



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UnB
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA
VETERINÁRIA

EFICÁCIA DO OZÔNIO NO CONTROLE DE FUNGOS
POTENCIALMENTE AFLATOXIGÊNICOS EM AMENDOIM
(*Arachis hypogaea* L.)

Wallas Felipe de Souza Ferreira

BRASÍLIA, DF
JULHO/2014

WALLAS FELIPPE DE SOUZA FERREIRA

**EFICÁCIA DO OZÔNIO NO CONTROLE DE FUNGOS
POTENCIALMENTE AFLATOXIGÊNICOS EM AMENDOIM**
(Arachis hypogaea L.)

Monografia de conclusão de curso
apresentada ao Curso de
Agronomia, da Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária
da Universidade de Brasília, como
requisito parcial à conclusão do
curso.

Orientador: Prof. Dr. Ernandes Rodrigues de Alencar

BRASÍLIA, DF

JULHO/2014

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UnB
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA
VETERINÁRIA – FAV

EFICÁCIA DO OZÔNIO NO CONTROLE DE FUNGOS
POTENCIALMENTE AFLATOXIGÊNICOS EM AMENDOIM (*Arachis
hypogaea* L.)

Wallas Felipe de Souza Ferreira
Matrícula: 10/0022006
Prof. Orientador: Dr. Ernandes
Rodrigues de Alencar

Projeto final de Estágio Supervisionado, submetido à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, como requisito parcial para a obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Aprovada Por:

Dr. Ernandes Rodrigues de Alencar
(Universidade de Brasília – FAV)
(Orientador)

MSc. Marcio Antonio Mendonça
(Universidade de Brasília – Laboratório de Análise de Alimentos)
(Examinador Interno).

Sabrina Magaly Navas Cajamarca
(Examinador Externo)

FICHA CARTALOGRÁFICA

FERREIRA, W. F. de S.

EFICÁCIA DO OZÔNIO NO CONTROLE DE FUNGOS POTENCIALMENTE AFLATOXIGÊNICOS EM AMENDOIM (*Arachis hypogaea* L.)

Monografia (Graduação em Agronomia) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2014.

Orientação: Profº. Dr. Ernandes Rodrigues de Alencar

1. Ozonização. 2. Amendoim. 3. Qualidade. 4. Conservação. 5. Controle de Fungos.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

FERREIRA, W. F. de S.; **EFICÁCIA DO OZÔNIO NO CONTROLE DE FUNGOS POTENCIALMENTE AFLATOXIGÊNICOS EM AMENDOIM** (*Arachis hypogaea* L.). 2014. Monografia (Graduação em Agronomia) – Universidade de Brasília – UnB, Brasília, 2014.

CESSÃO DE DIREITOS

Nome do Autor: Wallas Felipe de Souza Ferreira

Título da Monografia de Conclusão de Curso: EFICÁCIA DO OZÔNIO NO CONTROLE DE FUNGOS POTENCIALMENTE AFLATOXIGÊNICOS EM AMENDOIM (*Arachis hypogaea* L.).

Grau: 3º Ano: 2014

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

Wallas Felipe de Souza Ferreira

CPF: 035.674.341-10

Matrícula: 10/0022006

E-mail: wallasfelippe@gmail.com

Cel: 8309-3955

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que sempre me deu forças e ensinamentos para superar todos os momentos difíceis e de dúvidas, além de me mostrar sentido nos momentos de alegria.

À memória do meu pai, Eguimar Ferreira, que me deu apoio total e ajuda para estudar, mas que não realizou o sonho de me ver formado, porém estaria realizado ao ver esta etapa da minha vida. À memória de todos os ensinamentos que ele foi capaz de me ensinar e de eu ser o que sou hoje.

À minha mãe, Aparecida do Carmo, que me deu apoio total nesta caminhada e que sempre acreditou em mim.

À minha namorada, Isabele, por estar sempre ao meu lado me apoiando e me ensinando a sonhar juntos.

Ao professor, Ernandes, pelas oportunidades, amizade e pelos momentos de experiência e estudo. Aos demais professores da Universidade de Brasília que ajudaram na minha formação como profissional.

Aos meus amigos de curso pelos momentos de alegria e pelos momentos difíceis ao longo da graduação. E pelos amigos de laboratório que ajudaram na realização deste trabalho.

A todos os amigos e familiares que acreditaram em mim e que me ajudaram.

Muito Obrigado!

*“O que foi, torna a ser. O que é, perde existência.
O palpável é nada. O nada assume essência.”*

Fausto - Johann W. von Goethe

Dedicatória: A Deus e a todos os meus familiares e amigos, especialmente à minha namorada Isabele, meu irmão William, minha mãe e à memória do meu pai, Eguimar Ferreira.

RESUMO

FERREIRA, Wallas Felipe de Souza. **Eficácia do ozônio no controle de fungos potencialmente aflatoxigênicos em amendoim (*Arachis hypogaea* L.)**. Monografia (Graduação em Agronomia) – Universidade de Brasília – UnB, Brasília, Julho 2014.

Objetivou-se com este trabalho avaliar a eficácia do ozônio como agente fungicida e possíveis alterações qualitativas em grãos de amendoim. Na ozonização dos grãos foram utilizadas amostras de 300 g, adotando-se a concentração do gás de 3.960 ppm, e valores de umidade relativa de 75%, por períodos de exposição de 0, 120 e 240 min. Na análise microbiológica dos grãos ozonizados foi utilizado o método de diluição em placas. Para avaliação da qualidade dos grãos de amendoim foram analisados os parâmetros de teor de água e condutividade elétrica. Para a avaliação da qualidade do óleo bruto extraído dos grãos de amendoim quantificaram-se o teor de ácidos graxos livres e o índice de peróxido. O gás ozônio foi eficiente no controle de fungos totais e das espécies potencialmente aflatoxigênicas *A. flavus* e *A. parasiticus* em grãos de amendoim, com redução superior a 2,4 e 3,0 ciclos log na contagem dos microrganismos, respectivamente, na concentração de 3.960 ppm e 240 min de exposição. A qualidade dos grãos e do óleo bruto não foi afetada significativamente em decorrência da exposição ao ozônio, na concentração de 3.960 ppm, por até 240 min. Concluiu-se que o ozônio é uma importante alternativa no controle de fungos, incluindo espécies potencialmente aflatoxigênicos, em grãos de amendoim.

PALAVRAS-CHAVE: Ozonização, controle de fungos, qualidade.

ABSTRACT

FERREIRA, Wallas Felipe de Souza. **Efficacy of ozone on control of potentially aflatoxigenic fungi in peanut (*Arachis hypogaea* L.)**. Monograph (Agronomy) – Universidade de Brasília – UnB, Brasília, July 2014.

The objective of this work was to evaluate the efficacy of ozone as a fungicidal agent and possible qualitative changes in peanut kernels. In the ozonation, peanut samples of 300 g were used, adopting the gas concentration of 3,960 ppm, and relative humidity values of 75%, for exposure periods of 0, 120 and 240 min. The effect of ozone gas on the total fungal count and potentially aflatoxigenic species *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* was evaluated by the dilution technique. Evaluation of peanut quality consisted of analysis for moisture content and electrical conductivity. The qualitative parameters of the crude oil extracted from the peanuts analyzed were the concentration of free fatty acids and peroxide index. Ozone was efficient for the control of total fungi and *A. flavus* e *A. parasiticus* in peanuts, with reduction greater than 2.4 and 3.0 log cycles at the concentration of 3,960 ppm and exposure period of 240 min, respectively. The quality of grain and crude oil was not significantly affected as a result of exposure to ozone at a concentration of 3,960 ppm for up to 240 min. It was concluded that ozone is an important alternative in the control of fungi, including potentially aflatoxigenic species in peanut kernels.

KEYWORDS: Ozonation, fungi control, quality.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1	SOBRE A CULTURA DO AMENDOIM (<i>Arachis hypogaea L.</i>).....	4
2.2	OZÔNIO	7
3	MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1	OBTENÇÃO DO GÁS OZÔNIO.....	10
3.2	ANÁLISES QUALITATIVAS E MICROBIOLÓGICAS.....	10
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
5	CONCLUSÕES.....	15
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	16

1 INTRODUÇÃO

O Amendoim (*Arachis hypogaea L.*) é uma cultura difundida em todo o Brasil. Possui uma grande importância econômica, tanto na agricultura familiar, onde há pouco uso de insumos e mecanização, e na renovação de canaviais, principalmente no estado de São Paulo. Porém, o plantio dessa cultura foi desestimulado pelo baixo preço pago no mercado, devido ao aumento do uso de óleo de soja e problemas causados pela contaminação por aflatoxinas. É uma leguminosa com alto valor nutricional, principalmente de óleo, proteínas e vitaminas. Apesar de ser um gênero com origem na América do Sul o continente com maior produção é a Ásia, tendo a China como o maior produtor mundial. O Brasil ocupa a 7^o posição dentre os maiores produtores, com uma estimativa de 332,0 mil toneladas para a safra 2013/2014 (CONAB, 2013). O 5^o óleo mais consumido é o de amendoim, com uma produção superior a quatro milhões de toneladas (SUASSUNA et, al., 2006).

Em 2001 houve a criação do Programa Pró-Amendoim pela ABICAB (Associação Brasileira da Indústria de chocolate, cacau, amendoim, balas e derivados), que estimulou a cadeia produtiva, o desenvolvimento de novas tecnologias para melhorar a qualidade do produto, prevenção de aflatoxinas e a ampliação do consumo de amendoim no mercado nacional (ABICAB, 2014).

No campo, os dois principais parâmetros que afetam a produção de aflatoxinas em amendoim são temperatura e estresse hídrico. Temperaturas na faixa de 28 e 34 °C associadas a estresse hídrico durante a formação das vagens do amendoim são favoráveis à infecção pelos fungos e à produção de aflatoxinas (CRAUFURD et al., 2006). Durante o armazenamento, a produção de aflatoxinas é afetada por diversos parâmetros, dentre os quais atividade de água, temperatura, presença de danos mecânicos e ocasionados por insetos, composição nutricional, composição do ar intergranular, dentre outros (SHAPIRA e PASTER, 2004).

O armazenamento é um dos principais problemas que a cultura sofre, pois seus grãos são substratos ideais para o desenvolvimento de fungos. Os grãos de amendoim são largamente utilizados na indústria, tendo como um dos principais produtos o amendoim *in natura*. Tendo isso em vista, a obtenção de um produto dentro dos padrões de qualidade é de fundamental importância, pois o desenvolvimento de fungos toxigênicos, pode causar degradação dos nutrientes e das características organolépticas

e posterior aproveitamento industrial dos grãos (SABINO et al., 1989; FARONI & SILVA, 2008).

Os principais produtores de aflatoxinas em grãos e subprodutos agrícolas são os fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, que podem ser encontrados tanto no solo como no ar. São classificados frequentemente como fungos de armazenamento, mas em algumas regiões podem colonizar os grãos ainda no campo (PAYNE, 1998). Um dos acontecimentos mais marcantes sobre a importância do controle desse tipo de fungo aconteceu na Inglaterra nos anos de 1960, onde ocorreu a morte de mais de 100.000 perus depois do consumo de torta de amendoim contaminada. Episódio que ficou conhecido como "*turkey-X disease*". Após análises químicas e microbiológicas a principal espécie de fungo encontrada foi *A. flavus*, em seguida foram detectados metabólitos secundários produzidos por este fungo, que foram denominados de Aflatoxinas. (JEWERS, 1990; LESSON, et al., 1995). Isso fez as Aflatoxinas se destacarem como um problema mundial em relação à saúde pública, à agricultura e à economia mundial (AMARAL et al., 2006; OZDEMIR e OZILGEN, 2007).

As aflatoxinas afetam diretamente a qualidade do amendoim e seus derivados, tanto para consumo humano como para consumo animal, além de possuir alta toxidez, efeitos mutagênicos e teratogênicos (PRADO et al., 1999; ABDULKADAR et al., 2000).

A prevenção e controle dos diversos tipos de micotoxinas ainda não apresentou um modelo seguro, eficaz e de solução definitiva (PRADO et al., 2006). Neste cenário surge o gás ozônio como alternativa para prevenção e o controle de contaminação de alimentos por aflatoxinas.

O gás ozônio (O_3) é uma forma alotrópica do oxigênio, é instável, diamagnético, e possui cheiro característico. Foi descoberto em 1840 pelo químico alemão Schönbein. É um gás que pode ser produzido naturalmente, como resultado de relâmpagos, ou radiação ultravioleta (KIM et al., 1999a). É um oxidante extremamente forte, pode ser produzido naturalmente como resultado de relâmpagos ou radiação ultravioleta (KIM et al., 1999). Em se tratando de grãos de amendoim, o ozônio pode atuar como agente fungicida (ZOOTI et al., 2009). Esse gás pode evitar e/ou inibir o desenvolvimento dos fungos potencialmente aflatoxigênicos e, conseqüentemente, diminuir o risco de produção de aflatoxinas durante as etapas pós-colheita.

O gás ozônio é um forte agente antimicrobiano, que pode atuar na inativação ou inibição do desenvolvimento de fungos potencialmente aflatoxigênicos.

Encontram-se, na literatura, diversos relatos que descrevem o efeito do ozônio sobre microrganismos. Essa capacidade do ozônio de inativar ou inibir o desenvolvimento dos microrganismos é fundamental sob ponto de vista de segurança alimentar, pois pode representar uma forma de controle de fungos potencialmente aflatoxigênicos e, conseqüentemente, de prevenção da síntese de aflatoxinas.

Em vista do exposto, objetiva-se com este trabalho avaliar a eficácia do ozônio como agente fungicida em grãos de amendoim e possíveis alterações qualitativas no produto.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 SOBRE A CULTURA DO AMENDOIM (*Arachis hypogaea* L.).

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.), pertencente à família das leguminosas (*Fabaceae*), é uma planta originária da América do Sul, com provável centro de origem na região de Gran Chaco (Paraguai) e na Bolívia. O gênero *Arachis* apresenta aproximadamente 80 espécies sul-americanas (WEISS, 2000; SMITH, 2002; KRAPOVICKAS & GREGORY, 1994). A difusão do amendoim iniciou-se pelos indígenas para as diversas regiões da América Latina, América Central e México. Até que no século XVIII chegou à Europa. A partir do século XIX o amendoim foi introduzido na África e na Ásia, em seguida países como China, Japão e Índia começaram o cultivo dessa espécie (KRAPOVICKAS, 1969).

O amendoim é uma leguminosa que apresenta grande importância econômica mundial e adaptou-se em vários países do mundo, sendo que os mais importantes e com maior produção são a China, Índia e os EUA. Nos EUA é a segunda leguminosa, depois da soja, com maior importância econômica. (USDA, 2010).

No Brasil o estado com maior produção de amendoim primeira safra é São Paulo, responsável por 89,92% da produção; e com 80% da produção nacional total na safra de 2012/13 (CONAB, 2013). Uma das principais causas do aumento do seu cultivo no estado de São Paulo é o uso desta cultura na renovação dos canaviais e do emprego de melhores tecnologias de cultivo (MEDINA et al., 1995). O Brasil ainda está numa modesta posição na produção mundial, 7º posição entre os produtores de grão de amendoim, com uma produção de 326,3 mil toneladas na safra 2012/13, e uma estimativa de 332,0 mil toneladas para a safra 2013/14 (CONAB, 2013). Ainda que o amendoim seja originário da América, atualmente a maior produção mundial é feita pela Ásia, a China lidera com uma produção de 14,29 milhões de toneladas na safra 2008/09, seguida pela Índia, Estados Unidos, Nigéria e Indonésia (USDA, 2010).

Uma das principais características do amendoim é seu alto valor nutricional, e é uma importante fonte de óleo (aproximadamente 50%) e proteína vegetal (2 a 30%), com destaque para os elementos folato, niacina, vitamina e ácidos graxos essenciais, além de minerais como: magnésio, cálcio, ferro e zinco (YEH et al., 2002). Além disso, contém carboidratos, sais minerais e vitaminas, constituindo-se num alimento altamente energético (585 calorias/100g). Seu sabor agradável o torna um produto destinado

também ao consumo "*in natura*", além de ser usado na extração de óleo, na indústria de conservantes (enlatado) e em produtos medicinais (CONAB, 2007). Esses valores nutricionais tornam o amendoim uma alternativa para minimizar a carência que existe de alimentos proteicos nos países em desenvolvimento, enriquecendo assim a dieta. Além de ser altamente calórico e proteico, o amendoim é rico em vitaminas do complexo B e E (FREIRE et al., 1999).

O amendoim, por ter um hábito de crescimento subterrâneo, é uma cultura que apresenta alta susceptibilidade a contaminação por fungos, além de serem substratos ideais para o desenvolvimento de fungos, fungos que, podem causar uma degradação dos nutrientes, das características organolépticas e posterior aproveitamento industrial dos grãos, além da produção de metabólitos secundários tóxicos aos homens, as aflatoxinas (SABINO et al., 1989; FARONI & SILVA, 2008). Os principais produtores de aflatoxinas em grãos e subprodutos agrícolas são *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, podendo ser classificados como fungos de campo e de armazenamento, respectivamente (PAYNE, G.A, 1998). A obtenção de um produto dentro dos padrões de qualidade é de fundamental importância, por isso todas as etapas das práticas agrícolas, como plantio, colheita, secagem, transporte, armazenamento e processamento são importantes, pois são fatores que afetam na contaminação de amendoim e derivados por aflatoxinas (OLIVEIRA et al., 2009; DESHPANDE, 2002).

Temperaturas na faixa de 28 e 34 °C associadas a estresse hídrico durante a formação das vagens do amendoim são os dois principais parâmetros que afetam à infecção pelos fungos e à produção de aflatoxinas no campo (CRAUFURD et al., 2006). Durante o armazenamento, os principais parâmetros que afetam a produção de aflatoxinas são: atividade de água, temperatura, presença de danos mecânicos e ocasionados por insetos, composição nutricional, composição do ar intergranular, dentre outros (SHAPIRA e PASTER, 2004). A contaminação ocorre geralmente em maior frequência pelas espécies de *Aspergillus*, sendo que podem reduzir a germinação e causar a morte do embrião, podendo dificultar o uso do material como semente (USBERTI e AMARAL, 1999; LIMA e ARAUJO, 1999; BRHATTACHARYA e RAHA, 2002).

A presença de aflatoxinas em alimentos destacou-se como um problema mundial no que se refere à saúde pública, à agricultura e à economia (AMARAL et al., 2006; OZDEMIR e OZILGEN, 2007), porém, as micotoxicoses e seus efeitos foram ignorados por anos; até que em 1960 um acontecimento conhecido como "*turkey-X*

disease" mudou drasticamente este cenário. Ocorreu a morte de 100 mil perus após o consumo de torta de amendoim contaminada proveniente do Brasil, em que, após acrescentarem à ração, foi destinado ao consumo destes animais. Este acontecimento na Inglaterra levou pesquisadores a fazerem análises químicas e microbiológicas, e, o principal fungo encontrado nas amostras de torta de amendoim foi o da espécie *Aspergillus flavus*, em seguida foram detectados quatro metabólitos secundários produzidos por este fungo, que foram denominados: Aflatoxina B1 (AFB1), B2 (AFB2), G1 (AFG1) e G2 (AFG2) (JEWERS, 1990; LESSON, et al., 1995). Sendo a aflatoxina B1 (AFB1) a que apresenta maior poder toxigênico, seguida de G1, B2 e G2 (DESHPANDE, 2002).

A. flavus e *A. parasiticus*, espécies potencialmente aflatoxigênicas, são microrganismos capazes de infectar os grãos na pré e na pós-colheita, sendo classificados como fungos de campo e armazenamento (CRAUFURD et al., 2006). Predominantemente *A. flavus* produz aflatoxinas B1 e B2, já *A. parasiticus* é capaz de sintetizar as aflatoxinas G1 e G2 (PAYNE, 1998). Dentre as culturas suscetíveis à contaminação por aflatoxinas as principais são a do algodão, a do milho e a do amendoim (BAGLEY, 1979).

Segundo Prado et al., (2006), o processo de prevenção e controle dos diversos tipos de micotoxinas, especialmente as aflatoxinas, ainda não apresentou um modelo seguro, eficaz e de solução definitiva desde os anos 60. Descontaminação e detoxificação são os dois principais processos básicos para a redução dos níveis de micotoxinas em alimentos (OZDEMIR e OZILGEN, 2007). Têm sido amplamente testados os métodos químicos de remoção, pois possuem grande capacidade de degradação e inativação das aflatoxinas (RITCHIE, 2002). Apesar da significativa capacidade das substâncias químicas de eliminar as aflatoxinas, tais métodos se mostram muitas vezes inviáveis tecnicamente e economicamente, tendo como desvantagem a formação de resíduos tóxicos, além de provocarem alterações na composição nutricional dos alimentos tratados com tais métodos. O gás ozônio surge como alternativa no controle de contaminação de alimentos por aflatoxinas, que pode ser usado tanto como agente fungicida e como detoxificante, além de não gerar resíduos tóxicos ao homem, sendo que seu produto de degradação é o oxigênio, nem eliminação de recipientes de produtos químicos (MANAHAN, 2005; MCKENZIE et al., 1997; PUDENTE e KING, 2002; ZOITI et al., 2009).

As aflatoxinas se destacam por apresentar alta toxidez, aguda e crônica, em animais, incluindo o homem, podendo ocasionar danos no fígado, como cirroses e indução de tumores, além de efeitos mutagênicos e teratogênicos (ABDULKADAR et al., 2000). Existem evidências de que várias doenças são associadas às aflatoxinas através da ingestão de alimentos contaminados, tornando-as uma preocupação mundial no que se refere à saúde pública (COULOMBE, 1991; OLIVEIRA e GERMANO, 1997).

Por meio da Resolução - RDC nº 274, de 15 de outubro de 2002, o Ministério da saúde estabeleceu como limite máximo 20 ppb de aflatoxinas totais (AFB1 + AFB2 + AFG1 + AFG2) em amendoim e seus derivados, milho em grão, farinhas ou sêmolos de milho, que serão destinados ao consumo (BRASIL, 2002).

2.2 OZÔNIO

Segundo Rideal (1920), os primeiros relatos sobre o ozônio datam de 1783 quando um físico holandês chamado van Marum observou que a descarga elétrica em ar, através de sua máquina de eletrostática, resultava num odor irritante bastante característico. Mais tarde, em 1840, o ozônio foi descoberto pelo químico alemão Schönbein, o qual denominou de "ozônio", palavra derivada do grego "*ozein*" que significa "cheiro" (SCHÖNBEIN, 1840, citado por GIORDANO, B. N. E, 2009). Em 1906 na França ocorreu a primeira desinfecção de água utilizando-se ozônio, já no ano de 1936 havia 100 estações de tratamento de água na França e aproximadamente 40 no mundo (GRAHAM, 1997). No Brasil os primeiros experimentos com ozônio começaram em 1983, segundo Dalsasso (1999), quando surgiu a necessidade de algumas estações de tratamento de água buscar formas alternativas para o tratamento, substituindo métodos convencionais como pré-cloração e pré-aeração de águas superficiais (SANTOS, J. E., 2008).

O ozônio (O₃), ou oxigênio triatômico, é uma molécula instável formada pela adição de um átomo de oxigênio à molécula diatômica de oxigênio (O₂), que pode ser produzido naturalmente como resultado de relâmpagos ou radiação ultravioleta (KIM et al., 1999a). Comercialmente a forma mais utilizada na geração de ozônio é a de descarga elétrica no gás oxigênio (GLAZE, 1987, BALAKRISHNAN et al., 2002, HARRISON, 2000), sendo que um dos primeiros equipamentos destinados à produção

de ozônio, baseado no efeito corona, foi desenvolvido por Siemens em 1857 na Alemanha (RUBIN, M.B, 2003; OLIVEIRA, R.M.; WOSHC, C.L, 2011).

São encontrados na literatura vários exemplos do uso do ozônio, tanto na utilização em laboratório quanto em aplicações industriais (OLIVEIRA, R.M.; WOSHC, C.L, 2011). O ozônio é um forte agente oxidante, e uma de suas principais e vantajosas propriedades é o seu produto de degradação, o oxigênio, um produto não poluente e que não gera resíduos (MANAHAN, 2005, citado por MAHMOUND & FREIRE, 2007), ou eliminação de recipientes de produtos químicos. Desta forma, sua utilização se torna atraente no controle de insetos e fungos em grãos armazenados, além de não formar metabólitos nocivos à saúde humana e animal (KIM et al., 2003; KELLS et al., 2001; MENDEZ et al., 2003; YOUNG et al., 2006).

O ozônio é um gás instável, possui um tempo de meia vida curto (20 min em água a 20°C), podendo ser produzido no local em que será utilizado, *in loco*, eliminando gastos com estocagem e/ou transporte até o local de uso (KIM et al., 1999b; GRAHAM, 1997; NOVAK E YUAN, 2007). O gás é um poderoso oxidante, 1,5 vezes mais forte que o cloro, e destaca-se por apresentar segundo maior potencial de oxidação ($E^0 = 2,1$ V), sendo superado apenas pelo flúor ($E^0 = 3,0$ V) (ATKINS, P.W, 2002; GÜZEL-SYDIM et al., 2004; MAHMOUND & FREIRE, 2007). É também um poderoso desinfetante capaz de atuar em várias reações com compostos orgânicos e inorgânicos (KUNZ, A. & PERALTA-ZAMORA, 2002; ALMEIDA et al., 2004).

Tendo em vista a importância da contaminação dos alimentos por fungos e a consequente produção de aflatoxinas, tem-se buscado alternativas para controlar o desenvolvimento dos microrganismos e produção dessas micotoxinas. Neste cenário o ozônio surge como uma alternativa para o controle de fungos potencialmente aflatoxigênicos. Sendo o ozônio fungicida, pode atuar como método preventivo no processo de produção dessa toxina, ou como método curativo, atuando na detoxificação do produto (MCKENZIE et al., 1997; MCKENZIE et al., HSIEH et al., 1998; PRUDENTE e KING, 2002; GÜZEL-SEYDIM et al., 2004; WU et al., 2006; YOUNG et al., 2006; ALENCAR, E.R, 2009). O elevado potencial oxidante confere ao ozônio alto poder de desinfecção e esterilização (GONÇALVES, 2009). Encontram-se também na literatura 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; ALENCAR et al., 2012).

A maioria dos microrganismos patogênicos e contaminantes alimentares é susceptível aos efeitos do ozônio, onde ele atua na oxidação das membranas celulares (KIM et al., 1999a). O gás ozônio é um forte agente antimicrobiano, que pode atuar na inativação ou inibição do desenvolvimento de fungos potencialmente aflatoxigênicos, como dos gêneros: *Fusarium*, *Geotrichum*, *Myrothecium* e *Mucor*, etc (RAILA et al., 2006; WU et al., 2006), além de possuir um amplo espectro de ação, atuando sobre vírus, bactérias, fungos já citados, leveduras e formas esporuladas (KIM et al., 1999b; KHADRE et al., 2001; GÜZEL-SYDIM et al., 2004; AGUAYO et al., 2006; ÖZTEKIN et al., 2006; WHANGCHAI et al., 2006; ALENCAR, E.R, 2009). A eficiência do ozônio depende da temperatura, teor de umidade, pH, presença de matéria orgânica e do tipo de microrganismo presente (GRAHAM, 1997; citado por NASCIMENTO, L. C., 2006).

A potencialidade do ozônio na indústria alimentícia é grande e chama a atenção. O O₃ é um dos mais potentes sanitizantes na esterilização de bactérias em alimentos. Sua auto-decomposição é rápida convertendo-se em oxigênio e não há resíduos nos alimentos tratados (NAITO; TAKAHARA, 2006; GIORDANO, B. N. E, 2009). Em 1997 o ozônio foi declarado pela FDA (Food and Drug Administration) como uma substância reconhecidamente segura (GRAS - Generally Recognized as Safe), permitindo o uso como sanificante para água engarrafada (FDA, 2013). O ozônio vem se tornando importante em diversas áreas da indústria e da pesquisa, como no tratamento de água para consumo (na Europa há mais de cem anos), na indústria de alimentos, e, principalmente, sem permitir resíduos tóxicos, que são capazes de alterar o sabor e o odor destes alimentos que servirão para consumo (KIM et al., 1999a; TORRES, 1996).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Pré-Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas, localizado na Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, FAV, na Universidade de Brasília, UnB.

3.1 OBTENÇÃO 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 produzido 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 (O_3). No processo de geração do ozônio, foi utilizado como insumo oxigênio (O_2) com grau de pureza de aproximadamente 90%, isento de umidade, obtido de concentrador de oxigênio acoplado ao gerador de ozônio.

A concentração de ozônio foi determinada pelo método iodométrico, descrito por Clesceri et al. (2000), que consiste no borbulhamento do ozônio em 50 mL de solução de iodeto de potássio (KI) 1 N, com produção de Iodo (I_2). Para garantir o deslocamento da reação para a produção de I_2 , foi necessário acidificar o meio com 2,5 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 1 N. A solução foi titulada com tiosulfato de sódio ($Na_2S_2O_3$) 0,01 N, com uso de solução de amido 1% como indicador.

3.2 ANÁLISES QUALITATIVAS E MICROBIOLÓGICAS

Utilizaram-se dois lotes de grãos de amendoim no experimento. O primeiro lote, com teor de água em torno de 10,0% (b.u.) e que apresentava elevada contagem de fungos totais e de fungos potencialmente aflatoxigênicos, foi utilizado na avaliação do efeito fungicida do gás ozônio. O segundo lote, com teor de água em torno de 6,6%, foi utilizado na avaliação qualitativa do produto exposto ao ozônio.

Na ozonização dos grãos foram utilizadas amostras de 300 g, adotando-se a concentração do gás equivalente a 3.960 ppm, e valores de umidade relativa de 75%, por períodos de exposição ao gás de 0, 120 e 240 min. Para a obtenção do valor de

umidade relativa (UR) desejado, após a geração do gás, a mistura gasosa passou por solução saturada de Cloreto de Sódio (NaCl, 75% de UR), seguindo metodologia proposta por Ozkan et al. (2011).

Nas análises microbiológicas dos grãos de amendoim ozonizados foi utilizado o método de diluição em placas (PITT e HOCKING, 2009). No método de diluição em placas, 25 g de grãos foram previamente diluídos em 225 mL de água peptonada a 0,1%. Para a quantificação de fungos totais nos grãos de amendoim, tanto no método de diluição em placas quanto no de plaqueamento direto, utilizou-se 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 e 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 obtidos em termos de unidades formadoras de colônias por grama (UFC g⁻¹).

Na avaliação de possíveis alterações qualitativas no amendoim em função da exposição ao gás ozônio, analisou-se as variáveis físico-químicas: teor de água e condutividade elétrica. Já do óleo bruto extraído do amendoim ozonizado analisou-se o teor de ácidos graxos livres (acidez) e o índice de peróxido.

Para determinação do teor de água dos grãos de amendoim, utilizou-se o método de estufa com circulação forçada de ar, à temperatura de 130±1 °C, por 6 h, conforme recomendações da ASAE (2002), método S401.1. 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). O óleo bruto foi obtido de acordo com as normas AOCS (1993), método Ac 3-44, em aparelho de soxhlet, durante 6 h, utilizando éter de petróleo como solvente. As variáveis qualitativas do óleo bruto teor de ácidos graxos livres e índice de peróxido foram avaliadas de acordo com as normas AOCS (1993), Métodos Ca 5a-40 e Cd 8-53, respectivamente.

O experimento foi realizado no delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Com relação aos dados referentes às variáveis qualitativas, inicialmente realizou-se análise de variância a 5% de probabilidade e, posteriormente, teste de média (Teste de Tukey), quando detectada diferença significativa.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tempo de ozonização (min)	Contagem log(UFC/g)	
	Fungos totais	<i>A. flavus</i> e <i>A. parasiticus</i>
0	6,58	6,57
120	4,83	4,65
240	4,13	3,49

Tabela 1. Valores médios de log (UFC/g) para fungos totais e fungos potencialmente aflatoxigênicos referentes aos grãos de amendoim ozonizados na concentração de 3.960 ppm, na temperatura de 25 °C, por até 240 min

Na Tabela 1 são apresentados os valores médios de contagem log(UFC/g) de fungos totais e de fungos potencialmente aflatoxigênicos *A. flavus* e *A. parasiticus* em grãos de amendoim ozonizados, na concentração de 3.960 ppm, na temperatura de 25 °C, por até 4 horas. Verificou-se redução de 2,45 ciclos log na contagem de fungos totais nos grãos ozonizados por 240 min. Com relação à contagem de fungos potencialmente aflatoxigênicos *A. flavus* e *A. parasiticus*, obteve-se redução de 3,08 ciclos log para grãos ozonizados por 240 min.

Os resultados obtidos referentes à redução na contagem de fungos totais e de *A. flavus* e *A. parasiticus* nos grãos de amendoim ozonizados podem ser atribuídos ao alto poder oxidativo do gás. Uma vez que este gás possui um alto poder oxidativo, tem-se a inativação de microrganismos, atribuído principalmente pela ruptura do envoltório celular e posterior dispersão dos constituintes citoplasmáticos. É de fundamental importância essa capacidade de inativar ou inibir o desenvolvimento dos microrganismos do ponto de vista de segurança alimentar e da prevenção de síntese de aflatoxinas (CULLEN et al., 2009; ALENCAR, E.R, 2009). Ciccacese et al. (2007) também observaram redução significativa da infecção fúngica em grãos de trigo, aveia e ervilha devido à exposição ao gás ozônio. Dentre os fungos avaliados por esses autores, destacam-se os 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, esse autores não aumentaram a umidade relativa da mistura gasosa depois da geração do ozônio.

Destaca-se que incremento da umidade relativa implica em aumento da toxicidade do gás ozônio (OZKAN et al., 2011).

A inativação ou inibição do desenvolvimento de microrganismos pelo ozônio, a partir da oxidação de componentes celulares vitais, é um processo complexo, em 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 nucléicos. 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 (GÜZEL-SEYDIM et al., 2004; PASCUAL et al., 2007; CULLEN et al., 2009).

Tempo de ozonização (min)	Teor de água (%) b.u.	CE ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$)	AGL (%)	IP (meq kg^{-1})
0	6,58	56,31	1,04	2,51
120	6,53	54,45	1,04	3,37
240	6,60	55,05	0,94	3,30

Tabela 2. Valores médios de teor de água, condutividade elétrica (CE), teor de ácidos graxos livres (AGL) e índice de peróxido (IP), referentes aos amendoins ozonizados na concentração de 3.960 ppm, na temperatura de 25 °C, por até 4 horas

Apresentam-se, na Tabela 2, os valores médios referentes às variáveis qualitativas dos grãos, teor de água e condutividade elétrica dos grãos, e do óleo bruto, teor de ácidos graxos livres e índice de peróxido. A qualidade dos grãos não foi afetada significativamente ($p>0,05$) pela exposição ao ozônio, na concentração de 3.960 ppm, por até 240 min, de acordo com as variáveis teor de água e condutividade elétrica. Da mesma forma, as variáveis qualitativas do óleo bruto extraído dos grãos ozonizados não variaram significativamente ($p>0,05$) em decorrência da ozonização. Tem-se que os valores médios obtidos de ácidos graxos livres do óleo bruto extraído dos grãos expostos ou não com gás ozônio permaneceram abaixo do limite exigido pela ANVISA (1999) para comercialização de óleo bruto de amendoim, que é de 2,00%. Akbas e Ozdemir (2004) também não observaram 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. Ressalta-se que os valores médios do índice de peróxido permaneceram abaixo de 10 meq kg⁻¹ de amostra, limite estabelecido no Brasil para comercialização de óleo bruto de amendoim (ANVISA, 1999). Resultados semelhantes foram obtidos por Alencar et al. (2011) que ozonizaram grãos de amendoim nas concentrações de 13 e 21 mg L⁻¹, por até 96 h.. Faroni et al. (2007) ozonizaram grãos de milho, na concentração de 50 ppm, por até 168 h, e não observaram incremento do índice de peróxido do óleo bruto.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos, condições adotadas no trabalho, permitiram concluir que: o ozônio é capaz de provocar redução de até 3 ciclos log em contagem de fungos potencialmente aflatoxigênicos; exposição ao ozônio não afeta a qualidade dos grãos de amendoim e do óleo bruto extraído dos grãos; o ozônio é uma importante alternativa no controle de fungos, incluindo os potencialmente aflatoxigênicos, em grãos de amendoim.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULKADAR, A.H.W.; AL-ALI, A., AL-JEDAH, J. Aflatoxin contamination in edible nuts imported in Qatar. **Food Control**, v.11, p.157-160, 2000.

ABICAB. ABICAB: 54 anos de História. Disponível em: <<http://www.abicab.org.br/institucional/historia-abicab/>>. Acesso em: 30 jun 2014.

AGUAYO, E.; ESCALONA, V.H.; ARTES, F. Effect of cyclic exposure to ozone gas on physicochemical, sensorial and microbial quality of whole and sliced tomatoes. **Postharvest Biology and Technology**, v.39, p.169-177, 2006.

AKBAS, M.Y.; OZDEMIR, M. Application of gaseous ozone to control populations of *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and *Bacillus cereus* spores in dried figs. **Food Microbiology**, New York, v.25, p.386–391, 2008.

ALENCAR, E.R. **Processo de Ozonização de Amendoim (*Arachis hypogea* L.): cinética de decomposição, efeito fungicida e detoxificante de aflatoxinas e aspectos qualitativos**. 2009. 106 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2009.

ALENCAR, E.R.; FARONI, L.R.; SOARES, N.F.F.; SILVA, W.A.; CARVALHO, M.C. Efficacy of ozone as a fungicidal and detoxifying agent of aflatoxins in peanuts. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.92, n.04, p.899-905, 2012.

ALMEIDA, E.; ASSALIN, M.R.; ROSA, M.A. Tratamento de efluentes industriais por processos oxidativos na presença de ozônio. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 818-824, 2004.

AMARAL, K.A.S., NASCIMENTO, G.B., SEKIYAMA, B.L., JANEIRO, V., MACHINSKI JR, M. Aflatoxinas em produtos à base de milho comercializados no Brasil e riscos para a saúde humana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p.336-342, 2006.

ANVISA. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de óleos e gorduras vegetais**. Resolução n° 482, de 23.09.1999.

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

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

ATKINS, P. W.; **Physical chemistry**, 7th ed., Oxford: New York, 2002.

BAGLEY, E.B. Decontamination of corn containing aflatoxin by treatment with ammonia. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.56, n.9, p.808-811, 1979.

BALAKRISHNANA, P. A., ARUNAGIRIA, A., RAO, P. G., 2002 “Ozone Generation by Silent Electric Discharge and its Application in Tertiary Treatment of Tannery Effluent” **Journal of Electrostatics**, v. 56, pp. 77–86.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Resolução - RDC nº 274 de 15 de outubro de 2002, Diário Oficial da União. 16.10.2002, Brasília, DF.

BRHATTACHARYA, K.; RAHA, S. Deteriorative changes of maize, groundnut and soybean seeds by fungi in storage. **Mycopathologia**, Dordrecht, v.155, n.2, p.135-141, 2002.

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

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

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos para a safra 2013/14**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em 02 de maio 2014.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Amendoim**. Macêdo, M.H.G. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em 03 de maio 2014.

COULOMBE, R.A. Aflatoxins. In: SHARMA, R.P.; SALUNKHE, D.K. (Eds.). **Mycotoxins and phytoalexins**. Boca Raton: CRC Press, 1991. p.103-144.

CRAUFURD, P.Q.; PRASAD, P.V.V.; WALIYAR, F.; TAHERI, A. Drought, pod yield, pre-harvest *Aspergillus* infection and aflatoxin contamination on peanut in Niger. **Field Crops Research**, v.98, p.20–29, 2006.

CRAUFURD, P.Q.; PRASAD, P.V.V.; WALIYAR, F.; TAHERI, A. Drought, pod yield, pre-harvest *Aspergillus* infection and aflatoxin contamination on peanut in Niger. **Field Crops Research**, v.98, p.20–29, 2006.

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.

DALSASSO, R. L. **Pré-ozonização de águas contendo agrotóxico, seguida de filtração direta.** Florianópolis: UFSC, 1999. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

DESHPANDE, S.S. **Handbook of Food Toxicology.** New York: Marcel Dekker, 2002. 920p.

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

FARONI, L. R. A. & SILVA, J. S. **Manejo de pragas no Ecosistema de Grãos Armazenados.** In: SILVA, J.S. (Ed.). Secagem e Armazenamento de Produtos Agrícolas, 2 ed. Viçosa: Editor Aprenda Fácil, 2008, v.1, p.371-406.

FDA (Food and Drug Administration). Revised, 2013. **Direct Food Substances Affirmed as Generally Recognized as Safe.** Disponível em: <<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=184.1563>>. Acesso em: 26 de maio, 2014.

GIORDANO, Bárbara Nantua Evangelista. **Efeito do ozônio sobre a micoflora e aflatoxinas durante a armazenagem de castanha-do-Brasil com casca (Bertholletia excelsa H.B.K.).** (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2009.

GLAZE, W. H., KANG, J.-W., CHAPIN, D. H. “The Chemistry of Water Treatment Processes Involving Ozone, Hydrogen Peroxide and Ultraviolet Radiation” **Ozone Science & Engineering**, v. 9, pp. 335-352, 1987.

GRAHAM, D. M, 1997. Use of ozone for food processing. **Food Technol.** 51(6):72-75.

GÜZEL-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.

HARRISSON, J. F. “Ozone for Point-of Use, Point-of-Entry, and Small Water System Water Treatment Applications – **A Reference Manual, Water Quality Association**, 86pp, 2000.

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

JEWERS, K. Mycotoxins and their effect on poultry production. **Options Méditerranéennes**, Sér. A., n.7, p.196-202, 1990.

KELLS, S. A.; MASON, L. J.; MAIER, D. E.; WOLOSHUK, C. P. Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. **Journal of Stored Products Research**, v.37, 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.
- KIM, J.G.; YOUSEF, A.E.; CHISM, G.W. Use of ozone to inactivate microorganisms on lettuce. **Journal of Food Safety**, v.19, p.17-34, 1999b.
- KIM, J.G.; YOUSEF, A.E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 62. n.9, p. 1071-1087, 1999a.
- KIM, J.G.; YOUSEF, A.E.; KHADRE, M.A. 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, pp. 167-218, 2003.
- KRAPOVICKAS, A. & GREGORY, W.C. 1994. Taxonomía del género *Arachis* (Leguminosae). **Bonplandia** 8: 1-186.
- KRAPOVICKAS, A. The Origin, Variability, and Spread of the Groundnut (*Arachis Hypogaea*). In: UCKO, P.J.; DIMBLEBY, J. W (Ed.) **The Domestication and Exploitation of Plants and Animals**. Chicago: Aldine, 1969. p. 427-441.
- KUNZ, A.; PERALTA-ZAMORA, P. Novas tendências no tratamento efluentes têxteis. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 78-82, 2002.
- LESSON, S. et al. **Poultry metabolic disorders and mycotoxins**. Guelph: University Books, 1995. 352p.
- LIMA, E.F.; ARAÚJO, A.E. de. Fungos causadores de tombamento, transportados e transmitidos através da semente de amendoim. **Revista Oleaginosas e Fibrosas, Campina Grande**, v.3, n.2, p.71-76, 1999.
- MAHMOUND, A.; FREIRE, R. S. Métodos emergentes para aumentar a eficiência do ozônio no tratamento de águas contaminadas. **Química Nova**, v. 30, n. 1, pp.198-205, 2007.
- MCKENZIE, K.S; KUBENA, L.F.; DENVIR, A.J.; ROGERS, T.D.; HITCHENS, G.D.; BAILEY, R.H.; HARVEY, R.B.; BUCKLEY, S.A.; PHILLIPS, T.D. Aflatoxicosis in Turkey Poults is Prevented by Treatment of Naturally Contaminated Corn with Ozone Generated by Electrolysis. **Poultry Science**, v.77, p. 1094-1102, 1998.
- 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.

MEDINA, P.F.; RAZERA, L.F.; ROSSETTO, C.J. Armazenamento de sementes de amendoim tratadas com inseticidas e fungicidas. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 17, n° 2, p. 236-242, 1995.

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, p.33-44, 2003.

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.

NAITO, S. & takahara, H. 2006. Ozone contribution in food industry in Japan. **Ozone: Science & Engineering**, 28, 425-9.

NASCIMENTO, L. C. **Ozônio e Ultra-som: Processos alternativos para tratamento e obtenção do café despulpado**. 2006. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2006.

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, 2007, p. 185-193.

OLIVEIRA, C.A.F.; GERMANO, P.M.L. Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular. **Revista de Saúde Pública**, v31, n.4, p.417-424, 1997.

OLIVEIRA, R.M.; WOSHC, C.L. Ozonólise: A busca por um Mecanismo. Universidade Federal do Paraná, Curitiba. **Química Nova**. Vol. 35, No. 7, 1482-1485, 2012.

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.

OZDEMIR, M.; OZILGEN, M. **Mycotoxins in grains and nuts: II) Decontamination and detoxification**. Disponível em: <<http://www.okyanusbilgiambari.com/Bilim/Mycotoxin-Detoxification.pdf>>. Acesso em: 10 agosto 2007.

OZDEMIR, M.; OZILGEN, M. **Mycotoxins in grains and nuts: II) Decontamination and Detoxification methods.** Disponível em: <<http://www.okyanusbiligiambari.com/Bilim/Mycotoxin-Detoxification.pdf>>. Acesso em: 10 agosto 2007.

ÖZTEKIN, S.; ZORLUGENC, B.; ZORLUGENC, F.K. Effects of ozone treatment on microflora of dried figs. **Journal of Food Engineering**, v.75, p.396–399, 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, 1998, p.279-306.

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

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

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.

PRADO, G.; OLIVEIRA, M. S.; GASSINELLI MADEIRA, J. E. C.; GODOY, I. J.; CORRÊA, B.; JUNGUEIRA, R. G.; FERREIRA, S. O. Resistência de quatro genótipos de amendoim à produção de aflatoxina B1 após inoculação com *Aspergillus flavus* Link. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.1, pp.84- 87, 1999.

PRUDENTE, A. D.; KING, J. M. Efficacy and safety evaluation of ozonation to degrade aflatoxin in corn. **Journal of Food Science**, v.67, n.8, 2002.

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.

RIDEAL, E. K.; M.B.E; M.A. **The Manufacture of Chemicals by Electrolysis. Ozone, 1920. University of Illinois.** Digitized by the Internet Archive in 2007 with funding form Microsoft Corporation. Disponível em: <<https://archive.org/details/ozonerid00rideuoft>>. Acesso em 17/05/2014.

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.

RUBIN M. B. (2003). History of Ozone. Part III. C.D. **Harries and the introduction of ozone into organic chemistry**. *Helv Chim Acta*, 86, 930-940.

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*)**. 2008. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2008.

SCHÖNBEIN, C. F.; *Comptes Rendus Hebd. Séances Acad. Sci.* v. 10, p. 706, 1840.

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, pp.190-223, 2004.

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, pp.190-223, 2004.

SMITH, A.F. **Peanuts: The Illustrious History of the Goober Pea**, Chicago: University of Illinois Press, 2002.

SUASSUNA, T.M.F.; ASSIS, J.S.; PENARIOL, A.L.; CALEGARIO, F.F. Produção Integrada - Amendoim: qualidade e segurança baseados em planejamento, capacitação, boas práticas e monitoramento. **Seminário Brasileiro De Produção Integrada De Frutas**, 8, p. 265, Vitória – ES, 2006.

TORRES, E.A.F.S., et al. Estudo das Propriedades Desinfetantes do Ozônio em Alimentos. **Higiene Alimentar**. v.10, n.42, p.18 – 23, mar.- abr., 1996.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). **Production, Supply and Distribution**. Disponível em: < <http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdResult.aspx> >. Acesso em: 02 maio 2013.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). **Table 13 Peanut Area, Yield, and Production**. Disponível em:<<http://www.fas.usda.gov>>. Acesso em: 02 maio 2013.

USBERTI, R. Efeitos da época de aplicação de fungicida, tamanho e origem de sementes na germinação e potencial de armazenamento de amendoim (*Arachis hypogaea L.*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 3., Campinas, 83. **Resumos**. Brasília: Associação Brasileira de Sementes, 1983. 189p.

- 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.
- WEISS, E.A. **Oilseed crops**. London: Blackwell Science, 2000. 364p.
- WHANGCHAI, K.; SAENGNIL, K.; UTHAIBUTRA, J. Effect of ozone in combination with some organic acids on the control of postharvest decay and pericarp browning of longan fruit. **Crop Protection**, v.25, p.821–825, 2006.
- 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.
- ZOTTI, M.; PORRO, R.; VIZZINI, A.; MARIOTTI, M.G. Inactivation of *Aspergillus* spp. by ozone treatment. **Ozone-Science & Engineering**, v.30, n.6; p.423-430, 2008.