

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE- FURG
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS

MITIGAÇÃO DE TRICOTECENOS EM GRÃOS DE TRIGO ATRAVÉS DO EMPREGO
DE ONDAS ULTRASSÔNICAS E LUZ ULTRAVIOLETA

MILENA RAMOS VAZ FONTES

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande, como requisito para a obtenção do título de mestre.

Prof^ª. Dra. Jaqueline Garda-Bufferon
Orientadora

Prof^ª. Dra. Fernanda Arnhold Pagnussatt
Co-orientadora

RIO GRANDE, RS

2017

Ficha catalográfica

F683m Fontes, Milena Ramos Vaz.

Mitigação de tricotecenos em grãos de trigo através do emprego de ondas ultrassônicas e luz ultravioleta / Milena Ramos Vaz
Fontes. – 2017.

121 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Rio Grande/RS, 2017.

Orientadora: Dr^a. Jaqueline Garda-Bufferon.

Coorientadora: Dr^a. Fernanda Arnhold Pagnussatt.

1. Micotoxinas 2. Processos físicos 3. Redução 4. Cereais
I. Garda-Bufferon, Jaqueline II. Pagnussatt, Fernanda Arnhold III. Título

CDU 664.6/.7

APROVAÇÃO

Dissertação defendida por Milena Ramos Vaz Fontes e aprovada em 20 de fevereiro de 2017, pela Comissão Examinadora constituída pelos professores:


Profa. Dra. Jaqueline Garda Buffon – FURG


Profa. Dra. Giniani Carla Dors – UFPEL


Profa. Dra. Myriam de Las M. Salas Mellado – FURG.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à **Deus** pela dádiva da vida, por guiar meus passos e iluminar o meu caminho.

Aos meus pais, **Airton e Veronice**, que sempre me deram apoio incondicional para que eu pudesse chegar aonde eu cheguei. Sou quem eu sou hoje devido ao amor e educação que me transferiram. Amo vocês infinitamente!!

Aos meus irmãos **Mauricio e Vívian**, pelo carinho e pelas palavras de incentivo que sempre me deram. Embora a distância tenha nos separado temporariamente, saibam que o nosso laço é mais forte que tudo. Amo vocês!

Ao meu noivo, **Thallys**: Obrigada pela compreensão, amizade e amor! Obrigada por sempre estar ao meu lado, nas horas boas e ruins. A paz que tu transmite me acalma e me traz força pra encarar qualquer obstáculo. Agradeço por ter ao meu lado uma pessoa tão querida e especial, te amo muito!

Aos meu **amigos(as) e irmãs na fé (Semeadoras)**, pelo companheirismo e apoio em todas as vezes que precisei! Agradeço pelas palavras de estímulo e orações! Vocês são muito importantes na minha vida e têm um lugar especial no meu coração.

Aos **colegas do LAMCA**, obrigada pela enorme parceria em todos os sentidos, tanto em momentos de trabalho/ajuda como de descontração. Ninguém consegue atingir o sucesso sozinho, e isso só é possível quando se tem eficientes colegas de trabalho que atuam em conjunto. Essa foi a minha sorte! Saibam que sem vocês eu não teria chegado até aqui. Muito obrigada!

À “minha amiga” **Ana Carla**, pela parceria (nota 1000) dos finais de semana e feriados na labuta. Obrigada também por todas as conversas, informações trocadas, dicas e ensinamentos desde que te conheci. Com certeza será uma profissional nota (1000 novamente), sendo resultado da tua dedicação e amor pelo que faz.

À minha orientadora **Jaqueline**, por ter me dado a oportunidade de conhecer o LAMCA e ter me proporcionado os primeiros passos desta trajetória, desde o início da graduação. Agradeço pela compreensão, pela confiança depositada em mim, pelos ensinamentos transmitidos e pela

orientação, sempre no melhor caminho a seguir. Te admiro muito, como profissional e como pessoa maravilhosa que és.

À minha co-orientadora **Fernanda**, obrigada pelos conselhos durante o desenvolvimento do trabalho e pela disponibilidade e paciência durante as correções.

À professora **Eliana**, excelente profissional! Obrigada pela colaboração e sugestões na qualificação. Obrigada também pelo compartilhamento dos ensinamentos e experiências. Me sinto privilegiada em ter tido a oportunidade de ter sido sua aluna.

Ao Laboratório de Cereais do Centro de Pesquisa em Alimentação da Universidade de Passo Fundo (UPF), agradeço especialmente à **Tatiana Oro** pela disponibilidade e parceria na realização de parte das análises contidas neste trabalho.

Aos membros da banca, **Giniani** e **Myriam** pela paciência em corrigir este trabalho e por todas as valiosas sugestões.

À **Capex**, pelo auxílio financeiro.

Nem tudo que se enfrenta pode ser modificado, mas nada pode ser modificado até que seja enfrentado.

(James Baldwin)

RESUMO

O trigo se destaca por ser uma das culturas de cereais com maior produtividade mundial, podendo ser afetada por condições climáticas que podem alterar a condição fitossanitária dos grãos, deixando-os suscetíveis a contaminação por fungos toxigênicos capazes de sintetizar micotoxinas, como os tricotecenos. O objetivo do trabalho foi avaliar a redução dos níveis dos tricotecenos DON, ADONS e NIV através da aplicação de processos físicos de ondas ultrassônicas (US) e luz ultravioleta (UV-A ou UV-C) em grãos de trigo, durante a etapa de condicionamento úmido vinculado ao processo de beneficiamento, e verificar possíveis alterações tecnológicas nas farinhas derivadas destas amostras. Para a avaliação dos tratamentos físicos foi utilizado planejamento experimental fatorial fracionado 2^{4-1} . Para a extração de micotoxinas, utilizou-se o método de QuEChERS otimizado com identificação e quantificação realizada através de CLAE-UV. O estudo foi realizado com grãos de trigo provenientes da região norte do RS, onde foi detectada a presença de DON, ADONS e NIV (3890, 1947,1 e 2321,6 $\mu\text{g kg}^{-1}$) e após a aplicação do tratamento com US obteve-se redução média de 26, 23,2 e 17,8%, respectivamente, sendo que as melhores condições foram 16 h de condicionamento, 3,5 h de exposição, frequência de 25 kHz e diâmetro do béquer de 3 cm. Para o tratamento com UV-A, as reduções de DON, ADONS e NIV foram de 36,8, 29,9 e 32,8%, respectivamente, ao utilizar 16 h de condicionamento, 8 h de exposição, distância de 8 cm entre a lâmpada e superfície dos grãos e espessura da camada dos grãos na placa de 1,2 cm. Para o tratamento com UV-C, a média de reduções de DON, ADONS e NIV ficou em torno de 40,5, 37,8 e 20,5%, respectivamente, mostrando melhores resultados ao utilizar 16 h de condicionamento, 2 h de exposição, distância de 8 cm entre a lâmpada e superfície dos grãos e espessura da camada dos grãos na placa de 1,2 cm. Com as condições otimizadas de cada tratamento, foi verificado que o uso combinado de US e UV-C proporcionou perfil semelhante de redução. As características físico-químicas dos grãos não foram alteradas após os tratamentos, exceto o conteúdo de umidade, em função do ajuste realizado durante o condicionamento dos grãos. O perfil lipídico indicou a predominância de ácidos graxos monoinsaturados oléico (78,6%) e palmitoléico (19,4%), sendo que ambos sofreram alterações significativas após tratamento com UV-C. Para as propriedades tecnológicas das farinhas provenientes dos grãos tratados com US e UV-C, ocorreram diferenças significativas em relação ao controle nos parâmetros de número de queda, grau de extração, absorção de água, tempo de desenvolvimento da massa, estabilidade, índice de tolerância à mistura, tenacidade e extensibilidade, força do glúten, e colorimetria, indicando o fortalecimento das características reológicas das massas feitas com as farinhas provenientes dos trigos tratados com US e UV-C. Desta forma, se torna imprescindível a avaliação do efeito dos tratamentos físicos na redução da contaminação por micotoxinas em grãos e suas possíveis modificações nos produtos de beneficiamento.

Palavras-chave: Micotoxinas. Processos físicos. Redução

MITIGATION OF TRICHOTECENES IN WHEAT GRAINS THROUGH EMPLOYMENT OF ULTRASONIC WAVES AND UV LIGHT

Wheat stands out as one of the world's most productive cereal crops and can be affected by climatic conditions that can alter the phytosanitary condition of the grains, leaving them susceptible to contamination by toxigenic fungi capable of synthesizing mycotoxins, such as trichothecenes. The objective of this work was to evaluate the reduction of the levels of trichothecenes DON, ADONS and NIV through the application of ultrasonic waves (US) and ultraviolet light (UV-A or UV-C) in wheat grains during the conditioning stage wetted to the beneficiation process and to verify possible technological changes in the flours derived from these samples. For the evaluation of the physical treatments we used a fractional factorial experimental planning 2^{4-1} for both the application of US, UV-A and UV-C. For the extraction of mycotoxins, the procedure described by the optimized QuEChERS method was used with identification and quantification performed using HPLC-UV. The study was carried out with wheat grains from the northern region of RS, where DON, ADONS and NIV were detected at levels of 3890, 1947.1 and 2321.6 $\mu\text{g kg}^{-1}$. After the treatment with US, a mean reduction of DON, ADONS, and NIV of 26, 23.2 and 17.8% respectively was obtained, and the best conditions were 16 h of conditioning, 3.5 h of exposure, frequency of 25 kHz and diameter of the beaker of 3 cm. For the treatment with UV-A, the reductions of DON, ADONS and NIV were 36.8, 29.9 and 32.8% respectively, indicating optimized conditions when using 16 h of conditioning, 8 h of exposure, distance of 8 cm between the lamp and surface of the grains and thickness of the layer of the grains in the 1.2 cm plate. On the other hand, for the treatment with UV-C, the average reductions of DON, ADONS and NIV were around 40.5, 37.8 and 20.5%, respectively, showing better results when using 16 h of conditioning, 2 h of exposure, distance of 8 cm between the lamp and surface of the grains and thickness of the layer of grains in the 1.2 cm in plate. Under the optimized conditions of each treatment, it was found that the combined use of US and UV-C also provided the same reduction profile. The physico-chemical characteristics of the grains were not altered after the treatments, except for the moisture content, as a function of the adjustment made during the conditioning of the grains. The lipid profile indicated the predominance of mono-unsaturated fatty acids oleic (78.6%) and palmitoleic (19.4%), both of which suffered significant reductions after UV-C treatment. For the technological properties of the flours from the grains treated with US and UV-C, significant differences were observed in relation to the Falling number, extraction degree, water absorption, time of mass development, stability, tolerance index to the blend, tenacity and extensibility, gluten strength, and colorimetry. Thus, it is essential to evaluate the effect of physical treatments on the reduction of mycotoxins contamination in grains and its possible modifications in the beneficiation products.

Keywords: Mycotoxins. Physical processes. Reduction

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Grupamentos constituintes para a formação da estrutura dos tricotecenos tipo-B.	31
Tabela 2 - Teores máximos de micotoxinas em grãos e derivados, estabelecidos pela Legislação Brasileira.	33
Tabela 3 - Dados referentes à incidência de contaminação de tricotecenos em grãos de trigo, farinha de trigo e produtos processados, e seus métodos analíticos de quantificação.	35
Tabela 4 - Variáveis independentes e dados codificados e reais para o planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} referente à aplicação do US.	50
Tabela 5 - Dados codificados e reais para os planejamentos fatoriais fracionados 2^{4-1} referente à aplicação da luz UV-A e UV-C em grãos de trigo contaminados naturalmente por tricotecenos.	51
Tabela 6 – Curvas analíticas dos tricotecenos, utilizando método QuEChERS no sistema CLAE-UV.	59
Tabela 7 - Composição proximal da amostra de trigo não-tratado e tratado nas condições otimizadas.	61
Tabela 8 - Matriz do planejamento experimental 2^{4-1} para avaliar a aplicação de US, com variáveis independentes e níveis avaliados em função da concentração da contaminação por tricotecenos em trigo.	63
Tabela 9 - Resultados dos efeitos e níveis de significância provenientes do planejamento 2^{4-1} em relação à redução de DON, ADONS e NIV (%) após tratamento com US.	64
Tabela 10 - Matriz do planejamento experimental 2^{4-1} para avaliar a aplicação de irradiação UV-A – λ 365 nm em função da concentração de tricotecenos em trigo.	68
Tabela 11 - Efeitos e níveis de significância provenientes do planejamento 2^{4-1} em relação à redução de DON, ADONS e NIV (%) após tratamento com UV-A.	69
Tabela 12 - Matriz do planejamento experimental 2^{4-1} para avaliar a aplicação de irradiação UV-C – λ 254 nm em função da concentração dos tricotecenos em trigo.	73
Tabela 13 - Resultados dos efeitos e níveis de significância provenientes do planejamento 2^{4-1} em relação à redução de DON, ADONS e NIV (%) após tratamento com UV-C.	74
Tabela 14 - Condições otimizadas para cada tratamento físico aplicado aos grãos de trigo.	77
Tabela 15 – Avaliação do efeito da contaminação artificial através da recuperação dos experimentos controle e tratamentos otimizados.	78
Tabela 16 - Redução dos níveis de tricotecenos referente à repetição dos ensaios onde ocorreram as maiores reduções de DON.	78

Tabela 17 - Comparação dos teores de redução dos níveis de DON, ADONS e NIV entre os tratamentos com US e UV-C isolados e aplicados em sequência.....	79
Tabela 18 - Conteúdo de tricotecenos presentes naturalmente em grãos de trigo comercializados no sul do Estado do RS.	80
Tabela 19 – Reduções dos níveis de tricotecenos nas amostras comerciais de trigo após tratamento com US e luz UV-C.	80
Tabela 20 - Distribuição das frações protéicas solúveis nas condições otimizadas dos diferentes tratamentos físicos dos grãos de trigo.	81
Tabela 21 - Atividade enzimática e enzimática específica de α -amilase.....	83
Tabela 22 - Atividade enzimática e enzimática específica de peroxidase (PO).	84
Tabela 23 - Composição lipídica majoritária (%) presente nos grãos de trigo tratados e não tratados nas melhores condições de redução de tricotecenos.	86
Tabela 24 - Características tecnológicas de farinhas de trigo (F.T) provenientes de trigo tratado e não tratado com US e UV-C nas melhores condições.	88
Tabela 25 - Classes do trigo do Grupo II destinado à moagem e a outras finalidades	93

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Corte longitudinal de grão de trigo.	25
Figura 2 - Fluxograma do processo do beneficiamento do trigo.	27
Figura 3 - Estrutura química básica dos tricotecenos.	31
Figura 4 - Esquema simplificado do preparo das amostras.	49
Figura 5 - Fotografia dos tratamentos onde foram aplicadas diferentes frequências ultrassônicas: (A) 25 kHz; (B) 40 kHz e (C) 55 kHz.	50
Figura 6 - Imagens referentes às placas de Petri (A); desenho simplificado da câmara (B); vista superior da Câmara Dist GRC-03 sendo utilizada para experimento com UV-C (C) e vista superior aproximada da Câmara (D).	52
Figura 7 - Cromatogramas de eluição dos tricotecenos - (A) Referente ao primeiro ponto da curva: NIV ($0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$); DON ($0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$); 15-ADON ($0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$) e 3-ADON ($0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$) e (B) referente ao ponto médio da curva: NIV ($2 \mu\text{g mL}^{-1}$); DON ($2 \mu\text{g mL}^{-1}$); 15-ADON.	60
Figura 8 - Grãos de trigo danificados (A) e impurezas presentes na sacaria (B).	61
Figura 9 - Diagramas de Pareto para redução da concentração de DON, ADONS e NIV em trigo utilizando tratamento com US.	64
Figura 10 - Gráfico referente aos valores da redução dos níveis dos tricotecenos DON, ADONS e NIV para o tratamento com US, tendo como referência o ensaio controle.	67
Figura 11 - Diagrama de Pareto referente ao tratamento UV-A para redução de DON (A); ADONS (B) e NIV (C).	69
Figura 12 - Cromatogramas de eluição referentes ao: (A) Ensaio controle e (B) Ensaio 6, do tratamento realizado com UV-A.	70
Figura 13 - Gráfico referente à redução dos níveis de DON, ADONS e NIV após tratamentos com UV-A.	72
Figura 14 - Diagrama de Pareto referente ao tratamento UV-C para redução de DON (A); ADONS (B) e NIV (C).	73
Figura 15 - Gráfico referente à redução dos níveis de DON, ADONS e NIV após tratamentos com UV-C.	76

LISTA DE ABREVIATURAS

- 15- ADON – 15-acetildeoxinivalenol
- 3-ADON – 3-acetildeoxinivalenol
- AACC – *American Association of Cereal Chemists*
- ABITRIGO – Associação Brasileira da Indústria de Trigo
- AEE – Atividade enzimática específica
- AFLA – Aflatoxina
- ANOVA – Análise de variância
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- CCD – Cromatografia em camada delgada
- CG-EM - Cromatografia Gasosa acoplada a detector de massas
- CLAE-DAD - Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de fotodiodo
- CLAE-EM - Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de massas
- CLAE-UV – Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector ultravioleta
- CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento
- DON – Deoxinivalenol
- EFSA – *European Food Safety Authority*
- ELISA – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*
- FAO – *Food and Agriculture Organization*
- FUM – Fumonisina
- IARC – *International Agency for Research on Cancer*
- INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
- JECFA – *Committee on Food Additives*
- MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
- MM – Massa molecular
- NIV – Nivalenol
- OTA – Ocratoxina A
- PAT – Patulina
- PO – Peroxidase
- QuEChERS – *Quicky, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*
- RDC – Resolução de Diretoria Colegiada
- UCLAE-EM – Cromatografia líquida de ultra alta eficiência acoplada a detector de massas
- UE – União Europeia

US – Ultrassom

USDA – *Department of Agriculture US*

UV – Ultravioleta

WHO – *World Health Organization*

ZEA – Zearalenona

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 OBJETIVOS	23
2.1 OBJETIVO GERAL	23
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
3 REVISÃO DA LITERATURA	25
3.1 TRIGO E DERIVADOS DA MOAGEM.....	25
3.2 MICOTOXINAS, TRICOTECENOS E LEGISLAÇÃO	30
3.3 OCORRÊNCIA DE TRICOTECENOS EM TRIGO E DERIVADOS E FORMAS DE DETECÇÃO	34
3.4 MÉTODOS DE REDUÇÃO DOS NÍVEIS DE MICOTOXINAS	37
3.4.1 Métodos Químicos	38
3.4.2 Métodos Biológicos.....	39
3.4.3 Métodos Físicos.....	40
4 MATERIAL E MÉTODOS	45
4.1 MATERIAL.....	45
4.1.1 Instrumentos	45
4.1.2 Reagentes, solventes e materiais	46
4.1.3 Matéria-prima	46
4.1.4 Padrões de micotoxinas.....	47
4.2 MÉTODOS	48
4.2.1 Amostragem.....	48
4.2.2 Condicionamento do trigo	48
4.2.3 Caracterização físico-química dos grãos de trigo.....	49
4.2.4 Tratamentos físicos de US e UV-A ou UV-C	49
4.2.5 Determinação de tricotecenos nas amostras de grãos de trigo.....	53
4.2.6 Determinação de proteínas solúveis.....	53
4.2.7 Extração e determinação da atividade enzimática de α-amilase	54
4.2.8 Extração e determinação da atividade enzimática de peroxidase	55
4.2.9 Determinação do perfil lipídico.....	55
4.2.10 Caracterização tecnológica da farinha de trigo.....	56
4.2.10.1 Moagem experimental	56
4.2.10.2 Falling number ou número de queda	56
4.2.10.3 Alveografia	56
4.2.10.4 Farinografia	57
4.2.10.5 Glúten úmido/seco/índice	57

4.2.10.6 Colorimetria	57
4.2.11 Análise estatística.....	57
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
5.1 DETERMINAÇÃO DE TRICOTECENOS NAS AMOSTRAS DE GRÃOS DE TRIGO.....	59
5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E PERFIL DE MICOTOXINAS.....	60
5.3 TRATAMENTO FÍSICO COM APLICAÇÃO DE US	62
5.4 TRATAMENTO FÍSICO COM APLICAÇÃO UV-A.....	67
5.5 TRATAMENTO FÍSICO COM APLICAÇÃO DE UV-C.....	72
5.6 CONDIÇÕES OTIMIZADAS ATRAVÉS DOS PLANEJAMENTOS FATORIAIS FRACIONADOS 2 ⁴⁻¹	76
5.6.1 Confirmação da degradação de tricotecenos contaminados artificialmente....	77
5.6.2 Confirmação da redução de tricotecenos através dos tratamentos físicos	78
5.6.3 Aplicação dos tratamentos físicos combinados	79
5.6.4 Aplicação dos tratamentos otimizados em trigo comercial.....	80
5.7 CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DAS AMOSTRAS APÓS TRATAMENTOS FÍSICOS	81
5.7.1 Avaliação da solubilidade proteica.....	81
5.7.2 Atividade de α-amilase	82
5.7.3 Atividade de peroxidase (PO)	84
5.7.4 Perfil lipídico	85
5.8 PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DAS FARINHAS PROVENIENTES DOS GRÃOS TRATADOS E NÃO TRATADOS.....	88
5.8.1 Farinografia.....	89
5.8.2 Alveografia	91
5.8.3 Número de queda ou <i>Falling number</i>.....	92
5.8.4 Cor.....	93
5.8.5 Glúten.....	94
6 CONCLUSÕES	97
6.1 CONCLUSÕES PARCIAIS	97
6.2 CONCLUSÃO GERAL	98
7 PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS.....	99

1 INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum L.*) é uma gramínea originária do Oriente Médio e segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos – USDA (2017), a sua produção é a segunda maior do mundo, superada apenas pela cultura do milho. No Brasil, o trigo é caracterizado por ser uma cultura predominantemente de inverno, sendo mais cultivado na região sul por apresentar as melhores condições climáticas para o desenvolvimento do cereal, sendo o Estado do Rio Grande do Sul pioneiro na produção de trigo em escala comercial e industrial (FARTRIGO, 2016; ABITRIGO, 2017). Contudo, através de pesquisas para melhoramento genético, as plantações de trigo também se difundiram por outras regiões brasileiras como o centro-oeste e sudeste (CONAB, 2015).

Ao término da safra 2014/2015, o trigo participou com aproximadamente 720 milhões de toneladas referentes à produção mundial de grãos (USDA, 2015). A produção brasileira em 2016 esta atingiu aproximadamente 7 milhões de toneladas, com um consumo em torno de 11 milhões de toneladas, havendo necessidade de importar 5 milhões de toneladas e exportar 700 mil toneladas (CONAB, 2016).

Como pode ser observado, o trigo possui elevada importância econômica sendo a farinha utilizada na produção de diversos produtos como pães, bolos, biscoitos e massas. Desta forma, a qualidade sanitária dos grãos tem recebido especial atenção devido à ocorrência de contaminação por fungos toxigênicos que podem produzir micotoxinas, podendo ocorrer tanto no campo como no armazenamento, dependendo de fatores intrínsecos (quando inerentes ao substrato) e extrínsecos (quando inerentes às condições que envolvem o substrato) (AMAYA; SABINO, 2002).

A espécie *Fusarium graminearum* pode causar uma doença denominada Fusariose nos grãos de trigo, que podem ser tóxicos para o homem e animais devido à presença de micotoxinas como nivalenol (NIV), zearalenona (ZEA), 3-acetil-desoxinivalenol (3-ADON), 15-acetil-desoxinivalenol (15-ADON) e especialmente pela frequente ocorrência de desoxinivalenol (DON) (DESJARDINS, 2006; CALORI-DOMINGUES et al., 2007;). De acordo com Del Ponte, Garda-Buffon e Badiale-Furlong (2012), as condições climáticas que prevalecem em algumas das sub-regiões de produção de trigo são propícias para a infecção do fungo principalmente quando coincidem com o período de antese (florescimento), onde a susceptibilidade à infecção é maior.

O impacto negativo das micotoxinas sobre a saúde humana e animal é significativo e a utilização de métodos físicos, químicos ou biológicos para a redução deste

tipo de contaminação em trigo se torna imprescindível (HUWIG et al., 2001), visto que seus produtos derivados são consumidos diariamente pela população mundial. Os métodos químicos utilizam agentes que podem degradar as micotoxinas estruturalmente, incluindo agentes oxidantes como o peróxido de hidrogênio (ADEGOKE; BABALOLA e AKANINI, 1991; FOUNTAIN et al., 2015), ozônio (MCKENZIE et al., 1997; YOUNG; ZHU e ZHOU, 2006) e bissulfito de sódio (MOERCK et al., 1980; YOUNG et al., 1987) ou agentes hidrolíticos ácidos (SIEGEL et al., 2010; HUMER et al., 2016), álcalis (TRENHOLM et al., 1989; MÉNDEZ-ALBORES et al., 2013) e amônia (CHEFTEL, 1989; ALI; EJAZ; SHAH, 2000). Por outro lado, os métodos biológicos envolvem a ação de micro-organismos como leveduras, algas e bactérias, agindo através da competição por nutrientes, espaço e interações (FAZELI et al., 2009). Em contrapartida, os métodos físicos utilizados em cereais para a redução dos níveis de micotoxinas envolvem principalmente procedimentos de limpeza e classificação (TIBOLA; FERNANDES; GAURIENTI, 2016), moagem (TIBOLA et al., 2015), tratamento térmico (YUMBE-GUEVARA; IMOTO; YOSHIZAWA, 2003; BRETZ et al., 2006; VIDAL et al., 2015), tratamento com ultrassom (US) (LINDNER, 1996) e irradiação ultravioleta (UV-A ou UV-C) (GARG et al., 2013; CALADO; VENÂNCIO; ABRUNHOSA, 2014).

No entanto, os dados acerca da utilização dos processos físicos relacionados a US e (UV) para a redução dos níveis de tricotecenos presentes na literatura são escassos. Assim, a investigação sobre estas aplicações poderá apresentar alternativas eficientes em relação aos métodos químicos e biológicos na redução desta classe de micotoxinas em trigo.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a redução dos níveis de tricotecenos (NIV, DON, 3-ADON, 15-ADON) através da aplicação de US e UV em grãos de trigo durante a etapa de condicionamento úmido vinculado ao processo de beneficiamento.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito isolado e combinado dos tratamentos físicos na redução dos níveis de tricotecenos (NIV; DON; 3-ADON; 15-ADON) em grãos de trigo;
- Caracterizar as propriedades físico-químicas dos grãos tratados e não tratados com US e UV;
- Estudar as características tecnológicas das farinhas provenientes dos grãos tratados com US e UV.

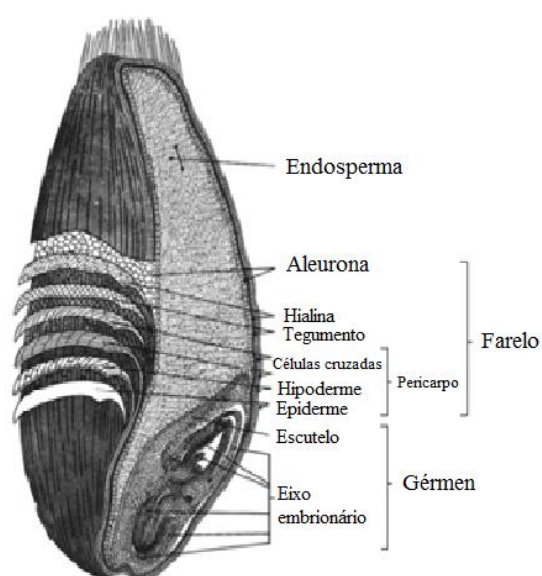
3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 TRIGO E DERIVADOS DA MOAGEM

O trigo pertence à família *Poaceae*, subfamília *Poideae*, tribo *Triticeae* e gênero *Triticum*. Três espécies são principalmente cultivadas e utilizadas na alimentação: *Triticum aestivum* (trigo-comum ou trigo de pão), *Triticum durum* e *Triticum compactum*, sendo que a proporção das várias substâncias que compõem o grão (amido, minerais, vitaminas e proteínas) oscila conforme a variedade. Esta classificação depende de dois diferentes fatores: textura do endosperma (duro ou mole), que influencia nas características da moagem para a extração da farinha, e a concentração de proteínas, que determina o uso da farinha obtida (GUTKOSKI et al., 2008; KOBLITZ, 2011; ABITRIGO, 2017).

O grão de trigo é constituído basicamente por pericarpo, endosperma e gérmen. O pericarpo consiste na parte mais externa, recobrendo todo o grão, sendo composto por seis camadas: epiderme, hipoderme, remanescentes da parede celular ou células finas, células intermediárias, células cruzadas e células tubulares (MOUSIA et al., 2004). O endosperma e o gérmen estão recobertos por mais três camadas: capa do tegumento, hialina e aleurona. O endosperma é composto de células contendo grânulos de amido, os amiloplastos que estão envoltos em uma matriz protéica e o estroma. O gérmen é a parte embrionária do grão, abundante em enzimas, lipídios e vitaminas, separada do endosperma pelo escutelo (DELCOUR; HOSENEY, 2010). A Figura 1 ilustra todas as partes constituintes do grão.

Figura 1 - Corte longitudinal de grão de trigo.



Fonte: Delcour e Hosenev (2010)

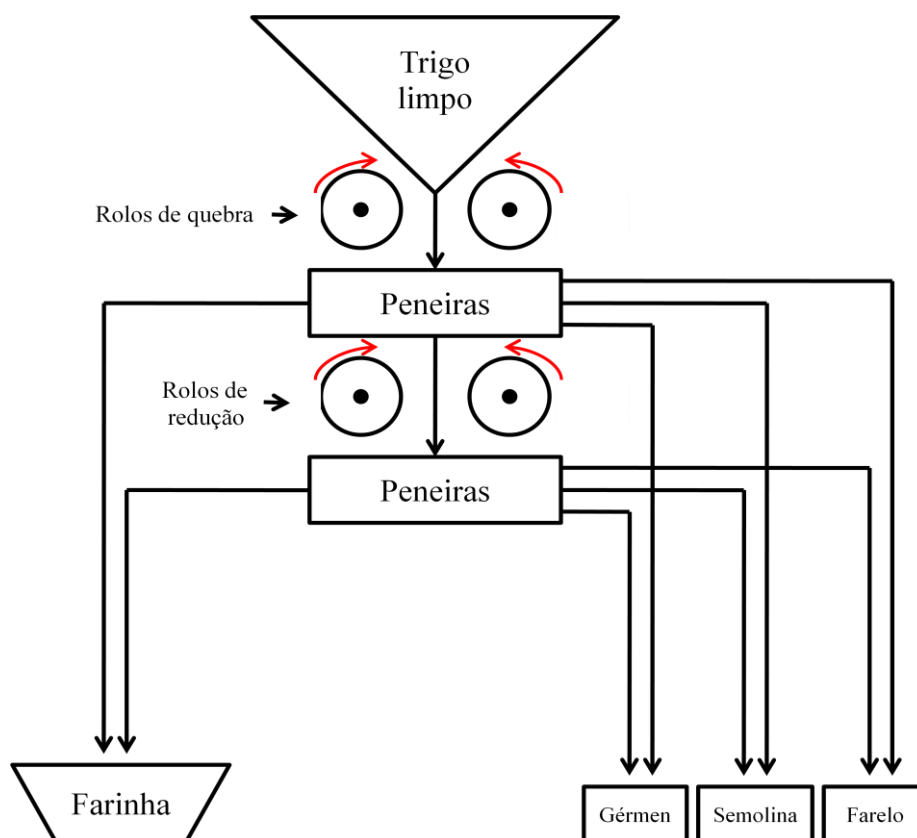
O processamento de trigo envolve as etapas de recepção e estocagem dos grãos, limpeza, condicionamento, moagem, peneiramento, purificação e embalagem da farinha (EL-DASH, 1982; ELIAS et al., 2009). Durante o beneficiamento do trigo, primeiramente os grãos são recebidos e passam por um processo de limpeza, para a retirada de materiais estranhos.

Em seguida, os grãos são submetidos à etapa de condicionamento que possui três principais variáveis: teor de umidade, temperatura e tempo. Nesta etapa, é realizado um ajuste no teor de água e a mistura é continuamente agitada até atingir a umidade desejada, permanecendo em repouso durante um período de tempo antes da moagem, sendo que as variáveis são definidas com base na dureza dos grãos. No período em que o grão umidificado repousa nos silos, há uma lenta migração da água do pericarpo, que irá avançar para o endosperma. Este processo é considerado concluído quando o pericarpo e o endosperma atingirem aproximadamente o mesmo teor de umidade (POTTER; HOTCHKISS, 2007). O principal objetivo do condicionamento dos grãos é obter uma separação eficiente do farelo e do endosperma, garantindo um alto rendimento de farinha com mínimo teor de cinzas. A literatura cita diversas faixas de tempo de condicionamento e teor de umidade, utilizando temperatura ambiente (EL-DASH, 1982; KWEON; MARTIN; SOUZA, 2009). Hook; Bone e Fearn (1982) avaliaram cinco variedades de trigo do Reino Unido com graus de dureza diferenciados, na faixa de umidade de 14 – 16% e tempos de condicionamento de 12 e 24 h, verificando que a taxa de extração reduziu de forma linear com o aumento do teor de umidade. Kweon; Martin e Souza (2009) constataram que o rendimento da farinha proveniente do trigo umidificado com 15% de água foi menor que para o trigo quando condicionado a 12%, porém, a qualidade do primeiro foi melhor indicando menor teor de cinzas e polifenoloxidase. Warechowska et al. (2016) avaliaram o condicionamento de quatro variedades de trigo polonês, sendo três de trigo duro de primavera e uma cultivar de trigo médio-duro aplicando 12, 14, 16 e 18% de umidade durante 24 h, verificando que o aumento do teor de umidade do grão contribuiu para o fortalecimento mecânico da rede de glúten, aumentando sua capacidade de sorção. Então, de maneira geral, basicamente a umidade inicial do trigo é ajustada em média a aproximadamente 15%, à temperatura ambiente (25 °C), passando por um período variável de repouso (dependendo da sua dureza) para que a água penetre de forma uniforme e equilibrada (HOSENEY, 1991).

O processo de moagem dos grãos dá origem à farinha e ao farelo de trigo, nas proporções de aproximadamente 75% e 25%, respectivamente, sendo que a primeira tem maior parte destinada ao consumo humano e o segundo, ao consumo animal (WESSENDONCK et al., 2013; ABITRIGO, 2017). Além disso, outros co-produtos são

originados após o processo de moagem, conforme a Figura 2. Dentre eles, se encontra a semolina que é extraída do grão e separada do farelo e do gérmen, sendo utilizada para a produção de massas, como o macarrão. O rendimento é de aproximadamente 65 %, necessitando um teor acima de 11% de proteínas para garantir uma característica de cozimento adequada (KOBBLITZ, 2011; ZHENG et al., 2014; RAGGIRI et al., 2016).

Figura 2 - Fluxograma do processo do beneficiamento do trigo.



Fonte: Adaptado de Hazel e Patel (2004).

No processo de moagem, o trigo passa por uma série de cilindros próximos uns aos outros, que giram em sentido contrário e com velocidades diferentes. É realizado por uma série progressiva de divisões e fracionamento dos grãos, onde os primeiros cilindros rompem a estrutura dos grãos e liberam o gérmen do endosperma, sendo que os seguintes pulverizam o endosperma, que é quebradiço. As peneiras situadas abaixo dos primeiros conjuntos de cilindros eliminam os fragmentos de farelo e de gérmen. O endosperma pulverizado passa por outros cilindros que estão ainda mais próximos entre si, com o objetivo de obter uma farinha fina. Como resultado dessa operação, à medida que a farinha passa pelos cilindros, sua coloração vai se tornando mais branca, resultando em boa qualidade de panificação. Porém, o

conteúdo de vitaminas e minerais se torna menor, devido à ausência do farelo (POTTER; HOTCHKISS, 2007).

De acordo com a Resolução – CNNPA nº 12 de 1978 da ANVISA (1978), a farinha de trigo é classificada de acordo com as suas características. A farinha integral é o produto obtido do cereal limpo com uma extração máxima de 95% e teor máximo de cinzas de 1,75%; a farinha especial ou de primeira se caracteriza por ser o produto obtido a partir do cereal limpo, desgerminado, com uma extração máxima de 70% e com teor máximo de cinzas de 0,38%; a farinha comum é obtida a partir do cereal limpo, desgerminado, com uma extração máxima de 78% ou com extração de 58%, após a separação dos 20% correspondentes à farinha de primeira, sendo o teor máximo de cinzas de 0,85%. A farinha de trigo comum, por determinação do Governo Federal, para fins de panificação, pode ser adicionada de farinhas de outras origens. Segundo a Associação Brasileira da Indústria do Trigo (ABITRIGO, 2017), do total de farinhas comercializadas no Brasil aproximadamente 56% são destinadas a panificação, 15% à indústria de macarrão, 10% para biscoitos, 10% para uso doméstico e 9% em outros segmentos.

A composição química do grão de trigo afeta suas características funcionais e tecnológicas e, juntamente com as propriedades estruturais e a população microbiológica, define a qualidade da farinha (MOUSIA et al., 2004). O trigo é o principal cereal rico em proteínas capazes de formar a malha de glúten com propriedades únicas de elasticidade e extensibilidade. O glúten é composto por gliadina (uma prolamina) e glutenina (uma glutelina), sendo a primeira caracterizada por ser extremamente pegajosa quando hidratada e por formar cadeias simples, e a segunda por de conferir à massa a propriedade de resistência à extensão, formando cadeias ramificadas. Estas proteínas possuem baixa densidade de cargas, fato que corrobora com a afirmação de que as forças de repulsão na estrutura são pequenas, fazendo com que as cadeias possam interagir entre si facilmente, condição necessária para a formação da massa (HOSENEY, 1991).

A qualidade da farinha depende diretamente do tipo de trigo do qual provém, assim como do processo de produção. Quanto menor o grau de extração da farinha, maior será a proporção de proteína formadora de glúten, aumentando sua qualidade tecnológica (KOBELITZ, 2011). Além disso, a qualidade da farinha de trigo pode ser avaliada com base em diversas características mensuráveis relevantes como as análises de *Falling number*, alveografia, farinografia e teor de glúten (PIZZINATO; MAGNO; CAMPAGNOLLI, 1996).

O número de queda ou *Falling number* mede a intensidade da atividade da enzima alfa-amilase no grão, com resultado expresso em segundos. Baixos valores indicam alta

atividade dessa enzima, situação que comumente resulta do processo de germinação pré-colheita, formando pães com miolo escuro e pegajoso (MÓDENES; SILVA; TRIGUEROS, 2009).

A alveografia simula o comportamento da massa durante a fermentação, imitando em grande escala a formação de alvéolos originados na massa pelo CO₂ produzido pela levedura. As características viscoelásticas de uma massa podem ser avaliadas por diferentes parâmetros de alveografia como tenacidade, extensibilidade da massa, relação tenacidade/extensibilidade e índice de elasticidade. A energia de deformação da massa ou força de glúten (W) representa o trabalho de deformação da massa e indica a qualidade da farinha, correspondendo ao trabalho mecânico necessário para expandir a bolha até a ruptura, expressa em 10⁻⁴ J. A expressão "força de uma farinha" normalmente é utilizada para designar a maior ou a menor capacidade de uma farinha sofrer um tratamento mecânico ao ser misturada com água. Também é associada com a maior ou menor capacidade de absorção de água pelas proteínas formadoras de glúten, combinadas à capacidade de retenção do gás carbônico, resultando em um adequado produto final de panificação, ou seja, pão de bom volume, de textura interna sedosa e de granulometria aberta (GUTKOSKI; NETO, 2002)

Na farinografia há determinação da absorção da água exata feita pela farinha, tendo como base a consistência específica da massa (QUAGLIA, 1991). Esta análise é amplamente utilizada como forma de monitorar o desenvolvimento da rede proteica de glúten durante o processo de mistura da massa, sendo uma análise reológica que auxilia a prever a aplicação tecnológica da farinha de trigo (MONTENEGRO; ORMENESE, 2008).

A avaliação do teor de glúten (seco e úmido) fornece a medida quantitativa das gliadinas e gluteninas. De acordo com Mandarino (1993), o coeficiente de hidratação do glúten, que pode ser determinado a partir da operação de secagem para obter o glúten seco, corresponde à quantidade de água eliminada durante o processo de secagem na estufa.

De maneira geral, as análises relacionadas à caracterização tecnológica das farinhas contribuem para a verificação da qualidade da matéria-prima. Por outro lado, a segurança alimentar também deve ser garantida, através da verificação das condições microbiológicas e de contaminantes orgânicos. De acordo com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2013), estima-se que cerca de 25% das colheitas mundiais de cereais, incluindo o trigo, esteja contaminada com alguma micotoxina. Este valor assume especial relevância econômica nos países em que a produção agrícola representa uma porcentagem considerável das suas exportações, sendo estimadas perdas globais de cerca de milhões de toneladas de alimentos por ano.

3.2 MICOTOXINAS, TRICOTECENOS E LEGISLAÇÃO

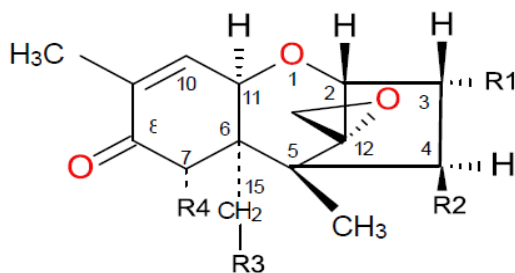
As micotoxinas já foram detectadas em quase todos os tipos de cereais e produtos alimentícios, tanto de origem vegetal como animal (MONBALIU et al, 2010; PLEADIN et al., 2013; IQBAL et al., 2014; CABRAL et al., 2016). Estes compostos são metabólitos secundários, de baixa massa molecular, produzidos por espécies fúngicas toxigênicas submetidos a condições de estresse e apresentam efeito tóxico para o homem, animais, plantas e micro-organismos (BENNETT; KLICH, 2003; ROCHA et al., 2014; CHEAT et al., 2016; PANDYA; ARADE, 2016). Uma grande variedade de espécies dos gêneros fúngicos *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Claviceps*, *Alternaria* e *Trichoderma* são capazes de produzir esses metabólitos (MARIN et al., 2013; ARITA et al., 2014; CHATTERJEE et al., 2016).

Exemplos de micotoxinas de maior significância em relação à saúde pública e significado agroeconômico incluem aflatoxinas (AFLA), ocratoxinas (OTA), tricotecenos, zearalenona (ZEA) e fumonisinas (FUM). Estas micotoxinas, em nível mundial, são responsáveis por perdas de milhões de dólares por ano, inviabilizando produtos agrícolas e causando efeitos prejudiciais a saúde humana e animal (VASANTHI; BHAT, 1998; ANATER et al., 2016; DWEBA et al., 2017). Diferentes espécies fúngicas podem produzir o mesmo tipo de micotoxina, como também, uma única espécie de fungo pode produzir mais de um tipo de micotoxina e além disso, os efeitos tóxicos podem ser potencializados pelo sinergismo entre estas (HUSSEIN; BRASSEL, 2001).

Entre as diversas culturas de cereais, o trigo tem sido apontado com frequente contaminação por tricotecenos (LANGHSET; RUNDBERGET, 1998; AYALEW et al., 2006; ABEDI-TIZAKI; ZAFARI, 2015; LI et al., 2016) que são constituídos por aproximadamente 150 metabólitos produzidos por fungos do gênero *Fusarium*, *Trichoderma*, *Trichotecium*, entre outros (KRSKA; BAUMGARTNER; JOSEPHS, 2001).

Dentre os tricotecenos, DON é o que apresenta mais estudos sobre ocorrência em alimentos e ainda existem poucas informações e avaliações sobre a toxina T-2, NIV, 3-ADON e 15-ADON. A Agência Interacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC, 2002) o classificou no grupo 3, não possuindo características carcinógenas para humanos, pois não houveram evidências suficientes quanto a sua carcinogenicidade em animais de experimentação.

Todas as micotoxinas desta classe são caracterizados por possuir anéis tricotecanos que apresentam uma ligação dupla entre os carbonos 9 e 10 e um anel epóxido na posição 12,13 da estrutura (UENO, 1983), conforme ilustrado na Figura 3.

Figura 3 - Estrutura química básica dos tricotecenos.

Fonte: Razzazi-Fazeli et al., 2002.

Tabela 1 – Grupos constituintes para a formação da estrutura dos tricotecenos tipo-B.

Tricoteceno	R1	R2	R3	R4
Nivalenol	OH	OH	OH	OH
Deoxinivalenol	OH	H	OH	OH
3-acetil-deoxinivalenol	OCOCH ₃	H	OH	OH
15-acetil-deoxinivalenol	OH	H	OCOCH ₃	OH

Fonte: Razzazi-Fazeli et al., 2002.

Alguns estudos vêm demonstrando que esta classe de micotoxinas é responsável pela inibição da síntese de proteínas em células eucarióticas, por ligação a subunidade ribossomal 60S e por interação com a enzima peptidiltransferase, interferindo nas etapas de iniciação, alongação e terminação (WEI et al., 1974). Impactos adicionais da toxicidade incluem rompimento de ácidos nucleicos, função mitocondrial, integridade da membrana e divisão celular (PESTKA, 2007; FOROUND; EUDES e FRANÇOIS, 2009).

Os tricotecenos são sesquiterpenóides policíclicos que possuem uma ligação dupla no C-9,10, um anel epóxido no C-12,13 e vários grupos hidroxila. A divisão desta classe é realizada em quatro grupos (A; B; C e D), de acordo com as características funcionais de cada um. Os tricotecenos do tipo A, como a toxina T-2, HT-2 e o DAS, tem uma função oxigênio no C-8 e são caracterizados por serem altamente tóxicos. Os do tipo B, tais como NIV, DON, 3-ADON, 15-ADON e fusarenona X (FUS-X), possuem um grupo funcional carbonila na posição (C-8). Os do grupo C são caracterizados por possuir um segundo anel epóxido no C-7,8 ou C-9,10 e os do tipo D contêm um anel macrocíclico entre C-4 e C-15 com duas ligações éster (KRSKA; BAUMGARTNER; JOSEPHS, 2001). A estrutura química dos tricotecenos é estável e o anel epóxido é resistente a ataques nucleofílicos (ROCHA, ANSARI; DOOHAN, 2005), são estáveis a altas temperaturas e não são degradáveis em

processos utilizando autoclave, além de possuírem estabilidade em uma ampla gama de pH de neutro à ácido (UENO, 1985).

Esta classe de micotoxinas caracteriza-se por ser constituída de moléculas anfipáticas, que podem se mover de forma passiva através das membranas celulares, sendo substâncias facilmente absorvidas através do sistema gastrointestinal, permitindo um acelerado efeito em tecidos de proliferação rápida (WANNEMACHER; WINER, 1977). A exposição a estas toxinas pode causar rejeição de alimentação, problemas imunológicos, vômitos, dermatite e lesões hemorrágicas (UENO, 1985; PESTKA, 2007). Devido às suas propriedades tóxicas, são de grande importância em relação a sua presença em culturas agrícolas, como o trigo, pois podem entrar na cadeia alimentar humana e animal, causando prejuízos.

Devido ao fato das micotoxinas se desenvolverem nas mais variadas matrizes alimentares, as legislações surgiram como ferramenta para regulamentar os teores máximos permitidos, de acordo com pesquisas de ocorrência e toxicidade em humanos e animais. Em relação a legislação de micotoxinas a nível mundial, o Comitê Conjunto de Peritos em Aditivos Alimentares (*Joint Expert Committee on Food Additives- JECFA*) das Nações Unidas (*World Health Organization - WHO*) e a FAO são os organismos responsáveis pela avaliação dos riscos associados à contaminação dos alimentos (FAO, 2001).

Existem diversos fatores para conduzir a elaboração das legislações, incluindo os aspectos científicos como a disponibilidade de informações toxicológicas, o conhecimento acerca da distribuição das micotoxinas nos alimentos e das metodologias analíticas. Ainda, devem ser considerados aspectos políticos e econômicos, especialmente em relação aos interesses comerciais e aos impactos da disponibilidade da oferta de alimentos (VAN EGMOND; JONKER, 2004).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) vem implementando de forma gradativa, com rigor crescente, os limites máximos tolerados (LMT) para algumas micotoxinas, através da RDC nº 7, apresentados na Tabela 2 (BRASIL, 2011). Entre os tricotecenos, apenas a incidência de DON é controlada, provavelmente por ser a micotoxina desta classe mais extensamente distribuída nos alimentos e rações (FURLONG et al., 1995; MILLER, 1995; MILANEZ; VALENTE-SOARES; BAPTISTA, 2006; SOUZA et al., 2015). O prazo de adequação dos LMT para os alimentos comercializados foi prorrogado até 1º de janeiro de 2017, estabelecido pela RDC nº 59 (BRASIL, 2013).

Tabela 2 - Teores máximos de micotoxinas em grãos e derivados, estabelecidos pela Legislação Brasileira.

Micotoxinas	Alimento	LMT* ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	LMT** ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
Aflatoxinas B1, B2, G1, G2	Cereais e produtos de cereais, exceto milho e derivados, incluindo cevada malteada	5	5
Ocratoxina A	Cereais para posterior processamento, incluindo grão de cevada	20	20
Deoxinivalenol	Trigo integral, trigo para quibe, farinha de trigo integral, farelo de trigo, farelo de arroz, grão de cevada	1500	1000
	Trigo e milho em grãos para posterior processamento	3000	3000
	Farinha de trigo, massas, <i>crackers</i> , biscoitos de água e sal, e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais, incluindo cevada malteada	1250	750
Zearalenona	Farinha de trigo, massas, <i>crackers</i> e produtos de panificação, cereais e produtos de cereais exceto trigo e incluindo cevada malteada	400	100
Fumonisina (B1+B2)	Milho de pipoca	2000	2000
	Milho em grão para posterior processamento	5000	5000
	Farinha de milho, canjica, fubá	2500	1500
	Amido de milho e outros produtos a base de milho	2000	1000
Patulina	Suco de maçã e polpa de maçã	50	50

LMT*= Limite máximo tolerado a partir de 1º janeiro de 2014; LMT** = Limite máximo tolerado a partir de 1º de janeiro de 2017. Fonte: Brasil (2011); Brasil (2013)

Na Europa, a Autoridade de Segurança Alimentar Europeia (EFSA) estabelece os regulamentos sobre os limites tolerados relacionados à presença de micotoxinas em matérias-primas e produtos processados, sendo o órgão mais importante quando se trata da avaliação de riscos sobre segurança alimentar humana e animal da União Europeia (UE), e como complemento, cada país europeu possui uma legislação adicional (EFSA, 2013).

De acordo com Freire e Rocha (2016), a nível europeu estão legalmente fixados limites máximos para as AFLA B1, AFLA B2, AFLA G1, AFLA G2, AFLA M1, OTA, PAT, DON, ZEN e FUM B1 e B2 em diversos gêneros alimentícios. No contexto atual, observa-se uma tendência na harmonização das legislações em todos os continentes, bem com uma tendência à redução dos limites máximos permitidos, especialmente para as aflatoxinas, pelo fato da Agência Internacional de Investigação do Câncer (IARC, 2002) classificar as AFLA B1, AFLA B2, AFLA G1 e AFLA G2 no grupo I, como carcinógenos humanos.

3.3 OCORRÊNCIA DE TRICOTECENOS EM TRIGO E DERIVADOS E FORMAS DE DETECÇÃO

A presença de fungos micotoxigênicos é preocupante tanto na produção como no processamento do trigo, pois os compostos tóxicos produzidos causam impacto negativo em relação à segurança e qualidade dos produtos derivados, visto que, são consumidos diariamente pela população (VISCONTI; PASCALE, 2010).

Desta forma, para a realização da detecção destes contaminantes, utilizam-se métodos cromatográficos que necessitam de estrutura adequada e pessoal treinado, fatores limitantes para a sua utilização em análises de rotina de grande demanda de amostras (XU et al., 2010). O método de cromatografia em camada delgada (CCD) oferece a capacidade para análise de grande número de amostras, baixo custo de operação e facilidade de identificação de compostos alvo, utilizando UV-visível e análise espectral. Porém, são necessárias grandes quantidades de solvente e o método apresenta falta de automação (TURNER; SUBRAHMANYAM; PILETSKY, 2009). Além disso, através das inovações tecnológicas, este método caiu em desuso, como pode ser observado na Tabela 3, que mostra um levantamento de dados sobre a ocorrência de contaminação de tricotecenos em trigo e derivados, associados ao tipo de instrumentação analítica utilizado, com suas respectivas faixas de contaminação.

Tabela 3 - Dados referentes à incidência de contaminação de tricotecenos em grãos de trigo, farinha de trigo e produtos processados, e seus métodos analíticos de quantificação.

Matriz	Nº amostras	Tricoteceno	Ocorrência (%)	Faixa de contaminação ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Instrumentação Analítica	Referência
Grãos	40	DON	80	300 a 4500	CLAE-EM/EM	Dalcero et al. (1997)
	94	DON	48,8	40 a 2340	CLAE	Ayalew et al. (2006)
	100	DON	91	< 90 a 4573	CCD	Calori-Domingues et al. (2007)
	36	DON	72,2	n.d a 1592,21	CLAE	Santos et al. (2011)
	65	DON	89	n.d a >1250	CLAE-EM/EM	Del Ponte; Garda-Bufferon; Badiale-Furlong (2012)
		NIV	89	n.d a >1250		
	113	DON	66,4	206,3 a 4732,3	ELISA	Santos et al. (2013)
	50	DON	40	70 a 4730	CLAE-EM/EM	Mishra et al. (2013)
	81	DON	11,1	65 a 1310	CLAE-DAD	Ennouari et al. (2013)
	180	DON	74,4	14,52 a 41157,13	CLAE-EM/EM	Shi et al. (2014)
	53	DON	47,2	243,7 a 2281,3	CLAE-UV	Savi et al. (2014)
	86	DON	59	-	CLAE-EM/EM	Alkadri et al. (2014)
		3-ADON	8,5	-		
		15-ADON	32	-		
	162	DON	74	10,2 a 320,4	CLAE-UV	Abedi-Tizaki; Zafari (2015)
		3-Ac-DON	35,8			
		15-Ac-DON	48,7			
	17	DON	58,8	n.d a 325,8	CLAE-DAD	Trombete et al. (2016)
		NIV	29,5	n.d a 140,6		
	150	DON	98	292,6 a 1302	CLAE-EM/EM	Tramalazza et al. (2016)
745	DON	86	144 a 1230a	CLAE-DAD	Calori-Domingues et al. (2016)	
	NIV	50	n.d a < 100			

“continuação”

Tabela 3 - Dados referentes à incidência de contaminação de tricotecenos em grãos de trigo, farinha de trigo e produtos processados, e seus métodos analíticos de quantificação.

Matriz	Nº de amostras	Tricoteceno	Ocorrência (%)	Faixa de contaminação (µg kg ⁻¹)	Instrumentação Analítica	Referência
Farinha	61	DON	92,8	250 a 9000	CG	Pacin et al. (1997)
	60	DON	100	15 a 1379	CG-EM/EM	Schollenberger et al. (2002)
	15	DON	86,7	292 a 976	UCLAE	Skrbic et al. (2012)
	359	DON	97,2	1,3 a 825,9	UCLAE-EM/EM	Zhang et al. (2016)
		NIV	40,4	0,4 a 23,9		
		3-Ac-DON	11,1	0,6 a 3,6		
		15-Ac-DON	14,2	2 a 11,1		
	672	DON	91,5	2,4 a 1130	CLAE-EM/EM	Liu et al. (2016)
		3-Ac-DON	5	n.d a 2,6		
		15-Ac-DON	35	n.d a 6		
18	DON	97	200 a 4140	CLAE-EM/EM	Almeida et al. (2016)	
28	DON	100	n.d a 2205,8	UCLAE-EM/EM	Xu et al. (2016)	
	15-Ac-DON	24	n.d a 1152,3			
Biscoito	61	DON	64	30 a 60	CG-EM/EM	Rodríguez-Carrasco et al. (2014)
	23	DON	78,2	378 a 5296	CLAE-DAD	Souza et al. (2015)
	36	DON	97,1	nd a 1720	CLAE-UV	Almeida et al. (2016)
Massa	135	DON	81,5	600 a 1200	CLAE-DAD	Moazami; Jinap (2009)
	75	DON	62,6	10,9 a 623,3	CG-EM/EM	González-Osnaya et al. (2011)
		T-2	9,3	n.d a 259,6		
Pães	45	DON	81,8	n.d a 41,7	CG	Pacin et al. (2010)
	75	DON	28	n.d a 146,6	CG-EM/EM	González-Osnaya et al. (2011)
		T-2	2,6	n.d a 67,9		

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) pode ser aplicada para quantificar tricotecenos do grupo B, os quais apresentam pequena absorção no espectro UV. Para tricotecenos do grupo A, técnicas de derivação têm sido empregadas para determiná-los por CLAE, devido ao fato de não possuírem grupos cromóforos quando expostos à radiação UV (PASCALE; HAIDUKOWSKI; VISCONTI, 2003). Além disso, a CLAE se caracteriza por ser o padrão da indústria para a detecção de micotoxinas pela eficiência e versatilidade de fases móveis e estacionárias (VALENTA, 1998; CASS e CASSIANO, 2015)

A Cromatografia gasosa (CG) também é uma técnica utilizada, principalmente acoplada à espectrometria de massas (EM). Pelo fato de possuir uma capacidade superior de resolução, permite a separação e a determinação simultânea dos tricotecenos dos grupos A e B. Entretanto esta técnica requer, em geral, etapas de limpeza mais trabalhosas, envolvendo a derivatização e frequentemente partição em conjunto com colunas de extração em fase sólida (MILANEZ; SOARES; BAPTISTA, 2004).

A espectrometria de massas (EM) é caracterizada por ser o método de detecção preferencial, pois permite alta precisão e a detecção específica de micotoxinas. Os detectores presentes podem estar ligados a outras técnicas de separação, tais como CLAE e GC, aumentando o poder de separação e identificação destes sistemas. Os fatores limitantes na utilização de EM como ferramenta analítica, é o elevado custo do equipamento, os complexos requisitos de laboratório e limitações no tipo dos solventes utilizados na extração e separação das micotoxinas (OLSSON et al., 2002).

De acordo com Iamanaka; Oliveira; Taniwaki (2010), devido a variedade de estruturas químicas das micotoxinas, não é possível utilizar um método padrão para detectá-las. Devido a este fato, estes compostos requerem métodos analíticos sensíveis e confiáveis, além de conter características como baixo custo, simplicidade e rápida execução, que permita segregar adequadamente os analitos dos lotes contaminados.

Através do avanço de tecnologias e metodologias analíticas é constatado que a contaminação de matérias-primas e produtos processados por micotoxinas é cada vez mais comum, gerando a necessidade de desenvolver procedimentos que viabilizem a descontaminação destes grãos, para posterior utilização na alimentação humana e animal.

3.4 MÉTODOS DE REDUÇÃO DOS NÍVEIS DE MICOTOXINAS

A redução da contaminação por micotoxinas pode ser realizada por métodos físicos, químicos ou biológicos (KARLOVSKY, 1999; KABAK; DOBSON; VAR, 2007). De acordo com Bata e Lásztity (1999) deve-se ter um controle sobre os produtos de degradação e

efeitos da detoxificação, avaliando as propriedades sensoriais e nutritivas dos alimentos, sendo uma parte decisiva sobre a investigação de potenciais aplicações. Contudo, vale ressaltar que a prevenção da contaminação em alimentos evita transtornos e deve ser realizada através da adoção de estratégias de intervenção contra a contaminação por micotoxinas, que incluem boas práticas agrícolas, secagem e armazenamento adequado, saneamento e controle químico e biológico (WAGACHA; MUTHOMI, 2008; TIBOLA; LORINI; MIRANDA, 2009; PAGNUSSATT et al., 2013).

3.4.1 Métodos Químicos

Rastegar et al. (2017) pesquisaram sobre a degradação de AFLA B1 em pistache, investigando a eficácia do processo de torrefação com a incorporação de suco de limão e ácido cítrico, indicando que a torrefação com 30 mL de água, 15 mL de suco de limão e 2,25 g de ácido cítrico a 120 °C durante 1 h resultou numa degradação de 49,2%, sem alterações perceptíveis no aspecto, observando-se um sinergismo entre o aquecimento e a adição dos compostos ácidos. Kokkinidou; Floros; LaBorde (2014) estudaram a degradação de patulina sob 25 e 85 °C na ausência e presença de ácido ascórbico, verificando que este composto aumentou significativamente as taxas de degradação desta micotoxina em todas as temperaturas estudadas.

Paulick et al. (2015) testaram um método de preservação úmida com sulfito de sódio (Na_2SO_3) e ácido propiônico para a redução de DON em grãos de milho, verificando que a concentração de DON diminuiu com quantidades crescentes de Na_2SO_3 , sendo que os resultados globais mostraram que para se obter uma redução completa de DON é necessário a adição de 10 g Na_2SO_3 .kg de milho⁻¹ a 30% de umidade durante 8 dias.

Em pesquisa realizada por Abramson; House, Nyachoti (2005) foi avaliada a redução dos níveis de DON em cevada naturalmente contaminada utilizando solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 1 M aliada a temperatura de 80 °C durante 5 dias, sendo evidenciada uma redução de aproximadamente 58 e 44% para a presença e ausência de Na_2CO_3 10% m/v. Méndez-Albores et al. (2013) avaliaram a degradação de aflatoxinas (AFLA B1 e AFLA B2) presentes em farinha de sorgo através do processo de extrusão aliado a adição de ácido cítrico, verificando uma degradação de 92%, sem afetar as propriedades físico-químicas e funcionais dos extrusados.

O estudo de Wilson et al. (2005), demonstrou a capacidade do dióxido de cloro (ClO_2) em solução na redução da concentração de dois tricotecenos, a roridina A e a verrucarina A, em experimento contendo ambas micotoxinas juntamente a uma concentração

de 200, 500 e 1000 ppm de ClO₂, mantidos durante 116 h em temperatura ambiente. Ao final do processo, verificou-se que ambas foram degradadas em 2 h após o tratamento com 1000 ppm de ClO₂. Norred et al. (1991) avaliaram o tratamento realizado sobre grãos de milho contaminados naturalmente com FUM B1 através da adição de amônia em concentrações de 1, 2 e 5%, incubados a 50 ° C durante 4 dias. Ao final do processo, reportaram uma redução de 45% de FUM B1 ao utilizar 2% de amônia, que também possui a capacidade de inibir o crescimento fúngico. Young; Zhu e Zhou (2006) verificaram a capacidade de degradação de tricotecenos através da utilização de ozônio aquoso (O₃), com a possível interação deste composto com a ligação dupla entre os carbonos 9 e 10, porém, não identificaram os produtos de degradação.

De forma geral, os métodos químicos exigem não só reações adequadas, mas também tratamentos adicionais (secagem, limpeza) que podem torná-los demorados e de alto custo. A literatura mostra que vários produtos químicos, incluindo agentes oxidantes e redutores, ácidos, bases e sais já foram testados quanto à sua capacidade de degradar as micotoxinas em produtos agrícolas. Porém, apenas um número limitado se mostrou eficaz, sem diminuir o valor nutricional ou a palatabilidade do alimento (HEIDLER; SCHATZMAYR, 2003; JARD et al., 2011).

3.4.2 Métodos Biológicos

Em relação à tratamentos biológicos para a redução dos teores de micotoxinas, Young et al. (2007) avaliaram a degradação de tricotecenos por micro-organismos intestinais de frangos, onde se observou que reações de desacilação e epoxidação reduziram a toxicidade dos compostos. Cougo, Fontes e Duarte (2015) verificaram a redução de 27,1 % na concentração de NIV ao final do processo de fermentação alcoólica de 96 h, indicando a ação da levedura utilizada. Garda et al. (2005) utilizaram malte contaminado artificialmente com DON e toxina T-2 e observaram que ocorreu redução de 47% e 46% nos níveis destes tricotecenos, respectivamente, após 120 h de fermentação utilizando *Saccharomyces cerevisiae*.

Em estudo realizado por Feltrin (2013), foi verificado que a enzima peroxidase (PO) possui potencial degradativo sobre DON e que estudos cinéticos de interação entre a enzima e a micotoxina podem contribuir para aplicação em alimentos. Gautério et al. (2017) realizaram a purificação de PO obtida de farelo de arroz através de adsorção em leito expandido acoplado a ultrafiltração para a degradação de DON e verificaram uma redução de 81,7% no teor de DON em solução modelo.

Dellafiora et al. (2017) investigaram a degradação de AFLA B1 e AFLA M1 utilizando lacases provenientes de *Trametes versicolor* estudando a interação enzima-substrato para diversas isoformas das enzimas através de técnicas de modelagem molecular 3D, constatando diferenças estruturais entre as isoformas identificadas, o que causou diferentes padrões de interação entre as aflatoxinas B1 e M1, sendo considerada uma estratégia promissora para a mitigação de aflatoxinas.

De acordo com Varga et al. (2005), diversos fungos filamentosos dos gêneros *Rhizopus* e *Mucor* foram avaliados quanto a capacidade para degradar ocratoxina A (OTA), aflatoxina B1 (AFLA B1), ZEA e patulina (PAT) em meio líquido. Embora nenhum dos isolados tenha apresentado atividade degradante para AFLA B1, a OTA foi degradada com êxito por *Rhizopus stolonifer*, *R. microsporus*, *R. homothallicus* e dois isolados de *R. oryzae*, sendo que estes últimos foram capazes de degradar mais do que 95% da OTA em um período de 16 dias. Garda-Buffon e Badiale-Furlong (2010) avaliaram a capacidade de espécies fúngicas de *Aspergillus oryzae* e *Rhizopus oryzae* em degradar DON durante fermentação submersa e verificaram que *Rhizopus oryzae* ocasionou a maior redução na concentração de DON, aproximadamente 90% em 240 h, enquanto *Aspergillus oryzae* ocasionou com maior rapidez, 74% de redução em 96 h.

Xing et al. (2014) avaliaram a degradação de FUM B1 através de óleos essenciais de cânfora, cravo, eucalipto, anis, hortelã e canela, sendo este último o mais promissor. A partir dele, as condições ideais foram otimizadas tendo como resultado a utilização da concentração de 280 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de óleo de canela, sob 30 °C durante 120 h, onde obteve-se 94% de redução no níveis de FUM B1.

3.4.3 Métodos Físicos

Alguns métodos físicos podem ser aplicados isoladamente ou em conjunto, tais como moagem úmida e a seco, limpeza, lavagem, descasque, polimento, cozimento e extrusão. A eficácia destes métodos depende do grau de contaminação, da distribuição da micotoxina no grão e dos métodos de processamento utilizados (TRIGO-STOCKLI, 2002). Trenholm et al. (1991) conduziram experimentos para avaliar a eficiência dos processos de peneiramento e descasque na redução de DON e ZEA em cevada, trigo e milho, contendo concentrações entre 5 e 23 mg kg^{-1} e 0,5 e 1,21 mg kg^{-1} de DON e ZEA, respectivamente. Os grãos foram segregados em frações de diferentes tamanhos de partículas por peneiramento através de uma série de peneiras. As frações que reteram as partículas maiores continham

menor concentração de toxinas, entre 67 e 83%. Quando os grãos foram introduzidos em um descascador Scott-Strong (para retirar a parte externa dos grãos), houve uma redução entre 40-100% de DON e ZEA, concluindo que tanto o peneiramento quanto o descasque podem representar procedimentos úteis na redução dos níveis de micotoxinas em grãos contaminados.

Pronyk, Cenkowski e Abramsom (2006) relataram a redução de até 52% de DON em grãos de trigo naturalmente contaminados, submetendo-os a vapor superaquecido (185 °C) durante 6 min de processamento. Samar (2007) avaliou o efeito de diferentes temperaturas no processo de fritura de produtos elaborados com farinha de trigo contendo DON, verificando a redução dos níveis de 66% a 169 °C, 43% a 205 °C e 38 % 243 °C.

Peng et al. (2015) investigaram a degradação de OTA induzida por irradiação do feixe de elétrons, indicando que este processo foi mais eficaz em meio contendo água do que em uma mistura de acetonitrila e metanol-água (60:40, v / v). A eficiência de degradação da OTA aumentou de forma dependente da dose de irradiação e reduziu no aumento da concentração de substrato, sendo que as condições alcalinas (pH 9) e a adição de H₂O₂ (<0,1% v / v) melhoraram notavelmente a eficiência da degradação da OTA. Moreau et al. (2013) analisaram o efeito da tecnologia de luz pulsada para a degradação de micotoxinas, relatando que oito *flashes* de luz pulsada degradaram 84,5, 72,5, 92,7 e 98,1 % de ZEA, DON, AFLA B1 e OTA em solução, respectivamente. Além disso, a toxicidade e genotoxicidade de ZEA e DON foram estimadas após a exposição a um tratamento claro pulsado usando o teste de Ames em *Caenorhabditis elegans*, indicando que o tratamento da AFLA B1 por luz pulsada pode eliminar completamente o potencial mutagênico desta micotoxina.

A irradiação UV também pode ser aplicada, pois apresenta efeito microbicida se utilizada com intensidade e tempo de exposição suficiente. Ao utilizá-las na faixa de 210 e 330 nm são mais eficientes por serem absorvidas pelas proteínas e ácidos nucleicos, provocando o rompimento de cromossomos, mutações genéticas e inativação de enzimas e, consequentemente a inviabilização da célula (ALEXANDRE, 2008). Este tipo de irradiação inicia a oxidação de radicais livres e forma radicais lipídicos, radical superóxido e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) que reagem se ligando a carboidratos e proteínas. Portanto, são evidentes as alterações na composição química do alimento quando o tratamento com luz UV é aplicado em doses elevadas (KOLAKOWSKA, 2003). Porém, de acordo com resultados reportados na literatura, se a aplicação da radiação UV no alimento se realizar em quantidades moderadas, não causa efeitos adversos (CAMINITI et al., 2012). Murata, Mitsumatsu e Shimada (2008), realizaram estudos para verificar a possível redução da contaminação de DON e ZEA em

cereais utilizando luz UV germicida UV-C com intensidade fraca ($0,1 \text{ mW cm}^{-2}$ a 254 nm) e forte (24 mW cm^{-2}). Quando os grãos foram expostos à radiação de intensidade fraca, os níveis de ZEA e DON (ambos 30 mg kg^{-1}) foram reduzidos proporcionalmente ao incremento do tempo de exposição. A irradiação UV de intensidade forte também foi dependente do tempo de exposição, mas reduziu os níveis de micotoxinas de forma mais rápida. Desta forma, foi confirmada que a irradiação UV aplicada *in vitro* foi eficaz na redução dos níveis de ZEA e DON.

Jalili; Jinap e Noranizan (2010) estudaram os efeitos da radiação gama aplicada em pimenta preta, verificando a melhor condição ao utilizar uma dose de 60 kGy , com redução máxima de 52%, 43%, 24%, 40% e 36% para OTA, AFLA B1, AFLA B1, AFLA G1 e AFLA G2, respectivamente. De acordo com Samarajeewa et al. (1990), a radiação gama pode reduzir de 75% a 100% os níveis de AFLA B1 em farinha de amendoim e a radiação UV reduz até 50% a concentração desta micotoxina. Segundo estudo realizado por Diao et al. (2015), a redução de AFLA B1 em óleo de amendoim foi avaliada aplicando-se um reator de fotodegradação e a segurança alimentar do óleo foi avaliada após a irradiação UV, baseada na mutagenicidade de cepas de *Salmonella typhimurium* pelo teste de citotoxicidade de células HepG2. Os resultados mostraram que o teor de AFLA B1 em óleo de amendoim foi reduzido com eficiência, de 52 para $7,23 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$, durante 10 min de exposição à luz UV.

O US é uma forma de energia gerada pelas ondas sonoras que pode assumir diferentes frequências e a remoção de resíduos dos produtos alimentares a partir de superfícies e a inativação de micro-organismos podem ocorrer como consequência da cavitação, que é a formação, o crescimento e colapso de bolhas que geram uma energia mecânica e química localizada (KORNFELD; SUVOROV, 1944; TAO; SUN, 2013; CHEMAT et al., 2017). De acordo com Adekunle et al. (2010), pode ser aplicado em alimentos líquidos ou semissólidos e dependendo de seu estado físico, suas ondas podem ser propagadas por meio de uma sonda, ou por meio da imersão do próprio alimento em banhos de ultrassônicos.

Existem poucos relatos na literatura sobre métodos que utilizem ondas ultrassônicas para a redução dos níveis de micotoxinas. Porém, o US é usado para diversos fins na indústria de alimentos para a descontaminação microbiana (ANDRADE et al., 2014). Quando é propagado através de uma estrutura biológica, promove a compressão e expansão das partículas médias, resultando na produção de uma quantidade elevada de energia, inativando os micro-organismos em consequência da cavitação (RASTOGI, 2011).

De acordo com a patente publicada por Lindner (1996), o método ultrassônico pode ser utilizado para reduzir níveis de micotoxinas em nozes, grãos e farinha, além de

culturas incluindo arroz, milho, trigo, cevada, aveia e centeio. Alguns testes da própria patente indicaram que pode ser eficaz para tricotecenos, embora também seja capaz de reduzir a contaminação de ZEA, OTA e AFLA. O tempo de impulso do US pode variar de 10 s a 200 min e a temperatura do tratamento pode ficar na faixa de 12 e 50 °C. O tratamento deve ser aplicado em meio aquoso que pode ser água pura ou uma mistura de água juntamente a um ou mais solventes orgânicos. Além disso, bases e ácidos podem ser utilizados como aditivos para aumentar a atividade de desintoxicação. Um dos possíveis mecanismos para o método ultrassônico são as ondas de pressão, resultando na liberação de materiais a partir da superfície. Outro mecanismo provável é o sono-químico, com o US fornecendo energia, provocando reações que resultam em mudanças nas estruturas químicas. Provavelmente, é possível que a reação ocorra no grupo epóxido dos tricotecenos, porque os grupos hidroxila são abundantes no meio reacional. Já em relação à ZEA, OTA e AFLA, a reação pode ocorrer com as aminas primárias ou secundárias para formar amidas.

Qualquer que seja a estratégia de descontaminação, a micotoxina deve ser degradada através da transformação em compostos não tóxicos e os esporos fúngicos e micélios devem ser destruídos para que novas toxinas não sejam formadas (KABAK; DOBSON; VAR, 2007). O alimento precisa manter seu valor nutritivo e permanecer palatável após a descontaminação e as propriedades físicas da matéria-prima não devem alterar significativamente (PARK, 1993).

Deste modo, os métodos físicos podem ser facilmente empregados industrialmente objetivando a redução de micotoxinas em matérias-primas agroindustriais. Entretanto, devido à falta de dados na literatura sobre o efeito destes métodos na redução de tricotecenos em trigo e consequentes modificações nas propriedades tecnológicas, mais estudos são necessários para comprovar sua eficácia e aplicabilidade.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O desenvolvimento do trabalho consistiu em avaliar a aplicação de diferentes métodos físicos sobre grãos de trigo, através de planejamento experimental, com o intuito de reduzir os níveis de tricotecenos presentes naturalmente nas amostras.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Micotoxinas e Ciência de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande (LAMCA-FURG), com parceria do Laboratório de Cereais da Universidade de Passo Fundo (UPF).

4.1 MATERIAL

4.1.1 Instrumentos

- Balança Analítica de Precisão (Marte – AY220);
- Banho-Maria (Quimis);
- Banho Ultrassônico Ultra Cleaner (Unique) modelo USC-800A – 40 kHz;
- Banho Ultrassônico Ultra Cleaner (Unique) modelo USC-700 – 55 kHz;
- Banho Ultrassônico Cleaner (Unique) modelo USC-1850 – 25 kHz;
- Bloco Digestor (Gerhardt - Oxylab);
- Bomba à Vácuo (Primatec);
- Câmara contendo lâmpadas UV de λ 254 e 365 nm (Dist – GRC-03);
- Centrífuga refrigerada (Cientec – CT-5000R);
- Coluna Analítica C₁₈ Gemini (250 x 4,5 mm, 5 μ m) (Phenomenex – USA);
- Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (Shimadzu) equipado com sistema administrador CBM-20A módulo LC-20AT, degaseificador DGU-20A₅ e detector UV-VIS SPD-20A, conectado em *software LC solution data acquisition*;
- Destilador de nitrogênio (Tecnal – TE-0363);
- Destilador de água (Quimis 341-25);
- Espectrofotômetro (Kasuaki) modelo IL-226;
- Espectrofotômetro (Femto – Cirrus 80);
- Estufa de Secagem com circulação de ar (Quimis);
- Lâmpada λ 365 nm (Xelux – 8W) ;
- Lâmpada λ 254 nm (FLT5 – 8W);
- Microcentrífuga (Eppendorf – MiniSpin);
- Micropipetadores automáticos com capacidade variável de 10 – 1000 μ L (LabMate);

- Microseringas com capacidade variável (Hamilton);
- Moinho analítico (Quimis - Q298A21);
- Mufla (Quimis D-24);
- Shaker incubadora (Tecnal TE-420);
- Sistema de purificação de água Milli-Q (Direct-Q UV3 Millipore);
- Vórtex Mixer (KMC-1300V);

4.1.2 Reagentes, solventes e materiais

- Acetonitrila grau CLAE (J. T. Baker)
- Acetonitrila P.A (Vetec)
- Água destilada
- Água ultra-pura – Milli-Q
- Amido
- Benzeno P.A (Synth)
- C₁₈ (Hexis)
- Cloreto de Sódio (Synth)
- Etanol P.A (Vetec)
- Éter de petróleo P.A (Vetec)
- Frascos de vidro âmbar com capacidade de 10 a 50 mL
- Gás Nitrogênio (White Martins)
- Guaiacol P.A (Vetec)
- Hexano P.A (Synth)
- Hidróxido de sódio P.A (Cinética)
- Padrões analíticos: DON, 3-ADON 15-ADON e NIV (Sygma-Aldrich)
- Peróxido de hidrogênio P.A (Alphatec)
- Sulfato de Magnésio (Synth)
- Vidrarias em geral (béqueres, erlenmeyers, pipetas volumétricas, balões volumétricos, buretas).

4.1.3 Matéria-prima

A amostra de trigo utilizada para o estudo da redução da contaminação de tricotecnos foi fornecida por um produtor da região norte do Estado do Rio Grande do Sul, a

qual foi colhida com umidade em torno de 20 % e em seguida, foi seca até atingir umidade de aproximadamente 13% para posterior armazenamento. A sacaria continha aproximadamente 20 kg de grãos provenientes dos silos e após análise da presença de tricotecenos, esta foi denominada amostra padrão.

Para a avaliação da eficácia dos tratamentos físicos após a definição das condições otimizadas na amostra padrão, as amostras de trigo denominadas A, B, C e D foram adquiridas no comércio local, sendo obtidas frações de 500 g (a granel).

Todas as amostras foram armazenadas em recipientes plásticos, sendo vedados e estocados sob condições de baixa temperatura (<5°C) até o momento das análises.

4.1.4 Padrões de micotoxinas

Os padrões analíticos dos tricotecenos DON, NIV, 3-ADON e 15-ADON foram adquiridos da *Syigma-Aldrich* (EUA). As soluções estoque foram preparadas a partir de recipientes que continham 1 mg de cada micotoxina e as mesmas foram solubilizadas, separadamente, em benzeno:acetonitrila (95:5) até a concentração de 100 µg mL⁻¹.

Em seguida, cada solução estoque foi diluída para obtenção das soluções padrão, cujas concentrações corresponderam a 50 µg mL⁻¹, de acordo com a relação massa/volume e confirmada por espectrofotometria através do espectrofotômetro FEMTO UV-Vis modelo Cirrus 80, de acordo com metodologia descrita por Bennett e Shotwell (1990) e Krska et al. (2007).

O comprimento de onda pertencente à máxima absorção foi 220 nm para todas as micotoxinas. A absorvidade molar de DON, NIV, 3-ADON e 15-DON utilizada foi de 6808, 6836, 6911 e 6895, em acetonitrila, respectivamente. Para estimar as concentrações das soluções de trabalho foi utilizada a Equação 1.

$$\mu\text{g mL}^{-1} = \frac{\text{Abs} \times \text{MM} \times 1000 \times \text{FC}}{\varepsilon \times C} \quad (1)$$

Onde:

Abs = Valor da absorbância da solução-padrão (UA – unidade de absorbância)

MM = Massa molecular da micotoxina (g.mol⁻¹)

FC = Fator de correção do espectrofotômetro

ε = Absorvidade molar da micotoxina no comprimento de onda de máxima absorbância em acetonitrila (mol⁻¹.cm⁻¹)

C = Largura da cubeta (1 cm)

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Amostragem

Para a redução das amostras brutas, foi realizado o quarteamento que tem como princípio considerar que um quarto deve ser representativo do todo (CECCHI, 1999; SOARES, 2006). Este procedimento consistiu em colocar a amostra sobre uma superfície plana, onde foi homogeneizada com espátula formando uma pilha que foi nivelada e dividida em quatro segmentos iguais. Destes, dois segmentos opostos foram utilizados e os outros dois, descartados. Os segmentos restantes foram misturados e reduzidos da mesma forma, até a obtenção do tamanho ideal da amostra. Para cada planejamento experimental, uma fração de 1 kg de grãos foi separada, sendo homogeneizadas para garantir a representatividade da amostra analítica.

4.2.2 Condicionamento do trigo

Os grãos da amostra padrão foram limpos superficialmente, para retirar sujidades provenientes do armazenamento como palha, folhas e outros materiais estranhos. Em seguida foi determinada a umidade inicial do trigo (conforme item 4.2.3), para a determinação do volume de água a ser adicionado para atingir a umidade final de 17%, de acordo com a Equação 2.

$$\text{Água adicionada (mL)} = \left(\frac{100 - \text{umidade inicial do trigo (\%)}}{100 - \text{umidade final do trigo (\%)}} \right) - 1 \times \text{Peso da amostra} \quad (2)$$

Através do volume de água estimado, as amostras foram hidratadas em placas de Petri contendo tampas ou béqueres vedados com papel filme, com capacidade de 150 g, onde a água foi acrescentada a partir do centro da massa dos grãos, utilizando pipeta graduada de 1 mL. Posteriormente, a mistura foi homogeneizada com bastão de vidro durante 1 minuto.

Para estabelecer o tempo de condicionamento e o conteúdo de umidade a ser estudado foram verificados relatos da literatura que descrevem que o tempo de condicionamento e o conteúdo de umidade dependem da avaliação do tipo de trigo, sendo que o grão mais duro deverá permanecer por mais tempo no silo para absorver melhor a água adicionada (HOSENEY, 1991; POSNER; HIBBS, 1997). Pelo fato das especificações do trigo da amostra padrão não terem sido apresentadas pelo produtor, optou-se por avaliar três

tempos de condicionamento (0, 8 e 16 h), mantendo o mesmo conteúdo de umidade para todos, sob temperatura ambiente (25 °C).

4.2.3 Caracterização físico-química dos grãos de trigo

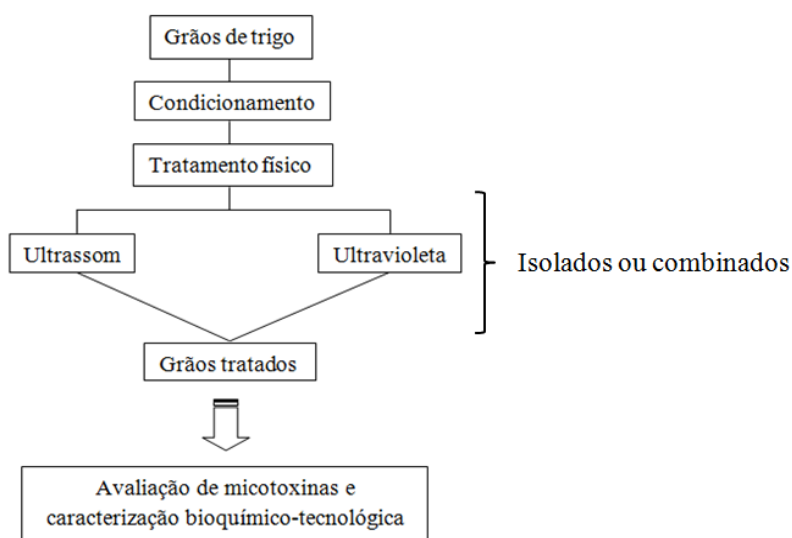
As amostras de trigo foram caracterizadas antes e após os tratamentos físicos com US, UV-A ou UV-C através da composição proximal seguindo métodos da AACC (2010), sendo analisados em triplicata. A umidade foi determinada por gravimetria, através da perda de massa após secagem em estufa conforme método nº 44-15.02; o teor lipídico foi determinado de acordo com o método nº 58-99.01; o teor de cinzas por método gravimétrico pela incineração utilizando o método nº 08-03.01; a proteína bruta pelo método micro-Kjeldahl, seguindo método nº 46-13.01; a fibra alimentar total pelo método nº 32-05.01 e o teor de carboidratos estimado por diferença percentual.

4.2.4 Tratamentos físicos de US e UV-A ou UV-C

Pelo fato de os processos físicos de US e UV serem ainda pouco explorados para a redução dos níveis de micotoxinas, optou-se por utilizar para cada tratamento um planejamento experimental fatorial fracionado que de acordo com Giesbrecht e Gumpertz (2004) é utilizado quando o objetivo é investigar um grande número de fatores para determinar quais podem ser os mais importantes na influência de determinado processo.

Para melhor entendimento do procedimento aplicado neste trabalho, o fluxograma demonstrado na Figura 4 ilustra como os tratamentos com US e UV foram realizados.

Figura 4 - Esquema simplificado do preparo das amostras.



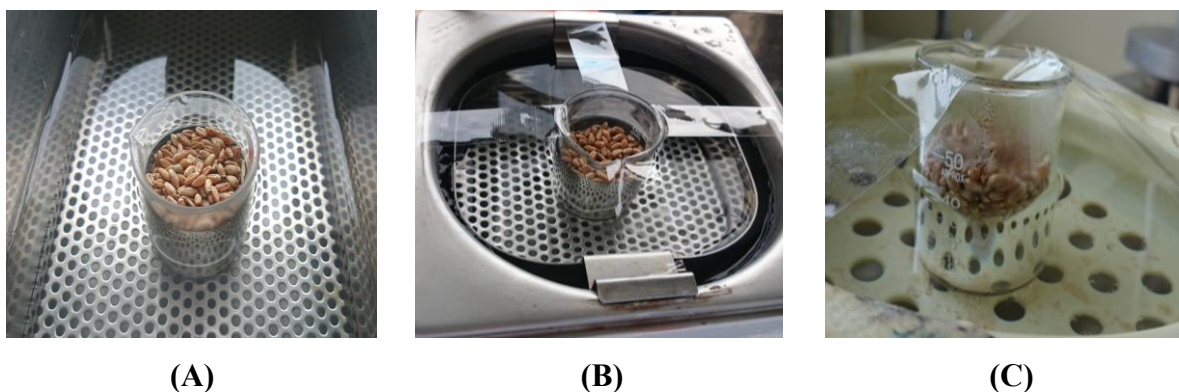
Para a avaliação do efeito do US nos grãos de trigo foi realizado um planejamento experimental aplicando um delineamento fatorial fracionado 2^{4-1} contendo 8 ensaios entre os níveis superiores e inferiores e três repetições no ponto central, totalizando 11 ensaios, com valores codificados e reais indicados na Tabela 4. A variável resposta foi a redução (%) dos níveis dos tricotecnos: DON, NIV, 3-ADON e 15-ADON e a escolha das variáveis independentes tiveram como base a patente de Lindner (1996).

Tabela 4 - Variáveis independentes e dados codificados e reais para o planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} referente à aplicação do US.

Variáveis	Níveis		
	-1	0	+1
Frequência (kHz)	25	40	55
Tempo de Exposição (h)	0,5	2	3,5
Tempo de Condicionamento (h)	0	8	16
Diâmetro (cm)	3	6,5	10

Para a realização dos experimentos, foram adicionados 40 g de grãos de trigo em béqueres com diâmetros de 3; 6,5 ou 10 cm, tendo a umidade corrigida para 17% com base no teor de umidade inicial (12,5%) determinado conforme item 4.2.3. Em seguida, as amostras foram submetidas ao banho ultrassônico Ultra Cleaner (Unique) modelo USC-800A com potência de 100 Watts e frequência de 40 kHz; ou banho ultrassônico Ultra Cleaner (Unique) modelo USC-700 com potência de 55 Watts e frequência de 55 kHz; ou banho ultrassônico Cleaner (Unique) modelo USC-1850 com potência de 155 Watts e frequência de 25 kHz, conforme ilustrado na Figura 5. A amostra referente a cada ensaio do planejamento foi submetida separadamente dentro da cuba ultrassônica e para que não houvesse movimentação do béquer, foram utilizadas fitas adesivas.

Figura 5 - Fotografia dos tratamentos onde foram aplicadas diferentes frequências ultrassônicas: (A) 25 kHz; (B) 40 kHz e (C) 55 kHz.



Após o término de cada ensaio, o conteúdo de cada béquer foi triturado em moinho analítico Quimis - Q298A21 durante 5 min. A extração de tricotecenos da amostra foi realizada em duplicata, sendo aplicado o método QuEChERS (ANASTASSÍADES et al., 2003) modificado por (SEUS, 2014), com posterior análise em CLAE-UV. A variável resposta foi a redução dos tricotecenos e para fins de comparação, um experimento controle foi realizado concomitantemente, consistindo em uma amostra sem aplicação do tratamento físico.

Em relação à avaliação do efeito da luz UV nos grãos de trigo, foram avaliados os comprimentos de onda de 254 nm (UV-C) e 365 nm (UV-A), em planejamentos experimentais distintos. Foi aplicado um delineamento fatorial fracionado 2^{4-1} contendo 8 ensaios entre os níveis superiores e inferiores e três repetições no ponto central, totalizando 11 ensaios, com valores codificados e reais indicados nas Tabela 5, para UV-C e UV-A, separadamente. A variável resposta foi a redução (%) dos níveis dos tricotecenos: DON, ADONS e NIV. A escolha das variáveis independentes foram baseadas em dados bibliográficos de Garg et al. (2013).

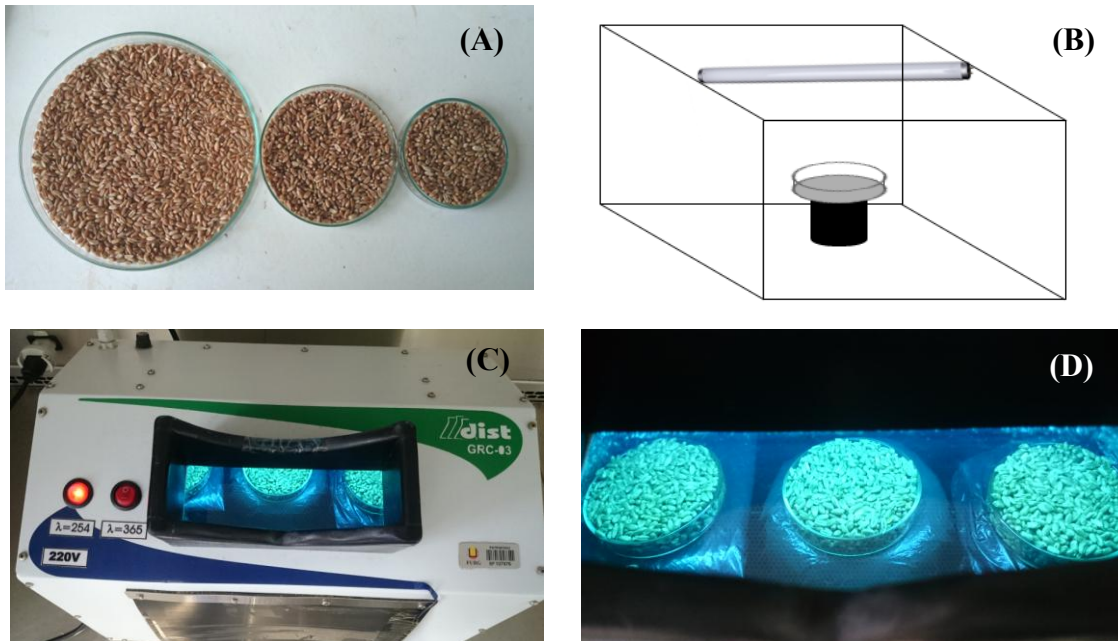
Para verificação da redução dos níveis das micotoxinas, foi realizado um experimento controle que consistiu em uma amostra sem aplicação do tratamento físico, sendo utilizada para a comparação dos dados.

Tabela 5 - Dados codificados e reais para os planejamentos fatoriais fracionados 2^{4-1} referente à aplicação da luz UV-A e UV-C em grãos de trigo contaminados naturalmente por tricotecenos.

Variáveis	Níveis		
	-1	0	+1
Espessura camada grãos na placa (cm)	0,4	0,8	1,2
Tempo de exposição (h)	2	5	8
Tempo de condicionamento (h)	0	8	16
Distância lâmpada/superfície grãos (cm)	8	15	22

Para a realização dos experimentos, foram adicionados 40 g de grãos de trigo em placas de Petri com diâmetros de 7, 9 ou 14,7 cm, sendo submetidas à irradiação no interior de uma câmara com gabinete revelador cromatográfico modelo GRC-03 da marca Dist, contendo lâmpada UV de 8 W, de acordo com a Figura 6. A umidade dos grãos foi corrigida para 17%, tendo como base o teor de umidade inicial (12,5%) determinado conforme item 4.2.3.

Figura 6 - Imagens referentes às placas de Petri (A); desenho simplificado da câmara (B); vista superior da Câmara Dist GRC-03 sendo utilizada para experimento com UV-C (C) e vista superior aproximada da Câmara (D).



Nos experimentos com UV, a dose é o produto da intensidade de radiação pelo tempo de exposição e foi calculada conforme a Equação 3.

$$D = I.t \quad (3)$$

Onde: D = Dose de radiação UV (mW.s.cm^{-2}); I = Intensidade da radiação (mW.cm^{-2}); t = Tempo de exposição (s). A intensidade foi estimada através da Equação 4.

$$I = \frac{P}{A} \quad (4)$$

Onde: I = Intensidade; P = Potência da lâmpada e A = Área

Após a obtenção das condições otimizadas, foi realizada a confirmação da redução de tricotecnos pelos tratamentos físicos, repetindo-se os ensaios onde ocorreram as maiores reduções de DON, por ser o único tricoteceno legislado no Brasil. Além disso, para a avaliação dos tratamentos físicos combinados, a condição otimizada do tratamento com US foi aliada a melhor condição de UV (UV-A ou UV-C) em sequência, respectivamente. Ao final destes procedimentos, foi realizada a determinação de tricotecnos das amostras conforme item 4.2.5.

4.2.5 Determinação de tricotecenos nas amostras de grãos de trigo

Após o término de cada ensaio com os tratamentos físicos, os grãos foram primeiramente homogeneizados e em seguida, foi retirada uma fração de 35 g para a realização da moagem em moinho Quimis - Q298A21 durante 5 min. A extração de tricotecenos das amostras foi realizada em triplicata, sendo aplicado o método QuEChERS descrito por Anastassiades et al. (2003) modificado por Seus (2014), consistindo em adicionar a 10 g de amostra 20 mL de água destilada. Após, a mistura foi lavada com 10 mL de hexano por duas vezes, sendo retirado com o uso de uma pipeta de *Pasteur*. Foram adicionados 20 mL de acetonitrila (ACN) e a mistura foi homogeneizada em agitador orbital por 20 min a 800 xg. Após, o material foi agitado em vórtex por 2 min com 6 g de sulfato de magnésio e 1,5 g de cloreto de sódio. Em seguida, a mistura foi centrifugada por 10 min a 3220 xg. Foram retirados 10 mL do sobrenadante e adicionados 0,3 g de sulfato de magnésio e 0,1 g de C₁₈. A mistura foi homogeneizada em vórtex por 30 s e centrifugada novamente por 5 min a 3220 xg. Foram recolhidos 3 mL de sobrenadante, o qual foi seco sob corrente de N₂, para posterior ressuspensão em 1 mL de ACN e injeção no CLAE-UV.

Para confirmar a eficiência dos tratamentos físicos em grãos da amostra padrão contaminada artificialmente antes e após os tratamentos, foram realizados de recuperação para verificar a redução da concentração de tricotecenos, conforme Equação 5, estimando-se também o coeficiente de variação (%).

$$R = \frac{(C1-C2)}{C3} \times 100 \quad (5)$$

Onde:

R = Recuperação (%);

C1 = Concentração determinada na amostra fortificada;

C2 = Concentração determinada na amostra não fortificada (branco);

C3 = Concentração do padrão utilizado para a fortificação.

A fortificação com cada tricoteceno (40 µg) foi realizada com 24 h de antecedência para a completa evaporação do solvente. Após, os grãos foram submetidos ao tratamento físico específico e em seguida submetidos à extração e quantificação.

4.2.6 Determinação de proteínas solúveis

A extração das proteínas solúveis para os grãos de trigo tratados e não tratados foi realizada com base na solubilidade das diferentes frações proteicas (albumina, globulina,

prolamina e glutelina), que foram separadas por extração sequencial de acordo com a solubilidade em água, cloreto de sódio, etanol e hidróxido de sódio. Inicialmente foram adicionados 10 mL de água destilada a 1 g de amostra, seguido por agitação em mesa agitadora orbital durante 30 min à 200 x g e 25 °C. As amostras foram centrifugadas à 3220 x g durante 20 min e o sobrenadante foi coletado, repetindo-se o procedimento para obtenção da fração albumina. Ao resíduo da extração anterior foram adicionados 10 mL de NaCl 1 % para a obtenção da fração globulina, utilizando as mesmas condições de agitação e centrifugação. Para as extrações de prolamina e glutelina, foi utilizado etanol 70% e NaOH (0,1 mol L⁻¹), respectivamente (OSBORNE, 1924).

A quantificação das frações protéicas separadas pela solubilidade foi realizada pelo método de Lowry (1951), utilizando curva padrão de albumina solubilizada em água (0,018 – 0,18 mg.mL⁻¹), NaCl 1% (0,018 – 0,18 mg.mL⁻¹), etanol 70% (0,018 – 0,18 mg.mL⁻¹) e NaOH (0,018 – 0,18 mg.mL⁻¹).

4.2.7 Extração e determinação da atividade enzimática de α -amilase

A atividade enzimática da α -amilase foi determinada pela degradação do amido por método iodométrico descrito por Bernfeld (1955). Para a extração da α -amilase presente nos grãos de trigo, a 1 g de amostra foi adicionado 50 mL de NaCl 0,5% e a mistura foi homogeneizada em agitador orbital durante 30 min, a 37 °C e 200 x g. Após, foi realizada a centrifugação por 10 min a 2800 x g, com posterior filtração do sobrenadante em banho de gelo, para obtenção do extrato enzimático.

Para a quantificação de α -amilase, foram adicionados 0,5 mL de amido 0,1%, 0,1 mL de tampão citrato pH 6 e 0,3 mL de água destilada em tubos de ensaio, sendo submetidos a banho-maria a 50 °C durante 5 min. Logo, foi adicionado 1 mL do extrato enzimático e novamente foram transferidos para banho-maria a 50 °C por 5 min. Em seguida, foi adicionado 0,5 mL de HCl 1 M, 0,1 mL de iodo (0,3% I₂ em solução 3% de KI) e 7,5 mL de água destilada e os tubos foram homogeneizados para então realizar a leitura em espectrofotômetro a 620 nm. A curva de amido teve uma linearidade de 0,02 a 0,15 mg mL⁻¹ e a atividade específica da enzima (AE) foi determinada de acordo com a Equação 6.

$$AE = \frac{\text{Concentração inicial de amido} - \text{concentração final de amido}}{\text{mg proteína min}} \quad (6)$$

4.2.8 Extração e determinação da atividade enzimática de peroxidase

Para a extração da peroxidase dos grãos de trigo, a 5 g de amostra foram adicionados 50 mL tampão fosfato 10 mM pH 5. Em seguida, a mistura foi submetida a agitação orbital durante 1 h a 100 x g com posterior centrifugação por 10 min, 3220 x g e 4 °C. O sobrenadante foi filtrado com papel filtro Whatmann nº 4 para a obtenção do extrato enzimático (FELTRIN, 2013).

A determinação da atividade enzimática da peroxidase foi avaliada através de método adaptado por Feltrin (2013), onde adicionou-se a tubos de ensaio 1,5 mL de tampão fosfato 5 mM pH 5,5; 2 mL H₂O destilada, 0,5 mL guaiacol 1% e 1 mL do extrato enzimático, submetidos ao banho-maria a 30 °C durante 10 min. A transmitância do composto oxidado (tetraguaiacol) foi obtida em espectrofotômetro a 470 nm, sendo o ϵ_{470} do guaiacol 26600 mol⁻¹ cm⁻¹ (Vetal e Rathod, 2015). A atividade foi estimada de acordo com a Equação 7.

$$U \text{ mL}^{-1} = \frac{Abs \times f_{dil} \times V_r \times 10^3}{\epsilon \times t \times V} \quad (7)$$

Onde, *Abs* é a absorvância determinada por min, *f_{dil}* é o fator de diluição da amostra, *V_r* é o volume da reação (mL), *10³* é o fator de conversão de mmol para μmol, *ε* é o coeficiente de absorção molar do substrato, *t* é o tempo de reação (min) e *V* é o volume de extrato adicionado no meio reacional (mL).

Uma unidade de atividade específica da enzima PO foi definida como a massa de proteína capaz de causar um aumento da unidade de absorvância em 0,001/min.mg_{proteína} (GARDA-BUFFON, BADIALE-FURLONG, 2010).

4.2.9 Determinação do perfil lipídico

Os lipídios das amostras de trigo tratadas e não tratadas com os processos físicos nas condições otimizadas foram extraídos pelo método de Folch, Less e Stanley (1957), utilizando-se clorofórmio e metanol (2:1) em funil de separação. Após a separação das fases e evaporação do solvente foram quantificados gravimetricamente. Os ácidos graxos obtidos foram derivatizados para a obtenção de ésteres metílicos, segundo o método de Metcalfe, Schimtz e Pelka (1966), mediante adição de 5 mL de solução metanólica 500 mM de KOH, aquecimento por 7 min, adição de 1,5 mL da mistura de trifluoreto de borometanol (10%), aquecimento por 15 min e extração com hexano.

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram analisados por cromatografia a gás, utilizando o cromatógrafo Varian Star Chromatograph 3400CX, equipado com coluna capilar

de polietilenoglicol (DB-WAX 30 x 0,32 mm e espessura de filme de 0,25 μm). A temperatura da coluna foi programada para variar entre 100 e 230°C a 8°C/min, sendo mantida a temperatura final por 20 min. As temperaturas do injetor e do detector foram 250°C e 280°C, respectivamente, utilizando N_2 como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL min^{-1} . A identificação dos picos cromatográficos ocorreu pela comparação dos tempos de retenção de cada éster metílico de ácido graxo das amostras com os da mistura de padrões, sendo a quantificação efetuada pela normalização das áreas dos picos. Os resultados foram apresentados como % de cada ácido graxo identificado na fração lipídica.

4.2.10 Caracterização tecnológica da farinha de trigo

Após elucidar as condições otimizadas dos tratamentos físicos para a redução dos níveis de tricotecnos, foram tratados 3 kg de amostra com US e 3 kg de amostra com UV-C, utilizando uma amostra controle, sem tratamento. Todas as amostras foram enviadas à Universidade de Passo Fundo (UPF) para avaliação das características tecnológicas das farinhas derivadas de cada processo.

Os grãos de trigo tratados e não tratados com US e UV nas condições otimizadas foram processados separadamente, até a obtenção da farinha no Laboratório de Cereais do Centro de Pesquisa em Alimentação.

4.2.10.1 Moagem experimental

A extração experimental foi realizada através da moagem que simula o processo industrial, servindo de indicativo do rendimento da farinha ou taxa de extração. A moagem foi realizada em moinho piloto modelo CDI, marca Chopin (*Villeneuve-la-Garenne*, Cedex, França) (CHOPIN, 1998).

4.2.10.2 Falling number ou número de queda

O número de queda foi determinado através do uso do aparelho *Falling Number*, modelo 1500 *Fungal* (Perten Instruments, Suíça) de acordo com o método nº 56-81.03 da AACC (2010), utilizando 7 g de farinha, corrigido para 14% de umidade.

4.2.10.3 Alveografia

As características viscoelásticas das amostras de farinha de trigo foram determinadas no alveógrafo Chopin, modelo NG (*Villeneuve-la-Garenne* Cedex, França) utilizando o método nº 54-30.02 da AACC (2010). Os parâmetros obtidos nos alveogramas

foram tenacidade (P), que mede a sobrepressão máxima exercida na expansão da massa (mm); extensibilidade (L), que mede o comprimento da curva (mm) e energia de deformação da massa ou força geral do glúten (W), que corresponde ao trabalho mecânico necessário para expandir a bolha até a ruptura, expressa em 10^{-4} J.

4.2.10.4 Farinografia

Nesta análise, foi avaliada a resistência oferecida pela massa quando submetida a uma ação mecânica constante nas condições experimentais, através de traçado gráfico, utilizando-se o farinógrafo da marca Brabender modelo Farinograph –E- type 810112- NR 06021, segundo metodologia 54-21 AACC (2010).

4.2.10.5 Glúten úmido/seco/índice

O teor de glúten foi determinado pelo método 38-12.02 da AACC (2010), utilizando-se o aparelho Glutomatic (Peter Instruments North America Inc., Reno, USA). A porcentagem de glúten úmido foi obtida na base de 14% de umidade, calculando-se a relação entre o peso total do glúten úmido/g e 100% de umidade da amostra. O índice de glúten é a relação entre o glúten seco e o glúten total da amostra.

4.2.10.6 Colorimetria

Para a avaliação da cor, foi utilizado um colorímetro Konica Minolta Modelo CR 310 Japan 79981014 segundo metodologia 14-22.01 AACC (2010), que durante a análise emitiu raios de luz que foram refletidos e medidos pelo equipamento, mostrando os resultados a partir das variáveis (L), (a) e (b). A variável (L) mede a intensidade de luz e varia de 0 a 100, sendo que valores mais próximos a 100 indicam coloração branca. Além disso, também foram determinadas as coordenadas de cromaticidade pelo símbolo a^* , onde varia de a^* positivo para a^* negativo, sendo o positivo uma cor mais avermelhada e o negativo uma cor esverdeada. A coordenada de cromaticidade caracterizada pelo símbolo b^* positivo tende a sua cor para o amarelo e b^* negativo para o azul (MIRANDA; MORI; LORINI, 2010).

4.2.11 Análise estatística

A análise estatística dos dados obtidos nos planejamentos experimentais fatoriais fracionados foi realizada utilizando o Software *Statistica 5.0* (Statsoft Inc, EUA), e a sensibilidade dos parâmetros estudados sobre as respostas de interesse foram examinadas através do diagrama de Pareto, permitindo indicar quais os parâmetros possuíam influência

significativa sobre cada variável resposta utilizada. Todos os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados obtidos foram tratados estatisticamente utilizando análise de variância (ANOVA) e comparados através do teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DETERMINAÇÃO DE TRICOTECENOS NAS AMOSTRAS DE GRÃOS DE TRIGO

Para a garantia da qualidade analítica, foram padronizados os parâmetros analíticos de DON, ADONS e NIV em CLAE-UV. Obteve-se uma curva analítica no solvente e na matriz, através da diluição dos padrões dos tricotecenos DON, 3-ADON, 15-ADON e NIV, onde a linearidade correspondeu a faixa de 0,5 a 4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para todos os analitos, conforme indicado na Tabela 6.

Tabela 6 – Curvas analíticas dos tricotecenos, utilizando método QuEChERS no sistema CLAE-UV.

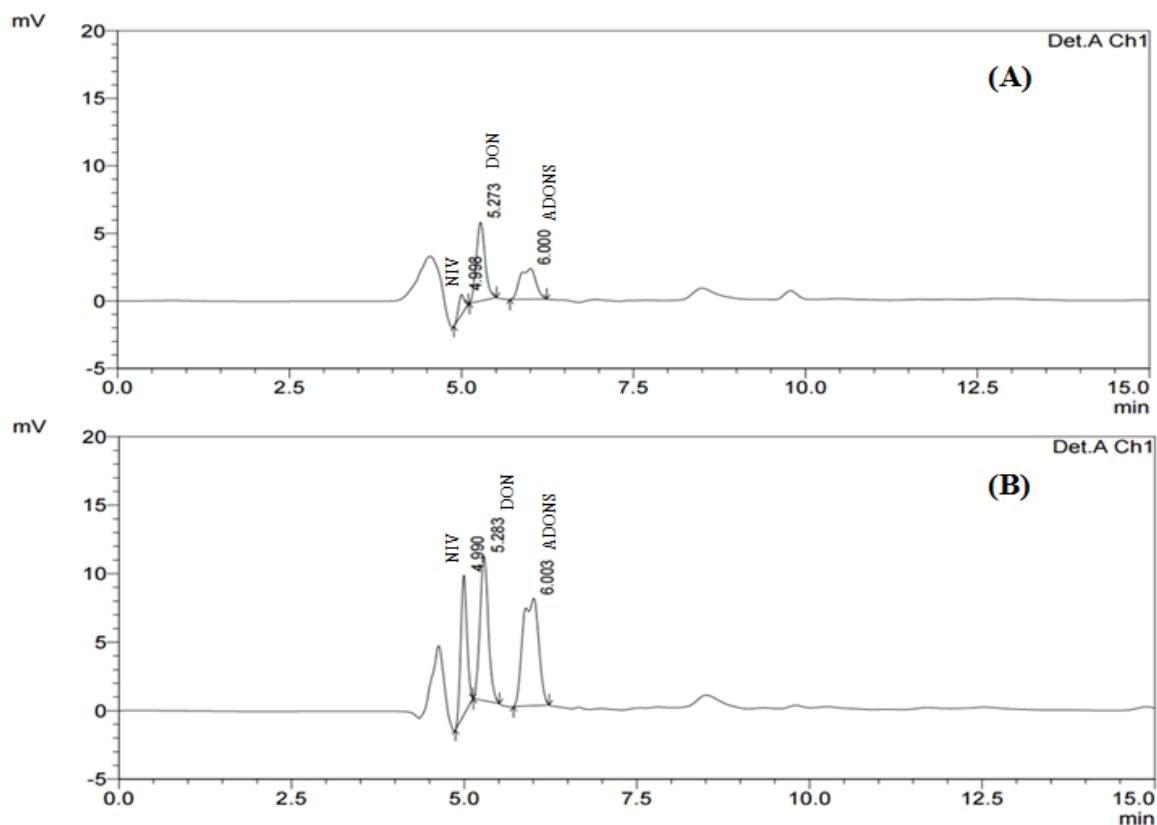
Tricoteceno	Curva analítica no solvente	R	Curva analítica na matriz	r
DON	$y = 23926x + 38645$	0,99	$y = 18474x - 14825$	0,99
ADONS	$y = 29469x + 248,9$	0,99	$y = 27747x + 17539$	0,98
NIV	$y = 13889x + 1480$	0,93	$y = 11677x - 6696$	0,98

r = coeficiente de correlação

Os coeficientes de correlação (r) foram maiores que 0,93, estando de acordo com as orientações do INMETRO (2003), EUROPEAN COMMISSION REGULATION (2006) e ANVISA (2011) que recomendam valores entre 0,90 e 0,99, assegurando a linearidade da relação entre o sinal medido (y) e a concentração (x) para o intervalo de concentrações em questão.

Na Figura 7 estão representados dois cromatogramas referentes às curvas analíticas, indicando tempos de retenção de 4,9 e 5,2 min para NIV e DON, respectivamente. Além disso, observa-se que os picos cromatográficos dos tricotecenos 3-ADON e 15-ADON co-eluíram em aproximadamente 6 min e não obtiveram separação, fato já observado por Seus (2014) durante o desenvolvimento do método para detecção destes compostos em trigo. Desta forma, neste trabalho foi considerado um único pico para representar os ADONS em todos os estudos de extração, sendo que este mesmo sistema de quantificação também foi utilizado por Krska et al. (2007).

Figura 7 - Cromatogramas de eluição dos tricotecenos - (A) Referente ao primeiro ponto da curva: NIV ($0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$); DON ($0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$); 15-ADON ($0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$) e 3-ADON ($0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$) e (B) referente ao ponto médio da curva: NIV ($2 \mu\text{g mL}^{-1}$); DON ($2 \mu\text{g mL}^{-1}$); 15-ADON.



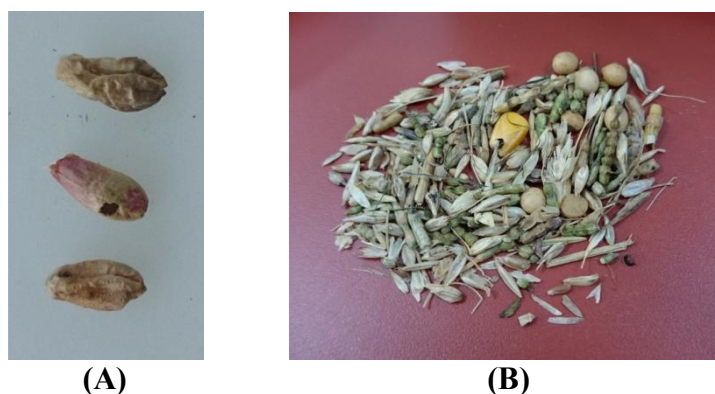
5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E PERFIL DE MICOTOXINAS

A avaliação da classe de tricotecenos na amostra de trigo padrão indicou a quantidade de $3890 (\pm 11,2)$, $2321,6 (\pm 9,2)$ e $1947,1 (\pm 7,4) \mu\text{g kg}^{-1}$, para DON, ADONS e NIV, respectivamente. Através deste resultado, foi possível observar que o valor de DON estava acima do limite máximo permitido pela legislação brasileira em vigor (BRASIL, 2011), que estima o limite máximo tolerado de $3000 \mu\text{g kg}^{-1}$ para trigo em grãos destinados a posterior processamento, sendo o único tricoteceno legislado. Na mesma safra, Machado et al. (2017) realizaram um estudo de ocorrência de DON em 668 amostras de grãos de trigo brasileiro coletados no sul do Brasil e verificaram valores entre 710 e $11800 \mu\text{g kg}^{-1}$.

Durante a limpeza realizada superficialmente, foi observada a presença de impurezas como grãos de outras espécies e fragmentos de insetos (Figura 8B), além de grãos ardidos e de coloração rósea (Figura 8A), fato que corrobora com a possível colonização por espécies de *Fusarium* que segundo Champeil et al. (2004) são responsáveis pela formação de toxinas de campo, onde se enquadram os tricotecenos, fumonisinas e zearalenona. Dentre

estas espécies, *F. graminearum* é o principal causador de Fusariose ou Giberela em trigo, doença que danifica os grânulos de amido e paredes celulares, afetando a estocagem de proteínas do endosperma, resultando em uma baixa qualidade do produto (SNIJDERS, 2004).

Figura 8 - Grãos de trigo danificados (A) e impurezas presentes na sacaria (B).



Como a amostra avaliada quanto ao teor de tricotecenos apresentou valores de DON acima do limite máximo permitido pela legislação, além de possuir contaminação com 3-ADON, 15-ADON e NIV, foi selecionado para a aplicação dos tratamentos físicos visando verificar a eficiência do uso de US ou UV na redução da contaminação das micotoxinas presentes.

Inicialmente foi realizada a composição proximal desta amostra (sem tratamento), e após alcançar as condições otimizadas para os tratamentos físicos aplicados, também foi realizada a mesma análise de caracterização físico-química. Os valores médios dos teores de cada variável analisada estão expressos em % ($g\ 100\ g^{-1}$) de amostra em base úmida, conforme Tabela 7.

Tabela 7 - Composição proximal da amostra de trigo não-tratado e tratado nas condições otimizadas.

Composição (%b.u)	Controle	Amostra tratada com UV-A	Amostra tratada com UV-C	Amostra tratada com US	Literatura
Umidade	12,5 ^b ($\pm 0,05$)	16,7 ^a ($\pm 0,05$)	16,5 ^a ($\pm 0,15$)	16,3 ^a ($\pm 0,4$)	10,6 – 13,8
Lipídios	1,5 ^a ($\pm 0,1$)	1,5 ^a ($\pm 0,1$)	1,5 ^a ($\pm 0,05$)	1,4 ^a ($\pm 0,05$)	1,1 – 2
Cinzas	1,3 ^a ($\pm 0,05$)	1,45 ^a ($\pm 0,05$)	1,4 ^a ($\pm 0,05$)	1,5 ^a ($\pm 0,05$)	1,4 – 2,5
Proteínas	14,8 ^a ($\pm 0,5$)	14,6 ^a ($\pm 0,1$)	14,6 ^a ($\pm 0,1$)	14,7 ^a ($\pm 0,1$)	5,2 – 13
Fibras	1,6 ^a ($\pm 0,1$)	1,5 ^a ($\pm 0,06$)	1,5 ^a ($\pm 0,05$)	1,6 ^a ($\pm 0,05$)	0,1 – 4,4
Carboidratos	68,3 ^a ($\pm 0,2$)	64,2 ^b ($\pm 0,06$)	64,5 ^b ($\pm 0,2$)	64,5 ^b ($\pm 0,36$)	71,3 – 80,8

%b.u = Percentual em base úmida \pm DP (desvio padrão); Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$). Literatura = faixa de dados apresentados no texto.

A umidade das amostras diferiu estatisticamente do controle (12,5%) pelo fato de ser realizado o ajuste neste parâmetro para 17% nos tratamentos físicos. Consequentemente, os carboidratos também diferiram estatisticamente, pois são estimados por diferença. De acordo com Faroni et al. (2002), valores de umidade menores que 13% são recomendados tecnicamente sobre a premissa de assegurar a conservação e armazenamento satisfatório dos grãos de trigo. Berbert e Stenning (1999) relatam que o teor de água presente nos grãos é um dos fatores preponderantes para a obtenção de um produto de melhor qualidade após processamento.

Pagnussatt et al. (2011) realizaram a composição proximal das cultivares de trigo Safira, Ônix e Pampeano, apontando valores de umidade entre 11,8 e 12,4 %, lipídios entre 1,1 e 2,4%, cinzas de 1,5 a 1,7%, proteínas de 6,1 a 7,5%, fibras entre 0,1 e 3,8% e carboidratos de 72,2 a 79,4%. Ribeiro (2009) estudou a influência do tempo de condicionamento do trigo na qualidade tecnológica da farinha e verificou resultados de composição proximal similares aos encontrados neste estudo, com teor de umidade 12,5%, lipídios 1,27%, cinzas 1%, proteínas 13% e 71,3% de carboidratos, sendo estimados por diferença. Rutz (2012) avaliou o efeito da temperatura e do tempo de armazenamento do trigo sobre a qualidade dos grãos e das farinhas, indicando teor de umidade do trigo de 12,5%, lipídios 1,2%, cinzas 1,4%, proteínas 12,2 %, fibras 4,4% e carboidratos 80,8%, estimados em base seca.

Mendes (2013) ao avaliar a aplicação de extratos enzimáticos inibidores de α -amilase provenientes de grãos de trigo para o biocontrole de *Fusarium verticillioides*, constatou para as variedades Abalone, BRS Tarumã, Quartzo NO, OR Marfim NE e Fundacep Raízes valores de umidade entre 10,6 e 13,8%, lipídios entre 1,4 e 2,5%, proteínas entre 5,2 e 9,3%, fibras entre 0,7 e 1,9%, cinzas entre 1,1 e 1,8 e carboidratos entre 74,3 e 78,6%

Ao realizar uma comparação dos dados obtidos neste trabalho com os resultados da literatura, é possível observar que o conteúdo dos componentes dos grãos possuem uma variação, que de acordo com Pagnussatt et al. (2011) é decorrente do manejo da cultura, processamento ou armazenagem, produzindo grãos com características nutricionais diferenciadas também em função da distribuição não uniforme nas porções do grão.

5.3 TRATAMENTO FÍSICO COM APLICAÇÃO DE US

Para a realização do tratamento físico através da aplicação do US, foi realizado um planejamento experimental fatorial fracionado 2^{4-1} , sendo avaliadas as variáveis

frequência (F), diâmetro do béquer (Di), tempo de condicionamento (T.C) e tempo de exposição (T.E). Os resultados da concentração para cada tricoteceno após a aplicação do US estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Matriz do planejamento experimental 2^{4-1} para avaliar a aplicação de US, com variáveis independentes e níveis avaliados em função da concentração da contaminação por tricotecenos em trigo.

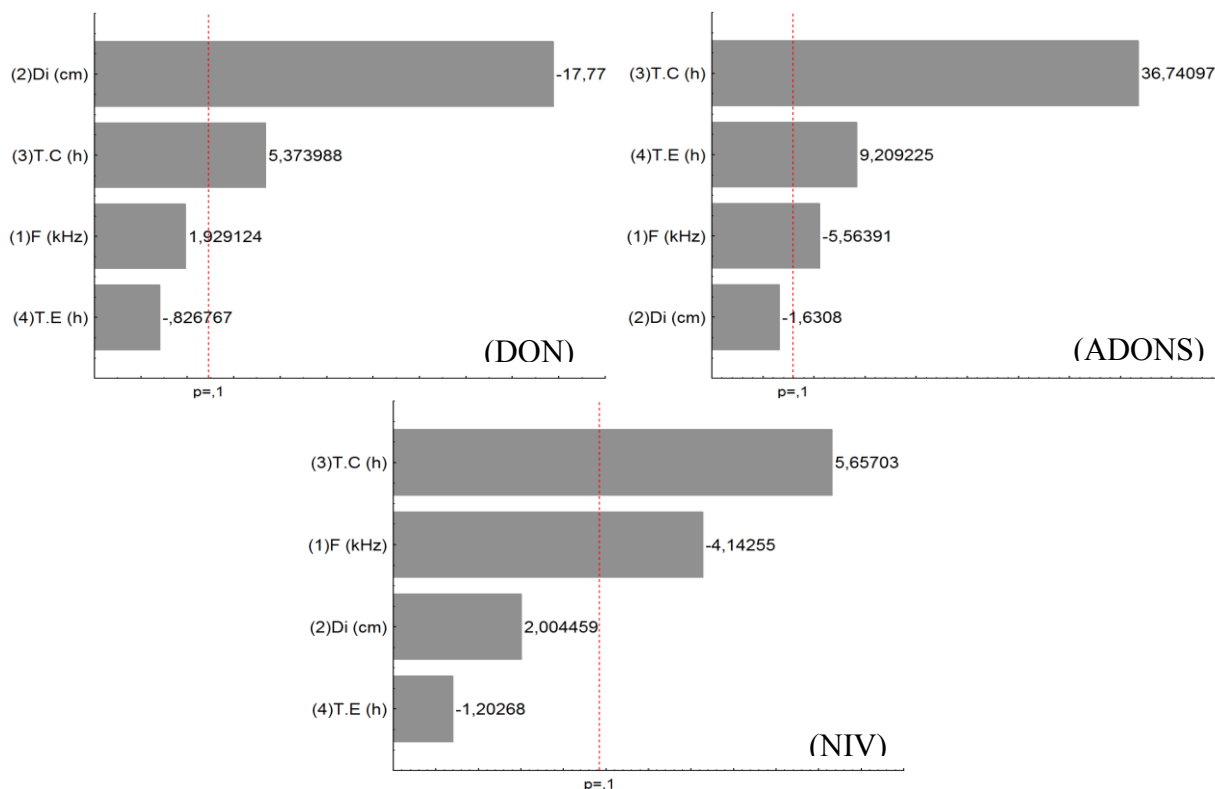
Ensaio	F	Di	T.C	T.E	Concentração ($\mu\text{g kg}^{-1}$)		
					DON	ADONS	NIV
1	-1 (25)	-1 (3)	-1 (0)	-1 (0,5)	2641,3 ($\pm 3,5$)	1908,3 ($\pm 5,7$)	1489,5 ($\pm 4,2$)
2	+1 (55)	-1 (3)	-1 (0)	+1 (3,5)	2649 ($\pm 8,5$)	1959,4 ($\pm 4,1$)	1540,1 ($\pm 9,5$)
3	-1 (25)	+1 (10)	-1 (0)	+1 (3,5)	2964,2 ($\pm 4,6$)	1880,5 ($\pm 8,2$)	1787,4 ($\pm 2,7$)
4	+1 (55)	+1 (10)	-1 (0)	-1 (0,5)	2804,7 ($\pm 8,6$)	2200,8 ($\pm 2,1$)	1495,3 ($\pm 12,5$)
5	-1 (25)	-1 (3)	+1 (16)	+1 (3,5)	2516,8 ($\pm 12,1$)	1557,8 ($\pm 10,3$)	1423,3 ($\pm 9,2$)
6	+1 (55)	-1 (3)	+1 (16)	-1 (0,5)	2598,5 ($\pm 1,4$)	1594,9 ($\pm 8,1$)	1779,6 ($\pm 3,9$)
7	-1 (25)	+1 (10)	+1 (16)	-1 (0,5)	2450,7 ($\pm 5,5$)	1578,7 ($\pm 7,9$)	1398 ($\pm 5,2$)
8	+1 (55)	+1 (10)	+1 (16)	+1 (3,5)	2800,8 ($\pm 13,8$)	1439,4 ($\pm 12,6$)	1464,2 ($\pm 9,1$)
9	0 (40)	0 (6,5)	0 (8)	0 (2)	3357,1 ($\pm 1,5$)	1808,5 ($\pm 5,7$)	1748,5 ($\pm 7,7$)
10	0 (40)	0 (6,5)	0 (8)	0 (2)	3384,3 ($\pm 6,2$)	1841 ($\pm 3,2$)	1725,1 ($\pm 10,2$)
11	0 (40)	0 (6,5)	0 (8)	0 (2)	3395,9 ($\pm 5,4$)	1834 ($\pm 4,8$)	1754,3 ($\pm 9,5$)

F = Frequência (kHz); Di = Diâmetro do béquer (cm); T.C = Tempo de condicionamento (h); T.E = Tempo de exposição (h)

A magnitude dos efeitos estimados de cada variável é apresentada no diagrama de Pareto (Figura 9) que mostra o efeito quantitativo estimado que cada uma das variáveis possui sobre a redução dos níveis de DON, ADONS e NIV, sendo possível identificar quais destes efeitos encontram-se dentro do grau de confiança estabelecido para a análise (90%).

Ao observar a Tabela 9, verifica-se que a variável com maior efeito sobre a redução de ADONS e NIV foi o tempo de condicionamento, com valores de 19,1 e 3,1%, respectivamente. Para a redução de DON, esta foi a variável que exerceu o segundo maior efeito aumentando a redução em 1,9%. Entretanto, o diâmetro do béquer indicou o maior efeito, porém negativo, correspondendo a -6,4%. Ainda, observa-se que ao aplicar as variáveis pertencentes aos tratamentos dos ensaios 1 ao 8, ocorreram reduções de DON fazendo com que a concentração ficasse abaixo do LMT permitido pela legislação ($3000 \mu\text{g kg}^{-1}$). A aplicação das variáveis pertencentes aos ensaios 9, 10 e 11 também propiciaram reduções, porém, não chegaram a ficar abaixo do limite.

Figura 9 - Diagramas de Pareto para redução da concentração de DON, ADONS e NIV em trigo utilizando tratamento com US.



F = Frequência (kHz); Di = Diâmetro do béquer (cm); T.C = Tempo de condicionamento (h); T.E = Tempo de exposição (h)

Tabela 9 - Resultados dos efeitos e níveis de significância provenientes do planejamento 2^{4-1} em relação à redução de DON, ADONS e NIV (%) após tratamento com US.

Variável	Efeito (%)	Nível de significância	Efeito (%)	Nível de significância	Efeito (%)	Nível de significância
Média	25,3	0,00003	23,2	0,00009	17,8	0,0001
F	0,7	0,19	-2,9	0,03	-2,3	0,05
Di	-6,4	0,003	-0,85	0,2	1,12	0,18
T.C	1,9	0,03	19,1	0,0007	3,1	0,03
T.E	-0,3	0,49	4,8	0,01	-0,6	0,35

F = Frequência (kHz); Di = Diâmetro do béquer (cm); T.C = Tempo de condicionamento (h); T.E = Tempo de exposição (h)

O tempo de condicionamento dos grãos varia conforme cada variedade de trigo e de acordo com Gutkoski; Antunes e Roman (1999), quanto maior o tempo de hidratação, maior a permissão para que a água penetre entre os poros dos grãos, visto que, quando o tempo de descanso da amostra umidificada é curto, a extração da farinha também pode ser

prejudicada. Por outro lado, períodos muito longos podem elevar o risco de germinação dos grãos, além de proporcionar a possibilidade do desenvolvimento de micro-organismos. Estudos realizados por Yildirim; Öner; Bayram (2010) avaliaram a utilização da tecnologia ultrassônica em relação a hidratação de grãos de bico aplicando o processo de US, verificando que a absorção de água aumentou significativamente com o incremento do tempo de imersão e aumento de temperatura, sendo que baixas frequências (20 - 25 kHz) também apresentaram melhores resultados de absorção. Em outra investigação, Patero e Augusto (2015) pesquisaram sobre o processo de hidratação de sementes de sorgo, comparando o efeito do aquecimento e aplicação de US para melhorar a taxa de hidratação, verificando que ao utilizar 53 °C e potência de 40 kHz a taxa de absorção de água foi maior. Ainda, ressaltaram que algumas razões possíveis podem explicar o aumento da hidratação, embora seja difícil confirmar a importância relativa de cada uma. A primeira razão está relacionada com a redução na convecção e resistência na superfície sólida, devido à intensa turbulência gerada. Contudo, esperava-se que a resistência interna à transferência de massa durante a hidratação dos alimentos fosse muito maior do que a resistência limite. Mulet et al. (2003) destacaram que o efeito do US é diferente para cada material alimentar, uma vez que é afetado por propriedades presentes nas células e tecidos.

A solubilidade dos tricotecenos varia com o número de grupos polares e os tricotecenos altamente hidroxilados como DON e NIV são solúveis em solventes mais polares como acetonitrila, metanol, etanol e água (UENO, 1983). Neste trabalho, o maior tempo de condicionamento, variável estatisticamente significativa para ADONS e NIV, possivelmente propiciou uma maior interação destes tricotecenos com a água devido a presença de hidroxilas e grupos acetil nas estruturas, resultando em uma maior redução pelo efeito da cavitação induzido por ondas ultrassônicas, alterando a estrutura das micotoxinas. De acordo com Pyiasena et al. (2003) e Chemat e Khan (2011), o fenômeno de cavitação, responsável por boa parte dos efeitos do US sobre a matriz alimentar, origina-se quando a onda ultrassônica atravessa um meio líquido, provocando alternância de ondas de compressão (pressão positiva) e rarefação (pressão negativa), produzindo bolhas. Na cavitação instável ou transiente, essas bolhas oscilam entre os estados de compressão/rarefação até ocorrer a sua implosão, gerando um aumento de pressão e temperatura localizado e a produção de microjatos que apresentam energia suficiente para desintegrar células e desnaturar enzimas.

A maior parte das micotoxinas presentes em cereais ficam aderidas ao lado exterior dos grãos, facilitando a ação degradativa. Devido a isso, o tratamento ultrassônico age na liberação de toxinas a partir da superfície dos grãos. No caso dos tricotecenos, reações

químicas são desencadeadas levando a uma alteração molecular das toxinas, provavelmente agindo na degradação no grupamento epóxido das estruturas (LINDNER, 1996).

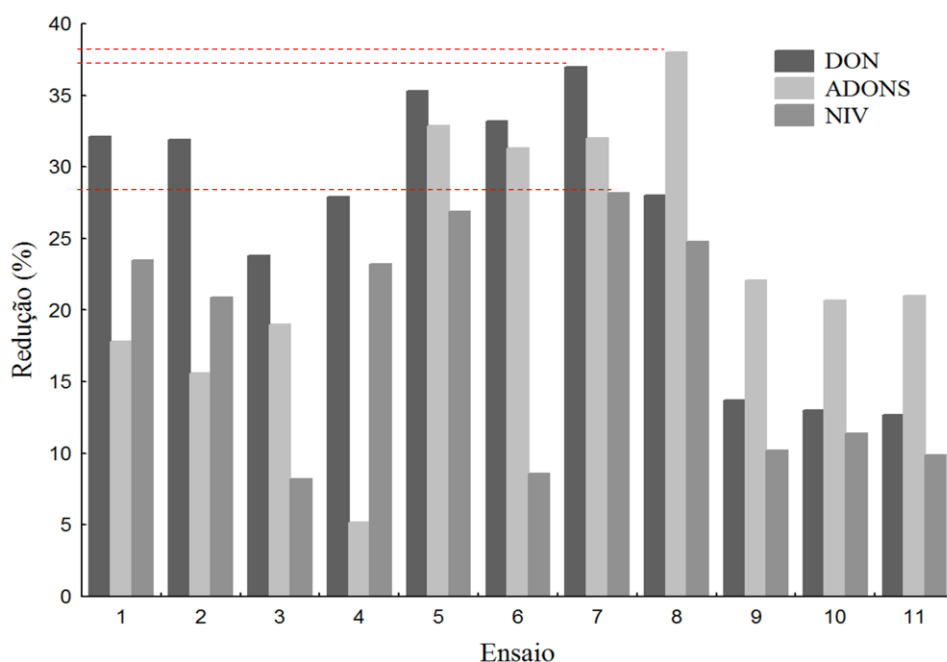
A redução com a utilização de béquer com menor diâmetro, que foi significativo e com efeito negativo de -6,4 apenas para DON pode ser atribuído a maior facilidade de penetração das ondas ultrassônicas ao centro do béquer, devido ao efeito cavitacional e efeito mecânico, permitindo maior penetração do solvente na matriz sólida (WANG et al., 2008).

A variável frequência mostrou ser significativa e com efeito negativo de -2,9 e -2,3 para ADONS e NIV, respectivamente, indicando que ao utilizar frequência de 25 kHz, obtêm-se maiores reduções. Tal fato pode ser explicado através de estudo realizado por Piyasena (2003), onde relata que ondas ultrassônicas de baixa frequência possuem alta energia, desenvolvendo níveis de potência mais altos, com energia suficiente para romper ligações intermoleculares, originando efeitos de cavitação capazes de modificar propriedades físicas e favorecer reações químicas. Neste estudo, durante a aplicação do US, calor foi gerado devido a alta intensidade, fazendo com que a temperatura da água ao final do processo atingiu valores entre 45 e 50 °C. Corbin et al. (2015) relataram que o aumento da temperatura pode ser um efeito vantajoso, facilitando a permeabilidade das paredes celulares e permitindo o processo de difusão e transferência de água. A sonoquímica de superfícies sólidas em líquidos depende de uma mudança na dinâmica da implosão da cavidade. Quando a cavitação ocorre em um líquido perto de uma superfície sólida estendida, a implosão da cavidade difere da implosão esférica simétrica observada em sistemas somente líquidos. A presença da superfície distorce a pressão do ultra-som, de modo que uma implosão de cavidade perto de uma superfície é marcadamente assimétrica (SUSLICK, 1989). Em sistemas heterogêneos, a destruição da bolha ocorre assimetricamente originando um jato de líquido em direção à superfície sólida, podendo causar erosão localizada. Mas existem também microfluxos de líquidos que acabam por favorecer o transporte de massa entre a fase líquida e a superfície sólida, acelerando algumas reações químicas (LIU et al., 2008).

Em relação ao tempo de exposição, esta variável foi significativa e com efeito positivo de 4,8% para ADONS, indicando que ao utilizar maiores tempos de exposição, obtêm-se maiores reduções. Este fato pode estar relacionado a maior interação propiciada, porém existe a possibilidade de alteração de alguns componentes presentes nas partes mais externas dos grãos de trigo, como os lipídios.

Através da relação do conteúdo de tricotecenos na amostra Controle, foi possível estimar a porcentagem de redução destas micotoxinas após o tratamento com as ondas ultrassônicas, conforme Figura 10.

Figura 10 - Gráfico referente aos valores da redução dos níveis dos tricotecenos DON, ADONS e NIV para o tratamento com US, tendo como referência o ensaio controle.



De maneira geral, foi possível verificar que a melhor condição para a redução de tricotecenos após a aplicação de US foi: utilização de béquero de 3 cm de diâmetro, tempo de condicionamento de 16 h, frequência de 25 kHz e tempo de exposição de 3,5 h. Esta condição coincide com a do ensaio 5, que de acordo com a Figura 10, mostra teores de redução para DON, ADONS e NIV de 35,3, 32,9 e 26,9%, respectivamente. O ensaio 7 se destacou por apresentar as maiores reduções de DON e NIV, com 37 e 28,2%, porém, a variável tempo de exposição foi de 0,5 h e diâmetro do béquero de 10 cm. Os valores de redução de ambos os ensaios superaram a média, que apresentou 26, 23,2 e 17,8%, para DON, ADONS e NIV, respectivamente.

5.4 TRATAMENTO FÍSICO COM APLICAÇÃO UV-A

A aplicação de luz UV está entre as estratégias disponíveis para remediar contaminações pós-colheita (CANALE et al., 2011). Com base nesta estratégia, este estudo buscou avaliar diferentes parâmetros em planejamento experimental, objetivando a redução de micotoxinas, conforme mostra a Tabela 10.

Tabela 10 - Matriz do planejamento experimental 2^{4-1} para avaliar a aplicação de irradiação UV-A – λ 365 nm em função da concentração de tricotecenos em trigo.

Ensaio	E.C	T.E	T.C	D	Concentração ($\mu\text{g kg}^{-1}$)		
					DON	ADONS	NIV
1	-1 (0,4)	-1 (2)	-1 (0)	-1 (8)	3493,2 ($\pm 3,8$)	1397,6 ($\pm 7,9$)	1285 ($\pm 12,8$)
2	+1 (1,2)	-1 (2)	-1 (0)	+1 (22)	3434,8 ($\pm 7,2$)	1418,5 ($\pm 8,6$)	1324 ($\pm 10,4$)
3	-1 (0,4)	+1 (8)	-1 (0)	+1 (22)	2734,6 ($\pm 10,1$)	1871,2 ($\pm 9,3$)	1524,5 ($\pm 9,9$)
4	+1 (1,2)	+1 (8)	-1 (0)	-1 (8)	1505,4 ($\pm 6,8$)	1339,5 ($\pm 10,1$)	1144,9 ($\pm 11,7$)
5	-1 (0,4)	-1 (2)	+1 (16)	+1 (22)	1855,5 ($\pm 11,9$)	1836,3 ($\pm 4,7$)	1100,1 ($\pm 12,5$)
6	+1 (1,2)	-1 (2)	+1 (16)	-1 (8)	1925,5 ($\pm 7,7$)	1413,8 ($\pm 3,4$)	1084,5 ($\pm 8,4$)
7	-1 (0,4)	+1 (8)	+1 (16)	-1 (8)	2030,5 ($\pm 4,6$)	1390,6 ($\pm 6,6$)	1168,2 ($\pm 7,1$)
8	+1 (1,2)	+1 (8)	+1 (16)	+1 (22)	2326,2 ($\pm 8,1$)	1334,9 ($\pm 10,3$)	1115,7 ($\pm 9,8$)
9	0 (0,8)	0 (5)	0 (8)	0 (15)	2590,7 ($\pm 5,2$)	1968,7 ($\pm 12,3$)	1579,1 ($\pm 10,9$)
10	0 (0,8)	0 (5)	0 (8)	0 (15)	2462,3 ($\pm 6,3$)	1908,3 ($\pm 10,1$)	1512,9 ($\pm 11,5$)
11	0 (0,8)	0 (5)	0 (8)	0 (15)	2684,1 ($\pm 4,1$)	2005,8 ($\pm 9,7$)	1555,7 ($\pm 10,1$)

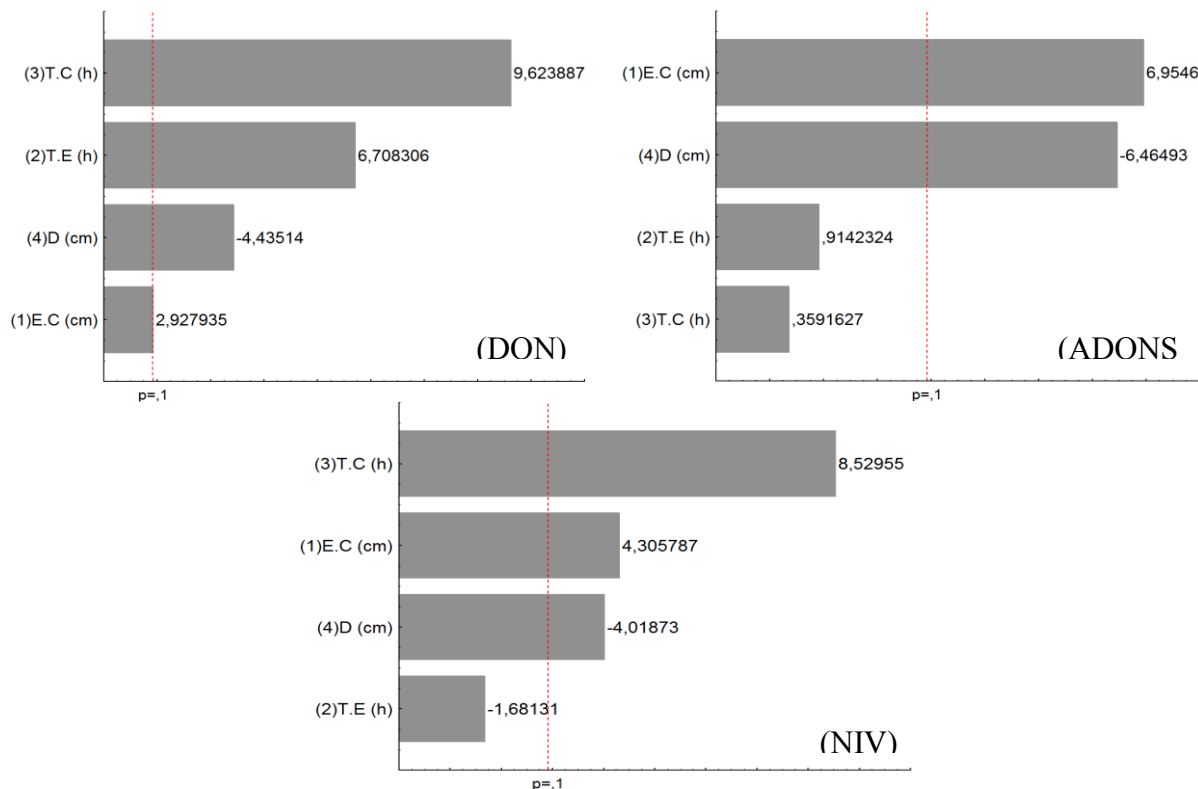
E.C = Espessura da camada dos grãos na placa (cm); T.E = Tempo de exposição à luz UV (h); T.C = Tempo de condicionamento (h); D = Distância entre a lâmpada e a superfície dos grãos (cm)

A magnitude dos efeitos estimados de cada variável independente está apresentada nos diagramas de Pareto (Figura 11), que fornecem os efeitos quantitativos estimados que cada variável possui sobre a redução dos níveis dos tricotecenos, dentro de um grau de confiança de 90%.

Através dos resultados obtidos foi possível verificar que o tempo de condicionamento apresentou efeito significativo e positivo para a redução dos níveis de DON e NIV. Ainda, a espessura da camada de grãos exerceu maior efeito sobre ADONS, sendo o segundo maior efeito para NIV. Entre os três tricotecenos, o tempo de exposição foi significativo apenas para a redução de DON, mostrando um efeito positivo de 13,5 % indicado na Tabela 11, obtendo-se a maior redução. A distância entre a lâmpada e a superfície dos grãos apresentou efeito significativo e negativo para todas as micotoxinas .

Ao aplicar as variáveis pertencentes aos tratamentos dos ensaios 3 ao 11, houveram reduções de DON fazendo com que a concentração ficasse abaixo do LMT permitido pela legislação ($3000 \mu\text{g kg}^{-1}$). A aplicação das variáveis pertencentes aos ensaios 1 e 2 também indicaram reduções, porém, não chegaram a ficar abaixo do limite.

Figura 11 - Diagrama de Pareto referente ao tratamento UV-A para redução de DON (A); ADONS (B) e NIV (C).



E.C = Espessura da camada de grãos na placa (cm); D = Distância entre a lâmpada e superfície dos grãos (cm);
T.C = Tempo de condicionamento (h); T.E = Tempo de exposição (h)

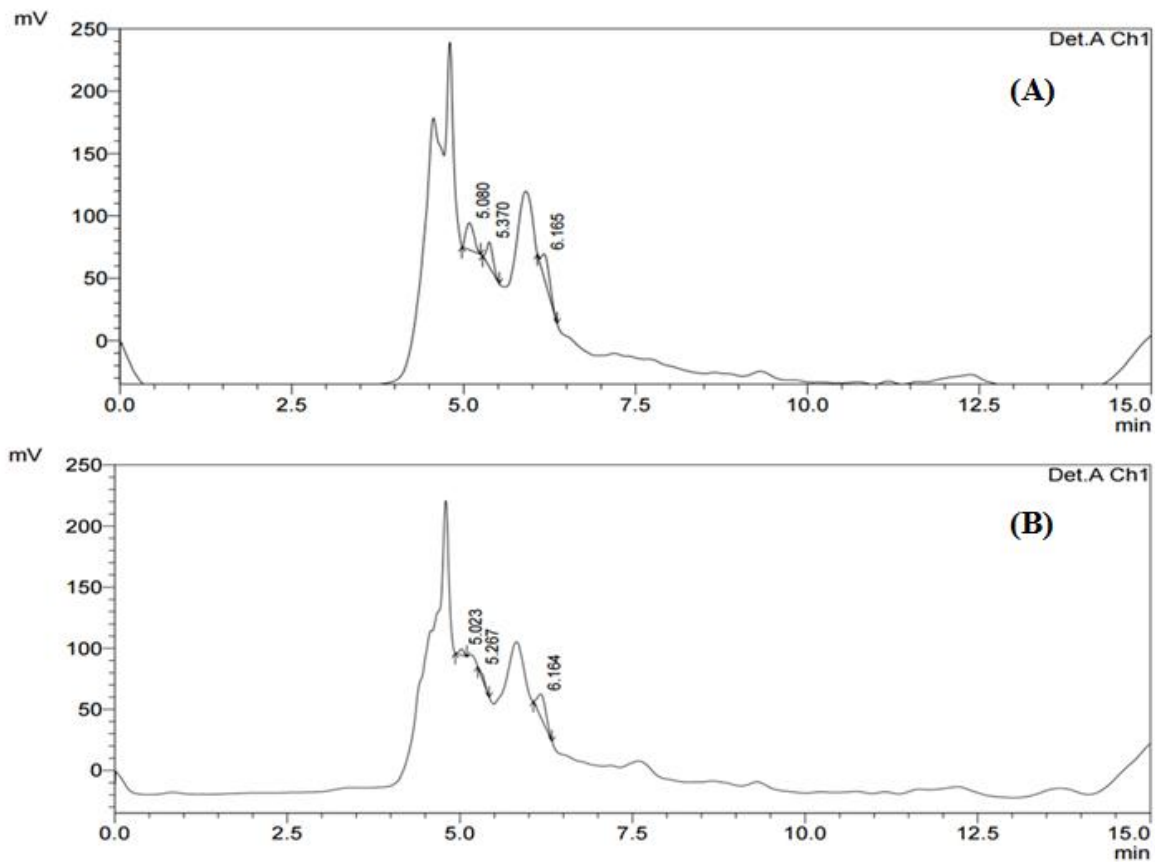
Tabela 11 - Efeitos e níveis de significância provenientes do planejamento 2^{4-1} em relação à redução de DON, ADONS e NIV (%) após tratamento com UV-A.

Variável	Efeito (%)	Nível de significância	Efeito (%)	Nível de significância	Efeito (%)	Nível de significância
Média	36,8	0,0005	29,9	0,0004	32,7	0,0002
E.C	5,9	0,09	10,6	0,02	5,2	0,05
T.E	13,5	0,02	1,4	0,45	-2,0	0,23
T.C	19,4	0,01	0,5	0,75	10,4	0,01
D	-8,9	0,04	-9,9	0,02	-4,9	0,05

E.C = Espessura da camada dos grãos na placa (cm); T.E = Tempo de exposição à luz UV (h); T.C = Tempo de condicionamento (h); D = Distância entre a lâmpada e a superfície dos grãos (cm).

Ao realizar uma comparação entre os cromatogramas da Figura 12 referente à amostra controle e o tratamento realizado no ensaio 6, respectivamente, foi observado que houve uma redução da intensidade dos picos de NIV, DON e ADONS, indicando a degradação destes compostos.

Figura 12 - Cromatogramas de eluição referentes ao: (A) Ensaio controle e (B) Ensaio 6, do tratamento realizado com UV-A.



Manzocco e Nicoli (2015) relataram que alimentos sólidos representam matrizes ideais para aplicação de luz UV, favorecendo a degradação de compostos tóxicos na superfície do produto. Em contrapartida, moléculas que atuam exercendo função nutricional como vitaminas e ácidos graxos ou sensorial como carotenóides e melanóides, podem estar presentes no espectro de absorção com picos ao alcance da radiação UV, podendo ser degradados. De acordo com Bintsis, Litopoulou-Tzanetaki e Robinson (2000) existem três regiões de luz UV dentro do espectro eletromagnético, nomeadamente UV-A (315-400 nm), UV-B (280-315 nm) e UV-C (200-280 nm). Entre as três regiões, a UV-A possui a penetração máxima, mas a energia mais baixa, enquanto a UV-C possui a energia mais alta, mas a penetração mínima.

Em estudos com aflatoxinas, Diao et al. (2015) relataram a utilização de luz UV para degradar AFLAs presentes em alimentos por um baixo custo, sem resíduos e minimizando a perda de qualidade em termos de sabor, cor e valor nutricional. Edward et al. (2014) avaliaram a irradiação de UV-A e UV-C em cogumelos em fase de crescimento,

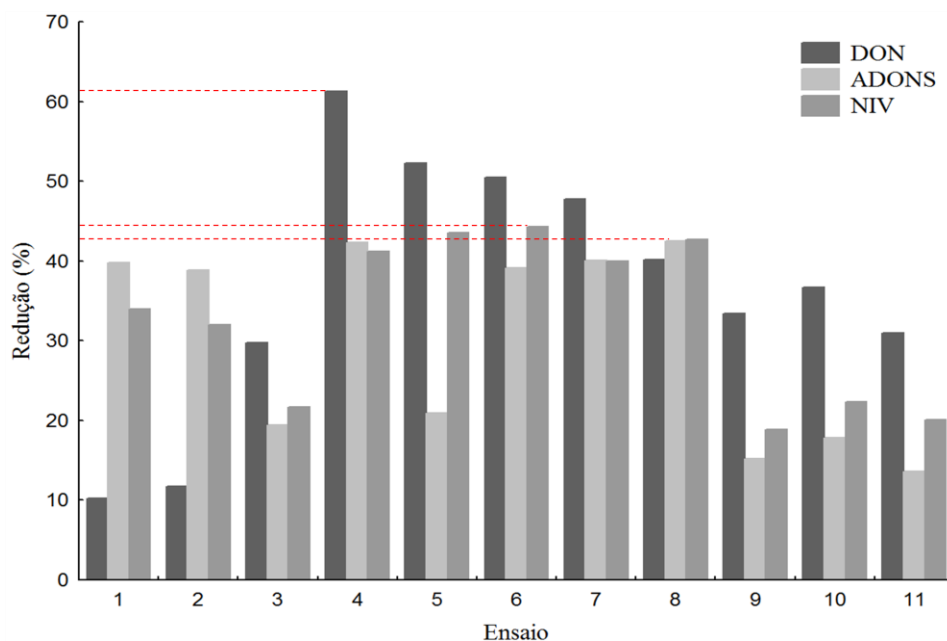
variando o tempo de exposição (30 – 60 min) sob 20 °C e umidade de 80%, onde verificaram que a UV-C teve um impacto maior nas propriedades mecânicas, porém, não afetou a qualidade dos cogumelos.

Tripathi e Mishra (2009) estudaram a degradação de AFLA B1 através de peroxidase parcialmente purificada proveniente de alho, observando condições ótimas ao utilizar 12 U de enzima, 60 nmol de AFLA B1 por 100 g de pó de pimenta, durante 24 h de incubação com degradação máxima de 66%. Ainda, após este processo, a amostra desintoxicada enzimaticamente foi exposta a UV-A a uma distância de aproximadamente 30 cm, durante 15- 60 min e o conteúdo residual de AFLA B1 medido ao final de cada exposição, obtendo degradação máxima de 88% após 60 min de exposição.

García-Cela et al. (2015) investigaram o impacto da radiação UV em gêneros fúngicos toxigênicos de *Aspergillus* isolados de vinhedos localizados no nordeste e sul da Espanha, através da incubação durante 15 dias, sob 20 °C. Adicionalmente, os fungos ficaram expostos à irradiação de 1,7 mW cm⁻² durante 6 h, sendo que um aumento na radiação poderia reduzir a contaminação fúngica das uvas presentes no campo, e conseqüentemente diminuir o conteúdo de micotoxinas.

Através da relação do conteúdo de tricotecenos na amostra Controle, foi possível estimar a porcentagem de redução destas micotoxinas após o tratamento com a irradiação UV-A, conforme Figura 13. Ao realizar uma avaliação global dos resultados, a condição otimizada foi: tempo de condicionamento de 16 h, tempo de exposição de 8 h, 8 cm de distância entre a lâmpada e a superfície dos grãos e 1,2 cm de espessura da camada de grãos na placa, caracterizando uma dose de radiação de 2880 kJ m². Esta condição difere da espessura da camada de grãos utilizada no ensaio 7 (0,4 cm) e no tempo de exposição no ensaio 6 (2 h), os quais apresentaram melhores valores de redução. Para o ensaio 6 a redução de DON, ADONS e NIV foi de 50,5, 39,1 e 44,3% e para ensaio 7 foi de 47,8, 40,1 e 40% , respectivamente. Porém, o ensaio 4 pareceu ser mais eficaz na redução dos níveis de DON, alcançando 61,3% de redução. Tais valores superaram a média de redução encontrada para este planejamento, com 36,8, 29,9 e 32,8% para DON, ADONS e NIV, respectivamente.

Figura 13 - Gráfico referente à redução dos níveis de DON, ADONS e NIV após tratamentos com UV-A.



5.5 TRATAMENTO FÍSICO COM APLICAÇÃO DE UV-C

A luz UV de onda curta (UV-C, 254 nm) pode reduzir drasticamente a carga microbiana em resíduos alimentares e remover resíduos orgânicos (BINTSIS; LITPOULOU-TZANETAKI; ROBINSON, 2000). Desta forma, foi realizada uma investigação sobre a aplicação de UV-C em grãos de trigo e as variáveis que poderiam influenciar neste processo, de acordo com a Tabela 12.

A magnitude dos efeitos estimados de cada variável independente está apresentada nos diagramas de Pareto (Figura 14) que mostram o efeito quantitativo estimado que cada variável possui sobre a redução dos níveis dos tricotecenos, dentro de um grau de confiança de 90%.

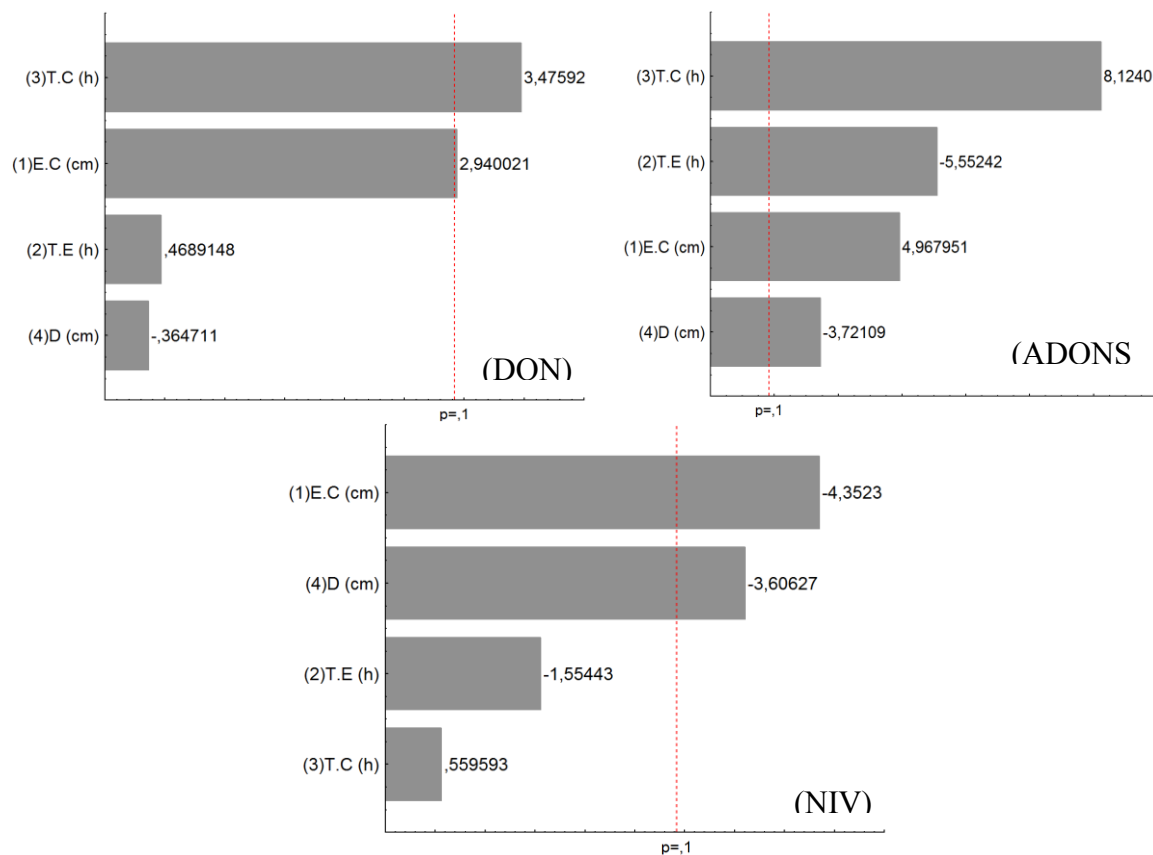
O tempo de condicionamento foi a variável com maior efeito sobre a redução dos níveis de DON e ADONS, indicando um efeito positivo de 11,6 e 0,5%, indicados na Tabela 13. Para NIV, foi verificado que a espessura da camada de grãos exerceu maior influência na redução, com efeito negativo de -3,5%. Esta mesma variável foi a que desempenhou o segundo maior efeito na redução de DON, porém, com efeito positivo de 9,8%.

Tabela 12 - Matriz do planejamento experimental 2⁴⁻¹ para avaliar a aplicação de irradiação UV-C – λ 254 nm em função da concentração dos tricotecenos em trigo.

Ensaio	E.C	T.E	T.C	D	Concentração ($\mu\text{g kg}^{-1}$)		
					DON	ADONS	NIV
1	-1 (0,4)	-1 (2)	-1 (0)	-1 (8)	2629,6 ($\pm 4,6$)	1367,4 ($\pm 9,1$)	1458,3 ($\pm 5,1$)
2	+1 (1,2)	-1 (2)	-1 (0)	+1 (22)	2022,8 ($\pm 9,2$)	1200,2 ($\pm 3,8$)	1473,9 ($\pm 7,4$)
3	-1 (0,4)	+1 (8)	-1 (0)	+1 (22)	2979,7 ($\pm 3,7$)	1778,3 ($\pm 10,2$)	1633,6 ($\pm 3,8$)
4	+1 (1,2)	+1 (8)	-1 (0)	-1 (8)	2225 ($\pm 11,5$)	1327,9 ($\pm 7,7$)	1417,4 ($\pm 9,2$)
5	-1 (0,4)	-1 (2)	+1 (16)	+1 (22)	1976,1 ($\pm 10,2$)	1179,3 ($\pm 5,5$)	1372,7 ($\pm 10,1$)
6	+1 (1,2)	-1 (2)	+1 (16)	-1 (8)	1556 ($\pm 13,2$)	1112 ($\pm 12,3$)	1612,2 ($\pm 4,7$)
7	-1 (0,4)	+1 (8)	+1 (16)	-1 (8)	1843,8 ($\pm 9,9$)	1160,8 ($\pm 4,1$)	1364,9 ($\pm 5,5$)
8	+1 (1,2)	+1 (8)	+1 (16)	+1 (22)	1777,7 ($\pm 7,1$)	1253,6 ($\pm 5,9$)	1598,5 ($\pm 5,1$)
9	0 (0,8)	0 (5)	0 (8)	0 (15)	2633,5 ($\pm 7,5$)	1824,7 (8,2)	1705,6 ($\pm 4,1$)
10	0 (0,8)	0 (5)	0 (8)	0 (15)	2816,3 ($\pm 4,9$)	1875,8 ($\pm 5,3$)	1717,3 ($\pm 3,2$)
11	0 (0,8)	0 (5)	0 (8)	0 (15)	3003 ($\pm 4,7$)	1792,2 ($\pm 7,8$)	1674,5 ($\pm 5,4$)

E.C = Espessura da camada dos grãos na placa (cm); T.E = Tempo de exposição à luz UV (h); T.C = Tempo de condicionamento (h); D = Distância entre a lâmpada e a superfície dos grãos (cm).

Figura 14 - Diagrama de Pareto referente ao tratamento UV-C para redução de DON (A); ADONS (B) e NIV (C).



E.C = Espessura da camada de grãos na placa (cm); D = Distância entre lâmpada e superfície dos grãos (cm); T.C = Tempo de condicionamento (h); T.E = Tempo de exposição (h)

O tempo de exposição foi significativo apenas para a redução de ADONS apresentando um efeito negativo de -7,1%, sendo também a segunda variável que mais influenciou nesta redução. Já a variável de distância entre a lâmpada e a superfície dos grãos foi significativa para ADONS e NIV.

Ainda, observa-se que ao aplicar as variáveis pertencentes aos tratamentos dos ensaios 1 ao 10, ocorreram reduções de DON fazendo com que a concentração ficasse abaixo do LMT permitido pela legislação ($3000 \mu\text{g kg}^{-1}$).

Tabela 13 - Resultados dos efeitos e níveis de significância provenientes do planejamento 2^{4-1} em relação à redução de DON, ADONS e NIV (%) após tratamento com UV-C.

Variável	Efeito	Nível de	Efeito	Nível de	Efeito	Nível de
	(%)	significância	(%)	significância	(%)	significância
	DON		ADONS		NIV	
Média	42,5	0,001	37,8	0,0002	20,5	0,0002
E.C	9,8	0,09	6,3	0,03	-3,5	0,05
T.E	1,5	0,6	-7,1	0,03	-1,2	0,26
T.C	11,6	0,07	10,4	0,01	0,4	0,63
D	-1,22	0,7	-4,7	0,06	-2,9	0,07

E.C = Espessura da camada dos grãos na placa (cm); T.E = Tempo de exposição à luz UV (h);
T.C = Tempo de condicionamento (h); D = Distância entre a lâmpada e a superfície dos grãos (cm).

De acordo com estudo realizado por Murata; Mistsumatsu e Shimada et al. (2011), foram avaliados os efeitos da irradiação com luz UV-C de curta duração (até 60 min) em silagem de milho com intensidade de $1,5 \text{ mW cm}^{-2}$, juntamente com agitação constante da silagem, sobre a concentração de DON, níveis de α -tocoferol (vitamina E) e β -caroteno (pró-vitamina A). A silagem de milho foi artificialmente contaminada com uma concentração inicial de DON em aproximadamente $60 \mu\text{g g}^{-1}$ de silagem seca. Após a irradiação, o nível de DON foi reduzido significativamente ($p < 0,05$) para cerca de $13 \mu\text{g g}^{-1}$ (22%) aos 30 min e $12 \mu\text{g g}^{-1}$ (21%) aos 60 min. No entanto, as concentrações das vitaminas permaneceram relativamente inalteradas.

Atalla et al. (2004) investigaram sobre a capacidade degradativa e inibitória de luz fluorescente e luz UV aplicadas em micotoxinas presentes em trigo, através do cultivo de espécies produtoras de micotoxinas como *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium verticillioides*, *Scopulariopsis fusca* e *Verticillium lecanii* sobre esta matéria-prima. Os grãos inoculados foram expostos a luz fluorescente, luz UV-C e luz UV-A, sendo armazenados durante três semanas sob umidade relativa entre 50 e 80% a temperatura ambiente. Algumas micotoxinas foram completamente eliminadas enquanto outras variaram de acordo com a umidade relativa

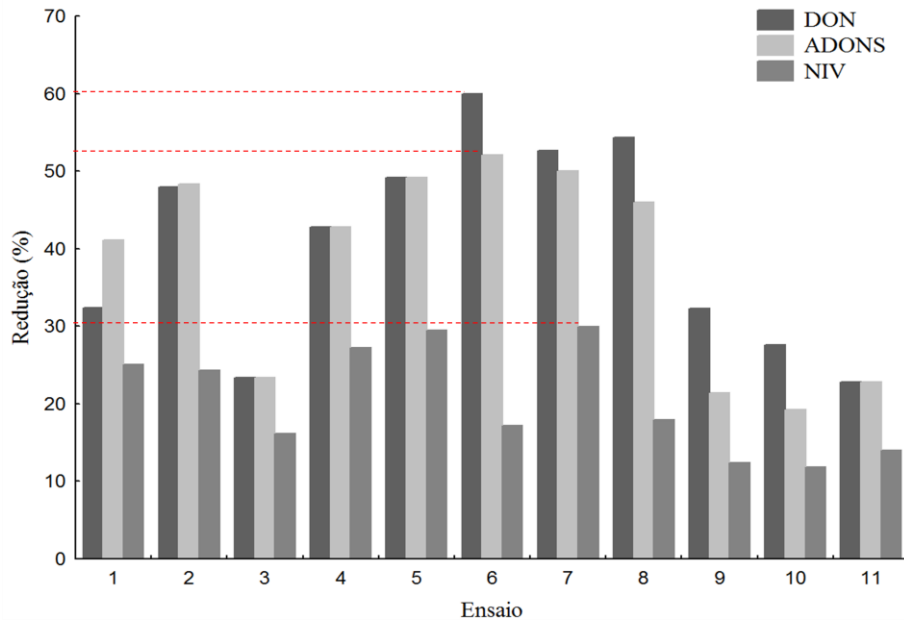
e período de iluminação. Para os grãos de trigo inoculados com *F. verticillioides*, os tricotecenos DON, NIV e toxina T-2 apresentaram maiores reduções quando tratados com UV-C sob uma maior porcentagem de umidade relativa durante maior tempo de exposição, obtendo-se melhores resultados do que em relação a radiação UV-A e luz fluorescente. Estes resultados são semelhantes aos encontrados no presente estudo, pois verificou-se que através da aplicação de UV-C também obtêm-se melhores resultados quando comparado ao UV-A.

Mazaheri (2011) avaliou a degradação de AFLA B1 em pistache testando diferentes distâncias entre lâmpada e os grãos (24, 42, 84 e 96 cm) e diferentes doses de radiação UV-C (1071,8, 350, 87,5 e 67 $\mu\text{W cm}^2$), com fortificações de 10, 15 e 100 ng g^{-1} de AFLA B1. Os resultados mostraram que a concentração de AFLA B1 decresceu de 100 para 78,2 ppm após 3 h de exposição à luz UV-C com radiação de 87,5 $\mu\text{W cm}^2$, sendo que após 13 h este valor foi reduzido para 42,2 ppm.

Garg et al. (2013) analisaram a otimização da dose de radiação para a redução máxima do teor de aflatoxinas, variando a distância entre a lâmpada de 15 W e as amostras de amendoim contaminadas (15 ou 30 cm), a fonte de luz UV-C e a duração da exposição à luz UV-C (2 a 12 h). A atividade fungicida da radiação UV-C foi mais pronunciada em amendoins expostos a uma distância de 15 cm. A redução máxima da concentração de aflatoxina em ambos os tratamentos se deu após 10 h de exposição e nos estudos conduzidos a uma distância de 15 cm, houve redução de 99,1% de aflatoxina (350 ppb para 3 ppb) com diminuição da contagem de fungos para <10 UFC. Já para a distância de 30 cm, houve redução de 97,4% (350 ppb para 9 ppb) do teor de aflatoxina com contagem fúngica de <10 UFC. Os parâmetros de qualidade, incluindo valores nutricionais e parâmetros físico-químicos do amendoim permaneceram relativamente inalterados.

Através da relação do conteúdo de tricotecenos na amostra controle foi possível estimar a porcentagem de redução destas micotoxinas após o tratamento com irradiação UV-C, conforme Figura 15, onde observa-se que a melhor condição a ser empregada foi: tempo de condicionamento de 16 h, espessura da camada de grãos de 1,2 cm, distância entre a lâmpada e a superfície dos grãos de 8 cm e 2 h de exposição, caracterizando uma dose de irradiação de 720 kJ m^2 .

Figura 15 - Gráfico referente à redução dos níveis de DON, ADONS e NIV após tratamentos com UV-C.



Esta condição coincide com a empregada no ensaio 6, apresentando ser mais efetiva, com reduções de 60, 52,1 e 17,2 para DON, ADONS e NIV, respectivamente. O ensaio 7 também se destacou por indicar reduções de 52,6, 50 e 29,9% para DON, ADONS e NIV, sendo que ambos os ensaios apresentaram valores de redução acima da média que foi de 40,5, 37,8 e 20,5% para DON, ADONS e NIV, exceto para NIV.

5.6 CONDIÇÕES OTIMIZADAS ATRAVÉS DOS PLANEJAMENTOS FATORIAIS FRACIONADOS 2^{4-1}

Após a análise de todos os resultados obtidos nos planejamentos, foi possível verificar as melhores condições para cada tratamento físico aplicado, conforme Tabela 14. Para a obtenção de maiores reduções de contaminação por tricotecnos, o tempo de condicionamento foi unânime em 16 h, indicando que a água também possui efeito importante tanto na interação com US como com UV-C e UV-A. A espessura da camada de grãos nas placas de Petri pode ter configurado um possível espalhamento de luz através dos grãos, facilitando a passagem dos raios UV. No béquer de menor diâmetro, as ondas ultrassônicas interagiram com a maior superfície de contato lateral e basal propiciada.

Tabela 14 - Condições otimizadas para cada tratamento físico aplicado aos grãos de trigo.

Tratamento	Tempo de condicionamento (h)	Tempo de exposição (h)	Frequência (kHz)	Diâmetro do béquer (cm)
US	16	3,5	25	3
			Distância entre a lâmpada e superfície dos grãos (cm)	Espessura da camada de grãos na placa de Petri (cm)
UV-A	16	8	8	1,2
UV-C	16	2	8	1,2

O tempo de exposição para o tratamento com US foi de 3,5 h, relativamente moroso para aplicação em processo industrial e, além disso, demandaria mais energia, tendo como consequência maiores custos. Para UV-A, 8 h de exposição torna o processo lento, embora o custo da lâmpada seja menor quando comparado a UV-C. O tratamento com UV-C indicou que em 2 h obtêm-se os melhores resultados e embora o custo da lâmpada seja mais cara, gasta menos energia. A distância entre a lâmpada e a superfície dos grãos foi de 8 cm, indicando que o contato mais próximo dos raios UV promove maiores efeitos degradativos. Para US, a frequência de 25 kHz propiciou maiores reduções pelo fato de possuir uma alta energia, suficiente para romper algumas ligações intermoleculares. Pelo fato de ter obtido reduções similares nos tratamentos com UV-A e UV-C, optou-se por utilizar US e UV-C nas próximas análises, por esta última configurar um processo mais rápido e menos dispendioso em relação à UV-A.

5.6.1 Confirmação da degradação de tricotecnos contaminados artificialmente

Para avaliar a eficácia dos tratamentos físicos em relação à contaminação artificial de tricotecnos, o controle da amostra padrão que já mostrava contaminação natural, foi fortificado com $1000 \mu\text{g kg}^{-1}$ de cada tricoteceno. Nos tratamentos, os grãos foram fortificados com a mesma quantidade e após repouso por 24 h, foram condicionados e expostos a cada condição experimental otimizada. As extrações foram realizadas através do procedimento 4.2.5. A partir disso, a recuperação dos experimentos foi avaliada após a obtenção das melhores condições de redução dos níveis de tricotecnos, conforme Tabela 15.

Tabela 15 – Avaliação do efeito da contaminação artificial através da recuperação dos experimentos controle e tratamentos otimizados.

Tratamento otimizado	Contaminação natural ($\mu\text{g kg}^{-1}$)			Recuperação (%)		
	DON	ADONS	NIV	DON	ADONS	NIV
Controle	3890 ($\pm 9,6$)	2321 ($\pm 9,2$)	1947 ($\pm 9,4$)	101 ($\pm 3,8$)	80 ($\pm 6,6$)	80 ($\pm 8,1$)
US	2450 ($\pm 5,5$)	1578 ($\pm 7,9$)	1398 ($\pm 5,2$)	71,1 ($\pm 6,9$)	54 ($\pm 9,1$)	63 ($\pm 8,4$)
UV-A	1925 ($\pm 7,7$)	1413 ($\pm 3,4$)	1084 ($\pm 8,4$)	60 ($\pm 5,6$)	53 ($\pm 9,4$)	50 ($\pm 7,6$)
UV-C	1556 ($\pm 9,5$)	1112 ($\pm 9,2$)	1612 ($\pm 4,7$)	57,1 ($\pm 4,9$)	41,2 ($\pm 8,8$)	62 (± 10)

Resultados expressos com média e desvio padrão (\pm DP %).

No experimento controle houve uma recuperação de 101, 80 e 80% para DON, ADONS e NIV, respectivamente. Os trigos tratados com US, o valor de recuperação reduziu para 71,1, 54 e 63% para DON, ADONS e NIV; para o tratamento com UV-A, ocorreu uma recuperação de 60, 53 e 50% para DON, ADONS e NIV e para o tratamento com UV-C, os valores de recuperação foram 57,1, 41,2 e 62% para DON, ADONS e NIV, respectivamente. A redução das recuperações dos tratamentos em relação ao controle indica que os processos físicos utilizados foram eficientes quanto a degradação dos tricotecenos.

5.6.2 Confirmação da redução de tricotecenos através dos tratamentos físicos

Após a otimização dos tratamentos foi realizada a repetição dos ensaios de cada planejamento levando em consideração as maiores taxas de redução de DON, por ser o único tricoteceno presente na legislação brasileira. Os resultados indicados na Tabela 16, demonstram que houve aproximadamente a mesma redução em comparação aos dados anteriores, pertencentes aos experimentos dos planejamentos.

Tabela 16 - Redução dos níveis de tricotecenos referente à repetição dos ensaios onde ocorreram as maiores reduções de DON.

Tratamento	N° ensaio	Redução (%)					
		DON ^P	DON ^r	ADONS ^P	ADONS ^r	NIV ^P	NIV ^r
US	7	37($\pm 3,7$)	31($\pm 4,1$)	32($\pm 5,0$)	28($\pm 3,8$)	28,3($\pm 3,4$)	23,1($\pm 3,6$)
UV-A	4	61($\pm 4,2$)	55($\pm 3,9$)	42,3($\pm 4,4$)	37,4($\pm 4,1$)	41,2($\pm 3,7$)	35($\pm 3,9$)
UV-C	6	60($\pm 4,5$)	54($\pm 4,2$)	52,1($\pm 3,9$)	46,1($\pm 4,5$)	17,2($\pm 3,2$)	20,2($\pm 3,8$)

Resultados expressos com média e desvio padrão (\pm DP %). DON^P = Resultados relativos ao planejamento experimental e DON^r = Resultados relativos a repetição dos ensaios onde obteve-se maiores reduções. Idem para ADONS^P e ADONS^r; NIV^P NIV^r

No planejamento com US, o ensaio 7 havia apresentado uma redução de 37, 32 e 28,3 para DON, ADONS E NIV, respectivamente. Já no planejamento com UV-A, o ensaio 4 havia apresentado reduções de 61,3, 42,3 e 41,2. No planejamento com UV-C, o ensaio 6 apresentou reduções de 60, 52,1 e 17,2. Estas variações podem ter sido ocasionadas devido a possível insuficiência de homogeneização das amostras no momento das extrações bem como a variabilidade amostral, comum em grãos.

5.6.3 Aplicação dos tratamentos físicos combinados

Para esta avaliação realizada na amostra padrão, foi escolhido o tratamento com a radiação UV-C pelo fato de ser mais rápido e menos dispendioso e obter resultados semelhantes na redução de tricotecenos em relação à UV-A. Para a avaliação dos tratamentos otimizados subsequentemente, primeiro a amostra foi submetida ao US e logo depois à irradiação UV-C. Em média, a redução de DON no planejamento com US foi de 26%, ADONS 23,2% e NIV 17,8%. Para o planejamento com UV-C, os níveis de DON reduziram em 40,5 %, ADONS 37,8% e NIV 20,5%.

Após a extração das micotoxinas do trigo onde foram aplicados os tratamentos físicos combinados, foi possível observar na Tabela 17 que houve uma maior redução nos valores de DON, ficando em torno de 55%, ADONS em cerca de 49% e NIV próximo a 35%.

Tabela 17 - Comparação dos teores de redução dos níveis de DON, ADONS e NIV entre os tratamentos com US e UV-C isolados e aplicados em sequência.

Tratamento	Tricotecenos		
	DON(%)	ADONS (%)	NIV (%)
Tratamento isolado US	26 ($\pm 5,8$)	23,3 ($\pm 8,2$)	17,8 ($\pm 4,1$)
Tratamento isolado UV-C	40,5 ($\pm 6,4$)	37,8 ($\pm 6,7$)	20,5 ($\pm 4,5$)
Tratamento em sequência	55 ($\pm 7,1$)	49 ($\pm 6,2$)	35 ($\pm 5,5$)

Resultados expressos com média e desvio padrão (\pm DP %).

Desta forma, ficou evidenciado que a interação entre os tratamentos subsequentes originou maior redução das micotoxinas, provavelmente pelo fato do US e seus efeitos cavitacionais promoverem maior influência, deixando os grãos mais suscetíveis a ação da luz UV-C, facilitando a penetração dos raios e assim, havendo maior eficiência do processo.

5.6.4 Aplicação dos tratamentos otimizados em trigo comercial

Após a avaliação dos planejamentos experimentais e com as condições já otimizadas, foram aplicados os tratamentos físicos em quatro amostras adquiridas do comércio local, a fim de verificar a redução da contaminação. Para a aplicação do condicionamento, foi necessário verificar a umidade das amostras para ajustá-las a condição de trabalho inicial. A extração dos tricotecenos foi realizada conforme procedimento descrito no item 4.2.5 e indicaram a presença de DON abaixo do limite estabelecido pela legislação brasileira, conforme apontado na Tabela 18.

Tabela 18 - Conteúdo de tricotecenos presentes naturalmente em grãos de trigo comercializados no sul do Estado do RS.

Amostra comercial	Umidade inicial (%)	Contaminação natural ($\mu\text{g kg}^{-1}$)		
		DON	ADONS	NIV
A	12,4 ($\pm 0,6$)	1451,3 ($\pm 7,2$)	502,9 ($\pm 7,7$)	648,2 ($\pm 8,4$)
B	11,1 ($\pm 0,2$)	1100,6 ($\pm 5,8$)	323,4 ($\pm 9,6$)	444,6 ($\pm 10,8$)
C	11,3 ($\pm 0,4$)	2314,2 ($\pm 4,4$)	948,2 ($\pm 10,2$)	1012,1 ($\pm 10,4$)
D	11,7 ($\pm 0,7$)	1210,7 ($\pm 5,1$)	347,1 ($\pm 3,9$)	505,3 ($\pm 9,1$)

Resultados expressos com média e desvio padrão (\pm DP %).

Através da aplicação dos tratamentos físicos otimizados com US e UV-C, separadamente, foi possível verificar na Tabela 19 que ocorreram maiores reduções de DON, seguido de ADONS, comportamento esperado e confirmado pelos estudos anteriores.

Tabela 19 – Reduções dos níveis de tricotecenos nas amostras comerciais de trigo após tratamento com US e luz UV-C.

Amostra	Tricoteceno	Tratamento com US	Tratamento com UV-C
		Redução (%)	Redução (%)
A	DON	23	37
	ADONS	21	34
	NIV	18	16
B	DON	22	34
	ADONS	26	35
	NIV	21	17
C	DON	28	28
	ADONS	24	30
	NIV	15	20
D	DON	31	38
	ADONS	17	27
	NIV	19	18

Em geral, observa-se que o tratamento com UV-C mostra ser mais eficiente em relação ao US principalmente para DON e ADONS. Com isso, tais resultados indicam que o tratamento otimizado pode ser aplicado em diferentes variedades de trigo

5.7 CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DAS AMOSTRAS APÓS TRATAMENTOS FÍSICOS

5.7.1 Avaliação da solubilidade proteica

Neste trabalho, as diferentes frações proteicas presentes nas amostras de trigo tratado e não tratado com US e UV (albumina, globulina, prolamina e glutelina) nas melhores condições de redução dos níveis de tricotecenos foram extraídas sequencialmente (Tabela 20) para avaliar possíveis mudanças de perfil.

Tabela 20 - Distribuição das frações protéicas solúveis nas condições otimizadas dos diferentes tratamentos físicos dos grãos de trigo.

Tratamento	Albumina (%)	Globulina (%)	Prolamina (%)	Glutelina (%)
Controle	14,7 ^c ($\pm 0,5$)	11,1 ^a ($\pm 0,2$)	28,9 ^{bc} ($\pm 0,8$)	45,3 ^a ($\pm 0,2$)
UV-C	15,6 ^{ab} ($\pm 0,2$)	11,4 ^a ($\pm 0,1$)	28,3 ^c ($\pm 0,2$)	44,7 ^a ($\pm 0,1$)
UV-A	15 ^{bc} ($\pm 0,2$)	10,9 ^a ($\pm 0,1$)	31,4 ^a ($\pm 0,4$)	42,6 ^b ($\pm 0,3$)
US	16,2 ^a ($\pm 0,2$)	11,2 ^a ($\pm 0,2$)	30,2 ^{ab} ($\pm 0,3$)	43,1 ^b ($\pm 0,6$)

Resultados expressos com média e desvio padrão (\pm DP %). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

A composição protéica dos grãos de trigo assume extrema importância, uma vez que aproximadamente 80% do conteúdo proteico constitui o glúten, principal determinante da qualidade dos produtos de panificação (SGARBIERI, 1996).

De modo geral, observou-se que a fração predominante é a glutelina seguida de prolamina, tanto no controle como nos tratamentos. Segundo Mendichi, Fisichella e Savarino (2008), tal fato é característico deste cereal, o que está associado às suas propriedades funcionais. Segundo Veraverbeke e Delcour (2002), as prolaminas são responsáveis pela viscosidade e a extensibilidade enquanto que as glutelinas, pela elasticidade. Ambas se combinam através de ligações covalentes e não covalentes para formar o glúten, resultando em uma massa viscoelástica que possui capacidade de reter o CO₂.

Pagnussatt et al. (2011) avaliaram as variedades de trigo Safira, Ônix e Pampeano, que apresentaram teores de glutelina de 41,9, 43,4 e 29,7%, e prolamina 24,4, 22,1 e 34%, respectivamente. Tais resultados estão de acordo ao encontrado no presente estudo, porém, vale ressaltar que as diferenças entre cultivares se dão pelo fato do

conteúdo de proteínas dos grãos ser influenciado por práticas culturais como manejo do solo, fertilidade, tratamentos fitossanitários, época de semeadura e época de colheita (SHEWRY et al., 2003).

Em comparação a outros tipos de radiação, no estudo realizado por Urbain (1986) foi verificado que trigos irradiados com 10 kGy de radiação gama não afetaram o conteúdo protéico, porém ocorreu um aumento no teor de aminoácidos livres como isoleucina, valina, tirosina e alanina.

Os resultados apresentados neste trabalho indicam que não houve diferença significativa no tratamento com UV-C em relação ao controle para as frações prolamina e glutelina. Em relação a fração albumina, esta apresentou um aumento no seu conteúdo após o tratamento com US, fato que pode ter relação com a queda do conteúdo de glutelina, já que estes tratamentos físicos são caracterizados por ter uma maior penetração e maior energia para romper ligações e conseqüentemente, reduzir o teor de uma fração protéica, aumentando outra.

Davies (2004) relatou que as proteínas quando submetidas a radiações UV sofrem mudanças nas suas propriedades fisiológicas e o comprimento de onda UV-C pode causar danos às proteínas, tendo como alvo aminoácidos aromáticos que normalmente são resultado da fotólise dissulfeto ou oxidação causada por oxigênio reativo. Ainda, Kempner (2001) descreveu que as proteínas são afetadas pelos efeitos diretos e indiretos das radiações ionizantes, sendo que quando estas macromoléculas estão em solução líquida, os efeitos diretos podem ser negligenciados e os efeitos indiretos se tornam predominantes. No entanto, no estado sólido, as proteínas são ionizadas principalmente pela interação direta.

5.7.2 Atividade de α -amilase

A qualidade de grãos e farinhas de cereais é determinada por uma variedade de características que assumem diferentes significados dependendo da designação de uso ou tipo de produto (RASPER, 1991). Neste contexto, a α -amilase, enzima amilolítica presente no grão de trigo, representa um papel fundamental na qualidade final dos produtos de panificação, pois hidrolisa o amido presente na farinha de trigo, formando as dextrinas que serão posteriormente hidrolisadas pela beta-amilase, resultando em moléculas de maltose (SANTOS et al., 2010). A atividade enzimática de α -amilase, indicada na Tabela 21, foi avaliada após os tratamentos físicos com o intuito de verificar possíveis alterações.

Tabela 21 - Atividade enzimática e enzimática específica de α -amilase.

Tratamento	Atividade enzimática (mg amido hidrolisado.min⁻¹)	Atividade enzimática específica (mg amido/mg albumina.min⁻¹)
Controle	0,09 ^a ($\pm 0,01$)	1,41 ^b ($\pm 0,01$)
UV-C	0,1 ^a ($\pm 0,01$)	1,3 ^d ($\pm 0,01$)
UV-A	0,09 ^a ($\pm 0,01$)	1,38 ^c ($\pm 0,01$)
US	0,09 ^a ($\pm 0,01$)	1,48 ^a ($\pm 0,01$)

Resultados expressos com média e desvio padrão (\pm DP %). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

Ao analisar os resultados, observou-se que houve maior atividade enzimática específica de α -amilase no tratamento dos grãos com US, o que pode proporcionar alteração na estrutura tridimensional da enzima, aumentando a velocidade máxima da reação e alterando a atividade catalítica observada inicialmente, corroborando com a afirmação de Mason et al. (2000), que relatou que o efeito da aplicação do US diretamente em enzimas pode produzir um resultado positivo na atividade enzimática. Mulinari et al. (2017) estudaram a hidrólise de óleo de cozinha em sistema ultrassônico utilizando lipase e verificaram um aumento de 320% na sua capacidade hidrolítica, ao utilizar 50% de energia ultrassônica durante 25 min sob 45°C. Desta forma, a influência de ondas ultrassônicas na atividade e estabilidade de enzimas tem demonstrado ser específica para cada enzima e dependente dos parâmetros de sonicação, como frequência, intensidade e tempo de processo (ÖZBEK; ULGEN, 2000).

O US gera efeitos físicos e químicos originados pelo colapso cavitacional, o que pode aumentar as taxas de reação e, portanto, pode tornar-se uma ferramenta útil em reações enzimáticas (BATISTELA et al., 2012). A irradiação ultrassônica pode proporcionar mudanças conformacionais na estrutura de proteínas (LIU et al., 2008) e interferir nas características da enzima, alterando sua estrutura em resposta à perturbação dinâmica provocada. Yu et al. (2014) verificaram que a atividade de α -amilase foi inibida por tratamento ultrassônico e de acordo com resultado de espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier, os componentes estruturais secundários desta enzima foram influenciado pela sonicação. De acordo com Özbek e Ulgen (2000) e Basto et al. (2007) têm sido relatados resultados contraditórios de inativação e ativação da enzima após serem submetidas ao US e diferente da tradicional inativação das enzimas em temperaturas elevadas, o processo de sonicação não danifica o sítio ativo das enzimas. Esta constatação tem sido claramente demonstrada com α -amilase, peroxidase de raiz forte, lacase e fosfatase alcalina.

Em relação ao tratamento com UV-C, observou-se que ocorreu um decréscimo significativo na atividade enzimática específica de α -amilase em relação ao controle. De

acordo com Aizawa, Namba e Suzuki (1977) a atividade da enzima α -amilase medida sob irradiação de luz foi extremamente retardada em comparação com a determinada no escuro. Por outro lado, em pesquisa realizada por Conde et al. (1999), grãos de girassol foram submetidos a tratamentos com UV-C em doses de 3,17 e 5,35 mW cm⁻² por diferentes períodos, ocorrendo um aumento na atividade de α -amilase. Barka et al. (2000) investigaram o efeito da UV-C aplicada em tomate e verificaram que houve mudanças na firmeza e maturação dos tomates por redução da atividade de enzimas degradantes da parede celular, como a poligalacturonase, celulase e xilanase, com uma dose de UV-C 3,7 x 10³ kgf s⁻², considerada baixa. A exposição à luz UV-C reduz a degradação enzimática da parede celular, de modo que estas enzimas podem vir a ser alvo de irradiação UV-C para induzir a proteólise, o que explica o atraso no processo de maturação e senescência causada por dose de UV-C.

5.7.3 Atividade de peroxidase (PO)

As peroxidases são estimuladas pelo estresse oxidativo, as quais atuam na remoção de átomos de hidrogênio, combinando-os com peróxido de hidrogênio para formar moléculas de água, sendo que uma das suas principais funções é promover a proteção da célula (SALISBURY; ROSS, 1992). Estas enzimas estão relacionadas com a síntese da parede celular, bem como na prevenção da oxidação da membrana de lipídios (BROETTO et al., 1997), sendo associada ao aumento da lignificação das paredes celulares.

A Tabela 22 mostra os valores de atividade enzimática da PO, onde se observa a redução da atividade enzimática específica da PO nos tratamentos, que diferiram estatisticamente em relação ao controle.

Tabela 22 - Atividade enzimática e enzimática específica de peroxidase (PO).

Tratamento	Atividade enzimática (U mL⁻¹)	Atividade enzimática específica (U mg⁻¹)
Controle	0,96 ^a (±0,01)	0,4 ^a (±0,01)
UV-C	0,86 ^c (±0,01)	0,31 ^c (±0,01)
UV-A	0,83 ^d (±0,01)	0,31 ^c (±0,01)
25 kHz	0,89 ^b (±0,01)	0,36 ^b (±0,01)

Resultados expressos com média e desvio padrão (±DP %). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa (p<0,05).

Moreno et al. (2017) selecionaram um tratamento com UV-C sobre carambola recém fatiada e avaliaram a sua eficácia complementar em relação aos benefícios do armazenamento a baixas temperaturas. As fatias de carambola tratadas com doses de UV-C

contendo $12,5 \text{ kJ m}^{-2}$ mostraram deterioração reduzida com relação ao controle, diminuindo contagens bacterianas e de bolores. Este tratamento também foi eficaz para controlar o escurecimento da fruta através da inibição da atividade de peroxidase, melhorando a integridade do tecido, não causando alterações nos sólidos solúveis, pH e acidez titulável, aumentando o teor de compostos fenólicos antioxidantes.

Em estudo realizado por Conde et al. (1999) foi avaliado o tratamento de UV-C sobre grãos de girassol com doses de $3,17$ e $5,35 \text{ mW cm}^{-2}$, onde observou-se que através da aplicação de menor dose de radiação ocorreu uma redução significativa na atividade de peroxidase, por ser uma enzima óxido-redutase, sendo mais sensível aos tratamentos físicos e propensa a alterações.

A indução de resistência corresponde à ativação do sistema de defesa latente nas plantas quando elas entram em contato com agentes chamados de eliciadores ou elicitores (PASCHOLATI; LEITE, 1995; GILFOYLE; RODRIGUEZ-LOPEZ; SMITH, 1996). Entre os elicitores estão agentes bióticos, como micro-organismos viáveis (STANGARLIN; PASCHOLATI, 1994) ou abióticos, como metais pesados, luz UV, ácido salicílico, fosfitos e silicatos, influenciando no acúmulo de compostos fenólicos e de proteínas relacionadas à patogênese (quitinase e peroxidase) (CAVALCANTI et al., 2005).

5.7.4 Perfil lipídico

Os lipídios estão presentes na maioria dos alimentos e são susceptíveis à diferentes alterações químicas como auto-oxidação, foto-oxidação, oxidação térmica e oxidação enzimática (rancidez hidrolítica). Nos grãos de trigo, os lipídios apresentam grande diversidade e compreendem ácidos graxos livres, glicolipídios e fosfolipídios. Apesar dos lipídios serem os componentes minoritários da farinha de trigo, possuem impactos significativos sobre a farinha e funcionalidade da massa, interagindo com proteínas do glúten para a estabilização das células de gás na panificação (PAREYT et al., 2011).

Neste trabalho, o perfil lipídico indicado na Tabela 23 apresentou predominância dos ácidos graxos mono-insaturados, tanto no controle como nos tratamentos, sendo compostos pelos ácidos oléico e palmitoléico. Já os ácidos graxos saturados vêm em segundo lugar, com os ácidos láurico, palmítico, henecosanóico e tricosanóico. Em minoria aparece o ácido araquidônico, único ácido graxo poliinsaturado presente nas amostras.

Tabela 23 - Composição lipídica majoritária (%) presente nos grãos de trigo tratados e não tratados nas melhores condições de redução de tricotecnos.

Ácido graxo	Controle	Tratamento com UV-C otimizado	Tratamento com US otimizado
C12:0 (Ác. Láurico)	0,02 ^a (±0,0)	0,1 ^a (±0,1)	0,002 ^a (±0,0)
C14:1 (Ác. Miristoléico)	0,1 ^b (±0,1)	0,5 ^a (±0,1)	0,4 ^{ab} (±0,1)
C15:1(Ác. Pentadecenóico)	0,1 ^b (±0,0)	0,4 ^a (±0,1)	0,2 ^{ab} (±0,1)
C16:0 (Ác. Palmítico)	0,1 ^a (±0,1)	0,2 ^a (±0,1)	0,1 ^a (±0,1)
C16:1(Ác. Palmitoléico)	19,9 ^b (±0,3)	47 ^a (±1,0)	21,2 ^b (±1)
C17:1 (Ác. Heptadecanóico)	0,08 ^b (±0,0)	0,4 ^a (±0,1)	0,2 ^{ab} (±0,1)
C18:1c9 (Ác. Oléico)	78,6 ^a (±0,5)	44,9 ^c (±0,7)	75 ^b (±0,6)
C21:0 (Ác. henecosanóico)	0,6 ^b (±0,1)	1,9 ^a (±0,1)	0,9 ^b (±0,1)
C20:4n6 (Ác. Araquidônico)	0,3 ^b (±0,1)	0,6 ^a (±0,0)	0,3 ^b (±0,1)
C23:0 (Ác. Tricosanóico)	0,1 ^b (±0,0)	0,9 ^a (±0,1)	0,4 ^b (±0,1)
C24:1n9 (Ác. Nervônico)	0,008 ^b (±0,0)	0,3 ^a (±0,2)	0,4 ^a (±0,2)
AGS	0,8 ^b (±0,3)	3,3 ^a (±0,3)	1,5 ^b (±0,4)
AGM	98,5 ^a (±0,4)	93,7 ^b (±2,1)	97,8 ^a (±0,8)
AGP	0,3 ^b (±0,1)	0,6 ^a (±0,0)	0,2 ^b (±0,1)

. AGS = ácido graxo saturado; AGM = Ácido graxo mono-saturado e AGP = Ácido graxo poli-insaturado. Resultados expressos com média e desvio padrão (±DP %). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (p<0,05).

O conteúdo de ácido oléico (C18:1c9) foi reduzido em torno de 33,7% após o tratamento dos grãos com luz UV-C, indicando que pode ter ocorrido a degradação através de peroxidação lipídica. Tal fato pode ser relacionado ao estudo realizado por Bouhamidi; Prevost e Nouvelot (1998), onde foi verificado que a luz UV-C induziu a peroxidação de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA), que são freqüentemente descritos como moléculas-alvo da luz UV-C, e sua degradação resulta em alterações nos fosfolípidios da membrana e acumulação de produtos fluorescentes, tais como lipofuscinas. Ainda, Mandal e Chatterjee (1980) também relatam que a radiação UV gera conseqüências inibitórias e prejudiciais em materiais biológicos incluindo a peroxidação lipídica, polimerização de proteínas, e inativação enzimática. Entretanto, a luz UV-C proporcionou um aumento do conteúdo de ácido palmitoléico (C16:1) em torno de 27,1%. Para o tratamento com US, foi possível observar, de acordo com a Tabela 23, que não houveram diferenças significativas nos teores de ácido palmitoleico em relação ao controle.

Özcan et al. (2014) pesquisaram sobre a composição dos ácidos graxos e atividade antioxidante do óleo de gérmen de trigo tratado termicamente. O máximo rendimento foi obtido utilizando temperatura de 120 °C durante 11 min e verificaram que os ácidos linoléico (C18:2), oléico (C18:1c9) e palmítico (C16) predominaram na fração lipídica, com 58,3%, 18,5 e 12,9%, respectivamente.

Stuper-Szablewska et al. (2014) investigaram o perfil lipídico de trinta amostras de trigo de inverno cultivadas em condições controladas e pós inoculadas com fungos da espécie *Fusarium culmorum*. Em amostras inoculadas, a concentração média de trinta ácidos graxos analisados apresentou uma concentração de 1396 mg kg⁻¹, sendo significativamente maior em relação ao controle, com 1046 mg kg⁻¹. A concentração mais elevada no controle foi registada apenas para o ácido trans linoléico (C18:2n6) e a análise estatística mostrou que este composto juntamente ao ácido oléico (C18:1), ácido γ linoléico (C18:3n3) foram os ácidos com maior poder discriminatório na distinção das amostras inoculadas do controle. A análise discriminatória separou cultivares individuais em classes de qualidade de cultivares de trigo de inverno, dependendo da presença de um perfil específico de ácidos graxos, verificando-se que os perfis ácidos são característicos de cultivares individuais.

Em estudo realizado por Gonzalez-Thuillier et al. (2015), os ácidos graxos mais abundantes presentes em grãos de trigo (*cv. Hereward*) foram o ácido palmítico (C16:0) e o ácido linoleico (C18:2). Os fosfolípidios e os galactolípidios têm propriedades benéficas para a panificação, enquanto que os triacilgliceróis são considerados prejudiciais. Geng; Harnly e Chen (2015) realizaram uma análise abrangente sobre os lipídios de trigo nas frações da moagem, como farelo, endosperma e gérmen. Através de cromatografia líquida de ultra performance (UCLAE), verificaram que o ácido oléico é o terceiro ácido graxo mais abundante, estando presente em maior quantidade no gérmen.

Os tratamentos físicos aplicados em grãos de trigo foram capazes de modificar o perfil de ácidos graxos, com destaque para a redução em média de 43,6% para o ácido oléico ao utilizar UV-C. Este resultado indica o provável início da oxidação do ácido oléico, sendo transformado em ácido palmitoléico. Devido ao fato de que o conteúdo de lipídios presente no grão de trigo está na faixa de 1,5 %, tais alterações não afetariam diretamente a farinha, mantendo suas características de qualidade.

5.8 PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DAS FARINHAS PROVENIENTES DOS GRÃOS TRATADOS E NÃO TRATADOS

Estas análises foram realizadas com o intuito de verificar possíveis alterações nas características tecnológicas da farinha, principal produto da moagem, após a aplicação dos tratamentos físicos otimizados. Vale ressaltar que a utilização de qualquer condição de tratamento aplicável não deve causar alterações indesejáveis nas características nutricionais e sensoriais dos alimentos (SAMARAJEEWA et al., 1990).

A Tabela 24 apresenta os parâmetros avaliados para a caracterização tecnológica das farinhas provenientes dos grãos de trigo tratados e não tratados fisicamente.

Tabela 24 - Características tecnológicas de farinhas de trigo (F.T) provenientes de trigo tratado e não tratado com US e UV-C nas melhores condições.

Parâmetros		F.T Controle (±DP)	F.T UV-C (±DP)	F.T US (±DP)
G.E (%)		63,4 ^b (±0,0)	63,6 ^a (±0,0)	61,5 ^c (±0,0)
Farinografia	AA (%)	64 ^a (±0,2)	60,3 ^c (±0,0)	60,8 ^b (±0,0)
	TD (min)	8 ^a (±0,5)	2,2 ^b (±0,1)	2,3 ^b (±0,1)
	E (min)	13 ^b (±0,2)	16 ^a (±1,7)	18 ^a (±0,2)
	ITM (UF)	60 ^a (±17)	19,5 ^b (±5,5)	7,0 ^b (±0,5)
Alveografia	P (mm H ₂ O)	133 ^c (±0,2)	148 ^a (±2)	140 ^b (±1,5)
	L (mm)	63 ^a (±1,0)	50,5 ^c (±0,5)	55 ^b (±0,2)
	P/L	2,1 ^c (±0,0)	2,9 ^a (±0,0)	2,5 ^b (±0,0)
	W (10 ⁻⁴ J)	286 ^a (±5,2)	289 ^a (±4,6)	288 ^b (±5,7)
Glúten	G.U (%)	29,3 ^a (±0,3)	25,1 ^c (±0,1)	26,8 ^b (±0,0)
	G.S (%)	10 ^a (±0,0)	8,9 ^c (±0,0)	9,3 ^b (±0,0)
	I.G (%)	97 ^b (±1,1)	99,7 ^a (±0,1)	99,3 ^a (±0,1)
Número de Queda		316 ^b (±1,5)	322 ^{ab} (±2,5)	324 ^a (±2,5)
Cor	L*	91,2 ^b (±0,0)	92,1 ^a (±0,0)	92 ^a (±0,0)
	a*	0,32 ^a (±0,0)	0,21 ^c (±0,0)	0,27 ^b (±0,0)
	b*	10,5 ^a (±0,0)	9,2 ^c (±0,0)	9,6 ^b (±0,0)

DP= desvio padrão (n=3); G.E= grau de extração; AA= absorção de água; TD= tempo de desenvolvimento da massa; E= estabilidade; ITM=índice de tolerância a mistura; P=tenacidade; L=extensibilidade; W=força do glúten; G.U = glúten úmido; G.S= glúten seco; I.G= índice de glúten; L*= luminosidade; a*= cromaticidade; b*= cromaticidade. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (p< 0,05).

Através dos dados obtidos, foi possível observar que o grau de extração do controle foi de 63,4% e o tratamento com UV-C indicou valor de 63,6%, não diferindo estatisticamente entre si, mas diferindo do tratamento com US. De acordo com El-Dash (1982) as propriedades tecnológicas da farinha mudam drasticamente com a alteração da quantidade da farinha extraída do grão de trigo. À medida que o grau de extração da farinha

aumenta, os conteúdos de proteínas, lipídios, cinzas e fibras também aumentam, influenciando na qualidade tecnológica do produto.

Gutkoski; Antunes e Roman (1999) relataram que a farinha padrão apresenta em torno de 74% de extração, enquanto que farinhas patentes são obtidas com extrações inferiores a 40%. Taxas de extração de 80% têm sido usadas para preservar os nutrientes do trigo para o uso alimentar, sem causar grandes alterações na cor da farinha ou qualidade de panificação.

5.8.1 Farinografia

Em relação à capacidade de absorção de água, o experimento controle apresentou maior absorção com 64%, sendo reduzida significativamente para 60,6 e 60,8 nos tratamentos com UV-C e US, respectivamente. Tal fato pode estar relacionado a alterações que os processos físicos podem ter sobre a degradação de açúcares simples como dextrina, maltose e glicose, que possuem maior afinidade pela água (RAYAS-DUARTE E RUPNOW, 1993). Estes resultados indicam que a farinha com maior teor de absorção de água contém maior quantidade de fibras e proteínas em sua estrutura, sendo estas variáveis importantes para a escolha de uma farinha de boa qualidade, uma vez que, quanto maior a quantidade de proteínas e fibras, maior a absorção de água. Costa et al. (2008) obtiveram valores menores comparando em suas pesquisas a qualidade tecnológica de grãos e farinhas de trigo nacionais e importados, reportando valores de absorção de água variando entre 54,4 e 59,3% para farinhas importadas, e entre 53,3 e 57,6% para farinhas nacionais.

De acordo com Martins, Oliveira e Santos (2012), uma farinha com boa capacidade de absorção de água, alto teor de proteínas e conseqüentemente formação de glúten com boas propriedades viscoelásticas, desenvolverá uma massa com boa elasticidade, consistência e boa retenção do gás carbônico na etapa de fermentação, havendo assim um aumento considerável do volume do pão, oferecendo estrutura firme e textura uniforme ao mesmo.

Farinhas que apresentam valores de absorção de água menores que 58% não são indicadas para a produção de massas alimentícias. Geralmente uma farinha com alto valor proteico apresenta alta absorção, pois a proteína absorve 2/3 de seu peso em água (MONTENEGRO e ORMENESE, 2008), porém um valor alto de absorção também pode significar alto conteúdo de amido danificado (GERMANI, 2008). Do ponto de vista prático, alta absorção de água significa maior rendimento em massa. Em razão disso a diferença encontrada entre os valores de absorção, indicam que ocorreu uma redução da absorção de

água das farinhas provenientes de grãos tratados com UV-C e US, levando a crer que as farinhas obtidas podem não ser adequadas para a produção de massas alimentícias.

O tempo de desenvolvimento é o intervalo de tempo, em minutos, que o pão leva para desenvolver sua consistência máxima, ou seja, o tempo necessário para determinar o percentual de absorção de água da farinha para que atinja a consistência necessária para a produção de pão (GUARIENTI, 1996). Segundo Carvalho (1999), o tempo de desenvolvimento é importante para avaliar a fermentação da massa, portanto, é necessário respeitar o tempo adequado para a retenção dos gases produzidos pelas leveduras. Estes parâmetros indicam a qualidade da proteína e farinhas fortes normalmente requerem maior tempo de desenvolvimento que farinhas fracas (PYLER, 1988; QUAGLIA, 1991). No presente estudo, o tempo de desenvolvimento do controle foi de 8 min, diferindo estatisticamente dos tratamentos, que apresentaram 2,2 e 2,3 min, indicando que ocorreu provavelmente uma alteração na qualidade protéica, visto que o TD reduziu consideravelmente após os tratamentos físicos, corroborando com os resultados do teor de absorção de água.

A estabilidade é utilizada por algumas empresas como principal padrão de qualidade panificável de uma farinha. A estabilidade da massa é reconhecida como um parâmetro indicador de resistência ao amassamento e melhor qualidade tecnológica. O valor de estabilidade da massa depende do número de ligações entre as moléculas proteicas presentes no glúten e da força entre essas ligações (INDRANI; RAO, 2007). Os tratamentos dos grãos com UV-C e US alteraram positivamente a estabilidade das farinhas, provocando um aumento de 13 min (controle) para 16 min e 18 min em relação a UV-C e US, respectivamente. Este aumento se deve à capacidade de fortalecimento do glúten causado por possíveis interações da luz UV-C e ondas ultrassônicas. Por um lado, se a degradação de proteínas reduziu AA e TD, esse efeito causado pelos tratamentos pode ter aumentado a estabilidade, já que alguns compostos que podem interferir na estabilidade da farinha podem ter sido alterados durante os tratamentos aplicados.

O índice de tolerância à mistura (ITM) do controle foi de 60 UF e dos tratamentos com UV-C e US, 19,4 e 7,5 UF, respectivamente. Geralmente, as farinhas que têm boa tolerância à mistura têm menor ITM e quanto maior for o índice de tolerância, mais fraca será a massa (FARONI et al, 2002). Os resultados obtidos neste estudo indicam o fortalecimento do glúten após os tratamentos físicos, facilitando a formação de uma rede coesa e aumentando sua estabilidade. Tal fato sugere um aumento na resistência das massas ao amassamento ou à ação mecânica.

5.8.2 Alveografia

A elasticidade indica a habilidade que a rede de glúten tem de reter os gases produzidos na fermentação, enquanto a extensibilidade indica a capacidade da massa à extensão durante a fermentação, ou seja, sua capacidade de se esticar sem romper a massa, enquanto que o quociente P/L é a relação entre tenacidade e extensibilidade. A energia de deformação da massa mede o trabalho mecânico necessário para expandir a bolha até a ruptura (GUTKOSKI ; NETO, 2002).

A extensibilidade é um indicativo de volume do pão. Em geral, quando maior o valor de L, maior será o volume do pão. Mas essa característica é dependente do valor de P. Deve existir uma proporcionalidade dos valores de P e L (relação P e L) para, associados ao valor de W (força geral do glúten) expressarem um bom potencial da panificação. A relação tenacidade/extensibilidade (P/L) expressa a estabilidade da massa que serve como guia para determinar se as massas são pouco extensíveis, equilibradas ou muito extensíveis (GERMANI, 2008). Por esta razão, a relação P/L é utilizada em fitomelhoramento genético para selecionar variedades de trigo pela sua qualidade de panificação. Para a fabricação de pães, a farinha que apresentar valores de P/L abaixo de 0,6 pode ser considerada com glúten extensível, de 0,61 a 1,20 de glúten balanceado, e valores de P/L acima de 1,21 de glúten tenaz (MELLADO, 2006; MÓDENES; SILVA; TRIGUEROS, 2009;). Os resultados do alveograma demonstraram que os valores de P/L apresentaram incremento significativo após os tratamentos, de 2,1 (controle) para 2,9 (UV-C) e 2,5 (US), sendo classificado então, como glúten tenaz.

Quanto à energia de deformação da massa (W), ele indica a qualidade panificável da farinha de trigo, simulando o comportamento da massa na fermentação, ou seja, o seu valor permitirá definir o produto final de panificação, onde o esperado é um pão de textura interna sedosa, de bom volume e de granulometria aberta (MÓDENES; SILVA; TRIGUEROS, 2009). A energia de deformação da massa ou força de glúten (W) representa o trabalho de deformação da massa e está relacionada com a qualidade de panificação da farinha, correspondendo ao trabalho mecânico necessário para expandir a bolha até a ruptura, sendo expressa em 10^{-4} J (MÓDENES; SILVA; TRIGUEROS, 2009). Os valores de W podem variar de 100 a valores superiores a 300×10^{-4} J e quanto mais alto for o valor de W, maior será a força do glúten. Trigo com valor de W entre 200 e 300×10^{-4} J é considerado adequado para panificação (MELLADO, 2006). Neste estudo, o controle apresentou valor de $290,5 \times 10^{-4}$

⁴J, o tratamento com UV-C indicou 293 10⁻⁴J e o tratamento com US demonstrou 283 10⁻⁴J, apontando que o tratamento com UV-C propiciou uma maior força do glúten.

5.8.3 Número de queda ou *Falling number*

De acordo com Rani et al. (2001) o teste do número de queda ou *falling number* tem por finalidade verificar a atividade da enzima α -amilase do grão, a fim de detectar danos causados pela germinação na espiga. A ocorrência de chuvas por ocasião da colheita pode levar os grãos de trigo a iniciar o processo germinativo, que traz como consequência a deterioração do grão em níveis que podem comprometer sua utilização industrial. Com o início da germinação, ocorre um incremento na atividade das enzimas α -amilase (número de queda ≤ 200 s). Este acréscimo de produção de α -amilase provoca a sacarificação das moléculas de amido durante o processo de fabricação de pão, resultando em pães com textura interna pegajosa e úmida. Por outro lado, a baixa atividade da enzima α -amilase (número de queda ≥ 351 s) afeta negativamente a panificação, resultando em produto final com textura interna seca e quebradiça (MÓDENES; SILVA; TRIGUEROS, 2009).

A importância da verificação da atividade e do efeito da α -amilase se dá devido ao fato desta enzima exercer a função de quebrar a molécula de amido em partes menores, isto é, em açúcares diretamente fermentescíveis, o que gera uma maior produção de gases na fermentação do pão e conseqüentemente, um maior volume específico deste. Portanto, as farinhas devem ter uma atividade enzimática mediana, longe dos extremos (HOSENEY, 1991; HUG-ITEN; ESCHER; CONDE-PETIT, 2001; RANI et al., 2001).

No presente estudo, o número de queda aumentou significativamente de 316,5 s (controle) para 321,5 s (UV-C) e 323,5 s (US), estando dentro de uma faixa de 250 a 350 s, considerada ideal para a prática panificável, de acordo com Ortolan (2006). De acordo com Jacobs e Delcour (1998) quanto maior o número de queda, menor o teor de amido danificado, fato ocorrido neste trabalho. Os resultados referentes a atividade enzimática específica (AEE) de α -amilase determinados diretamente, indicaram maior AEE na amostra tratada com US (1,45 mg amido/mg albumina min⁻¹) e menor AEE na amostra tratada com UV-C (1,29 mg amido/mg albumina min⁻¹). Possivelmente, as mudanças no número de queda, isto é, na quantidade de polissacarídeos em função dos tratamentos físicos aplicados sobre os grãos, indica o grau de despolimerização do amido, sendo relacionado com a quantidade de radicais livres gerados.

Segundo a Instrução Normativa nº 38, de 30 de novembro de 2010, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2010), publicado no Diário Oficial da

União de 1º de dezembro de 2010, o trigo destinado diretamente à alimentação humana pertence ao grupo 1 e o trigo destinado a moagem e a outras finalidades, pertence ao grupo 2, sendo que o trigo destinado à panificação, se enquadra na classe de trigo pão, do grupo 2. Na Tabela 25 está a classificação comercial de trigo, estimada pela sua aptidão tecnológica, onde são apresentados valores mínimos sugeridos para características de qualidade por produto à base de trigo, em função da força de glúten (W), da relação tenacidade/extensibilidade (P/L) e do número de queda (NQ).

Tabela 25 - Classes do trigo do Grupo II destinado à moagem e a outras finalidades

Classe	Força do glúten (10⁴J)	Estabilidade (min)	Nº de queda (s)
Melhorador	300	14	250
Pão	220	10	220
Doméstico	160	6	220
Básico	100	3	200
Outros usos	Qualquer	Qualquer	Qualquer

Através da comparação dos resultados obtidos com a Tabela 24, pode-se verificar que os grãos utilizados neste estudo possuem características de trigo Melhorador, tanto o controle como os tratamentos estando na faixa entre 286 e 289 10⁴J de força de glúten, 13 a 18 min de estabilidade e número de queda entre 316 e 324 s.

5.8.4 Cor

Quanto à análise de cor, observou-se que as amostras de farinha apresentaram pouca variação quanto a sua luminosidade L*, porém foram estatisticamente significativas, indicando que as farinhas tratadas com UV-C e US possuem coloração com tonalidades mais claras. Quanto às coordenadas de cromaticidade a* e b*, foi verificada variação significativa entre tratamentos, mostrando que a coordenada de cromaticidade a* do controle que possuía 0,32 foi reduzida após o tratamento com UV-C para 0,21 e após tratamento com US para 0,27. Para a coordenada b*, o comportamento foi semelhante, reduzindo de 10,5 para 9,6 após tratamento com UV-C e para 9,2 após tratamento com US. Embora as coordenadas de cromaticidade a* e b* tenham apresentado redução de seus valores após o tratamento com UV-C e US, indicando uma tendência de afastamento do vermelho e do amarelo, verificou-se que as amostras apresentaram valores similares aos encontrados por Ortolan et al. (2006). Tal

fato pode estar relacionado com a oxidação de pigmentos através da ação dos tratamentos físicos com UV-C e US.

A farinha de trigo apresenta diferentes tons de branco e essa variação depende do conteúdo de pigmentos carotenóides e da atividade enzimática. A cor da farinha de trigo pode ser avaliada pela luminosidade, a qual determina a extensão da oxidação dos pigmentos carotenóides pelo complexo que promove o branqueamento (enzima lipoxigenase), ou a partículas de farelo e material estranho, indicando o desempenho da moagem (POMERANZ, 1998; GUTKOSKI, 2008). De acordo com El-Dash (1982) o conteúdo de cinzas da farinha é usado como indicador do grau de extração, que neste estudo apresentou menor grau no controle e tratamento com UV-C, corroborando com os resultados apresentados em relação a luminosidade e cromaticidade das farinhas. Segundo Gutkoski; Antunes e Roman (1999), produtos de panificação elaborados com farinhas que contém níveis mais altos de cinzas apresentam coloração mais escura, pois contém maiores quantidades de partículas finas do farelo ou da porção do endosperma adjacente ao farelo. A cor da farinha também é usada como índice de pureza e quanto mais branca, maior será a aceitabilidade pelo consumidor. A cor escura na farinha ocorre devido a presença de partículas do farelo, que podem ser removidas por processo adequado de moagem.

A legislação brasileira (BRASIL, 2005) estabelece que a farinha de trigo deve apresentar cor branca, com tons leves de amarelo, marrom ou cinza, conforme a matéria-prima de origem. Por outro lado, a cor dependerá também do tempo de armazenamento, que tem influência sobre a qualidade tecnológica da farinha, e que poderá resultar em modificações dos seus parâmetros nutricionais e sensoriais (HRUŠKOVÁ; MACHOVÁ, 2002).

5.8.5 Glúten

A funcionalidade e versatilidade da farinha, principal produto resultante da moagem, está associada à capacidade de algumas de suas proteínas (gliadinas e gluteninas) formar glúten. Embora cada farinha de trigo armazene proteínas em uma rede viscoelásticas, as suas características podem diferir extremamente, de acordo com as condições ambientais e genotípicas (GUPTA; BATEY; MACRITCHIE, 1992; HASNIZA et al., 2014).

Segundo Sales e Vitti (1987) e Caldeira et al. (2000), farinhas com baixos teores de glúten podem propiciar a obtenção de uma massa com menor absorção de água. A quantidade e qualidade do glúten determinam uma forte absorção de água e uma elevada elasticidade de pães, que é muito favorável para a retenção do dióxido de carbono durante o

processo de fermentação de produtos de panificação. Entretanto, esta afirmação não foi observada neste estudo, visto que o controle mostrou menor teor de índice de glúten também indicou maior absorção de água.

O glúten é uma proteína amorfa que se encontra em alguns cereais combinada com o amido, representando 80% das proteínas do trigo e quando úmido, apresenta peso três vezes maior que o glúten seco, pois retém grande quantidade de água (SGARBIERI, 1996). Para Armero e Collar (1998), valores elevados de índice de glúten (acima de 90%) correspondem a uma rede de glúten forte. Ao tratar os grãos com UV-C e US obtiveram-se valores de índice de glúten de 99,7% e 99,4%, respectivamente, diferindo estatisticamente do controle que apresentou 97,5%, indicando um fortalecimento da rede de glúten, que é responsável pela elasticidade da massa da farinha. Ainda, verificou-se que houve diferença significativa no teor de glúten úmido e seco, sendo reduzidos significativamente após os tratamentos, indicando uma possível degradação das gliadinas e gluteninas através da ação da UV-C e US, por possível excesso de oxidação, reduzindo sua extensibilidade.

Panozzo et al. (2016) avaliaram o efeito da aplicação de luz pulsada através de quatro lâmpadas de xênon com emissões entre 200 e 1000 nm, utilizando doses entre 1,75 e 26,25 J cm⁻² nas propriedades (absorbância, tamanho de partícula, imunoreatividade, conteúdo de sulfodrilas livres) de glúten de trigo em pó e em suspensão aquosa, verificando que a fotoreatividade do glúten foi fortemente afetada pela hidratação. No glúten em pó, a luz pulsada induziu o desenvolvimento do escurecimento e promoveu a despolimerização parcial das proteínas do glúten por trocas dissulfeto, modificando sua funcionalidade. Em outra investigação, Jin et al. (2015) avaliaram o efeito do US multifrequência em relação a enzimólise de proteínas do milho e nas estruturas de maior fração protéica, zeína e glutelina, onde os resultados indicaram modificações nas ligações dissulfeto e a microscopia eletrônica sugeriu a degradação de microestruturas da glutelina.

Em suma, as características tecnológicas das farinhas provenientes de grãos tratados com US e UV-C foram alteradas significativamente, evidenciando a necessidade de avaliar o efeito dos tratamentos físicos na redução da contaminação micotoxicológica em grãos e suas possíveis modificações nos produtos de beneficiamento.

6 CONCLUSÕES

6.1 CONCLUSÕES PARCIAIS

De acordo com os resultados obtidos, após a aplicação do tratamento com US, obteve-se redução média de DON, ADONS, e NIV de 26, 23,2 e 17,8% respectivamente, sendo que as melhores condições foram 16 h de condicionamento, 3,5 h de exposição, frequência de 25 kHz e diâmetro do béquero de 3 cm. Para o tratamento com UV-A, as reduções de DON, ADONS e NIV foram de 36,8, 29,9 e 32,8% respectivamente, indicando condições otimizadas ao utilizar 16 h de condicionamento, 8 h de exposição, distância de 8 cm entre a lâmpada e superfície dos grãos e espessura da camada dos grãos na placa de 1,2 cm. Por outro lado, para o tratamento com UV-C, a média de reduções de DON, ADONS e NIV ficou em torno de 40,5, 37,8 e 20,5%, respectivamente, mostrando melhores resultados ao utilizar 16 h de condicionamento, 2 h de exposição, distância de 8 cm entre a lâmpada e superfície dos grãos e espessura da camada dos grãos na placa de 1,2 cm. As condições otimizadas de US e UV-C foram aplicadas em quatro amostras de trigo comerciais, as quais indicaram perfil semelhante de redução.

Em relação a composição físico-química dos grãos tratados e não tratados, verificou-se que houve diferença estatística apenas para o conteúdo de umidade, fato justificado pelo ajuste realizado pelo condicionamento dos grãos.

O conteúdo de proteínas solúveis apresentou em média 15,2, 10,9, 29,4 e 44,4% de albumina, globulina, prolamina e glutelina. Em relação a atividade enzimática específica (AEE) de α -amilase, após o tratamento com US usando 25 kHz houve um aumento em relação ao controle de 3,5%. Por outro lado, após tratamento com UV-C ocorreu uma redução em torno de 7,8% em relação ao controle. Para a PO o controle apresentou AEE de 0,39 U mg^{-1} , diferindo estatisticamente dos tratamentos com UV-A e UV-C, ambos com 0,30 U mg^{-1} . O perfil lipídico indicou a predominância de ácidos graxos mono-insaturados oléico e palmitoléico, sendo que ambos sofreram diferenças significativas após tratamento com UV-C. O ácido oléico apresentou redução em cerca de 33,7% e o ácido palmitoléico um aumento em torno de 27,1%.

Para as propriedades tecnológicas das farinhas provenientes dos grãos tratados e não-tratados com US e UV-C, ocorreram diferenças significativas em relação ao controle nos parâmetros de número de queda, grau de extração, absorção de água, tempo de desenvolvimento da massa, estabilidade, índice de tolerância à mistura, tenacidade e extensibilidade, força do glúten, e colorimetria.

Dessa forma, o presente estudo indica alternativas promissoras pós-colheita para a redução dos níveis de DON, ADONS e NIV em grãos de trigo, com destaque para o uso de UV-C.

6.2 CONCLUSÃO GERAL

A aplicação de US e UV em grãos de trigo após a etapa de condicionamento dos grãos reduziu os níveis de tricotecenos, sendo o tratamento com UV-C o mais promissor isoladamente. Entretanto, o efeito combinado entre US e UV-C propiciou maiores reduções em relação ao tratamento isolado.

A composição físico-química dos grãos tratados não foi alterada com os tratamentos aplicados. No entanto, as frações protéicas e atividade enzimática de α -amilase e PO apresentaram alteração no perfil, variando de acordo com o tratamento.

Estas alterações podem estar relacionadas ao efeito de fortalecimento do glúten entre outras características reológicas das proteínas das farinhas provenientes dos grãos de trigo tratados pelos métodos físicos US e UV, o que leva a esperar comportamento tecnológico adequado na elaboração de produtos alimentícios.

7 PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS

- Estudar e verificar o efeito do comprimento de onda UV-B;
- Avaliar diferentes proporções de umidade durante o condicionamento;
- Elucidar os compostos de degradação de DON, ADONS e NIV.
- Analisar o comportamento de tricotecenos tipo A, como toxina T-2 e HT-2 perante a aplicação dos processos físicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEDI-TIZAKI, M.; ZAFARI, D. M. Natural occurrence of deoxynivalenol and its acetylated derivatives in wheat in north of Iran. **Journal of Plant Pathology**, v. 97, n. 3, p. 431-437, 2015.
- ABRAMSON, D.; HOUSE, J. D.; NYACHOTI, C. M. Reduction of deoxynivalenol in barley by treatment with aqueous sodium carbonate and heat. **Mycopathologia**, v. 160, n. 4, p. 297-301, 2005.
- ADEGOKE, G. O.; BABALOLA, A. K.; AKANNI, A. O. Effects of sodium metabisulphite, hydrogen peroxide and heat on aflatoxin B1 in lafun and gari-two cassava products. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 35, n. 10, p. 1041-1045, 1991.
- ADEKUNTE, A.O. ;TIWARI, B. K.; CULLEN, P. J.; SCANNELL, A. G. M.; O'DONNELL, C. P. O. Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. **Food Chemistry**, v. 122, n.3, p.500-507, 2010.
- AIZAWA, M.; NAMBA, K.; SUZUKI, S. Photo control of enzyme activity of α -amylase. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 180, n. 1, p. 41-48, 1977.
- ALEXANDRE, F. A. Avaliação da eficiência da luz ultravioleta na esterilização de embalagens plásticas. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.5, p.1524-1530, 2008.
- ALI, S.; EJAZ, N.; SHAH, F. H. Detoxification of aflatoxin in poultry feed. **Pakistan Journal of Medical Sciences**, v. 30, p. 401-407, 2000.
- ALKADRI, D.; RUBERT, J.; PRODI, A.; PISI, A.; MAÑES, J.; SOLER, C. Natural co-occurrence of mycotoxins in wheat grains from Italy and Syria. **Food chemistry**, v. 157, p. 111-118, 2014.
- ALMEIDA, A. P. D.; LAMARDO, L. C. A.; SHUNDO, L.; SILVA, S. A. D.; NAVAS, S. A.; ALABURDA, J.; SABINO, M. Occurrence of deoxynivalenol in wheat flour, instant noodle and biscuits commercialised in Brazil. **Food Additives & Contaminants: Part B**, v. 9, n. 4, p. 251-255, 2016.
- AMAYA, D. B. R.; SABINO, M. Mycotoxin research in Brazil: the last decade in review. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 1-11, 2002.
- AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS - AACC. **Approved methods**, Saint Paul, 11^a ed., v. 2, 2010.
- ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S.; STAJNBAHER, D.; SCHENCK, F. J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and dispersive solid-phase extraction for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC International**, v.86, p. 412-431, 2003.
- ANATER, A.; MANYES, L.; MECA, G.; FERRER, E.; LUCIANO, F. B.; PIMPÃO, C. T.; FONT, G. Mycotoxins and their consequences in aquaculture: A review. **Aquaculture**, v. 451, p. 1-10, 2016.

ANDRADE, N. J.; SÃO JOSÉ, J. F. B.; RAMOS, A. M.; VANETTI, M. C. D.; STRINGHETA, P. C.; CHAVES, J. B. P. Decontamination by ultrasound application in fresh fruits and vegetables. **Food Control**, v. 45, p. 36 -50, 2014.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Resolução CNNPA nº 12 de 1978, artigo 1º - **Aprovação da norma técnica referente a farinha de trigo**. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>. Acesso em 20 de fev. de 2016, 21:32:17.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para a validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2011.

ARITA, C.; CALADO, T.; VENÂNCIO, A.; LIMA, N.; RODRIGUES, P. Description of a strain from an atypical population of *Aspergillus parasiticus* that produces aflatoxins B only, and the impact of temperature on fungal growth and mycotoxin production. **European Journal of Plant Pathology**, v. 139, n. 4, p. 655-661, 2014.

ARMERO, E; COLLAR, C. Crumb Firming Kinetics of Wheat Breads with Anti-staling Additives. **Journal of Cereal Science**, v. 28, n. 2, p. 165–174, 1998.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO TRIGO - ABITRIGO. **O que é a farinha de trigo**, 2017. Disponível em: <<http://www.abitrigo.com.br>>. Acesso em 27 de jan. de 2017, 15:47:13.

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**, v. 6, n. 6, p. 1006-1012, 2004.

AYALEW, A.; FEHRMANN, H.; LESPCHY, J.; BECK, R.; ABATE, D. Natural occurrence of mycotoxins in staple cereals from Ethiopia. **Mycopathologia**, v. 162, n. 1, p. 57 – 63, 2006.

BARKA, E.A.; KALANTARI, J.; MAKHLOUF, J.; ARUL, J. Impact of UV-C illumination on the cell wall-degrading enzymes during ripening of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 3, p. 667–671, 2000.

BASTO, C.; SILVA, C. J.; GÜBITZB, G.; CAVACO-PAULO, A. Stability and decolouration ability of *Trametes villosa* laccase in liquid ultrasonic fields. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 14, n. 3, p. 355-362, 2007

BATA, A.; LÁSZTITY, R. Detoxification of mycotoxin contaminated food and feed by microorganisms. **Food Science & Technology**, v. 10, n. 6, p. 223 – 228, junho de 1999.

BATISTELLA, L.; USTRA, M. K.; RICHETTI, A.,; PERGHER, S. B.; TREICHEL, H., OLIVEIRA, J. V.; DE OLIVEIRA, D. Assessment of two immobilized lipases activity and stability to low temperatures in organic solvents under ultrasound-assisted irradiation. **Bioprocess and biosystems engineering**, v. 35, n. 3, p. 351-358, 2012.

BENNETT, J. W.; KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Reviews**, v.16, n.3, p. 497–516, 2003.

- BENNETT, G. A.; SHOTWELL, O. L. Criteria for determining purity of *Fusarium* mycotoxins. **Journal of Association of Official Analytical Chemistry**, v.73, p. 270 - 275, 1990.
- BERBERT, P. A.; STENNING, B. C. Redução da influência da massa específica na determinação do teor de umidade de sementes de trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 641-650, 1999.
- BERNFELD, P. **Amylases: alpha and beta methods**. In: Colowick S. P. and Kaplan O. N. editors. *Methods in enzymology*. New York: Academic Press, v. 1, p. 149-158, 1955.
- BETINA, V. Mycotoxins: production, isolation, separation and purification. **Developments in Food Science**, v. 38, n. 9, p. 193 – 243, 1984.
- BINTSIS, T.; LITOPOULOU-TZANETAKI, E.; OBINSON, R. K. Existing and potential applications of ultraviolet light in food industry – a critical review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 6, p. 637 – 645, 2000.
- BOUHAMIDI, R.; PRÉVOST, V.; NOUVELOT, A. High protection by grape seed proanthocyanidins (GSPC) of polyunsaturated fatty acids against UV-C induced peroxidation. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences-Series III-Sciences de la Vie**, v. 321, n. 1, p. 31-38, 1998.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa n. 8, de 02 de junho de 2005. Regulamento técnico de identidade e qualidade da farinha de trigo. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 3 de jun. 2005, Seção 1, p. 91.
- BRASIL. Resolução - RDC Nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. Regulamento Técnico sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Ministério da Saúde**, seção 1, p. 66, Brasília, DF, 09 de março de 2011.
- BRASIL. Resolução – RDC Nº 59, de 26 de dezembro de 2013. Regulamento Técnico sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Ministério da Saúde**, seção 1, p. 756, Brasília, DF, 30 de dezembro de 2013.
- BRETZ, M.; BEYER, M.; CRAMER, B.; KNECHT, A.; HUMPF, H. Thermal degradation of the *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 17, p. 6445-6451, 2006.
- BROETTO, F.; CASA, A. M.; MALAVOLTA, E.; LOPES, C.R. Isoenzymatic polymorphism and activity of peroxidases of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under saline stress. **Scientia Agricola.**, v. 54, n. 3, 1997.
- CABRAL, L.; TERMINIELLO, L.; PINTO, V. F.; NIELSEN, K. F.; PATRIARCA, A. Natural occurrence of mycotoxins and toxigenic capacity of *Alternaria* strains from mouldy peppers. **International Journal of Food Microbiology**, v. 236, p. 155-160, 2016.

CALADO, T.; VENÂNCIO, A.; ABRUNHOSA, L. Irradiation for mold and mycotoxin control: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 5, p. 1049-1061, 2014.

CALDEIRA, M. T. M.; LIMA, V. L. A.; SEKI, H. A.; RUNJAMCK, F. D. Diversidade de trigo, tipificação de farinhas e genotipagem. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 3, n. 16, p. 44-48, 2000.

CALORI-DOMINGUES, M. A.; ALMEIDA, R. R.; TOMIWAKA, M. M.; GALLO, C. R.; GLORIA, E. M.; DIAS, C. T. S. Ocorrência de desoxinivalenol em trigo nacional e importado utilizado no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 181 - 185, 2007.

CALORI-DOMINGUES, M. A.; BERNARDI, C. M. G.; NARDIN, M. S.; DE SOUZA, G. V.; DOS SANTOS, F. G. R.; STEIN, M. D. A.; DE CAMARGO, A. C. Co-occurrence and distribution of deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone in wheat from Brazil. **Food Additives & Contaminants: Part B**, v. 9, n. 2, p. 142-151, 2016.

CAMINITI, A.M.; NOCI, F.; MUNOZ, A.; WHYTE, P.; MORGAN, D. A.; CRONIN, D.A.; LYNG, J. G. Impact of Selected Combinations of Non-Thermal Processing Technologies on the Quality of an Apple and Cranberry Juice Blend. **Food Chemistry**, v. 124, n. 4, p. 1387–1392, 2012.

CANALE, M. C.; BENATO, E. A.; CIA, P.; HADDAD, M. L.; PASCHOLATI, S. F. In vitro effect of UV-C irradiation on *Guignardia citricarpa* and on postharvest control of citrus black spot. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 6, p. 356-361, 2011.

CARVALHO, D. **Controle de qualidade de trigo e derivados e tratamento e tipificação de farinhas**. Curitiba: Granotec do Brasil, p. 18-23, 1999.

CASS, Q.; CASSIANO, N.. **Cromatografia líquida: novas tendências e aplicações**. 1ª ed., Editora Elsevier Brasil - Campus, p.32-38, Rio de Janeiro, 2015.

CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. **FEALQ**, Piracicaba, p. 263, 2005.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Editora da Unicamp, 1ª ed., Campinas, 1999.

CHAMPEIL, A.; FOURBET, J. F.; DORÉ, T.; ROSSIGNOL, L. Influence of cropping system on *Fusarium* head blight and mycotoxin levels in winter wheat. **Crop protection**, v. 23, n. 6, p. 531-537, 2004.

CHATTERJEE, S.; KUANG, Y.; SPLIVALLO, R.; CHATTERJEE, P.; KARLOVSKY, P. Interactions among filamentous fungi *Aspergillus niger*, *Fusarium verticillioides* and *Clonostachys rosea*: fungal biomass, diversity of secreted metabolites and fumonisin production. **BMC microbiology**, v. 16, n. 1, p. 83, 2016.

CHEAT, S.; PINTON, P.; COSSALTER, A. M.; COGNIE, J.; VILARIÑO, M.; CALLU, P.; KOLF-CLAUW, M. The mycotoxins deoxynivalenol and nivalenol show in vivo synergism on jejenum enterocytes apoptosis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 87, p. 45-54, 2016.

CHEFTEL, J.C. Extrusion cooking and food safety. In: Mercier, C., Linko, P., Harper, J.M. (Eds.), Extrusion Cooking. **American Association of Cereal Chemists**, Minnessota, p. 435–461, 1989.

CHEMAT, F.; E KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.18, n.4, p.813-835, 2011.

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A. G.; MEULLEMIESTRE, A.; FABIANO-TIXIER, A. S.; ABERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, n.2, p. 540-560, 2017.

CHOPIN. **Instruction manual laboratory mill CD-1**. Villeneuve-la-Garenne: Chopin, p.16, 1998.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira: Grãos. V.2 - Safra 2014/15, N. 10 – Décimo levantamento Julho/2015. Monitoramento Agrícola: Cultivos de verão, 2ª safra e inverno – Safra 2014/15**, 2015. Disponível em: <www.conab.gov.br>. Acesso em 04 de agosto de 2015, 10:37:58.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira: Grãos. V.4 - Safra 2016/17, N. 1 – Primeiro levantamento Outubro/2016. Monitoramento Agrícola Safra 2016/17**, 2015. Disponível em: <www.conab.gov.br>. Acesso em 13 de dezembro de 2016, 08:23:10.

CONDE, P.; SOUSA, A.; SANTOS, S.; DOS SANTOS, C. V.; CALDEIRA, G. Changes in growth, chlorophyll content and peroxidase and α -amylase activities in sunflower calli after uv-c irradiation. **Belgian Journal of Botany**, p. 35-42, 1999.

CORBIN, C.; FIDEL, T.; LECLERC, E. A; BARAKZOY, E.; SAGOT, N.; FALGUIÉRES, A.; RENOARD, S.; BLONDEAU, J. P.; FERROUD, C.; DOUSSOT, J.; LAINÉ, E.; HANO, C. Development and validation of an efficient ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from flax (*Linum usitatissimum* L.) seeds. **Ultrasonic Sonochemistry**, v. 26, p. 176-185, 2015.

COSTA, M. D. G. D.; SOUZA, E. L. D.; STAMFORD, T. L. M.; ANDRADE, S. A. C. Technological quality of national and imported wheat grain and wheat flours. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 220-225, 2008.

COUGO, C. D. G.; FONTES, M. R. V.; DUARTE, V. G. D. **Diagnóstico de biomarcadores de exposição para nivalenol durante fermentação alcoólica**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Bioquímica) - Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2015.

DALCERO, A.; MAGNOLI, C.; CHIACCHIERA, S.; PALACIOS, G.; REYNOSO, M. Mycoflora and incidence of aflatoxin B1, zearalenone and deoxynivalenol in poultry feeds in Argentina. **Mycopathologia**, v. 137, n. 3, p. 179-184, 1997.

- DAVIES, M. J. Reactive species formed on proteins exposed to singlet oxygen. **Photochemical & Photobiological Science**, v.3, n. 1, p. 17-15, 2004.
- DELLAFIORA, L.; GALAVERNA, G.; REVERBERI, M.; DALL'ASTA, C. Degradation of Aflatoxins by Means of Laccases from *Trametes versicolor*: An In Silico Insight. **Toxins**, v. 9, n. 1, p. 17, 2017
- DEL PONTE, E. M.; GARDA-BUFFON, J.; BADIALE-FURLONG, E. Deoxynivalenol and nivalenol in commercial wheat grain related to *Fusarium* head blight epidemics in southern Brazil. **Food Chemistry**, n. 2, v. 132, p. 1087 – 1091, 2012.
- DELCOUR, J. A.; HOSENEY, R. C. **Principles of cereal science and technology**. 3^a ed., p. 270, Saint Paul: AACC International, 2010.
- DESJARDINS, A. E. ***Fusarium* mycotoxins: Chemistry, Genetics and Biology**. American Phytopathological Society Press, Saint Paul, USA, p. 260, 2006.
- DIAO, E.; SHEN, X.; ZHANG, Z.; JI, N.; MA, WENWEN, DONG, H. Safety evaluation of aflatoxin B1 in peanut oil after ultraviolet irradiation detoxification in a photodegradation reactor. **International Journal of Food Science and Technology**, n. 1, v. 50, p. 41-47, 2015.
- DWEBBA, C. C.; FIGLAN, S.; SHIMELIS, H. A.; MOTAUNG, T. E.; SYDENHAM, S.; MWADZINGENI, L.; TSILO, T. J. *Fusarium* head blight of wheat: Pathogenesis and control strategies. **Crop Protection**, v. 91, p. 114-122, 2017.
- EDWARD, T. L.; KIRUI, M. S.; OMOLO, J. O.; NGUMBU, R. G.; ODHIAMBO, P. M. Effect of ultraviolet-A (UV-A) and ultraviolet-C (UV-C) light on mechanical properties of oyster mushrooms during growth. **Journal of biophysics**, v. 2014, 2014.
- EL-DASH, A. A. **Fundamentos da tecnologia de moagem**. Série Tecnologia Agroindustrial. São Paulo: Secretaria da Indústria, Comércio e Tecnologia, p. 400, 1982.
- ELIAS, M. C.; LOPES, V.; GUTKOSKI, L. C.; OLIVEIRA, M.; MAZZUTTI, S.; DIAS, A. R. G. Umidade de colheita, métodos de secagem e tempo de armazenamento na qualidade tecnológica de grãos de trigo (cv., Embrapa 16^o). **Ciência Rural**, v. 39, n. 1, 2009.
- ENNOUARI, A., SANCHIS, V., MARÍN, S., RAHOUTI, M., & ZINEDINE, A. Occurrence of deoxynivalenol in durum wheat from Morocco. **Food Control**, v. 32, n. 1, p. 115-118, 2013.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY – EFSA. Scientific Opinion on risks animal and public health related to the presence of nivalenol in food and feed. **EFSA Journal**, p.1, 2013.
- FARONI, L. R. D.; BERBERT, P. A.; MARTINAZZO, A. P.; COELHO, E. M. Qualidade da farinha obtida de grãos de trigo fumigados com dióxido de carbono e fosfina. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 6, n. 2, p. 354–357, 2002.
- FARTRIGO. **Etimologia, conceituação e características do trigo**. 2016. Disponível em: <www.fartrigo.com.br>. Acessado em 22 de dezembro de 2016, 16:56:37.
- FAZELI, M. R.; HAJIMOHAMMADALI, M.; MOSHKANI, A.; SAMADI, N.; JAMALIFAR, H.; KHOSHAYAND, M. R.; VAGHARI, E.; POURAGAH, S. Aflatoxin B1

binding capacity of autochthonous strains of lactic acid bacteria. **Journal of food protection**, v. 72, n. 1, p. 189-192, 2009.

FELTRIN, A. C. P. **Aplicação de peroxidase para degradação de deoxinivalenol.**

Dissertação (Mestrado em Química Tecnológica e Ambiental) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2013.

FOLCH, J.; LESS, M.; STANLEY, G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497 – 509, 1957.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO.

Mycotoxins: Food safety and quality, 2013. Disponível em: <http://www.fao.org>. Acesso em 12 de ago. de 2015, 14:23:54, 2013.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO.

Safety evaluation of certain mycotoxins in food. International Programme on Chemical Safety World Health Organization , p. 445 – 476, Geneva, 2001.

FOROUD, NORA A.; EUDES, FRANÇOIS. Trichothecenes in cereal grains. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 10, n. 1, p. 147-173, 2009.

FOUNTAIN, J. C.; SCULLY, B. T.; CHEN, Z. Y.; GOLD, S. E.; GLENN, A. E.; ABBAS, H. K.; GUO, B. Effects of hydrogen peroxide on different toxigenic and atoxigenic isolates of *Aspergillus flavus*. **Toxins**, v. 7, n. 8, p. 2985-2999, 2015.

FREIRE, F. C. O.; ROCHA, M. E. B. Impact of mycotoxins on human health. **Fungal Metabolites**, v. 1, p. 1 – 23, 2016.

FURLONG, E. B.; SOARES, L. M. V.; LASCA, C. C.; KOHARA, E. Y. Mycotoxins and fungi in wheat harvested during 1990 in test plots in the state of Sao Paulo, Brazil. **Mycopathologia**, v. 131, n. 3, p. 185-190, 1995.

GARCÍA-CELA, E.; MARIN, S.; SANCHIS, V.; CRESPO-SEMPERE, A.; RAMOS, A. J. Effect of ultraviolet radiation A and B on growth and mycotoxin production by *Aspergillus carbonarius* and *Aspergillus parasiticus* in grape and pistachio media. **Fungal biology**, v. 119, n. 1, p. 67-78, 2015.

GARDA-BUFFON, J.; BADIALE-FURLONG, E. Kinetics of deoxynivalenol degradation by *Aspergillus oryzae* and *Rhizopus oryzae* in submerged fermentation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 4, p. 710 – 714, 2010.

GARDA, J.; MACEDO, R. M.; FARIA, R.; BERND, L.; DORS, G. C.; BADIALE-FURLONG, E. Alcoholic fermentation effects on malt spiked with trichothecenes. **Food Control**, v. 16, n. 5, p. 423 – 428, 2005.

GARG, N.; AGGARWAL, M.; JAVED, S.; KHANDAL, R. K. Studies for optimization of conditions for reducing Aflatoxin Contamination in Peanuts using Ultraviolet Radiations. **International Journal of Drug Development and Research**, v. 5, n. 3, p. 408-424, 2013.

GAUTÉRIO, G. V.; MALTA, D. S.; REGINATTO, L.; FELTRIN, A. C. P.; GARDA-BUFFON, J.; KALIL, S. J. Use of partially purified peroxidase of agricultural by-product rice bran in deoxynivalenol reduction. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, 2017.

GENG, P.; HARNLY, J. M.; CHEN, P. Differentiation of Whole Grain from Refined Wheat (*T. aestivum*) Flour Using Lipid Profile of Wheat Bran, Germ, and Endosperm with UHPLC-HRAM Mass Spectrometry. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 63, n. 27, p. 6189-6211, 2015.

GERMANI, R. **Características dos grãos e farinhas de trigo e avaliações de suas qualidades**. Embrapa Agroindústria de Alimentos e Faculdade Assis Gurgaz, p. 129, 2008.

GIESBRECHT, F. G.; GUMPERTZ, M. L. **Planning, construction, and statistical analysis of comparative experiments**. 2ª ed., Editora Wiley-Interscience, New Jersey, 2011.

GILFOYLE, D. J.; RODRIGUEZ-LOPEZ, J. N.; SMITH, A. T. Probing the Aromatic-Donor-Binding Site of Horseradish Peroxidase Using Site-Directed Mutagenesis and the Suicide Substrate Phenylhydrazine. **European journal of biochemistry**, v. 236, n. 2, p. 714-722, 1996.

GONZALEZ-THUILLIER, I.; SALT, L.; CHOPE, G.; PENSON, S.; SKEGGS, P.; TOSI, P.; POWERS, S. J.; WARD, J. L.; WILD, P.; SHEWRY, P. R.; HASLAM, R. P. Distribution of lipids in the grain of wheat (cv. Hereward) determined by lipidomic analysis of milling and pearling fractions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 49, p. 10705-10716, 2015.

GUARIENTI, E.M. **Qualidade Industrial de Trigo**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Centro Nacional de Pesquisa de Trigo, 2.ed., p. 36, Passo Fundo, 1996.

GUPTA, R. R.; BATEY, I. L.; MACRITCHIE, F. Relationships between protein composition and functional properties of wheat flours. **Cereal Chemistry**, v. 69, p. 125 – 131, 1992.

GUTKOSKI, L. C.; ANTUNES, E.; ROMAN, I. T. Avaliação do grau de extração de farinhas de trigo e de milho em moinho tipo colonial. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 17, n. 2, 1999.

GUTKOSKI, L. C.; NETO, R. J. Procedimento para Teste Laboratorial de Panificação - Pão tipo Forma. **Ciência Rural**, v. 32, n. 5, p. 873-879, 2002.

GUTKOSKI, L. C.; DURIGON, A.; MAZZUTTI, S.; SILVA, A. C. T.; ELIAS, M. C. Efeito do período de maturação de grãos nas propriedades físico-químicas e reológicas de trigo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 888 – 894, 2008.

GONZÁLEZ-OSNAYA, L.; CORTÉS, C.; SORIANO, J. M.; MOLTÓ, J. C.; MANES, J. Occurrence of deoxynivalenol and T-2 toxin in bread and pasta commercialised in Spain. **Food chemistry**, v. 124, n. 1, p. 156-161, 2011.

HASNIZA, N. M. Z.; WILKES, M. A.; UTHAYAKUMARAN, S.; COPELAND, L. Growth environment influences grain protein composition and dough functional properties in three Australian wheat cultivars. **Cereal Chemistry**, v. 91, n. 2, p. 169 – 175, 2014.

HAZEL, C. M.; PATEL, S. Influence of processing on trichothecene levels. **Toxicology Letters**, v. 153, n. 1, p. 51-59, 2004.

HEIDLER, D.; SCHATZMAYR, G. A new approach to managing mycotoxins. **World Poultry**, v. 19, n. 2, p. 12 – 15, 2003.

HOOK, S. C. W.; BONE, G. T.; FEARN, T. The conditioning of wheat. The effect of increasing wheat moisture content on the milling performance of UK wheats with reference to wheat texture. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 33, n. 7, p. 655-662, 1982.

HOSENEY, R. C. **Princípios de ciência y tecnologia de los cereales**. 1ª ed., Editora Acribia, p. 321, Zaragoza, 1991.

HUG-ITEN, S.; ESCHER, F.; CONDE-PETIT, B. Structural Properties of Starch in Bread and Bread Model Systems: Influence of an Antistaling α -Amylase. **Cereal Chemistry**. v. 4, n.78, p. 421–428, 2001.

HUMER, E.; LUCKE, A.; HARDER, H.; METZLER-ZEBELI, B. U.; BÖHM, J., ZEBELI, Q. Effects of Citric and Lactic Acid on the Reduction of Deoxynivalenol and Its Derivatives in Feeds. **Toxins**, v. 8, n. 10, p. 285, 2016.

HRUŠKOVÁ, M.; MACHOVÁ, D. Changes of wheat flour properties during short term storage. **Czech Journal Food Science**, v. 20, n. 4, p. 125-130, 2002.

HUSSEIN, S. H.; BRASELL, J. M. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. **Toxicology**, v.167, n. 2, p.101-134, 2001.

HUWIG, A.; FREIMUND, S.; KAPPELI, O.; DUTLER, H. Mycotoxin detoxification of animal feed by different adsorbents. **Toxicology Letters**, v. 122, p. 179-188, 2001.

IAMANAKA, B. T.; OLIVEIRA, I. S.; TANIWAKI, M. H. Micotoxinas em alimentos. In: **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, v. 7, p. 138 - 161, 2010.

INDRANI, D.; RAO, G. V. Rheological characteristics of wheat flour dough as influenced by ingredients of *Parotta*. **Journal of Food Engineering**, v. 17, n. 1, p. 110-105, 2007.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL - INMETRO. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**. DOQ-CGCRE-008, 2003.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER –IARC. **Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans**, v. 82, p. 171–300, 2002.

IQBAL, S. Z.; NISAR, S.; ASI, M. R.; JINAP, S. Natural incidence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in chicken meat and eggs. **Food Control**, v. 43, p. 98-103, 2014.

JACOBS, H.; DELCOUR, J. A. Hydrothermal modifications of granular starch, with retention of the granular structure: A review. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 46, n. 8, p. 2895-2905, 1998.

- JALILI, M.; JINAP, S.; NORANIZAN, A. Effect of gamma radiation on reduction of mycotoxins in black pepper. **Food Control**, v. 21, n. 10, p. 1388-1393, 2010.
- JARD G.; LIBOZ T.; MATHIEU F.; GUYONVARC“HA.; LEBRIHI A. Review of mycotoxin reduction in food and feed: from prevention in the fi eld to detoxification by adsorption or transformation. **Food Additives and Contaminants Part A**, v. 28, p. 1590-1609, 2011.
- JIN, J.; MA, H.; WANG, K.; YAGOUB, A. E. G. A.; OWUSU, J., QU, W. Effects of multi-frequency power ultrasound on the enzymolysis and structural characteristics of corn gluten meal. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 24, p. 55-64, 2015.
- KABAK, B.; DOBSON, A. D. W.; VAR,I. Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review. **Food Science and Nutrition**, v. 46, n. 8, p. 593 – 619, 2007.
- KARLOVSKY, P. Biological detoxification of fungal toxins and its use in plant breeding, feed, and food production. **Natural Toxins**, v. 7, p. 1 - 23, 1999.
- KEMPNER, E. S. Effects of high-energy electrons and gamma rays directly on protein molecules. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 90, n. 10, p. 1637-1646, 2001.
- KOBLITZ, M. G. B. **Matérias-primas alimentícias: Composição e controle de qualidade**, 1ª ed., p. 55-60. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2011.
- KOKKINIDOU, S.; FLOROS, J. D.; LABORDE, L. F. Kinetics of the thermal degradation of patulin in the presence of ascorbic acid. **Journal of food science**, v. 79, n. 1, p. 108-114, 2014.
- KOLAKOWSKA, A. Lipid oxidation in food systems. **Chemical and Functional properties of food lipids**, v. 1, n. 1, p. 133-166, 2003.
- KORNFELD, M.; SUVOROV, L. On the destructive action of cavitation. **Journal Applied Physics**, v. 15, p. 495 – 506, 1944.
- KRSKA, R.; BAUMGARTNER, S.; JOSEPHS, R. The state of the art in the analysis of type A and B trichothecene mycotoxins in cereals. **Fresenius Journal Analytical Chemistry**, v. 371, n. 3, p. 285 – 299, 2001.
- KRSKA, R.; SCHUBERT-ULLRICH, P.; JOSEPHS, R. D.; EMTEBORG, H.; BUTTINGER, G.; PETTERSON, H.; EGMOND, H. P. V.; SCHOTHORST, R. C.; MACDONALD, S.; CHAN, D. Determination of molar absorptivity coefficients or major type-B trichothecenes and certification of calibrators for deoxynivalenol and nivalenol. **Analitical Bionalitical Chemistry**, v. 388, p. 1215 - 1226, 2007.
- KWEON, M.; MARTIN, R.; SOUZA, E. Effect of tempering conditions on milling performance and flour functionality. **Cereal Chemistry**, v. 86, n. 1, p. 12 – 17, 2009.
- LANGSETH, W.; RUNDBERGET, T. Instrumental methods for determination of non macrocyclic trichothecenes in cereals, foodstuffs and cultures. **Journal of Chromatography A**, v. 815, n. 1, p. 103-121, 1998. .

LI, F.; YOSHIKAWA, T. Alternaria mycotoxins in weathered wheat from China. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 48, n. 7, p. 2920-2924, 2000.

LINDNER, W. **Decontamination and detoxification of cereals contaminated with mycotoxins**. Nº 5498431, 12 de março de 1996.

LIU, Y.; JIN, Q.; SHAN, L.; LIU, Y.; SHEN, W.; WANG, X. The effect of ultrasound on lipase-catalyzed hydrolysis of soy oil in solvent-free system. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.15, p. 402–407, 2008.

LIU, Y.; LU, Y.; WANG, L.; CHANG, F.; YANG, L. Occurrence of deoxynivalenol in wheat, Hebei Province, China. **Food chemistry**, v. 197, p. 1271-1274, 2016.

MACHADO, L. V.; MALLMANN, C. A.; MALLMANN, A. O.; COELHO, R. D.; COPETTI, M. V. Deoxynivalenol in wheat and wheat products from a harvest affected by fusarium head blight. **Food Science and Technology**, n. AHEAD, p. 0- 0, 2017.

MANDAL, T. K.; CHATTERJEE, S. N. Ultraviolet-and sunlight-induced lipid peroxidation in liposomal membrane. **Radiation research**, v. 83, n. 2, p. 290-302, 1980.

MANDARINO, J. M. G. **Aspectos importantes para a qualidade do trigo**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, Documento 60, p. 32, 1993.

MANZOCCO, L.; NICOLI, M. C. Surface processing: Existing and Potential Applications of Ultraviolet Light. **Food Science and Nutrition**, v. 55, n. 4, p. 13 – 16, 2015.

MARIN, S.; RAMOS, A. J.; CANO-SANCHO, G.; SANCHIS, V. Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment. **Food and Chemical Toxicology**, v. 60, p. 218-237, 2013.

MARTINS, J. N.; OLIVEIRA, E. N. A.; SANTOS, D. C. Estudo da absorção de água em misturas de farinhas de trigo de diferentes marcas comerciais. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimentos Sustentável**, v. 7, n. 4, p. 201-206, 2012.

MASON, T. J. Large scale sonochemical processing: aspiration and actuality. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 7, n. 4, p. 145-149, 2000.

MAZAHERI, M. **Effect of UV Radiation on Different Concentrations of Aflatoxin B1 in Pistachio**. In: I INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MYCOTOXINS IN NUTS AND DRIED FRUITS, p. 41-46, Iran, 2011.

MCKENZIE, K. S.; SARR, A. B.; MAYURA, K.; BAILEY, R. H.; MILLER, D. R.; ROGERS, T. D.; PHILLIPS, T. D. Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone. **Food and Chemical Toxicology**, v. 35, n. 8, p. 807-820, 1997.

MELLADO, M. Z. **El trigo en Chile**. Instituto de Investigaciones Agropecuarias - INIA, n. 121, p. 684, Chile, 2006.

MENDES, G. L. **Aplicação de estratos enzimáticos inibidores de alfa-amilase para o biocontrole de Fusarium verticillioides**. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande , Rio Grande, 2013.

MÉNDEZ-ALBORES, A.; CAMPOS-AGULAR, A. Z.; MORENO-MARTÍNEZ, E.; VÁZQUEZ-DURÁN, A. Physical and chemical degradation of B-aflatoxins during the roasting and dutching of cocoa liquor. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 15, n. 3, p. 557-567, 2013.

METCALFE, I. D.; SCHIMTZ, A. A.; PELKA, J. R. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. **Analytical Chemistry**, v. 38, p. 514 – 515, 1966.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO – MAPA. Instrução Normativa nº 38, de 30 de novembro de 2010. Regulamento técnico do trigo. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Seção 1, n. 29, p. 2, Brasília-DF, 2010.

MILANEZ, T. V.; VALENTE-SOARES, L. M.; BAPTISTA, G. G. Occurrence of trichothecene mycotoxins in Brazilian corn-based food products. **Food Control**, v. 17, n. 4, p. 293-298, 2006.

MILANEZ, T. V.; SOARES, L. M. V.; BAPTISTA, G. G. Avaliação interlaboratorial e otimização de método para a determinação de tricotecenos em milho por cromatografia a gás – espectrometria de massas. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, p. 15 – 23, 2004.

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.

MIRANDA, M. Z. ; DE MORI, C.; LORINI, I. **Qualidade Comercial do Trigo Brasileiro: Safra 2007**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA Trigo, p. 49. Passo Fundo, 2010.

MISHRA, S.; ANSARI, K. M.; DWIVEDI, P. D.; PANDEY, H. P.; DAS, M. Occurrence of deoxynivalenol in cereals and exposure risk assessment in Indian population. **Food Control**, v. 30, n. 2, p. 549-555, 2013.

MOAZAMI, E. F.; JINAP, S. Optimization of the determination of deoxynivalenol in wheat flour by HPLC and a comparison of four clean-up procedures. **Food Additives and Contaminants**, v. 26, n. 9, p. 1290-1297, 2009.

MÓDENES, A. N.; SILVA, A. M.; TRIGUEROS, D. E. G. Avaliação das propriedades reológicas do trigo armazenado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 508-512, 2009.

MOERCK, K. E.; MCELFFRESH, P. A. U. L.; WOHLMAN, A.; HILTON, B. W. Aflatoxin destruction in corn using sodium bisulfite, sodium hydroxide and aqueous ammonia. **Journal of Food Protection**, v. 43, n. 7, p. 571-574, 1980.

MONBALIU, S.; VAN POUCKE, K.; HEUNGENS, K.; VAN PETEGHEM, C.; DE SAEGER, S. Production and migration of mycotoxins in sweet pepper analyzed by multimycotoxin LC-MS/MS. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 19, p. 10475-10479, 2010.

MONTENEGRO, F. M.; ORMENESE, R. C. S. C. Avaliação da qualidade tecnológica da farinha de trigo. In: **Anais Cereal Chocotec ITAL**, p. 62, Campinas, 2008.

- MORENO, C.; ANDRADE-CUVI, M. J.; ZARO, M. J.; DARRE, M.; VICENTE, A. R.; CONCELLÓN, A. Short UV-C treatment prevents browning and extends the shelf-life of fresh-cut carambola. **Journal of Food Quality**, v. 2, p. 2017.
- MOUSIA, Z.; EDHERLY, S.; PANDIELLA, S. S.; WEBB, C. Effect of wheat pearling on flour quality. **Food Research International**, v. 37, n. 5, p. 449-459, 2004.
- MULET, A.; CARCEL, J. A.; SANJUAN, N.; BON, J. New food drying technologies-Use of ultrasound. **Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, v. 9, n. 3, p. 215-221, 2003.
- MULINARI, J.; VENTURIN, B.; SBARDELOTTO, M.; AGNOL, A. D.; SCAPINI, T.; CAMARGO, A. F.; REICHERT, F. W. Ultrasound-assisted hydrolysis of waste cooking oil catalyzed by homemade lipases. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 35, p. 313-318, 2017.
- MURATA, H.; MITSUMATSU, M.; SHIMADA, N. Reduction of feed contaminating mycotoxins by ultraviolet irradiation: an in vitro study. **Food Additives & Contaminants**, n. 9, p. 1107 – 1110, 2008.
- MOREAU, M., LESCURE, G., AGOULON, A., SVINAREFF, P., ORANGE, N., & FEUILLOLEY, M. Application of the pulsed light technology to mycotoxin degradation and inactivation. **Journal of Applied Toxicology**, v. 33, n. 5, p. 357-363, 2013.
- NORRED, W. P.; VOSS, K. A.; BACON, C. W.; RILEY, R. T. Effectiveness of ammonia treatment in detoxification of fumonisin-contaminated corn. **Food and chemical toxicology**, v. 29, n. 12, p. 815-819, 1991.
- OLSSON, J.; BÖRJESSON; LUNDSTEDT, T.; SCHNÜRER, J. Detection and quantification of ochratoxin A and deoxynivalenol in barley grains by GC-MS and electronic nose. **International Journal of Food Microbiology**, v. 72, n. 3, p. 203 - 214, 2002.
- ORTOLAN, F. **Genótipos de trigo do Paraná – safra 2004: caracterização e fatores relacionados à alteração da Cor da Farinha**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.
- OSBORNE, T.B. **The vegetable proteins**. 1ª ed, Editora Longmans, p. 125, London, 1924.
- ÖZBEK, B.; ULGEN, K. Ö. The stability of enzymes after sonication. **Process Biochemistry**, v. 35, n. 9, p. 1037-1043, 2000.
- ÖZCAN, M. M.; AL-JUHAIMI, F., GHAFOR, K., BABIKER, E. E., USLU, N. Effect of heating process on oil yield and fatty acid composition of wheat germ. **Quality Assurance and Safety of Crops & Foods**, v. 7, n. 4, p. 517-520, 2014.
- PACIN, A. M.; RESNIK, S. L.; NEIRA, M. S.; MOLTO, G.; MARTINEZ, E. Natural occurrence of deoxynivalenol in wheat, wheat flour and bakery products in Argentina. **Food Additives & Contaminants**, v. 14, n. 4, p. 327-331, 1997.
- PACIN, A.; BOVIER, E. C.; CANO, G.; TAGLIERI, D.; PEZZANI, C. H. Effect of the bread making process on wheat flour contaminated by deoxynivalenol and exposure estimate. **Food Control**, v. 21, n. 4, p. 492-495, 2010.

- PAGNUSSATT, F. A.; GARDA-BUFFON, J.; GUTKOSKI, L. C.; BADIALE-FURLONG, E. Propriedade das frações proteicas de cultivares de arroz, aveia e trigo. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 70, n. 2, p. 185-192, 2011.
- PAGNUSSATT, F. A.; KUPSKI, L.; DARLEY, F. T.; FILODA, P. F.; PONTE, É. M. D.; GARDA-BUFFON, J.; BADIALE-FURLONG, E. Fusarium graminearum growth inhibition mechanism using phenolic compounds from Spirulina sp. **Food Science and Technology**, v. 33, p. 75-80, 2013.
- PANDYA, J. P.; ARADE, P. C. Mycotoxin: A Devil of Human, Animal and Crop Health. **Advances in Life Sciences**, v. 5, n. 10, p. 3937-3941, 2016.
- PANOZZO, A.; MANZOCCO L.; LIPPE, G.; NICOLI, M. C. Effect of pulsed light on structure and immunoreactivity of gluten. **Food chemistry**, v. 194, p. 366-372, 2016.
- PARK, D.L. Perspectives on mycotoxin decontamination procedures. **Food Additives and Contaminants**, v. 10, n. 1, p. 49-60, 1993.
- PAREYT, B.; FINNIE, S. M.; PUTSEYS, J. A.; DELCOUR, J. A. Lipids in bread making: sources, interactions, and impact on bread quality. **Journal of Cereal Science**, v. 54, p. 266–279, 2011.
- PASCALE, M; HAIDUKOWSKI, M.; VISCONTI A. Determination of T-2 toxin in cereal grains by liquid chromatography with fluorescence detection after immunoaffinity column clean-up and derivatization with 1-anthroylnitrile. **Journal of Chromatography A**, v. 989, p. 257-264, 2003.
- PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. **Hospedeiro: mecanismos de resistência**. In : BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. MANUAL DE FITOPATOLOGIA: PRINCÍPIOS E CONCEITOS, 3ª ed. São Paulo: Ceres, v.1, p. 417-53, 1995.
- PATERO, T.; AUGUSTO, P. E. D. Ultrasound (US) enhances the hydration of sorghum (*Sorghum bicolor*) grains. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 23, p. 11–15, 2015.
- PAULICK, M., REMPE, I., KERSTEN, S., SCHATZMAYR, D., SCHWARTZ-ZIMMERMANN, H. E., DÄNICKE, S. Effects of increasing concentrations of sodium sulfite on deoxynivalenol and deoxynivalenol sulfonate concentrations of maize kernels and maize meal preserved at various moisture content. **Toxins**, v. 7, n. 3, p. 791-811, 2015.
- PENG, C.; DING, Y.; AN, F.; WANG, L.; SHUYING, L.; YING.; LINYAN, Z.; YARU, L.; CHANGGANG, W.; SHURONG, L. Degradation of ochratoxin A in aqueous solutions by electron beam irradiation. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 306, n. 1, p. 39 – 46, 2015.
- PESTKA, J. J. Mechanisms of deoxynivalenol-induced gene expression and apoptosis. **Food Additives and Contaminants**, v. 25, n. 9, p. 1128 – 1140, 2007.
- PYLER, E. J. **Baking: science & tecnologia**. 3ª ed, v. 2, n. 28, p. 38-42. Kansas, Editora Sosland Publishing Company, 1988.
- PIYASENA, P. Inactivation of microbes using ultrasound: a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 87, p. 207-216, 2003.

PIZZINATTO, A.; MAGNO, C. P. R. S.; CAMPAGNOLLI, D. M. F. **Avaliação e controle de qualidade da farinha de trigo**. Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL, Centro de Pesquisa e Tecnologia de Cereais - CEPEC, p. 67, 1996.

PLEADIN, J.; VAHČIĆ, N.; PERŠI, N.; ŠEVELJ, D.; MARKOV, K.; FRECE, J. Fusarium mycotoxins' occurrence in cereals harvested from Croatian fields. **Food Control**, v. 32, n. 1, p. 49-54, 2013.

POMERANZ, Y. **Wheat: Chemistry and Technology**. American Association of Cereal Chemists - AACC, 3^a ed., p. 407-456, 1988. Saint Paul: 1998.

POSNER, E. S.; HIBBS, A. N. **Experimental and laboratory milling: Wheat Flour Milling**. American Association of Cereal Chemists - AACC, p. 31-62, 1997.

POTTER, N. N.; HOTCHKISS, J. H. **Ciencia de los alimentos**. 5^a ed., Editora Acribia, p. 426, capítulo 17, Zaragoza, 2007.

PRONYK, C.; CENKOWSKI, S.; ABRAMSON, D. Superheated steam reduction of deoxynivalenol in naturally contaminated wheat kernels. **Food Control**, v. 17, n. 10, p. 789 – 796, 2006.

QUAGLIA, G. **Ciencia y tecnología de La panificación**. 5^a ed, Editora Acribia, p. 485, Zaragoza, 1991.

RAGGIRI, V.; BARRON, C.; ABECASSIS, J.; LULLIEN-PELLERIN, V. In-Depth Study of Durum Wheat Grain Tissue Distribution at Milling. **Cereal Chemistry**, v. 93, n. 3, p. 219-225, 2016.

RANI, K. U.; RAO, U. P.; LEELAVATHI, K.; RAO, P. H. Distribution of enzymes in wheat flour mill streams. **Journal of Cereal Science**, v. 34, n. 3, p. 233-242, 2001.

RASPER, V.F. Quality evaluation of cereal and cereal products. In: LORENZ, K.J, KULP, K. (ed.) - **Handbook of cereal science and technology**, p. 595-638, 1991.

RASTEGAR, H.; SHOEIBI, S.; YAZDANPANA, H.; AMIRAHMADI, M.; KHANEGHAH, A. M.; CAMPAGNOLLO, F. B.; SANT'ANA, A. S. Removal of aflatoxin B₁ by roasting with lemon juice and/or citric acid in contaminated pistachio nuts. **Food Control**, v. 71, p. 279-284, 2017.

RASTOGI, N. Opportunities and challenges in application of ultrasound in food processing. **Food Science and Nutrition**, v. 51, n. 8, p. 705 - 722, 2011.

RAZZAZI-FAZELI, E.; RABUS, B.; CECON, B.; BÖHM, J. Simultaneous quantification of A-trichothecene mycotoxins in grains using liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 968, n. 1, p. 129-142, 2002.

RAYAS-DUARTE, P.; RUPNOW, J. H. Gamma-irradiation affects some physical properties of dry bean (*Phaseolus vulgaris*) starch. **Journal Food Science**, v. 58, n. 2, p. 389-394, 1993.

- RIBEIRO, M. N. **Influência do tempo de condicionamento do trigo na qualidade tecnológica da farinha**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.
- ROCHA, O.; ANSARI, K.; DOOHAN, F. M. Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: a review. **Food additives and contaminants**, v. 22, n. 4, p. 369-378, 2005.
- ROCHA, M. E. B.; FREIRE, F. D. C. O.; MAIA, F. E. F.; GUEDES, M. I. F.; RONDINA, D. Mycotoxins and their effects on human and animal health. **Food Control**, v. 36, n. 1, p. 159-165, 2014.
- RODRÍGUEZ-CARRASCO, Y.; C. M.; JUAN; J. C.; BERRADA.; FONT PÉREZ, G. Determination of deoxynivalenol in wheat-based snacks by gas chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry. **Revista de Toxicología**, v. 30, n. 2, p. 198-202, 2013.
- RUTZ, D. **Efeitos da temperatura e do tempo de armazenamento do trigo sobre os parâmetros de avaliação da qualidade dos grãos de farinha**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.
- SALES, A. M.; VITTI, P. Estudo preliminar sobre propriedades tecnológicas de panificação da farinha mista de trigo e amaranto. **Coletânea Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 1, p. 49-53, 1987.
- SALISBURY, F.B.; ROSS, C. W. **Plant physiology**. 4^a ed., Editora Wadsworth Publishing Company Belmont, p. 540, California, 1992.
- SAMAR, M. M. Deoxynivalenol reduction during the frying process of turnover pie covers. **Food Control**, v. 18, p. 1295 – 1299, 2007.
- SAMARAJEEWA, U.; SEN, A. C., COHEN, M. D.; WEI, C. I. Detoxification of aflatoxins in foods and feeds by physical and chemical methods. **Journal of Food Protection**, v. 53, n. 6, p. 489 - 501, 1990.
- SANTOS, I. J.; SANTOS, Y. L.; OLIVEIRA, M. G. A.; SILVA, P.H.A. Expressão da alfa e beta amilase durante a germinação de cevada. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 12, n. 1, p. 67-73, 2010.
- SANTOS, J. S.; OLIVEIRA, T. M.; MARTINS, L. M. HASHIMOTO, E. H.; BASSOI, M. C.; PIRES, J. L. F.; MIRANDA, M. Z.; GARCIA, S.; ITANO, E. N.; ONO, E. Y. S.; KAWAMURA, O.; HIROOKA, E. Y. Monitoramento e nível de ingestão de desoxinivalenol por trigo. **Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1439 – 1450, 2011.
- SANTOS, J. S.; SOUZA, T. M.; ONO, E. Y. S.; HASHIMOTO, E. H.; BASSOI, M. C.; DE MIRANDA, M. Z.; HIROOKA, E. Y. Natural occurrence of deoxynivalenol in wheat from Paraná State, Brazil and estimated daily intake by wheat products. **Food chemistry**, v. 138, n. 1, p. 90-95, 2013.
- SAVI, G. D.; PIACENTINI, K. C.; TIBOLA, C. S.; SCUSSEL, V. M. Mycoflora and deoxynivalenol in whole wheat grains (*Triticum aestivum* L.) from Southern Brazil. **Food Additives & Contaminants: Part B**, v. 7, n. 3, p. 232-237, 2014.

SCHOLLENBERGER, M.; JARA, H. T.; SUCHY, S.; DROCHNER, W.; MÜLLER, H. M. Fusarium toxins in wheat flour collected in an area in southwest Germany. **International Journal of Food Microbiology**, v. 72, n. 1, p. 85-89, 2002.

SEUS, E. R. **Otimização de método para a determinação de tricotecenos em amostras de trigo**. Dissertação (Mestrado em Química Tecnológica e Ambiental) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2014.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos: Propriedades, coesadações, modificações**. 1ª ed., Editora e Livraria Varela, p. 517, São Paulo, 1996.

SHEWRY, P. R.; HALFORD, N. G.; TATHAM, A. S.; POPINEAU, Y.; LAFIANDRA, D.; BELTON, P. S. The high molecular weight subunits of wheat glutenin and their role in determining wheat processing properties. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 45, p. 219-302, 2003.

SHI, J.; JI, F.; XU, J.; LIU, X.; YIN, X. Natural occurrence of deoxynivalenol and zearalenone in wheat from Jiangsu province, China. **Food Chemistry**, v. 157, p. 393 – 397, 2014.

SIEGEL, D.; MERKEL, S.; BREMSER, W.; KOCH, M.; NEHLS, I. Degradation kinetics of the Alternaria mycotoxin tenuazonic acid in aqueous solutions. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 397, n. 2, p. 453-462, 2010.

SILVEIRA, C. M. D., OLIVEIRA, M. D. S., FURLONG, E. B. Conteúdo lipídico e perfil em ácidos graxos de farelos submetidos à fermentação por *Aspergillus oryzae* em estado Sólido. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos (B. CEPPA)**, v. 28, n. 1, p. 133-140, 2010.

SKRBIC, B.; ZIVANCEV, J.; DURISIC-MLADENOVIC, N.; GODULA, M. Principal mycotoxins in wheat flour from the Serbian market: Levels and assessment of the exposure by wheat-based products. **Food Control**, v. 25, n. 1, p. 389 – 396, 2012.

SNIJDERS, C. H. A. Resistance in wheat to Fusarium infection and trichothecene formation. **Toxicology Letters**, v. 153, n. 1, p. 37-46, 2004.

SOARES, L. V. **Curso básico de instrumentação para analistas de alimentos e fármacos**. 1ª ed., Editora Manole, Barueri, 2006.

SOUZA, T. D.; CALDAS, S. S.; PRIMEL, E. G.; FURLONG, E. B. Exposure to deoxynivalenol, Ht-2 and T-2 toxins by consumption of wheat-based product in southern Brazil. **Food Control**, v. 50, p. 789-793, 2015.

STANGARLIN, J.R.; PASCHOLATI, S.F. Proteção de plântulas de milho pipoca contra *Exserohilum turcicum* pelo uso de *Saccharomyces cerevisiae*. **Summa Phytopatologica**, v. 20, p. 16-21, 1994

STUPER-SZABLEWSKA, K.; BUSKO, M.; GORAL, T.; PERKOWSKI, J. The fatty acid profile in different wheat cultivars depending on the level of contamination with microscopic fungi. **Food chemistry**, v. 153, p. 216-223, 2014.

SUSLICK, K. S. The chemical effects of Ultrasound. **Scientific American**, v. 260, n.2, p. 80 – 86, 1989.

TABATA, S.; KAMIMURA, H.; IBE, A.; HASHIMOTO, H.; TAMURA, Y. Degradation of aflatoxins by food additives. **Journal Food Protection**, v. 57, p. 42 – 47, 1994.

TAO, Y.; SUN, D. Enhancement of food processes by ultrasound: a review. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 55, n. 4, p. 570 – 594, 2013.

TIBOLA, C. S.; LORINI, I.; MIRANDA, M. **Boas práticas e sistema APPCC na pós-colheita de trigo**. Embrapa Trigo, 2009. Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do105.pdf . Acesso em: 17 de agosto de 2015, 13:46:29.

TIBOLA, C. S.; FERNANDES, J. M. C.; GUARIENTI, E. M.; NICOLAU, M. Distribution of Fusarium mycotoxins in wheat milling process. **Food Control**, v. 53, p. 91-95, 2015.

TIBOLA, C. S.; FERNANDES, J. M. C.; GUARIENTI, E. M. Effect of cleaning, sorting and milling processes in wheat mycotoxin content. **Food Control**, v. 60, p. 174-179, 2016.

TRALAMAZZA, S. M.; BEMVENUTI, R. H.; ZORZETE, P.; DE SOUZA GARCIA, F. CORRÊA, B. Fungal diversity and natural occurrence of deoxynivalenol and zearalenone in freshly harvested wheat grains from Brazil. **Food chemistry**, v. 196, p. 445-450, 2016.

TRENHOLM, H. L.; PRELUSKY, D. B.; YOUNG, J. C.; MILLER, J. D. A practical guide to the prevention of Fusarium mycotoxins in grain and animal feedstuffs. **Archives of Environmental Contamination Toxicology**, v. 18, n. 3, p. 443–451, 1989.

TRENHOLM, H. L.; CHARMLEY, L. L.; PRELUSKY, D. B.; WARNER, R. M. Two physical methods for the decontamination of four cereals contaminated with deoxynivalenol and zearalenone. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 39, n. 6, p. 356 – 360, 1991.

TRIGO-STOCKLI, D. M. Effect of processing on Deoxynivalenol and other Trichothecenes. **Mycotoxins and Food Safety**, v. 504, p. 181 – 188, 2002.

TRIPATHI, S.; MISHRA, H.. Effect of feeding enzymatically detoxified aflatoxin-B1 diet on liver function test of wistar rats. **Nutrition & Food Science**, v. 39, n. 3, p. 235-242, 2009.

TROMBETE, F. M.; PORTO, Y. D.; FREITAS-SILVA, O.; PEREIRA, R. V.; DIREITO, G. M.; SALDANHA, T.; FRAGA, M. E. Efficacy of Ozone Treatment on Mycotoxins and Fungal Reduction in Artificially Contaminated Soft Wheat Grains. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 7, n. 4, p. 134-140, 2016.

TURNER, N. W.; SUBRAHMANYAM, S.; PILETSKY, S. A. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 632, n. 2, p. 168 - 180, 2009.

UENO, Y. Toxicological features of T-2 toxin and related trichothecenes. **Fundamental and Applied Toxicology**, v. 4, n. 2, p. 124-132, 1985.

UENO, Y. Trichothecens: chemical, biological and toxicological aspects. **Elsevier**, p. 313, 1983.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. **Wheat: World markets and trade**, 2017. Disponível em: <[http:// https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/grain-wheat.pdf](http://https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/grain-wheat.pdf)>. Acesso em: 29 de janeiro de 2017, 13:37:33.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. **World and U.S. wheat production, exports and ending stocks**, 2015. Disponível em: <<http://www.ers.usda.gov>>. Acesso em: 03 de outubro de 2015, 13:37:33.

URBAIN, W. M. Biological effects of ionizing radiation. In: **FOOD IRRADIATION**. Orlando: **Academic Press**, p. 52 – 55, 1986.

VALENTA, H. Chromatographic methods for the determination of ochratoxin A in animal and human tissues and fluids. **Journal of Chromatography**, v. 815, p. 75 - 92, 1998.

VAN EGMOND, H. P.; JONKER, M. A. Worldwide regulation on aflatoxins. **Journal of Toxicology – Toxin Reviews**, v. 23, n. 2, p. 273 – 293, 2004.

VARGA, J.; KOCSUBÉ, S.; ZSANETT, P.; VÁGVÖLGYI, C.; TÓTH, B. Chemical, Physical and Biological approaches to prevent ochratoxin induced toxicoses in humans and animals. **Toxins**, v. 2, n. 7, p. 1718 – 1750, 2010.

VARGA, J.; PÉTERI, Z.; TÁBORI, K.; TÉREN, J.; VAGVOLGYI, C. Degradation of ochratoxin A and other mycotoxins by *Rhizopus* isolates. **International Journal of Food Microbiology**, v. 99, n. 3, p. 321 – 328, 2005.

VASANTHI, S.; BHAT, R. V. Mycotoxins in foods-occurrence, health & economic significance & food control measures. **Indian Journal of Medical Research**, v. 108, p. 212–224, 1998.

VERAVERBEKE, W. S.; DELCOUR, J. A. Wheat protein composition and properties of wheat glutenin in relation to bread-making functionality. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 42, p. 179–208, 2002.

VIDAL, A.; MARÍN, S.; RAMOS, A. J.; CANO-SANCHO, G.; SANCHIS, V. Determination of aflatoxins, deoxynivalenol, ochratoxin A and zearalenone in wheat and oat based bran supplements sold in the Spanish market. **Food and Chemical Toxicology**, v. 53, p. 133 – 138, 2013.

VIDAL, A.; SANCHIS, V.; RAMOS, A. J.; MARÍN, S. Thermal stability and kinetics of degradation of deoxynivalenol, deoxynivalenol conjugates and ochratoxin A during baking of wheat bakery products. **Food chemistry**, v. 178, p. 276-286, 2015.

VISCONTI, A.; PASCALE, M. An overview of *Fusarium* mycotoxins in the durum wheat pasta production chain. **Cereal Chemistry**, v. 87, n. 1, p. 21 – 27, 2010.

WAGACHA, J. M.; MUTHOMI, J. W. Mycotoxin problem in Africa: Current status, implications to food safety and health and possible management strategies. **International Journal of Food Microbiology**, v. 124, n.1, p.1 - 12, 2008.

WANG, J.; SUN, B.; CAO, Y.; TIAN, Y.; LI, X. Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. **Food Chemistry**, v.106, p. 804–810, 2008.

WANNEMACHER, R. W.; WINER, S. L. Trichothecene Mycotoxins. In: **MEDICAL ASPECTS OF CHEMICAL AND BIOLOGICAL WARFARE. Office of the Surgeon General at TMM Publications: Washington, DC, USA**, p. 655 – 676, 1977.

WARECHOWSKA, M.; MARKOWSKA, A.; WARECHOWSKI, J., MIŚ, A.; NAWROCKA, A. Effect of tempering moisture of wheat on grinding energy, middlings and flour size distribution, and gluten and dough mixing properties. **Journal of Cereal Science**, v. 69, p. 306-312, 2016.

WEI, C. M.; CAMPBELL, I. M.; McLAUGHLIN, C. S.; VAUGHN, M. H. Binding of trichodermin to mammalian ribosomes and its inhibition by other 12-13 epoxytrichothecens. **Molecular Cell Biochemistry**, v. 3, n. 3, p. 215-219, 1974.

WESENDONCK, W. R.; KESSLER, A. D. M.; RIBEIRO, A. M. L.; SOMENSI, M. L.; BOCKOR, L.; DADALT, J. C.; MARX, F. R. Nutritional value and metabolizable energy of wheat by-products used for feeding growing pigs. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 2, p. 203-210, 2013.

WILSON, S. C.; BRASEL, T. L.; MARTIN, M.; WU, C.; ANDRIYCHUK, L.; DOUGLAS, D. R.; COBOS, L.; STRAUS, D. C. Efficacy of chlorine dioxide as a gas and in solution in the inactivation of two trichothecenes mycotoxins. **International Journal of Toxicology**, v. 3, n. 24, p. 181 – 186, 2005.

XING, F.; HUA, H.; SELVARAJ, J. N.; YUAN, Y.; ZHAO, Y.; ZHOU, L.; LIU, Y. Degradation of fumonisin B 1 by cinnamon essential oil. **Food Control**, v. 38, p. 37-40, 2014.

XU, Y.; HUANG, Z. B.; HE, H.; DENG, S. Z.; LI, L. S.; LI, Y. P. Development of an immunochromatographic strip test for the rapid detection of deoxynivalenol in wheat and maize. **Food Chemistry**, v. 119, n. 2, p. 834 - 839, 2010.

XU, J. J.; ZHOU, J.; HUANG, B. F.; CAI, Z. X.; XU, X. M.; REN, Y. P. Simultaneous and rapid determination of deoxynivalenol and its acetylate derivatives in wheat flour and rice by ultra high performance liquid chromatography with photo diode array detection. **Journal of separation science**, v. 39, n. 11, p. 2028-2035, 2016.

YILDIRIM, A.; ÖNER, M. D.; BAYRAM, M.. Modeling of water absorption of ultrasound applied chickpeas (*Cicer arietinum* L.) using Peleg's equation. **Journal of Agricultural Sciences**, v. 16, n. 4, p. 278-286, 2010.

YOUNG, J. C.; TRENHOLM, H. L.; FRIEND, D. W.; PRELUSKY, D. B. Detoxification of deoxynivalenol with sodium bisulfite and evaluation of the effects when pure mycotoxin or contaminated corn was treated and given to pigs. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 35, n. 2, p. 259 – 261, 1987.

YOUNG, J. C.; ZHU, H.; ZHOU, T. Degradation of trichothecene mycotoxins by aqueous ozone. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, n. 3, p. 417 – 424, 2006.

YOUNG, J. C.; ZHOU, T.; YU, H.; ZHU, H.; GONG, J. Degradation of trichothecene mycotoxins by chicken intestinal microbes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, n. 1, p. 136 – 143, 2007.

YU, Z. L.; ZENG, W. C.; ZHANG, W. H.; LIAO, X. P.; SHI, B. Effect of ultrasound on the activity and conformation of α -amylase, papain and pepsin. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 21, n. 3, p. 930-936, 2014.

YUMBE-GUEVARA, B. E.; IMOTO, T.; YOSHIZAWA, T. Effects of heating procedures on deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone levels in naturally contaminated barley and wheat. **Food additives and contaminants**, v. 20, n. 12, p. 1132-1140, 2003.

ZHANG, H.; SUN, J.; ZHANG, Y.; LU, M.; SUN, L.; LI, W.; WANG, B. Retention of deoxynivalenol and its derivatives during storage of wheat grain and flour. **Food Control**, v. 65, p. 177-181, 2016.

ZHENG, Y.; HOSSEN, S. M.; SAGO, Y.; YOSHIDA, M.; NAKAGAWA, H.; NAGASHIMA, H.; KUSHIRO, M. Effect of milling on the content of deoxynivalenol, nivalenol, and zearalenone in Japanese wheat. **Food control**, v. 40, p. 193-197, 2014.