. Parâmetros qualitativos do óleo bruto extraído de grãos de amendoim ozonizados.....	52
4.5. Efeito da aplicação do gás ozônio na qualidade sensorial de grãos de amendoim.....	55
5. CONCLUSÕES.....	58
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59
ANEXOS.....	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Produção de amendoim no Brasil.	4
Figura 2. Estruturas químicas das aflatoxinas	16
Figura 3. Mecanismo de formação do gás ozônio pelo método corona	22
Figura 4. Ação na célula microbiana	23
Figura 5. Acondicionamento dos grãos de amendoim em sacolas de organza	32
Figura 6. Concentração residual do ozônio (ppm) em função do tempo durante a ozonização de e amendoim com 6,8% (b.u.) de teor de água, altura da coluna de grãos equivalente a 0,75 m, vazão de 5,0 L min ⁻¹ , na temperatura de 25 °C, e concentrações iniciais de 1.300 e 3.000 ppm	37
Figura 7. Porcentagem de infecção interna por <i>Aspergillus flavus</i> e <i>A. parasiticus</i> em amendoim expostos ao ozônio nas concentrações de 1.300 ppm (A) e 3.000 ppm (B) em diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de ozonização.	39
Figura 8. Teor de água dos grãos de amendoim expostos ao gás ozônio nas concentrações de 1.300 ppm (A) e 3.000 ppm (B) em diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de exposição.	43
Figura 9. Condutividade elétrica da solução que continham os grãos de amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em função do período exposição.	45
Figura 10. Condutividade elétrica da solução que continham os grãos de amendoim expostos ao gás ozônio nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em função da altura da coluna de grãos.	46
Figura 11. Tonalidade de cor (h) dos grãos de amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em função do tempo de exposição	47
Figura 12. Tonalidade de cor (h) de amendoim expostos ao gás ozônio e dispostos em diferentes alturas da coluna de grãos em função do tempo de exposição.	48
Figura 13. Tonalidade de cor (C) dos grãos de amendoim expostos ao gás ozônio nas concentrações de 1.300 ppm (A) e 3.000 ppm (B) em diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de exposição.	49
Figura 14. Diferença de cor (ΔE) dos grãos de amendoim expostos ao gás ozônio nas concentrações de 1.300 ppm (A) e 3.000 ppm (B) em diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de ozonização.	51

Figura 15. Índice de peróxido de óleo bruto extraído de grãos amendoim 54
ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em função do período de
exposição.

Figura 16. Índice de peróxido de óleo bruto extraído de grãos amendoim 55
ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em função das alturas da
coluna.

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Valores nutricionais de amendoim torrado para porção de 100 gramas	3
Tabela 2. Comparativo de área, produtividade e produção de amendoim no Brasil	5
Tabela 3. Características de culturas oleaginosas quanto ao teor de óleo, produtividade média e rendimento de óleo por hectare	9
Tabela 4. Natureza química de algumas micotoxinas	13
Tabela 5. Limites mínimos de umidade para crescimento de <i>A. flavus</i> e produção de aflatoxinas em diferentes produtos	14
Tabela 6. Alimentos com um alto risco de contaminação de micotoxinas	14
Tabela 7. Alimentos e matérias primas com um moderado risco de contaminação por micotoxinas	15
Tabela 8. Toxidez das micotoxinas	17
Tabela 9. Limites máximos admissíveis de concentração de aflatoxinas	18
Tabela 10. Propriedades do Ozônio	21
Tabela 11. Equações de regressão ajustadas e respectivos coeficientes de determinação (R^2) para concentração residual do ozônio (ppm) em função do tempo durante a ozonização de amendoim com 6,8% (b.u.) de teor de água, altura da coluna de grãos equivalente a 0,75 m, vazão de 5,0 L min ⁻¹ , na temperatura de 25 °C, e concentrações iniciais de 1.300 3.000 ppm	37
Tabela 12. Equações de regressão ajustadas e respectivos coeficientes de determinação referentes a porcentagem de infecção interna por <i>Aspergillus flavus</i> e <i>A. parasiticus</i> em amendoim expostos ao ozônio nas concentrações de 1.300 ppm e 3.000 ppm em diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de ozonização	40
Tabela 13. Equações de regressão ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) referentes ao teor de água dos grãos de amendoim expostos ao gás ozônio nas concentrações de 1.300 ppm e 3.000 ppm em diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de exposição	44
Tabela 14. Equações de regressão ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) referentes a condutividade elétrica da solução que continham os grãos de amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em função do período de exposição	45

Tabela 15. Equações de regressão ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) referentes a condutividade elétrica da solução que continham os grãos de amendoim expostos ao gás ozônio nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em função função da altura da coluna de grãos.	46
Tabela 16. Equações de regressão ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) referentes a tonalidade de cor (h) dos grãos de amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em função do período de exposição	47
Tabela 17. Equações de regressão ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) referentes a tonalidade de cor (h) de amendoim expostos ao gás ozônio e dispostos em diferentes alturas da coluna de grãos em função do tempo de exposição	48
Tabela 18. Equações de regressão ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) referente tonalidade cor (C) dos grãos de amendoim expostos ao gás ozônio nas concentrações de 1.300 ppm e 3.000 ppm em diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de exposição	50
Tabela 19. Equações de regressão ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) referentes a diferença de cor (DE) dos grãos de amendoim expostos ao gás ozônio nas concentrações de 1.300 ppm e 3.000 ppm em diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de ozonização	52
Tabela 20. Valores médios de percentual de ácidos graxos livres (%) em óleo de bruto extraído de amendoim expostos ao ozônio nas concentrações de 1.300 ppm e 3.000 ppm em diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de ozonização	53
Tabela 21. Equações de regressão ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) referentes ao índice de peróxido de óleo bruto extraído de grãos amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em função do período de exposição (X)	54
Tabela 22. Equações de regressão ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) referentes ao índice de peróxido de óleo bruto extraído de grãos amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em função da altura da coluna de grãos (X)	55
Tabela 23. Aceitabilidade dos grãos de amendoim submetidos a 1.300 ppm do gás ozônio com diferentes tempos de exposição (PE)	56
Tabela 24. Aceitabilidade dos grãos de amendoim submetidos a 3.000 ppm do gás ozônio com diferentes tempos de exposição	577

LISTA DE ABREVIACÕES

ANVISA: *Agência Nacional de Vigilância Sanitária*

GRAS: *Generally Recognized as Safe*

FDA: *Food and Drug Administration*

LDL: *lipoproteínas de baixa densidade*

HDL: *lipoproteínas de alta densidade*

ABICAB: *Associação Brasileira da indústria de chocolates, cacau, amendoim, balas e derivados.*

CONAB: *Companhia Nacional de Abastecimento.*

BPA: *Boas Práticas agrícolas.*

IAC: *Instituto Agronômico*

IAL: *Instituto Adolfo Lutz*

APPCC: *Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle*

MIP: *Manejo integrado de pragas.*

AFLs: *Aflatoxinas*

a_w : *Atividade de água.*

UR: *Umidade Relativa*

CCD: *cromatografia em camada delgada*

UV: *ultravioleta*

USEPA: *United States Environmental Protection Agency*

ABNT: *Associação brasileira de normas técnicas*

ADQ: *análise descritiva quantitativa*

BDA: *Batata Dextrose Agar*

AFPA: Aspergillus flavus e parasiticus Agar

ASAE: Autoridade de Segurança Alimentar e Económica

AOCS: Official methods and recommended practices

AGL: ácidos graxos livres.

1. INTRODUÇÃO

O amendoim é uma importante fonte de óleo vegetal e sua principal característica é seu alto valor nutricional, contém vitamina, minerais e ácidos graxos essenciais (YEH et al., 2002). Portanto o amendoim torna-se um alimento de muito cuidado já que é susceptível ao ataque de insetos e os principais fungos, que além de causar perdas na produção, degradação dos nutrientes, podem também produzir aflatoxinas, metabólitos secundários tóxicos aos homens e animais (SABINO et al., 1989). Os fungos das espécies *A. flavus* e *A. parasiticus*, segundo Payne (1998), são os dois produtores de aflatoxinas em grãos e subprodutos agrícolas e podem ser encontradas tanto no solo como no ar.

A contaminação dos alimentos por aflatoxinas pode-se considerar um problema mundial, porque além de causar danos e perdas na produção e econômicas podem ser cancerígenas, até causar a morte quando é consumida em altas quantidades. Ressalta-se que cada vez mais as diversas nações estabelecem regulamentações rigorosas referentes à presença de micotoxinas tanto para alimentação humana quanto para animal. De acordo com Egmond e Jonker (2006), o número de países que possuem tais regulamentações cresce continuamente. No Brasil o Ministério da Saúde, por meio da Resolução - RDC nº 274, de 15 de outubro de 2002, estabeleceu como limite máximo 20 ppb de aflatoxinas totais (AFB1 + AFB2 + AFG1 + AFG2) em amendoim (com casca, descascado, cru ou tostado), pasta de amendoim, milho em grão (inteiro, partido, amassado, moído), farinhas ou sêmolos de milho, destinados ao consumo (ANVISA, 2002).

Na indústria vem sendo implementadas estratégias para a destoxificação dos alimentos, incluindo desde os métodos térmicos até métodos químicos de inativação, sendo este último um método efetivo no controle dos fungos, mas as vezes torna-se inviável técnica e economicamente, além a inativação química pode deixar resíduos tóxicos nos alimentos (RITCHEI, 2002). Portanto na atualidade vem sendo estudada uma alternativa que além de inativar os fungos não proporcione risco ao alimento e ao consumidor. Esta alternativa é o gás ozônio, o qual é produzido sinteticamente, pelo método de descarga por efeito corona, este método consiste em deixar passar oxigênio por duas barreiras dielétricas as quais causam correntes elétrica, produzindo radicais livres altamente reativos, que reagem com outras moléculas de oxigênio formando o ozônio (NOVAK; YUAN, 2007). O ozônio é um potente agente oxidante e sua utilização na agricultura se torna atraente pelo fato de poder ser gerado no próprio local

de aplicação e o produto de sua degradação é o oxigênio (O₂) (MENDEZ et al., 2003). Outro importante aspecto a ser mencionado é que o ozônio foi classificado como GRAS (Generally Recognized as Safe) nos Estados Unidos e liberado pelo FDA (Food and Drug Administration) para uso direto em alimentos, tanto na forma gasosa quanto dissolvido em água, como agente antimicrobiano (FDA, 2001).

No que tange ao uso do gás ozônio na prevenção da produção das aflatoxinas em alimentos, é um forte agente antimicrobiano, podendo atuar na inativação ou inibição do desenvolvimento de espécies de fungos potencialmente aflatoxigênicas. Sabe-se que em produtos agrícolas o gás ozônio inibe ou retarda o desenvolvimento de fungos dos gêneros *Fusarium*, *Geotrichum*, *Myrothecium* e *Mucor*, dentre outros (RAILA et al., 2006; WU et al., 2006). O ozônio vem ganhando espaço no processamento de alimentos, devido ao seu alto poder sanitificante e pela sua rápida degradação, não deixando resíduos nos alimentos tratados. Essas propriedades intrínsecas permitem a ingestão de alimentos ozonizados sem riscos à saúde.

Apesar de serem encontrados na literatura muitos relatos referentes à degradação do ozônio em água e também ao efeito da aplicação dessa tecnologia na preservação de alimentos, há apenas um relato no Brasil, no qual se avalia o gás ozônio como agente fitossanitário em grãos de amendoim desenvolvido por Alencar et al. (2012). Nesse estudo, esses autores avaliam o efeito imediato da aplicação do gás sobre fungos potencialmente aflatoxigênicos, *A. flavus* e *A. parasiticus*, em amostras de 1 kg.

Em vista do exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar o uso do ozônio no controle de fungos, incluindo aqueles potencialmente aflatoxigênicos, no amendoim, adotando-se diferentes combinações de concentração, altura da coluna de grãos e tempo de ozonização; determinar o efeito do ozônio na qualidade dos grãos e no óleo bruto e avaliar a qualidade sensorial de grãos de amendoim ozonizados.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Amendoim

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.), leguminosa originária da América do Sul, é cultivado nas mais variadas regiões tropicais do mundo, pela sua ampla adaptabilidade a uma grande diversidade de ambientes (ALMEIDA, 2006).

A grande vantagem do amendoim é sua composição de alta qualidade nutricional. O amendoim contém, por exemplo ácido fólico ou folato, ácido graxo monoinsaturado, omega-3 o que reduz moderadamente os níveis de triglicérides no sangue e a pressão arterial, vitaminas como vitamina E e vitaminas do complexo B, essenciais ao sistema nervoso (ABICAB, 2012). Portanto os grãos de amendoim são substratos ideais para o desenvolvimento de fungos, que, além de causar degradação dos nutrientes, podem produzir as aflatoxinas (AFLs), metabólitos secundários extremamente tóxicos aos homens e animais (SABINO et al., 1989). A composição nutricional do amendoim apresenta-se na Tabela 1.

Tabela 1. Valores de composição nutricional de amendoim torrado para porção de 100 gramas

Composto	Função	Concentração
Cálcio	Ajuda na formação óssea e dental.	72 mg
Calorias	Fonte de Energia.	582 kcal
Carboidrato	Fonte de energia.	20,6g
Ferro	Fundamental no transporte e na distribuição de oxigênio nas células do corpo, ajudando a combater a anemia ferropriva.	2,2mg
Fibra alimentar	Ajuda na digestão e formação do bolo fecal. Reduz o risco de certos tipos de câncer.	2,7g
Folato	Previne doenças neurológicas na fase fetal.	70mg
Fósforo	Fundamental no crescimento, na manutenção e reparação de ossos e dentes.	70mg
Gordura insaturada	Ajuda a reduzir o colesterol ruim, reduzindo risco de ataques cardíacos.	39g
Niacina	Necessário a mais de 50 processo do corpo humano.	12mg
Potássio	Auxilia na transmissão dos impulsos nervosos.	700mg
Proteína	Essencial ao crescimento.	26,2g
Sódio	Garante o balanço hídrico do corpo.	5mg
Vitamina B1	Assegura o funcionamento normal do sistema nervoso, do apetite e da digestão.	0,14mg
Vitamina E (tocoferóis)	Protege as células e os tecidos do corpo contra o envelhecimento.	8,8mg

Fonte: ABICAB, 2012.

2.1.1. Produção do amendoim no Brasil

A área total de amendoim cultivada no país apresenta um incremento de 8% em relação ao que ocorreu na safra 2012/13. Quase 90% dessa área deriva do plantio da primeira safra, onde a participação de São Paulo é de completo domínio na oferta brasileira – nesta safra participa com 93% da produção (Figura 1). O amendoim paulista plantado na primeira safra deste ano foi duramente afetado pela seca, principalmente em dezembro. A produtividade apresentou um declínio de 12,7%, contribuindo para que a produção atingisse 271,5 mil toneladas, contra 284,9 mil toneladas do ano passado (Tabela 2). De uma maneira geral, o amendoim se caracterizou com uma menor oferta de áreas para sua expansão, decorrente da menor renovação dos canaviais com o qual se faz a rotação da cultura (CONAB, 2014).

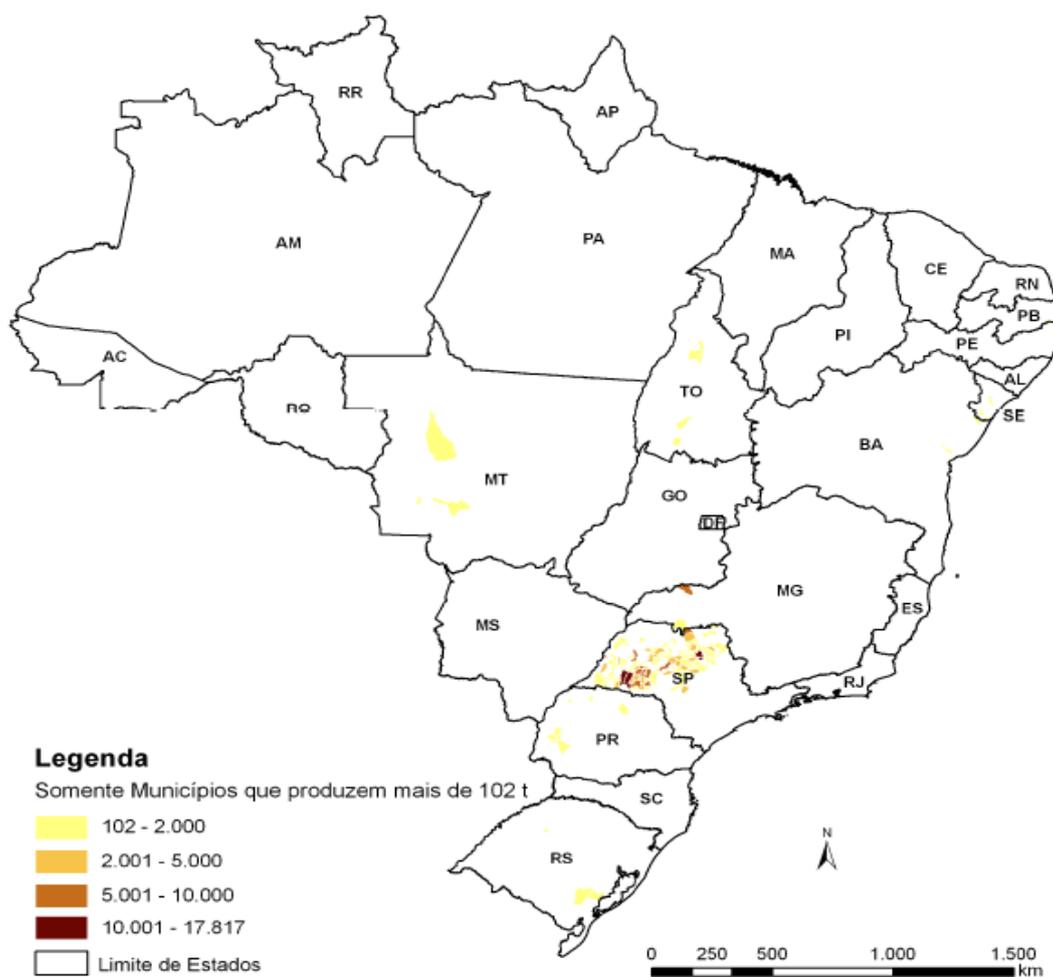


Figura 1. Produção de amendoim no Brasil.

Fonte: CONAB, 2014

Tabela 2. Comparativo de área, produtividade e produção de amendoim no Brasil

REGIÃO/UF	ÁREA (mil ha)			PRODUTIVIDADE (Kg/ha)			PRODUÇÃO (mil t)		
	Safra 12/13 (a)	Safra 13/14 (b)	VAR. % (b/a)	Safra 12/13 (c)	Safra 13/14 (d)	VAR. % (d/c)	Safra 12/13 (e)	Safra 13/14 (f)	VAR. % (f/e)
NORTE	1,5	0,8	(46,7)	3.969	3.556	(10,4)	6,0	2,8	(53,3)
TO	1,5	0,8	(46,7)	3.969	3.556	(10,4)	6,0	2,8	(53,3)
NORDESTE	5,7	4,3	(24,6)	915	1.121	(22,5)	5,2	4,9	(5,8)
CE	1,1	1,0	(9,1)	270	1.154	327,4	0,3	1,2	300,0
PB	0,5	0,7	40,0	800	250	(68,8)	0,4	0,2	(50,0)
SE	1,1	1,3	18,2	1.300	1.740	33,8	1,4	2,3	64,3
BA	3,0	1,3	(56,7)	1.029	945	(8,2)	3,1	1,2	(61,3)
CENTRO- OESTE	0,2	0,4	100,0	1.633	2.500	53,1	0,3	1,0	233,3
MT	0,2	0,4	100,0	1.633	2.500	53,1	0,3	1,0	233,3
SUDESTE	83,4	93,3	11,9	3.631	3.172	(12,6)	302,8	295,9	(2,3)
MG	2,9	2,6	(10,3)	3.379	3.400	0,6	9,8	8,8	(10,2)
SP	80,5	90,7	12,7	3.640	3.165	(13,0)	293,0	287,1	(2,0)
SUL	5,8	5,5	(5,2)	2.084	1.984	(4,8)	12,0	10,9	(9,2)
PR	2,4	2,3	(4,2)	2.850	2.356	(17,3)	6,8	5,4	(20,6)
RS	3,4	3,2	(5,9)	1.544	1.716	11,1	5,2	5,5	5,8
NORTE/ NORDESTE	7,2	5,1	(29,2)	1.551	1.503	(3,1)	11,2	7,7	(31,3)
CENTRO-SUL	89,4	99,2	11,0	3.526	3.103	(12,0)	315,1	307,8	(2,3)
BRASIL	96,6	104,3	8,0	3,379	3.025	(10,5)	326,3	315,5	(3,3)

Fonte: CONAB, 2014.

2.1.2. Sistemas de produção

Nas etapas de produção de amendoim se deve ter um especial cuidado para prevenir os perigos físicos, químicos e biológicos, portanto durante a pré-colheita e pós-colheita é necessário manter umas Boas Práticas Agrícolas (CAMPO PAS,2004).

No que se refere ao controle da contaminação por *Aspergillus spp.* na pré-colheita se deve ter cuidados escolha da área para o plantio e do cultivar, controle de pragas, da umidade no solo no período que antecede a colheita, entre outros. Basicamente, são considerados os fatores agronômicos e ambientais que favorecem a infecção das vagens e sementes com o fungo produtor de aflatoxina. Em função da variação desses fatores,

escolhe-se a área a ser cultivada e as práticas agrícolas a serem adotadas para reduzir a contaminação por aflatoxinas.

De maneira geral, deve-se evitar todo tipo de estresse que favoreça a infecção por *Aspergillus spp.* A colheita do amendoim deve ser planejada para ser realizada no ponto ótimo de maturidade, uma vez que a colheita precoce ou tardia aumenta a proporção de vagens imaturas ou que passaram do padrão de maturidade, aumentando a contaminação por aflatoxinas. A seleção de vagens danificadas deve ser feita, para evitar misturar material infectado com *Aspergillus* do material sadio. Além disso, deve-se reduzir ao máximo a mistura de amendoim com material estranho, plantas daninhas, solo, pedras; promovendo assim melhor aeração e condições de secagem para as vagens (CAMPO PAS,2004).

Na etapa de pós-colheita deve-se manter a umidade dos grãos em índices menores de 10% por meio de secagem no vagem e secagem artificial, considerando que no amendoim a infecção primária por *Aspergillus spp.* ocorre no solo, a realização do descascamento e a manutenção da umidade em níveis baixos previnem a multiplicação do fungo e o acúmulo indesejável da sua toxina. Após o descascamento, a umidade recomendada é entre 5-7 %. Preferencialmente, essa operação deve ser feita 48 horas após a colheita. Outro aspecto importante é o transporte, deve-se evitar flutuações de temperatura, para não condensar água em torno da carga e o consequente reumedecimento dos grãos. O local de armazenagem deve ser ventilado com uma umidade relativa menor de 70 % e temperaturas de 0-10°C, deve estar protegido contra a chuva, insetos, pássaros e os grãos devem ser distribuídos de maneira uniforme favorecendo a dispersão do calor e umidade (CAMPO PAS, 2004).

2.1.3. Qualidade dos grãos de amendoim

Na colheita, na secagem, no armazenamento, no transporte e outras etapas de produção de grãos é preciso ter um especial cuidado e cumprir com as boas práticas agrícolas, para avaliar se o processo foi o adequado se faz necessário realizar diferentes análises como: avaliação de teor de água, condutividade elétrica, entre outras.

2.1.3.1. Teor de água

A determinação do teor de água é o fator de maior importância na prevenção da deterioração do grão durante o armazenamento. Mantendo-se baixo o teor de umidade e a temperatura do grão, o ataque de microrganismos e a respiração terão seus efeitos minimizados. Valores de umidade considerados seguros para um adequado

armazenamento do produto são conhecidos e devem ser respeitados para que a qualidade dos grãos se mantenha durante a estocagem. A quantidade de água, ou o teor de água dos grãos, é expressa pela relação entre as quantidades de água e matéria seca que compõem o produto.

Há dois grupos de métodos para determinação do teor de umidade de grãos: diretos ou básicos (estufa, destilação, evaporação, radiação infravermelha) e indiretos (métodos elétricos, calibrados de acordo com o método-padrão de estufa) (SILVA, 2008).

2.1.3.2. Condutividade elétrica

O método de avaliação da qualidade do grão ou semente, pode ser o sistema do copo a condutividade de massa, que consiste em colocar os grãos em um copo com água e deixar durante 24 horas, depois a leitura da condutividade elétrica é feita pelo condutivímetro; este método, pela simplicidade de realização, poderia ser utilizado até na propriedade, além de poder avaliar níveis diferentes de danos internos e externos em grãos, embora a sua principal desvantagem seja o tempo requerido para sua realização (COUTO et al., 1998).

A quantidade de exsudado da semente, na água de embebição, pode ser influenciada pelo estágio de desenvolvimento no momento da colheita, pelo grau de deterioração e pela incidência de dano causado pela velocidade de embebição, pela ocorrência de injúrias no tegumento da semente, pela temperatura e tempo de embebição, pelo genótipo, pela idade e cor da semente, dentre outros fatores (VIEIRA; CARVALHO, 1994).

2.1.3.3. Coloração dos grãos

A cor é uma característica de suma importância na indústria de alimentos, devido a que é um indicador da qualidade do produto e do manejo adequado durante a colheita, beneficiamento, armazenamento, processamento ou transporte, além pode ser determinante na aceitabilidade do consumidor, frequentemente sobrepõe-se sobre outros atributos como a aparência e odor.

A cor tem diferentes propriedades dependendo do comprimento de onda de luz visível. Estas propriedades são:

Tonalidade (Hue): designa o nome da cor (ex: vermelhos, azuis, verdes, etc.).
Comprimento de onda dominante.

Luminosidade (Value): quantidade de luz que é refletida de uma cor. brilho de um determinado objeto tendo o branco absoluto como referência (mais clara, mais escura), limites: preto e branco.

Saturação (Chroma): grau de concentração ou pureza de uma cor. Uma cor é tanto mais saturada quanto menos a quantidade de branco ou preto tiver. Uma cor está completamente saturada, quando não possui nem branco nem preto.

Medição da cor: “Medir a cor” é um paradoxo, pois o que se pode medir é o estímulo, ou seja, a luz, que para o observador é a luz que entra nos olhos e possibilita a sensação das cores. Os instrumentos para medir o estímulo utilizam uma luz de valor espectral conhecido e sensores para medir a luz refletida ou transmitida. Os instrumentos são: densitômetros, calorímetros, espectrofotômetros.

O espectrofotômetro fornece uma análise da intensidade da luz em diversos comprimentos de onda da amostra da cor em termos de reflexão ou transmissão espectral.

Espectrofotometria: ciência que estuda a análise quantitativa das radiações com relação à sua composição espectral, ou seja, a relação entre a intensidade de luz sobre uma superfície e a curva espectral resultante da mesma luz reflectida de volta ao detector no instrumento.

Reflexão espectral é similar à reflexão (R) medida pelo densitômetro e convertida em densidade, com uma importante diferença: densidade é um valor único que representa o total de números de fótons reflectidos ou transmitidos, enquanto a reflexão espectral é um conjunto de valores que representa o número de fótons que está sendo reflectido ou transmitido em diferentes comprimentos de onda (BOTELHO, 2010).

2.1.4. Subprodutos do amendoim

O uso mais tradicional dos grãos tem sido a extração do óleo, originando, como subproduto, o farelo ou torta de amendoim. O óleo de amendoim refinado possui as propriedades exigidas pelo consumidor, sendo utilizado tanto para alimentação, quanto para usos farmacêuticos e medicinais. É um óleo de belo aspecto, sabor agradável, aroma suave, fluido, pouco solúvel em álcool e pouco suscetível ao ranço. Do óleo podem-se obter os seguintes produtos derivados: maionese, gordura hidrogenada e margarina.

Além como todo óleo vegetal, o óleo de amendoim possui elevado valor energético para fins carburantes, visando a substituição total ou parcial do óleo diesel.

Entretanto, ainda existem alguns obstáculos a serem considerados, como: alta viscosidade, ausência de volatilidade nas temperaturas normais de trabalho dos motores e tendência à deposição de gomas e vernizes (CÂMARA, 2014).

Tabela 3. Características de culturas oleaginosas quanto ao teor de óleo, produtividade média e rendimento de óleo por hectare

Cultura Oleaginosa	Teor de óleo (%)	Produtividade média (kg ha⁻¹)	Rendimento em óleo (kg ha⁻¹)
Amendoim	40-52	1.750	788
Algodão	18-20	1.900	361
Mamona	45-40	1.000	4.700
Canola	38-45	1.433	573
Dendê	22	10.000	4.000
Soja	20	2.800	560
Girassol	42-45	1.800	774

Fonte: Adaptado do Anuário Estatístico da Agroenergia (2013).

2.1.4.1. Métodos de Análise dos Óleos Vegetais

Geralmente não é possível prever qual é o melhor indicador da oxidação do lipídio e caracterizar a degradação oxidativa dos óleos vegetais e derivados. Por essa razão o estudo da estabilidade oxidativa requer o uso de vários métodos e técnicas de análises (SOUZA, 2007).

As análises clássicas, como índice de acidez e peróxidos, são comumente utilizadas no controle de qualidade de óleos vegetais.

➤ **Índice de Acidez (IA):** a determinação da acidez pode fornecer um dado importante na avaliação do estado de conservação do óleo. Um processo de decomposição, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera quase sempre a concentração dos íons hidrogênio. A decomposição dos glicerídios é acelerada por aquecimento e pela luz, sendo a rancidez quase sempre acompanhada pela formação de ácidos graxos livres. O índice de acidez é definido como o número de mg de hidróxido de potássio necessário para neutralizar uma grama da amostra. O método é aplicável a óleos brutos e refinados, vegetais e animais, e gorduras animais. Os métodos que avaliam a acidez titulável resumem-se em titular, com soluções de álcali-padrão, a acidez do produto ou soluções aquosas/alcoólicas do produto, assim como os ácidos graxos obtidos dos lipídios (ZENEBO, 2008).

Entretanto, tal característica não pode ser considerada uma constante dos óleos vegetais, podendo variar conforme o grau de maturação e condições de armazenamento das sementes ou frutos usados para extração da matéria graxa, a temperatura e tempo do processo de extração e das condições de armazenagem do óleo (MELO, 2010).

➤ **Índice de Peróxido (IP):** o índice ou teor de peróxidos é um indicador do grau de oxidação do óleo ou gordura. A sua presença é indício de deterioração, que poderá ser verificada com a mudança do sabor e do odor característicos dos óleos (REDA, 2004). A determinação do índice de peróxido ocorre pela adição de solução de iodeto de potássio saturada à amostra. Os íons iodeto reagem com os peróxidos, produzindo I_2 . O excesso de I_2 não reage e fica em solução. Ao adicionar o amido, como indicador, este em presença de I_2 ficará azul. Ao titular-se a solução com tiosulfato de sódio, este é oxidado a tetrionato de sódio e o iodo é reduzido a I^- , causando a perda da cor azulada. Assim, a quantidade de tiosulfato consumida é proporcional à quantidade de peróxidos presentes na amostra (BACCAN et al., 2003).

2.2. Fatores que influem o crescimento de fungos no amendoim.

Os grãos de amendoim se destacam pelo seu alto valor nutricional. Entretanto, os grãos de amendoim são substratos ideais para o desenvolvimento de fungos, que, além de causar degradação dos nutrientes, podem produzir as aflatoxinas (AFLs), metabólitos secundários extremamente tóxicos aos homens e animais (SABINO et al., 1989). Alguns fatores intrínsecos dos alimentos, como composição nutricional, o teor de umidade e a atividade de água (a_w) podem fornecer substratos para os fungos produtores de AFLs. Outros fatores (externos) como: temperatura, umidade relativa (UR), tempo de armazenagem, microclima, competição microbiológica e o uso de fungicidas, também precisam ser controlados para a segurança do alimento (KABAK et al., 2006).

Teor de umidade: é expresso em termos de umidade absoluta do material e das exigências mínimas apresentadas pelos fungos com relação ao seu desenvolvimento. A baixa umidade não garante armazenagem segura, pois outros fungos podem crescer e liberar água e calor, aumentando a temperatura e umidade nos grãos adjacentes. O ideal é manter um baixo teor de umidade (<1-2%) na armazenagem, secagem homogênea, aeração dos grãos, e a adequada ventilação para a qualidade dos produtos (LORINI, 2002).

Composição nutricional: A composição dos alimentos, em termos de teor de proteínas, carboidratos, lipídios e outros componentes, inclusive antioxidantes, influenciam diretamente na curva de crescimento de microrganismos, assim como no processo de deterioração dos alimentos (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

Teor de atividade de água (aw): É a água disponível para a ação dos microrganismos, onde é medido em escala de 0 a 1. É a relação entre a pressão de vapor de água do substrato e a pressão de vapor de água pura, reflete o grau em que a água está ligada aos componentes do material, não se encontrando disponível para as reações bioquímicas (ex. oxidação lipídica, reações enzimáticas, reações de Maillard, etc) e para o crescimento de microrganismos. A maioria das leveduras não cresce em *aw* abaixo de 0,65 e os fungos em *aw* abaixo de 0,70. Com poucas exceções, é possível considerar um alimento estável em relação à deterioração de microrganismos, quando a *aw* < 0,60 e estes são classificados como desidratados (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

pH: os fungos normalmente desenvolve-se a pH ácido. A faixa de pH ótimo, tanto para a formação de AFLs quanto para o crescimento do fungo PE de 5 a 6 (SCUSSEL, 1998).

Temperatura: para várias espécies de fungos a temperatura de 30°C, típica de regiões tropicais, é uma temperatura ideal para o crescimento. Porém estas faixas são afetadas por outros fatores como umidade, concentração de oxigênio e disponibilidade de nutrientes (LORINI, 2002).

Umidade relativa (UR): A UR mínima onde os fungos crescem é de 70%, e a UR ótima é de 80-85%, contudo eles também podem crescer a UR de 90-100%. A faixa de umidade relativa para a produção de AFLs é de 80-85%, umidade relativa ótima para esporulação de 85%, umidade relativa máxima para produção de AFLs 95-99%, este último percentual corresponde ao conteúdo de umidade de 18,0-18,5% (SCUSSEL, 2002).

Tempo de armazenamento: pode favorecer o desenvolvimento de fungos que exigem umidade baixa e tempo prolongado para que seus danos sejam observados. A preocupação com a flora microbiana em nozes, por exemplo, tem aumentado devido ao grande volume de comercialização desses produtos, e tem gerado novos métodos de detecção e inibição de fungos e AFLs (CANDLISH, 2001; ROJAS-DURAN, 2007).

Competição microbiológica: a existência de amendoim atóxico, apesar de estar altamente contaminado por fungos, bem como a queda abrupta da quantidade após a produção máxima, leva a pensar na existência de microrganismos resistentes a toxina e

aptos a inibir sua produção e degradá-la. Existem linhagens de fungos mais produtoras que irão depender, também, da temperatura, substrato, umidade e microrganismos capazes de degradar a toxina (SCUSSEL, 1998).

Fungicidas: são bastante utilizados para controlar e prevenir o crescimento de fungos nos produtos agrícolas. Contudo, existem limitações no uso destes compostos tais como: toxicidade para animais, excessivo custo, dificuldade de aplicação, efeitos indesejáveis na qualidade dos grãos e pouca toxidez para os fungos de estocagem (LORINI, 2002).

Danos mecânicos: favorecem a absorção de umidade e facilitam a invasão e a penetração dos esporos de fungos no interior altamente nutritivo, desses substratos, levando ao desenvolvimento rápido dos fungos e conseqüentemente aumento dos níveis de toxinas (PACHECO; SCUSSEL, 2006).

2.2.1. Micotoxinas

Os fungos que se desenvolvem em sementes e grãos em geral são frequentemente divididos em dois grupos: fungos do campo, que infectam o produto ainda no campo e fungos de armazenamento. A distinção entre fungos de campo e de armazenamento não é baseada na classificação taxonômica, mas de acordo com as condições ambientais e/ou ecológicas que favorecem o crescimento dos mesmos. Os fungos do campo requerem um teor de umidade em equilíbrio com uma umidade relativa de 90% – 100% para crescerem. Os principais gêneros são *Cephalosporium*, *Fusarium*, *Gibberella*, *Nigrospora*, *Helminthosporium*, *Alternaria* e *Cladosporium* que invadem grãos e sementes durante o amadurecimento e o dano é causado antes da colheita (ATUI; LAZZARI, 1998).

Os fungos de armazenamento *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* e *Mucor* são encontrados em grande número em armazéns, moinhos, silos, elevadores, equipamentos e lugares onde são armazenados, manuseados e processados produtos agrícolas. Os fungos do gênero *Aspergillus* (*A. halophilicus*, *A. restrictus*, *A. glaucus*, *A. candidus*, *A. alutaceus* (*A. ochraceus*) e *A. flavus*) e os do gênero *Penicillium* (*P. viridicatum* e *P. verrucosum*) são os indicadores de deterioração em sementes e grãos, causando danos no germe, descoloração, alterações nutricionais, perda da matéria seca e os primeiros estágios da deterioração microbiológica (ATUI; LAZZARI, 1998).

As espécies de fungos potencialmente aflatoxigênicos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* são saprófitas naturais do solo e ar, e em condições ideais são

capazes de contaminar os alimentos. A ocorrência e magnitude da contaminação por aflatoxinas variam de acordo com os fatores geográficos e sazonais, com as condições locais de crescimento do vegetal e ainda com as práticas de colheita e estocagem utilizadas. As culturas em áreas tropicais e subtropicais como o Brasil estão mais sujeitas à contaminação, pois as melhores condições para o desenvolvimento dos fungos e, conseqüentemente, para a produção das aflatoxinas são encontradas em áreas com alta temperatura (25 a 30 °C) e umidade elevada (80% a 90%) (BULLERMAN. et.al, 1984).

A produção de micotoxinas depende do crescimento fúngico, portanto pode ocorrer em qualquer época do cultivo, colheita, ou estocagem dos alimentos. Contudo, crescimento de fungos e produção de toxinas não são sinônimos, porque nem todos os fungos produzem toxinas, por outro lado, as micotoxinas podem permanecer no alimento mesmo depois que os fungos responsáveis tenham morrido (TANIWAKI; DA SILVA, 2001).

2.2.1.1. Natureza química das micotoxinas

As micotoxinas têm uma grande variedade de estruturas químicas, inclusive alguns compostos relativamente simples, quando comparados com as toxinas bacterianas. Essa grande variação na natureza química das micotoxinas implica na necessidade de um grande número de métodos de extração dos alimentos, dificultando também o controle e padronização da metodologia. Além disso, ainda são requeridos vários outros procedimentos para a identificação e quantificação (TANIWAKI; DA SILVA, 2001).

Tabela 4. Natureza química de algumas micotoxinas

Micotoxina	Natureza Química
Aflatoxinas	Composto heterocíclicos altamente oxigenados (cumarinas substituídas)
Islanditoxina	Ciclopeptídeo contendo cloro
Luteosquirina	Derivado da antraquinona
Citreoviridina	Polienofluorescente
Citrinina	Derivado do pirano
Patulina	Derivado da pirona
Ocratoxina	Amido formado por fenilalanina mais uma cloroisocumarina oxigenada
Zearalenona	Composto heterocíclico oxigenado
Tricotecenos	Sesquiterpenos

Fonte: Taniwaki; Da Silva (2001).

A umidade relativa crítica para o crescimento fúngico nos alimentos é diferente para cada produto, além de que cada produto também apresenta um tipo de microbiota fúngica predominante que depende do conteúdo de umidade. Na Tabela 5 são apresentados os limites de umidade mínimos para crescimento e produção de toxinas *A.flavus* em diversos substratos naturais. Esses limites não representam um nível seguro para armazenamento desses produtos (TANIWAKI; DA SILVA, 2001).

Tabela 5. Limites mínimos de umidade para crescimento de *A. flavus* e produção de aflatoxinas em diferentes produtos

Produtos	Umidade
Trigo, milho e sorgo	18%
Arroz não beneficiado	16,5%
Arroz beneficiado	17,5%
Soja	17 – 18%
Amendoim	9 – 10%

Fonte: Taniwaki; Da Silva (2001).

As micotoxinas são encontradas em quase todos os tipos de cereais, oleaginosas e produtos alimentícios, tanto de origem vegetal como animal. A contaminação de produtos de origem animal pode ocorrer como depósito de resíduos de micotoxinas nos tecidos e no leite, originadas da ingestão de rações contaminadas pelos animais (PITT, 1984). Nas Tabelas 6 e 7 encontram-se as matérias primas e alimentos que apresentam risco de invasão fúngica e formação de micotoxinas.

Tabela 6. Alimentos com um alto risco de contaminação de micotoxinas

Alimento	Fungo	Micotoxinas Prováveis
Amendoim, amêndoas	<i>Aspergillus flavus</i>	Aflatoxinas
	<i>Aspergillus parasiticus</i>	
Milho	<i>A. flavus</i>	Aflatoxinas
	<i>Fusarium spp.</i>	Tricotecenos
	<i>F. moniliforme</i>	Zearalenona e fumonisinas
Sorgo	<i>Fusarium spp.</i>	Tricotecenos
	<i>Alternaria spp.</i>	Alternariol, metil éter, alternariol, ácido
	<i>A. flavus</i>	tenuazônico. Aflatoxinas

Fonte: Taniwaki; Da Silva, 2001.

Tabela 7. Alimentos e matérias primas com um moderado risco de contaminação por micotoxinas

Alimento	Fungo	Micotoxinas prováveis
Trigo	<i>Penicillium spp</i> <i>Alternaria spp</i> <i>F. graminearum</i>	Ocratoxina, ácido ciclopiazônica, tremorgênicos, citrina, etc Alternariol, metil éter alternariol, ácido tenuazônico. Deoxinivalenol
Cevada	<i>P. verrucosum</i>	Ocratoxina
Farinha	<i>Penicillium</i>	Várias
Cereais matinais à base de milho	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Fusarium spp</i>	Aflatoxinas Tricotecenos, fumonisinas.
Cereais matinais à base de trigo	<i>Fusarium spp</i>	Tricotecenos
Queijo	<i>Penicillium spp</i>	Várias
Maças	<i>Penicillium expansum</i>	patulina

Fonte: Taniwaki; Da Silva, 2001.

No Brasil, a contaminação de matérias primas e alimentos processados por aflatoxinas é um problema grave, porque o clima tropical favorece a proliferação dos fungos. Sabino et al. (1989) analisaram 1.374 amostras de amendoim e derivados, expostos ao consumo na cidade de São Paulo, no período de 1980 a 1987. Foram destacadas aflatoxinas em 576 amostras analisadas, sendo que 68,75% apresentaram níveis superiores a 30 µg/Kg, limite tolerado pela legislação brasileira.

2.2.2. Aflatoxinas (AFLs)

As AFLs são as micotoxinas mais estudadas, seu descobrimento ocorreu durante o estudo das causas de um acidente econômico, em 1960, na Inglaterra, com a morte de 400.000 perus devido a uma doença sem causa aparente, chamada de Turkey X Disease, e que posteriormente foi associada ao consumo de ração contaminada (ZOLLNER, 2006). Em 1961 responsabilizou-se a ração proveniente do Brasil de conter o princípio tóxico causador da doença. Entretanto, o composto foi detectado também em rações de outros países. Estudos em 1962 identificaram a ingestão do alimento contaminado com grande número de hifas de *Aspergillus flavus* como causa da doença, sendo então, um fator tóxico detectado por cromatografia em camada delgada (CCD) e denominado de aflatoxina. Na detecção foram observados compostos com fluorescência azul e verde,

sob luz ultravioleta (UV), isto é, Aflatoxina B (Blue) e G (Green) e suas frações AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2, em que a AFB1 é considerado o composto mais tóxico (EVANGELISTA, 2009).

As AFLs (Figura 2) são substâncias apolares, solúveis em solventes como o clorofórmio, metanol, benzeno, acetonitrila, etc. São instáveis a luz UV, mas bastante estáveis a temperatura acima de 25°C e não são afetadas pelo frio. Pequena ou nenhuma decomposição de AFLs é obtida sob condições normais de cozimento, pasteurização e torrefação de alguns tipos de alimentos (PATERSON, 2006). Além disso, são incolores, inodoras e não alteram o sabor dos alimentos (PÁDUA et al., 2002).

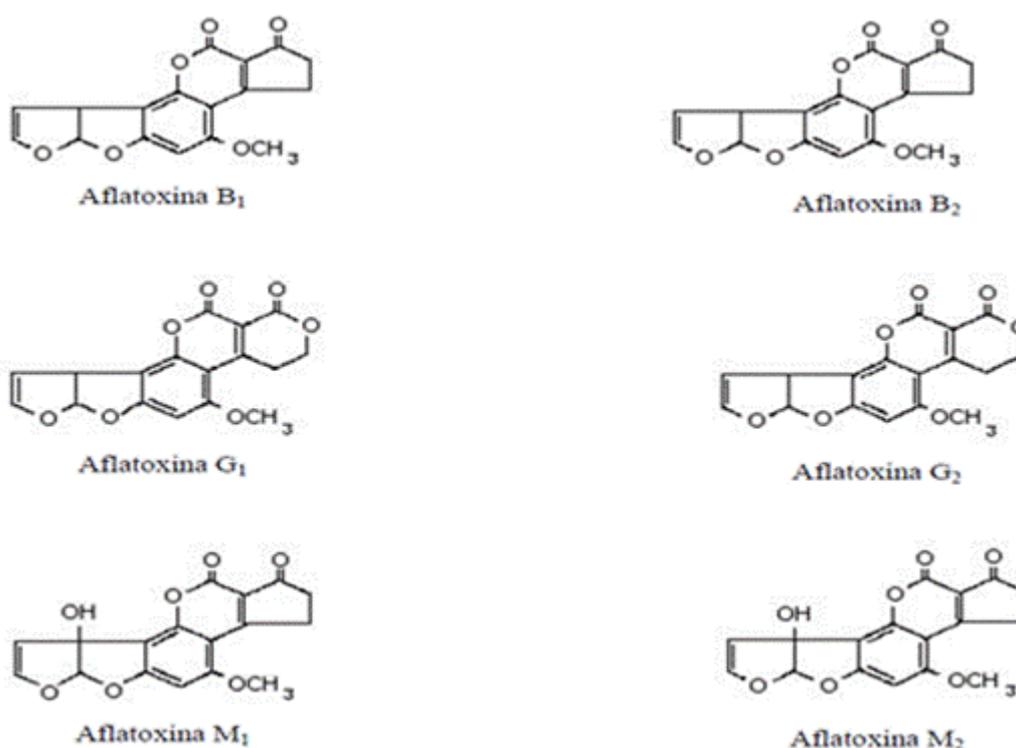


Figura 2. Estruturas químicas das aflatoxinas

Fonte: Evangelista (2009).

2.2.2.1. Toxicidade

Na Tabela 8, encontram-se a toxidez das principais micotoxinas encontradas em alimentos. As aflatoxinas destacam-se por sua elevada toxidez, em especial a Aflatoxina B1.

Há mais de 20 tipos de moléculas de AFLs e seus derivados isolados, porém os principais tipos estudados continuam sendo a AFB1, AFB2, AFG1 e AFG2 (HUSSEIN; BRASEL, 2001). A ingestão de alimentos com alto grau de contaminação em curto

prazo, determinada aflatoxicose aguda produz, efeitos agudos, caracteristicamente hepatotóxicos (HAAS, 2000).

O efeito agudo de aflatoxicose em homens e animais é de manifestação e percepção rápidas, podendo levar à morte, pois causa alterações irreversíveis. O efeito subagudo é o resultado da ingestão de doses não elevadas que provoca distúrbios e alterações nos órgãos, especialmente no fígado. Ambos os casos dependem da susceptibilidade da espécie animal, da idade, onde os mais jovens são mais afetados, do estado nutricional e do sexo. Sabe-se, também, que ela pode provocar cirrose, necrose do fígado, proliferação dos canais biliares, síndrome de Reye (encefalopatia com degeneração gordurosa do cérebro), hemorragias nos rins e lesões sérias na pele, pelo contato direto. (TEIXEIRA, 2008).

Tabela 8. Toxidez das micotoxinas

Toxidez	Micotoxina
Carcinogênicas	Aflatoxinas, esterigmatocistina, luteosquirina, ácido ciclopiazônico.
Mutagênicas	Aflatoxinas, 8 metoxipsoralem
Hepatotóxicas	Aflatoxinas, ocratoxina A, luteosquirina, rubratoxina.
Nefrotóxicas	Ocratoxina A, citrinina, deoxinivalenol
Estrogênica	Zearalenona
Neurotóxicas	Citreoviridina, tremorgênica (penitrem), patulina, alguns derivados do ácido lisérgico, fumonisinas.

Fonte: Taniwaki; Da Silva, 2001.

2.2.2.2. Legislação

Pela resolução RDC N° 274, de 15 de outubro de 2002, publicado no Diário Oficial da União de 16/10/2002, o Ministério de Saúde e Agência Nacional de Vigilância Sanitária fixou o limite máximo de aflatoxinas de acordo aos seguintes critérios:

- Se na análise da primeira subamostra de milho, farinha de milho, amendoim, ou pasta de amendoim, o resultado for igual ou menor que 20 µ/kg de aflatoxinas totais, o lote será aceito. Se o resultado da análise for superior a 20 µ/kg de aflatoxinas totais, o lote será rejeitado.
- Se na análise da primeira subamostra de leite, o resultado for igual ou menor que 0,5 µ/L de aflatoxina M1 para leite fluído, ou igual ou menor que 5,0 g/kg de aflatoxina M1

para leite em pó, o lote será aceito. Se o resultado da análise for superior aos valores supramencionados, o lote será rejeitado.

- No caso do lote rejeitado na primeira análise, a requerimento da parte interessada, o laboratório que realizou a primeira análise, efetuará a análise da segunda subamostra, na presença dos peritos técnicos indicados pelas partes envolvidas.
- No caso de haver discordância entre os resultados analíticos da primeira e da segunda subamostra, poderá ser realizada pelo mesmo laboratório, a análise da terceira subamostra, sendo o seu resultado inapelável.
- Na análise da segunda e terceira subamostras, serão adotados os mesmos critérios de aceitação ou rejeição para os lotes, estabelecidos anteriormente (ANVISA, 2002).

Tabela 9. Limites máximos admissíveis de concentração de aflatoxinas

Alimento	Aflatoxina	Limite
Leite, leite fluído, leite em pó.	M ₁ M ₁	0,5 µg/L 5,0 µg/kg
Milho, milho em grão (inteiro, partido, amassado, moído), farinhas ou sêmolos de milho	B1 + B2 + G1 + G2	20,0 µg/kg
Amendoim, amendoim (com casca), (descascado, cru ou tostado), pasta de amendoim (pasta de amendoim ou manteiga de amendoim)	B1 + B2 + G1 + G2	20,0 µg/kg

Fonte: ANVISA, 2002.

2.3. Métodos para controle de micotoxinas

O processo de prevenção e controle dos diversos tipos de micotoxinas, após mais de 40 anos da sua descoberta, ainda não apresentou um modelo seguro, eficaz e de solução definitiva (PRADO et al., 2006). Muitas micotoxinas se destacam por apresentar significativa estabilidade química, acarretando sua persistência no produto, mesmo após a remoção dos fungos durante as etapas do processamento (BITTENCOURT et al., 2005).

Existem dois processos básicos no controle de micotoxinas em alimentos: descontaminação e detoxificação (OZDEMIR; OZILGEN, 2007). O processo de

descontaminação é definido como a remoção física das unidades contaminadas. Por outro lado, a detoxificação é a remoção ou destruição da toxina nas unidades contaminadas. De acordo com Shapira e Paster (2004), um processo de detoxificação ideal deve inativar, destruir ou remover a toxina completamente ou reduzir sua concentração em níveis aceitáveis; não produzir resíduos tóxicos na matéria-prima ou subproduto; preservar o valor nutricional do alimento; destruir micélios e esporos de fungos de modo a evitar a produção da toxina; ser eficiente economicamente; ser de fácil uso e aprovado por agências reguladoras.

As estratégias de detoxificação incluem métodos de inativação térmica, irradiação, extração com solvente, inativação microbiológica, métodos químicos de inativação e fermentação. Os métodos químicos de inativação têm sido amplamente testados devido à grande capacidade de degradação e inativação das aflatoxinas (RITCHEI, 2002). Entretanto, apesar da significativa capacidade das substâncias químicas de eliminar as aflatoxinas, na maioria das vezes tais métodos são inviáveis tecnicamente e economicamente, ou ainda proporcionam formação de resíduos tóxicos, ou alteram a composição nutritiva dos alimentos. Dentre os métodos químicos apresentados, destacam-se a detoxificação com amônia e a reação com bissulfito de sódio, que apresentam efetiva capacidade detoxificante (KOLTUN, 1986; BOZOGLU, 2006; OZDEMIR; OZILGEN, 2007). Particularmente, a detoxificação de aflatoxinas com amônia em alimentos é um procedimento aprovado em países como Estados Unidos, França, Senegal e Inglaterra, custando tal processo entre 5 e 10% do valor da commodity (COKER, 1998; HUWIG et al., 2001). Uma alternativa que vem sendo apresentada para prevenção e controle de micotoxinas e em especial as aflatoxinas é o gás ozônio.

2.3.1. Gás Ozônio

O ozônio é um potente agente oxidante, o segundo com maior potencial de oxidação (2,07 mV), sendo superado somente pelo flúor (3,07 mV) e sua utilização na agricultura se torna atraente pelo fato de poder ser gerado no próprio local de aplicação. (MENDEZ et al., 2003).

2.3.1.1. Historia

O ozônio foi descoberto em 1840 por Schonbein, em 1888 Fewson utilizou o gás para desodorização de esgotos. A primeira desinfecção em escala comercial de água potável com ozônio foi posta em prática em França, em 1906 (GRAHAM, 1997). A

primeira estação de tratamento de água para uso de ozônio nos Estados Unidos foi instalada em 1940, levando a mais de 350 estações de tratamento de água municipais (OVERBECK, 2000).

Em 2001, a FDA aprovou o uso do ozônio como agente antimicrobiano em alimentos, tanto na fase gasosa como dissolvido em água (FDA, 2001). O tempo de exposição necessário para inativação de microrganismos depende da espécie microbiana e da concentração do ozônio, e uma concentração menor que 0,02 mg L⁻¹ é suficiente para tratar água pura. O gás age diretamente sobre os microrganismos e destrói seu envoltório celular (SUSLOW, 2004; STUCKI et al., 2005).

A ozonização tem sido utilizada na Europa para sanitizar água destinada ao consumo humano. Atualmente, utiliza-se essa tecnologia para outros fins, como para o tratamento de água de piscinas; para a sanitização de galões de água, de superfícies de alimentos, de plantas e de equipamentos de processamento de alimentos; para a desinfecção de carcaças; na conservação de frutas e de verduras; e no controle de insetos-praga de grãos armazenados (HSIEH et al., 1998; MENDEZ et al., 2003; PEREIRA et al., 2008).

2.3.1.2. Propriedades do Ozônio

O ozônio é um gás azulado a temperaturas e pressões ambientes, que se dissolve facilmente em água há temperatura de refrigeração e valores de pH acídicos (GORDON, 1995). Quando o pH ou a temperatura são elevados o ozônio decompõe-se em radicais livres reativos e como resultado se transforma em um agente oxidante potente com ação antimicrobiana eficaz, por estas razões a utilização do ozônio na produção e processamento de alimentos está aumentando progressivamente. Comparado com outros sanitizantes, o gás tem limitado a solubilidade em água e, portanto, as aplicações aquosas requerem sistemas de injeção de gás eficientes e tratamento (NOVAK, 2007). Na Tabela 10 são apresentadas as propriedades do gás ozônio.

Tabela 10. Propriedades do Ozônio

Propriedades Físicas		
	Métrico	Inglês
Densidade	0.001962 g/cc	0.00007088 lb/in ³
Peso Molecular	47.998 g/mol	47.998 g/mol
Propriedades Químicas		
Número Atômico	8	8
Pressão Crítica	55.7000 bar	41778.4 torr
Temperatura Crítica	-11.9 °C	10.6 °F
Volumes Molares Críticos	89.0 cm ³ /mol	5.43 in ³ /mol
Eletronegatividade	3.44	3.44
Propriedades Térmicas		
Capacidade Calórica Específica	0.816701 J/g-°C	0.195196 BTU/lb-°F
Ponto de Fusão	-193 °C	-315 °F
Ponto de Ebulição	-111.35 °C	-168.43 °F
Calor de formação	142.7 kJ/mol	142.7 kJ/mol
Propriedades Descritivas		
Aparência	Gás Azul	
Solubilidade	Pouco solúvel em H ₂ O	

Fonte: MatWeb (2015).

2.3.1.3. Produção de ozônio na indústria

A produção comercial do ozônio é realizada pelo processo de descarga elétrica, também chamado de processo corona. Um gerador de ozônio que do gás que passa através dos eléctrodos (utiliza o processo corona é constituído por dois eletrodos submetidos a uma elevada diferença de potencial (aproximadamente 1000 V). O ozônio é gerado pela passagem de ar ou oxigênio puro entre os dois eletrodos. Quando os elétrons possuem energia suficiente para dissociar a molécula de oxigênio, começam a ocorrer colisões, que causam a dissociação do oxigênio e a conseqüente formação do ozônio (USEPA, 1999).

Para a geração de ozônio, a partir do ar geralmente é necessário seu pré-tratamento, que inclui etapas de filtração, compressão, resfriamento e desumidificação.

Já a geração a partir do oxigênio é realizada alimentando o gerador de ozônio a partir de um tanque de oxigênio líquido precedido de um evaporador. As vantagens de utilizar um ozonizador alimentado com oxigênio são o menor custo de manutenção, devido à maior simplicidade do equipamento e maior rendimento no processo de transformação de oxigênio em ozônio. Porém, a desvantagem é o alto custo do oxigênio (LAPOLLI et al., 2003).

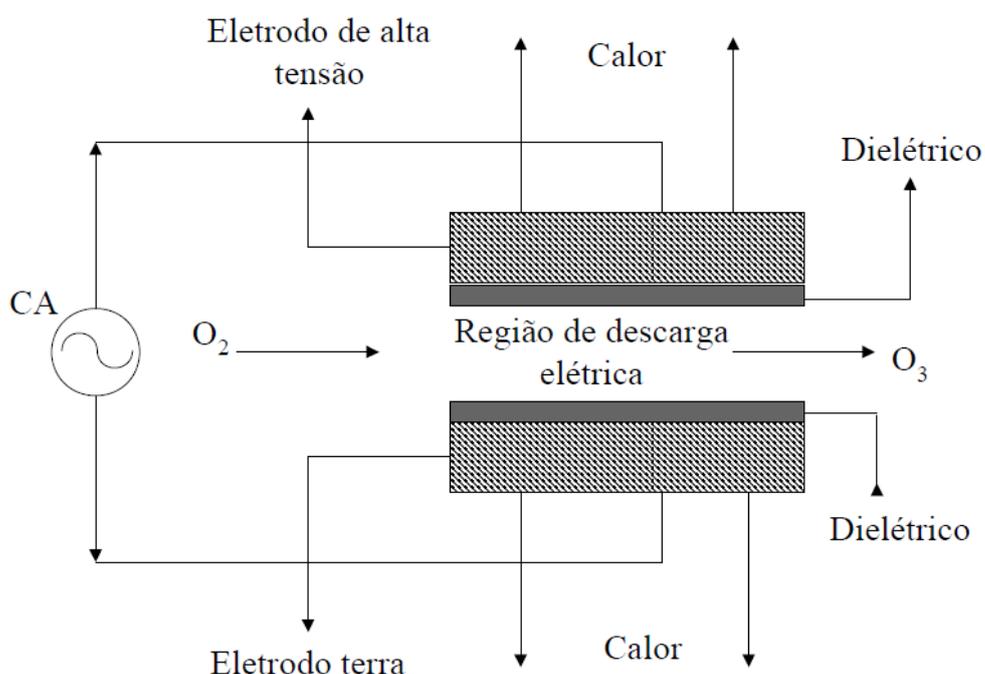


Figura 3. Mecanismo de formação do gás ozônio pelo método corona.

Fonte: Holtz (2006).

O ozônio tem forte atividade antimicrobiana contra bactérias, fungos, protozoários e esporos de bactérias quando estes microrganismos estão presentes em ambientes de baixa demanda de ozônio (KHADRE et al., 2001).

2.3.1.4. Propriedades antimicrobianas do Ozônio

A atividade de oxidação de ozônio está diretamente associada com sua forma molecular ou sua decomposição dos subprodutos, também conhecidos como espécies reativas de oxigênio, tais como hidroxilo (OH), superóxido (O_2^-), e hydroperoxyl (HO_2^-) e radicais (KANOFISKY; SIMA, 1991; HUNT; MARINAS, 1997). As reações complexas de oxidação ocorrem contra lipídios insaturados da célula microbiana,

enzimas intracelulares, e material genético (KHADRE et al, 2001; KIM et al.2003). Por exemplo, a viabilidade de *E.coli* K-12 diminuiu, porque a permeabilidade da membrana é comprometida, e as proteínas intercelulares são degradadas progressivamente quando aumenta o tempo de ozonização (DAVE, 1999; KHADREE; YOUSEF, 2001). Os danos causados nas membranas de bactérias gram-negativas resultam na perda de um dos componentes celulares. Por outro lado, o ozônio causa danos na parede celular das bactérias gram-positivas e danos intercelulares foram a principal razão para inativação destas células mediante o ozônio (KIM, 1998).

Além de apresentar grande capacidade de inativar microorganismos e dessa forma ser capaz de prevenir a formação das aflatoxinas, o gás ozônio tem sido proposto como agente na degradação de micotoxinas. Na literatura encontram-se relatos que mencionam o gás ozônio como agente capaz de degradar as aflatoxinas, fumonisina, ochratoxina, patulina, deoxinivalenol e zearalenona (MCKENZIE et al., 1997; YOUNG et al., 2006).

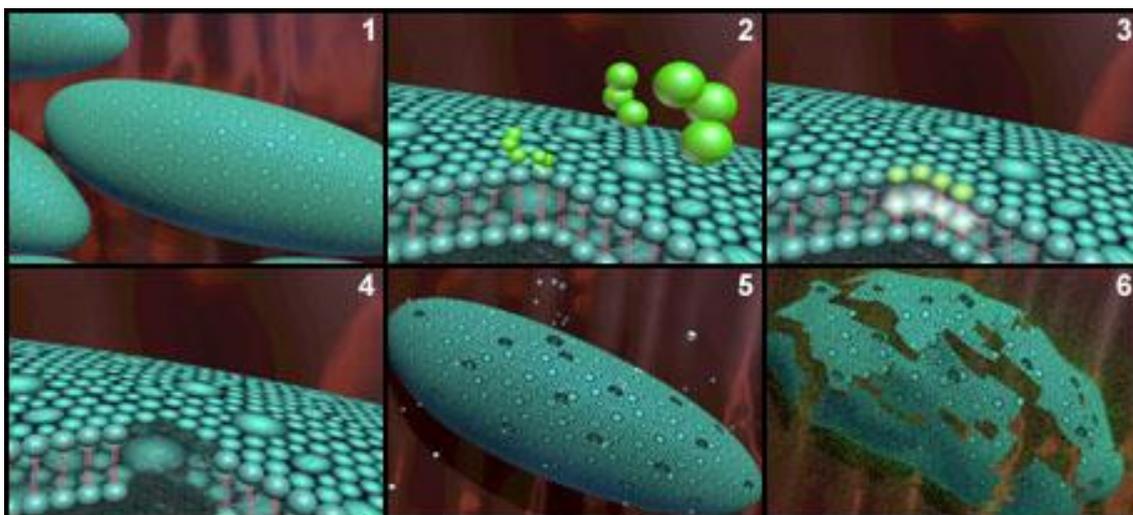


Figura 4. Ação na célula microbiana

Disponível em: <http://www.alvap.com.br/Efeito.php>

2.4. Análises Sensorial dos Alimentos

Análise Sensorial é a disciplina científica que evoca, mede, analisa e interpreta reações das características de alimentos e materiais como são percebidas pelos órgãos da visão, olfato, gosto, tato e audição. Essa disciplina é utilizada em pesquisa e no desenvolvimento de novos produtos, no controle de qualidade, controle de processo de

fabricação, controle da qualidade do produto acabado e controle de mercado (ABNT, 1993).

Análise sensorial é realizada em função das respostas transmitidas pelos indivíduos às várias sensações que se originam de reações fisiológicas e são resultantes de certos estímulos, gerando a interpretação das propriedades intrínsecas aos produtos. Para isto é preciso que haja entre as partes, indivíduos e produtos, contato e interação. O estímulo é medido por processos físicos e químicos e as sensações por efeitos psicológicos. As sensações produzidas podem dimensionar a intensidade, extensão, duração, qualidade, gosto ou desgosto em relação ao produto avaliado (ZENEBO, 2008).

2.4.1. Propriedades sensoriais

A nossa “máquina” de análise sensorial é composta pelos nossos sistemas sensoriais: olfato, gustativo, tátil, auditivo e visual. Esses sistemas avaliam os atributos dos alimentos, ou seja, suas propriedades sensoriais (ANZALDÚA- MORALES, 1994). As propriedades são as seguintes:

Cor: o primeiro contato do consumidor com um produto, geralmente, é com a apresentação visual, onde se destacam a cor e a aparência. Todo produto possui uma aparência e uma cor esperadas que são associadas às reações pessoais de aceitação, indiferença ou rejeição. A cor de um objeto possui três características distintas que são o tom, determinado pelo comprimento de onda da luz refletida pelo objeto; a intensidade, que depende da concentração de substâncias corantes dentro do alimento e o brilho, que é a quantidade da luz refletida pelo corpo em comparação com a quantidade de luz que incide sobre o mesmo (TEIXEIRA et al, 1987; HUI, 1992; ANZALDÚA-MORALES, 1994).

Odor: segundo a ABNT, odor é a propriedade sensorial perceptível pelo órgão olfativo quando certas substâncias voláteis são aspiradas (ABNT, 1993). Essas substâncias, em diferentes concentrações, estimulam diferentes receptores de acordo com seus valores de limiar específicos. Segundo Teixeira et al (1987), as características do odor são a intensidade, a persistência e a saturação; a primeira tem relação com a própria característica do odor (nota) e a concentração; a persistência (a segunda característica) também pode estar relacionada indiretamente com a intensidade, mas está diretamente relacionada ao tempo de duração. Já a saturação está relacionada com a

capacidade do sistema nervoso central em se acostumar ao odor e passar a não percebê-lo conscientemente.

Gosto: é uma das propriedades sensoriais da cavidade bucal relacionadas ao paladar, percebidas pela boca. É a identificação, através das papilas gustativas, das características básicas (ou gostos primários) dos alimentos, ou seja, os gostos ácidos, amargos, doces e/ou salgados (TEIXEIRA et al, 1987; HUI, 1992; ABNT, 1993; ANZALDÚA-MORALES, 1994).

O sabor é um atributo complexo, definido como experiência mista, mas unitária de sensações olfativas, gustativas e táteis percebidas durante a degustação (ABNT, 1993). O sabor é influenciado pelos efeitos táteis, térmicos, dolorosos e/ou sinestésicos, e essa inter-relação de características é o que diferencia um alimento do outro. Quando um sabor não pode ser definido claramente é denominado *suigeneris*, porém, por meio da análise sensorial, pode-se obter o perfil do sabor do alimento, que consiste na descrição de cada componente de um produto. Algumas características devem ser levadas em consideração em alguns alimentos (ou ingredientes de alimentos) e uma delas é o tempo de percepção, ou seja, o tempo para ser percebida pelo paladar. Outra característica importante para se observar é o sabor residual que permanece na boca algum tempo após o alimento ser deglutido (TEIXEIRA et al, 1987; HUI, 1992; ABNT, 1993; ANZALDÚA- MORALES, 1994).

Textura: A textura é a principal característica percebida pelo tato. É o conjunto de todas as propriedades reológicas e estruturais (geométricas e de superfície) de um alimento, perceptíveis pelos receptores mecânicos, táteis e eventualmente pelos receptores visuais e auditivos (ABNT, 1993). A textura se manifesta quando o alimento sofre uma deformação (quando é mordido, prensado, cortado, etc), e é através dessa interferência na integridade do alimento que se pode ter noção da resistência, coesividade, fibrosidade, granulabilidade, aspereza, crocância, entre outras. As propriedades da textura podem ser classificadas em três categorias: mecânica, geométrica e de composição, que por sua vez podem ser subdivididas em primárias e secundárias, (ANZALDUA-MORALES, 1994). Para alimentos líquidos, tal deformação se chama fluidez e para alimentos semi-sólidos ao invés de textura, denomina-se consistência (TEIXEIRA et al, 1987; HUI, 1992; ANZALDÚA- MORALES, 1994).

Som: Os alimentos possuem sons característicos, que são reconhecidos pela experiência prévia do consumidor quando são consumidos ou preparados; sendo associado principalmente à textura do alimento (TEIXEIRA et al, 1987; HUI, 1992).

2.4.2. Análise das características sensoriais

A qualidade sensorial dos alimentos e sua manutenção favorecem a fidelidade do consumidor a um produto específico em um mercado cada vez mais exigente; para determinar as preferências dos consumidores é preciso desenvolver análises, que se classificam em métodos descritivos, métodos afetivos e métodos de diferença ou discriminativos.

2.4.2.1. Método Sensorial Descritivo

Na análise descritiva o provador avalia, através de uma escala, o grau de intensidade com que cada atributo está presente. Os julgadores devem ser treinados a usar a escala de forma consistente em relação à equipe e às amostras, durante todo período de avaliação. Exige-se cuidado na padronização do preparo e apresentação de amostras e na formação da equipe sensorial. As amostras devem ser codificadas com números de três dígitos aleatórios, casualizadas e apresentadas à equipe treinada e selecionada. As técnicas descritivas mais utilizadas são: o perfil de sabor, perfil de textura e a análise descritiva quantitativa (ADQ).

Perfil de sabor: pode ser realizada descrição completa do odor e aroma, do sabor e das sensações bucais residuais perceptíveis pelos julgadores, determinando graus de diferenças entre amostras ou suas misturas e impressão global do produto.

Perfil de textura: pode fornecer uma descrição completa da textura, segundo parâmetros mecânicos, geométricos, de gordura e umidade, com definição do grau em que estão presentes e da ordem com que são percebidos desde a primeira mordida até a mastigação e fases finais de deglutição.

Análise descritiva quantitativa (ADQ): foi desenvolvida por Stone et al. (1974) é muito utilizado para traçar, de forma mais completa possível, o perfil sensorial quanto aos atributos de aparência, odor, textura e sabor. O método identifica os atributos e os quantifica na ordem de ocorrência. Primeiramente, os atributos são decompostos pela equipe sensorial que busca os termos descritores, seus significados, materiais de referências adequados e a melhor sequência de avaliação. (ZENEBO, 2008).

2.4.2.2. Método sensorial afetivo

Método utilizado em análise sensorial de alimentos, bebidas e água. O julgador expressa seu estado emocional ou reação afetiva ao escolher um produto pelo outro. É a forma usual de medir a opinião de um grande número de consumidores com respeito as

suas preferências, gostos e opiniões. As escalas mais empregadas são: de intensidade, a hedônica, do ideal e de atitude ou de intenção. Os julgadores não precisam ser treinados bastando ser consumidores frequentes do produto em avaliação. Basicamente, os testes afetivos podem ser classificados em duas categorias: de preferência (escolha) e de aceitação (categoria) (ZENEBO, 2008).

Testes de escala hedônica: Com o teste da escala hedônica, o indivíduo expressa o grau de gostar ou de desgostar de um determinado produto, de forma globalizada ou em relação a um atributo específico. As escalas mais utilizadas são as de 7 e 9 pontos, que contêm os termos definidos situados, por exemplo, entre “gostei muitíssimo” e “desgostei muitíssimo” contendo um ponto intermediário com o termo “nem gostei; nem desgostei”. É importante que as escalas possuam número balanceado de categorias para gosto e desgosto. As amostras codificadas com três dígitos e aleatorizados são apresentados ao julgador para avaliar o quanto gosta ou desgosta de cada uma delas através da escala previamente definida. Sua preferência é obtida por inferência. Recomenda-se que o número de julgadores seja entre 50 e 100. O delineamento experimental a ser utilizado deve ser previamente escolhido, podendo-se optar pelo de blocos completos balanceados ou casualizados ou blocos incompletos casualizados, conforme a situação.

Testes de aceitação por escala do ideal: na escala do ideal o indivíduo expressa o quão ideal o produto está em relação à intensidade de um atributo específico. Geralmente, a escala possui de 3 a 5 pontos, podendo conter termos opostos como, por exemplo, “muito fraco” a “muito forte” e no centro da escala o termo “ideal”, de tal forma que tenha números iguais de categorias de ambos os lados. São apresentadas ao julgador amostras codificadas e aleatorizadas para indicar o quão ideal está certo produto em relação a termos pré-definidos. Geralmente, os dados obtidos são avaliados na forma de porcentagem de julgamentos, podendo ser utilizado um limite de 70% de respostas para o termo “ideal”. O resultado também pode ser avaliado elaborando-se um gráfico de frequências das respostas através de histogramas ou comparando-se a distribuição das respostas das amostras avaliadas com uma amostra-padrão pelo teste Qui-quadrado ou por regressão linear simples. Recomenda-se que o número de julgadores selecionados esteja entre 50 e 100. O delineamento experimental deverá ser previamente definido, podendo-se optar pelo de blocos completos balanceados ou casualizados ou blocos incompletos casualizados, conforme a situação.

Teste de Preferência: O indivíduo manifesta sua preferência em relação ao produto que lhe é oferecido. As escalas mais utilizadas são de ordenação-preferência e comparação pareada. No teste de ordenação-preferência uma série de amostras é apresentada para que seja ordenada de acordo com a preferência do julgador. Na comparação pareada são apresentados pares de amostras para serem comparadas pelo julgador em relação a sua preferência (ZENEBO, 2008).

2.4.2.3. Método Sensorial Discriminativo

Os testes sensoriais discriminativos ou de diferença são considerados métodos objetivos utilizados em análise sensorial de alimentos, bebidas e água, com os efeitos das opiniões dos indivíduos minimizados. Medem atributos específicos pela discriminação simples, indicando por comparações, se existem ou não diferenças estatísticas entre amostras.

Exigem cuidados na padronização do preparo e apresentação das amostras e na formação da equipe sensorial. Todas as amostras devem ser codificadas com números aleatórios de três dígitos, casualizadas e apresentadas à equipe pré-selecionada e treinada. Os testes devem ser conduzidos em cabines individualizadas com controle das condições ambientais, tais como: iluminação, temperatura, ausência de sons ou ruídos e livre de odores estranhos. Os testes discriminativos ou de diferença mais empregados em análise sensorial são: triangular, duo-trio, ordenação, comparação pareada e comparação múltipla ou diferença do controle.

Teste de comparação pareada: pode ser direcional, detectando pequenas diferenças entre amostras quanto a um atributo específico ou estabelecendo a existência de uma preferência. Pode ser aplicado para selecionar e treinar julgadores. Duas amostras são apresentadas simultaneamente. Cabe ao julgador identificar a amostra codificada que apresenta o atributo específico diferente ou a amostra preferida. Ao julgador deve-se fazer uma pergunta específica relevante, referindo-se à diferença, diferença direcional ou preferência. Perguntas sobre diferença e preferência não devem ser combinadas. A escolha é forçada. A probabilidade de acertos é de 50% ($p = 1/2$). A interpretação do resultado se baseia no número de julgamentos totais versus o número de julgamentos corretos. Se o número de julgamentos corretos for maior ou igual ao valor tabelado, conclui-se que existe diferença significativa entre as amostras ao nível de probabilidade correspondente.

Teste de comparação múltipla: o teste de comparação múltipla ou diferença-do-controle avalia, simultaneamente, uma ou mais amostras quanto a um atributo específico, determinando a diferença e o grau da diferença em relação a um controle (C). Apresenta-se o controle (C), a amostra-controle codificada e uma ou mais amostras-teste codificadas. Cabe ao julgador avaliar e dar valores às amostras-teste codificadas em comparação ao controle através da escala de grau de que poderá ser verbal, numérica ou mista. Para análise dos dados faça correspondência entre os valores verbais e numéricos. Deve-se comunicar ao julgador que uma das amostras pode ser igual ao controle. A interpretação do resultado é realizada por meio da análise de variância e teste de comparação múltipla de médias. Quando o interesse é comparar amostra-teste com a amostra-controle, o teste apropriado é o de Dunnett, unilateral ou bilateral. O número de julgadores deve ser no mínimo 7 especialistas ou, 15 treinados. As amostras são geralmente apresentadas em delineamento experimental de blocos completos balanceados ou casualizados (ZENEBO, 2008).

Teste Triangular: Este teste é utilizado para avaliar diferenças sensoriais entre dois ou mais produtos, baseado na diferença percebida após o consumo dos mesmos (HERMES, P. et.al, 2013). As provas triangulares são provas utilizadas para determinar diferenças sensoriais (inespecíficas) entre dois tratamentos ou produtos. Ao provador são apresentadas três amostras codificadas, sendo-lhe indicado que uma delas é diferente das outras duas. É solicitada a identificação da amostra que é diferente. Nesta prova são possíveis dois tipos de apresentação das amostras: dois As e um B ou dois Bs e um A. Cada um dos tipos de apresentação deve ser apresentado o mesmo número de vezes. Nos casos em que a ordem de prova das amostras é especificada existem um total de 6 modos diferentes para realizar a prova: ABB, BAB, BBA, BAA, ABA e AAB. Neste caso cada modo deve ser utilizado o mesmo número de vezes, o que implica que o número de provadores seja um múltiplo de 6.

A interpretação do resultado se baseia no número total de julgamentos versus o número de julgamentos corretos. Se o número de julgamentos corretos for maior ou igual ao valor tabelado, conclui-se que existe diferença significativa entre as amostras no nível de probabilidade correspondente. O número de julgadores selecionados deve ser de 20 a 40, embora apenas 12 possam ser utilizados quando as diferenças entre amostras são razoavelmente grandes (ZENEBO, 2008).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado nos Laboratórios de Pré-Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas e de Microbiologia de Alimentos, localizados na Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, FAV, todos na Universidade de Brasília, UnB.

Destaca-se que o projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE 2488513.3.0000.0030), sendo aprovado (ANEXO 1).

3.1. Obtenções do gás ozônio

O gás ozônio foi obtido por meio de um gerador de ozônio baseado no método de Descarga por Barreira Dielétrica. Este tipo de descarga é produzida ao aplicar uma alta tensão entre dois eletrodos paralelos, tendo entre eles um dielétrico (vidro) e um espaço livre por onde flui o ar seco. Neste espaço livre, é produzida uma descarga em forma de filamentos, em que são gerados elétrons com energia suficiente para produzir a quebra das moléculas de oxigênio, formando o ozônio (O₃).

No processo de geração do ozônio, foi utilizado como insumo oxigênio (O₂) com grau de pureza de aproximadamente 90%, isento de umidade, obtido de concentrador de oxigênio acoplado ao gerador de ozônio. Depois da geração do ozônio, direcionou-se a mistura gasosa para solução saturada de Cloreto de Sódio (NaCl), de tal forma a manter a umidade relativa em torno de 75,0%, segundo metodologia proposta por Ozkan et al. (2011).

A concentração de ozônio foi determinada pelo método iodométrico, descrito por Clescerl et al. (2000), borbulhando o ozônio em 50 mL de solução de iodeto de potássio (KI) 1 N, com produção de Iodo (I₂). Para garantir o deslocamento da reação para a produção de I₂, a solução foi acidificada com 2,5 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 1 N, depois foi feita a titulação com tiosulfato de sódio (Na₂S₂O₃) 0,01 N, e como indicador foi utilizada solução de amido à 1%.

O experimento foi dividido em duas etapas, sendo utilizados três diferentes lotes. Na primeira etapa, foram avaliados o processo de saturação do ozônio em coluna contendo grãos de amendoim, a capacidade do ozônio de controlar fungos, incluindo aqueles potencialmente aflatoxigênicos (primeiro lote de grãos), e possíveis alterações na qualidade dos grãos e do óleo bruto (segundo lote de grãos). Na segunda etapa foi avaliado o efeito da ozonização na qualidade sensorial do amendoim, sendo o terceiro lote de grãos equivalente a produto portador do selo da ABICAB.

O processo de saturação do ozônio em coluna contendo grãos de amendoim foi estudado, quantificando-se a concentração residual, pelo método iodométrico, até que a mesma permanecesse constante. Para relacionar concentração residual do gás ozônio com o tempo, realizou-se ajuste da equação sigmoideal aos dados obtidos (Equação 1):

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

em que

C = concentração do gás ozônio (ppm);

t = tempo (min);

a, b e c = são as constantes da equação.

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

$$t_{Sat} = b + 2c \quad \text{Equação 2}$$

em que

t_{Sat} = tempo de saturação (min).

3.2. Avaliação da eficácia do gás ozônio no controle de fungos em grãos de amendoim

Para a avaliação da capacidade do gás ozônio de controlar os fungos, incluindo aqueles potencialmente aflatoxigênicos *A. flavus* e *A. parasiticus*, o amendoim foi previamente acondicionado em ambiente com temperatura em torno de 30 °C e umidade relativa de aproximadamente 85%, para desenvolvimento dos fungos. A coluna cilíndrica foi preenchida com grãos de amendoim, adotando-se altura máxima da coluna de 0,75 m. Amostras de 75 g dos grãos previamente acondicionadas (Figura 5) foram colocadas em bolsas de organza e dispostas a 0, 0,25, 0,50 e 0,75 m da coluna de cilíndrica. As concentrações do ozônio utilizadas foram de 1.300 e 3.000 ppm, por períodos de exposição ao gás de 0, 3, 6, 9 e 12 horas. Esse procedimento também foi adotado na avaliação do efeito do ozônio na qualidade dos grãos e do óleo bruto, porém sem acondicionamento prévio do produto.



Figura 5. Acondicionamento dos grãos de amendoim em sacolas de organza.

Nas análises microbiológicas dos grãos de amendoim ozonizados foi feita a quantificação de fungos pelo método de plaqueamento direto (PITT; HOCKING, 2009). Foram utilizados 10 grãos de amendoim por placa, previamente desinfetados com hipoclorito de sódio 0,4%.

Para a quantificação de fungos totais nos grãos, foi utilizado o meio de cultura Batata Dextrose Agar (BDA) acidificado com ácido tartárico a 10%, tendo sido as placas incubadas por 5 dias em câmaras climáticas a 25 °C (DOWNES; ITO, 2001).

Para a quantificação das espécies potencialmente aflatoxigênicas, *A. flavus* e *A. parasiticus*, foi utilizado o meio de cultura *Aspergillus flavus* e *parasiticus* Agar (AFPA), e as placas incubadas por 42 h a 30 °C (PITT et al., 1983). Os resultados foram expressos em porcentagem de grãos infectados pelos fungos.

3.3. Avaliações do efeito da aplicação do gás ozônio na qualidade de grãos de amendoim e do óleo bruto extraído desses grãos

O efeito do ozônio na qualidade de grãos de amendoim, nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm, por períodos de exposição ao gás de 0, 3, 6, 9 e 12 horas e ao longo da coluna de grãos, foi avaliado logo após aplicação do gás.

Além da qualidade dos grãos, foram avaliados parâmetros qualitativos do óleo bruto extraído de grãos de amendoim ozonizados, adotados como referência para comercialização desse subproduto no Brasil.

3.3.1. Variáveis qualitativas dos grãos de amendoim ozonizados

3.3.1.1. Teor de água

Para determinação do teor de água dos grãos de amendoim, foi utilizado método de estufa com circulação forçada de ar, à temperatura de $130\pm 1^\circ\text{C}$, por 6 h, conforme recomendações da ASAE (2002), método S401.1.

3.3.1.2. Condutividade elétrica

A condutividade elétrica da solução contendo os grãos de amendoim foi feita utilizando-se o “Sistema de Copo” ou “Condutividade de Massa” (VIEIRA et al., 2001), tendo como finalidade avaliar o aumento da permeabilidade da membrana, à medida que o grão se deteriora. O valor da condutividade elétrica será expresso em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$.

3.3.1.3. Coloração de grãos

A avaliação da cor dos grãos de amendoim foi realizada com auxílio de um colorímetro (Minolta CR 400, Minolta Corporation, Osaka, Japão). O equipamento foi devidamente calibrado e os valores foram tomados em três pontos diferentes da amostra obtendo-se os valores de L, a e b.

Com os valores das coordenadas L, a e b foi possível obter parâmetros relacionados à tonalidade (h), Equação 3, saturação da cor ou croma (C), Equação 4, e diferença de cor (ΔE), Equação 5 (LITTLE, 1975, FRANCIS, 1975, MCLELLAN et al., 1995, MASKAN, 2001).

$$h = \arctang(b/a) \quad (3)$$

$$C = \sqrt{(a^2 + b^2)} \quad (4)$$

$$\Delta E = \sqrt{[(L - L_0)^2 + [(a - a_0)^2 + [(b - b_0)^2]}] \quad (5)$$

em que:

h = tonalidade da cor;

C = saturação da cor ou croma;

L = mensurável em termos de intensidade de branco a preto;

a = mensurável em termos de intensidade de vermelho e verde; e

b = mensurável em termos de intensidade de amarelo e azul.

L_0 , a_0 e b_0 são as coordenadas obtidas antes do tratamento dos grãos de amendoim.

3.3.2. Parâmetros qualitativos do óleo bruto extraído de grãos de amendoim ozonizados

3.3.2.1. Ácidos graxos livres

A determinação de ácidos graxos livres foi realizada de acordo com as normas AOCS (1993), Método Ca 5a-40. Para o percentual de ácidos graxos livres (AGL), expresso em % de ácido oleico, o cálculo foi feito pela Equação 6.

$$AGL = \frac{Nf 28,2 (V_a - V_s)}{m} \quad (6)$$

em que,

N = normalidades da solução de NaOH; f = fator de correção da solução de NaOH; V_a = volume de NaOH 0.01 N gasto para amostra (mL); V_s = volume de NaOH 0.01 N gasto na titulação sem amostra de óleo (mL); e M = massa da amostra (g).

3.3.2.2. Índice de peróxido

A determinação do índice de peróxido foi feita de acordo com as normas AOCS (1993), Método Cd 8-53. O índice de peróxido (IP) foi calculado por meio da Equação 7,

$$IP = \frac{N f 1000 (V_a - V_s)}{m} \quad (7)$$

em que,

IP = Índice de peróxido, (mEq kg⁻¹); V_a = volume de Na₂S₂O₃ 0,1 N padronizada gasto na titulação da amostra (mL); V_s = volume de Na₂S₂O₃ 0,1 N padronizada gasto na titulação sem amostra (mL); N = normalidade da solução de Na₂S₂O₃; F = fator de correção da solução de Na₂S₂O₃; e M = massa de amostra (g).

3.4. Avaliação do efeito da aplicação do gás ozônio na qualidade sensorial de grãos de amendoim

Inicialmente, amostras de 1 kg de grãos de amendoim foram ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm. Para a concentração de 1.300 ppm, foram adotados os períodos de ozonização de 0 (controle), 3, 6, 9 e 12 horas. Para a concentração de 3.000 ppm, foram adotados os períodos de ozonização de 0 (controle), 3, 6 e 9 horas.

3.4.1. Teste de Aceitabilidade dos grãos de amendoim ozonizados

Os grãos de amendoim ozonizados foram torrados na temperatura de 150 °C, por 50 minutos. Antes do teste de aceitabilidade, a película que envolve os grãos de amendoim foi removida. No teste de aceitabilidade, foi usada a escala hedônica; as escalas utilizadas foram 1 desgostei extremadamente e 9 gostei extremadamente, com um total de 100 provadores consumidores regulares de amendoim. Cada provador analisou as amostras codificadas uma de cada vez. Os provadores forneceram informação do sabor, aparência, textura e impressão global do amendoim.

3.5. Delineamento Experimental

Na primeira etapa, que trata da capacidade do ozônio de controlar fungos em grãos de amendoim e o efeito da aplicação do gás em parâmetros físico-químicos dos grãos e do óleo bruto extraído desses grãos, foi adotado delineamento inteiramente casualizado, em esquema em fatorial 2 x 4 x 5, sendo duas concentrações (1.300 e 3.000 ppm), quatro alturas da coluna de grãos (0, 0,25, 0,50 e 0,75 m) e cinco períodos de exposição ao gás (0, 3, 6, 9 e 12 horas) com três repetições. Foi realizada análise de variância a 5% de probabilidade, utilizando-se o software STATPLUS, e, posteriormente, análise de regressão, no software SigmaPlot.

Com relação à segunda etapa, que trata da qualidade sensorial no que se refere ao teste de aceitação, foi analisado o efeito da ozonização em função do período de exposição ao gás para cada concentração separadamente. Os dados foram submetidos a análise de variância e em seguida teste de Tukey, utilizando-se o programa Excel ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Concentração Residual do gás ozônio

Na Figura 6, são apresentadas as curvas referentes à concentração de ozônio em função do tempo de exposição, durante o processo de saturação do meio poroso contendo grãos de amendoim, quando adotadas as concentrações de 1.300 e 3.000 ppm, alturas da coluna de grãos equivalente a 0,24, 0,50 e 0,75 m, vazão de 5,0 L min⁻¹ e temperatura de 25 °C.

Apresentam-se, na Tabela 11, as equações de regressão ajustadas e os seus respectivos coeficientes de determinação, que relacionam o ozônio residual e o tempo de exposição ao gás.

O comportamento observado da concentração residual do ozônio em coluna contendo os grãos de amendoim durante o processo de saturação, nas diferentes combinações de concentração inicial e altura da coluna dos grãos, está de acordo com Strait (1998), Kells et al (2001) e Mendez et al. (2003). É possível observar que no início do processo de ozonização, não foi possível quantificar ozônio na saída da coluna de grãos. No início do processo, o ozônio reage com sítios ativos na superfície do produto no início da ozonização, ocorrendo degradação do gás e, conseqüentemente, eliminação desses sítios ativos. Finalizado essa fase, o gás se move através do meio poroso, com taxa de degradação reduzida. Os resultados também seguem tendência semelhante a observada por Alencar et al. (2011), que ozonizaram grãos de amendoim com teores de água de 7,1 e 10,5% (b.u.), nas temperaturas de 25 e 35 °C.

Para os grãos ozonizados na concentração de 1.300 ppm, obteve-se tempo de saturação 250,85 min, com concentração de saturação equivalente a 592,69 ppm e relação C_{Sat}/C_0 de 0,46. Com relação aos grãos de amendoim submetidos à ozonização na concentração de 3.000 ppm, verificou-se ligeiro aumento no tempo de saturação, com valor equivalente a 272,24 min, concentração de saturação de 1.375,60 ppm, porém com a mesma relação C_{Sat}/C_0 obtida para a concentração de 1.300 ppm.

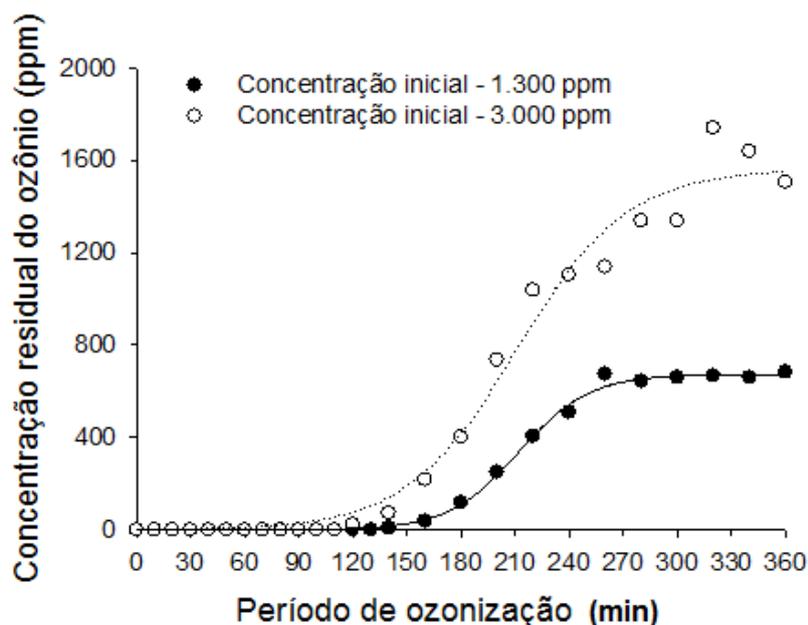


Figura 6. Concentração residual do ozônio (ppm) em função do tempo durante a ozonização de e amendoim com 6,8% (b.u.) de teor de água, altura da coluna de grãos equivalente a 0,75 m, vazão de 5,0 L min⁻¹, na temperatura de 25 °C, e concentrações iniciais de 1.300 e 3.000 ppm.

Tabela 11. Equações de regressão ajustadas e respectivos coeficientes de determinação (R²) para concentração residual do ozônio (ppm) em função do tempo durante a ozonização de e amendoim com 6,8% (b.u.) de teor de água, altura da coluna de grãos equivalente a 0,75 m, vazão de 5,0 L min⁻¹, na temperatura de 25 °C, e concentrações iniciais de 1.300 3.000 ppm

Concentração Inicial (ppm)	Equações ajustadas	R ²	t _{Sat} (min)	C _{Sat} (ppm)	C _{Sat} /C ₀
1.300	$\hat{y} = \frac{672,70}{1 + e^{-\left(\frac{x - 211,77}{19,54}\right)}}$	0,99	250,85	592,69	0,46
3.000	$\hat{y} = \frac{1561,76}{1 + e^{-\left(\frac{x - 210,74}{30,75}\right)}}$	0,98	272,24	1.375,60	0,46

t_{Sat} = Tempo de saturação

C_{Sat} = Concentração de saturação

4.2. Avaliação da eficácia do gás ozônio no controle de fungos em grãos de amendoim

Com relação a eficácia do ozônio como agente fungicida, não foi observado redução no percentual de grãos infectados quando se quantificou fungos totais em grãos de amendoim expostos ao gás ozônio nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm, nas diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de ozonização. Observou-se percentual de infecção interna equivalente a 100% em todas as combinações de concentração, altura da coluna de grãos e período de exposição ao gás. Tal comportamento diferiu do observado para as espécies *A. flavus* e *A. parasiticus*.

Apresenta-se, na Figura 7, o percentual de grãos de amendoim infectados por fungos das espécies *A. flavus* e *A. parasiticus* em grãos de amendoim expostos ao gás ozônio nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de ozonização. O percentual de grãos de amendoim infectados pelas espécies *A. flavus* e *A. parasiticus* reduziu significativamente ($p < 0,05$) em decorrência da interação entre concentração, altura da coluna de grãos e período de exposição gás. Houve tendência de redução no percentual de infecção interna mais acelerado na concentração de 3.000 ppm, nas camadas inferiores da coluna de grãos e à medida se que se elevou o período de ozonização.

As equações de regressões ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação referentes ao percentual de grãos de amendoim infectados fungos das espécies *A. flavus* e *A. parasiticus* em grãos de amendoim expostos ao gás ozônio na concentração de 1.300 ppm em diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de ozonização, encontram-se na Tabela 12.

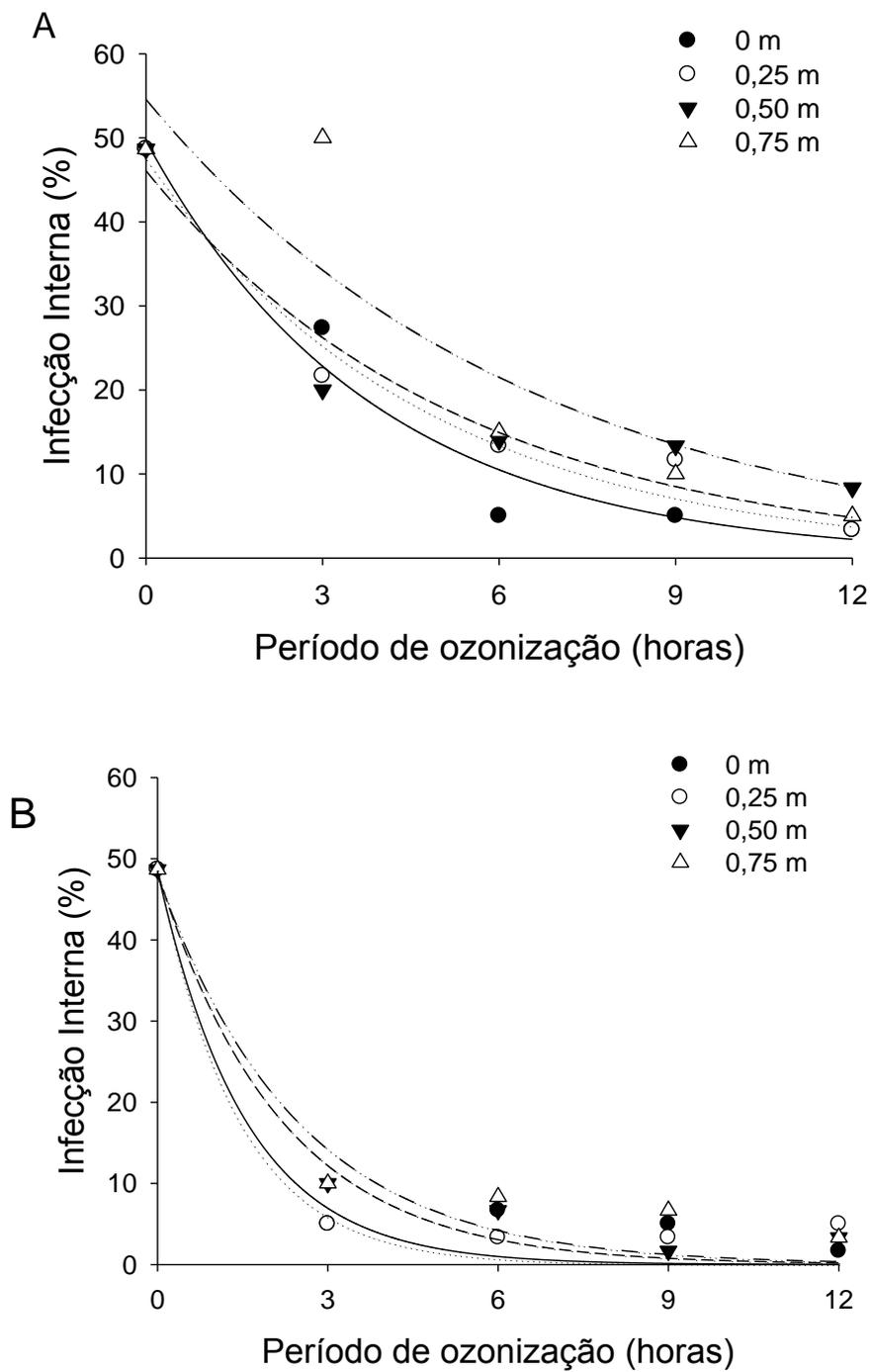


Figura 7. Porcentagem de infecção interna por *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus* em amendoim expostos ao ozônio nas concentrações de 1.300 ppm (A) e 3.000 ppm (B) em diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de ozonização.

Tabela 12. Equações de regressão ajustadas e respectivos coeficientes de determinação referentes a porcentagem de infecção interna por *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus* em amendoim expostos ao ozônio nas concentrações de 1.300 ppm e 3.000 ppm em diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de ozonização

Concentração do ozônio	Altura da coluna de grãos (m)	Equação de regressão ajustada	R²
1.300	0	$\hat{y} = 49,64e^{(0,26X)}$	0,97
	0,25	$\hat{y} = 47,42e^{(0,21X)}$	0,97
	0,50	$\hat{y} = 46,08e^{(0,19X)}$	0,93
	0,75	$\hat{y} = 54,58e^{(0,16X)}$	0,90
3.000	0	$\hat{y} = 48,52e^{(0,65X)}$	0,96
	0,25	$\hat{y} = 48,61e^{(0,71X)}$	0,97
	0,50	$\hat{y} = 48,37e^{(0,46X)}$	0,99
	0,75	$\hat{y} = 47,96e^{(0,41X)}$	0,95

Os resultados obtidos referentes à redução percentual de grãos de amendoim infectados por fungos das espécies *A. flavus* e *A. parasiticus* podem ser atribuídos ao elevado potencial oxidativo do gás ozônio. O ozônio destaca-se por ser, dentre os compostos encontrados na natureza, aquele que possui o segundo maior potencial de oxidação (2,07 mV), (MUSTAFA, 1990; GUZEL-SEYDIM et al., 2004). Salienta-se que a inativação menos acelerada dos microrganismos no topo da coluna de grãos (0,75 m) pode ser explicado pelo fato de que no início do processo o ozônio reage com os sítios ativos na superfície dos grãos, com alta taxa de degradação. Finalizada essa etapa, o gás se movimenta pelo meio poroso, sendo possível atingir mais rapidamente concentrações maiores do ozônio nas camadas inferiores da coluna de grãos. Dessa forma, tem-se o processo de inativação dos microrganismos acelerado.

Encontram-se, na literatura, diversos relatos que comprovam a eficácia do ozônio na inativação de microrganismos, incluindo fungos. CICCARESE et al. (2007) observaram redução significativa da infecção fúngica em grãos de trigo, aveia e ervilha devido à exposição ao gás ozônio. Os autores verificaram que o ozônio é capaz de inativar espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* e *Fusarium*. ALENCAR et al. (2012) obtiveram decréscimo na contagem de *A. flavus* e *A. parasiticus* de aproximadamente 3 ciclos log quando os grãos de amendoim foram ozonizados na concentração de 9.828 ppm e período de exposição de 96 h. Entretanto, esses autores não aumentaram a umidade relativa da mistura gasosa depois da geração do ozônio. Destaca-se que umidade relativa é um parâmetro que afeta a eficácia do ozônio como agente antimicrobiano (OZKAN et al., 2011). Maiores valores de umidade relativa possibilitam maior eficácia do ozônio na inibição dos microrganismos. Savi et al. (2014), avaliaram o efeito do ozônio sobre *F. graminearum*. A espécie *F. graminearum* não apresentou resistência a ozonização.

Ressalta-se que a inativação ou inibição do desenvolvimento de microrganismos pelo gás ozônio ocorre a partir da oxidação de componentes celulares vitais. Esse processo se destaca por ser complexo, sendo que o gás atua sobre constituintes da membrana e da parede celular, como os ácidos graxos insaturados; assim como elementos do conteúdo celular, como enzimas e ácidos nucleicos. Os microrganismos são inativados pelo rompimento da célula, em decorrência da ação do ozônio molecular ou dos radicais livres gerados durante a decomposição do gás (GUZEL-SEYDIM et al., 2004; PASCUAL et al., 2007; CULLEN et al., 2009).

4.3. Variáveis qualitativas dos grãos de amendoim ozonizados

Houve variação significativa ($p < 0,05$) do teor de água dos grãos de amendoim em decorrência da interação entre concentração dos grãos, altura da coluna de grãos e período de ozonização. Entretanto, de acordo com a análise de regressão (Figura 8 e Tabela 13), os coeficientes das equações foram significativos somente na concentração de 1.300 ppm, para grãos acondicionados a 0,75 m da base da coluna de grãos e na concentração de 3.000 ppm, na base da coluna de grãos (0 m). O procedimento adotado em que a mistura gasosa contendo ozônio passava em solução saturada de NaCl, de tal forma a obter umidade relativa em torno de 75,0% (OZKAN et al., 2011), impediu redução mais acentuada do teor de água dos grãos.

Apresentam-se, na Tabela 13, as equações de regressões ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação referentes ao teor de água dos grãos de amendoim expostos ao gás ozônio nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de ozonização.

Alencar et al. (2011) ozonizaram grãos de amendoim nas concentrações de 13 e 21 mg L⁻¹ por até 12 horas. Esses autores observaram redução do teor de água dos grãos durante o processo de ozonização. Entretanto, essa tendência foi explicada pela baixa umidade relativa da mistura gasosa que continha ozônio. Por outro lado, Rosado et al. (2008) ozonizaram grãos de milho na concentração de 50 ppm, por até 360 h e não houve variação significativa do teor de água em função da exposição ao gás ozônio.

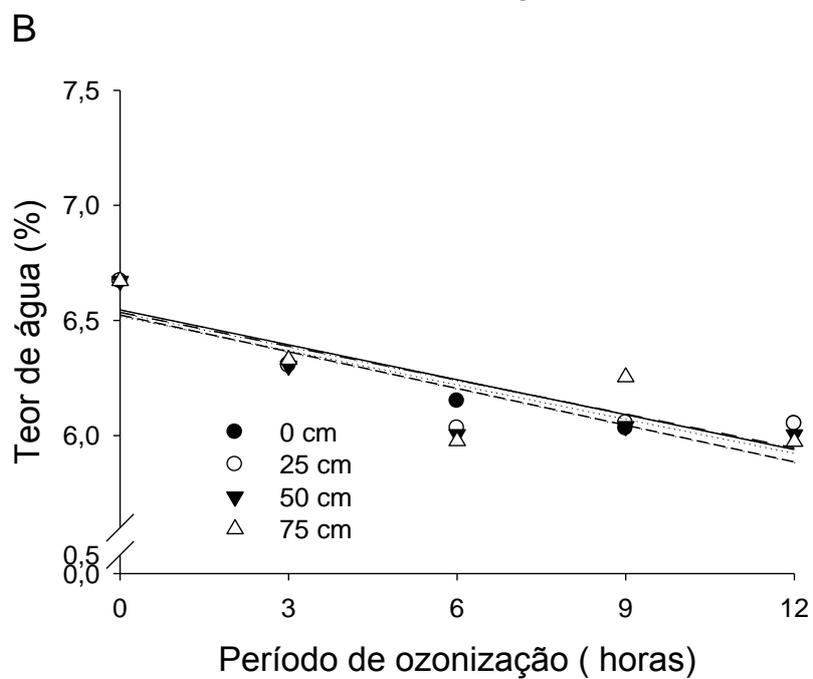
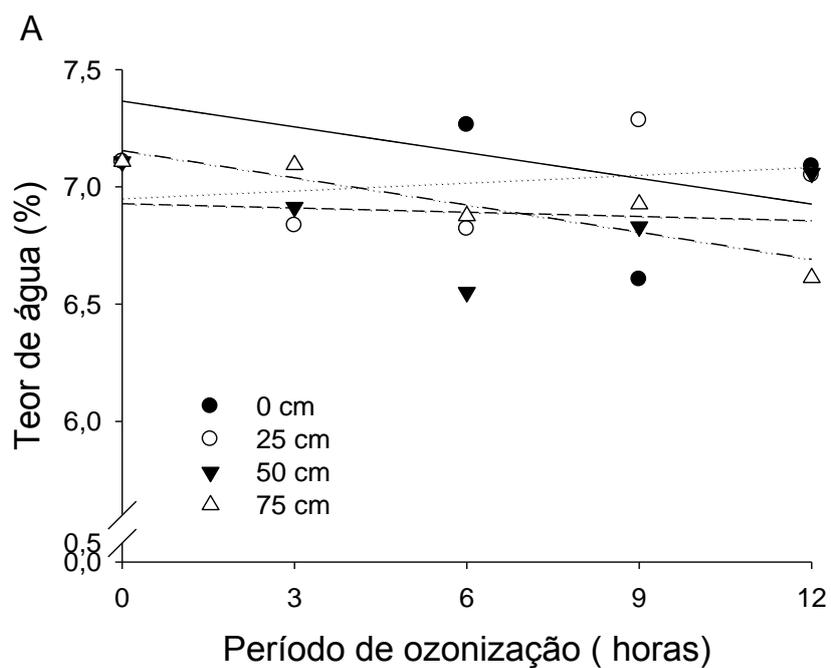


Figura 8. Teor de água dos grãos de amendoim expostos ao gás ozônio nas concentrações de 1.300 ppm (A) e 3.000 ppm (B) em diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de exposição.

Tabela 13. Equações de regressão ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) referentes ao teor de água dos grãos de amendoim expostos ao gás ozônio nas concentrações de 1.300 ppm e 3.000 ppm em diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de exposição

Concentração do ozônio (ppm)	Altura da coluna de grãos (m)	Equações ajustadas	R^2
1.300	0	$\hat{y} = 7,36 - 0,03^{ns} x$	0,45
	0,25	$\hat{y} = 6,95 + 0,01^{ns} x$	
	0,50	$\hat{y} = 6,92 - 0,01^{ns} x$	
	0,75	$\hat{y} = 7,15 - 0,04^{**} x$	
3.000	0	$\hat{y} = 6,54 - 0,05^* x$	0,83
	0,25	$\hat{y} = 6,52 - 0,04^{ns} x$	
	0,50	$\hat{y} = 6,91 - 0,01^{ns} x$	
	0,75	$\hat{y} = 6,53 - 0,05^{ns} x$	

**Significativo a 1% de probabilidade.

*Significativo a 5% de probabilidade.

^{ns} Não Significativo.

Com relação a variável condutividade elétrica da solução que continham os grãos de amendoim expostos ao ozônio, verificou-se aumento significativo ($p < 0,05$) em decorrência das interações entre concentração e período de exposição ao gás e entre concentração e altura da coluna de grãos, de acordo com a análise de variância. Todavia, os coeficientes das regressões não foram significativos ($p > 0,05$), conforme apresentado nas Figuras 9 e 10 e nas Tabelas 14 e 15.

Encontram-se na literatura alguns relatos que utilizam a variável condutividade elétrica na avaliação de grãos ozonizados. Santos (2008) avaliaram a qualidade fisiológica de grãos de milho exposto ao gás ozônio na concentração de 100 ppm, por 180 min e não observaram aumento significativo. Comportamento semelhante foi observado Alencar et al. (2011) em grãos de amendoim ozonizados nas concentrações de 13 e 21 mg L⁻¹, por até 96 horas. Já Rozado et al. (2008) observaram aumento significativo da condutividade elétrica da solução que continha os grãos expostos ao gás ozônio na concentração de 50 ppm, por 360 h.

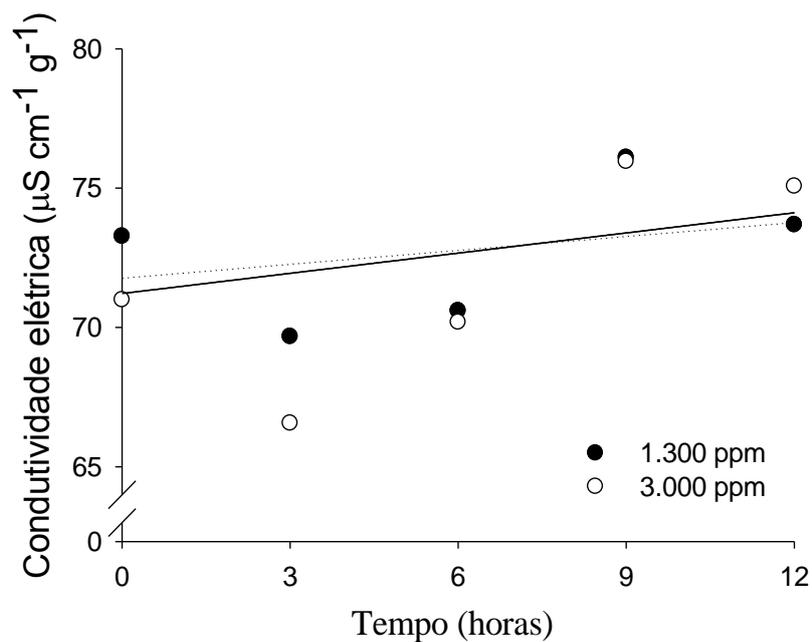


Figura 9. Condutividade elétrica da solução que continham os grãos de amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em função do período exposição.

Tabela 14. Equações de regressão ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) referentes a condutividade elétrica da solução que continham os grãos de amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em função do período de exposição

Concentração do ozônio (ppm)	Equações ajustadas	R^2
1.300	$\hat{y} = 68,25 + 0,59^{ns} x$	-
3.000	$\hat{y} = 71,21 + 0,24^{ns} x$	-

^{ns} Não Significativo.

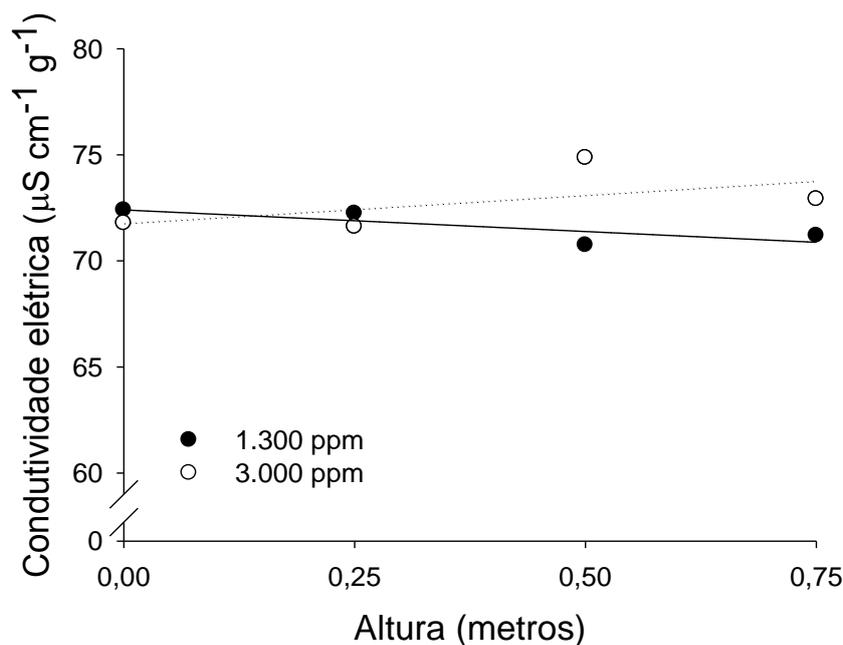


Figura 10. Condutividade elétrica da solução que continham os grãos de amendoim expostos ao gás ozônio nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em função da altura da coluna de grãos.

Tabela 15. Equações de regressão ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) referentes a condutividade elétrica da solução que continham os grãos de amendoim expostos ao gás ozônio nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em função função da altura da coluna de grãos.

Concentração do ozônio (ppm)	Equações ajustadas	R^2
1.300	$\hat{y} = 72,40 - 2,03^{ns} x$	-
3.000	$\hat{y} = 71,79 + 2,66^{ns} x$	-

De acordo com a análise de variância, houve variação significativa ($p < 0,05$) da variável tonalidade de cor (h) em função da interação entre concentração e tempo exposição ao gás e da interação entre altura da coluna de grãos e tempo de exposição ao gás. Entretanto, os coeficientes obtidos a partir da análise de regressão não foram significativos ($p > 0,05$), conforme apresentado na Figura 11 e na Tabela 16 para a interação entre concentração e tempo exposição ao gás. Para a interação entre altura da coluna de grãos e tempo de exposição ao gás, Figura 12 e Tabela 17, obteve-se coeficiente de regressão significativo ($p < 0,05$) somente a 0,50 m da coluna de grãos.

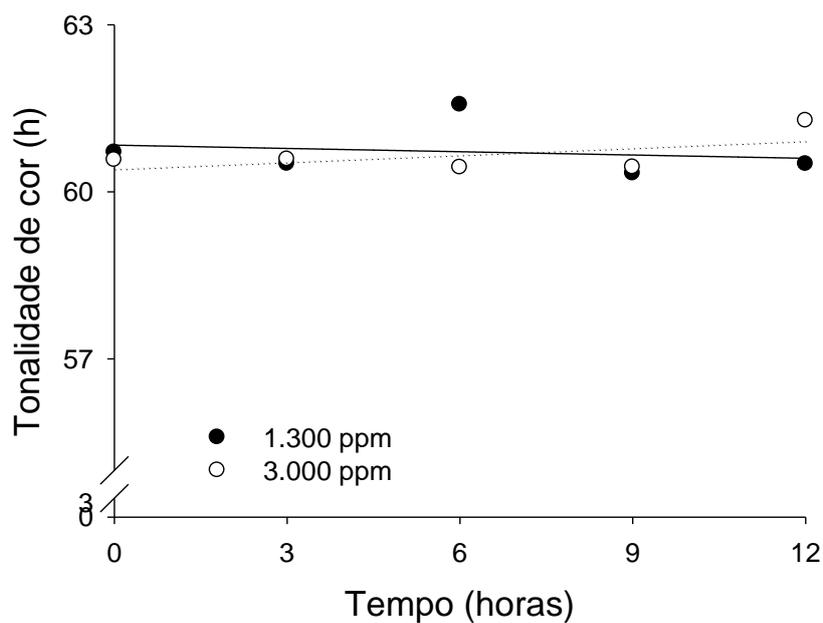


Figura 11. Tonalidade de cor (h) dos grãos de amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em função do tempo de exposição.

Tabela 16. Equações de regressão ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) referentes a tonalidade de cor (h) dos grãos de amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em função do período de exposição

Concentração do ozônio (ppm)	Equações ajustadas	R^2
1.300	$\hat{y} = 60,83 - 0,02^{ns} x$	-
3.000	$\hat{y} = 60,40 + 0,04^{ns} x$	-

^{ns} Não Significativo.

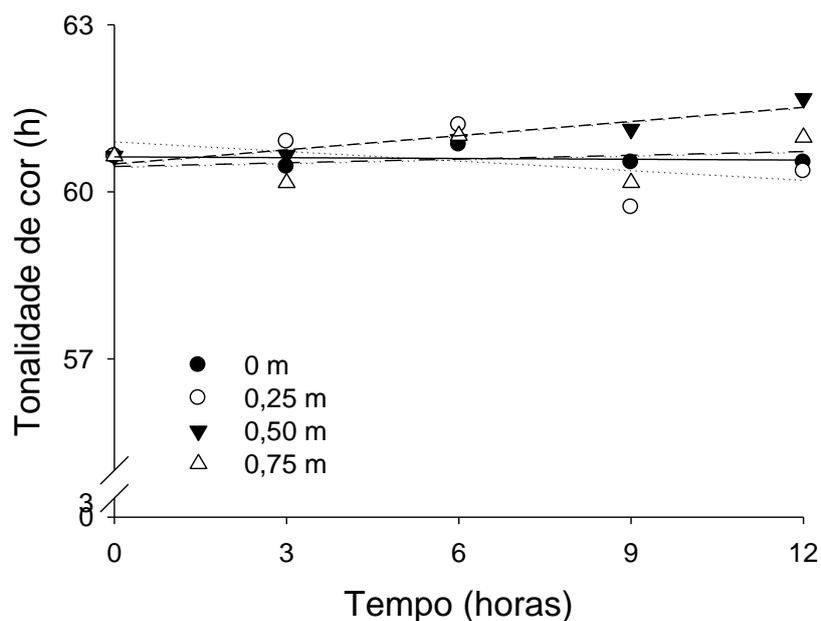


Figura 12. Tonalidade de cor (h) de amendoim expostos ao gás ozônio e dispostos em diferentes alturas da coluna de grãos em função do tempo de exposição.

Tabela 17. Equações de regressão ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) referentes a tonalidade de cor (h) de amendoim expostos ao gás ozônio e dispostos em diferentes alturas da coluna de grãos em função do tempo de exposição

Altura da coluna de grãos (m)	Equações ajustadas	R^2
0	$\bar{y} = 60,52 - 0,01^{ns} x$	-
0,25	$\bar{y} = 60,91 - 0,06^{ns} x$	-
0,50	$\bar{y} = 60,49 - 0,09^* x$	0,89
0,75	$\bar{y} = 60,45 + 0,02^{ns} x$	-

*Significativo a 5% de probabilidade.

^{ns} Não Significativo.

No que se refere às variáveis saturação de cor (C) e diferença de cor (ΔE), obteve-se variação significativa ($p < 0,05$) em decorrência da interação entre concentração, altura da coluna de grãos e período de exposição do gás. Todavia, de acordo com a análise de regressão (Figura 13 e Tabela 18), somente para a concentração de 1.300 ppm e altura da coluna de grãos de 0,75 m, obteve-se coeficiente da regressão significativo a 5% de probabilidade.

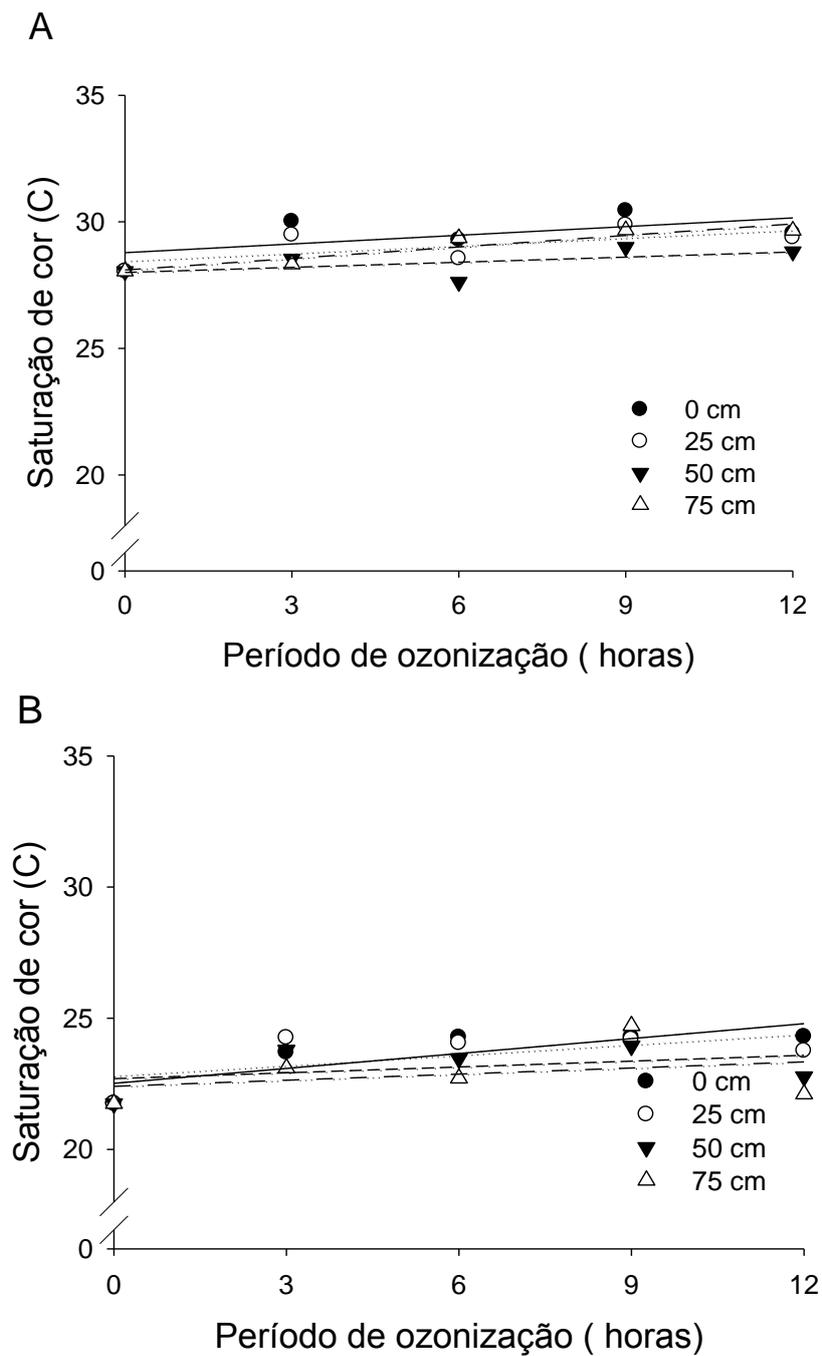


Figura 13. Saturação de cor (C) dos grãos de amendoim expostos ao gás ozônio nas concentrações de 1.300 ppm (A) e 3.000 ppm (B) em diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de exposição.

Tabela 18. Equações de regressão ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) referente saturação cor (C) dos grãos de amendoim expostos ao gás ozônio nas concentrações de 1.300 ppm e 3.000 ppm em diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de exposição

Concentração do ozônio (ppm)	Altura da coluna de grãos (m)	Equações ajustadas	R^2
1.300	0	$\bar{y} = 28,78 + 0,11^{ns} x$	0,88
	0,25	$\bar{y} = 28,45 + 0,10^{ns} x$	
	0,50	$\bar{y} = 28,00 + 0,05^{ns} x$	
	0,75	$\bar{y} = 28,09 + 0,15^* x$	
3.000	0	$\bar{y} = 22,52 + 0,19^{ns} x$	
	0,25	$\bar{y} = 22,80 + 0,13^{ns} x$	
	0,50	$\bar{y} = 22,69 + 0,07^{ns} x$	
	0,75	$\bar{y} = 22,40 + 0,058^{ns} x$	

*Significativo a 5% de probabilidade.

^{ns} Não Significativo.

Apresentam-se, na Figura 14 e Tabela 19, os dados referentes a variação da diferença de cor (ΔE) dos grãos de amendoim em função da interação entre concentração, altura da coluna de grãos e período de exposição ao gás. Verificou-se que a medida que se elevou a concentração do gás, houve aumento da diferença de cor nos grãos ao longo do período de exposição. Esse processo foi mais lento à medida que se elevou a altura da coluna de grãos.

A cor é um importante indicador da qualidade do produto e também têm influência na percepção do consumidor (CARVALHO et al., 1997) e tem sido utilizado na avaliação da qualidade de alimentos ozonizados (LIEW; PRANGE, 1994; NADAS et al., 2003; SUNG et al., 2014). Alencar et al. (2011) observaram variação significativa em grãos de amendoim das variáveis tonalidade e diferença de cor em função da ozonização. Esses autores justificaram esse comportamento pela função da despigmentação de película que envolve os grãos pelo ozônio, que é de coloração avermelhada. De acordo com Stansbury; Hoffpauir (1952), na película dos grãos de amendoim são encontrados pigmentos como taninos, leucoantocianinas, flavanona e flobafeno.

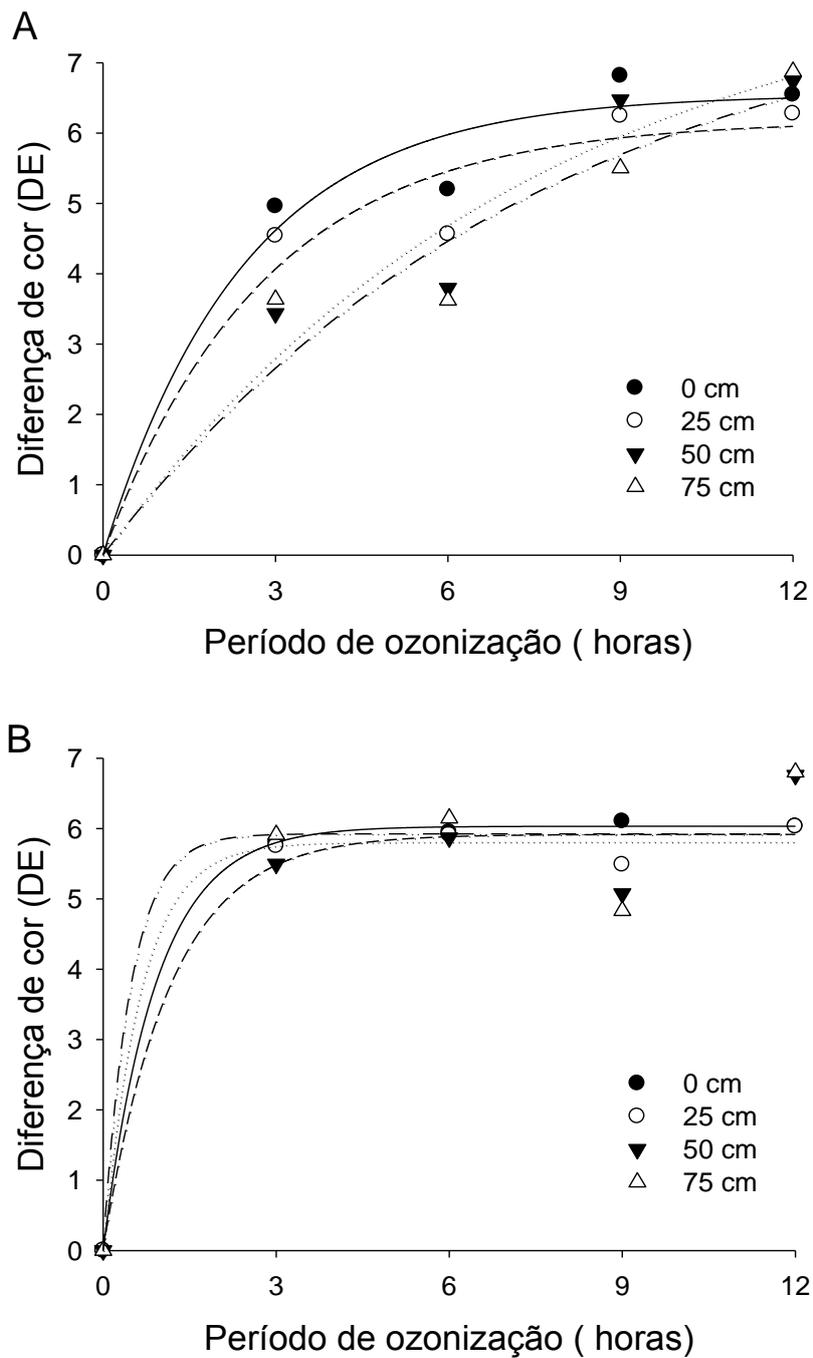


Figura 14. Diferença de cor (ΔE) dos grãos de amendoim expostos ao gás ozônio nas concentrações de 1.300 ppm (A) e 3.000 ppm (B) em diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de ozonização.

Tabela 19. Equações de regressão ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) referentes a diferença de cor (DE) dos grãos de amendoim expostos ao gás ozônio nas concentrações de 1.300 ppm e 3.000 ppm em diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de ozonização

Concentração do ozônio (ppm)	Altura da coluna de grãos (m)	Equações ajustadas	R^2
1.300	0	$\hat{y} = 6,55(1 - e^{-0,41x})$	0,97
	0,25	$\hat{y} = 6,18(1 - e^{-0,36x})$	0,96
	0,50	$\hat{y} = 8,53(1 - e^{-0,13x})$	0,95
	0,75	$\hat{y} = 8,30(1 - e^{-0,13x})$	0,93
3.000	0	$\hat{y} = 6,03(1 - e^{-1,08x})$	0,99
	0,25	$\hat{y} = 5,80(1 - e^{-1,55x})$	0,99
	0,50	$\hat{y} = 5,91(1 - e^{-0,87x})$	0,95
	0,75	$\hat{y} = 5,92(1 - e^{-2,09x})$	0,93

4.4. Parâmetros qualitativos do óleo bruto extraído de grãos de amendoim ozonizados

O percentual de ácidos graxos livres não variou significativamente ($p > 0,05$) em decorrência da interação entre concentração, altura da coluna de grãos e período de ozonização. Os valores médios de percentual de ácidos graxos livres permaneceram na faixa entre 0,65 e 1,24 (Tabela 20). Esses valores são inferiores ao permitido pela legislação brasileira para comercialização de óleo bruto de amendoim, que é de 2,00% (ANVISA, 1999). Outros autores também não observam efeito do ozônio no percentual de ácidos graxos livres de óleo bruto extraído de produtos ozonizados. Akbas; Ozdemir (2007), não verificaram aumento do percentual de ácidos graxos livres no óleo bruto extraído de pistaches ozonizados nas concentrações de 5,0, 7,0 e 9,0 mg L⁻¹, por períodos de exposição de até 420 min. Alencar et al. (2011) analisaram óleo bruto extraído de grãos de amendoim ozonizados por até 96 h, nas concentrações de 13 e 21 mg L⁻¹ e não obtiveram variação significativa. Resultados semelhantes foram obtidos por Chen et al.

(2014) para o óleo bruto extraído de amendoim, ozonizados na concentração de 6.0 mg L⁻¹ por 30 min em temperatura ambiente.

Tabela 20. Valores médios de percentual de ácidos graxos livres (%) em óleo de bruto extraído de amendoim expostos ao ozônio nas concentrações de 1.300 ppm e 3.000 ppm em diferentes combinações de altura da coluna de grãos e período de ozonização

Concentração do ozônio (ppm)	Altura da coluna de grãos (cm)	Período de ozonização (horas)				
		0	3	6	9	12
1.300	0	0,94	0,83	0,92	0,76	0,76
	0,25	0,94	0,88	1,24	0,79	0,94
	0,50	0,94	1,00	0,72	0,78	0,91
	0,75	0,94	0,87	0,78	0,87	0,86
3.000	0	0,94	0,68	0,75	0,65	0,73
	0,25	0,94	0,72	0,68	0,80	0,76
	0,50	0,94	0,69	0,75	0,78	0,73
	0,75	0,94	0,82	0,82	0,72	0,75

O índice de peróxido do óleo bruto extraído dos grãos ozonizados variou significativamente ($p < 0,05$) em decorrência da interação entre concentração e período de exposição e da interação entre concentração e altura da coluna de grãos. Observou-se, conforme apresentado na Figura 15 e na Tabela 21, elevação do índice de peróxido com coeficiente de regressão significativo ($p < 0,05$), quando se adotou a concentração de 3.000 ppm. Quanto a variação do índice de peróxido em função da interação entre concentração e altura da coluna de grãos (Figura 16 e Tabela 22), verificou-se tendência de redução do índice de peróxido a medida que se elevou a altura da coluna de grãos. Todavia, o coeficiente de regressão foi significativo ($p < 0,05$) somente quando se adotou a concentração de 1.300 ppm.

Diferentemente dos resultados observados nesse trabalho, Faroni et al. (2007) não obtiveram variação significativa do índice de peróxido de óleo bruto extraído de grãos de milho ozonizados na concentração de 50 ppm, por 168 h. Resultado semelhante foi obtido por Alencar et al. (2011) para grãos de amendoim ozonizados nas concentrações de 13 e 21 mg L⁻¹ por até 96 h. É importante ressaltar que os valores

obtidos de índice de peróxido foram inferiores ao exigidos pela legislação brasileira para comercialização de óleo bruto, que é de 10 meq kg⁻¹.

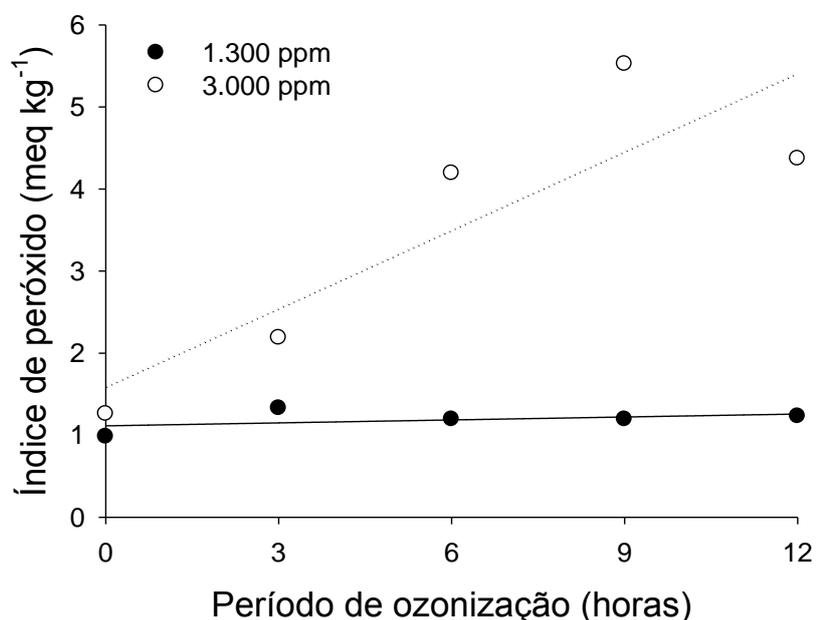


Figura 15. Índice de peróxido de óleo bruto extraído de grãos amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em função do período de exposição.

Tabela 21. Equações de regressão ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação (R²) referentes ao índice de peróxido de óleo bruto extraído de grãos amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em função do período de exposição (X)

Concentração do ozônio (ppm)	Equações ajustadas	R ²
1.300	$\hat{y} = 1,11 + 0,01^{ns}X$	-
3.000	$\hat{y} = 1,60 + 0,32^*X$	0,76

^{ns} Não significativo.

* Significativo a 5% de probabilidade.

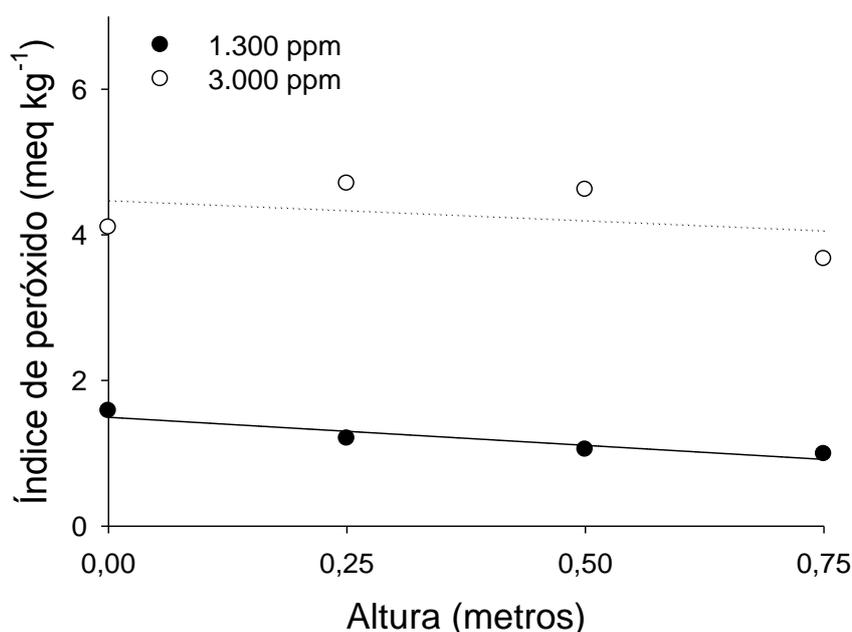


Figura 16. Índice de peróxido de óleo bruto extraído de grãos amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em função das alturas da coluna.

Tabela 22. Equações de regressão ajustadas e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) referentes ao índice de peróxido de óleo bruto extraído de grãos amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm em função da altura da coluna de grãos (X)

Concentração do ozônio (ppm)	Equações ajustadas	R^2
1.300	$\hat{y} = 1,49 - 0,77^*X$	0,88
3.000	$\hat{y} = 4,48 - 0,55^{ns}X$	-

^{ns} Não significativo

* Significativo a 5% de probabilidade

4.5. Efeito da aplicação do gás ozônio na qualidade sensorial de grãos de amendoim

Encontram-se, nas Tabelas 23 e 24, os valores médios obtidos referentes a análise sensorial dos grãos de amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm, respectivamente. Para cada uma das concentrações, observou-se variação significativa ($p < 0,05$) em decorrência do período de exposição ao gás.

Com relação à aceitabilidade dos grãos de amendoim ozonizados na concentração de 1.300 ppm (Tabela 23), observou-se, em geral, maior aceitação dos grãos ozonizados por 12 horas. Nessa condição de ozonização, os grãos apresentaram valores médios significativamente maiores que os grãos não ozonizados (PE = 0) para as variáveis aparência, sabor, textura e aceitação global. Ressalta-se que para os demais períodos de ozonização (3, 6 e 9 horas), obteve-se valores médios maiores ou iguais que para os grãos não ozonizados.

Tabela 23. Aceitabilidade dos grãos de amendoim submetidos a 1.300 ppm do gás ozônio com diferentes tempos de exposição (PE)

PE (horas)	Aparência	Sabor	Textura	Impressão global
0	5,98 B ± 1,70	5,46 B ± 2,18	6,00 B ± 1,88	5,80 C ± 1,84
3	6,08 AB ± 1,78	5,91 AB ± 1,96	6,34 AB ± 1,58	6,19 BC ± 1,66
6	6,41 AB ± 1,62	6,46 A ± 1,95	6,79 A ± 1,55	6,64 AB ± 1,71
9	6,15 AB ± 1,50	5,56 B ± 1,85	6,22 AB ± 1,88	5,96 C ± 1,81
12	6,65 A ± 1,52	6,59 A ± 1,91	6,74 A ± 1,74	6,86 A ± 1,62

No que se refere aos grãos ozonizados na concentração de 3.000 ppm (Tabela 24), destaca-se os valores médios obtidos referente ao período de ozonização equivalente a 6 horas. Os grãos ozonizados na concentração de 3.000 ppm, por 6 horas, apresentaram maior valor médio para sabor, quando se compara com os grãos não ozonizados. Com relação às variáveis aparência, textura e impressão global, os grãos ozonizados por 6 horas apresentaram valores médios significativamente iguais aos obtidos nos grãos não ozonizados. Nos demais períodos de exposição ao gás (3 e 9 horas), não foi detectada diferença significativa quando se comparou com os grãos não ozonizados.

Tabela 24. Aceitabilidade dos grãos de amendoim submetidos a 3.000 ppm do gás ozônio com diferentes tempos de exposição

PE (horas)	Aparência	Sabor	Textura	Impressão global
0	5,98 AB ± 1,70	5,46 B ± 2,18	6,00 AB ± 1,88	5,80 AB ± 1,84
3	5,47 B ± 1,83	4,97 B ± 1,83	5,83 B ± 1,77	5,54 B ± 1,74
6	6,22 A ± 1,53	6,22 A ± 1,92	6,50 A ± 1,73	6,42 A ± 1,66
9	5,88 AB ± 1,71	5,13 B ± 1,95	5,66 B ± 1,88	5,57 B ± 1,81

5. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, nas condições adotadas no trabalho, pode-se concluir que:

- A ozonização é capaz de inativar fungos potencialmente aflatoxigênicos, sendo esse processo mais rápido nas camadas mais próximas a base da coluna de grãos;
- Em geral a qualidade dos grãos e do óleo bruto de amendoim não foi influenciada pela ozonização;
- A ozonização não afetou negativamente a aceitabilidade dos grãos de amendoim, sendo que na concentração de 1.300 ppm, houve tendência de maior aceitação dos grãos ozonizados por 12 horas.

Trabalhos posteriores em que se adotam outras combinações de concentração e período de exposição ao gás são fundamentais para a implementação da técnica na indústria de alimentos e, em especial, como método de conservação de amendoim. Outro assunto que precisa ser melhor estudado é a análise sensorial de grãos de amendoim ozonizados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABICAB. **Associação Brasileira da indústria de chocolates, cacau, amendoim, balas e derivados**. Propriedades funcionais e nutricionais do amendoim, 2012. Artigo Disponível em: <http://www.abicab.org.br/amendoim/dicas-3>. Acesso em: 07/08/2014.

AKBAS, M.Y.; OZDEMIR, M. Effect of different ozone treatments on aflatoxin degradation and physicochemical properties of pistachios. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v.86, p.2090-2104, 2006.

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, p.154-160, 2011.

ALENCAR, E.R.; FARONI, L.R.D.; SOARES, N.F.F.; SILVA, W.A.; CARVALHO, M.C.S. Efficacy of ozone as a fungicidal and detoxifying agent of aflatoxins in peanuts. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, p. 899-905, 2012.

ALMEIDA, S. **Amendoim, Principais doenças, manejo integrado e recomendações de controle**, Disponível em: http://www.infobibos.com/Artigos/2006_2/Amendoim/index.htm, 2006. Acesso 17/01/2015

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DA AGROENERGIA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Secretaria de Produção e Agroenergia**. 4ª edição, 2013.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de óleos e gorduras vegetais**. Resolução nº 482, de 23.09.1999.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC 274, 15 de outubro de 2002**. Ministério da Saúde, 2002.

ANZALDÚA-MORALES, A. **La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica**. Zaragoza: Acribia SA, p. 198, 1994.

AOCS. **Official methods and recommended practices**. 4ª ed. Champaign: AOCS. 2 v, 1993.

ASAE. **Moisture measurement peanuts**. In: Standards, St. Joseph: American Society of Agricultural Engineers. p. 600-601, 2002.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. **Análise sensorial dos alimentos e bebidas: terminologia**, p. 8, 1993.

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

BACCAN, N.; ANDRADE, J.C.; GODINHO, O.E.S. **Química Analítica Qualitativa Elementar**. Ed. Edgard Blucher, 3ª edição, 2003.

BITTENCOURT, A.B.F.; OLIVEIRA, C.A.F.; DILKIN, P.; CORRÊA, B. Mycotoxin occurrence in corn meal and flour traded in: **Food Control**, v.16, p.117–120, 2005.

BOTELHO. G. **Análise Sensorial**. Escola Superior Agrária Politécnico de Coimbra, 2010.

BOZOGLU, F. Different mycotoxin inactivation applications and their inactivation mechanisms. **The Bulletin of the Istanbul Technical University**.V.54, n.4, p.59-63, 2006.

BULLERMAN, L.B.; SCHROEDER, L.L.; PARK, K.Y. Formation and control of mycotoxins **in Food**. **J. Food Prot.**, v.47, n.8, p.637-646, 1984.

CÂMARA. G.M. **Introdução ao agronegócio do amendoim**. Departamento de Produção Vegetal. USP/ESALQ, 2014.

CAMPO PAS. **Manual de segurança e qualidade para a cultura do amendoim**. Serie qualidade e segurança dos alimentos, 2004.

CANDLISH, A. An Survey of ethic foods microbial quality and aflatoxin content. **Food Addit and Contaminants**, v.18, n.2, p.129-136, 2001.

CARVALHO, V. D.; CHAGAS, S. J. R.; SOUZA, S. M. C. Fatores que afetam a qualidade do café. **Informe Agropecuário, Belo Horizonte**, v. 18, n. 187, p. 5-20, 1997.

CICCARESE, F.; SASANELLI, N.; CICCARESE, A.; ZIADI, T.; AMBRICO, A.; MANCINI, L. Seed disinfection by ozone treatments. **In: IOA Conference and Exhibition**, Valência, Espanha, Proceedings. Valência: International Ozone Association, 2007.

COKER, R.D. The chemical detoxification of aflatoxin contaminated animal feed. **In: Watson, D.H. (Ed.). Natural Toxicants in Food**. Boca Raton: CRC Press, p.284–298, 1998.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento das safras Brasileiras: grãos**, volume 1, safra 2013/14, decimo levantamento, 2014.

COUTO, S.M.; SILVA, M.A.; REGAZZI, A.J. An electrical conductivity method suitable for quantitative mechanical damage evaluation. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v.41, n.2, p.421-426, 1998.

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

CULLEN, P.J.; TIWARI, B.K.; O'DONNELL, C.P.; MUTHUKUMARAPPAN, K. Modelling approaches to ozone processing of liquid foods. **Trends in Food Science & Technology**, Amsterdam, v.20, p.125-136, 2009.

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

DAVE, S. **Efficacy of ozone against Salmonella enteritidis in aqueous suspensions and on poultry meat**. M.Sc. Thesis. The Ohio State University, Columbus, OH, 1999.

DOWENS, F.P.; ITO, K. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. **Washington: American Public Health Association**. p. 676, 2001.

EGMOND, H.P.V.; JONKER, M.A. Regulations for Mycotoxins in Food: Focus on the European Union and Turkey. **The Bulletin of the Istanbul Technical University**. V.54, n.4, p.1-17, 2006.

EVANGELISTA, B. **Efeito do ozônio sobre a micoflora e aflatoxinas durante a armazenagem de castanha-do-brasil com casca** (*Bertholletia excelsa h.b.k.*). Universidade Federal de Santa Catarina, 2009.

FARONI, L.R.D.; PEREIRA, A.M.; SOUSA, A.H.; SILVA, M.T.C.; URRICHI, W.I. Influence of corn grain mass temperature on ozone toxicity to *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and quality of oil extracted from ozonized grains. **In: IOA Conference and Exhibition**. Valência, Espanha. Proceedings... Valência, Espanha: v.1, p.1-6, 2007.

FDA. Food and Drug Administration. **Secondary direct food additives permitted in food for human consumption**. Federal Register, v.66, n.123, p.33829-33830, 2001.

FRANCIS, F.J. The origin of tan-1 a/b. **Journal of Food Science**, v. 40, p. 412, 1975.

GRAHAM, D.M. Use of ozone for food processing. **Food Technol.** p. 72–75, 1997.

GORDON, G. **The chemistry and reactions of ozone in our environment**. Prog. Nucl. Energy. p. 29:89–96, 1995.

GUZEL-SEYDIM, Z.; GREENE, A.K.; SEYDIM, A.C. Use of ozone in the food industry. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v.37, p.453-460, 2004.

HAAS, P. **Exposição da população a aflatoxina B1 e ocorrência de carcinoma hepatocelular nos estados de São Paulo e Santa Catarina**. Dissertação Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, p. 96, 2000.

HERMES, P.; COSTA, P.B.; CAVILHÃO, C.; KARVATTE JUNIOR, N.; TAFFAREL, L.E.; LIBARDI, K.D.C. **Teste triangular do leite de vaca e leite de cabra integral e desnatado**. Simpósio Paranaense dos Centros Mesorregionais de Excelência em Tecnologia do Leite, 2013.

HOLTZ, S., G.; **Aplicação de ozônio e de revestimentos comestíveis em morangos (Fragaria ananassa Duch.) minimamente processados**. Dissertação Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais Brasil. p, 81, 2006.

HSIEH, S.P.Y.; NINQ, S.S.; TZENG, D.D.S. Control of turf grass seedborne pathogenic fungi by ozone. **Plant Pathology Bulletin**, v.7, p.105-112, 1998.

- HUI, Y. H. Sensory evaluation of dairy products. In: Dairy science and technology handbook. **New York: VCH publishers**, v. 1, 1992.
- HUNT, N.K. and Marinas, B.J. Kinetics of Escherichia coli inactivation with ozone. **Water Research**: 31. p. 1355–1362, 1997.
- HUSSEIN, S. H.; BRASEL, J. M. Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. **Toxicology, Ireland**, v. 167, n. 2, p. 101-134, 2001.
- HUWIG, A.; FREIMUND, S.; KAPPELI, O.; DUTLER, H. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. **Toxicology Letters**, v.122, p.179-188, 2001
- KABAK, D.; DOBSON, A.D.; VAR, I. Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review. **Crit. Rev. In food science and nutrition**. V.46, p. 596-619, 2006.
- KANOFSKY, J.R. and Sima, P. Singlet oxygen production from the reactions of ozone with biological molecules. **Journal of Biological Chemistry** 266: p. 9039–9042, 1991.
- KELLS, S.A.; MASON, L.J.; MAIER, D.E.; WOLOSOSHUK, C. P. Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. **Journal of Stored Products Research**, v.37, n.4, p.371-383, 2001.
- KHADRE, M.A.; YOUSEF, A.E.; KIM, J.G. Microbiological Aspects of Ozone Applications in Food: A Review. **Journal of Food Science**, v.66, n.9, p.1242-1252, 2001.
- KHADRE, M.A.; YOUSEF, A.E. Sporicidal action of ozone and hydrogen peroxide: a comparative study. **International Journal of Food Microbiology** 71 p. 131–138, 2001.
- KIM, J.G.; YOUSEF, A.E.; KHADRE, MA. Ozone and its current and future application in the food industry. In: TAYLOR, S.L. (Ed.) **Advances in Food and Nutrition Research**. **New York: Academic Press**, v.45, p.167-218, 2003.
- KIM, J.G. **Ozone as an antimicrobial agent in minimally processed foods**. PhD. dissertation. The Ohio State University, Columbus, OH, 1998.
- KOLTUN, S.P. Aflatoxin inactivation of undelinted cottonseed by ammoniation. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.63, n.4, p.533-534, 1986.

- LAPOLLI, F. R.; SANTOS, L. F.; HÁSSEMER, M. E. N.; AISSE, M. M.; PIVELI, R. P. **Desinfecção de efluentes sanitários por meio da ozonização**. In. GONÇALVES, R. F. (Coord.). Desinfecção de efluentes sanitários, remoção de organismos patogênicos e substâncias nocivas: aplicação para fins produtivos como agricultura, aquicultura e hidropônica. Vitória: PROSAB. p. 169-208, 2003.
- LIEW, C.L.; PRANGE, R.K. Effect of ozone and storage temperature on postharvest diseases and physiology of carrots (*Daucus carota* L.), **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.119, p.563–567, 1994.
- LITTLE, A. Off on a tangent. **Journal of Food Science**, Chicago, v.40, p.410- 411, 1975.
- LORINI, I. **Armazenagem de Grãos**. 1ª Ed. Campinas/SP: IBG. p. 1000, 2002.
- MASKAN, M. Kinetics of colour change of kiwifruits during hot air and microwave drying. **Journal of Food Engineering**, v.48, p.169-175, 2001.
- MATWEB. **Materials Information Resource: Ozone O₃**. Disponível em: http://www.matweb.com/search/datasheet_print.aspx?matguid. Acesso 17/01/2015.
- MENDEZ, F.; MAIER, D. E.; MASON, L. J.; WOLOSHUK, C. P. Penetration of ozone into columns of stored grains and effects on chemical composition and performance. **Journal of Stored Products Research**, v.39, n.1, p.33-44, 2003.
- MELO, M.A.M. **Avaliação das Propriedades de Óleos Vegetais visando a Produção de Biodiesel**. Dissertação Universidade Federal da Paraíba, 2010.
- MCKENZIE, K.S.; SARR, A.B.; MAYURA, K.; BAILEY, R.H.; MILLER, D.R.; ROGERS, T.D.; NORRED, W.P.; VOSS, K.A.; PLATTNER, R.D.; KUBENA, L.F.; PHILLIPS, T.D. Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone. **Food and Chemical Toxicology**, v.35, p.807–820, 1997.
- MCLELLAN, M.R.; LIND, L.R.; KIME, R.W. Hue angle determinations and statistical analysis for multiquadrant hunter L, a, b data. **Journal of Food Quality**, v.18, n.3, p.235-240, 1995.
- MUSTAFA, M.G. Biochemical basis of ozone toxicity. **Free Radical Biology and Medicine**, v.9, p.245–265, 1990.

- NADAS, A.; OLMO, M.; GARCÍA, J. M. Growth of *Botrytis cinerea* and strawberry quality in ozone enriched atmospheres. **Journal of Food Science**, v.68, n.5, p. 1798-1802, 2003.
- NOVAK, J.S.; YUAN, J.T.C. The ozonation concept: advantages of ozone treatment and commercial developments. In: Tewari, G.; Juneja, V.K. (Eds.) **Advances in Thermal and Non-Thermal Food Preservation**. Ames: Blackwell Publishing. p.185-193, 2007.
- OSKAN, R.; SMILANICK, J.L.; KARABULUT, O.A. Toxicity of ozone gas to conidia of *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*, and *Botrytis cinerea* and control of gray mold on table grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v.60, p.47-51, 2011.
- OVERBECK, P.K. WQA ozone task force an update. **Water Conditioning & Purification March**. p. 76–78, 2000.
- OZDEMIR, M.; OZILGEN, M. **Mycotoxins in grains and nuts: II) Decontamination and detoxification**. Disponível em: <http://www.okyanusbilgiambari.com/Bilimsel.Makale/Mycotoxin-Detoxification.pdf>. Acesso: 17/01/2015.
- PACHECO, A. M.; SCUSSEL, V. M. **Castanha-do-Brasil: da floresta tropical ao consumidor**. Florianópolis: Editorgraf. p. 176, 2006.
- PÁDUA, I. P. M.; SILVEIRA I. A.; MARTINS, C. E. C. B. Aflatoxinas e risco de contaminação do leite humano. **Pro Homine**, v. 1, n. 1, 2002.
- PASCUAL, A.; LLORCA, L.; CANUT, A. Use of ozone in food industries for reducing the environmental impact of cleaning and disinfection activities. **Trends in Food Science & Technology**, v.18, p.S29-S35, 2007.
- PATERSON, R.; RUSSELL, M. Fungi and fungal toxins as weapons. **Myvological Research**, v.110, n.9, p.1003-1010, 2006.
- PAYNE, G.A. Process of contamination by aflatoxin-producing fungi and their impact on crops. In: SINHA, K.K.; BHATNAGAR, D. **Mycotoxins in Agriculture And Food Safety**. New York: Macel Dekker. p.279-306, 1998.

PEREIRA, A.M.; FARONI, L.R.D.; SOUSA, A.H.; URRUCHI, W.I.; PAES, J.L. Influência da temperatura da massa de grãos sobre a toxicidade do ozônio a *Tribolium castaneum*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, p.493-497, 2008.

PITT, J.I.; HOCKING, A.D.; GLENN, D.R. An improved medium for the detection of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*. **Journal Applied Bacteriology**, v. 54, p.109-114, 1983.

PITT, J.I. The significance of potentially toxigenic fungi food. **Food Technol. Aust.**, p. 218-219, 1984.

PITT, J.I. Toxigenic fungi: which are importante. **Medical Mycology**, v.38, Supplement 1, p.17-22, 2000.

PITT, J.I.; HOCKING, A.D. Fungi and food spoilage. **New York: Springer**. p. 519, 2009.

PRADO, G.; CARVALHO, E. P.; MADEIRA, J.E.C.G.; MORAIS, V. A. D.; OLIVEIRA, M. S.; CORREA, R. F.; CARDOSO, V. N. Efeito da irradiação gama (⁶⁰Co) na frequência fúngica de amendoim in natura em função do tempo de prateleira. **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, n.5, p. 930-936, 2006.

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.

REDA, S. Y. **Estudo Comparativo de Óleos Vegetais Submetidos a Estresse Térmico**. Dissertação Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, p. 153, 2004.

RITCHIE, J.C. Aflatoxin. In: Waring, R.H.; Steventon, G.B.; Mitchell, S.C. **Molecules of Death**. London: Imperial College Press, p. 1-18, 2002.

ROJAS-DURAN, T.R. Study of a room temperature phosphorescence phenomenon to allow the detection of aflatoxigenic strains in culture media. **Int. J. of Food Microbiology**, 115, p.149-158, 2007.

- 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 e Ambiental**, v. 12, p. 282-285, 2008.
- SABINO, M.; ZORBETT, M.A. P.; PEDROSO, M.O.; MILANEZ, T.V. Incidência de aflatoxinas em amendoim e produtos derivados consumidos na cidade de São Paulo, no período de 1980 a 1987. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.49, n.1, p.41-44, 1989.
- SANTOS, J.E. **Difusão e cinética de decomposição do ozônio no processo de fumigação de grãos de milho (*Zea mays*)**. (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008. 54f. Tese.
- STRAIT, C.A. **Efficacy of ozone to control insects and fungi in stored grain**. Purdue University, West Lafayette, IN, 1998, 59 p. (M.S. thesis).
- SAVI, G.D.; PIACENTINI, K.C.; BITTENCOURT, K.O.; SCUSSEL, V.M. Ozone treatment efficiency on *Fusarium graminearum* and deoxinivalenol degradation and its effects on whole wheat grains (*Triticum aestivum L.*) quality and germination. **Journal of Stored Products Research**. p. 1-9, 2014.
- SCUSSEL, V. M. **Micotoxinas em alimentos**. Florianópolis: Editora Insular, 1998.
- SCUSSEL, V.M. Fungos e micotoxinas associados a grãos armazenados. In: Lorini, I. **Armazenagem de grãos**, Campinas, IBG. Seção 9, 2002.
- SHAPIRA, R.; PASTER, N. Control of mycotoxins in storage and techniques for their decontamination. In: MAGAN, N.; OLSEN, M. (Eds.) **Mycotoxins in food**. New York: CRC Press, p.190-223, 2004.
- SILVA. J.S. **Secagem e Armazenagem de Produtos Agrícolas**. Segunda Edição. Ed. Aprende Fácil. Viçosa, 2008.
- SOUZA, E. C. de. **Estudo da Oxidação de Óleo de Soja com Diferentes Concentrações de Aditivos Anti-oxidantes, para Uso em Tratamentos Térmicos de Têmpera**. Dissertação São Carlos/SP, p. 160, 2007.
- SUNG, H.J.; SONG, W.J.; KIM, PK.P.; RYU, S.; KANG, D.H. Combination effect of ozone and heat treatments for the inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*

Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* in apple juice. **International Journal of Food Microbiology**, v. 171, p. 147-153, 2014.

SUSLOW, T.V. **Ozone applications for postharvest disinfection of edible horticultural crops**. Oakland: University of California - Division of Agriculture and Natural Resources, Publication 8133, 8p, 2004.

STANSBURY, M.F.; HOFFPAUIR, C.L. Estimation of skin content of peanut meals and relative skin pigment content of isolated proteins. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.29, n.9, p.370-372, 1952.

STUCKI, S.; SCHULZE, D.; SCHUSTER, D.; STARK, C. Ozonization of purified water systems. **Pharmaceutical Engineering**, v.25, n.1, p.1-7, 2005.

TANIWAKI, M. H.; DA SILVA, N. Fungos em alimentos: Ocorrência e detecção. **Núcleo de Microbiologia, ITAL**, p. 82, 2001

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; BARBETTA, P. A. **Análise sensorial de alimentos**. Florianópolis: Ed. da UFSC, p. 180, 1987.

TEIXEIRA, A.S. **Adequação e apresentação de parâmetros de validação intralaboratorial de um ensaio para a quantificação de aflatoxinas em Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K) através de cromatografia líquida de alta eficiência**. Dissertação Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. p. 57, 2008.

TEIXEIRA, L.V. Análise sensorial na indústria de alimentos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. Nº 366, 64, p. 12-14, 2009.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **Alternative disinfectants and oxidants guidance manual**. 1999. Disponível em: http://www.epa.gov/ogwdw000/mdbp/alternative_disinfectants_guidance.pdf. Acesso: 17/01/2015.

VENEGAS, J.G.; HARRIS, R.S.; SIMON, B.A. A comprehensive equation for the pulmonary pressure-volume curve. **American Physiological Society**, v.84, n.1, p.389-395, 1998.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p.103-132, 1994.

VIEIRA, R.D.; TEKRONY, D.M.; EGLI, D.B.; RUCKER, M. Electrical conductivity of soybean seeds after storage in several environments. **Seed Science and Technology**, v. 29, p. 599-608, 2001.

WU, J.; DOAN, H.; CUENCA, M.A. Investigation of gaseous ozone as an antifungal fumigant for stored wheat. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v.81, n.7, p.1288-1293, 2006.

YEH, J.; PHILLIPS, R.D.; RESURRECCION, A.V.A; HUNG, Y. Physicochemical and sensory characteristic changes in fortified peanut spreads after 3 months of storage at different temperatures. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.2377-2384, 2002.

YOUNG, J.C.; ZHU, H.; ZHOU, T. Degradation of trichothecene mycotoxins by aqueous ozone. **Food and Chemical Toxicology**, v.44, p.417-424, 2006.

ZENEBON, O.; PASCUER, N. S.; TIGLEA, P. **Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos**. Instituto Adolfo Lutz (São Paulo), 2008.

ZOLLNER, P; MAYER-HELM, B. Trace mycotoxin analysis in complex biological and food matrices by liquid chromatography-atmospheric pressure ionization mass spectrometry. **J. of Chromatography A**, 1136, p. 123-169, 2006.

ANEXOS

ANEXO 1

Você está em: Pesquisador > Gerir Pesquisa > Detalhar Projeto de Pesquisa

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

Dados do Projeto de Pesquisa

Título da Pesquisa: OZONIZAÇÃO DE GRÃOS DE AMENDOIM: DETOXIFICAÇÃO DE GRÃOS CONTAMINADOS COM AFLATOXINAS, ALTERAÇÕES QUALITATIVAS E ANÁLISE SENSORIAL
Pesquisador: Ernandes Rodrigues de Alencar
Área Temática:
Versão: 4
CAAE: 24883513.3.0000.0030
Submetido em: 30/06/2014
Instituição Proponente:
Situação: Aprovado
Localização atual do Projeto: Pesquisador Responsável
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

Documentos Postados do Projeto

Tipo Documento	Situação	Arquivo	Postagem
Parecer Consubstanciado do CEP	A	 PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CEP_714465.pdf	10/07/2014 13:09:13
Interface REBEC	A	 PB_XML_INTERFACE_REBEC.xml	30/06/2014 09:32:11
Informações Básicas do Projeto	A	 PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_248835.pdf	30/06/2014 09:32:10
Projeto Detalhado	A	 Projeto CEP Modificado 30_06_2014.pdf	30/06/2014 09:30:38
TCLE - Modelo de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	A	 Modelo TCLE limiar de rejeição.pdf	21/05/2014 16:16:50
Outros	A	 Lattes Beatriz Alejandra Ortega Sanchez.pdf	05/12/2013 07:38:35
Declarações Diversas	A	 Termo Responsabilidade Compromisso.pdf	04/12/2013 21:32:37
Folha de Rosto	A	 Folha de Rosto.pdf	04/12/2013 21:31:20

[Listar Todos »](#)

Tramitação:

CEP Trâmite	Situação	Data Trâmite	Parecer	Informações
CONEP	Submetido para avaliação do CEP	21/11/2013		
Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília - CEP/FS-UnB	Rejeição do PP	03/12/2013		Presado pesquisador, sua Folha de Rosto deve estar... Ver mais>>
Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília - CEP/FS-UnB	Submetido para avaliação do CEP	05/12/2013		
Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília - CEP/FS-UnB	Aceitação do PP	05/12/2013		
Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília - CEP/FS-UnB	Parecer liberado	31/03/2014		
Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília - CEP/FS-UnB	Submetido para avaliação do CEP	21/05/2014		
Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília - CEP/FS-UnB	Aceitação do PP	23/05/2014		
Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília - CEP/FS-UnB	Parecer liberado	19/06/2014		
Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília - CEP/FS-UnB	Submetido para avaliação do CEP	30/06/2014		
Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília - CEP/FS-UnB	Aceitação do PP	30/06/2014		

« « 1 2 » »

Localização atual do Projeto: Pesquisador Responsável

ANEXO 2

Ficha de teste de aceitação

Nome: _____ Data: __/__/__

Telefones: _____ Departamento/Unidade Acadêmica: _____

E mail: _____ () aluno () professor () funcionário

Por favor, prove a amostra à sua frente e a dê a nota utilizando a escala a seguir o quanto você gostou ou desgostou do amendoim, em relação à aparência, sabor, textura e impressão global. Beba antes de cada amostra e aguarde alguns segundos entre elas.

- 1- Desgostei extremamente
- 2- Desgostei muito
- 3- Desgostei moderadamente
- 4- Desgostei ligeiramente
- 5- Indiferente
- 6- Gostei ligeiramente
- 7- Gostei moderadamente
- 8- Gostei muito
- 9- Gostei extremamente

Código da amostra	Aparência	Sabor	Textura	Impressão global	COMENTÁRIOS
814					
377					
120					
992					
675					
444					
056					
398					

Termo de Consentimento Livre e

Esclarecido



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA

VETERINÁRIA

PROGRAMA DE MESTRADO EM

AGRONOMIA

O (a) Senhor(a) está sendo convidado(a) a participar do projeto: “Ozonização no controle de fungos no amendoim e efeito nas características organolépticas e análise sensorial”. O objetivo desta pesquisa é avaliar a ozonização como alternativa para detoxificação de grãos de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) contaminados com aflatoxinas, e verificar o efeito da ozonização na qualidade físico-química e sensorial do produto.

O(a) senhor(a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome não aparecerá sendo mantido o mais rigoroso sigilo através da omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a).

A sua participação será por meio da degustação de grãos de amendoim, no Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos, no dia / /2014, com um tempo estimado para

realização de 15 minutos. O senhor receberá uma amostra com 5 g de amendoim. O senhor deverá indicar em uma ficha o grau com que gostou ou desgostou dessa amostra, usando uma escala com 9 alternativas. O (a) senhor (a) não é obrigado a engolir as amostras e será disponibilizado copo descartável vazio para cuspi-las. Será disponibilizado água para o senhor beber antes de cada amostra.

Não há riscos relacionados ao consumo de aflatoxinas no amendoim, uma vez que as amostras são certificadas e análises prévias serão realizadas para confirmar sua segurança. O (a) senhor (a) não poderá participar da pesquisa se for alérgico a amendoim, portanto, tal fato deverá ser informado imediatamente ao pesquisador para sua exclusão do grupo de provadores.

Informamos que o (a) Senhor (a) pode se recusar a responder (ou participar de qualquer procedimento) qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo para o(a) senhor(a). Sua participação é voluntária, isto é, não há pagamento por sua colaboração.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Universidade de Brasília, podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais utilizados na pesquisa ficarão sob a guarda do pesquisador por um período de no mínimo cinco anos, após isso serão destruídos ou mantidos na instituição.

Se o(a) Senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone para: Dr. Ernandes Rodrigues de

Alencar, na Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, UnB, telefone: 61 3107 7560, no horário: 8:00 – 12:00; 14:00-18:00 ou com a Eng. Beatriz Alejandra Ortega Sánchez, Telefone: (61) 81604776, no horário: 8:00 – 12:00; 14:00-18:00.

Este projeto foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do sujeito da pesquisa podem ser obtidas através do telefone: (61) 3107-1947 ou do e-mail cepfs@unb.br.

Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador

responsável e a outra com o sujeito da pesquisa.

Nome / assinatura

Pesquisador Responsável

Nome e assinatura

Brasília, ___ de _____ de _____

ANEXO 3

Tabela 1. Resumo da análise de variância referente à infecção interna dos fungos (%) nos grãos de amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm, nas alturas de 0, 0,25, 0,50, 0, 75 m e nos períodos de exposição de 0, 3, 6, 9 e 12 h

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADOS MÉDIOS
Concentração	1	1.665,07
Tempo	4	7.960,5
Altura	3	47,51
Concentração X Tempo	4	550,7
Concentração X Altura	3	51,55
Tempo X Altura	12	92,86
Concentração X Tempo X Altura	12	184,21
Resíduo	80	60,48

Tabela 2. Resumo da análise de variância referente à umidade (%) nos grãos de amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm, nas alturas de 0, 0,25, 0,50, 0, 75 m e nos períodos de exposição de 0, 3, 6, 9 e 12 h

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADOS MÉDIOS
Concentração	1	16,99
Tempo	4	0,77
Altura	3	0,20
Concentração X Tempo	4	0,21
Concentração X Altura	3	0,03
Tempo X Altura	12	0,19
Concentração X Tempo X Altura	12	0,08
Resíduo	80	0,03

Tabela 3. Resumo da análise de variância referente à condutividade elétrica ($\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$) nos grãos de amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm, nas alturas de 0, 0,25, 0,50, 0, 75 m e nos períodos de exposição de 0, 3, 6, 9 e 12 h

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADOS MÉDIOS
Concentração	1	24,89
Tempo	4	235,74
Altura	3	4,71
Concentração X Tempo	4	19,21
Concentração X Altura	3	43,37
Tempo X Altura	12	44,34
Concentração X Tempo X Altura	12	39,65
Resíduo	80	21,55

Tabela 4. Resumo da análise de variância referente à Saturação da cor nos grãos de amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm, nas alturas de 0, 0,25, 0,50, 0, 75 m e nos períodos de exposição de 0, 3, 6, 9 e 12 h

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADOS MÉDIOS
Concentração	1	1013,18
Tempo	4	22,08
Altura	3	25,63
Concentração X Tempo	4	2,34
Concentração X Altura	3	8,05
Tempo X Altura	12	3,24
Concentração X Tempo X Altura	12	3,60
Resíduo	80	2,34

Tabela 5. Resumo da análise de variância referente à tonalidade da cor nos grãos de amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm, nas alturas de 0, 0,25, 0,50, 0, 75 m e nos períodos de exposição de 0, 3, 6, 9 e 12 h

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADOS MÉDIOS
Concentração	1	0,10
Tempo	4	1,51
Altura	3	1,35
Concentração X Tempo	4	2,84
Concentração X Altura	3	12,03
Tempo X Altura	12	0,88
Concentração X Tempo X Altura	12	4,91
Resíduo	80	1,70

Tabela 6. Resumo da análise de variância referente à diferença da cor nos grãos de amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm, nas alturas de 0, 0,25, 0,50, 0, 75 m e nos períodos de exposição de 0, 3, 6, 9 e 12 h

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADOS MÉDIOS
Concentração	1	2,44
Tempo	4	163,97
Altura	3	13,21
Concentração X Tempo	4	1,88
Concentração X Altura	3	5,14
Tempo X Altura	12	5,21
Concentração X Tempo X Altura	12	1,23
Resíduo	80	2,10

Tabela 7. Resumo da análise de variância referente percentual de ácidos graxos livres (%) nos grãos de amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm, nas alturas de 0, 0,25, 0,50, 0, 75 m e nos períodos de exposição de 0, 3, 6, 9 e 12 h

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADOS MÉDIOS
Concentração	1	0,50
Tempo	4	0,03
Altura	3	0,02
Concentração X Tempo	4	0,01
Concentração X Altura	3	0,01
Tempo X Altura	12	0,01
Concentração X Tempo X Altura	12	0,03
Resíduo	80	0,01

Tabela 8. Resumo da análise de variância referente ao índice de peróxido (meq Kg⁻¹) nos grãos de amendoim ozonizados nas concentrações de 1.300 e 3.000 ppm, nas alturas de 0, 0,25, 0,50, 0, 75 m e nos períodos de exposição de 0, 3, 6, 9 e 12 h

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADOS MÉDIOS
Concentração	1	258,09
Tempo	4	11,90
Altura	3	2,10
Concentração X Tempo	4	7,38
Concentração X Altura	3	4,76
Tempo X Altura	12	0,76
Concentração X Tempo X Altura	12	1,93
Resíduo	80	1,28

Tabela 9. Resumo da análise de variância referente à aparência dos grãos de amendoim ozonizados na concentração de 1.300 ppm, nos períodos de exposição de 0, 3, 6, 9 e 12 h

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADOS MÉDIOS
Aparência	4	7,43
Resíduo	495	2,67

Tabela 10. Resumo da análise de variância referente a sabor dos grãos de amendoim ozonizados na concentração de 1.300 ppm, nos períodos de exposição de 0, 3, 6, 9 e 12 h

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADOS MÉDIOS
Sabor	4	26,32
Resíduo	495	3,93

Tabela 11. Resumo da análise de variância referente à textura dos grãos de amendoim ozonizados na concentração de 1.300 ppm, nos períodos de exposição de 0, 3, 6, 9 e 12 h

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADOS MÉDIOS
Textura	4	11,55
Resíduo	495	2,78

Tabela 12. Resumo da análise de variância referente à impressão global dos grãos de amendoim ozonizados na concentração de 1.300 ppm, nos períodos de exposição de 0, 3, 6, 9 e 12 h

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADOS MÉDIOS
Impressão Global	4	20,16
Resíduo	495	2,82

Tabela 13. Resumo da análise de variância referente à aparência dos grãos de amendoim ozonizados na concentração de 3.000 ppm, nos períodos de exposição de 0, 3, 6 e 9 h

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADOS MÉDIOS
Aparência	3	9,78
Resíduo	396	2,90

Tabela 14. Resumo da análise de variância referente a sabor dos grãos de amendoim ozonizados na concentração de 3.000 ppm, nos períodos de exposição de 0, 3, 6 e 9 h

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADOS MÉDIOS
Sabor	3	30,85
Resíduo	396	3,94

Tabela 15. Resumo da análise de variância referente à textura dos grãos de amendoim ozonizados na concentração de 3.000 ppm, nos períodos de exposição de 0, 3, 6 e 9 h

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADOS MÉDIOS
Textura	3	13,14
Resíduo	396	3,34

Tabela 16. Resumo da análise de variância referente à impressão global dos grãos de amendoim ozonizados na concentração de 1.300 ppm, nos períodos de exposição de 0, 3, 6, 9 e 12 h

FONTE DE VARIAÇÃO	GL	QUADRADOS MÉDIOS
Impressão Global	3	16,68
Resíduo	396	3,14