

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



DISSERTAÇÃO

Efeitos da radiação UV-C na qualidade nutricional e tecnológica de grãos de milho inoculados com fungos e armazenados sob diferentes umidades

Cláudia Medeiros Camargo

Pelotas, 2017.

Cláudia Medeiros Camargo

Efeitos da radiação UV-C na qualidade nutricional e tecnológica de grãos de milho inoculados com fungos e armazenados sob diferentes umidades

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Comitê de Orientação: Prof. Dr. Maurício de Oliveira

Prof. Dr. Nathan Levien Vanier

Prof. Dr. Moacir Cardoso Elias

Pelotas, 2017.

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

C172e Camargo, Cláudia Medeiros

Efeitos da radiação UV-C na qualidade nutricional e tecnológica de grãos de milho inoculados com fungos e armazenados sob diferentes umidades / Cláudia Medeiros Camargo ; Maurício de Oliveira, orientador ; Nathan Levien Vanier, Moacir Cardoso Elias, coorientadores. — Pelotas, 2017.

90 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Zea mays L. 2. Radiação UV-C. 3. Teor de água dos grãos. 4. Micotoxinas. I. Oliveira, Maurício de, orient. II. Vanier, Nathan Levien, coorient. III. Elias, Moacir Cardoso, coorient. IV. Título.

CDD : 664

Banca examinadora:

Prof. Dra. Giniani Carla Dors (UFPEL - FAEM)

Prof. Dr. Jander Luis Fernandes Monks (IFSUL – Pelotas)

Pós Doutorando Ricardo Scherer Pohndorf (UFPEL - FAEM)

À minha mãe, dedico.

Agradecimentos

Agradeço a Deus pela vida, por sempre me guiar para o bem, pelas oportunidades que foram colocadas em meu caminho e pela força para vencer as dificuldades.

Agradeço a minha mãe, Márcia, pelo amor, carinho, proteção, compreensão e por não ter medido esforços para me ajudar a conquistar tudo o que eu almejei. És meu exemplo maior de força.

Ao meu irmão, Clóvis, que sempre me protegeu, que é meu exemplo de determinação, pelo amor e carinho. Obrigada por ter me dado esse presente que é minha afilhada Clarice. Ela enche meu coração de alegria e ternura.

Ao meu namorado, Luiz Antônio, pelo amor, compreensão e incentivo a cumprir meus objetivos.

Ao professor e orientador Dr. Maurício de Oliveira, pelo apoio e orientação, e pelos ensinamentos proporcionados ao longo do período de Mestrado e no Laboratório de Grãos.

Aos coorientadores Dr. Moacir Cardoso Elias e Dr. Nathan Levien Vanier pelos ensinamentos proporcionados e pelas oportunidades de aprendizado durante este período.

Aos colegas de pós-graduação e amigos, Doutorandos Aline Machado Pereira, Jorge Tiago Schwanz Göebel, Jean Paulo de Oliveira e Graziella Bruni pela oportunidade de trabalharmos juntos, pela ajuda e pela amizade. Às estagiárias e amigas, Vanessa Bubolz e Jennifer da Silva. Ao colega Doutorando Cristiano Dietrich Ferreira pela ajuda na elaboração da dissertação.

Aos demais integrantes do LABGRÃOS, colegas doutorandos, mestrandos e estagiários, pela acolhida e convivência desde quando cheguei à Pelotas.

À Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, à Fundação de Apoio à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), muito obrigado.

RESUMO

CAMARGO, Cláudia Medeiros. **Efeitos da radiação UV-C na qualidade nutricional e tecnológica de grãos de milho inoculados com fungos e armazenados sob diferentes umidades.** 2017, 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

O milho (*Zea mays* L.) é o segundo cereal mais produzido no Brasil e sua importância econômica se dá pelas diversas formas de uso e relevância na alimentação humana e animal. Devido à grande demanda de milho pela indústria alimentícia é necessário que os grãos fiquem armazenados por longos períodos para atender o mercado em períodos de entressafra. Durante o armazenamento, algumas espécies de fungos se proliferam em grãos armazenados favorecendo a produção de micotoxinas e tornando-os impróprios para o consumo. Dessa forma, a radiação pode ser um método alternativo de controle dos fungos e, portanto, manutenção da qualidade dos grãos de milho. Sendo assim, o trabalho foi dividido em dois capítulos visando atender a dois objetivos principais: i); ii) avaliar os efeitos da radiação UV-C e da umidade dos grãos nos parâmetros qualitativos e quantitativos tecnológicos dos grãos de milho durante o armazenamento; ii) avaliar os efeitos da radiação UV-C e da umidade dos grãos nos parâmetros qualitativos e quantitativos tecnológicos do amido de milho extraído de grãos armazenados durante o armazenamento. Foram utilizados grãos de milho colhidos mecanicamente e secos até as umidades de 13% e 16%. Os grãos receberam inóculos de fungos produtores de micotoxinas e tratamento com radiação UV-C nas doses de 4 e 8 Kj.m^{-2} . A radiação UV-C nas doses utilizadas não apresentou influencia sobre os resultados obtidos, no entanto a umidade e o tempo de armazenamento influenciaram diretamente nos parâmetros avaliados. A associação de elevada umidade e armazenamento por longo prazo apresentou aumento sobre a incidência dos fungos *Aspergillus* e *Penicillium*, condutividade elétrica, acidez lipídica, grãos mofados, ardidos e fermentados, e redução sobre os fungos do gênero *Fusarium*, solubilidade proteica, teor de lipídeos e valor L. Os compostos fenólicos apresentaram maior concentração nos grãos inoculados com fungos (0, 4 e 8 kJ.m^{-2}). As micotoxinas foram encontradas em maior concentração após o armazenamento, sendo favorecidas dose de 8 kJ.m^{-2} e a umidade de 16%. Não foram observadas alterações na amilose e solubilidade do amido. Após o armazenamento, na umidade de 16% são observadas as maiores alterações, com reduções na extração de amido, valor de L^* e aumentos no valor b^* , proteína bruta, teor de lipídeos. As propriedades de pasta foram mais influenciadas na umidade de 16%, com aumentos na temperatura de pasta, retrogradação e reduções na viscosidade máxima e viscosidade de quebra. O amido apresentou perfurações em todos os tratamentos, sendo encontradas em maiores concentrações na umidade de 16% na dose de 8 kJ.m^{-2} . A radiação promoveu aumento no poder de inchamento dos grânulos de amido em todas as doses em ambas as umidades, sendo os maior aumentos observados na umidade de 16%.

Palavras-chave: *Zea mays* L., radiação UV-C, umidade, micotoxinas

ABSTRACT

CAMARGO, Cláudia Medeiros. **Effects of UV-C radiation on the nutritional and technological quality properties of corn inoculated with fungi and stored under different moisture**. 2017, 91 f. Dissertation (M.Sc in Food Science and Technology) - Graduate Program in Science and Food Technology. Federal University of Pelotas, Pelotas, 2017.

Corn (*Zea mays* L.) is the second most produced cereal in Brazil and its economic importance is due to the different forms of use and relevance in human and animal food. Because to the high demand of maize by the food industry, it is necessary that the grains are stored for long periods to meet the market in off-season. During storage, some species of fungi proliferate in stored grains favoring the production of mycotoxins and rendering them unfit for consumption. So, radiation can be an alternative method of fungus control and, therefore, maintenance of the quality of corn grains. Therefore, the study was divided into two chapters aimed at meeting two main objectives: i) to evaluate the effects of UV-C radiation and grain moisture on the qualitative and quantitative technological parameters of corn grains during nine months of storage; ii) to evaluate the effects of UV-C radiation and grain moisture on the qualitative and quantitative technological parameters of corn starch extracted from grains stored during nine months of storage. Corn grains were harvested mechanically and dried to moisture of 13% and 16% . The grains were inoculated with fungi and treated with UV-C radiation at 4 and 8 kJ.m^{-2} doses. The UV-C radiation at the doses used did not influence the results obtained, however, moisture and storage time had a direct influence on the evaluated parameters. The association of high moisture and a long time of storage showed an increase in the incidence of fungi *Aspergillus* and *Pennicilium*, electrical conductivity, lipid acidity, moldy, arid and fermented grains, and reduction on fungi of the genre *Fusarium*, protein solubility, lipid content and Value L. The phenolic compounds presented higher concentration in the grains inoculated with fungi (0, 4 and 8 kJ.m^{-2}). The mycotoxins were found in higher concentration after storage, being favored dose of 8 kJ.m^{-2} and the moisture of 16%. No changes were observed in the amylose and solubility of the starch. After storage, in the moisture of 16% are observed the major changes, with reductions in the extraction of starch, value of L * and increases in value b *, crude protein and lipid content. The pasta properties were most influenced at 16% moisture, with increases in pasta temperature, retrogradation and reductions in maximum viscosity and viscosity break. In all treatments, the starch presented perforations, being found in higher concentrations in the moisture of 16% and the dose of 8 kJ.m^{-2} . The radiation promoted an increase in the swelling power of the starch granules in all doses in both moistures, with the highest observed increases in moisture content of 16%.

Keywords: *Zea mays* L., UV-C radiation, moisture, mycotoxins.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura dos grãos de milho.....	18
Figura 2	Estrutura dos grânulos de amido extraídos do endosperma farináceo (a) e endosperma vítreo (b) de grãos de milho.....	19
Figura 3	A) Estrutura da amilose. B) Estrutura da amilopectina.....	25
Figura 4	Condutividade elétrica ($\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$) de grãos de milho tratados com radiação UV-C e armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses.....	43
Figura 5	Teor de compostos fenólicos livres totais (mg GAE.100g amostra ⁻¹) de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses.....	55
Figura 6	Teores de aflatoxinas B1 e B2 (ppb) de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses.....	57
Figura 7	Teores de aflatoxinas (ppb) de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses.....	58
Figura 8	Poder de inchamento (%) na temperatura de 90°C do amido isolado de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25° e umidades de 13% e 16%, durante nove meses.....	68
Figura 9	Solubilidade (%)v na temperatura de 90°C do amido isolado de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25° e umidades de 13% e 16%, durante nove meses.....	69
Figura 10	Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos grânulos de amido isolado de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados	

	em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e 13% de umidade. Aumento 1500x.....	73
Figura 12	Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos grânulos de amido isolado de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e 16% de umidade. Aumento 1500x.....	74
Figura 13	Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos grânulos de amido isolado de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e 13% de umidade. Aumento 3000x.....	75
Figura 14	Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos grânulos de amido isolado de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e 16% de umidade. Aumento 3000x.....	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Limites máximos (%) de defeitos para a tipificação de grãos de milho pela atual legislação.....	18
Tabela 2	Composição química das diferentes frações do grão de milho.....	19
Tabela 3	Limites máximos tolerados para micotoxinas em milho estabelecidos pela IN 18/2013.....	28
Tabela 4	Gradientes testados para análises de micotoxinas.....	36
Tabela 5	Umidade (%) de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades iniciais de 13 e 16%, durante nove meses.....	38
Tabela 6	Atividade de água de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses.....	39
Tabela 7	Incidência fúngica (%) em grãos de milho tratados com radiação UV-C e armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses.....	40
Tabela 8	Peso de mil grãos (g) de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses.....	44
Tabela 9	Peso volumétrico (kg.m ³) de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses.....	45
Tabela 10	Teor de proteína bruta (%) de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses.....	46

Tabela 11	Teor de lipídeos (%) de grãos de milho com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses.....	47
Tabela 12	Teor de cinzas (%) de grãos de milho com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses.....	47
Tabela.13	Teor de acidez lipídica (mg de NaOH.g-1 de óleo) de grãos de milho com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C, e umidades de 13 e 16%, durante nove meses.....	48
Tabela 14	Solubilidade proteica (%) de grãos de tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses.....	49
Tabela 15	Incidência de defeitos graves (%) em grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi- hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses.....	51
Tabela 16	Tabela 16 – Incidência de defeitos leves (%) em grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses.....	52
Tabela 17	Valor L*, a* e b* da cor de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses.....	54
Tabela 18	Programação do RVA utilizada nas análises viscoamilográficas.....	62
Tabela 19	Rendimento de extração (%), teor de amilose (%), valor L*, valor b*, e teor residual de proteínas (%) e lipídios (%) do amido isolado grãos	

	de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses.....	66
Tabela 20	Parâmetros viscoamilográficos de amido isolado de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses.....	71

SUMÁRIO

1 Introdução.....	13
1.1 Objetivos.....	15
2 Revisão bibliográfica.....	16
2.1 O milho.....	16
2.1.1 Produção e importância do milho.....	16
2.1.2 Composição química do milho.....	18
2.1.3 Armazenamento.....	21
2.1.4 Amido de milho.....	23
2.2 Micotoxinas.....	25
2.2.1 Legislação para micotoxinas.....	27
2.3 Radiação UV-C.....	28
3 Capítulo 1 – Propriedades tecnológicas e físico-químicas de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados durante nove meses.....	28
3.1 Introdução.....	30
3.2 Material e Métodos.....	30
3.3 Resultados e Discussão.....	30
3.4 Conclusão.....	58
4 Capítulo 2 – Qualidade do amido extraído de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados durante nove meses.....	59
4.1 Introdução.....	59
4.2 Material e Métodos.....	59
4.3 Resultados e Discussão	63
4.4 Conclusão.....	77
6 Referências	78

1 Introdução

O Brasil ocupa a terceira posição mundial de produção de milho, chegando a cerca de 85 milhões de toneladas na safra de 2014/2015 (CONAB, 2014). O milho é o segundo cereal mais produzido no país e sua importância econômica se dá pelas diversas formas de uso e relevância na alimentação humana e animal, sendo que a última representa 70% de sua utilização. Seja “in natura”, para fabricação de rações ou elaboração de derivados como óleo, farinha e amido, há uma grande demanda de milho pela indústria alimentícia. Dessa forma, é necessário que os grãos fiquem armazenados por longos períodos para atender a indústria em períodos de entressafra.

A produção de milho ocorre em diferentes regiões e sistemas de produção, entretanto, os processos fisiológicos de maturação dos grãos são iguais, necessitando os grãos permanecerem no campo após atingirem o ponto de maturação para atingir os níveis de teor de água que permitam a colheita mecânica, aproximadamente 25%. No entanto, a umidade de colheita dos grãos é superior à recomendada para o armazenamento, que exige sua secagem para redução até níveis de pelo menos 13%, possibilitando a manutenção das características dos cereais após a colheita, como propriedades nutritivas, qualidade de moagem e sanidade biológica, garantindo a qualidade e segurança do produto que chega à mesa do consumidor. Assim, os processos de pós-colheita devem ser empregados adequadamente para manutenção das características qualitativas e quantitativas dos grãos.

A qualidade de armazenamento está relacionada com a qualidade inicial dos grãos, porém, durante o período de armazenamento os grãos são influenciados por fatores como temperatura, teor de água, umidade relativa do ar, atmosfera de armazenamento, teor de grãos quebrados, teor de impurezas, presença de microrganismos, insetos, ácaros e tempo de armazenamento. Dentre estes, o teor de água é um dos principais fatores que interferem na qualidade dos grãos durante o armazenamento. O aumento deste teor acelera as reações bioquímicas e metabólicas dos grãos, pelas quais reservas armazenadas no tecido de sustentação são desdobradas, transportadas e resintetizadas no eixo embrionário (SANTOS et

al., 2004; PEREZ-GARCIA & GONZALEZ-BENITO, 2006; AGUIAR *et al.*, 2012). Dentre os problemas durante o armazenamento, a contaminação por micotoxinas é um dos principais dos grãos de milho, tornando-os impróprios para alimentação humana e animal, afetando negativamente a segurança alimentar, já que o consumo de altas doses de aflatoxinas pode levar a aflatoxicose, que resulta em doenças agudas e até mesmo morte (ZAIN, 2011).

Dentre os fungos de armazenamento, algumas espécies do gênero *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* constituem os que mais se proliferam em grãos armazenados (PUZZI, 2000; ELIAS, 2002; CAST, 2003). Nos grãos de milho, o desenvolvimento de micotoxinas ocorre por fungos principalmente do gênero *Aspergillus*, que necessitam de temperatura, umidade relativa do ar e substrato adequados para o desenvolvimento. Umidade relativa de 80 a 85%, teor de água dos grãos de 17%, temperatura de 24 a 35°C e disponibilidade de oxigênio são condições ótimas para produção de aflatoxinas em grãos de milho (DILKIN *et al.*, 2000) e são condições facilmente encontradas nos silos no armazenamento, que somados ao tempo de armazenamento, favorecem a produção de micotoxinas.

O crescimento fúngico afeta a quantidade de nutrientes presentes nos grãos, como carboidratos, vitaminas, lipídios e proteínas, resultando em um menor rendimento nas indústrias produtoras de rações, além da produção de micotoxinas, que podem causar problemas na saúde e no desempenho de animais, podendo reduzir o ganho de peso e a qualidade final de lotes.

Para prolongar a conservabilidade de alimentos, estratégias tecnológicas vêm sendo desenvolvidas, a fim de reduzir perdas nos atributos de qualidade. Refrigeração (NUÑES *et al.*, 1995), atmosfera modificada (HERTOG *et al.*, 2001; ODRIOZOLA-SERRANO *et al.*, 2008), irradiação gama (D'AMOUR, *et al.*, 1993; PRAKASH *et al.*, 2002) e tratamento com compostos químicos, como por exemplo, 1-metilciclopropeno (1-MCP) (ABLE *et al.*, 2002; LEVERENTZ *et al.*, 2003; CLIFF *et al.*, 2009) são alguns exemplos dessas estratégias. O tratamento pós-colheita com o uso de radiação ultravioleta-C (UVC), um tipo de radiação não-ionizante com comprimento de onda entre 100 e 280 nm, que causa a morte celular dos microrganismos por dano fotoquímico no DNA, constitui-se num método físico amplamente utilizado pela indústria alimentícia, principalmente para a desinfecção

do ar e água, controle da contaminação de superfícies e embalagens, e na pós-colheita de frutos e hortaliças.

Muitos produtos químicos usados como tratamentos pós-colheita causam problemas ecológicos ou são potencialmente prejudiciais para humanos. Com o aumento do interesse dos consumidores sobre resíduos em alimentos, eles têm sido progressivamente restritos em muitos países. Por essa razão, um método alternativo e seguro de controle precisa ser desenvolvido (ALLENDE & ARTES, 2003), e o emprego da irradiação de alimentos é muito promissor, com bons resultados na redução das perdas pós-colheita (LIMA *et al.*, 2001). A Radiação-UVC é o uso de raios gama em alimentos, sem que haja risco de contaminação radioativa (O'BEIRNE, 1989). A eficiência do uso da radiação gama como tecnologia de conservação de alimentos está ligada basicamente a três fatores: tipo de alimento a ser irradiado, dose a ser aplicada e tempo de exposição do alimento à fonte irradiadora. Além disso, o uso de radiação tem mostrado ótimo potencial de redução e inibição de crescimento fúngico em alimentos (SANTOS, 2010).

Ao contrário dos métodos químicos convencionais, a radiação não possui efeito residual, e a possibilidade de reinfestação por microrganismos existe (NEVES *et al.*, 2002). Portanto, ainda são necessários estudos na área que elucidem o tema e permitam a utilização eficiente de radiação UVC na indústria de produtos alimentícios.

1.1 Objetivos

- 1.1.1** Avaliar os efeitos da radiação UV-C e da umidade dos grãos nos parâmetros qualitativos e quantitativos tecnológicos de grãos de milho inoculados com gêneros de fungos micotoxigênicos e armazenados.
- 1.1.2** Avaliar os efeitos da radiação UV-C e da umidade dos grãos nos parâmetros qualitativos e quantitativos tecnológicos do amido extraído de grãos de milho inoculados com gêneros de fungos micotoxigênicos e armazenados

2 Revisão Bibliográfica

2.1 O milho

O milho é uma planta anual, herbácea, pertencente à classe das monocotiledôneas, família *Poaceae*, gênero *Zea*, espécie *Zea mays* L.. Vestígios de espiga e pólen de milho foram encontrados no vale do Tehuacán no México, concluindo-se que a domesticação do milho começou a cerca de 6000 ac. Existem duas hipóteses mais aceitas: para alguns pesquisadores o milho se originou da seleção realizada pelo homem a partir do melhoramento do teosinto, uma planta da família *Poaceae*, com ciclo anual, originária do México e da Guatemala. Um segundo grupo, defende que o milho e o teosinto diferenciaram-se a mais tempo, de um mesmo ancestral, originando as duas plantas com estruturas diferentes (PIPERNO; FLANNERY, 2001).

2.1.1 Produção e importância do milho

O milho é o segundo grão mais produzido no país, sendo que o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, com uma produção anual superior a 80 milhões de toneladas, depois de Estados Unidos da América (EUA) e China (FAO, 2014). Os principais estados produtores do país são Paraná, Mato Grosso, Minas Gerais e Rio Grande do Sul (CONAB, 2016).

A produção de grãos de milho vem aumentando nos últimos anos, principalmente devido a grande demanda dos grãos para a alimentação animal, que representa 70% de sua utilização, já que os sistemas de produção como bovinos de corte e leite tem se tornado cada vez mais intensivos, além das tradicionais atividades de suinocultura e avicultura, onde a necessidade dos grãos para a fabricação de rações segue em ascensão. Para alimentação humana, apenas 15% do total da produção é utilizado, e isso se deve a falta de informação sobre suas formas de utilização e de qualidade nutricional. Entretanto, derivados de milho como a farinha, constitui fator importante de uso desse cereal em regiões de baixa renda. Já no mercado de amido, o milho apresenta uma grande importância, pois do total

de amido produzido, aproximadamente 80% é obtido de grãos de milho. Além disso, o óleo é um importante derivado na indústria alimentícia de alta tecnologia (ECKHOFF, 2004).

Para a produção de alimentos destinados ao consumo animal, a qualidade do milho é importante, uma vez que pode afetar o custo da produção, o desempenho zootécnico e a qualidade de carnes, ovos e leite produzidos, devendo-se ter um grande controle na comercialização do milho para evitar problemas mais sérios ao final do processo produtivo, no momento do consumo de alimentos, como resíduos de micotoxinas. Para não comprometer o desenvolvimento de cadeias produtivas de animais, principalmente suínos e aves, as indústrias produtoras de rações exigem análises de micotoxinas para comercialização do milho, sendo que a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) determina os limites máximos para comercialização, onde para Aflatoxinas B1, B2, G1, G2 no milho em grão (inteiro, partido, amassado e moído), farinhas ou sêmolas de milho o limite máximo de tolerância é de 20 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (BRASIL, 2011).

A área cultivada de milho no Brasil continua praticamente constante ao longo dos últimos anos tendo crescido cerca de 4 vezes desde 1940, já que a área agrícola expandida na região centro-oeste do país tem sido utilizada para a produção de outras culturas, principalmente a soja, sendo o milho, geralmente utilizado na segunda safra, denominada “safrinha” nestas regiões. Entretanto, o aumento da produção total de milho observado deve-se aos avanços tecnológicos da agricultura, como o processo de melhoramento genético dos cultivares utilizados aliado ao manejo da cultura, com técnicas de semeadura e adubação avançadas que mantêm ou aumentam a produtividade do milho a cada safra (GALVÃO et al., 2014).

Os grãos de milho são comercializados no Brasil pela Instrução Normativa MAPA N° 60, de 22 de dezembro de 2011, publicada no Diário Oficial da União de 23/12/2011, com alterações dadas pela Instrução Normativa MAPA N° 18, de 4 de julho de 2012 (BRASIL, 2012), que estabelecem o Regulamento Técnico do Milho, ficando revogadas a Portaria MAPA N° 845, de 8 de novembro de 1976 e a Portaria SARC N° 11, de 12 de abril de 1996 (BRASIL, 1996), determinando os novos padrões de qualidade para comercialização dos grãos de milho (Tabela 1).

Tabela 1 – Limites máximos (%) de defeitos para a tipificação de grãos de milho pela legislação brasileira

Enquadramento	Grãos avariados		Grãos quebrados	Matérias estranhas e impurezas	Carunchados
	Ardidos	Total			
Tipo 1	1,00	6,00	3,00	1,00	2,00
Tipo 2	2,00	10,00	4,00	1,50	3,00
Tipo 3	3,00	15,00	5,00	2,00	4,00
Fora de Tipo	5,00	20,00	>5,00	>2,00	8,00

Fonte: Brasil (2011)

2.1.2 Composição química do milho

Os grãos de milho são compostos por endosperma, gérmen, pericarpo e ponta (Figura 1) e sua composição química média em base seca é 72% de amido, 9,5% proteínas, 9% fibra e 4% de lipídeos, entretanto em função da grande diversidade existente entre as cultivares, pode apresentar variações na estrutura, apresentando diferentes composições de nutrientes e tamanhos nas estruturas (Tabela 2). As principais causas de variação na composição química dos grãos de milho são relacionadas às características do material genético, solo, adubação, condições climáticas e estágio de maturação da planta (PATERNIANI; VIÉGAS, 1987; PAES, 2006).

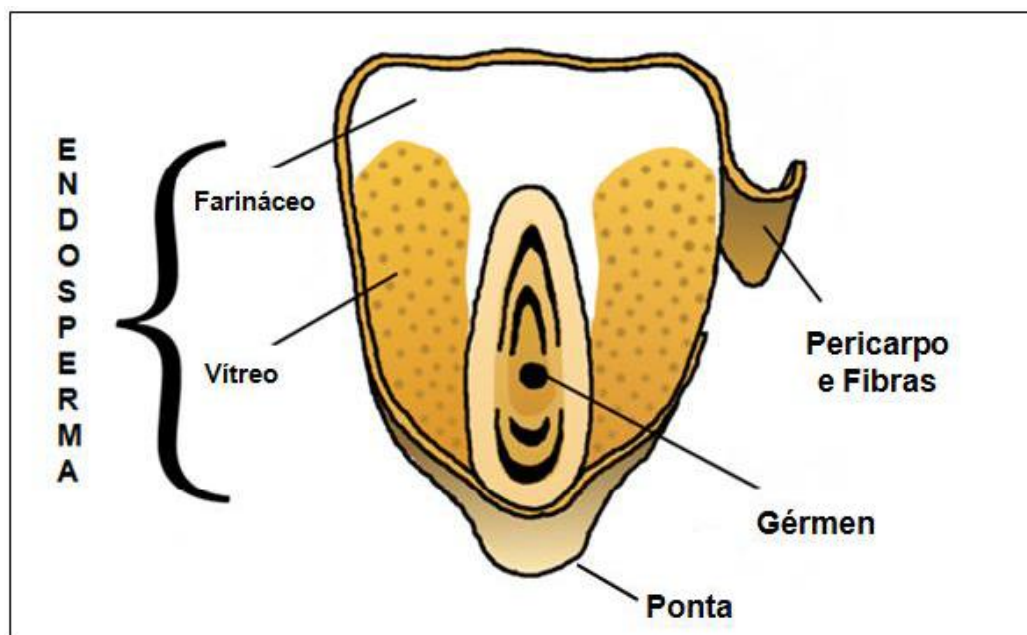


Figura 1 - Estrutura dos grãos de milho. FONTE: Adaptado de: <http://corn.org/process/>

Tabela 2 – Composição química das diferentes frações do grão de milho

Estrutura	% do grão	Amido	Lipídeos	Proteínas	Minerais	Açúcares
		% da parte				
Endosperma	82,00	86,60	0,86	8,60	0,31	0,61
Gérmen	11,00	8,30	34,40	18,50	10,30	11,00
Pericarpo	5,00	7,30	0,98	3,50	0,67	0,34
Ponta	2,00	5,30	3,80	9,70	1,70	1,50

Fonte: Adaptado de Bemmiller & Whistler (2009)

O endosperma concentra aproximadamente 98% do total de amido, formado por grânulos com diâmetro médio de 20µm e forma variando desde poliédrica até esférica. De acordo com a distribuição dos grânulos de amido e da matriz proteica, o endosperma é classificado em dois tipos: farináceo e vítreo. No primeiro, os grânulos de amido são arredondados e estão dispersos, não havendo matriz proteica circundando essas estruturas, o que resulta em espaços vagos durante o processo de secagem do grão, a partir dos espaços onde antes era ocupado pela água, durante o desenvolvimento do grão (Figura 2a). Já no endosperma vítreo, a matriz proteica é densa, com corpos protéicos estruturados, que circundam os grânulos de amido de formato poligonal, não permitindo espaços entre estas estruturas (Figura 2b) (DELCOUR & HOSENEY, 2010).

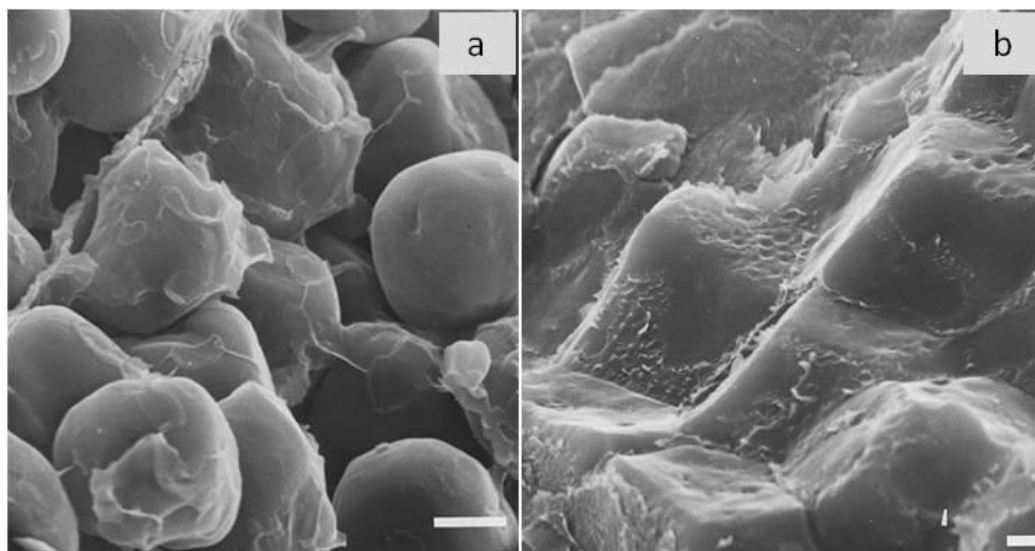


Figura 2 - Estrutura dos grânulos de amido extraídos do endosperma farináceo (a) e endosperma vítreo (b) de grãos de milho. FONTE: Delcour & Hoseneey (2010).

No endosperma, especificamente, na camada de aleurona e no endosperma vítreo, estão também presentes os compostos fenólicos e carotenóides, substâncias lipídicas que conferem a cor aos grãos de milho, sendo zeaxantina, luteína, betacriptoxantina, alfa e beta carotenos, os principais carotenóides nos grãos de milho (PAES, 2006).

O gérmen representa 11% do grão de milho, concentrando aproximadamente 83% de lipídeos (óleo e vitamina E), 78% de minerais, além de conter quantidades importantes de proteínas (26%) e açúcares (70%). No gérmen estão presentes as proteínas do tipo albuminas, globulinas e glutelinas, que diferem significativamente, em composição e organização molecular, daquelas encontradas no endosperma e, conseqüentemente, diferindo das primeiras em qualidade nutricional e propriedades tecnológicas (PAES, 2006).

As proteínas de reserva do milho, zeínas, são consideradas de baixa qualidade, principalmente em relação aos aminoácidos essenciais, pois apesar de serem ricas em metionina e cisteína, são pobres em lisina e triptofano, essenciais à nutrição humana e de alguns monogástricos (MENDES, 1972). No entanto, possuem quantidades elevadas dos aminoácidos glutamina, leucina, alanina e prolina, que conferem alta hidrofobicidade ao resíduo proteico extraído do endosperma no processo de produção do amido de milho (SHOTWEL & LARKINS, 1989). Este produto é utilizado na produção de filmes comestíveis e fibras com diversas aplicações, como embalagens biodegradáveis (LAWTON, 2002). As proteínas do endosperma do milho, que caracterizam a matriz proteica, podem ser classificadas de acordo com a solubilidade em quatro frações: albuminas, globulinas, prolaminas e glutelinas, que constituem respectivamente 3%, 3%, 60% e 34% do total de proteínas do endosperma (PATERNIANI; VIÉGAS, 1987).

A composição do óleo presente no gérmen do milho é distinta dos outros óleos vegetais quanto aos percentuais de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados, sendo aproximadamente 58% de poli-insaturados, 29% de monoinsaturados e 13% de saturados. Entretanto, o óleo de milho possui composição de ácidos graxos poli-insaturados semelhante aos óleos de soja e girassol. Nesses óleos, o principal componente é o ácido graxo linoleico (ômega 6), contendo um pequeno percentual do ácido graxo linolênico (ômega 6),

que são considerados essenciais à nutrição humana e de alguns animais, dada a incapacidade de síntese dos mesmos pelo organismo (PAES, 2006).

O pericarpo, que representa em média 5% do grão, é a estrutura que protege as outras estruturas do grão da elevada umidade do ambiente, insetos e microrganismos. As camadas de células que compõem essa fração são constituídas de polissacarídeos do tipo hemicelulose (67%) e celulose (23%), embora também contenha lignina (0,1%). A ponta é a menor estrutura do grão (2%), sendo responsável pela conexão do grão ao sabugo na espiga, única área do grão não coberta pelo pericarpo, e que possui sua composição essencialmente de material lignocelulósico (PAES, 2006).

2.1.3 Armazenamento

O armazenamento dos grãos é uma das etapas pós-colheita longa e contribui decisivamente para a qualidade final dos grãos, já que se realizado de forma adequada e segura evita perdas e preserva a qualidade. Assim como ocorre para a colheita, há um teor de água apropriado para o armazenamento de grãos, durante o qual o teor de água deve ser mantido em níveis que impeçam ou dificultem a proliferação de fungos e insetos. Os fatores de qualidade a serem preservados dependem do uso final dos grãos (MONTROSS *et al.*, 1999).

Os grãos de milho geralmente são colhidos com teor de água elevado, entre 25 e 30%, necessitando de secagem para redução até níveis desejados para o armazenamento seguro. Para um armazenamento seguro do milho pelo período de 12 meses, a faixa ideal do teor de umidade deve estar entre 12 a 13 % b.u., sendo a tolerância máxima de 14% b.u., quando é aplicada de forma correta a técnica de aeração. Porém, nem sempre é possível a realização de secagem correta em função do grande fluxo de grãos que chegam as unidades armazenadoras, assim, os teores são reduzidos a níveis superiores a 13%, permanecendo em silos durante vários meses até a utilização (SILVA *et al.*, 2000).

O teor de água dos grãos, aliado a temperaturas altas, acelera o processo metabólico dos grãos, iniciando focos de aquecimento no interior da massa de grãos, acarretando em perdas elevadas, se medidas adequadas não forem realizadas. A qualidade de armazenamento está relacionada com a qualidade inicial dos grãos, porém a manutenção da qualidade ou a aceleração da degradação,

durante o armazenamento, é influenciada pela eficiência do processo de secagem, teor de água dos grãos, atmosfera e período de armazenagem, temperatura e umidade relativa do ar, percentual de grãos danificados, presença de impurezas, matérias estranhas, microrganismos, insetos e ácaros (MAGAN; ALDRED, 2007).

Os principais fatores que favorecem o desenvolvimento de fungos durante o cultivo do milho na lavoura, são temperatura e teor de água. Já durante o armazenamento de sementes, grãos e rações, são teor de água, temperatura, período de armazenamento, nível de contaminação, impurezas e matérias estranhas, insetos, nível de oxigênio, condições físicas da semente ou do grão e condições sanitárias (LAZZARI, 1997).

O armazenamento de grãos em condições inadequadas resulta em aumentos na oxidação lipídica e do conteúdo de ácidos graxos livres (GALLIARD, 1986), formando um complexo com a amilose helicoidal ou reduzindo o comprimento das cadeias longas de amilopectina, alterando as propriedades físicas e nutricionais do grão e dos seus produtos finais (HAYFA; COPELAND, 2007; HASJIM *et al.*, 2010). O armazenamento por longos períodos reduz o rendimento de extração do amido durante a moagem por via úmida devido à degradação do amido e as interações entre o amido e os outros componentes do grão (ABERA; SUDIP, 2004). O armazenamento dos grãos também provoca uma diminuição na solubilidade e digestibilidade da proteína nos grãos (CHRASTIL, 1990).

Segundo Rehman *et al.* (2002), reduções na qualidade nutricional ocorrem durante o armazenamento de grãos de milho na temperatura de 25°C, mas em menor extensões que na temperatura de 45°C, no entanto, nenhuma alteração significativa em qualquer nutriente foi observado no armazenamento de grãos de milho a 10°C. Embora a amplitude das temperaturas do trabalho foram elevadas, novos estudos devem ser feitos com menores faixas de variação, pois reduções nos conteúdos de lipídios, carboidratos, proteínas e vitaminas durante o período de armazenamento resultam em perdas de material orgânico, do peso volumétrico, da matéria seca, bem como do valor comercial e nutricional do milho (FLEURAT-LESSARD, 2002).

Segundo Elias *et al.* (2009), o armazenamento hermético é baseado na redução do oxigênio disponível no ecossistema de armazenamento a níveis letais ou limitantes para os organismos vivos associados, podendo essa redução ser obtida

espontaneamente através do processo respiratório dos grãos e organismos existentes, ou de forma artificial, entretanto nos silos verticais tradicionalmente utilizadas no país esta condição não é totalmente encontrada, caracterizando sistemas semi-herméticos. Em grãos úmidos, armazenados hermeticamente, apresentando teores de água elevados (acima de 14%), o consumo de oxigênio do ar intragranular pode evitar o desenvolvimento de fungos, pois a maioria dos fungos são aeróbios, não se desenvolvendo em ambiente onde a taxa de oxigênio é baixa (PUZZI, 2000).

2.1.4 Amido de milho

O amido encontra-se amplamente distribuído em diversas espécies vegetais como carboidrato de reserva, sendo que as fontes potenciais mais importantes de amido são grãos de cereais (40 a 90% do seu peso seco), legumes (30 a 70% do seu peso seco) e os tubérculos (65 a 85% do seu peso seco) (SPIER, 2010).

O amido é extraído a partir de grãos de cereais para utilização em diversas aplicações alimentícias e não-alimentícias. Em alimentos, além de representar uma fonte de energia, o amido pode ser adicionado por suas propriedades funcionais como: fornecimento de textura, gelatinização, viscosidade, estabilização de emulsões, formação de película e adesividade. Aplicações não-alimentícias incluem: ingrediente em colas e adesivos, agente de ligação, tecidos de acabamento, talco e veículo para produtos farmacêuticos (MIDDLEWOOD, 2011).

Estruturalmente, o amido é um polissacarídeo composto por cadeias de amilose e amilopectina. A amilose é formada por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas α -1,4, originando uma cadeia linear. Já a amilopectina é formada por unidades de glicose unidas em α -1,4 e α -1,6, formando uma estrutura ramificada. As proporções em que essas estruturas aparecem diferem em relação às fontes botânicas, variedades de uma mesma espécie e de acordo com o grau de maturação da planta (ELIASSON, 2004; TESTER *et al.*, 2004).

A amilose é um polímero essencialmente linear composto quase que completamente de ligações α -1,4 nas unidades de D-glicopirranose, entretanto, algumas evidências sugerem a presença de algumas ramificações nesse polímero (LIU, 2005). Embora ilustrada tipicamente por uma estrutura linear de cadeia, a

amilose é frequentemente helicoidal. O interior da hélice contém átomos de hidrogênio (característica de hidrofobicidade), permitindo que a amilose forme complexos com ácidos graxos livres com componentes glicéridos dos ácidos graxos, com alguns alcoóis e com o iodo, formando com este, um complexo de coloração azul (THOMAS & ATWEL, 1999). A massa molecular da amilose é dependente da fonte e das condições de processamento empregadas na extração do amido, mas geralmente O peso molecular é da ordem de 250.000 daltons com tamanho médio de 103 unidades de glicopirranose (FRANCO *et al.*, 2001; CEREDA, 2002; VANDEPUTTE & DELCOUR, 2004).

A maioria dos grãos possui níveis de amilose entre 15% e 25%, sendo que o milho apresenta de 25 a 28% e alguns cereais denominados cerosos (*waxy*) são livres de amilose enquanto alguns mutantes têm níveis acima de 50% (VANDEPUTTE & DELCOUR, 2004). A amilose confere habilidade em formar pasta ao grânulo de amido, por ocasião da gelatinização. A formação da pasta decorre principalmente da retrogradação, ou seja, reassociação dos polímeros de amido solubilizados depois da gelatinização (THOMAS & ATWEEL, 1999).

A amilopectina é formada por cadeias curtas de D-glicopirranose unidas em α -1,4, e fortemente ramificada com 4% a 6% das ligações em α -1,6. O peso molecular da amilopectina varia entre 50 e 500×10^6 daltons (VANDEPUTTE & DELCOUR, 2004; LIU, 2005; LAJOLO & MENEZES, 2006). Na presença de iodo, resulta em uma coloração avermelhada (SPIER, 2010).

Conforme apresentado na Figura 3, a estrutura da amilopectina é constituída por uma cadeia principal, chamada cadeia C, que carrega o grupo redutor da molécula, e inúmeras ramificações, denominadas de cadeias A e B. As cadeias A são conectadas a outras cadeias através de ligações α -1,6, mas não carregam ramificações (CEREDA, 2001).

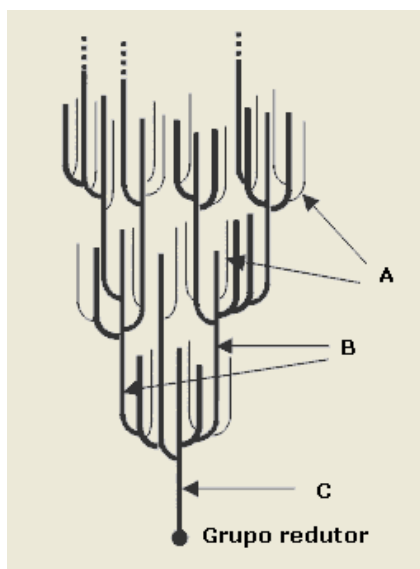


Figura 3 – Estrutura ramificada da amilopectina. Fonte: Adaptado de Cereda (2001)

A distribuição de amilose e amilopectina dentro do grânulo de amido não é uniforme. A amilose é encontrada de forma mais concentrada na periferia e amilopectinas de cadeia longa no centro do grânulo (SPIER, 2010).

2.2 Micotoxinas

Micotoxinas são substâncias tóxicas resultantes do metabolismo secundário de diversas linhagens de fungos filamentosos. São compostos orgânicos de baixo peso molecular, e baixa capacidade imunogênica. São de ocorrência universal, porém predominam em climas tropicais e subtropicais, nos quais o desenvolvimento fúngico é favorecido pelas condições ambientais. As principais espécies fúngicas produtoras de micotoxinas pertencem aos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps*, *Alternaria*, *Pithomyces*, *Mirothecium*, *Stachybotrys* e *Phoma* (MALLMAN & DILKIN, 2007).

Os principais fatores que favorecem o desenvolvimento de fungos em grãos são teor de água dos grãos, umidade do ar, temperatura, período de armazenamento, nível inicial de contaminação, impurezas, insetos, concentração de CO₂, condições físicas e sanitárias dos grãos. Em condições ambientais favoráveis, os esporos dos fungos germinam, formando hifas que se distribuem pelos grãos e outros substratos, sendo capazes de produzir metabolitos secundários tóxicos, as micotoxinas (PRADO *et al.*, 1991; LAZZARI, 1997).

A contaminação fúngica dos grãos cultivados no Brasil é frequente, devido às condições climáticas favoráveis para seu desenvolvimento. Durante o processamento dos grãos podem ocorrer alterações na microbiota, porém as micotoxinas geralmente permanecem no produto devido à estabilidade química que apresentam. As micotoxinas possuem um amplo espectro de toxicidade, baixo peso molecular, termo estabilidade e atuam em baixas concentrações e não desencadeiam respostas imunológicas.

As aflatoxinas são produzidas por fungos toxígenos do gênero *Aspergillus*, sobretudo *A. flavus* e *A. parasiticus*. Entre as centenas de micotoxinas conhecidas, as aflatoxinas são consideradas as micotoxinas de maior importância no Brasil. As aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ são identificadas como contaminantes naturais de sementes e alimentos, sendo que a B₁ apresenta maior prevalência em diversos produtos agrícolas e é considerada a mais tóxica do grupo. Além do gênero *Aspergillus*, os gêneros *Penicillium* e *Fusarium* constituem os que mais se proliferam nos grãos armazenados (PUZZI, 2000; SILVA *et. al* 1995; 2000; ELIAS, 2002).

Quando as micotoxinas são ingeridas na alimentação humana ou animal, podem produzir diversos efeitos deletérios à saúde do consumidor, implicando em grandes prejuízos de ordem econômica, sanitária e comercial, sobretudo pelas suas propriedades anabolizantes, estrogênicas, carcinogênicas, mutagênicas e teratogênicas, além de outros efeitos menos tóxicos, também prejudiciais à saúde e produtividade. O grande problema das micotoxicoses não está relacionado somente aos seus efeitos letais nos consumidores, mas, principalmente, aos prejuízos relacionados aos diversos órgãos e sistemas, implicando na diminuição do seu desempenho produtivo.

Atualmente ainda são restritos os conhecimentos sobre fisiologia, produção de toxinas e desenvolvimentos dos fungos produtores de micotoxinas. Porém, sabe-se que crescem e se proliferam bem em cereais e grão, especialmente no amendoim, milho, trigo, cevada, sorgo, e arroz, nos quais geralmente encontram um substrato altamente nutritivo para o seu desenvolvimento. Por sua vez, os cereais e grãos perdem grande parte de sua qualidade nutritiva, além de estarem contaminados com micotoxinas que podem permanecer por vários anos nos substratos, mesmo na ausência de fungos produtores. O crescimento fúngico e produção de micotoxinas em cereais podem ocorrer nas diversas fases do

desenvolvimento, maturação, colheita, transporte, processamento ou armazenamento de grãos, e a compreensão de uma série de fatores nessas fases que podem levar a formação desses metabolitos tóxicos é de fundamental importância para intervenção no processo, visando diminuir sua produção.

As principais medidas profiláticas consistem em adotar técnicas de cultivo e manejo que inviabilizam o crescimento fúngico, como colheita dos cereais imediatamente após a maturação fisiológica, deixando os cereais menos expostos às intempéries, e a secagem e estocagem em armazéns adequados para cada tipo de cereal ou subproduto. Além disso, deve haver o monitoramento dos produtos e subprodutos por meio de técnicas de amostragem adequadas e análises micotoxicológicas antes de sua utilização, devendo sua ingestão obedecer os limites máximos recomendado pela legislação vigente.

2.2.1 Legislação para micotoxinas

Diferente de outros países, no Brasil até o ano de 2011 existia legislação apenas para regulação das aflatoxinas, disposta em duas Resoluções. A primeira foi estabelecida em 1976 com a Resolução nº 34/76 da CNNPA/MS (Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos/Ministério da Saúde), fixando o limite máximo permitido para a somatória das concentrações das Aflatoxinas B₁ e G₁ em 30 µg/kg. Em 2002, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) por meio da Resolução RDC nº 274/2002 internalizou a Resolução MERCOSUL/GMC nº 25/2002 que estabeleceu limite de 20 µg/kg para a somatória das aflatoxinas B₁+B₂+G₁+G₂ (BRASIL, 1977; 2002).

No ano de 2011 foi publicado no Diário Oficial da União a RDC nº 7, de 18 de fevereiro, dispondo de limites máximos tolerados para micotoxinas em diversos alimentos, incluindo milho, derivados de milho e alimentos à base de milho. Foram estabelecidos limites para as aflatoxinas (AFLAB1, AFLAB2, AFLAG1, AFLAG2 e AFLAM1), ocratoxina A (OTA), desoxinivalenol (DON), fumonisinas (FB1 + FB2), patulina (PAT) e zearalenona (ZEA), bem como datas para sua aplicação, sendo a última data para janeiro de 2016. Nesta RDC foi mencionado que os níveis de micotoxinas deverão ser tão baixos quanto razoavelmente possível, devendo ser aplicadas as melhores práticas e tecnologias na produção, manipulação,

armazenamento, processamento e embalagem, de forma a evitar que um alimento contaminado seja comercializado ou consumido (BRASIL, 2011).

Mais recentemente, o MAPA publicou a Instrução Normativa N° 18 de 25 de junho de 2013 (BRASIL, 2013), definindo para o Ano-Safra 2013/14 limites máximos de contaminantes para diversos alimentos. Entre estes, para o milho foi estabelecido limites máximos tolerados para micotoxinas, conforme a Tabela 3.

Tabela 3 – Limites máximos tolerados para micotoxinas em milho estabelecidos pela IN 18/2013.

Micotoxina	Limites máximos tolerado (µg/kg)
Aflatoxina Total (B1 + B2 + G1 + G2)	20
Fumonisin (B1 + B2)	2000
Ocratoxina A	10
Zearalenona	400

Fonte: BRASIL, 2013

2.3 Radiação UV-C

A radiação ultravioleta (UV) é parte do espectro eletromagnético referente aos comprimentos de onda entre 100 e 400 nm. De acordo com a intensidade que a radiação UV é absorvida pelo oxigênio e pelo ozônio e também pelos efeitos fotobiológicos, costuma-se classificar a região UV em três intervalos: UV-A (320-400nm), UV-B (280-320 nm) e UV-C (100-280 nm).

Uma estratégia de manejo integrado de pragas é fundamental para o armazenamento seguro de produtos na pós-colheita. O uso de medidas de higiene eficazes e protetores químicos são parte integrante desta estratégia. Contudo, o número de produtos químicos atualmente aprovados para a proteção dos produtos armazenados é muito limitado. Portanto, medidas de controle vem sendo estudadas para que possam ser incorporadas a presente estratégia de gestão de pragas.

Dentre as tecnologias limpas que vêm ganhando destaque na conservação de alimentos, por não empregarem o uso de altas temperaturas, o uso do ultrassom e de UV-C, de aplicação contínua ou através de luz pulsada, tem apresentado resultados promissores (MARQUENIE *et al.*, 2002). O alvo principal da luz UV-C é o material genético (DNA/RNA) de bactérias, fungos e vírus. Quando penetra na célula, a luz UV-C é absorvida pelos ácidos nucleicos, o que pode provocar rearranjo da informação genética, interferindo na capacidade de reprodução da célula por

dano fotoquímico, podendo haver a formação de dímeros de timina que irão bloquear a ação da DNA polimerase, impedindo que a célula possa realizar a replicação, consequentemente sua reprodução, ocasionando a morte celular (ZAHA, 2003).

A princípio, a radiação UV-C pode fornecer um meio eficaz de combate à infestações, servindo como uma potencial medida de higiene, já sendo largamente usada principalmente para a desinfecção de ar, de superfícies e líquidos. A penetração dessa radiação, no entanto, é superficial, sendo esse um limitante na sua utilização como um tratamento de produtos a granel. Ainda, comparações entre estudos são difíceis de se realizar pois o nível de dose de UV-C afirmado nem sempre é alcançado e intensidades de UV-C variam de acordo com as fontes de luz (COLLINS & KITCHINGMAN, 2010). A resistência dos microrganismos à radiação UV-C difere amplamente dependendo de sua capacidade de reparar o prejuízo causado pelo UVC no DNA, sendo os esporos de fungos em geral, mais resistentes do que os esporos bacterianos ou células vegetativas (ADAMS & MOSS, 2008). Além disso, o efeito da radiação UVC em esporos de fungos pode variar entre os gêneros, sendo que esporos de paredes finas com uma pigmentação mais clara são mais sensíveis (BEGUM *et al.*, 2009)

3. Capítulo 1 – Propriedades tecnológicas e físico-químicas de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados durante nove meses

3.1 Introdução

A produção brasileira de grãos de milho (*Zea mays* L.) na safra de 2014/2015 foi de aproximadamente 85 milhões de toneladas (CONAB, 2016). Estes grãos necessitam de processos na pós-colheita para atender das demandas das indústrias alimentícias ao longo do ano, sendo que condições ideais de armazenamento são essenciais para garantir a qualidade de conservação do produto.

A umidade dos grãos destaca-se como fator determinante da atividade de água dos grãos, responsável pela a velocidade de reações químicas e metabólicas que podem comprometer a qualidade do produto. A umidade dos grãos, juntamente à outras condições como temperatura, período de armazenamento, nível inicial de contaminação, impurezas, insetos, concentração de CO², condições físicas e sanitárias dos grãos, pode influenciar a qualidade dos grãos, tanto tecnologicamente quanto nutricionalmente, podendo causar perdas significativas nas indústrias alimentícias humana e animal. Nesse sentido, o objetivo desse estudo foi verificar as propriedades físico-químicas e tecnológicas de grãos de milho irradiados com radiação UV-C, armazenados durante 9 meses, com teores de água iniciais de 13% e 16%, utilizando a radiação como método alternativo de controle de incidência fúngica nos grãos.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Condições experimentais

Foram utilizados grãos de milho produzidos na região sul do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, provenientes da safra do ano agrícola 2013/2014, colhidos mecanicamente com teor de água próximo a 23%, e transportados para o Laboratório de Pós-Colheita, Industrialização e Qualidade de Grãos, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial - DCTA, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel” - FAEM, Universidade Federal de Pelotas – UFPel, onde foi conduzido o experimento. Os grãos foram secados em secador estacionário (Protótipo Labgrãos/Vitória Máquinas) até a obtenção dos teores de água de 13% e 16%, com

temperatura do ar de secagem de 35°C. Foi realizado expurgo com fosfeto de alumínio a fim de evitar a interferência de insetos no experimento.

Foram realizados testes preliminares onde cepas dos fungos *Aspergillus flavus* e *Fusarium sp.*, separadamente, foram replicadas em grãos de milho nas condições de temperatura de 25°C e umidade relativa do ar de 80% durante 7 dias. Os grãos ficaram completamente cobertos pelos fungos utilizando a aspersão de inóculo sobre os grãos. Dessa forma, concluiu-se que o método utilizado para inocular as amostras seria a homogeneização de uma mesma quantidade de grãos contaminados a cada amostra de grãos sadios.

Amostras de 1kg de grãos de milho foram inoculadas com 5 grãos contaminados com cepa de *Aspergillus flavus* e 5 grãos com cepa de *Fusarium sp.* obtidas do Laboratório de Análises Micotoxicológicas (LAMIC/UFSM), sendo posteriormente homogeneizados. As amostras foram armazenadas em sacos de polietileno de baixa densidade com 15µm (micras) de espessura de filme plástico, vedados com máquina Webomatic® e colocadas ao abrigo da luz, em temperatura de 25°C com teores de água de 13% e 16% e umidade relativa do ar de 80% durante 7 dias.

Após esse período, os grãos foram submetidos ao tratamento com radiação UV-C, sendo a fonte de radiação composta de quatro lâmpadas germicidas (Phillips® 30W), com comprimento de onda de 254 nm. A intensidade da radiação emitida foi determinada com medidor de luz ultravioleta digital (RS-232 Modelo MRUR-203, Instrutherm®). Uma parte das amostras foi exposta à radiação com variação de distância da extremidade distal, para obtenção de doses de 4 e 8 kJ. m⁻² durante 15 minutos (MAHARAJ *et al.*, 1999; CHARLES *et al.*, 2008 a,b). Para o tratamento controle foram utilizadas amostras sem a inóculo de fungos e sem irradiação, enquanto que para o tratamento 0 kJ. m⁻², as amostras foram inoculadas e não irradiadas. Após o processo de irradiação os grãos foram armazenados à 25°C/80% umidade relativa, durante 9 meses. Para realização das análises os grãos foram moídos em moinho Perten 3110 (Perten Knife Grinder, model Laboratory Mill 3100, Huddinge, Sweden) até partículas de tamanho 70 mesh (0,211 mm).

3.2.2 Análises

3.2.2.1 Umidade

A umidade dos grãos foi determinada segundo Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), durante 24 horas a 105 °C.

3.2.2.2 Atividade de água

A atividade de água (A_w) foi mensurada com três determinações no medidor Water Activity Novasina (CH-8853 Lachen, Switzerland).

3.2.2.3 Incidência fúngica

A incidência fúngica foi avaliada através de teste de sanidade em grãos de milho realizada pelo método de blotter test (NEERGAARD, 1979). Foram analisados 200 grãos de cada amostra, sendo colocados 25 grãos em cada caixa de germinação “gerbox” com papel filtro previamente embebido em água destilada e esterilizada. As caixas foram incubadas à temperatura de 25 °C, pelo período de 7 dias. Posteriormente a este período, os grãos foram examinados em um microscópio estereoscópico para visualização, identificação e contagem dos microrganismos presentes.

3.2.2.4 Condutividade elétrica

A condutividade elétrica da água de hidratação foi determinada segundo metodologia do International Seed Testing Association - ISTA (2008), com modificações. Foram pesados 10 gramas de grãos e estes imersos em 75mL de água deionizada (em becker de 250mL), colocadas em germinador regulado para a temperatura constante de 20°C e, posteriormente, incubados durante 24 horas. As soluções foram agitadas suavemente e a condutividade elétrica foi determinada com condutímetro sem filtragem da solução. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}$.

3.2.2.5 Peso de mil grãos

O peso de 1000 grãos foi realizado segundo Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), com contagem de três repetições de 1000 grãos cada e pesagem em balança de precisão. Os resultados foram expressos em gramas.

3.2.2.6 Peso volumétrico

O peso volumétrico foi realizado segundo Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) utilizando balança *Dalle Molle*, com oito repetições por amostra. Os resultados foram expressos em (kg.m³).

3.2.2.7 Composição química

Os teores de proteína bruta, cinzas e extrato etéreo foram determinados de acordo com metodologia da Association of Official Analytical Chemists – AOAC (2006).

3.2.2.8 Índice de acidez dos lipídios

O índice de acidez dos lipídios foi realizado segundo normas do Instituto Adolfo Lutz para análises de alimentos (2004). Os resultados foram expressos em mg NaOH por 100 gramas de amostra.

3.2.2.9 Solubilidade proteica

A solubilidade de proteínas em água foi determinada de acordo com o método descrito por Liu, Mcwatters & Phillips (1992), com modificações. Um grama de amostra foi homogeneizado em 50 mL de água destilada por agitação constante durante 1 hora. O material foi centrifugado a 5300 x g, por 20 minutos e coletado 2 mL do sobrenadante. O teor de proteínas foi determinado pelo método Kjeldahl e os resultados obtidos utilizando-se o fator de conversão 6,25. A solubilidade de proteínas foi calculada conforme a equação 1:

$$PS(\%) = \frac{Psob}{Pamostra} \times 100 \quad (1)$$

onde: PS (%) = Teor de proteína solúvel; Psob = Teor de proteína do sobrenadante; Pamostra = Teor de proteína bruta dos grãos.

3.2.2.10 Incidência de defeitos metabólicos

Os defeitos (carunchados, ardidos, chochos ou imaturos, fermentados, germinados e mofados) foram classificados de acordo com Instrução Normativa MAPA N° 60, de 22 de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011) e Instrução Normativa

MAPA N°18 de 4 de julho de 2012 (BRASIL, 2012), sendo posteriormente pesados. Os resultados foram expressos em percentagem.

3.2.2.11 Cor

O perfil colorimétrico dos grãos foi realizado em colorímetro Minolta Modelo CR-300, com 10 determinações, o qual indica as cores em um sistema tridimensional conforme descrito por Good (2002), onde o parâmetro “L” é uma medida do brilho de preto (0) ao branco (100); o parâmetro “a” descreve cores de vermelho a verde, com valores positivos que indicam vermelhidão e valores negativos indicando verdura; e o parâmetro “b” descreve as cores de amarelo a azul, sendo que valores positivos indicam amarelo e valores negativos indicam cor azul.

3.2.2.12 Teor de compostos fenólicos livres

3.2.2.12.1 Obtenção do extrato

A obtenção do extrato foi realizada conforme método proposto por Mira *et al.* (2009), com algumas adaptações. Foram pesados 2g de amostra desengordurada em tubos de falcon de 50 mL, ao abrigo de luz, e adicionados 10mL de metanol p.a. (padrão analítico). Em seguida os tubos foram agitados em mesa de agitação a 160rpm durante 10 min, seguido de centrifugação a 7600rpm, a 24°C, durante 15 min em centrífuga (Eppendorf Centrifuge 5430R, Eppendorf AG, Hamburg, Alemanha), o sobrenadante foi coletado. Foram realizadas mais duas extrações, na mesma amostra, com 10mL e com 5mL de metanol, respectivamente, seguindo-se os mesmos passos descritos acima. Ao final das três extrações, os sobrenadantes foram juntados e armazenados a 4°C até o momento da quantificação de compostos fenólicos livres.

3.2.2.12.2 Quantificação de compostos fenólicos livres

O teor de compostos fenólicos livres foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu, conforme citado por Zielinski e Kozłowska (2000). Foram adicionados 100µL de extrato em tubo de falcon de 15 mL e completado o volume para 500µL com água destilada. Foram adicionados 250µL de reagente Folin-Ciocalteu 1N e aguardou-se 8 minutos para redução dos compostos fenólicos com o reagente Folin-Ciocalteu, mais 1,25mL da solução de carbonato de sódio (7%, p/v) ao tubo de

falcon, que foi agitado e colocado em ambiente ao abrigo da luz. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro (UV 17000, Shimadzu, Japão) a 725nm após 120 minutos. Os teores de compostos fenólicos livres foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100 g de amostra, através de curva realizada com padrão de ácido gálico.

3.2.2.13 Micotoxinas

Para avaliação de micotoxinas foram utilizados dois métodos de análise: o Quickscan, método rápido e qualitativo, ou seja, para verificar a presença ou não de micotoxinas nos grãos de milho; e LC/MS, método quantitativo para verificar com maior precisão a quantidade de micotoxinas presente nos grãos.

3.2.2.13.1 Método LC/MS

3.2.2.13.1.1 Padrões

As soluções de micotoxinas (aflatoxinas B1, B2, G1 e G2, fumonisinas e ocratoxina A) foram feitas na proporção 50:50 de acetonitrila/água HPLC. As concentrações finais foram de 1 µg / mL para aflatoxinas e ocratoxina A e 25 µg/mL para a fumonisina. O volume de injeção no sistema de LC - MS foi de 1 µL.

3.2.2.13.1.2 Amostras

A obtenção do extrato foi realizada conforme método proposto por Herebian *et al.* (2009), com modificações. Foi homogeneizado 0,5 g de amostra de grãos de milho moídos com 5 mL do solvente de extracção (ACN/ água/AF, 79: 20: 1 v/v/v). As amostras foram agitadas durante 15 segundos e, subsequentemente, extraiu-se durante 90 minutos usando um agitador rotativo (Certomat, B. Braun Biotech International, Gottingen, Alemanha), seguido por centrifugação durante 3 minutos a 1000 rpm (Eppendorf 5430-R, Eppendorf AG, Hamburg, Alemanha). O sobrenadante foi coletado e armazenado a -20 °C. Para a análise por LC-MS, 0,5 mL de amostra foi filtrado através de um filtro de membrana de nylon de 0,22 µm (Millipore Corporation Merck, Darmstadt, Hesse, Alemanha).

As amostras enriquecidas com padrão foram preparadas pela homogeneização de 500 µL do extrato inicial e 10 µL do padrão. O volume de injeção para análise por LC-MS foi de 10 µL para as amostra não enriquecidas e

enriquecidas. O teor em micotoxinas em grãos de milho foi estimado pela Equação 2:

$$Cb = \frac{Ab \times Cs \times \Delta V}{[(Ac \times V_{tot}) - (Ab \times Vb)]} \quad (2)$$

Onde:

Cb = concentração do analito na amostra ; Ab = área do pico da amostra sem padrão; Cs = concentração do padrão; ΔV = volume do padrão; Ac = área do pico da amostra com padrão; V_{tot} = volume da Amostra + volume do padrão; e Vb = volume da amostra

3.2.2.13.1.3 Quantificação

A análise LC - MS foi realizada em cromatógrafo (Shimadzu, Japão), incluindo desgaseificador, bomba binária, amostrador automático e compartimento de coluna com temperatura controlada. Todos os reagentes utilizados para quantificação eram grau HPLC. O sistema de espectrómetro de massa foi o *Bruker microtof Impact HD* (Bruker Daltonics, Alemanha) com uma fonte de ionização por electrospray dupla. A detecção foi feita em modo de ionização positivo. A fase móvel A foi de 0,1% ácido fórmico em água e fase móvel B foi constituída de 0,1% ácido fórmico em acetonitrila. A taxa de fluxo foi de 0,2 ml/min para a coluna *Cogent Bidentate C18* e 0,4 ml/min para a coluna *Phenyl Hydride*. A temperatura da coluna foi fixada em 35 ° C. Os dois gradientes utilizados neste estudo estão apresentados na Tabela 22. O tempo de equilíbrio entre as corridas sucessivas foi de 5 min.

Tabela 4 – Gradientes testados para análises de micotoxinas

Gradiente 1	Gradiente 2
0 min 90 % A	0 min 85% A
0-10 min até 40% A	0-12 min até 30% A
10-12 min 40% A	12-14 min 30% A
12-14 min até 90% A	14-15 min até 85% A
	15-17 min 85% A

A: 0.1% Ácido Fórmico em água; B: 0.1% Ácido Fórmico em Acetonitrila.

Os parâmetros para a espectrometria de massas foram definidos utilizando o modo de ionização positiva com espectros adquiridos ao longo de uma faixa de

massa de m/z 50 a 1200. Os parâmetros são: voltagem de capilaridade, +4,0 kV; temperatura do gás de secagem, 180°C; fluxo do gás de secagem, 8,0L/min; pressão do gás de nebulização, 2 bar; colisão RF, 150 Vpp; tempo de transferência, 70 μ s, e armazenamento de pré-pulso, 5 μ s. Além disso, experimentos MS/MS automáticos foram realizados ajustando os valores de energia de colisão, como segue: m/z 100, 15 eV; m/z 500, 35 eV; m/z 1000, 50 eV, e usando nitrogênio como gás de colisão. Os resultados foram processados utilizando o software Data Analysis 4.0 (Bruker Daltonics, Bremen, Germany).

3.2.2.13.2 Método QuickScan

3.2.2.13.2.1 Amostras

O extrato foi obtido conforme orientações do kit de análise Envirologix QuickTox (EnviroLogix, Portland, USA). Em um frasco com tampa foram colocados 50g de amostra moída e 100 mL de etanol 50%. Essa mistura foi agitada durante 2 minutos e deixada em repouso até que se formassem duas fases dentro do frasco. Foram coletados 100 μ L do sobrenadante, sem partículas, e este foi transferido para o vial de análise, recebendo 100 μ L do *buffer* de análise, em temperatura ambiente. Após homogeneizar essa mistura, foi colocada a fita de leitura e deixando a reação ocorrer durante 5 min. A fita foi retirada para leitura no *QuickScan*.

3.2.2.13.2.2 Quantificação

A quantificação se deu por leitura da fita contendo o extrato de micotoxinas no aparelho QuickScan. O limite de detecção para aflatoxina (número do catálogo AQ 109 BG) é menor que 3 partes por bilhão (ppb). Esse método é certificado pela AOAC (Association of Official Analytical Chemists).

3.2.2.14 Análise Estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância ANOVA, seguido de comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de significância utilizando o programa SAS (SAS, INSTITUTE, 2002).

3.3 Resultados e Discussão

Na Tabela 5 são apresentados os resultados obtidos para umidade dos grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados durante 9 meses em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C, em duas faixas de umidade, 13% e 16%.

Tabela 5 – Umidade (%) de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades iniciais de 13 e 16%, durante nove meses

Tratamento	Tempo de Armazenamento (meses)	
	0	9
	Umidade 13%	
Controle	B 13,91 ± 0,12 a	B 12,32 ± 0,67 b
0 kJ.m ⁻²	B 13,94 ± 0,07 a	B 12,56 ± 0,53 b
4 kJ.m ⁻²	B 13,97 ± 0,34 a	B 12,59 ± 0,80 b
8 kJ.m ⁻²	B 13,86 ± 0,34 a	B 11,69 ± 0,64 b
Umidade 16%		
Controle	A 16,64 ± 0,33 a	A 15,27 ± 0,39 b
0 kJ.m ⁻²	A 16,84 ± 0,27 a	A 15,36 ± 0,32 b
4 kJ.m ⁻²	A 16,46 ± 0,46 a	A 15,22 ± 0,41 b
8 kJ.m ⁻²	A 16,50 ± 0,23 a	A 15,06 ± 0,69 b

* Médias aritméticas simples ± desvio padrão de três repetições, seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma coluna e minúsculas iguais na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

**Controle = grãos de milho não inoculados com fungos e não irradiados; 0 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m⁻²; 8 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m⁻².

A umidade dos grãos de milho não foi afetado nas diferentes pelas diferentes doses de radiação, independentemente da umidade inicial, 13% ou 16%. No entanto, após o armazenamento foram observadas reduções na umidade em todos os tratamentos quando comparados as amostras iniciais, variando de 12,59% (4 kJ. m⁻² /13%) a 11,69% (8 kJ. m⁻² /13%) e 15,36%(0 kJ. m⁻² /16%) a 15,06%(8 kJ. m⁻² /16%). Os resultados foram similares aos de Rehman et al. (2002) que reportaram reduções na umidade de 12,38% para 12,00%, 9,32% e 7,70%, respectivamente em temperaturas 10, 25 e 45°C ao final de 6 meses de armazenamento. Provavelmente essas reduções se devem ao aumento do metabolismo dos grãos durante o armazenamento e a liberação de água, associado à migração parcial de vapor de água do ambiente de armazenamento (embalagem) para o ambiente externo até obtenção de equilíbrio higroscópico (PARAGINSKI *et al.*, 2014).

Na Tabela 6 são apresentados os resultados obtidos para atividade de água dos grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados durante 9 meses em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C, com umidade de 13% e 16%.

Tabela 6 – Atividade de água de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses

Tratamento	Tempo de Armazenamento (meses)	
	0	9
Umidade 13%		
Controle	C 0,82 ± 0,00 a	D 0,80 ± 0,00 b
0 kJ.m ⁻²	C 0,83 ± 0,00 a	E 0,78 ± 0,00 b
4 kJ.m ⁻²	C 0,82 ± 0,00 a	CD 0,81 ± 0,00 b
8 kJ.m ⁻²	C 0,83 ± 0,01 a	ED 0,79 ± 0,00 b
Umidade 16%		
Controle	BC 0,85 ± 0,00 a	BC 0,82 ± 0,00 b
0 kJ.m ⁻²	AB 0,86 ± 0,01 a	AB 0,83 ± 0,00 b
4 kJ.m ⁻²	A 0,89 ± 0,00 a	A 0,84 ± 0,00 b
8 kJ.m ⁻²	BC 0,85 ± 0,00 a	ABC 0,82 ± 0,00 b

*Médias aritméticas simples ± desvio padrão de três repetições, seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma coluna e minúsculas iguais na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). **Controle = grãos de milho não inoculados com fungos e não irradiados; 0 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m⁻²; 8 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m⁻².

A atividade de água dos grãos de milho não foi afetada pelas diferentes doses de radiação. Porém, conforme esperado, os grãos armazenados a umidade de 16% apresentaram maior atividade de água quando comparado a umidade de 13%, já que a umidade dos grãos influencia diretamente este parâmetro, estando relacionado ao conteúdo de água dos grãos. Após o armazenamento foram observadas reduções na atividade de água para todos os tratamentos, quando comparados ao início do armazenamento, variando de 0,78 a 0,84. De acordo com Montross *et al.* (1999), os fatores mais importantes que influenciam a contaminação de grãos de milho armazenados por fungos e insetos são a atividade de água e a temperatura da massa de grãos, pois em condições ótimas podem favorecer o desenvolvimento dos mesmos.

Na Tabela 7 são apresentados os resultados obtidos para incidência fúngica de em grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados durante 9 meses em sistema semi-hermético, à temperatura de 25°C, com umidade de 13% e 16%.

Tabela 7 – Incidência fúngica (%) em grãos de milho tratados com radiação UV-C e armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses

Tratamento	<i>Aspergillus</i> (%)		<i>Fusarium</i> (%)		<i>Penicillium</i> (%)	
	Tempo de armazenamento (meses)					
	0	9	0	9	0	9
	Umidade 13%					
Controle	C 3,00 ± 2,82 b	A 96,50 ± 5,42 a	A 100,00 ± 0,00 a	BC 5,00 ± 8,21 b	C 11,00 ± 6,67 b	B 42,50 ± 15,55 a
0 kJ.m ⁻²	B 55,50 ± 14,57 b	A 100,00 ± 0,00 a	C 41,50 ± 10,23 a	A 21,00 ± 8,75 b	B 65,50 ± 8,26 b	A 100,00 ± 0,00 a
8 kJ.m ⁻²	A 84,50 ± 8,66 b	A 96,00 ± 3,02 a	CD 36,00 ± 11,90 a	AB 15,50 ± 5,83 b	A 92,50 ± 8,12 a	A 98,50 ± 2,97 a
	Umidade 16%					
Controle	C 6,50 ± 2,97 b	A 100,00 ± 0,00 a	A 100,00 ± 0,00 a	C 2,50 ± 2,97 b	C 13,50 ± 5,20 b	B 33,00 ± 12,42 a
0 kJ.m ⁻²	A 93,00 ± 6,67 a	A 98,50 ± 2,97 a	B 68,00 ± 11,31 a	A 23,00 ± 11,66 b	A 96,50 ± 5,42 a	A 100,00 ± 0,00 a
8 kJ.m ⁻²	A 87,50 ± 3,96 a	B 86,50 ± 9,05 a	D 26,00 ± 9,07 a	BC 9,00 ± 5,12 b	A 94,00 ± 5,65 a	A 98,50 ± 2,97 a

* Médias aritméticas simples ± desvio padrão de três repetições, seguidas por letras minúsculas iguais na mesma linha e maiúsculas iguais em cada coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). **Controle = grãos de milho não inoculados com fungos e não irradiados; 0 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m⁻²; 8 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m⁻².

Foram identificados 6 gêneros de fungos: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Cladosporium* e *Bipolaris*, embora apenas os dois primeiros tenham sido inoculados nas amostras. Os três últimos gêneros não apresentaram importância, já que se desenvolveram em amostras aleatórias e em proporção insignificante. O gênero *Aspergillus* e *Fusarium* (inoculados) e *Penicillium* (contaminação natural) foram os fungos de maior predominância.

A incidência de *Fusarium* (100%) foi maior do que *Aspergillus* e *Penicillium* nas amostras controles em ambas as unidades ao início do armazenamento, no entanto, para todos os tratamentos a incidência de *Fusarium* diminuiu enquanto a dos outros dois gêneros aumentou ou manteve-se a mesma ao final dos 9 meses de armazenamento.

A redução da incidência de *Fusarium* pode ser atribuída ao fato de este ser um gênero de fungos de campo, que não se desenvolve durante o armazenamento, uma vez que não são proporcionadas condições ideais de temperatura e umidade, exceto ocasionalmente, em milho armazenado com alto grau de umidade ou que foi reumidificado (MARCIA & LAZZARI, 1998). O inverso ocorre para os demais, já que os fungos *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. são conhecidos por colonizarem nos substratos com baixo teores de água (12,5%) (LAZZARI, 1997). A presença desses fungos são indicadores de deterioração de sementes e grãos causando danos ao gérmen, descoloração, alterações nutricionais, perda da matéria seca, além da possibilidade de produção de micotoxinas (MILLER, 1995; PINTO, 2005).

Os resultados obtidos para condutividade elétrica grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados durante 9 meses à temperatura de 25°C, em duas faixas de umidade, 13% e 16 estão dispostos na Figura 4.

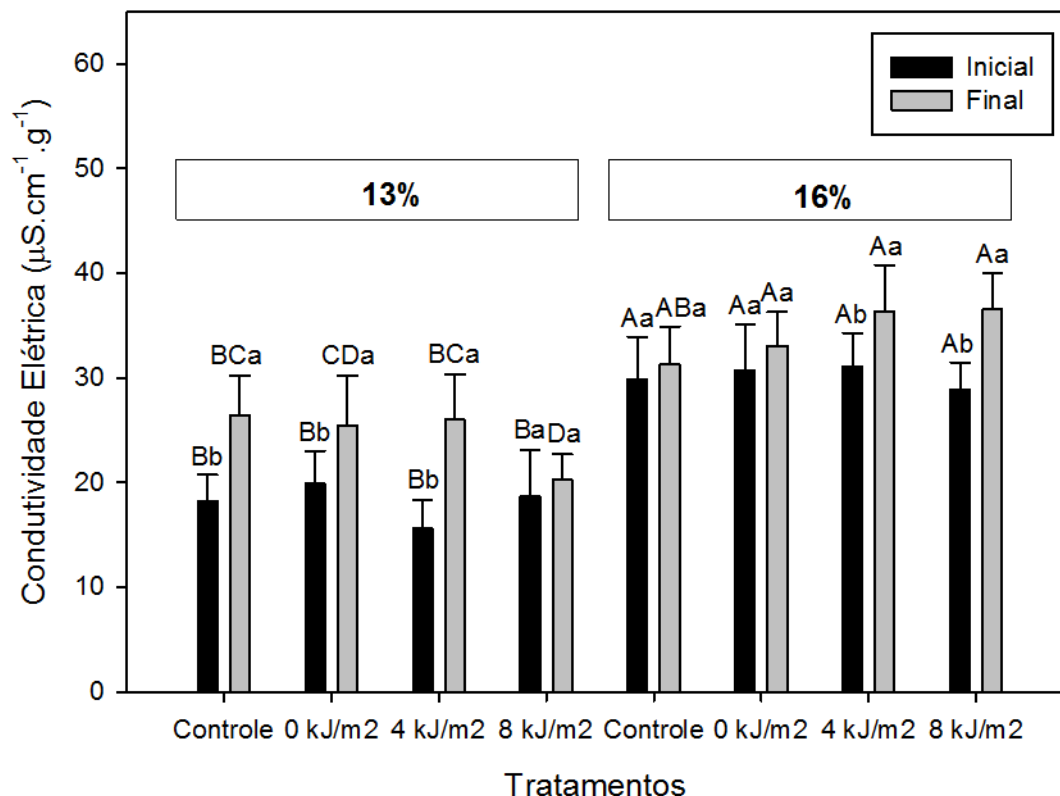


Figura 4 - Condutividade elétrica ($\mu\text{S.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$) de grãos de milho tratados com radiação UV-C e armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses. *Médias aritméticas simples $\pm$ desvio padrão de três repetições, seguidas por letras maiúsculas iguais no mesmo tempo de armazenamento e minúsculas iguais ao longo do armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). **Controle = grãos de milho não inoculados com fungos e não irradiados; 0 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m⁻²; 8 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m⁻².

A condutividade elétrica não foi afetada nas diferentes doses de radiação dos grãos de milho, porém a umidade de 16% apresentou maior condutividade elétrica quando comparado a umidade de 13%. Os maiores valores verificados em 16% de umidade pode ser explicado pela maior umidade, que proporciona ao grão de milho estrutura da parede celular mais relaxada, a qual favorece maior lixiviação de íons. A radiação UV-C não afetou a integridade da membrana celular, pois apresenta ação mais superficial quando comparada com a UV-B e UV-A, conforme relatado por Choudary & Bandla (2012). Após o armazenamento foram observados de maneira geral aumentos na condutividade elétrica dos grãos de milho quando comparados ao início do armazenamento, variando de 20,27 (8 kJ.m⁻²/13%) a 36,55 $\mu\text{S.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ (8 kJ.m⁻²/16%). O aumento da condutividade elétrica dos grãos ao longo do

armazenamento é indicativo de que ocorreu um processo de deterioração da membrana e da parede celular. De acordo com Coolbear (1995), os danos nas membranas podem ser resultantes da ocorrência de peroxidação de lipídeos, mudanças na composição dos ácidos graxos, perdas dos fosfolipídeos das membranas, mudanças ultraestruturais e consequente aumento na condutividade dos lixiviados.

Os resultados para peso de mil grãos obtidos para grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados durante 9 meses à temperatura de 25°C, em duas faixas de umidade, 13% e 16 estão dispostos na Tabela 8.

Tabela 8 – Peso de mil grãos (g) de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses

Tratamento	Tempo de Armazenamento (meses)	
	0	9
Umidade 13%		
Controle	B 301,55 ± 3,08 a	B 295,19 ± 2,13 b
0 kJ.m ⁻²	B 302,22 ± 3,51 a	BC 291,79 ± 3,97 b
4 kJ.m ⁻²	B 295,62 ± 0,62 a	C 284,75 ± 4,46 b
8 kJ.m ⁻²	B 302,61 ± 2,07 a	BC 292,16 ± 2,57 b
Umidade 16%		
Controle	A 347,97 ± 3,03 a	A 334,26 ± 1,66 b
0 kJ.m ⁻²	A 349,97 ± 5,06 a	A 338,29 ± 4,81 b
4 kJ.m ⁻²	A 350,67 ± 4,27 a	A 334,08 ± 1,34 b
8 kJ.m ⁻²	A 349,12 ± 3,60 a	A 340,23 ± 3,07 b

*Médias aritméticas simples ± desvio padrão de três repetições, seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma coluna e minúsculas iguais na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). **Controle = grãos de milho não inoculados com fungos e não irradiados; 0 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m⁻²; 8 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m⁻².

O peso de mil grãos dos grãos de milho não sofreu interferência das diferentes doses de radiação, porém foi observado maior peso de mil grãos para os grãos armazenados com 16 % de umidade, sendo este resultado atribuído a maior umidade dos grãos, portanto maior conteúdo de água. Após o armazenamento foram observadas reduções no peso de mil grãos dos grãos de milho quando comparados ao início do armazenamento, variando de 340,23 (8 kJ.m⁻²/16%) a 284,75 (4 kJ.m⁻²/13%). Os resultados encontrados estão de acordo com Paraginski *et al.* (2015) e Antunes *et al.* (2011), que observaram redução no peso de mil grãos ao avaliar grãos de milho durante o armazenamento. A redução no peso de mil grãos é

atribuída à redução na umidade dos grãos ao longo do período e também à atividade respiratória dos grãos, que provoca o consumo de suas reservas. Segundo Antunes *et al.* (2011), o ataque de insetos e fungos podem promover a redução da massa de grãos.

Os resultados para peso volumétrico obtidos para grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados durante 9 meses à temperatura de 25°C, em duas faixas de umidade, 13% e 16 estão dispostos na Tabela 9.

Tabela 9 – Peso volumétrico (kg.m³) de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses

Tratamento	Tempo de Armazenamento (meses)	
	0	9
	Umidade 13%	
Controle	A 746,60 ± 2,86 b	AB 767,83 ± 3,97 a
0 kJ.m ⁻²	A 747,39 ± 3,16 c	AB 768,48 ± 4,08 a
4 kJ.m ⁻²	A 751,70 ± 4,06 bc	B 763,65 ± 3,43 a
8 kJ.m ⁻²	A 750,71 ± 3,61 c	A 773,86 ± 3,73 a
Umidade 16%		
Controle	C 682,42 ± 2,78 b	D 701,92 ± 3,76 a
0 kJ.m ⁻²	C 678,59 ± 5,51 c	D 702,31 ± 4,55 a
4 kJ.m ⁻²	C 677,72 ± 3,69 c	C 710,45 ± 3,95 a
8 kJ.m ⁻²	B 689,10 ± 4,34 c	C 712,24 ± 3,82 a

*Médias aritméticas simples ± desvio padrão de três repetições, seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma coluna e minúsculas iguais na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). **Controle = grãos de milho não inoculados com fungos e não irradiados; 0 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m⁻²; 8 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m⁻².

O peso volumétrico dos grãos de milho não foi afetado pelas diferentes doses de radiação, porém foi observado menor peso volumétrico na umidade de 16% quando comparado a umidade de 13%. Grãos com menor umidade apresentam menor tamanho e aderência, o que favorece melhor acomodação dos grãos, justificando o maior peso por volume. Segundo Brooker *et al.* (1992), o peso volumétrico está inversamente relacionado com o teor de água dos grãos. Após o armazenamento foram observados aumentos no peso volumétrico dos grãos em ambas umidades, independentemente da dose de radiação. Os resultados estão de acordo com Paraginski (2013), que observou aumento no peso volumétrico de grãos de milho ao final de 12 meses de armazenamento.

Na Tabela 10, 11 e 12 estão apresentados o teor de proteínas, lipídeos e cinzas, respectivamente, de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C, com umidades de 13 e 16%, durante nove meses.

De maneira geral não foram observadas alterações no teor de proteína bruta, lipídeos e cinzas em ambas as umidades de armazenamento, independentemente da dose de radiação. Estes resultados podem ser justificados por estarem expressos em base seca, excluindo a interferência da umidade. A radiação não influenciou a composição química, pois segundo Choudary & Bandla (2012) a radiação UV-C apresenta ação mais superficial.

Tabela 10 – Teor de proteína bruta (%) de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses

Tratamento	Tempo de Armazenamento (meses)	
	0	9
Umidade 13%		
Controle	A 8,35 ± 0,18 a	A 8,19 ± 0,23 a
0 kJ.m ⁻²	A 8,03 ± 0,31 a	B 7,29 ± 0,39 b
4 kJ.m ⁻²	A 8,14 ± 0,46 a	B 7,39 ± 0,48 b
8 kJ.m ⁻²	A 8,05 ± 0,40 a	B 7,31 ± 0,48 b
Umidade 16%		
Controle	A 8,17 ± 0,28 a	A 8,10 ± 0,13 a
0 kJ.m ⁻²	A 8,05 ± 0,32 a	B 7,48 ± 0,50 b
4 kJ.m ⁻²	A 7,92 ± 0,42 a	B 7,47 ± 0,39 a
8 kJ.m ⁻²	A 8,14 ± 0,51 a	B 7,44 ± 0,30 b

*Médias aritméticas simples ± desvio padrão de três repetições, seguidas por letras minúsculas na mesma coluna para cada tratamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). **Controle = grãos de milho não inoculados com fungos e não irradiados; 0 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m⁻²; 8 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m⁻².

Tabela 11 – Teor de lipídeos (%) de grãos de milho com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses

Tratamento	Tempo de Armazenamento (meses)	
	0	9
	Umidade 13%	
Controle	AB 5,08 ± 0,15 a	AB 4,64 ± 0,25 b
0 kJ.m ⁻²	AB 5,17 ± 0,07 a	CD 3,78 ± 0,23 b
4 kJ.m ⁻²	AB 4,90 ± 0,78 a	CD 3,68 ± 0,44 b
8 kJ.m ⁻²	AB 4,75 ± 0,05 a	BC 4,05 ± 0,04 b
Umidade 16%		
Controle	A 5,41 ± 0,14 a	A 5,12 ± 0,19 b
0 kJ.m ⁻²	B 4,51 ± 0,34 a	D 3,36 ± 0,56 b
4 kJ.m ⁻²	AB 4,92 ± 0,62 a	CD 3,95 ± 0,42 b
8 kJ.m ⁻²	AB 5,11 ± 0,33 a	BC 4,18 ± 0,25 b

*Médias aritméticas simples ± desvio padrão de três repetições, seguidas por letras minúsculas na mesma coluna para cada tratamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). **Controle = grãos de milho não inoculados com fungos e não irradiados; 0 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m⁻²; 8 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m⁻².

Tabela 12 – Teor de cinzas (%) de grãos de milho com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses

Tratamento	Tempo de Armazenamento (meses)	
	0	9
	Umidade 13%	
Controle	A 1,12 ± 0,05 a	AB 1,07 ± 0,05 a
0 kJ.m ⁻²	A 1,05 ± 0,03 a	AB 1,00 ± 0,01 b
4 kJ.m ⁻²	A 1,07 ± 0,09 a	B 1,01 ± 0,04 a
8 kJ.m ⁻²	A 1,16 ± 0,06 a	AB 1,11 ± 0,06 a
	Umidade 16%	
Controle	A 1,16 ± 0,07 a	AB 1,13 ± 0,08 a
0 kJ.m ⁻²	A 1,14 ± 0,06 a	A 1,15 ± 0,09 a
4 kJ.m ⁻²	A 1,13 ± 0,11 a	AB 1,13 ± 0,09 a
8 kJ.m ⁻²	A 1,18 ± 0,08 a	AB 1,13 ± 0,06 a

*Médias aritméticas simples ± desvio padrão de três repetições, seguidas por letras minúsculas na mesma coluna para cada tratamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). **Controle = grãos de milho não inoculados com fungos e não irradiados; 0 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m⁻²; 8 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m⁻².

Após o armazenamento foram observadas reduções no teor de proteína bruta e lipídeos nos tratamentos 0, 4 e 8 kJ.m⁻², quando comparados aos seus respectivos controles. No entanto o teor de cinzas não foi alterado independentemente da dose

de radiação e tempo de armazenamento. As alterações observadas nos tratamentos 0, 4 e 8 kJ.m⁻² podem ser justificadas porque estes tratamentos receberam inóculos de fungos, os quais participam de reações de deterioração dos grãos durante o armazenamento. Segundo Zadernowski *et al.* (1999) a presença de fungos nos grãos de milho ocasiona a intensa atividade metabólica, sendo os lipídeos, a primeira fração dos grãos a ser degradada. Os fungos produzem enzimas lipases, que degradam os lipídios a ácidos graxos livres, para utilização como fonte de energia para o seu próprio metabolismo.

A acidez de lipídeos de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C, com umidades de 13 e 16%, durante nove meses estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 – Teor de acidez lipídica (mg de NaOH.g⁻¹ de óleo) de grãos de milho com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C, e umidades de 13 e 16%, durante nove meses

Tratamento	Tempo de Armazenamento (meses)	
	0	9
Umidade 13%		
Controle	B 5,73 ± 0,84 b	E 9,76 ± 0,77 a
0 kJ.m ⁻²	B 8,36 ± 0,92 b	D 20,44 ± 1,86 a
4 kJ.m ⁻²	B 8,65 ± 0,98 b	C 23,94 ± 1,60 a
8 kJ.m ⁻²	B 8,70 ± 0,67 b	B 27,04 ± 0,94 a
Umidade 16%		
Controle	B 7,43 ± 0,26 b	E 10,57 ± 0,18 a
0 kJ.m ⁻²	A 18,46 ± 1,63 b	A 32,15 ± 1,42 a
4 kJ.m ⁻²	A 15,35 ± 4,24 b	B 28,93 ± 0,74 a
8 kJ.m ⁻²	A 16,03 ± 3,35 b	A 31,60 ± 2,09 a

*Médias aritméticas simples ± desvio padrão de três repetições, seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma coluna e minúsculas iguais na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). **Controle = grãos de milho não inoculados com fungos e não irradiados; 0 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m⁻²; 8 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m⁻².

Na umidade de 13% não foram observadas alterações na acidez lipídica, no entanto para umidade de 16% foram observados aumentos em todas as doses de radiação UV-C, quando comparado ao controle. De acordo com Kolakowska (2003), a radiação UV-C inicia a oxidação de radicais livres e forma radicais lipídicos, radical superóxido (O₂) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂), que se ligam aos carboidratos e proteínas, e a peroxidação de ácidos graxos insaturados, causando a danos às membranas celulares, sendo mais evidenciados em doses elevadas.

Após o armazenamento foram observados aumentos na acidez lipídica dos grãos de milho em ambas as umidades, independentemente da dose de radiação utilizada, sendo os teores de acidez mais elevados quando comparados aos controles. Estes resultados podem ser explicados porque nos tratamentos 0, 4 e 8 kJ.m⁻² os grãos de milho foram inoculados com fungos antes do armazenamento. Segundo Zadernowski *et al.* (1999) e Treichel *et al.* (2010) os fungos filamentosos, como *Aspergillus sp.*, são produtores de lipases, enzimas que podem catalisar reações de hidrólise parcial ou total de triacilgliceróis em ácidos graxos livres, mono e diacilgliceróis, para utilização como fonte de energia para o seu próprio metabolismo. Para Gregory *et al.* (2008), as alterações de degradação lipídica ocorrem por hidrólise e oxidação, resultando em aumento do teor de ácidos graxos livres e, portanto, acidez dos lipídeos. O teor de acidez dos lipídeos é uma variável de grande importância, já que durante o armazenamento as alterações ocorrem mais rapidamente nos lipídeos, quando comparados ao amido e às proteínas (GENKAWA *et al.*, 2008).

A solubilidade das proteínas dos grãos submetidos à radiação UV-C, armazenados, em sistema semi-hermético, com 13 e 16% de umidade, durante 9 meses está apresentada na Tabela 14.

Tabela 14 – Solubilidade proteica (%) de grãos de tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses.

Tratamento	Tempo de Armazenamento (meses)	
	0	9
Umidade 13%		
Controle	A 45,63 ± 2,00 a	AB 32,58 ± 3,37 b
0 kJ.m ⁻²	A 45,68 ± 1,63 a	AB 29,18 ± 2,35 b
4 kJ.m ⁻²	AB 40,08 ± 1,24 a	AB 29,35 ± 4,17 b
8 kJ.m ⁻²	A 44,89 ± 3,10 a	A 37,24 ± 5,12 a
Umidade 16%		
Controle	AB 42,54 ± 1,90 a	B 26,11 ± 3,49 b
0 kJ.m ⁻²	B 37,57 ± 1,35 a	AB 27,93 ± 2,24 b
4 kJ.m ⁻²	A 44,07 ± 2,54 a	AB 28,22 ± 2,65 b
8 kJ.m ⁻²	AB 42,75 ± 2,79 a	AB 34,60 ± 2,24 b

*Médias aritméticas simples ± desvio padrão de três repetições, seguidas por letras maiúsculas iguais na mesma coluna e minúsculas iguais na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). **Controle = grãos de milho não inoculados com fungos e não irradiados; 0 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m⁻²; 8 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m⁻².

A solubilidade proteica não foi afetada pelas diferentes doses de radiação e umidades. No entanto, após o armazenamento foram verificadas reduções na solubilidade proteica em ambas umidades e doses de radiação utilizadas, sendo as menores reduções na solubilidade proteica foram observadas no tratamento 8 kJ.m⁻², apresentando valores de 37,24% (13% de umidade) e 34,60% (16% de umidade). A redução da solubilidade proteica, segundo Sirisoontaralak & Noomhorm (2007) ocorrem através das interações coloidais entre amido e proteína, que formam uma estrutura física mais estável, insolúvel em água durante o armazenamento. Teo *et al.* (2000), em estudo realizado com farinha de arroz, encontrou resultados que afirmam que um pequeno aumento em ligações dissulfídicas com as proteínas podem acarretar em redução da solubilidade e afetar o processo de gelatinização da farinha.

Os resultados da classificação de defeitos graves e leves dos grãos de milho estão dispostos na Tabela 15 e 16, respectivamente. Os grãos fermentados e mofados aumentaram em todos os tratamentos, inclusive o controle, sendo que para os tratamentos com radiação UV-C o aumento foi de menor proporção, mesmo quando comparado ao tratamento sem inóculo de fungo (controle), demonstrando que a radiação pode ter sido eficaz como método de controle de desenvolvimento fúngico.

Tabela 15 – Incidência de defeitos graves (%) em grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses

Tratamento	Fermentados (%)		Ardidos (%)		Mofados (%)	
	Tempo de Armazenamento (meses)					
	0	9	0	9	0	9
Umidade 13 %						
Controle	C 5,81 ± 1,10 b	CD 21,12 ± 1,02 a	A 0,50 ± 0,11 b	AB 1,01 ± 0,02 a	C 3,6 ± 0,90 b	E 6,46 ± 0,68 a
0 kJ.m ⁻²	C 6,62 ± 0,72 b	CD 23,78 ± 1,90 a	A 0,71 ± 0,27 a	A 1,37 ± 0,42 a	C 3,45 ± 1,81 b	E 10,46 ± 2,95 a
4 kJ.m ⁻²	BC 15,99 ± 2,71 b	B 38,06 ± 7,42 a	A 1,81 ± 0,68 a	AB 0,68 ± 0,47 a	C 3,12 ± 1,40 b	DE 18,67 ± 4,69 a
8 kJ.m ⁻²	C 9,19 ± 1,14 b	D 17,08 ± 2,15 a	A 0,72 ± 0,27 a	AB 1,13 ± 0,31 a	C 2,59 ± 0,38 b	E 7,94 ± 0,14 a
Umidade 16 %						
Controle	B 16,82 ± 2,60 b	CD 26,35 ± 2,75 a	A 0,51 ± 0,07 b	AB 1,13 ± 0,14 a	BC 8,4 ± 1,31 b	D 26,46 ± 4,75 a
0 kJ.m ⁻²	B 23,48 ± 5,32 a	BC 28,02 ± 3,36 a	A 0,55 ± 0,11 a	B 0,38 ± 0,02 a	B 9,98 ± 0,92 b	C 44,66 ± 7,44 a
4 kJ.m ⁻²	A 56,47 ± 11,64 a	A 63,58 ± 2,31 a	A 1,60 ± 0,91 a	AB 1,07 ± 0,59 a	A 19,17 ± 3,05 b	A 114,43 ± 7,85 a
8 kJ.m ⁻²	B 25,02 ± 0,89 a	BC 30,75 ± 5,26 a	A 0,98 ± 0,54 a	AB 0,82 ± 0,31 a	B 11,47 ± 4,28 b	B 62,45 ± 3,52 a

*Médias aritméticas simples ± desvio padrão de três repetições, seguidas por letras minúsculas na mesma coluna e maiúscula no mesmo tempo de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,5). **Controle = grãos de milho não inoculados com fungos e não irradiados; 0 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m⁻²; 8 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m⁻².

Tabela 16 – Incidência de defeitos leves (%) em grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses

Tratamento	Chocho (%)		Germinado (%)		Carunchado (%)	
	Tempo de Armazenamento (meses)					
	0	9	0	9	0	9
	Umidade 13 %					
Controle	A 0, 00 ± 0,00 a	A 0,00 ± 0,00 a	A 0,08 ± 0,14 a	A 0,11 ± 0,10 a	ABC 1,28 ± 0,05 a	B 1,15 ± 0,08 a
0 kJ.m ⁻²	A 0,00 ± 0,00 a	A 0,01 ± 0,02 a	A 0,18 ± 0,15 a	A 0,12 ± 0,11 a	AB 1,55 ± 0,39 a	B 1,42 ± 0,75 a
4 kJ.m ⁻²	A 0,08 ± 0,00 a	A 0,27 ± 0,29 a	A 0,46 ± 0,26 a	A 0,32 ± 0,14 a	A 2,30 ± 0,19 a	A 3,64 ± 1,32 a
8 kJ.m ⁻²	A 0,02 ± 0,02 a	A 0,01 ± 0,02 a	A 0,32 ± 0,32 a	A 0,07 ± 0,13 a	A 1,70 ± 0,31 a	AB 1,85 ± 0,58
Umidade 16 %						
Controle	A 0,03 ± 0,04 a	A 0,00 ± 0,00 a	A 0,11 ± 0,02 a	A 0,15 ± 0,05 a	C 0,27 ± 0,33 a	B 0,82 ± 0,60 a
0 kJ.m ⁻²	A 0,00 ± 0,00 a	A 0,00 ± 0,00 a	A 0,03 ± 0,06 b	A 0,39 ± 0,10 a	C 0,34 ± 0,30 a	AB 2,04 ± 1,04 a
4 kJ.m ⁻²	A 0,00 ± 0,00 a	A 0,10 ± 0,18 a	A 0,08 ± 0,13 a	A 0,20 ± 0,25 a	A 1,60 ± 0,91 a	B 1,07 ± 0,59 a
8 kJ.m ⁻²	A 0,04 ± 0,01 a	A 0,00 ± 0,00 b	A 0,30 ± 0,14 a	A 0,05 ± 0,09 a	BC 0,43 ± 0,09 a	B 0,22 ± 0,19 a

*Médias aritméticas simples ± desvio padrão de três repetições, seguidas por letras minúsculas na mesma coluna e maiúscula no mesmo tempo de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,5). **Controle = grãos de milho não inoculados com fungos e não irradiados; 0 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m⁻²; 8 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m⁻²

Para os grãos armazenados com 16% de umidade ocorreu aumento de grãos mofados ao final do armazenamento em todos os tratamentos. Os grãos fermentados aumentaram ao final período de armazenamento para o tratamento controle, no entanto para os demais tratamentos não ocorreu variação, provavelmente porque os grãos ora fermentados ao início do armazenamento evoluíram para o defeito mofado ao longo do período. Os demais defeitos dos grãos armazenados não sofreram variação, exceto no tratamento controle, onde grãos ardidos e fermentados aumentaram ao final de 9 meses.

O teor de grãos carunchados não apresentou variação de valores. Os grãos chochos diminuíram para o tratamento irradiado dos grãos com umidade acima da recomendada para o armazenamento. Observou-se o aumento de grãos germinados no tratamento 0 kJ.m⁻² s dos grãos com umidade acima da recomendada, que se atribui além da presença de água, que é essencial à germinação, à ausência de radiação, que é um inibidor da mesma. No entanto, o mesmo não ocorreu para o tratamento controle (sem inóculo fúngico e sem radiação). As maiores diferenças foram observadas nos defeitos fermentados e mofados.

Os resultados de parâmetros colorimétricos são apresentados na Tabela 17. Foram observadas mínimas alterações no valor a* e valor b* nos grãos de milho, independentemente da umidade, dose de radiação UV-C e tempo de armazenamento. Para o valor L* foram observadas reduções nos grãos de milho somente após o armazenamento na umidade de 16%, com valores variando de 58,45 (0 kJ.m⁻²) a 55,77 (8 kJ.m⁻²). Essa redução no valor L* provavelmente seja oriunda da maior concentração de fungos (Tabela 7) que resultaram no aumento de defeitos nos grãos (Tabela 15). A radiação não influenciou os parâmetros colorimétricos “a” e “b”. O parâmetro “b” apresentou diferença apenas ao final do armazenamento para os grãos irradiados com 4 kJ.m⁻² aos 9 meses de armazenamento, independente da faixa de umidade dos grãos, no entanto, os grãos armazenados com umidade acima da recomendada apresentaram o menor valor de “b”.

Tabela 17 – Valor L^* , a^* e b^* da cor de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses

Tratamento	Valor L*		Valor a*		Valor b*	
	Tempo de armazenamento (meses)					
	0	9	0	9	0	9
Umidade 13%						
Controle	A 60,68 ± 5,02 a	AB62,72 ± 3,71 a	AB 5,44 ± 2,42 a	A 4,91 ± 2,72 a	A 34,10 ± 4,73 a	AB 34,92 ± 4,42 a
0 kJ.m ⁻²	A 61,55 ± 5,30 a	AB65,56 ± 6,48 a	AB 5,65 ± 2,70 a	A 5,19 ± 3,09 a	A 34,04 ± 7,24 a	AB 33,85 ± 7,94 a
4 kJ.m ⁻²	A 62,93 ± 7,41 a	A 64,43 ± 6,22 a	A 6,53 ± 2,87 a	A 5,40 ± 2,65 a	A 38,13 ± 8,09 a	A 37,69 ± 7,11 a
8 kJ.m ⁻²	A 61,62 ± 6,07 a	AB 61,72 ± 6,04 a	AB 5,06 ± 2,00 a	A 5,78 ± 3,77 a	A 36,55 ± 7,17 a	AB 35,07 ± 9,80 a
Umidade 16%						
Controle	A 60,09 ± 3,99 a	BC 57,80 ± 3,83 b	AB 5,02 ± 1,84 a	A 4,45 ± 1,75 a	A 36,43 ± 7,80 a	AB 32,44 ± 6,41 a
0 kJ.m ⁻²	A 61,26 ± 6,36 a	BC 58,45 ± 5,61 ab	AB 4,80 ± 2,03 a	A 4,32 ± 2,02 a	A 36,85 ± 7,89 a	AB 32,26 ± 7,65 a
4 kJ.m ⁻²	A 60,06 ± 6,93 a	C 56,08 ± 6,30 a	B 3,75 ± 2,19 a	A 4,27 ± 2,20 a	A 35,07 ± 10,43 a	B 30,90 ± 7,10 a
8 kJ.m ⁻²	A 60,83 ± 7,18 a	C 55,77 ± 7,00 b	AB 5,11 ± 2,44 a	A 4,98 ± 2,12 a	A 36,31 ± 9,28 a	AB 31,31 ± 6,33 a

*Médias aritméticas simples ± desvio padrão de três repetições, seguidas por letras minúsculas na mesma coluna e maiúscula no mesmo tempo de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). **Controle = grãos de milho não inoculados com fungos e não irradiados; 0 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m⁻²; 8 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m⁻².

O teor de compostos fenólicos livres nos grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados com 13 e 16% de umidade durante 9 meses está apresentado na Figura 5.

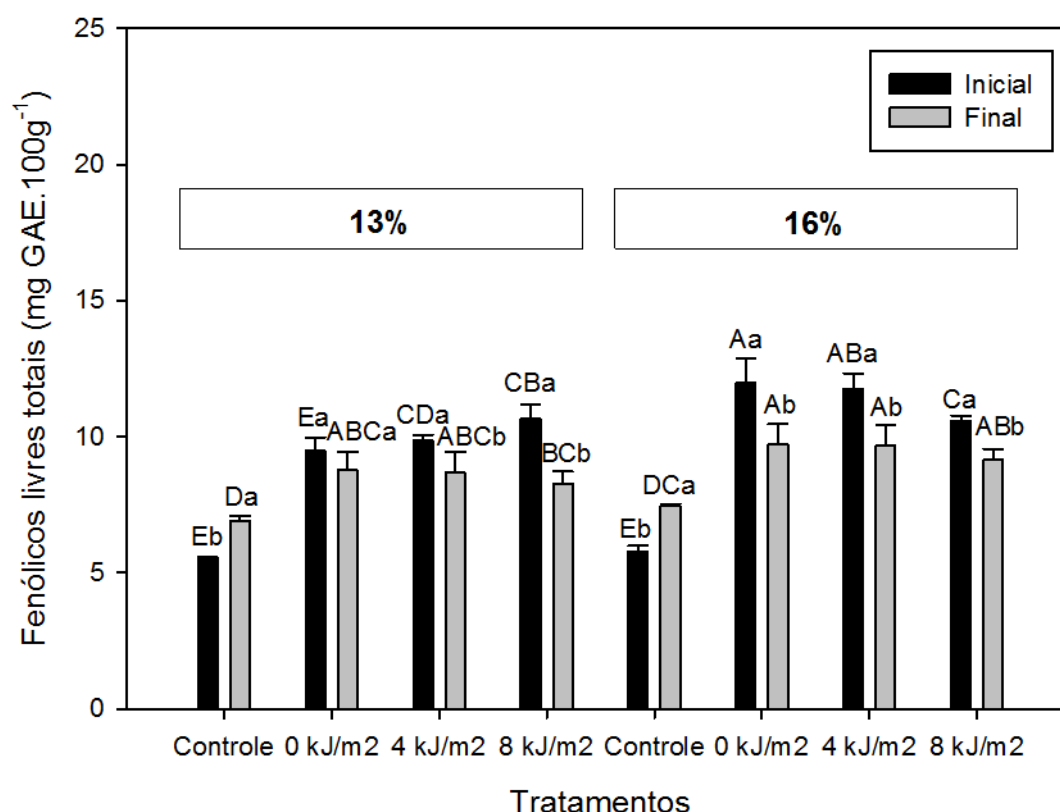


Figura 5 – Teor de compostos fenólicos livres totais (mg GAE.100g amostra⁻¹) de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses.

*Médias aritméticas simples $\pm$ desvio padrão de três repetições, seguidas por letras maiúsculas iguais no mesmo tempo de armazenamento e minúsculas iguais ao longo do armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). **Controle = grãos de milho não inoculados com fungos e não irradiados; 0 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m⁻²; 8 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m⁻².

No início do armazenamento foram observados aumentos no teor de compostos fenólicos livres nos tratamentos 0, 4 e 8 kJ.m⁻², em ambas umidades 13 e 16%, quando comparados aos controles. Este comportamento pode ser justificado, pois os tratamentos 0, 4 e 8 kJ.m⁻² foram inoculados com fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Fusarium*, sendo deixados por 7 dias em condições ótimas

de crescimento (25 °C / 80% UR). Possivelmente este período foi suficiente para produção de compostos fenólicos livres, devido a elevada contaminação fúngica observada nos tratamentos 0, 4 e 8 kJ.m⁻² (Tabela 7). Segundo Dueñas et al. (2012) a fermentação de soja com *Rhizopus oryzae* a 30 °C durante 48 horas promove o aumento de 293,1% no ácido vanílico.

Após o período de 9 meses foram observados aumentos no teor de compostos fenólicos livres nos tratamentos controles, em ambas as umidades de armazenamento. O aumento do teor de compostos fenólicos livres está associado ao aumento na contaminação fúngica ao longo do armazenamento, já que compostos fenólicos são moléculas importantes produzidas e/ou liberadas para inibir a contaminação fúngica (Tabela 7). Para os tratamentos 0, 4 e 8 kJ.m⁻² foram observadas reduções no teor de compostos fenólicos livres totais ao final do armazenamento quando comparadas respectivamente às amostras iniciais. Nestes tratamentos foram observadas elevadas concentrações de fungos no início do armazenamento, o que pode justificar a redução devido a maior danificação celular (Figura 5) e utilização dos compostos fenólicos na inibição de processos oxidativos, pois o aumento dos ácidos graxos livres (Tabela 13) favorece também o aumento da oxidação (KIM et al, 2014).

A interação de microrganismos associados com grãos durante o armazenamento e a produção de compostos fenólicos, ainda não está totalmente elucidada. Conforme reportado por Ziegler et al. (2016) o aumento dos compostos fenólicos pode ser resultado da associação do grão com o aumento da atividade enzimática de microrganismos que promovem maior extratibilidade dos compostos fenólicos. Outra possível explicação é a síntese destes compostos pelos microrganismos. Qin et al. (2010) reportaram um aumento de 27,3%, 47,4%, e 21,4% no teor de compostos fenólicos totais de soja preta fermentada por *Issatchenkia orientalis*, *Bacillus sp.* and *Aspergillus sp.*, respectivamente. Outros autores também confirmam que os compostos fenólicos são importantes no controle de fungos, por sua ação antioxidante e de inibição enzimática, destacando-se os ácidos gálicos e ferúlicos (TELLES et al., 2017; PAGNUSSATT et al., 2014),

A Figura 6 apresenta os resultados para o teor de aflatoxinas B1 e B2 em grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados, com 13 e 16% de umidade, durante 9 meses realizado por cromatografia líquida de alto desempenho com espectrometria de massas.

Foram identificados as aflatoxinas B1 e B2 em todos os tratamentos, sendo encontradas no início do armazenamento em baixas concentrações para ambas as umidades e doses de radiação utilizadas. Após o armazenamento foi observada a predominância da aflatoxina B1 em elevadas concentrações, sendo as maiores concentrações observadas na dose de 8 kJ.m^{-2} . Resultados diferentes de Liu *et al.* (2011) que reportaram degradação completa de aflatoxina B1, em óleo de amendoim submetido a 30 minutos de radiação UV sob a intensidade de 800 mw.cm^{-2} (8 kJ.m^{-2}) com comprimento de onda de 220 à 400 nm (UV-A). Segundo Atalla *et al.* (2004), a radiação UV-C (254nm) é mais efetiva sobre a degradação de aflatoxinas, no entanto, a radiação UV-A apresenta melhores resultados principalmente pelo seu maior poder de penetração no alimento.. Além disso, outro fator que pode influenciar a degradação de aflatoxinas é o estado do alimento irradiado, se líquido ou sólido (TRIPATHI & MISHRA, 2010).

Segundo Lazzari (1997), as espécies de *Aspergillus* produtoras de aflatoxinas necessitam de teor de água na faixa de 17,5% a 18,5% para produzir as toxinas, no entanto foram identificados teores de aflatoxina B1 tanto nas amostras com 13% de umidade, quanto 16%, observando-se aumento no teor ao final do período de armazenamento, sendo que o maior valor encontrado foi de 184,50 ppb ($\mu\text{g.kg}^{-1}$). O mesmo comportamento foi observado para aflatoxina B2, exceto no tratamento 16% de umidade irradiado, quando o teor reduziu.

Os resultados do teor de aflatoxinas obtidos por Quickscan (Figura 7) apresentaram o mesmo comportamento dos resultados obtidos pelo método cromatográfico, ou seja, o aumento de aflatoxinas ao final dos 9 meses. Entretanto, ocorreram diferenças de valores entre os métodos, o que pode ser atribuído à forma de obtenção do extrato de grãos de milho em cada método, à amostragem e a sensibilidade dos métodos. Além disso, o método Quickscan tem um limite máximo de detecção, sendo que para todos os tratamentos aos 9 meses de armazenamento, o valor para aflatoxinas obtido foi superior a esse limite. Segundo Dilkin *et al.* (2000), análises de micotoxinas são muito dependentes de amostragem, e a reprodutibilidade dos resultados é difícil.

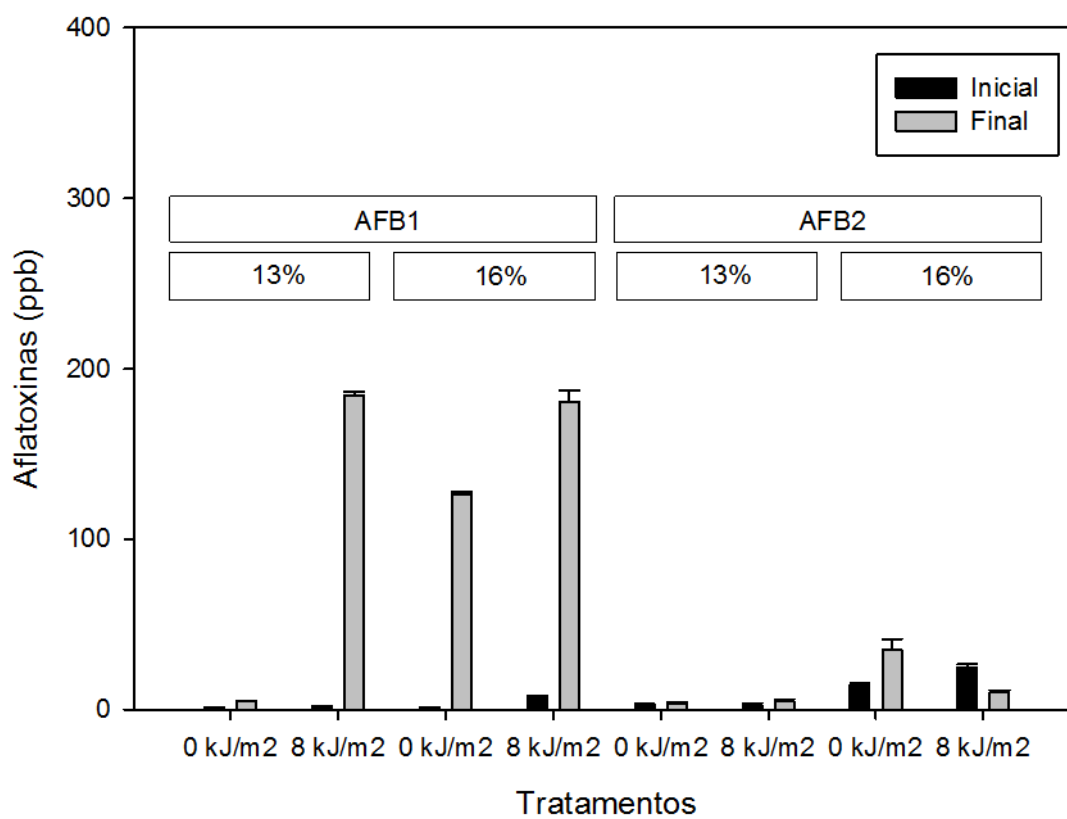


Figura 6 – Teores de aflatoxinas B1 e B2 (ppb) de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses. **Controle = grãos de milho não inoculados com fungos e não irradiados; 0 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m⁻²; 8 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m⁻².

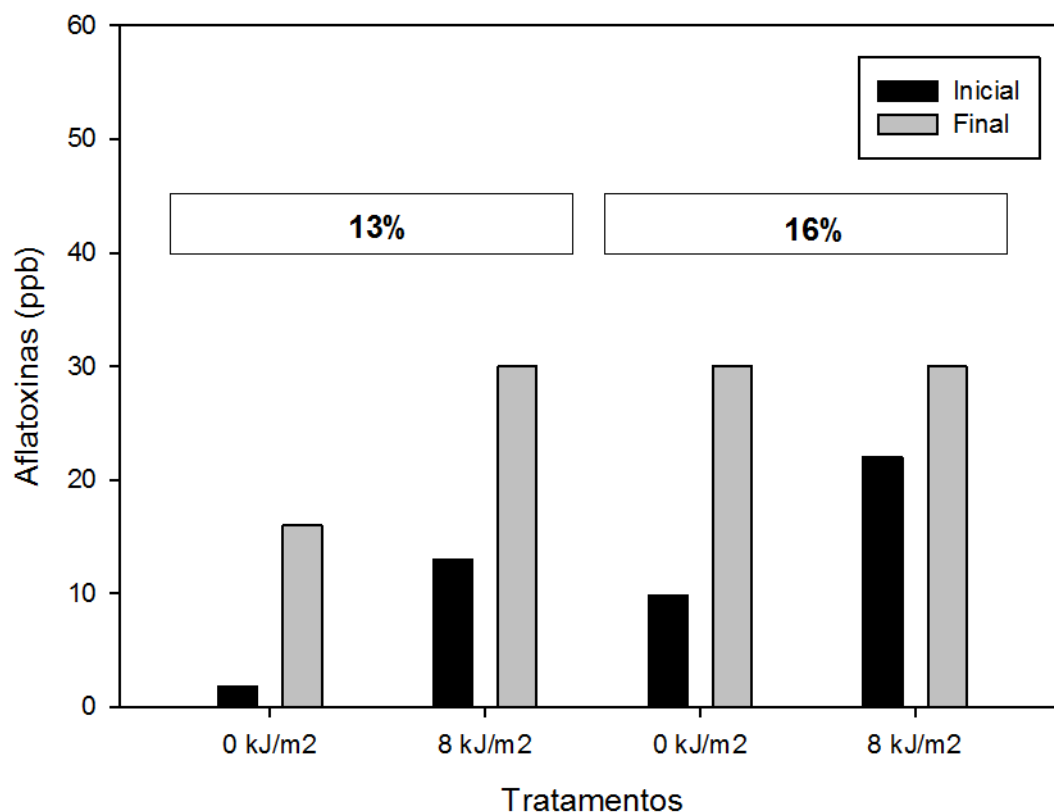


Figura 7 – Teores de aflatoxinas (ppb) de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses. **Controle = grãos de milho não inoculados com fungos e não irradiados; 0 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m⁻²; 8 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m⁻².

3.4 Conclusões

A radiação UV-C nas doses utilizadas associada à umidade dos grãos e o tempo e armazenamento apresentou influência sobre os parâmetros avaliados. A associação de elevada umidade, maior dose de radiação e armazenamento por longo prazo apresentou aumento sobre os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, condutividade elétrica, acidez lipídica, mofados, ardidos e fermentados, e redução sobre os fungos do gênero *Fusarium*, solubilidade proteica, teor de lipídeos e valor L. Os compostos fenólicos apresentaram maior concentração nos grãos inoculados com fungos (0, 4 e 8 kJ.m⁻²). As micotoxinas foram encontradas em maior concentração após o armazenamento, em grãos irradiados com dose de 8 kJ.m⁻² e a umidade de 16%.

4. Capítulo 2 – Qualidade do amido extraído de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados durante nove meses

4.1 Introdução

A principal fonte botânica utilizada para extração de amido é o milho, representando mais de 80% do mercado mundial (JOBLING, 2004). O amido é o principal constituinte dos grãos de milho, aproximadamente 72-73% do total (SANDHU et al., 2007). Entre todos os tipos de amidos, o amido de milho é um ingrediente importante na elaboração de produtos alimentares, e tem sido amplamente utilizado como espessante, estabilizante coloidal, gelificante, na retenção de água e como adesivo (SINGH et al., 2003).

Devido à grande importância dos grãos de milho para produção de amido, estes precisam ser limpos, secos e armazenados ao longo do ano para permitirem a utilização industrial. A qualidade do amido está intimamente ligada à qualidade do armazenamento dos grãos de milho, que por sua vez, está relacionada com a qualidade inicial dos grãos, e fatores como temperatura, umidade dos grãos, umidade relativa do ar, atmosfera de armazenamento, teor de grãos quebrados, teor de impurezas, presença de micro-organismos, insetos, ácaros e tempo de armazenamento. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade do amido extraído de grãos de milho tratados com radiação UV-C e armazenados com 13% e 16% de teor de água inicial, sendo a radiação utilizada como um método alternativo de controle de incidência fúngica nos grãos.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Condições experimentais

Foram utilizados grãos de milho produzidos na região sul do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, provenientes da safra do ano agrícola 2013/2014, colhidos mecanicamente com umidade próxima a 23%, e transportados para o Laboratório de Pós-Colheita, Industrialização e Qualidade de Grãos, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial - DCTA, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel” - FAEM, Universidade Federal de Pelotas – UFPel, onde foi conduzido o experimento. Os grãos foram secados em secador estacionário protótipo até a obtenção das umidades de 13% e 16%, com temperatura do ar de secagem de

35°C. Foi realizado expurgo com fosfeto de alumínio a fim de evitar a interferência de insetos no experimento.

Amostras de 1kg de grãos de milho foram inoculadas com 5 grãos contaminados com cepa de *Aspergillus flavus* e 5 grãos com cepa de *Fusarium sp.* obtidas do Laboratório de Análises Micotoxicológicas (LAMIC/UFSM). As amostras foram armazenadas em sacos de polietileno de baixa densidade com 15µ (micras) de espessura de filme plástico, vedados com máquina Webomatic® e ao abrigo da luz, em temperatura de 25°C com umidades de 13% e 16% e umidade relativa do ar de 80% durante 7 dias.

Após esse período, os grãos foram submetidos ao tratamento com radiação UV-C, sendo a fonte de radiação composta de quatro lâmpadas germicidas (Phillips® 30W), com comprimento de onda de 254 nm. A intensidade da radiação emitida foi determinada com medidor de luz ultravioleta digital (RS-232 Modelo MRUR-203, Instrutherm®). Uma parte das amostras foi exposta à radiação com variação de distância da extremidade distal, para obtenção de doses de 4 e 8 kJ. m⁻² durante 15 minutos (MAHARAJ *et al.*, 1999; CHARLES *et al.*, 2008 a,b), outra parte não recebeu radiação e os tratamentos controles não receberam a inoculação nem a radiação. Após o processo de irradiação os grãos foram armazenados à 25°C/80% umidade relativa, durante 9 meses. Para realização das análises os grãos foram moídos em moinho Perten 3110 (Perten knife grinder, model Laboratory Mill 3100, Huddinge, Sweden) até partículas de tamanho 70 mesh (0,211 mm).

4.2.2 Métodos

4.2.2.1 Extração de amido

A extração foi realizada segundo metodologia adaptada de Shandu *et al.* (2005), com 300 gramas de grãos de milho. Foram adicionados 500mL de água destilada com solução de bissulfito de sódio 0,1%, e mantidos na temperatura de 50°C durante 20 horas. A água foi drenada e os grãos foram triturados em moedor até a menor fração possível (moagem úmida). Foram acrescentados 2000mL de água destilada, totalizando 2500mL de água em todo o processo. A amostra foi agitada e posteriormente filtrada em peneira de 100mesh, o filtrado foi coletado e passado em peneira de 280 mesh, coletando-se novamente o material filtrado. O filtrado amido-proteína foi deixado em repouso durante 4 horas. O sobrenadante

foi removido e a camada de amido sedimentado com água destilada foi ressuspensa. O material foi centrifugado a 5000 xg por 20 minutos, removeu-se a camada proteica, sendo suspenso novamente o amido com água e centrifugado novamente. Foi coletado no final apenas o amido precipitado da centrifugação. O amido foi seco em estufa a 40°C durante 12 horas com circulação de ar. Depois de seco, o amido foi moído em moinho Perten 3100 com peneira de 60mesh para uniformização da granulometria das amostras.

4.2.2.2 Rendimento de extração

O rendimento de extração foi determinado com a pesagem do amido obtido após a secagem, e os resultados expressos em percentagem, considerando 300 gramas de grãos utilizados para extração.

4.2.2.3 Teor de amilose

O teor de amilose foi determinado por método colorimétrico com iodo, conforme método de McGrane *et al.* (1998), com modificações sugeridas por Hoover e Ratnayake (2001).

4.2.2.4 Cor

O perfil colorimétrico do amido foi realizado em colorímetro Minolta Modelo CR-300, com 10 determinações, o qual indica as cores em um sistema tridimensional conforme descrito por Good (2002), onde o parâmetro “L” é uma medida do brilho de preto (0) ao branco (100); o parâmetro “a” descreve cores de vermelho a verde, com valores positivos que indicam vermelhidão e valores negativos indicando verdura; e o parâmetro “b” descreve as cores de amarelo a azul, sendo que valores positivos indicam amarelo e valores negativos indicam cor azul.

4.2.2.5 Grau de pureza

O teor de proteína e lipídios do amido foi determinado de acordo com metodologia da Association of Official Analytical Chemists - AOAC (2006).

4.2.2.6 Poder de inchamento e solubilidade

O poder de inchamento e a solubilidade dos amidos de milho foram determinados de acordo com o método descrito por Leach *et al.* (1959). A determinação ocorreu mediante suspensão de 1 grama de amido (base úmida) em 50 mL de água destilada em tubos de centrífuga Falcon previamente tarados. A suspensão foi agitada e levada a banho-maria com agitação constante por 30 minutos na temperatura de 90°C. Após os tubos foram resfriados à temperatura ambiente e centrifugados a 1000 g por 20 min. O sobrenadante foi coletado e levado à estufa a 105°C até peso constante para a quantificação do amido solubilizado. O amido sedimentado no tubo de centrifuga foi pesado para determinação do poder de inchamento. Calculou-se a solubilidade através da relação entre a massa solúvel e a massa inicial de amido, expressa em porcentagem, sendo o poder de inchamento obtido pela relação entre a massa intumescida e a massa inicial de amido.

4.2.2.7 Parâmetros viscoamilográficos

As características viscoamilográficas dos amidos foram avaliadas com o analisador rápido de viscosidade (RVA- *Rapid Visco Analyser*), usando programa Thermocline for Windows versão 1.10. O perfil utilizado foi o *Standard Analysis 1*, cujos parâmetros são apresentados na tabela 19. A quantidade de amostra utilizada para os testes foi de 3 gramas corrigidas para 14% de umidade, conforme descrito por Singh *et al.* (2004).

Tabela 18 - Programação do RVA utilizada nas análises viscoamilográficas.

Tempo (hora:min:seg)	Temperatura (°C)
00:00:00	50
00:01:00	50
00:04:42	95
00:07:12	95
00:11:00	50

As características avaliadas foram:

- Temperatura de pasta: temperatura em °C, calculada com base no tempo de funcionamento do RVA (6°C/min); correspondente ao ponto onde se inicia a formação da curva;
- Viscosidade máxima: viscosidade máxima desenvolvida durante o período de aquecimento, expressa em RVU (Unidade de medida viscoamilográfica fornecida pelo Rapid Visco Analyser).
- Viscosidade de quebra: diferença de viscosidade entre o pico máximo e a viscosidade mínima a 95°C;
- Retrogradação: diferença de viscosidade mínima a 95°C e a viscosidade final, também chamado de *setback*.
- Viscosidade final: valor da viscosidade, obtido no ponto final do ciclo de resfriamento, à temperatura de 50°C expressa em RVU.

4.2.2.8 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia dos grânulos de amido foi examinada pelo microscópio eletrônico de varredura (Shimadzu, SSX-550). As amostras de amido foram revestidas com ouro e examinadas em Microscopia Eletrônica de Varredura sob uma voltagem de aceleração de 15 kV e uma ampliação de 1500x e 3000x.

4.2.2.9 Análise Estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância ANOVA, e o efeito dos tratamentos ao longo do armazenamento avaliados pelo teste de Tukey a 5% de significância ($p < 0,05$) com o programa SAS (SAS, INSTITUTE, 2002).

4.3 Resultados e Discussão

Os resultados referentes à qualidade do amido extraído dos grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados durante nove meses estão dispostos na Tabela 19.

O conteúdo de amilose dos amidos não foi afetado pela aplicação da radiação UV-C nem pelo tempo de armazenamento. De maneira geral, o amido extraído dos grãos armazenados em 13% de umidade apresentou coloração mais clara devido ao aumento do valor L^* e a redução do valor b^* . No entanto, o amido extraído de grãos de milho armazenado a 16% apresentou coloração mais escura

devido a redução do valor L^* e ao aumento do valor b^* . Os maiores valores observados no valor b^* do amido com 16% de umidade ao final do armazenamento podem ser atribuídos ao maior teor de proteína residual nessas amostras, que provoca um aumento da coloração amarela do amido, já que segundo Silverstein *et al.* (1987), a proteína predominante nos grãos de milho, zeína, apresenta coloração amarela. A qualidade do amido extraído de grãos de milho armazenados em diferentes temperaturas promove o aumento do valor b^* , relacionado com o maior teor residual de proteína, devido a dificuldades que ocorrem durante o processo de extração “wet-milling” ou “moagem úmida”, sendo este o resultado do fortalecimento das ligações dissulfídicas durante o armazenamento (PARAGINSKI *et al.*, 2014; PARK *et al.*, 2012; ZHOU *et al.*, 2003; MARTIN & FITZGERALD, 2002).

Os rendimentos de extração variaram de 18,90 a 45,55%, sendo que os menores valores foram encontrados para os amidos extraídos de grãos aos nove meses de armazenamento dos tratamentos com 16% de umidade, exceto o controle. Esses valores são inferiores aos encontrados por Paraginski *et al.* (2014) que verificou valores de rendimento de extração entre 59,07 e 66,94% ao avaliar as propriedades do amido isolado de grãos de milho armazenados nas temperaturas de 5, 15, 25 e 35°C e grau de umidade de 14%, durante doze meses. Segundo Sodhi *et al.* (2003), durante o armazenamento podem ocorrer interações entre proteínas, ácidos graxos e amido, principalmente com as cadeias de amilose, que de acordo com Salman & Les (2007), formam complexos helicoidais, alterando as propriedades do amido e reduzindo o rendimento de extração. Os resultados mostram ainda que o inóculo fúngico intensifica a redução do rendimento de extração de amido, ao ser armazenado e com o maior grau de umidade (16%).

Os teores de proteína e lipídios são utilizados para determinar a pureza do amido extraído. Os resultados indicaram que os amidos extraídos de grãos de milho irradiados armazenados com 16% de umidade durante nove meses apresentaram um aumento no teor residual de proteínas quando comparado ao início do armazenamento. Estes resultados estão relacionados à redução do rendimento de extração verificado. Os teores residuais de proteína variaram de 0,32 a 0,54%, enquanto que o de lipídios variou de 0,42 a 0,71%, estando de

acordo com trabalhos realizados por Malumba *et al.* (2009) que encontraram teor residual de proteína inferior a 1,5%, e a Haros & Suarez (1997), que ao avaliar o rendimento de extração de amido, encontrou teor residual de proteína no amido superior a 0,74%. No entanto, Paraginski *et al.* (2014) encontrou valores de teor residual de lipídios variando de 0,08 a 0,21% ao avaliar o amido extraído de grãos de milho com e sem defeitos.

Tabela 19 – Rendimento de extração (%), teor de amilose (%), valor L*, valor b*, e teor residual de proteínas (%) e lipídios (%) do amido isolado grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25° e umidades de 13 e 16%, durante nove meses

Tratamento	Armazenamento (meses)	Rendimento (%)	Teor de amilose (%)	Valor L	Valor b	Proteínas (%)	Lipídios (%)
Umidade 13%							
Controle	0	AB 42,35 ± 2,08 a	A 29,84 ± 0,36 a	A 99,18 ± 0,05 b	D 4,11 ± 0,09 a	D 0,32 ± 0,02 a	B 0,46 ± 0,02 a
	9	A 43,89 ± 3,80 a	B 28,82 ± 1,22 a	A 99,24 ± 0,06 a	E 3,54 ± 0,05 b	D 0,33 ± 0,01 a	AB 0,56 ± 0,07 a
0 kJ.m ⁻²	0	AB 40,66 ± 0,02 a	A 30,04 ± 0,69 a	C 98,27 ± 0,24 b	D 4,16 ± 0,12 a	CD 0,35 ± 0,04 a	A 0,51 ± 0,01 a
	9	A 43,86 ± 2,31 a	AB 31,42 ± 0,37 a	A 99,26 ± 0,06 a	E 3,41 ± 0,04 b	CD 0,39 ± 0,02 a	B 0,44 ± 0,05 a
4 kJ.m ⁻²	0	B 33,05 ± 1,68 a	A 29,87 ± 0,63 a	B 99,49 ± 0,06 b	E 3,86 ± 0,04 a	CD 0,35 ± 0,01 a	AB 0,54 ± 0,01 a
	9	A 39,65 ± 2,72 a	AB 29,87 ± 1,29 a	A 99,23 ± 0,07 a	G 3,27 ± 0,07 b	CD 0,40 ± 0,02 a	B 0,47 ± 0,02 b
8 kJ.m ⁻²	0	A 45,55 ± 3,32 a	A 30,99 ± 0,95 a	B 99,22 ± 0,28 b	E 3,93 ± 0,02 a	BC 0,39 ± 0,01 a	A 0,68 ± 0,05 a
	9	B 18,91 ± 0,13 b	AB 32,66 ± 0,97 a	A 99,50 ± 0,10 a	3,72 ± 0,06 b	BC 0,41 ± 0,01 a	B 0,42 ± 0,04 b
Umidade 16%							
Controle	0	AB 40,88 ± 2,44 a	A 31,57 ± 0,48 a	D 97,70 ± 0,06 a	C 4,37 ± 0,04 b	AB 0,43 ± 0,02 a	AB 0,63 ± 0,01 b
	9	A 35,38 ± 4,85 a	AB 31,46 ± 1,00 a	B 97,30 ± 0,04 b	BC 4,99 ± 0,07 a	B 0,47 ± 0,02 a	A 0,68 ± 0,00 a
0 kJ.m ⁻²	0	AB 43,08 ± 3,04 a	A 29,38 ± 1,61 a	D 97,69 ± 0,13 a	A 4,67 ± 0,04 b	ABC 0,40 ± 0,02 a	AB 0,62 ± 0,01 a
	9	B 18,90 ± 0,13 b	A 33,53 ± 0,93 a	B 97,23 ± 0,07 b	B 5,06 ± 0,06 a	BC 0,45 ± 0,03 a	A 0,69 ± 0,03 a
4 kJ.m ⁻²	0	AB 38,37 ± 2,02 a	A 28,92 ± 0,24 a	D 97,75 ± 0,09 a	B 4,45 ± 0,02 b	A 0,46 ± 0,01 a	AB 0,58 ± 0,01 a
	9	B 20,87 ± 2,98 b	AB 30,31 ± 1,37 a	C 96,87 ± 0,11 b	A 5,26 ± 0,05 a	A 0,54 ± 0,03 b	A 0,71 ± 0,10 a
8 kJ.m ⁻²	0	AB 42,53 ± 3,69 a	A 29,41 ± 1,32 a	C 98,15 ± 0,05 a	D 4,10 ± 0,02 b	BC 0,38 ± 0,00 a	AB 0,65 ± 0,13 a
	9	B 18,92 ± 1,80 b	AB 33,65 ± 0,50 a	C 96,93 ± 0,09 b	C 4,91 ± 0,07 a	A 0,54 ± 0,02 b	A 0,68 ± 0,01 a

* Médias aritméticas simples ± desvio padrão de três repetições, seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna para cada tratamento e maiúscula para cada tempo de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). **Controle = grãos de milho não inoculados com fungos e não irradiados; 0 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m⁻²; 8 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m⁻².

Os resultados do poder de inchamento e solubilidade do amido a temperatura de 90°C estão dispostos nas Figuras 8 e 9, respectivamente. Mínimas alterações foram observadas na solubilidade do amido independentemente da umidade, dose de UV-C e tempo de armazenamento. Foram observados aumentos no poder de inchamento do amido nos grãos submetidos a radiação UV-C, quando comparados aos respectivos controles. No entanto, após o armazenamento foram observados reduções em todos os tratamentos, sendo as maiores diferenças observadas nos amidos obtidos de grãos de milho armazenados com 16% de umidade. Segundo Leach *et al.* (1959), o poder de inchamento e a solubilidade apresentam-se correlacionados. Luo *et al.* (2006) ao avaliar mudanças físico-químicas em amido de milho tratado com radiação micro-ondas encontrou valores de poder de inchamento e solubilidade de 15,5% e de 15,1% à 95°C, e 21,2% e 18,1% à 85°C, respectivamente. No mesmo estudo, o autor observou em amido de milho de alta amilose irradiado, a redução dos valores do poder de inchamento e solubilidade (8,4 e 9,1%) quando comparado ao nativo (16,2 e 13,0%).

Amidos ricos em amilose mostram inchamento e solubilidade restritos, mesmo após um período prolongado de aquecimento. As curvas de inchamento e solubilidade dos grânulos indicam um elevado grau de associação nesses amidos (CEREDA, 2001). Segundo Debet & Gidley (2006), o teor residual de proteína e a presença de lipídeos nos grânulo de amido, podem provocar restrição do poder de inchamento durante a gelatinização do amido. Haros *et al.* (2003) e Altay & Gunasekaran (2006) afirmam que as proteínas que permanecem no amido de milho, podem possivelmente reduzir a entrada de água para dentro dos grânulos durante a gelatinização, o que limita interações entre a água e os componentes de amido e aumento temperaturas de gelatinização.

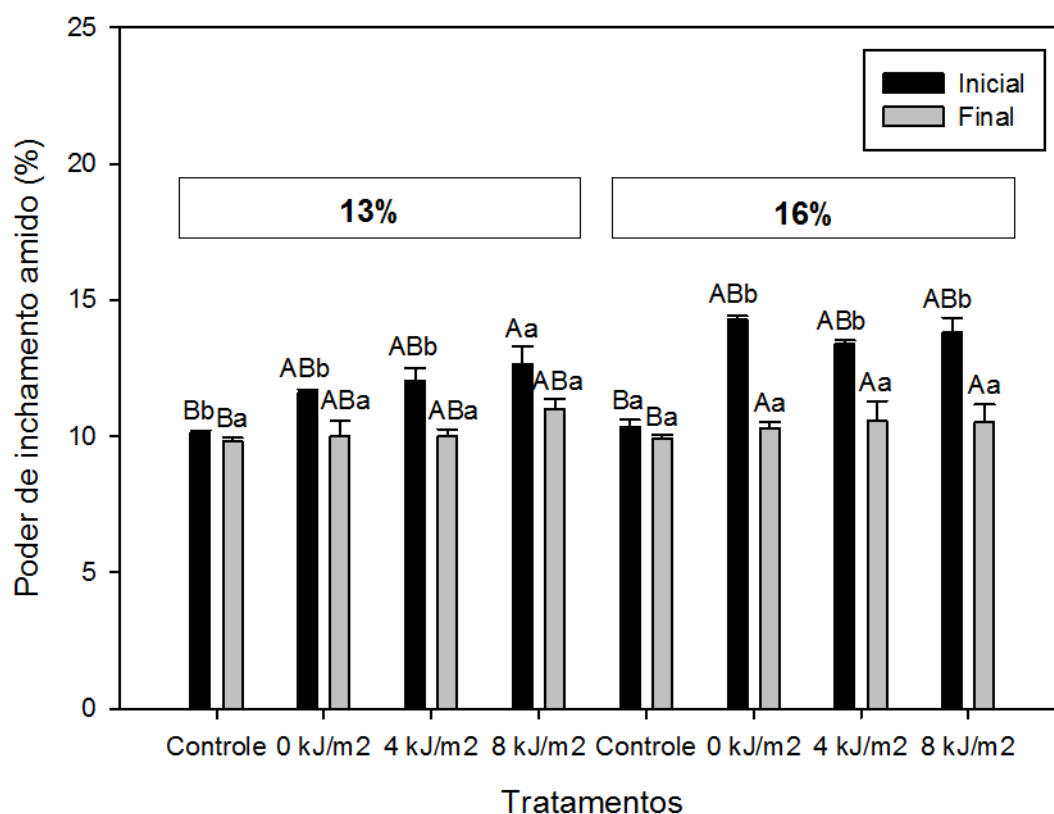


Figura 8 – Poder de inchamento (%) na temperatura de 90°C do amido isolado de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25° e umidades de 13% e 16% de umidade, durante nove meses. *Médias aritméticas simples $\pm$ desvio padrão de três repetições, seguidas por letras maiúsculas iguais no mesmo tempo de armazenamento e minúsculas iguais ao longo do armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). **Controle = grãos de milho não inoculados com fungos e não irradiados; 0 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m⁻²; 8 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m⁻².

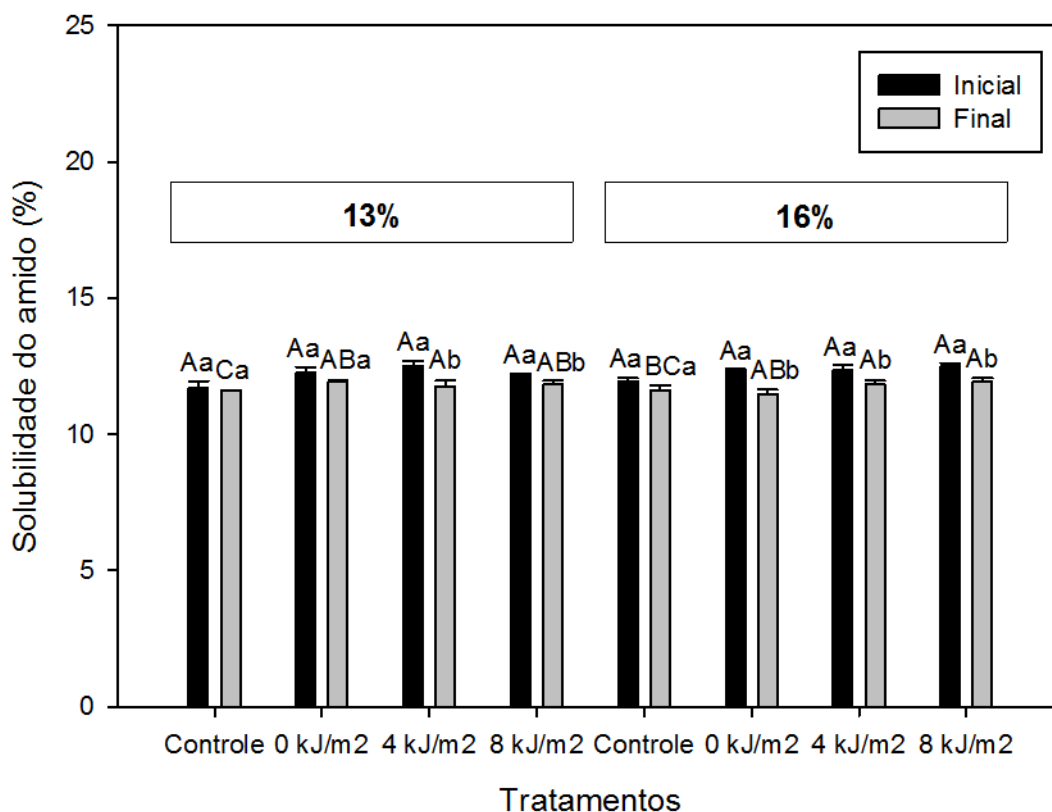


Figura 9 – Solubilidade (%)v na temperatura de 90°C do amido isolado de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25° e umidades de 13% e 16%, durante nove meses. *Médias aritméticas simples $\pm$ desvio padrão de três repetições, seguidas por letras maiúsculas iguais no mesmo tempo de armazenamento e minúsculas iguais ao longo do armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). **Controle = grãos de milho não inoculados com fungos e não irradiados; 0 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m⁻²; 8 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m⁻².

Os parâmetros viscoamilográficos do amido isolado dos grãos de milho de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético, com 13 e 16% de umidade, durante nove meses, são apresentados na Tabela 20. Os resultados indicam que ocorreu aumento da temperatura de pasta apenas para o amido dos grãos de milho com 13% de umidade e irradiado com 8 kJ.m⁻² ao final do período de armazenamento. A viscosidade máxima aumentou para os amidos dos tratamentos 13% de umidade sem radiação e irradiado com 4 kJ.m⁻², e amido com 16% de umidade irradiado com 4 kJ.m⁻², aos 9 meses. A viscosidade de quebra diminuiu para o amido do tratamento 13% 8 kJ.m⁻², e aumentou para 16% 4 kJ.m⁻²,

aos 9 meses. Observou-se também que a retrogradação aumentou para os amidos com tratamento 16% de umidade e irradiados, enquanto a viscosidade final aumentou para todos amidos provenientes de grãos com 16% de umidade, ao final do período.

Os parâmetros viscoamilográficos ligados a gelatinização são influenciados pela presença, orientação e natureza da superfície das interações do amido com lípidos e proteínas, que são ricos em aminoácidos básicos e possuem propriedades hidrofílicas, formando ligações glicosídicas e peptídicas (ZHOU *et al.*, 2003; SIRISOONTARALAK & NOOMHORM, 2007). Um pequeno aumento na estrutura das proteínas pode reduzir a fragilidade dos grânulos de amido intumescidos, ficando os grânulos inchados menos suscetíveis à desagregação (HAMAKER & GRIFFIN, 1993), resultando em maior valor de retrogradação, como observado para os amidos com 16% de umidade e irradiados.

A viscosidade reflete a habilidade dos grânulos para inchar livremente antes de seu esgotamento físico, e segundo Jane *et al.* (1999), pode ser afetada pelo teor de amilose, comprimento e distribuição das cadeias de amilopectina, alterando as propriedades de pasta do amido, principalmente a viscosidade máxima. Lue *et al.* (2006) estudando os parâmetros viscoamilográficos de amidos de milho nativos e irradiados com micro-ondas sugeriu que a radiação aumenta inter e intramolecularmente as pontes de hidrogênio, devido à associação de cadeias de amido. De acordo com Tananuwong e Malila (2011) grânulos mais inchados são menos resistentes à força de cisalhamento, aumentando a decomposição, sendo que com aumento do tempo de armazenamento, com maior grau de formação de ligação dissulfídicas, formam uma rede de proteínas grande e forte, retardando a absorção de água, e afetando os picos de viscosidade, pois a amilose e amilopectina podem se reassociar e formar uma estrutura altamente ordenada mediante refrigeração, estando de acordo com os resultados obtidos, que indicam o fortalecimento das interações entre amido e proteínas, resultando em aumento da viscosidade final dos amidos com 16% de umidade aos 9 meses de armazenamento.

Tabela 20 – Parâmetros viscoamilográficos de amido isolado de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e umidades de 13 e 16%, durante nove meses

Tratamento	Armazenamento (meses)	Temperatura de pasta (°C)	Viscosidade Máxima (RVU)	Viscosidade de quebra (RVU)	Retrogradação (RVU)	Viscosidade final (RVU)
13% de umidade						
0 kJ.m ⁻²	0	BC 74,30 ± 0,00 a	AB 271,75 ± 1,65 b	BC 93,33 ± 0,12 a	ABC 84,33 ± 4,59 a	C 262,75 ± 3,06 a
	9	B 74,00 ± 0,56 a	A 281,66 ± 1,53 a	A 102,46 ± 7,12 a	A 91,21 ± 9,21 a	B 270,41 ± 0,58 a
4 kJ.m ⁻²	0	C 73,85 ± 0,63 a	AB 270,41 ± 0,58 b	AB 95,71 ± 1,00 a	A 95,87 ± 1,83 a	B 270,58 ± 2,24 a
	9	B73,92 ± 0,53 a	A 281,75 ± 3,29 a	AB 98,70 ± 0,53 a	A 94,91 ± 1,53 a	B 277,96 ± 4,29 a
8 kJ.m ⁻²	0	C73,60 ± 0,07 b	A 280,45 ± 3,71 a	A 110,12 ± 4,30 a	A 92,83 ± 0,23 a	C 263,16 ± 0,82 a
	9	B 74,37 ± 0,03 a	BC 268,79 ± 5,00 a	AB 94,33 ± 2,35 b	A 97,79 ± 2,53 a	B 272,25 ± 5,19 a
16% de umidade						
0 kJ.m ⁻²	0	A 77,02 ± 0,03 a	BC 264,21 ± 2,41 a	D 75,91 ± 7,30 a	AB 92,37 ± 7,00 a	A 280,67 ± 2,12 b
	9	A 77,37 ± 0,03 a	C 264,33 ± 2,35 a	B 82,17 ± 3,53 a	A 111,04 ± 0,88 a	A 293,21 ± 2,03 a
4 kJ.m ⁻²	0	ABC 75,47 ± 0,06 a	C 256,29 ± 1,00 b	D 66,33 ± 2,59 b	C 77,50 ± 3,06 b	BC 267,45 ± 0,53 b
	9	B 74,77 ± 0,60 a	A 283,04 ± 3,12 a	AB 93,50 ± 5,30 a	A 109,42 ± 6,71 a	A 298,96 ± 1,71 a
8kJ.m ⁻²	0	AB 76,32 ± 0,60 a	BC 266,83 ± 5,53 a	DC 78,46 ± 4,29 a	BC 77,67 ± 0,70 b	BC 266,04 ± 0,53 b
	9	AB 75,57 ± 0,60 a	AB 277,37 ± 0,17 a	AB 91,54 ± 2,53 a	A 106,46 ± 5,60 a	A 292,29 ± 2,88 a

* Médias aritméticas simples ± desvio padrão de três repetições, seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna para cada tratamento e maiúscula para cada tempo de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). **Controle = grãos de milho não inoculados com fungos e não irradiados; 0 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m⁻²; 8 kJ.m⁻² = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m⁻².

As figuras 10, 11, 12 e 13 apresentam as características morfológicas determinadas por microscopia eletrônica de varredura (1500x e 3000x) dos grânulos de amido isolado de grãos de milho armazenados durante nove meses com temperatura de 25°C, umidades de 13% e 16% e não-irradiados (0 kJ.m⁻²) ou irradiados com 4 kJ.m⁻² ou 8 kJ.m⁻². Os resultados indicam que ocorreu alteração na morfologia dos grânulos de amido ao final dos nove meses de armazenamento.

Foram observadas perfurações superficiais nos grânulos de amidos em todos os tratamentos, sendo que maior incidência de perfurações ocorreu nos amidos irradiados com 8 kJ.m⁻², independente da umidade dos grãos, aos nove meses de armazenamento, o que pode ser resultado da atividade enzimática que aumenta no processo de extração devido à temperatura utilizada no processo (50°C). No entanto, ao irradiar amido de milho com micro-ondas, Luo et al. (2006) observaram perfurações semelhantes no amido irradiado quando comparado ao nativo, e atribuíram essa característica à radiação.

Os grânulos de amido irradiados e armazenados com 16% de umidade por 9 meses apresentaram as maiores modificações da estrutura, sendo que nestes tratamentos também foram verificados maior incidência fúngica. De acordo com PANDEY *et al* (2005) e SOCCOL *et al* (2005), as enzimas amilolíticas são produzidas por fungos filamentosos, sendo preferidas espécies de *Aspergillus* e *Rhizopus*. produtoras de α -amilase e amiloglucosidase. Dessa forma, a degradação do amido pode estar associada à atividade enzimática de amilase produzida pelos fungos, que utilizam o amido como fonte energética para seu desenvolvimento.

Os grânulos de amido de milho armazenado durante nove meses estão recobertos por corpos proteicos, principalmente nos tratamentos com 16% de umidade, corroborando com os resultados da análise química do amido que indicam um maior teor residual de proteínas para estes tratamentos.

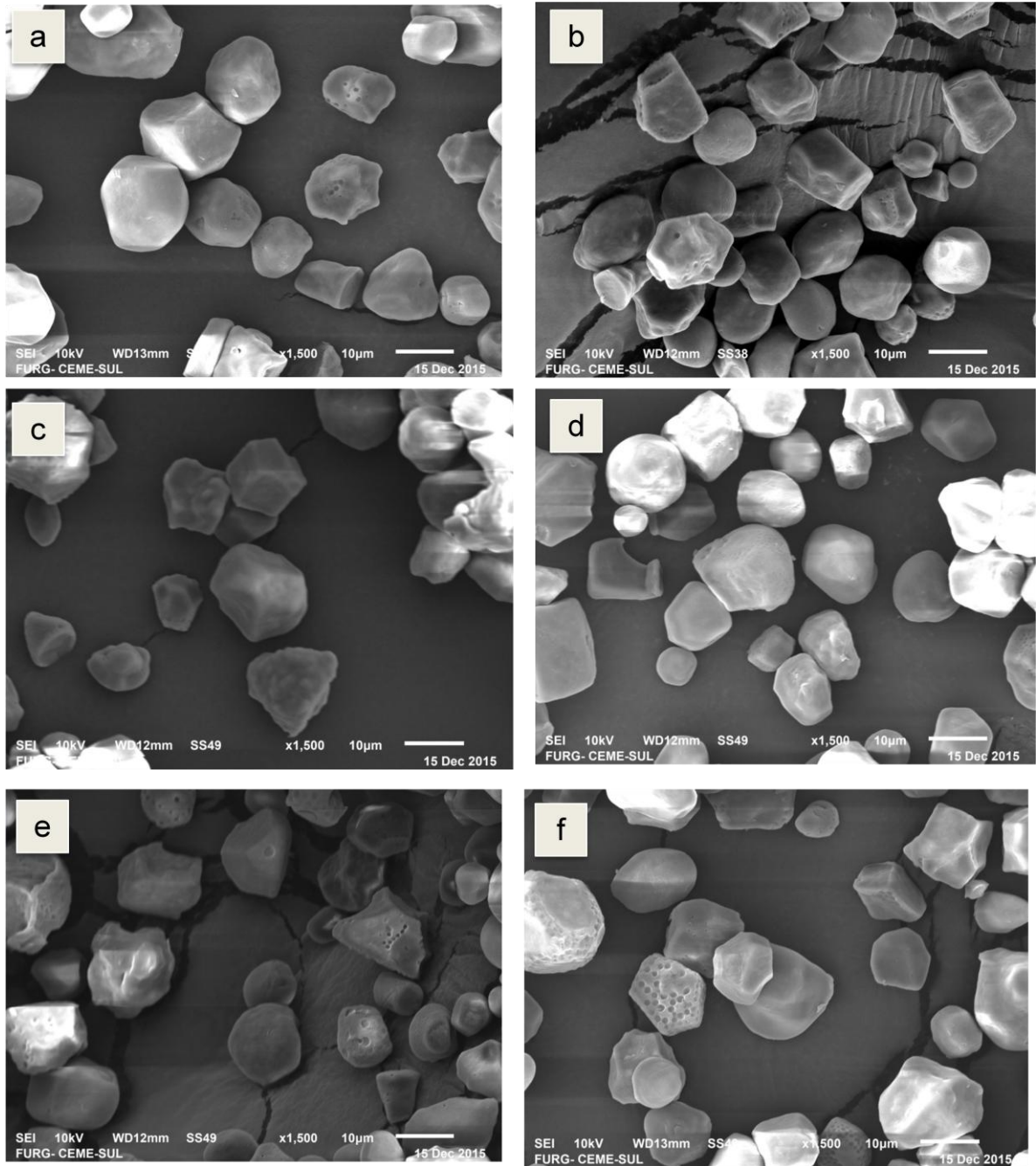


Figura 10 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos grânulos de amido isolado de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e 13% de umidade. Aumento 1500x. Inicial: 0 kJ.m^{-2} (a); 4 kJ.m^{-2} (c); 8 kJ.m^{-2} (e); Final: 0 kJ.m^{-2} (b); 4 kJ.m^{-2} (d) e 8 kJ.m^{-2} (f). **0 kJ.m^{-2} = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m^{-2} = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m^{-2} ; 8 kJ.m^{-2} = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m^{-2} .

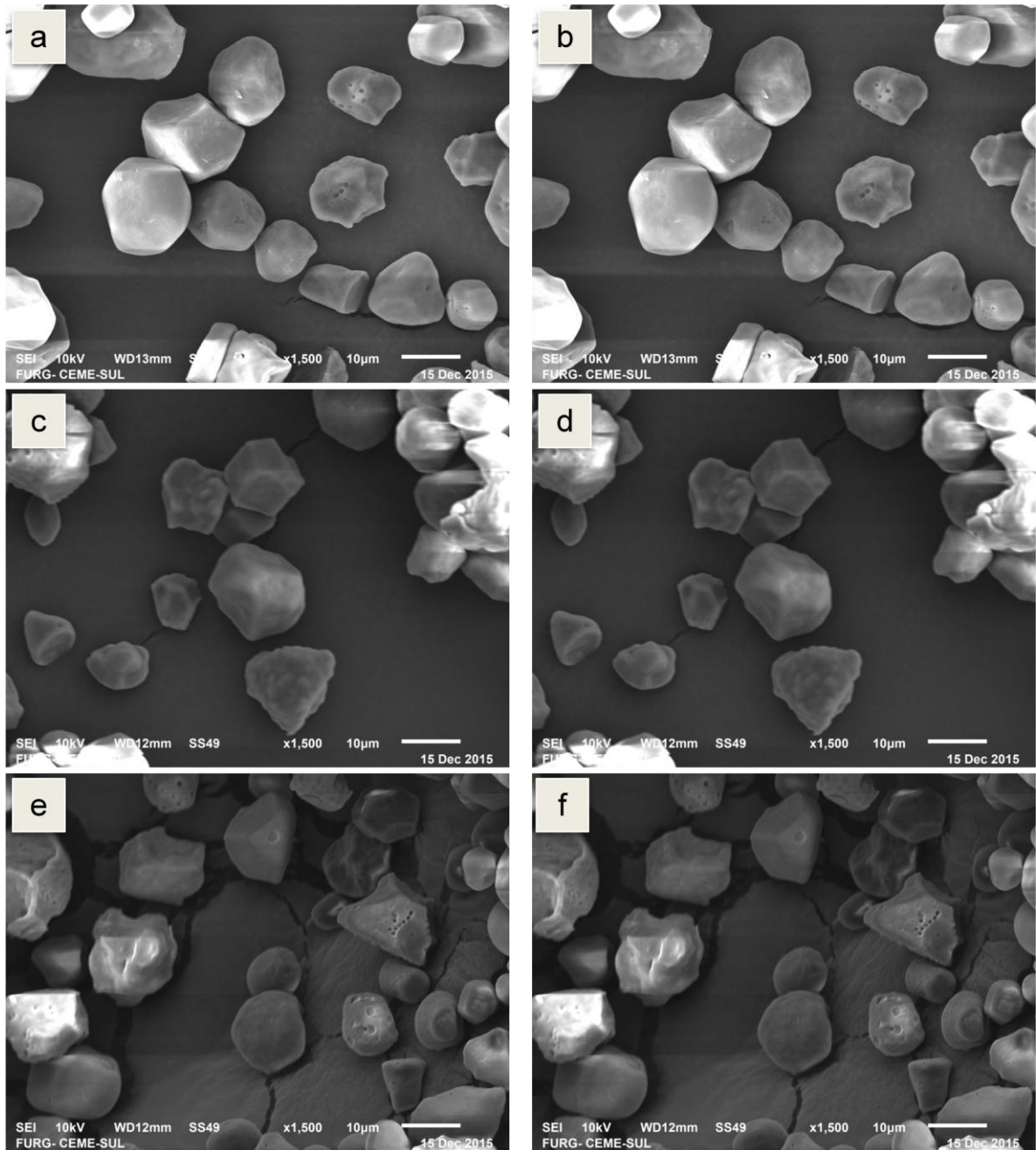


Figura 11 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos grânulos de amido isolado de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e 16% de umidade. Aumento 1500x. Inicial: 0 kJ.m^{-2} (a); 4 kJ.m^{-2} (c); 8 kJ.m^{-2} (e); Final: 0 kJ.m^{-2} (b); 4 kJ.m^{-2} (d) e 8 kJ.m^{-2} (f). **0 kJ.m^{-2} = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m^{-2} = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m^{-2} ; 8 kJ.m^{-2} = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m^{-2} .

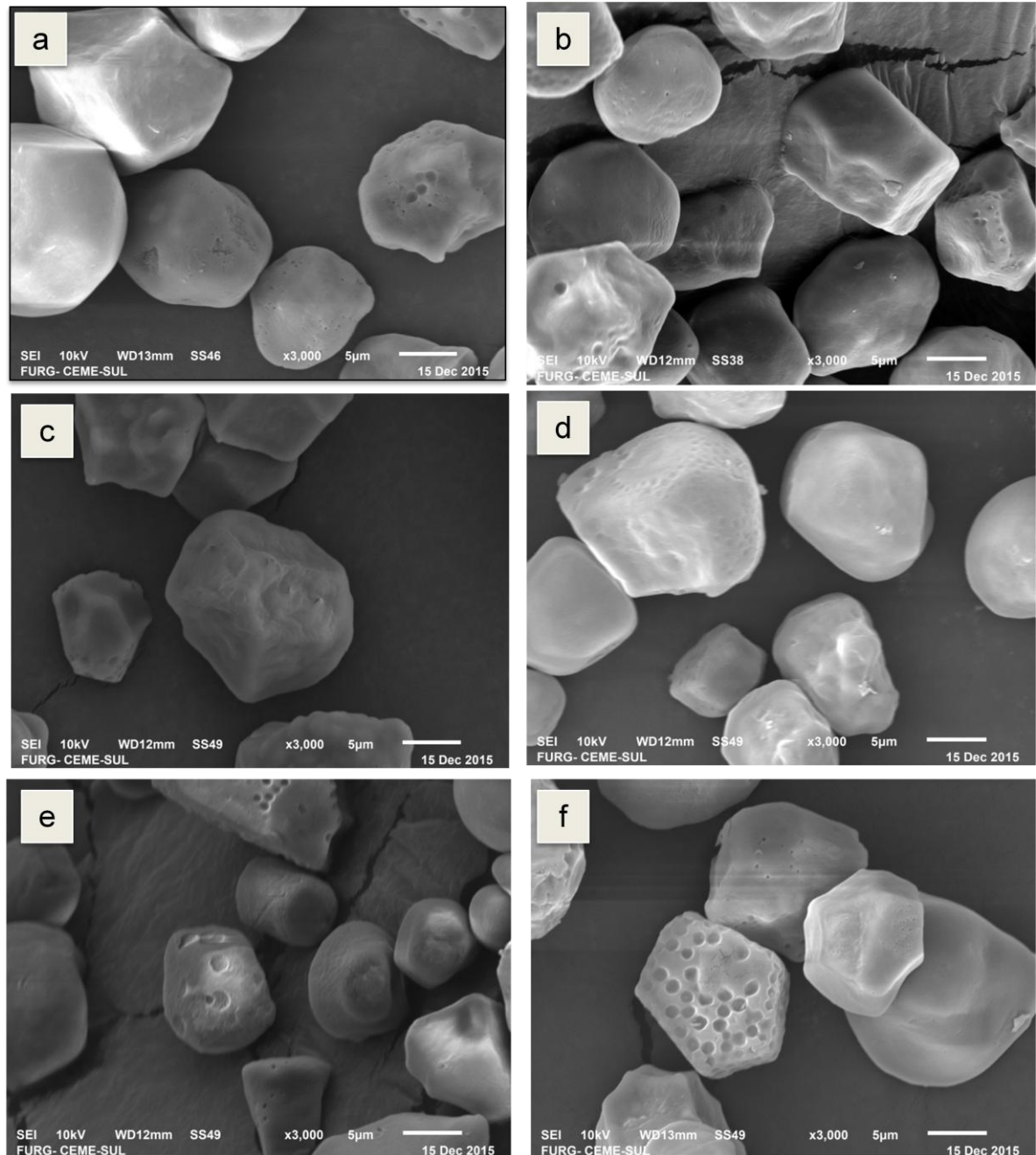


Figura 12 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos grânulos de amido isolado de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e 13% de umidade. Aumento 3000x. Inicial: 0 kJ.m^{-2} (a); 4 kJ.m^{-2} (c); 8 kJ.m^{-2} (e); Final: 0 kJ.m^{-2} (b); 4 kJ.m^{-2} (d) e 8 kJ.m^{-2} (f). **0 kJ.m^{-2} = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m^{-2} = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m^{-2} ; 8 kJ.m^{-2} = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m^{-2} .

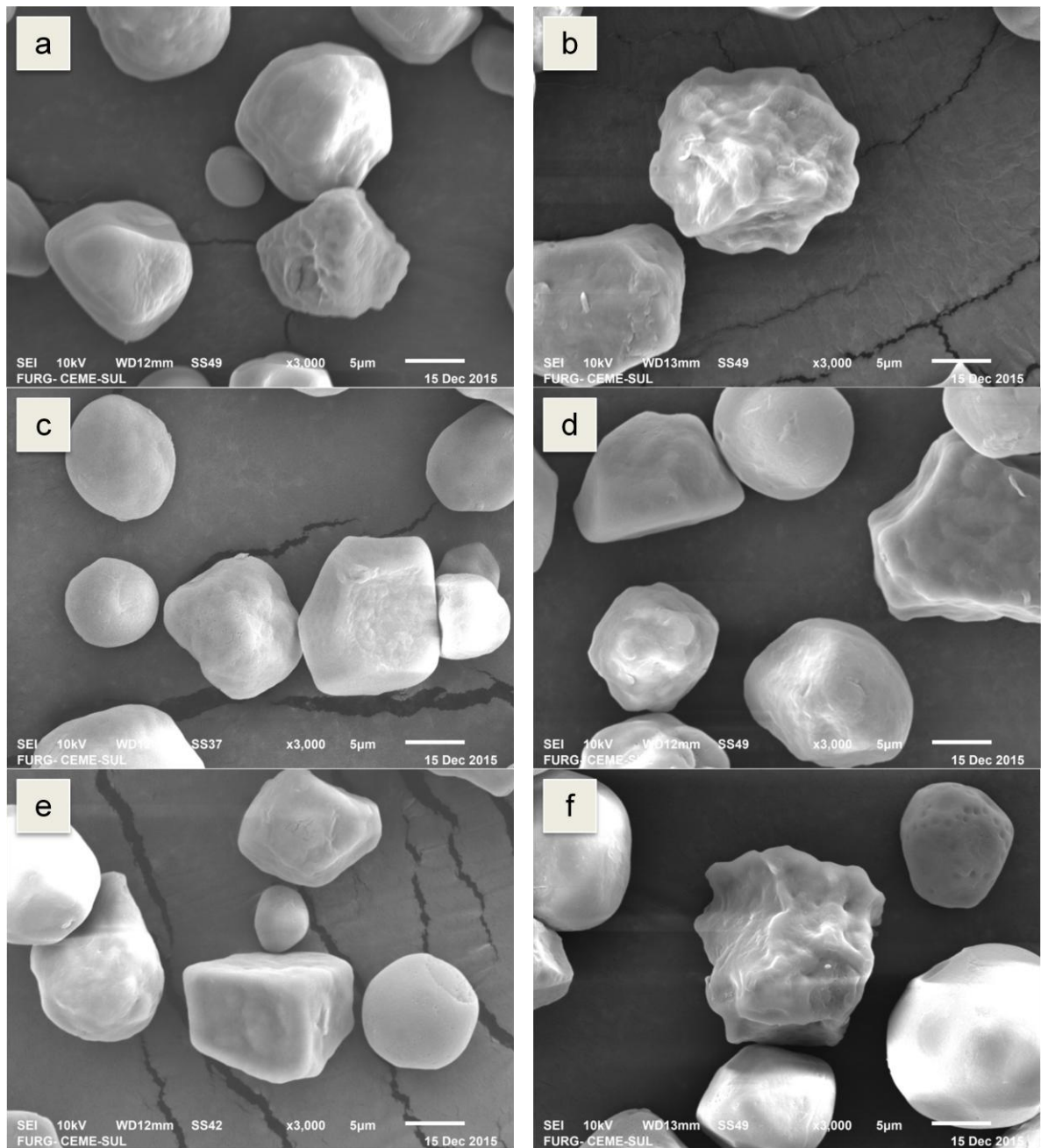


Figura 13 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos grânulos de amido isolado de grãos de milho tratados com radiação UV-C armazenados em sistema semi-hermético à temperatura de 25°C e 16% de umidade. Aumento 3000x. Inicial: 0 kJ.m^{-2} (a); 4 kJ.m^{-2} (c); 8 kJ.m^{-2} (e); Final: 0 kJ.m^{-2} (b); 4 kJ.m^{-2} (d) e 8 kJ.m^{-2} (f). **0 kJ.m^{-2} = grãos de milho inoculados com fungos e não irradiados; 4 kJ.m^{-2} = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 4 kJ.m^{-2} ; 8 kJ.m^{-2} = grãos de milho inoculados com fungos e irradiados com dose de 8 kJ.m^{-2} .

4.4 Conclusões

Não foram observadas alterações na amilose e solubilidade do amido. Após o armazenamento, na umidade de 16% são observadas as maiores alterações, com reduções na extração de amido, valor de L^* e aumentos no valor b^* , proteína bruta, teor de lipídeos. As propriedades de pasta foram mais influenciadas na umidade de 16%, com aumentos na temperatura de pasta, retrogradação e reduções na viscosidade máxima e viscosidade de quebra. O amido apresentou perfurações em todos os tratamentos, sendo encontradas em maiores concentrações na umidade de 16% na dose de 8kJ.m^{-2} . A radiação promoveu aumento no poder de inchamento dos grânulos de amido em todas as doses em ambas umidades, sendo os maior aumentos observados na umidade de 16%.

Referências

- ABERA, S.; SUDIP, K. R. Effect of dry cassava chip storage on yield and functional properties of extracted starch. **Starch/Starke**, v. 56, p. 232-240, 2004
- ABLE, A. J.; LUNG, S. W.; PRASAD, A.; O'HARE, T. J. 1-MCP is more effective on a floral brassica (*Brassica oleracea* var. *italica* L.) than a leafy brassica (*Brassica rapa* var. *chinensis*). **Postharvest Biology and Technology**, v. 26, p. 147-155, 2002.
- ADAMS, M. R.; MOSS, M.O.. Foodmicrobiology. The Royal Society of Chemistry. 3 ed. Cambridge UK, 2008.
- AGUIAR, R.W.S.; BRITO, D.R.; OOTANI, M. A.; , FIDELIS, R. R.; PELUZIO, J.N.; Efeito do dióxido do carbono, temperatura e armazenamento sobre sementes de soja e micoflora associada. **Revista Ciência Agronômica**, v.43, n.3, p.554-560, jul-set, 2012.
- ALLENDE, A.; ARTÉS, F. UV-C radiation as a novel technique for keeping quality of fresh processed 'lollo rosso' lettuce. **Food Research International**, v.36, p.739-746, 2003.
- ALTAY, F.; GUNASEKARAN, S. Influence of drying temperature, water content, and heating rate on gelatinization of corn starches. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 4235-4245, 2006.
- ANTUNES, L. E.G.; VIEBRANTZ, P. C.; GOTTARDI, R.; DIONELLO, R. G. Características físico-químicas de grãos de milho atacados por *Sitophilus zeamais* durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, p.615-620, 2011.
- ATALLA, M. M.; HASSANEIN, N. M.; EL BEIH, A. A.; YOUSSEF, Y. A. Effect of fluorescent and UV light on mycotoxin production under different relative humidities in wheat grains. *International Journal of Agriculture and Biology* 6(6): 1006-1012, 2004
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. Official methods of Analysis. 18 ed. Washington DC US, 2006.
- ASAE – American Society of Agricultural Engineers. Moisture measurement- unground grain and seeds. In: Standards, 2000.St. Joseph: ASAE, p. 563, 2000.
- BEGUM, M., HOCKING, A.D., MISKELLY, D. Inactivation of food spoilage fungi by ultra violet (UVC) irradiation. *International Journal of Food Microbiology* 129, 74-77, 2009.
- BEMILLER & WHISTLER; **Starch: Chemistry and technology**. Third edition. Food Science and Technology, International series. ISBN: 978-0-12-746275-2, Elsevier, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 845 de 08.11.1976. Especificações para padronização, classificação e comercialização interna do milho. Diário Oficial, Brasília, 1976.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 34 de 1976 da CNNPA (Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos) Diário Oficial da União, Brasília, DF, Sec. I, 19 de janeiro de 1977.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Fundação de Ciência e Tecnologia – CIENTEC. Métodos Analíticos para controle de alimentos para uso animal. INTERLAB VI. Portaria 108, de 4 de setembro de 1991. Diário Oficial da União, seção I, p.19813, 1991.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 274 de 15 de outubro de 2002. Diário Oficial da União, Brasília, DF, Sec. I, 16 de outubro de 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para Análise de Sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária, Brasília, DF: Mapa / ACS, 399p., 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC Nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. Limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. Diário Oficial da União, 22 de fevereiro de 2011, Seção 1, n. 37, ISSN 1677-7042, 2011.

BROOKER, D.B.; BAKKER-ARKEMA, F.W.; HALL, C.W. **Drying and storage of grains and oilseeds**. New York: Van Nostrand Reinold, 1992. 450p.

CEREDA, M. P. (org.). **Propriedades gerais de amido**. (Série: Culturas de tuberosas amiláceas latino-americanas, v. 1), São Paulo, Fundação Cargill, v.1. 2001, 221 p.

CHARLES, M. T.; MERCIER, J.; MAKHLOUF, J.; ARUL, J. Physiological basis of UV-C induced resistance to Botrytis cinerea in tomato fruit I. Role of pre- and post-challenge accumulation of the phytoalexin-rishitin. **Postharvest Biology and Technology**, v. 47 p. 10-20, 2008a.

CHARLES, M. T.; BENHAMOU, N.; ARUL, J. Physiological basis of UV-C induced resistance to Botrytis cinerea in tomato fruit III. Ultrastructural modifications and their impact on fungal colonization. **Postharvest Biology and Technology**, v. 47 p. 27-40, 2008b

CHOUDHARY, R.; BANDLA, S. Ultraviolet pasteurization for food industry. **International Journal of Food Science and Nutrition Engineering**, 2(1), p 12 e 15. 2012.

CHRASTIL, J. Influence of storage on enzyme in rice grains. **Journal of**

Agricultural and Food Chemistry, v. 38, p. 1198-202, 1990a.

CLIFF, M.; LOK, S.; LU, C.; TOIVONEN, P. M. A. Effect of 1- methylcyclopropene on the sensory, visual, and analytical quality of greenhouse tomatoes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 53, p. 11-15, 2009.

COLLINS, D.A.; KITCHINGMAN, L. The effect of ultraviolet C radiation on stored product pests. 10th International Working Conference of Stored Product Protection. Julius Kuhn-Archiv. 425:632–636, 2010

COOLBEAR, P. Mechanisms of seed deterioration. In: Basra AS (Ed.) Seed quality: basic mechanisms and agricultural implications. **Food Products Press**. New York. p.223-244, 1995

COSTA, L.; ARIEL, V. R.; CIVELLO, P., M.; CHAVES, A. R.; MARTÍNEZ, G. A. UV-C treatment delays postharvest senescence in broccoli florets. **Postharvest Biology and Technology**, v. 39, p. 204-210, 2006.

D'AMOUR, J.; GOSSELIN, C.; ARUL, J.; CASTAIGNE, F.; WILLEMOT, C. Gamma irradiation affects cell wall composition of strawberries. **Journal of Food Science**, v. 58, p. 182-185, 1993.

DELCOUR, J.A.; HOSENEY, R.C.; **Principles of Cereal Science and Technology**. Editora AACCI International, 270p., 2010.

DILKIN, P.; MALLMANN, C. A.; SANTURIO, J. M.; HICKMANN, J. L. Classificação macroscópica, identificação da microbiota fúngica e produção de alfa toxinas em híbridos de milho. **Ciência Rural**, v.30, n.1, p.137-141, 2000.

DUEÑAS, M.; HERNÁNDEZ, T.; ROBREDO, S.; LAMPARSKI, G.; ESTRELLA I.; MUÑOZ, R. Bioactive phenolic compounds of soybean (Glycine max cv. Merit): modifications by different microbiological fermentations. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, 62, p.241-250, 2012.

ECKHOFF, S. R. Wet milling, In: Wrigley, C.; Corke, H.; Walker, C. (Eds.), **Encyclopedia of grain science 2** (p.30-46). Oxford, UK: Elsevier Ltd., 2004.

ELIAS, M.C. **Armazenamento e conservação de grãos, em médias e pequenas escalas**. 3ª Edição. Pólo de Modernização Tecnológica em Alimentos da Região Sul: Pelotas. Ed. UFPEL, 2002. 218 p.

ELIAS, M. C.; OLIVEIRA, M.; ELIAS, S. A. A.; DIAS, A. R. G.; ANTUNES, P. L.; VAN DER LAAN, L. F. **Pós-colheita de arroz: secagem, armazenamento e qualidade**. 1. ed. Pelotas: Editora e Gráfica Universitária da UFPEL, v.1, 424p., 2009.

ELIASSEN, A. C. **Starch in food – Structure, function and applications**. New York: Boca Raton, CRC, 2004, 605 p.

EKSTRAND, B.; GANGBY, I.; AKESSON, G. et al. Lipase activity and development of rancidity in oats and oat products related to heat treatment during processing. **Journal of Cereal Science**, New York, v.17, n.3, p.247-254, 1993.

FAO, **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2014.

FLEURAT-LESSARD, F. Qualitative reasoning and integrated management of the quality of stored grain: a promising new approach. **Journal of Stored Products Research**, v. 38, n. 2, p. 191-218, 2002.

FRANCO, C. M. L.; DAIUTO, E. R.; DEMIATE, I. M.; CARVALHO, L. J. C. B.; LEONEL, M.; VILPOUX, O. F.; SARMENTO, S. B. S. **Propriedades gerais do amido**, São Paulo: fundação Cargil, 2001, 221 p

GALLIARD, T. Hydrolytic and oxidative degradation of lipids during storage of whole meal flour: Effects of bran and germ components. **Journal Cereal Science**, v. 4, p. 179-192, 1986

GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. C.; TROGELLO, E.; FRITSCHÉ-NETO, R. Sete décadas de evolução do sistema produtivo da cultura do milho. Rev. Ceres vol.61 supl. Viçosa nov./dez, 2014.

GENKAWA, T.; UCHINO, T.; MIYAMOTO, S.; INOUE, A.; IDE, Y.; TANAKA, F.; HAMANAKA, D. Development of mathematical model for simulating moisture content during the re-wetting of brown rice stored in film packaging. **Biosystems Engineering**, v.101, n.4, p.445- 451, 2008.

GOOD, H. Measurement of color in cereal products. **Cereal Foods World**, v.4, p.5–6, 2002.

GREGORY, A. G.; TOSHITAKA, U.; FUMIHIKO, T.; DAISUKE, H. Effect of vapors from fractionated samples of propolis on microbial and oxidation damage of rice during storage. **Journal of Food Engineering**, v. 88, p. 341-352, 2008.

GOMES, M. S.; PINHO, R. G. V.; RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. V.; BRITO, A. H. Variabilidade genética em linhagens de milho nas características relacionadas com a produtividade de silagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 9, p. 879-885, 2004.

HAROS, M.; SUAREZ, C. Effect of drying, initial moisture and variety in corn wet-milling. **Journal of Food Engineering**, v. 34, p. 473-481, 1997.

HASJIM, J.; LEE, S.; HENDRICH, S.; SETIAWAN, S.; AI, Y.; JANE, J. Effects of a novel resistant-starch on postprandial plasma-glucose and insulin responses. **Cereal Chemistry**, v. 87, p. 257-262, 2010.

HAYFA, S.; COPELAND, L. Effect of storage on fat acidity and pasting characteristics of wheat flour. **Cereal Chemistry**, v. 84, p. 600-606, 2007.

HERTOG, M. L. A. T. M.; NICHOLSON, S. E.; BANKS, N. H. The effect of modified atmospheres on the rate of firmness change in "Braeburn" apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 23, p. 175-184, 2001

HOOVER, R.; RATNAYAKE, W. S. Determination of total amylose content of starch. In R.E. Wrolstad, T.E. Acree, H. An, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. REID, S.J.; SCHWARTZ, C.F.; SHOEMAKER, & P. SPORNS (Eds.). **Current protocols in food analytical chemistry**, John Wiley and Sons Inc, New York, pp. E2.3.1–E2.3.5, 2001.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**, 4ª Edição, São Paulo, 2004.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). International Rules for Seed Testing. *Seed Science and Technology* 24: 335. Supplement, 1996.

JOBLING, S. Improving starch for food and industrial applications. **Current Opinion in Plant Biology**. 7: 210–218, 2004.

KIM, S.-M.; CHUNG, H.-J.; LIM, S.-T. Effect of various heat treatments on rancidity and some bioactive compounds of rice bran. **Journal of Cereal Science**, v. 60, n. 1, p. 243–248, jul. 2014. Disponível em <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0733521014000782>>. Acesso em: 5 jul. 2017.

KOLAKOWSKA, A. Lipid oxidation in food systems. In Chemical and functional properties of food lipids. p. 133 e 168. New York: CRC Press. 2003.

LAJOLO, F.M.; MENEZES, E.W. **Carboidratos en alimentos regionales Iberoamericanos**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 648p, 2006.

LAZZARI, F. A. Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações. 2 ed. Curitiba: [s.n.], 148 p, 1997

LAWTON, J. W. Zein: A History of Processing and Use. **Cereal Chemistry**. v. 79, p. 1, 2002.

LEACH, H.W.; McCOWEN, L.D.; SCHOCH, T.J.; Structure of the starch granule. I. Swelling and solubility patterns of various starches. **Cereal Chemistry**, v.36, n.6, p. 534-544, 1959

LEVERENTZ, B.; CONWAY, W. S.; JANISIEWICZ, W. J.; SAFTNER, R. A.; CAMP, M. J.. Effect of combining MCP treatment, heat treatment, and biocontrol on the reduction of postharvest decay of „Golden Delicious” apples. **Postharvest Biology and Technology**, v. 27, p. 221-233, 2003.

LIMA, K.S.C.; GROSSI, J.L.S.; LIMA, A.L.S.; ALVES, P.F.M.P.; CONEGLIAN, R.C.C.; GODOY, R.L.O.; SABAA-SRUR, A.U.O. Efeito da irradiação ionizante γ na qualidade pós-colheita de cenouras (*Daucus carota* L.) cv. Nantes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, p.202-208, 2001.

LIU, K.; MCWATTERS, K. H.; PHILLIPS, R. D. Proteins insolubilization and thermal desestabilization during storage as related to hard-to-cook defect in cowpeas. **J. Agric Food Chem.**, v. 40, p. 2483, 1992.

LIU, Q.; Starch Modifications and Applications. In: CUI, S. W (Ed.). **Food Carbohydrates: Chemistry, Physical Properties, and Applications**, CRC Press, cap.8, p.357-406, 2005.

LIU, R.J.; Q. JIN, Z.H., HUANG, J.H., LIU, Y.F., WANG, X.G.; MAO, W.Y. **Photodegradation of aflatoxin B₁ in peanut oil**. European Food Research and Technology, 232, pp. 843–849, 2011

LUO, Z.; HE, X.; FU, X.; LUO, F.; GAO, Q. Effect of microwave radiation on the physicochemical properties of normal corn, waxy corn and amylomaize V starches. **Starch-Starke**, 58, 468–474, 2006.

MAGAN, N.; ALDRED, D. Post-harvest control strategies: minimizing mycotoxins in the food chain. *International Journal of Food Microbiology*, v.119, p.131-139, 2007.

MAHARAJ, R.; ARUL, J.; NADEAU, P. Effect of photochemical treatment in the preservation of fresh tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Capello) by delaying senescence. **Postharvest Biology and Technology**, v. 15, p. 13-23, 1999.

MALLMAN, C.A.; DILKIN, P. **Micotoxinas e micotoxicoses em suínos**. Santa Maria: edição do autor, 2007.

MARCIA, B.A; LAZZARI, F.A. **Monitoramento de fungos em milho em grãos, grits e fubá**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* [online]. 1998, vol.18, n.4, pp.363-367.

MARQUENIE, D. MICHAELS, C. W.; GEERAERD, A. H.; SCHENK, A.; SOONTJENS, C.; VAN IMPE, J. F.; NICOLAI, B. M. Using survival analysis to investigate the effect of UVC and heat treatment on storage rot of strawberry and sweet cherry. **International Journal of Food Microbiology**, v. 73, p. 187- 196, 2002.

MENDES, D. D. Estudo químico comparativo das variedades de milho cultivadas em diversas regiões do país. *Boletim Técnico do Centro de Tecnologia Agrícola e Alimentar*, n. 4. Rio de Janeiro, 1972.

MIDDLEWOOD, P. G. Extraction of amaranth starch from an aqueous medium using microfiltration. Dissertação de Mestrado. University of Waikato, Hamilton, New Zealand, 2011.

MILLER, J. D. Fungi and mycotoxins in grain: implications for stored product research. **Journal of Stored Products Research**, v. 31, n. 1, p. 1-16, 1995.

MIRA, N. V. M.; MASSARETTO, I. L.; PASCUAL, C. S. C. I.; MARQUEZ, U. M. L. Comparative study of phenolic compounds in different Brazilian rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.22, p.405–409, 2009.

MONTROSS, J. E., M. D.; BAKKER-ARKEMA, F. W. Part 1.4. Hand Book of Agricultural Engineering. Volume IV. Agro-Processing Engineering. St. Joseph, Michigan, USA, 1999.

NEERGAARD, P. Seed Pathology. 2. ed. London, MacMillan Press, v.2, 1979.

NEVES, L.C.; MANZIONE, R.L.; VIEITES, R.L. Radiação gama na conservação pós-colheita da nectarina (*Prunus persica* var. *nucipersica*) frigoconservada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, p.676-679, 2002.

NUÑES, M. C. N.; BRECHT, J. K.; MORAIS, A. M. M. B.; SARGENT, S. A. Physical and chemical quality characteristics of strawberries after storage are reduced by a short delay to cooling. **Postharvest Biology and Technology**, v. 6, p. 17-28, 1995.

O'BEIRNE, D. Irradiation of fruits and vegetables: applications and issues. **Professional Horticulture**, v.3, p.12-19, 1989.

ODRIOZOLA-SERRANO, I.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTÍN-BELLOSO, O. Effect of minimal processing on bioactive compounds and color attributes of fresh-cut tomatoes. **LWT- Food Science and Technology**, v. 41, p. 217-226, 2008.

PAES, M. C. D. Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho. **Circular Técnica 75**, Embrapa, 2006.

PAGNUSSATT, F. A. et al. Inhibition of *Fusarium graminearum* growth and mycotoxin production by phenolic extract from *Spirulina* sp. Pesticide **Biochemistry and Physiology**, v. 108, n. 1, p. 21–26, 2014.

PANDEY, A.; WEBB, C.; FERNANDES, M.; LARROCHE, C. **Enzyme Technology**. 1. ed. New Delhi: Asiatech Publishers, 2005.

PARAGINSKI, R.T. Efeitos da temperatura de armazenamento de grãos de milho (*Zea mays* L.) nos parâmetros de qualidade tecnológica, metabólitos e propriedades do amido. Dissertação (Mestrado) – Programa de PósGraduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, 2013, 111f.

PATERNIANI, E.; VIÉGAS, G. P. Milhos especiais e seu valor nutritivo. In: TOSELLO, G.A. **Melhoramento e produção de milho**. 2ed., v.1, Campinas: Fundação Cargil, 338p., 1987.

PEREZ-GARCIA, F.; GONZALEZ-BENITO M. E.; Seed germination of five *Helianthemum* species: Effect of temperature and presowing treatments, **Journal of Arid Environments**, v.65, n.01, p.688-693, 2006.

PINTO, N.F.J.A. **Grãos ardidos em milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo: Circular Técnica nº 66, 5p. 2005.

PIPERNO, D.R.; FLANNERY, K.V. The earliest archaeological maize (*Zea mays* L.) from highland Mexico: new accelerator mass spectrometry dates and their implications. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, Washington, v.98, n. 4, p.2101-2103, 2001.

PRADO, G.; MATTOS, S. V. M.; PEREIRA, E. C. Efeito da umidade relativa na contaminação microbiana e produção de aflatoxinas em amendoim em grão. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 11, n. 2, p. 264-273, 1991.

PRAKASH, A.; MANLEY, J.; DECOSTA, S.; CAPORASO, F.; FOLEY, D. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 63, p. 387-390, 2002.

PUZZI, D. **Abastecimento e Armazenagem de Grãos**. Campinas: Ed. Atualizada. Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 2000. 666 p

QIU, Y., LIU, Q., & BETA, T. Antioxidant properties of commercial wild rice and analysis of soluble and insoluble phenolic acids. **Food Chemistry**, 121(1), 140–147, 2010.

QIN, Y.; JIN, X; PARK HEUI, D. Comparison of antioxidant activities in black soybean preparations fermented with various microorganisms. **Agricultural Science in China**, 9:1065–71, 2010

REHMAN, Z-U.; HABIB, F.; ZAFAR, S.I.; Nutritional changes in maize (*Zea mays*) during storage at three temperatures. **Food Chemistry**, v.77, p.197–201, 2002.

RODRIGUEZ AMAYA, D.B.; VALENTE SOARES, L.M. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, Zearalenone and sterigmatocystin some Brazilian foods, utilizing a 107 multitoxin thin layer chromatographic method. **Journal Association of Anal Chemistry**, v.72, n.1, p.22-26, 1989.

RUPOLLO, G.; GUTKOSKI, L. C.; MARTINS, I. R.; ELIAS, M. C. Efeito da umidade e do período de armazenamento hermético na contaminação natural por fungos e a produção de micotoxinas em grãos de aveia. **Ciência agrotecnologia**, v. 30, n. 1, p. 118 - 125, 2006.

SANDHU, K. S.; SINGH, N.; MALHI, N. S. Physicochemical and thermal properties of starches separated from corn produced from crosses of two germ pools. **Food Chemistry**, v. 89, p. 541-548, 2005.

SANDHU, K.S.; SINGH, N. Some properties of corn starches II: physicochemical, gelatinization, retrogradation, pasting and textural properties. **Food Chemistry**. 101: 1499-1507, 2007.

SANTOS, C.M.R.; MENEZES, N.L.; VILLELA, F.A.; Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.1, p.110-119, 2004.

SANTOS, A.M.G.; OLIVEIRA, S.M.A.; SILVA, J.M.; TERAPO, D. Podridão por *Fusicoccum* em mangas submetidas a baixas doses de radiação gama. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.45, n.10, p.1066-1072, 2010.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide: statistics**, version 9.1. Cary: SAS Institute, 2002.

SHOTWELL, M.A.; LARKINS, B.A. The biochemistry and molecular biology of seed storage proteins. **The Biochemistry of Plants: a Comprehensive Treatise**, v.15, p.297-345, 1989.

SINGH, N; SINGH, J; KAUR, L; SODHI, N.S.; GILL, B.S. Morphological thermal and rheological properties of starches from different botanical sources **Food Chemistry**. 81: 219-231, 2003.

SILVA, J. S.; AFONSO, A. D. L.; GUIMARÃES, A. C. Estudos dos métodos de secagem. In: Silva, J. S. **Pré-processamento de produtos agrícolas**. Juiz de Fora: Instituto Maria p.105-143, 1995

SILVA, J.S. AFONSO, A. D. L.; DONZELLES, S.M.L. Secagem e Secadores. In: Silva, J.S **Secagem e armazenagem de produtos agrícolas**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2000, p.107-138.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G.C.; MORRILL, T.C. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 299p, 1987.

SIRISOONTARALAK, P.; NOOMHORM, A. Changes in physicochemical and sensory-properties of irradiated rice during storage. , **Journal of Stored Products Research**Manhattan, v. 43, n. 1, p. 282-289, 2007.

SOCCOL, C.R.; ROJAN, P.J.; PATEL, A.K.; WOICIECHOWSKI, A.L., VANDENBERGHE, L.P.S. In: **Glucoamylase, Enzyme Technology**, Asiatec Publishers, New Delhi, India, p. 221-237, 2005.

SPIER, F.; Efeitos dos tratamentos alcalino, ácido e oxidativo nas propriedades de amido de milho. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brasil, 2010.

STEVENS, C.; LIU, J.; KHAN, V. A.; LU, J. Y.; WILSON, C. L.; IGWEGBE, E. C. K.; KABWE, M. K.; CHALUTZ, E.; DROBY, S. Application of hormetic UV-C for delayed

ripening and reduction of *Rhizopus* soft rot in tomatoes: the effect of tomatine on storage rot development. **Journal Phytopathology**, v. 146, p. 211- 221, 1998.

TANANUWONG, K.; MALILA, Y. Changes in physicochemical properties of organic hulled rice during storage under different conditions. **Food Chemistry**, Whiteknights, v. 125, n. 1, p. 179-185, 2011.

TELLES, A. C.; KUPSKI, L.; FURLONG, E. B. Phenolic compound in beans as protection against mycotoxins. **Food Chemistry**, v. 214, p. 293–299, 2017.

TEO, C. H.; KARIM, A. A.; CHEAH, P. B; NORZIAH, M. H.; SEOW, C. C. On the roles of protein and starch in the aging of non-waxy rice flour. **Food Chemistry**, v. 69, p. 229-236, 2000

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch-composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v. 39, n. 1, p. 151-165, 2004.

THOMAS, D. J.; ATWELL, W. A. **Starches: practical guides for the food industry**. Minnessota: Eagan Press Handbook Series, 1999, 94 p.

TREICHEL, H. ; OLIVEIRA, D. ; MAZUTTI, M. A. ; DI LUCCIO, M. ; OLIVEIRA, V. J. A Review on Microbial Lipases Production. **Food Bioprocess Technol.**,3,182, 2010.

VANDEPUTTE, G. E.; DELCOUR, J. A. From sucrose to starch granule to starch physical behavior: a focus on rice starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, p. 245-266, 2004.

VICENTE, A. R.; REPICE, B.; MARTINEZ, G. A.; CHAVES, A. R.; CIVELLO, P. M.; SOZZI, G. O. Maintenance of fresh boysenberry fruit quality with UV-C light and heat treatments combined with low storage temperature. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 79, p. 246-251, 2004.

VICENTE, A. R.; PINEDA, C.; LEMOINE, L.; CIVELLO, P. M.; MARTINEZ, G. A.; CHAVES, A. R. UV-C treatments reduce decay, retain quality and alleviate chilling injury in pepper. **Postharvest Biology and Technology**, v. 35, p. 69- 78, 2005.

VIEITES, R.L. **Conservação pós-colheita do tomate através do uso da radiação gama, cera e saco de polietileno, armazenados em condições de refrigeração e ambiente**. 1998. 131p. Tese (Livre Docência). Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

ZADERNOWSKI, R.; POLAKOWSKA, H. N.; RASHED, A. A. The influence of heat treatment on the activity of lipo and hidrophilic components of oat grain. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.23, p.177-191, 1999.

ZAIN, M.E.; Impact of mycotoxins on humans and animals. **Journal of Saudi Chemical**, v.15, p.129-144, 2011

ZAHA, A.; et al. **Biologia Molecular Básica**. 3ªed. Porto Alegre: Mercado Aberto, 2003, 424p.

ZIEGLER, V; VANIER, N.L.; FERREIRA C. D.; PARAGINSKI, R. T.; MONKS, J.L.F.; ELIAS, M. C. Changes in the Bioactive Compounds Content of Soybean as a Function of Grain Moisture Content and Temperature during Long-Term Storage. **Journal of Food Science**, 81, n.3, p.762-768, 2016.

ZIELINSKI, H.; KOZLOWSKA, H.; Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, n.6, p. 2008-2016, 2000.