

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – UNIOESTE
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS – CAMPUS CASCAVEL
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA

OZONIZAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO DURANTE A SECAGEM

BRUNA ZANARDI

CASCAVEL – PR

2017

BRUNA ZANARDI

OZONIZAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO DURANTE A SECAGEM

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola em cumprimento aos requisitos para obtenção de Mestre em Engenharia Agrícola, área de concentração Engenharia de Sistemas Biológicos e Agroindustriais.

Orientador: Dr. Divair Christ

Cascavel – Paraná – Brasil

2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

Z31o

Zanardi, Bruna
Ozonização de sementes de milho durante a secagem. / Bruna Zanardi. --
Cascavel, 2017.
61 f.

Orientador: Prof. Dr. Divair Christ

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
Campus de Cascavel, 2017
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola

1. Milho - Cultura. 2. Milho – Sementes. I. Christ, Divair. II. Universidade
Estadual do Oeste do Paraná. III. Título.

CDD 20.ed. 633.15
CIP-NBR 12899

Ficha catalográfica elaborada por Helena Soterio Beijo – CRB 9ª/965

Revisor: Dhandara Capitani
Revisão de Português: 25/07/2017
Revisão de Inglês: 25/07/2017
Revisão de Normas PGEAGRI: 25/07/2017

BRUNA ZANARDI

Ozonização de Sementes de Milho Durante a Secagem

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestra em Engenharia Agrícola, área de concentração Sistemas Biológicos e Agroindustriais, linha de pesquisa Tecnologias de Produção Vegetal e Pós-colheita. APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:



Orientador(a) - Divair Christ

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)



Clair Aparecida Viecelli

Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR)



Sílvia Renata Machado Coelho

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)

Cascavel, 26 de junho de 2017

BIOGRAFIA

BRUNA ZANARDI

Nascida em 20 de novembro de 1990, na cidade de Corbélia no estado do Paraná, filha de Ary José Zanardi e Izabel Lozovey Zanardi. Concluiu sua graduação em Biomedicina no ano de 2011 na Universidade Paranaense *campus* Cascavel, em 2014 encerrou sua especialização em Biotecnologia Agroindustrial pela Universidade Estadual de Maringá. Ingressou no Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Engenharia Agrícola – PGEAGRI – Nível de Mestrado no ano de 2015.

AGRADECIMENTOS

À Deus, é nele que encontro toda minha fé, foco e determinação. É com ele que busco forças quando não acredito mais em mim, é ele minha inesgotável fonte de luz, o combustível dos meus sonhos.

Aos meus pais, por todo apoio, cuidados e incentivos dados durante toda a minha trajetória de estudos.

Ao meu orientador Dr. Divair Christ, por toda atenção, dedicação e paciência dedicadas a mim durante esses dois anos. Tenho orgulho em dizer que fui orientada por um dos melhores professores do Programa de Pós Graduação da Engenharia Agrícola.

Aos professores da Banca Examinadora, pelas oportunas contribuições.

Aos amigos que fiz durante os dois anos de curso, principalmente as meninas: Camila, Karine, Kettlin e Regiane. Amigas e momentos que sempre levarei na memória e dentro do coração. Muito obrigada pela força, pelas conquistas, pelos sorrisos e abraços, e claro pelas inúmeras companhias; vocês tornavam os dias mais tranquilos e agradáveis.

Ao meu colega de linha de pesquisa Joemar, pela companhia e pelo empenho na execução das atividades. Batalhou dia após dia ao meu lado, lutando e vencendo juntos barreiras muitas vezes bastante complicadas.

Aos colegas do doutorado Ivan e do mestrado Suian, pela ajuda com o gerador e por todas as sugestões dadas para que esse trabalho fosse realizado da melhor maneira possível.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola UNIOESTE, pela oportunidade.

Ao CNPq pelo apoio financeiro que possibilitou a realização desse trabalho.

A todos, próximos ou distantes que, de alguma forma contribuíram para que esses momentos fossem possíveis de se realizar.

OZONIZAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO DURANTE A SECAGEM

RESUMO

O milho (*Zea mays*) por ser uma cultura rica em amido tem mais propensão a desenvolver fungos durante o armazenamento do que outras culturas. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a utilização do gás ozônio durante a secagem como agente sanitizante em grãos de milho, determinando a melhor combinação entre temperatura e tempo de aplicação de O₃ durante a realização da secagem, na contagem de colônias fúngicas, o efeito sobre as qualidades físicas dos grãos e determinar e modelar as curvas de secagem para sementes de milho utilizando gás ozônio. Foram utilizadas sementes de milho da cultivar Agroeste AS1661 PRO com teor de água em 19,21 (b.u). O processo de secagem foi realizado em secador experimental sob temperaturas controladas de 30, 40 e 50 °C e tempo de ozonização de 5, 10 e 15 minutos, até que atingissem 11± (b.u). O modelo matemático de aproximação da difusão foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais da cultivar. Após o processo de secagem, as sementes continuaram a apresentar elevada germinação, condutividade elétrica e tetrazólio sem alterações. Em relação à descontaminação fúngica, observa-se que em comparação ao controle de campo houve elevado percentual de descontaminação. Após 45 dias de armazenagem, as sementes mantiveram a qualidade fisiológica obtida após a secagem com ozônio. Sobre a descontaminação fúngica, nota-se aumento da quantidade de colônias fúngicas nos tratamentos em que houve combinação de 50 °C e 5 ou 15 minutos de ozônio, o que deve-se ao fato do gás ser menos estável a altas temperaturas.

Palavras- chave: Ozonização de sementes; delineamento composto; contaminação fúngica

DECONTAMINATION OF CORN SEEDS USING OZONE GAS DURING DRYING

ABSTRACT

Corn (*Zea mays*) for being a culture rich in starch has more propensity to develop fungi during storage than other cultures. In this context, the aim of this work was to evaluate the use of ozone gas during drying as a sanitizing agent in corn, determining the best combination of temperature and time of application of O₃ during drying, on the count of fungal colonies, the effect on the physical qualities of the grain, and to determine and shape the drying curves of corn seeds using ozone gas. The corn seeds used were the cultivar Agroeste AS1661 PRO with water content of 19.21 (b. u). The drying process was carried out in experimental dryer under controlled temperatures of 30, 40 and 50 °C and ozonation times of 5, 10, and 15 minutes, until they reached 11 ± (b. u). The Mathematical Modeling of Diffusion was the approach that best adjusted to experimental data of this cultivar. After the drying process, the seeds continued to present high germination rate, electric conductivity and tetrazolium without changes. Regarding fungal decontamination, it was observed that in comparison to the field control there was a high percentage of decontamination. After 45 days of storage, seeds maintained their physiological quality obtained after drying with ozone. About fungal decontamination, there was an increase in the amount of fungal colonies in treatments in which there was a combination of 50 °C and 5 or 15 minutes of ozone, due to the fact that this gas is less stable at high temperatures.

Keywords: Ozonation of seeds; composite design; fungal contamination.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo geral.....	12
2.2 Objetivos específicos.....	12
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3.1 A cultura do milho	13
3.2 Secagem do milho para obtenção de sementes de qualidade	13
3.3 Fungos e seus subprodutos.....	15
3.4 Ozônio: Características e aplicações industriais	16
3.5 Ações fungicidas do gás ozônio.....	18
3.6 Aplicação de ozônio como agente sanitizante e seus efeitos na pós-colheita da cultura do milho.....	19
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.1 Produção de gás ozônio	22
4.2 Secagem com utilização do gás ozônio	22
4.8 Modelagem matemática das curvas de secagens.....	24
4.4 Teor de Água.....	28
4.5 Germinação das sementes	28
4.6 Teste de tetrazólio	28
4.7 Teste de Condutividade Elétrica	29
4.8 Análise estatística.....	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
5.1 Caracterização inicial das sementes de milho.....	30
5.1.2 Curvas de secagem de milho com adição de O ₃	30
5.1.3 Efeitos da secagem com O ₃ na descontaminação microbiológica.....	37
5.1.4 Teor de umidade.....	43
5.1.5 Efeitos da secagem com gás ozônio na germinação das sementes de milho	45

5.1.6 Germinação avaliada pelo do teste de tetrazólio.....	48
5.1.7 Teste de condutividade elétrica nas sementes.....	49
6 CONCLUSÕES	52
REFERÊNCIAS.....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Condições de temperatura e umidade para crescimento de fungos em grãos	15
Tabela 2 Agentes oxidantes e poder de oxidação	18
Tabela 3 Referencial teórico sobre aplicação de gás ozônio como agente sanitizante em produtos e grãos de milho	21
Tabela 4 Delineamento experimental para dois fatores e dois níveis, seus valores reais e codificados.....	23
Tabela 5 Modelos de regressão não-linear utilizados para prever o fenômeno de secagem em leito fixo de sementes de milho	25
Tabela 6 Caracterização das condições iniciais das sementes de milho da cultivar Agroeste – AS1661 PRO	30
Tabela 7 Parâmetros estatísticos dos valores médios obtidos para os oito modelos de secagem (Equações 3 a 10), para as diferentes condições de secagem	30
Tabela 8 Coeficientes do modelo de aproximação de difusão obtido nos diferentes tratamentos de secagem de sementes de milho	31
Tabela 9 Efeitos estimados da constante a do modelo aproximação da Difusão para prever o processo de secagem.....	33
Tabela 10 Análise de variância para a constante a da equação do Modelo de aproximação da difusão	33
Tabela 11 Efeitos estimados do coeficiente k do modelo de Aproximação da difusão para prever o processo de secagem	35
Tabela 12 Análise de variância para a constante k da equação do Modelo de aproximação da difusão.....	35
Tabela 13 Efeitos estimados da constante b do modelo de Aproximação da difusão para prever o processo de secagem	36
Tabela 14 Análise de variância para a constante b da equação do Modelo de aproximação da difusão.....	36
Tabela 15 Contagem de colônias fungicas ($uf\ g^{-1}$) após secagem (AS) e após 45 dias de armazenamento (AA) e redução em relação ao controle	38
Tabela 16 Efeitos estimados da análise de contaminação fúngica (AS)	38
Tabela 17 Efeitos estimados da análise de contaminação fúngica após 45 dias de armazenamento (AA).....	39
Tabela 18 Análise de variância para a variável contaminação fúngica após 45 dias de armazenamento (AA).....	39
Tabela 19 Efeitos estimados da análise de descontaminação fúngica (AS)	40

Tabela 20 Efeitos estimados da análise de descontaminação fúngica após 45 dias de armazenamento (AA).....	40
Tabela 21 Análise de variância para a variável descontaminação fúngica após 45 dias de armazenamento (AA).....	41
Tabela 22 Teor de umidade de das sementes de milho após a realização das secagens (AS) e após 45 dias de armazenamento (AA).....	44
Tabela 23 Germinação de sementes de milho após a realização das secagens (AS) e após 45 dias de armazenamento (AA)	45
Tabela 24 Efeitos estimados da análise do teor de germinação, após a secagem (AS)	45
Tabela 25 Efeitos estimados da análise do teor de germinação, após 45 dias de armazenamento (AA).....	46
Tabela 26 Resumo da análise de variância da regressão para a resposta germinação após 45 dias (AA).....	46
Tabela 27 Viabilidade das sementes pelo teste de tetrazólio, após secagem (AS) e após 45 dias de armazenamento (AA)	48
Tabela 28 Efeitos estimados da análise de tetrazólio, após secagem (AS)	49
Tabela 29 Efeitos estimados da análise de tetrazólio, após 45 dias de armazenamento (AA)	49
Tabela 30 Viabilidade das sementes pelo teste de condutividade elétrica, após secagem (AS) e após 45 dias de armazenamento (AA).....	49
Tabela 31 Efeitos estimados da análise de tetrazólio, após secagem (AS)	50
Tabela 32 Efeitos estimados da análise de tetrazólio, após 45 dias de armazenamento (AA)	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Gerador de ozônio tipo descarga corona.	17
Figura 2 Gerador de ozônio (Ozônio Line) utilizado.	22
Figura 3 Vista tridimensional do secador de camada fixa.....	24
Figura 4 Curvas de secagem, estimados pelo modelo de aproximação de difusão para secagem das sementes de milho para diferentes temperaturas e tempos de aplicação de ozônio.....	32
Figura 5 Superfície de resposta para predizer a constante a da equação do Modelo de aproximação da difusão.....	34
Figura 6 Resposta da constante k da equação do Modelo de aproximação da difusão.....	36
Figura 7 Superfície de resposta para a constante b da equação do Modelo de aproximação da difusão.	37
Figura 8 Resposta para predizer a contaminação fúngica após o armazenamento (AA) em função da temperatura do ar de secagem, sob diferentes combinações de tempo e temperatura.	40
Figura 9 Resposta para predizer a descontaminação fúngica após o armazenamento (AA) em função da temperatura do ar de secagem, sob diferentes combinações de tempo e temperatura.	42
Figura 10 Gráfico de resposta para predizer a germinação após o armazenamento em função do tempo de aplicação de ozônio e a interação entre tempo e temperatura.....	47

1 INTRODUÇÃO

A cultura do milho (*Zea mays* L.) tem grande importância econômica e social. Econômica, pelo valor nutricional de seus grãos e por seu uso intenso, nas alimentações humana e animal e como matéria-prima para a indústria. Social, por ser um alimento de baixo custo, pela viabilidade de cultivo tanto em grande quanto em pequena escalas e por ser a base de várias cadeias agroindustriais, como a da carne. Neste sentido, o milho é um dos principais cereais cultivados em todo o mundo e é o segundo grão mais cultivado no território brasileiro (CONAB, 2014).

O armazenamento é uma das etapas mais longas e contribui decisivamente para a qualidade final dos grãos. Entre os fatores que influenciam o bom armazenamento dos grãos sem comprometer sua qualidade encontram-se a eficiência da secagem, o teor de umidade dos grãos, período de armazenagem, danos mecânicos, o controle de pragas, microorganismos, fungos, entre outros.

A presença de fungos é um dos principais fatores de determinação de qualidade de grãos armazenados. Por ser rico em amido, o milho é vulnerável ao desenvolvimento de fungos, *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e *Penicillium* spp, que, além de causar danos aos grãos, podem comprometer as características organolépticas e nutritivas e prejudicar a saúde humana e animal, pela contaminação de micotoxinas, um metabolito secundário produzido por fungos filamentosos, principalmente por fungos do gênero *Aspergillus* spp.

Entre as novas tecnologias para o combate de fungos em unidades de armazenagem, encontra-se o gás ozônio. Este é muito utilizado para o tratamento de água residuais, piscinas, águas engarrafadas e na indústria alimentícia para o prolongamento de alimentos e desinfecção destes.

Este gás é um componente natural, presente na atmosfera e aparece como alternativa interessante para o uso na agricultura, já que substitui o tratamento químico utilizado em grãos armazenados, tornando-se, assim, uma prática segura e limpa, pois decompõe-se rapidamente, não deixando resíduos.

Diante da importância da utilização de novas tecnologias para o combate aos fungos prejudiciais às saúdes humana e animal de forma segura e eficaz, estabeleceu-se como objetivo deste estudo analisar a utilização do gás ozônio durante a secagem de sementes de milho armazenados, como forma sanitizante, e avaliar a qualidade final das sementes submetidas a tal processo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Avaliar a utilização do gás ozônio durante a secagem como agente sanitizante em sementes de milho.

2.2 Objetivos específicos

- Efetuar a secagem, determinar as curvas de secagem das sementes de milho e ajustar modelos matemáticos frequentemente utilizados aos dados experimentais;
- Avaliar o efeito da ozonização em sementes de milho durante a secagem com a contagem de colônias fúngicas;
- Avaliar o efeito da ozonização sobre as qualidades físicas e fisiológicas das sementes;
- Determinar a melhor combinação entre temperatura e tempo de aplicação de O₃.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 A cultura do milho

O milho (*Zea mays* L.) é o cereal mais produzido no mundo, atingindo valores superiores a 1 bilhão de toneladas de grãos na safra 2014/2015 (USDA, 2016). Segundo dados divulgados pela Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2016), neste mesmo período a produção brasileira de milho foi de aproximadamente 84,7 milhões de toneladas de grãos.

O grão de milho é constituído por 65% de carboidratos, 15% de água, 9% de proteínas, 4% de lipídios, 1% de minerais. A elevada concentração de carboidratos confere ao milho alto valor energético (1660 kJ em 100 g). Os lipídios são encontrados em todo o grão e são representados na forma de glicerídeos (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Os minerais fósforo e enxofre ocorrem em quantidades significativas no milho, enquanto outros minerais importantes, como cloro, cálcio, sódio, iodo, ferro, zinco, manganês, cobre, selênio, cromo, cobalto e cádmio, estão presentes em menores quantidades (PAES, 2006).

Os cultivares de milho, em quase sua totalidade, são híbridos, com a produção de uma espiga por planta, e os plantios são feitos em altas densidades, aproximadamente 60 mil plantas por hectare. As espigas desses cultivares são bem empalhadas e raramente dobram para baixo, porque a colheita ocorre logo após os grãos estarem com a umidade adequada. Os aspectos de fileiras e de números de grãos tornaram-se secundários, pois, atualmente, a comercialização é por peso e não por espiga (CRUZ et al., 2011).

Para a produção de sementes de qualidade é essencial que a colheita seja realizada o mais próximo da maturidade fisiológica. Diversos autores correlacionam maiores qualidades fisiológicas em sementes de milho com a colheita antecipada (TEKRONY; HUNTER, 1995; ROVERI et al., 2004; ARAÚJO et al., 2006).

Em termos de teor de água nas sementes, os autores Daynard e Duncan (1969); Araújo et al. (2006) citam que o ponto de maturidade fisiológica do milho pode variar de 28 a 42%, dependendo do genótipo avaliado.

3.2 Secagem do milho para obtenção de sementes de qualidade

O principal propósito do processo de secagem é a eliminação do excesso de água dos produtos agrícolas, de forma a preservar as qualidades física, fisiológica e sanitária dos grãos ou sementes durante longos períodos de armazenamento (VOCA et al., 2007).

A secagem de sementes é um processo termodinâmico, no qual ocorre a redução da umidade dos materiais biológicos. Quando bem conduzida, seguida de um correto armazenamento, é determinante na garantia de sua qualidade obtida no campo de produção. Desde que observadas as características da espécie, do volume de produção e do clima por ocasião da época de colheita, pode-se utilizar tanto métodos naturais quanto artificiais de secagem (TEIXEIRA, 2006).

Adicionalmente, o processo de secagem deve ser o mais econômico possível, pois os custos variáveis de secagem estão intrinsecamente ligados à umidade e à qualidade inicial do produto, ao tempo de secagem e ao valor agregado no momento da comercialização (DALPASQUALE, 2006).

Os danos nos grãos decorrentes de má secagem podem ocorrer logo após o processo de secagem, definido como danos imediatos, ou danos que se manifestarão ao longo do armazenamento, ditos danos latentes. A maior ou menor intensidade de dano está relacionada com a espécie e a cultivar e depende da interação entre a temperatura do ar de secagem e da umidade inicial do produto (FLEURAT-LESSARD, 2002).

A secagem reduz o teor de água, atuando diretamente na diminuição do metabolismo, podendo contribuir para atenuar a taxa de deterioração e aumentando o período em que as sementes podem ser armazenadas, sem perda da qualidade do produto (CARLESSO et al., 2008).

Em relação à temperatura máxima de secagem para não causar danos às sementes, Brooker, Bakker-Arkema e Hall (1974) relatam que esta deve estar em torno de 40,5 a 43,3 °C. Os autores citam que a temperatura de secagem não deve ser muito baixa para não prolongar o processo de secagem, o que pode permitir o desenvolvimento de fungos e acelerar o processo de deterioração das sementes.

O processo de secagem de um produto, sob condições constantes de temperatura, umidade relativa e velocidade do ar, pode ser dividido em um período de velocidade constante e outro de velocidade decrescente. Durante o período de velocidade constante a temperatura do produto se mantém igual à do ar de secagem saturado e as transferências de calor e massa se compensam, ou seja, o ar recupera, sob a forma de vapor, o que perdeu sob a forma de calor. No período de velocidade decrescente de secagem, a taxa de transporte interno de água é menor do que a taxa de evaporação. Desta forma, a transferência de calor do ar para o produto não é compensada pela transferência do vapor de água e, conseqüentemente, a temperatura do grão aumenta, tendendo a atingir a temperatura do ar de secagem (BROOKER; BAKKER-ARKEMA; HALL, 1992).

3.3 Fungos e seus subprodutos

O Reino Fungi está delimitado atualmente com base em certas características peculiares, que incluem aspectos morfológicos (macroscópico, microscópico e ultramicroscópico), bem como fisiológicos (LOGUERCIO-LEITE et al., 2006).

Fungos, também denominados mofos ou bolores, são microrganismos que ao infestarem os grãos e alimentos podem produzir substâncias tóxicas tais como micotoxinas. E estas ao serem ingeridas, inaladas ou absorvidas pela pele podem causar: estado de letargia, perda de peso, intoxicações, câncer e óbito em homens e animais. No caso de grãos, estes podem ser infestados durante o cultivo ou no período pós-colheita. Desta forma, os fungos são classificados em Fungos do Campo e Fungos do Armazenamento (SILVA, 2005)

A distinção entre fungos de campo e de armazenamento não é baseada na classificação taxonômica, mas de acordo com as condições ambientais e/ou ecológicas que favorecem o crescimento destes. Os fungos do campo requerem um teor de umidade em equilíbrio com uma umidade relativa de 90 a 100% para crescerem. Os principais gêneros são *Cephalosporium*, *Fusarium*, *Gibberella*, *Nigrospora*, *Helminthosporium*, *Alternaria* e *Cladosporium*, que invadem grãos e sementes durante o amadurecimento e cujo dano é causado antes da colheita (LAZZARI, 1998).

Os fungos do armazenamento demandam menor quantidade de água e, desta forma, proliferam em maior intensidade na massa de grãos no período pós-colheita (SILVA, 2005).

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

Na Tabela 1 são apresentadas algumas condições para o crescimento de fungos em grãos para temperaturas de 25 a 27 °C.

Tabela 1 Condições de temperatura e umidade para crescimento de fungos em grãos

Espécie	Umidade relativa do ar intergranular %	Teor de umidade dos grãos %
<i>Aspergillus halophilicus</i>	68	12-14
<i>Aspergillus restrictus</i>	70	13-15
<i>Aspergillus glaucus</i>	73	13-15
<i>A.candidus</i> , <i>A. ochraeus</i>	80	14-16
<i>A. flavus</i> , <i>parasiticus</i>	82	15-18
<i>Penicillium spp.</i>	80-90	15-18

Fonte: Bakker-Arkema (1999).

Por ser um cereal rico em amido, o milho é mais vulnerável ao desenvolvimento de fungos (MARQUES et al., 2009). Segundo Farias et al. (2000), a contaminação por fungos com potencial toxigênicos, tais como *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e *Penicillium* spp., pode ocorrer em grãos de milho aparentemente saudáveis.

Diversos estudos incluem espécies fúngicas pertencentes aos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* como agentes micotoxigênicos de considerável importância em produtos alimentícios, especialmente em grãos de cereais e oleaginosos (MCDONOUGH et al., 2011a; ALENCAR et al., 2012).

Esses dois gêneros têm sido citados por diferentes pesquisadores como aqueles em que se encontram as espécies de maior predominância em grãos de milho armazenado (SCUSSEL, 1998; KAWASHIMA; SOARES, 2006), com significativo potencial micotoxigênico.

Os compostos produzidos pelas micotoxinas, desenvolvem atividade mutagênica, carcinogênica e teratogênica. As aflatoxinas são substâncias do grupo das bisfuranocumarinas produzidas principalmente por *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*. Existem várias substâncias conhecidas nesse grupo. As mais encontradas em diversos produtos agrícolas e seus derivados são as aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂; a B₁ é a mais tóxica. A esterigmatocistina é um precursor da síntese de aflatoxina B₁ e é um produto final de sua rota metabólica. Caracteriza-se por possuir um anel dehidrofurobensofurano acoplado a uma xantona, sendo produzida principalmente por *A. versicolor* (JAY, 1996).

No Brasil, os relatos de fungos toxigênicos na cultura do milho apontam a predominância do gênero *Fusarium*, seguido por *Aspergillus* e *Penicillium* (KAWASHIMA; SOARES, 2006).

3.4 Ozônio: Características e aplicações industriais

Entre os sanitizantes mais usados na indústria de alimentos para fins de higienização se destacam os compostos clorados. No entanto, a redução da eficiência microbiológica aliada à toxicidade potencial dos subprodutos da cloração, vem tornando este processo cada vez menos atrativo (SILVA et al., 2011).

O ozônio é considerado uma forma alotrópica do oxigênio. Na forma gasosa, apresenta coloração de tonalidade levemente azulada, possuindo odor pungente bastante característico (KIM; YOUSEF; DAVE, 1999).

A atuação biológica do ozônio se dá em duas modalidades, agindo diretamente sobre as moléculas alvo ou de forma indireta, via radicais livres resultantes de processos de

peroxidação de ácidos graxos polinsaturados e de oxidações de grupos sulfidrilas e aminoácidos de enzimas, proteínas e peptídeos (VICTORIN, 1992).

As aplicações agrícolas que fazem utilização do ozônio incluem o armazenamento e a conservação de frutos e legumes, a descontaminação superficial de alimentos perecíveis e desinfecção de equipamentos de indústria, água e materiais de embalagem (GRAHAM, 1997).

Sua utilização na desinfestação de grãos é favorável ao meio ambiente por não deixar resíduos tóxicos, sendo eficaz contra uma série de pragas de grãos armazenados. No entanto, a eficácia do ozônio depende de vários fatores, incluindo a quantidade aplicada, fatores ambientais, como a temperatura da massa de grãos, o teor de água e os constituintes químicos da camada externa de grãos (TIWARI et al., 2010).

Para a geração de ozônio, ocorre primeiramente a divisão de uma molécula de oxigênio diatômico e o oxigênio livre resultante da quebra pode reagir com outras moléculas de oxigênio para formar as moléculas de ozônio. Porém, para quebrar a molécula de oxigênio, uma grande quantidade de energia é requerida (RUSSEL; HUGO; AVLIFFE, 1999).

Geralmente o método de descarga de corona é o mais utilizado para geração de ozônio a um nível comercial. Dois eletrodos, um de alta tensão e um de baixa tensão (Eletrodo terra), separados por um meio dielétrico cerâmico proporcionam um intervalo de descarga estreita (MAHAPATRA et al., 2005) (Figura 1).

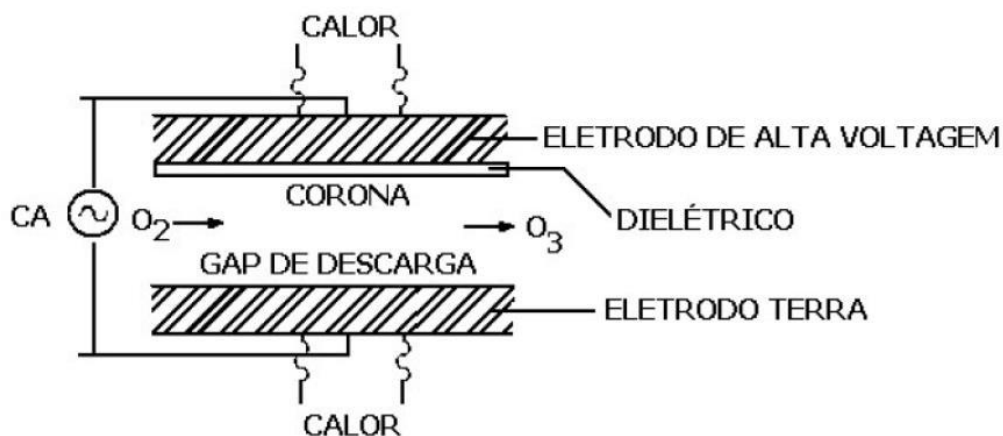


Figura 1 Gerador de ozônio tipo descarga corona.
Fonte: Silva et al. (2011).

O ozônio pode ser encontrado em baixas concentrações na natureza e tem uma meia-vida mais longa no estado gasoso do que em solução aquosa (RICE, 1986).

Em sua forma gasosa o ozônio é mais estável do que o ozônio aquoso. A meia-vida do ozônio gasoso é de 12h à pressão atmosférica, e a sua decomposição depende da reatividade com superfícies, temperatura, concentração e pressão (KOIKE et al., 1998;. WEAVERS; WICKRAMANAYAKE, 2001).

Quando comparado a outros agentes oxidantes, o ozônio se destaca pelo elevado potencial de oxidação (2,07 mV). O ozônio é o segundo mais poderoso agente oxidante, perdendo apenas para o flúor (3,06 mV) (RUSSEL; HUGO; AVLIFFE, 1999). Na tabela 2 apresenta-se alguns agentes oxidantes e seu potencial oxidativo.

Tabela 2 Agentes oxidantes e poder de oxidação

Agente Oxidante	Potencial de Oxidação (mV)
Flúor	3,06
Ozônio	2,07
Permanganato	1,67
Dióxido de Cloro	1,50
Ácido Hipocloroso	1,49
Cloro (gás)	1,36

Fonte: Manley e Niegowski (1967).

3.5 Ações fungicidas do gás ozônio

Em forma gasosa ou aquosa, o ozônio é avaliado por reduzir os níveis da microflora natural, bem como infecções bacterianas, fúngicas e de molde a contaminação em cereais e subprodutos de cereais, incluindo esporos, Bacilo, bactérias coliformes, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Serratia*, *Aspergillus* e *Penicillium* (NAITO; TAKAHARA, 2006)

A redução ou a inativação da população microbiana devido à ozonização depende da concentração de ozônio, do tempo de aplicação e do microrganismo envolvido (SILVA et al., 2011).

O ozônio atua inicialmente na membrana celular, sendo a superfície da célula microbiana o primeiro alvo a ser atingido. Sua ação antimicrobiana é decorrente da oxidação de glicolipídeos, glicoproteínas e aminoácidos da parede celular, alterando a permeabilidade e causando sua rápida lise. O ozônio ataca também grupos sulfidríla de enzimas, ocasionando o colapso da atividade enzimática celular. Além disso, sua ação sobre o material nuclear dos microrganismos altera as bases púricas e pirimídicas dos ácidos nucleicos, como ocorre com alguns vírus, nos quais o ozônio destrói seu RNA além de alterar as cadeias polipeptídicas do cápsideo protéico (HUNT; MARIÑAS, 1999; SILVEIRA, 2004).

A inativação das bactérias pelo ozônio é ocasionada por uma reação de oxidação de vários constituintes celulares. O primeiro alvo da oxidação é a membrana celular, mas há evidências de que o ozônio aja também, sobre a atividade enzimática das bactérias. A oxidação e a inativação pelo ozônio são muito rápidas, além de não específicas em relação aos constituintes celulares, existindo dados que evidenciam a ação do ozônio sobre as bases púricas e pirimídicas dos ácidos nucleicos, como observado em *Escherichia coli* por Lapolli et al., 2003.

As bactérias gram-negativas possuem maior sensibilidade ao ozônio quando comparadas com as bactérias gram-positivas, pois possuem menor quantidade de peptídeoglicano em sua parede celular (RUSSEL; HUGO; AVLIFFE, 1999).

A ozonização é bastante efetiva contra fungos e micotoxinas, porém os fungos tendem a ser mais resistentes que as bactérias na forma vegetativa (RUSSEL; HUGO; AVLIFFE, 1999; KIM; YOUSEF; DAVE, 1999). Ainda assim, Wickramanayake (1991), relata que os fungos são facilmente atingidos pela ação do ozônio e em menor período de tempo do que bactérias como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus spp.*

O ozônio atua sobre as células fúngicas através de lise (PRYOR; RICE, 1999), e a presença de água pode acelerar sua reação com substâncias orgânicas (HOIGN; BADER, 1983; ALLEN et al., 2003). Esse gás pode oxidar vários componentes do envelope celular, incluindo ácidos graxos poliinsaturados, enzimas ligadas à membrana, glicoproteínas e glicolípidos, levando a vazamento de conteúdo celular e eventualmente causando lise (SCOTT; LESHER 1963, MURRAY et al., 1965).

3.6 Aplicação de ozônio como agente sanitizante e seus efeitos na pós-colheita da cultura do milho

O ozônio é capaz de penetrar na massa dos grãos, é altamente instável e decompõe-se rapidamente ao oxigênio sem deixar resíduos (KELLS et al., 2001). Estes atributos fazem do ozônio um candidato atraente para o controle de insetos e fungos em produtos armazenados (MASON; WOLOSHUK; MAIER, 1997; KELLS et al., 2001).

Kells et al. (2001) observaram que haviam duas fases características de interação do ozônio com grãos de milho. Durante a primeira fase, o ozônio degradava-se rapidamente, uma vez que, em contato com os grãos, o movimento do gás é relativamente mais lento, pois o gás reage com os constituintes químicos presentes na camada exterior dos grãos (casca da semente). Uma vez que o ozônio neutralizou os componentes superficiais responsáveis pela sua degradação, a segunda fase começa na qual o ozônio flui livremente através das camadas dos grãos com consideravelmente menos degradação. Uma vez que a segunda fase seja finalizada, permanece nessas condições, mesmo após a interrupção do tratamento com ozônio.

A ozonização não afeta os parâmetros básicos de qualidade dos grãos tratados, tais como proteínas, vitaminas, atividade da enzima etc., e, apesar de alterações mínimas em algumas propriedades, a mercadoria permanece praticamente inalterada quando as taxas de aplicação são baixas (MENDEZ et al., 2003; DUBOIS et al., 2006).

O interesse na utilização do gás ozônio como importante agente fungicida no controle dos principais fungos de armazenamento tem sido demonstrado por pesquisadores,

bem como o efeito das condições de ozonização na eficiência do gás, em relação aos grãos armazenados (LULLIEN-PELLERIN et al., 2012).

Alguns estudos sobre a eficácia do efeito fungicida do gás ozônio sobre a contaminação de grãos de milho são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 Referencial teórico sobre aplicação de gás ozônio como agente sanitizante em produtos e grãos de milho

Agente contaminante	Produto utilizado	Quantidade (escala)	Condições impostas	Redução	Referencia
Esporos de fungos	Milho	50 kg	20, 40, 60 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, 30 a 180 min, 11.5% de umidade	Condições de 60 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ e 180 Min (93,5% dos esporos não germinaram). Após 30 dias inibição de 100%	Christ et al. (2017)
Aflatoxina B1 (AFB1)	Milho	Laboratorial	90 mg^{-1} 20 e 40 minutos 13,71% de umidade	83%	Luo et al. (2014a)
Desintoxicação de aflatoxinas	Farinha de milho	Laboratorial	75 mg L^{-1} 1h	15%	Luo et al. (2014b)
<i>Aspergillus</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Mucor</i> , <i>Penicillium</i> , e <i>Rhizopus</i>	Milho	Laboratorial	0, 50, 500, 1000 e 15,000 ppm fluxo de 0.5 L min^{-1} . 1h		White et al. (2013)
<i>Penicillium</i> spp e <i>Aspergillus</i> spp	Milho	2 kg	2,14 mg L^{-1} , fluxo de 5,8 L min^{-1} 0, 10, 20, 30 e 50 h	78,5% <i>Aspergillus</i> spp. 98,0% <i>Penicillium</i> spp.	Brito Júnior et al. (2013)
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Milho	8,9 toneladas	50 ppm 3 dias	63%	Kells et al. (2001)
Aflatoxinas	Milho	Laboratorial		92%	Prudente; King (2002)
Aflatoxinas	Milho	Laboratorial	200 mg min^{-1} 92h	95% redução de AFB1	Mckenzie et al. (1998)

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Controle de Qualidade de Produtos Agrícolas – LACON e no Laboratório de Armazenagem e Protótipos de Instalações e Secagem (LAPIS), pertencentes à Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, *campus* Cascavel, PR, durante o ano de 2016.

Para a realização dos ensaios experimentais foram utilizadas sementes de milho (*Zea mays* L.), cultivar Agroeste – AS1661 PRO, um híbrido superprecoce. A colheita da cultura ocorreu em lavoura comercial e foi realizada no dia 12/07/2016 (milho safrinha) na cidade de Corbélia, PR, sendo este material naturalmente contaminado.

As amostras foram submetidas ao processo de limpeza, separadas em sacos de polietileno impermeáveis, lacrados e acondicionadas em refrigerador a uma temperatura de 4 °C até o seu uso para o experimento. Antes de cada experimento de secagem, as amostras foram retiradas do refrigerador e mantidas a temperatura ambiente, visando homogeneizar a temperatura.

4.1 Produção de gás ozônio

Para a obtenção do ozônio, foi utilizado um gerador da marca Ozônio Line (Figura 2), que consiste em um dieleto e que produz a partir do ar por efeito corona, tendo como produção máxima de 2000 mg h⁻¹.



Figura 2 Gerador de ozônio utilizado (Ozônio Line).

4.2 Secagem com utilização do gás ozônio

Para a secagem das sementes foi utilizado o Delineamento Composto 2² com três pontos centrais totalizando sete experimentos.

O processo de secagem das sementes realizou-se sob as temperaturas de 30, 40 e 50 °C \pm 1 °C, utilizando um secador de camada fixa em escala laboratorial com capacidade de 1 kg, dotado de ventilador centrífugo. O aquecimento do ar ambiente foi proporcionado por um resistor com potência de 1000 watts. O ozônio foi aplicado na quantidade de 2 g h⁻¹ nos tempos de 5, 10 e 15 minutos, combinado com as temperaturas de secagens de 30, 40 e 50 °C, como apresentado na Tabela 4.

Tabela 4 Delineamento experimental para dois fatores e dois níveis, seus valores reais e codificados

Tratamentos*	Tempo de aplicação de ozônio (min) (X₁)	Temperatura (°C) (X₂)
T1	5 (-1)	30 (-1)
T2	15 (+1)	30 (-1)
T3	5 (-1)	50 (+1)
T4	15 (+1)	50 (+1)
T5	10 (0)	40 (0)
T6	10 (0)	40 (0)
T7	10 (0)	40 (0)

* Realizados em ordem aleatória.

Para a realização da secagem foi utilizado um secador experimental de polivinil (PVC) com 15 cm de diâmetro, 46 cm de altura externa e 26 cm de altura interna. A 10 cm do fundo foi posicionada uma tela metálica (plenum) para a sustentação das sementes e melhor distribuição do ozônio dentro do recipiente. O cilindro recebeu de 1,0 kg de sementes para cada ensaio de secagem, e ainda possuía duas conexões para a injeção e exaustão do gás (Figura 3). A velocidade do ar foi monitorada com o auxílio de anemômetro e a umidade relativa do ar por meio de psicrômetro. Durante as secagens, o monitoramento da temperatura de secagem foi realizado com a utilização de termopares do tipo T.

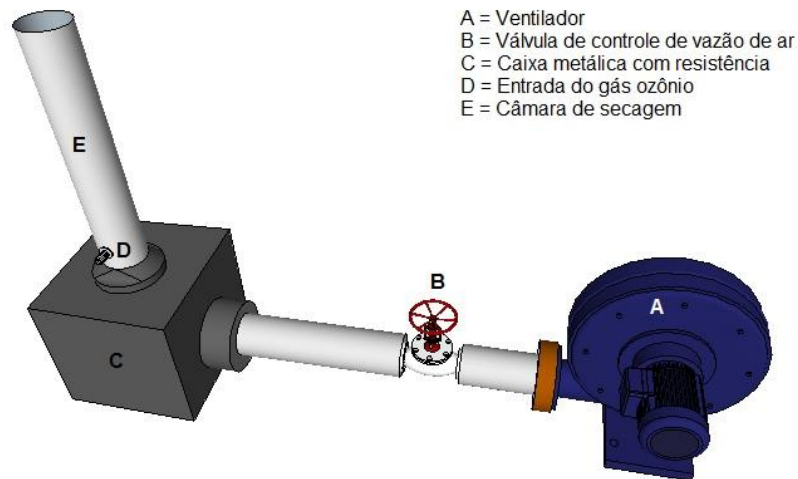


Figura 3 Vista tridimensional do secador de camada fixa.

Durante o processo de secagem foram realizadas pesagens sucessivas das amostras, utilizando uma balança analítica com precisão de 0,001g modelo BG8000 – GehaKa, com o objetivo de calcular o teor de umidade e determinar o conteúdo adimensional de umidade.

A secagem das sementes foi realizada até atingirem o teor de umidade de aproximadamente 12% b.u. O ozônio foi aplicado nas sementes juntamente com o ar, no início do processo de secagem.

Após as secagens com a aplicação do ozônio, as sementes foram acondicionadas em sacos de papel craft, identificadas e mantidas em temperatura ambiente não controlada. As amostras foram avaliadas quanto ao teor de água, germinação, teste de tetrazólio, condutividade elétrica e avaliação microbiológica, imediatamente e após 45 dias de armazenamento.

4.8 Modelagem matemática das curvas de secagens

Para a modelagem da secagem foram calculadas as Razões de Umidade (RU) das sementes de milho, em função da umidade para diferentes tempos e nas diferentes condições de secagem, utilizando a Equação 1.

$$RU = \frac{U - U_e}{U_i - U_e} \quad \text{Eq.(1)}$$

Em que:

U - teor de água do produto, decimal b.s;

U_i - teor de água inicial do produto, decimal b.s;

U_e - teor de água de equilíbrio do produto, decimal b.s;

Entre as diversas equações, a que melhor expressa o teor de umidade de equilíbrio dos grãos, em função da temperatura e umidade relativa, para faixas mais amplas de temperatura e umidade relativa, é a equação de Henderson (PEREIRA, 1987; BROOKER; BAKKERARKEMA; HALL 1992), determinada pela Equação 2:

$$1 - UR = \exp(-CT(Ue)^n) \quad \text{Eq.(2)}$$

Em que:

UR - umidade relativa do ar, decimal;

Exp - base do logaritmo neperiano = 2,718;

T - temperatura absoluta, °K;

U_e - umidade de equilíbrio, % b.s.; e

C e n - constantes que dependem do material.

Para o milho, a constante C é $1,98 \times 10^{-5}$ e a constante n é 1,9 (SILVA; BERBERT; RUFATO; AFONSO, 2008)

As curvas de secagem foram ajustadas a partir de dados experimentais, utilizando-se diferentes modelos empíricos e semi-empíricos, constantes na Tabela 5. Para o ajuste dos modelos matemáticos de secagem aos dados experimentais, realizou-se a análise de regressão não linear pelo método Simplex, Quase – Newton.

Tabela 5 Modelos de regressão não-linear utilizados para predizer o fenômeno de secagem em leito fixo de sementes de milho

Designação do modelo	Modelo	Equação
Modelo de Page	$RU = \exp(-k.t^n)$	Eq.(3)
Modelo de Henderson e Pabis	$RU = a.\exp(-k.t)$	Eq.(4)
Modelo de Midili	$RU = a.\exp(-k.t^n) + b.t$	Eq.(5)
Modelo de Wang e Sing	$RU = 1 + a.t + bt^2$	Eq.(6)
Modelo de Newton	$RU = \exp(-k.t)$	Eq.(7)
Modelo de Henderson e Pabis modificado	$RU = a.\exp(-k.t) + b.\exp(-k_0.t) + c.\exp(-k_1.t)$	Eq.(8)
Modelo de aproximação da difusão	$RU = a.\exp(-k.t) + (1-a)\exp(-k.b.t)$	Eq.(9)

Fonte: Madamba; Driscoll; Buckle (1996); Doymaz (2004); Mohapatra e Rao (2005).

Em que:

RU - Razão de Umidade do produto, adimensional;

t - tempo de secagem, h;

k, k_0 , k_1 - coeficientes de secagem, h^{-1} ;

a,b,c,n - coeficiente dos modelos.

Os dados experimentais foram comparados com os valores estimados para cada modelo pelo erro médio relativo (P) e erro médio estimado (ε), conforme Equações 10 e 11 (CORRÊA et al., 1998):

$$P = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \left(\frac{|Y - \hat{Y}|}{Y} \right) \quad \text{Eq.(10)}$$

$$\varepsilon = \sqrt{\frac{\sum (Y - Y_0)^2}{GLR}} \quad \text{Eq.(11)}$$

Em que:

Y - valor observado experimentalmente;

Y_0 - valor calculado pelo modelo;

GLR - graus de liberdade do modelo (número de observações experimentais).

Os modelos foram selecionados pela magnitude do coeficiente de determinação (R^2) e pela magnitude do erro médio relativo e estimado (CORRÊA et al., 2002; CORRÊA et al., 2006).

4.3 Qualidade microbiológica

As análises microbiológicas foram realizadas antes do processo de secagem com ozonização, após a secagem e após 45 dias de armazenamento, a fim de avaliar a eficiência do gás ozônio na descontaminação fúngica das sementes.

4.3.1 Determinação da contaminação fúngica

A contagem de fungos foi realizada por meio da técnica de plaqueamento em superfície de Ágar Batata Dextrose Acidificado, conforme metodologia proposta pela MB 2750 (ABNT, 1987).

4.3.1.1 Reagentes e meios de cultura

Para a contagem de fungos nas amostras de milho, foram utilizados os seguintes reagentes/meios de cultura: Água peptonada 0,1% e Ágar Batata Dextrose Acidificado.

4.4.1.2 Diluições seriadas

Para cada ensaio foi separado 25 g da amostra de milho e adicionou-se 225 mL de água peptonada 0,1%, está identificada como a primeira solução (diluição 1:10 ou 10^{-1}). Para o preparo da segunda solução (10^{-2}), transferiu-se para um tubo de ensaio, de forma asséptica, 1 mL da diluição 10^{-1} e, em seguida, adicionou-se 9 mL de água peptonada 0,1%. As diluições subsequentes foram obtidas da mesma maneira, transferindo-se 1 mL da diluição anterior para um tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada 0,1%.

4.3.1.3 Preparação das placas

Para o plaqueamento em superfície, as placas foram previamente preparadas com 15 a 20 mL do meio selecionado (Ágar Batata Dextrose). Para o preparo do meio, pesou-se 11,7 g deste, que foi adicionado a um balão volumétrico contendo 300 mL de água destilada. Após o procedimento na autoclave (Marca Primatec Autoclaves, Modelo CS, capacidade 18 litros), o meio foi distribuído em placas de Petri (previamente esterilizadas e secas em estufa a 50 °C por 2 h); estas permaneciam por cerca de uma hora dentro da capela de fluxo laminar (Marca Pachene, Modelo Pa-50), com as tampas parcialmente abertas para secagem do meio.

4.3.1.4 Inoculação

Foram selecionadas duas diluições (10^{-2} e 10^{-3}) e, de cada uma delas, foi retirado 0,1 mL da amostra (com auxílio de pipeta esterilizada), para inoculação na superfície das placas de Petri. Com o auxílio da alça de Drigalski, o inóculo foi espalhado em toda a superfície do meio, até que todo o excesso de líquido fosse absorvido. Todo este procedimento foi realizado dentro de uma capela de fluxo laminar, para evitar que o meio externo contaminasse as amostras inoculadas.

4.3.1.5 Incubação

Decorrido o período de quinze minutos da inoculação, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 25 °C durante cinco dias. No terceiro dia de incubação as placas foram observadas e, em caso de crescimento de colônias espalhadas, a contagem era realizada neste dia, com intuito de prevenir a perda de placas por espalhamento das colônias. Quando no terceiro dia não se observava risco de espalhamento, as placas eram novamente incubadas e a contagem total era realizada no quinto dia de incubação. Cada diluição foi inoculada em triplicata. Assim,

considera-se como número de colônias a média aritmética obtida em cada uma das diluições.

4.3.1.6 Contagem das colônias e cálculo dos resultados

Após o quinto dia de incubação, efetuava-se a contagem do número de colônias contidas em cada placa de Petri. O número de unidade formadoras de colônia por grama (UFC g⁻¹) de amostra foi calculado multiplicando o número de colônias observadas pelo inverso da diluição inoculada.

4.4 Teor de Água

Foi realizado em triplicata seguindo o método padrão de estufa 105 ± 1 °C, durante 24 h, sendo o resultado expresso em base úmida (BRASIL, 2009).

4.5 Germinação das sementes

O potencial de germinação foi determinado pelo teste-padrão de germinação, utilizando-se como substrato papel germitest, umedecido com água destilada equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. Os testes serão realizados em quatro repetições de cinquenta sementes e os rolos contendo as sementes acondicionados em germinador tipo B.O.D a 25±1 °C. A avaliação realizou-se no sétimo dia, sendo os resultados expressos em percentagem de plântulas normais, anormais e sementes duras e mortas (BRASIL, 2009).

4.6 Teste de tetrazólio

Foram utilizadas 200 sementes, subdivididas em quatro repetições de 50 sementes retiradas ao acaso de uma amostra representativa da amostra. As sementes primeiramente passaram por pré-umedecimento, mantidas por 16h em embebição entre folhas de papel em temperatura entre 25-30 °C. Após, o período de embebição as sementes foram cortadas ao longo do eixo do embrião, retirando e descartando 1/2 da largura da semente, e colocadas em solução 0,075% de cloreto trifênil tetrazólio por três horas, no escuro e a 35 °C (DIAS; BARROS; 1995; 1999). Após a coloração, as sementes foram lavadas em água corrente e mantidas imersas

em água para a avaliação. A avaliação foi feita observando coloração do tecido, tecido não colorido, flácido ou necrosado (BRASIL, 2009).

4.7 Teste de Condutividade Elétrica

Para esta avaliação, quatro repetições de 50 sementes, com massa conhecida, foram colocadas para embeber em recipientes plásticos contendo 75 ml de água destilada, por um período de 24 horas a 25 °C. Em seguida, as amostras foram agitadas para homogeneização dos exsudados liberados na água, efetuando-se a leitura da condutividade elétrica da solução de embebição em condutímetro modelo Digimed DM 31, previamente calibrado, com eletrodo de constante 1,0, expressando-se os resultados em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de sementes (VIEIRA, 1994)

4.8 Análise estatística

Para a avaliação dos dados: contagem de colônias fúngicas, germinação, tetrazólio e condutividade elétrica, o planejamento foi submetido às análises de efeitos, regressão e superfície, para a obtenção dos resultados finais.

A análise da superfície de resposta tem como base o método de planejamento fatorial que consiste num grupo de técnicas usadas para o estudo das relações entre uma ou mais respostas medidas analiticamente e um número de variáveis de entrada que possam ser controladas.

As variáveis independentes estudadas neste trabalho foram tempo (min) de aplicação de O_3 e temperatura do ar de secagem. Os resultados foram avaliados ao nível de significância de 10%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização inicial das sementes de milho

Para a determinação das condições iniciais do produto, foram realizados os testes de teor de água (BRASIL, 2009), teste de tetrazólio (BRASIL, 2009), teste de germinação (BRASIL, 2009), teste de condutividade elétrica (VIEIRA, 1994), e análise microbiológica (ABNT, 1987). As condições iniciais estão apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6 Caracterização das condições iniciais das sementes de milho da cultivar Agroeste – AS1661 PRO

Parâmetro	Valor
Teor de água (% b.u.)*	19,21
Análise de germinação (%)	99
Teste de tetrazólio (%)	99
Condutividade elétrica (uS.cm ⁻¹ .g ⁻¹)	13,02
Análise microbiológica de fungos (UFC g ⁻¹)	84x10 ⁻³

*b.u. – base úmida.

5.1.2 Curvas de secagem de milho com adição de O₃

Na seleção do melhor modelo foram considerados: a significância do coeficiente de regressão pelo teste t, adotando-se o nível de 10% de probabilidade, a magnitude do coeficiente de determinação ajustado (R²), o erro médio relativo (P) e o erro médio estimado (SE) (CORRÊA et al., 2007, RESENDE; FERREIRA; ALMEIDA, 2010; MORAIS, 2010). Os parâmetros estatísticos dos valores médios obtidos dos modelos de secagem testados são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 Parâmetros estatísticos dos valores médios obtidos para os oito modelos de secagem (Equações 3 a 10), para as diferentes condições de secagem

Modelos	R ²	€	P
Page	0,99918	0,01589501	0,00466626
Henderson e Pabis	0,99317	0,09617194	0,015874
Midilli	---	---	---
Wang e Sing	0,70926	0,0318020	0,00364543

Modelos	R²	ε	P
Newton	0,98977	0,10237877	0,06944645
Henderson e Pabis modificado	0,99317	0,11105130	0,01569871
Aproximação da difusão	0,99997	0,00607990	5,03927E-05

Dentre os modelos avaliados para descrever o fenômeno da secagem das sementes de milho utilizando gás ozônio, verificou-se que a equação de Modelo de Aproximação da Difusão foi a que melhor se ajustou aos dados experimentais, tanto para os experimentos em que ocorria a aplicação de ozônio como para as secagens controle (sem aplicação de ozônio). Os valores do erro médio relativo (P), do erro médio estimado (SE) e do coeficiente de determinação ajustado (R²) para o modelo de aproximação da difusão foram, respectivamente, 5,03927E-05; 0,00607990 e 0,99997.

Conforme Madamba, Driscoll e Buckle (1996), o coeficiente de determinação (R²), sozinho, não constitui bom critério para a seleção de modelos não lineares. Desta forma, os valores para o erro médio estimado (ε) e erro médio relativo (P) foram considerados.

Este resultado difere do encontrado por Vitorino (2009), que modelou a cinética de secagem de grãos de milho em camada delgada sob condições controladas de temperatura (40, 50, 60 e 70 °C), verificando que os modelos estudados Dois Termos, Exponencial de Dois Termos, Henderson e Pabis, Midilli, Page e Newton foram satisfatórios.

Para o modelo de aproximação da difusão é possível observar que o coeficiente **k** e o coeficiente **a** tiveram uma queda em relação ao aumento da temperatura, enquanto o coeficiente **b** obteve leve aumento com a elevação da temperatura. Os dados são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 Coeficientes do modelo de aproximação de difusão obtido nos diferentes tratamentos de secagem de sementes de milho

Tempo de aplicação de gás ozônio (min.)	Temperatura do ar de secagem (°C)	Coeficientes do modelo		
		a	k	b
05	30	0,293408	0,032017	0,095224
15	30	0,208815	0,071779	0,052378
05	50	0,206909	0,144691	0,062225
15	50	0,176421	0,099106	0,042626
10	40	0,233698	0,087360	0,070291
10	40	0,225011	0,076802	0,075481

Tempo de aplicação de gás ozônio (min.)	Temperatura do ar de secagem (°C)	Coeficientes do modelo		
		a	k	b
10	40	0,237168	0,052016	0,073332
Tratamentos sem aplicação de O₃				
0	30	0,057257	0,486226	0,024352
0	40	0,137380	0,454437	0,038219
0	50	0,194764	0,088155	0,080704

a; k; b coeficientes do modelo ajustados por regressão não linear, método Quase – Newton

Segundo Babalis e Belessiotis (2004), o coeficiente **k** determina as condições externas de secagem e está relacionado com a difusividade efetiva no processo de secagem no período decrescente.

A Figura 4 apresenta as curvas de secagem em função do tempo, dados experimentais e os estimados pelo modelo de aproximação da difusão.

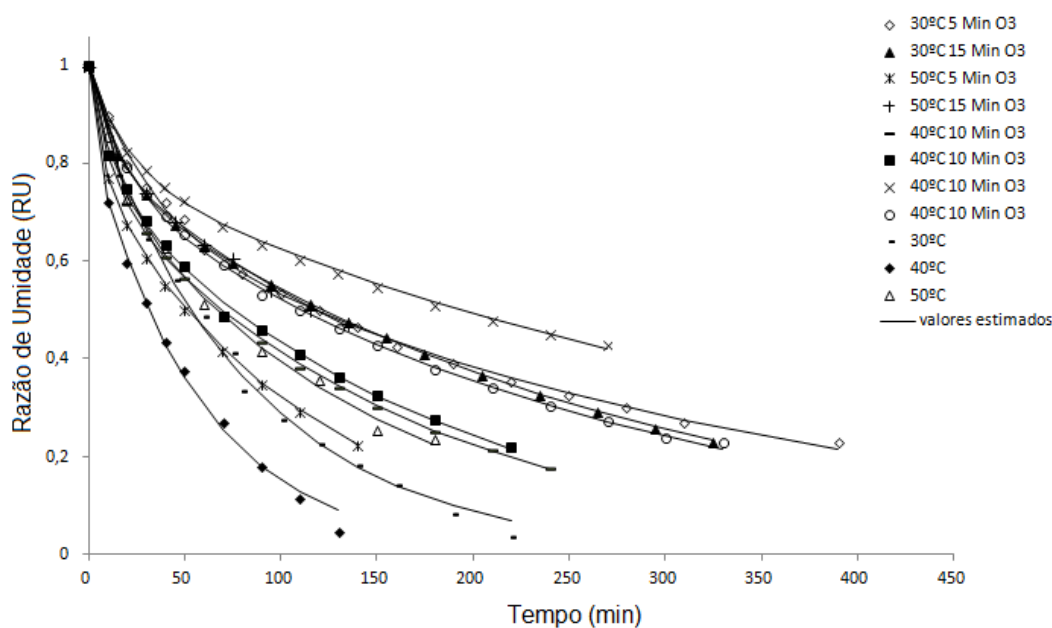


Figura 4 Curvas de secagem, estimados pelo modelo de aproximação de difusão para secagem das sementes de milho para diferentes temperaturas e tempos de aplicação de ozônio.

As curvas apresentadas na figura 4 demonstram para todas as temperaturas que o teor de umidade existente no início do processo de secagem é exponencialmente reduzido até alcançar o teor de umidade de equilíbrio. Observou-se que o tempo de secagem depende da temperatura, além disso, a perda do conteúdo de umidade é mais rápida no início do processo de secagem, e que a utilização do gás ozônio durante o processo não afetou o desempenho da secagem das sementes.

Observa-se ainda, na Figura 4 que, para todas as temperaturas estudadas, a secagem dos grãos se faz a uma taxa decrescente, sendo cada vez mais lenta à medida que passa o tempo, o que está de acordo com Carvalho (2005), indicando que ocorre uma maior resistência à transferência de calor e massa do interior do produto para sua superfície (KASHANINEJAD et al., 2007).

A modelagem dos parâmetros **a**, **b** e **k** (Tabela 8) para o processo de secagem de sementes de milho foi modelada segundo o planejamento fatorial 2^2 em função do tempo de aplicação de ozônio e da temperatura de secagem. Na tabela 9, é apresentado os efeitos estimados para o coeficiente **a** da equação de aproximação da difusão para prever o processo de secagem do milho, juntamente com os parâmetros da regressão.

Tabela 9 Efeitos estimados do coeficiente **a** do modelo aproximação da Difusão para prever o processo de secagem

Fatores	Efeitos	P-valor	Coefficientes
Média/Interação	0,225919	0,000110*	0,225919
Tempo (Min) (t)	-0,057541	0,011638*	-0,028770
Temperatura (T)	-0,059447	0,010916*	-0,029723
T x t	0,027053	0,049631*	0,013256

* significativo a 10% de probabilidade. ^{ns} não significativo a 10% de probabilidade.

Quando aumenta-se o tempo de aplicação de O_3 de 5 para 15 minutos há um decréscimo de -0,057 no parâmetro ajustado, e de -0,059 em função da temperatura, avaliando pelo valor de p todos os fatores são significativos a um intervalo de confiança de 95%.

A partir das variáveis significativas, efetuou-se uma análise de variância (ANOVA), que é apresentada na Tabela 10.

Tabela 10 Análise de variância para o coeficiente **a** da equação do Modelo de aproximação da difusão

Fonte de variação	SQ	GL	MQ	F	F _{tab}
Regressão	7,58E-03	3	2,53E-03	28,06	5,39
Resíduo	2,70E-04	3	9,00E-05		
Falta de ajuste	1,92E-04	1	1,92E-04	4,88	8,53
Erro Puro	7,84E-05	2	3,92E-05		
Total	7,85E-03	6			

Coefficiente de determinação (R^2) = 0,97.

O valor obtido para o R^2 foi de 0,97, indicando assim que 97% da variabilidade na resposta pode ser explicada pelo modelo. Este valor é considerado

satisfatório para a obtenção de um modelo válido e útil para fins preditivos. De acordo com a Tabela 8, o modelo foi considerado preditivo e sem falta de ajuste.

O modelo matemático preditivo do coeficiente a da equação do Modelo de aproximação da difusão em função da temperatura e do tempo de aplicação é apresentado na Equação 12.

$$\hat{a} = 0,225 - 0,0287 t - 0,297 T + 0,0135 t T \quad \text{Eq.(12)}$$

Sendo:

\hat{a} - Coeficiente a do modelo de aproximação da difusão (Eq. 9);

t - valor codificado de tempo da aplicação do ozônio;

T - valor codificado de temperatura do ar de secagem.

Na figura 5 é apresentada a superfície de resposta gerada pelo modelo da Equação 12 para prever o coeficiente a do Modelo de aproximação da difusão (Equação 9).

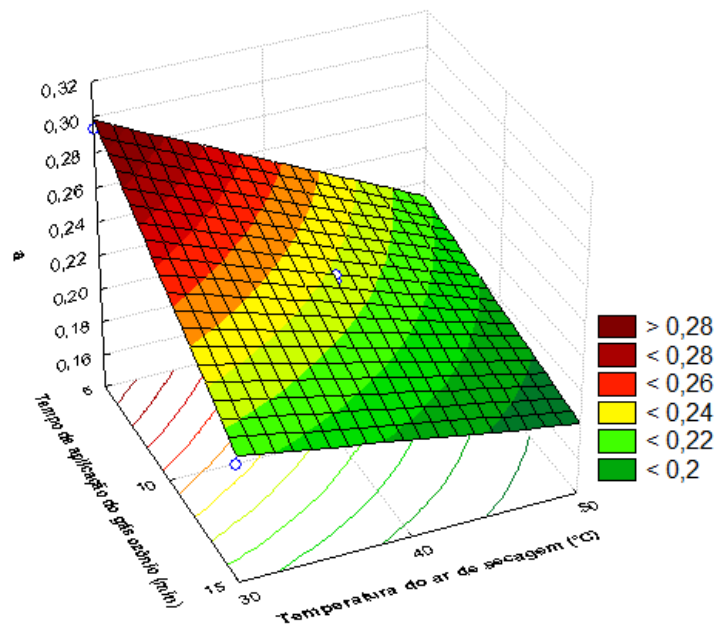


Figura 5 Superfície de resposta para prever o coeficiente a da equação do Modelo de aproximação da difusão.

Na Tabela 11 são apresentados os efeitos estimados para o coeficiente k da equação de Aproximação da difusão para prever o processo de secagem de soja, juntamente com os parâmetros da regressão.

Tabela 11 Efeitos estimados do coeficiente **k** do modelo de Aproximação da difusão para prever o processo de secagem

Fatores	Efeitos	P-valor	Coefficientes
Média/Interação	0,080539	0,007172*	0,080539
Tempo (min) (t)	-0,002912	0,887251 ^{ns}	-0,001456
Temperatura (°C) (T)	0,070001	0,061086*	0,035000
T x t	-0,042674	0,142986 ^{ns}	-0,021337

* significativo a 10% de probabilidade. ^{ns} não significativo a 10% de probabilidade.

Os resultados da avaliação estatística para o coeficiente **k** mostram que a variável temperatura foi significativa em 0,07 na perda da água pela semente de acordo com o aumento da temperatura. A ANOVA para a variável **k** é apresentada na Tabela 12.

Tabela 12 Análise de variância para o coeficiente **k** da equação do Modelo de aproximação da difusão

Fonte de variação	SQ	GL	MQ	F	F tab
Regressão	4,90E-03	1	4,90E-03	8,55	4,06
Resíduo	2,87E-03	5	5,73E-04		
Falta de ajuste	2,21E-03	3	7,36E-04	2,23	9,16
Erro Puro	6,58E-04	2	3,29E-04		
Total	7,77E-03	6			

Coefficiente de determinação (R^2) = 0,63.

O valor obtido para o R^2 foi de 0,63, indicando, assim, que 63% da variabilidade na resposta podem ser explicadas pelo modelo. De acordo com a Tabela 9 o modelo foi considerado preditivo e sem falta de ajuste.

O modelo matemático preditivo do coeficiente **k** da equação do Modelo de aproximação da difusão em função da temperatura e do tempo de aplicação é apresentado na Equação 13.

$$\hat{k} = 0,0805 + 0,0350 T \quad \text{Eq.(13)}$$

Sendo:

\hat{k} - Coeficiente **k** do modelo de aproximação da difusão (Eq. 9);

T - valor codificado de temperatura do ar de secagem.

Na figura 6 é apresentado o gráfico gerado pelo modelo da Equação 13.

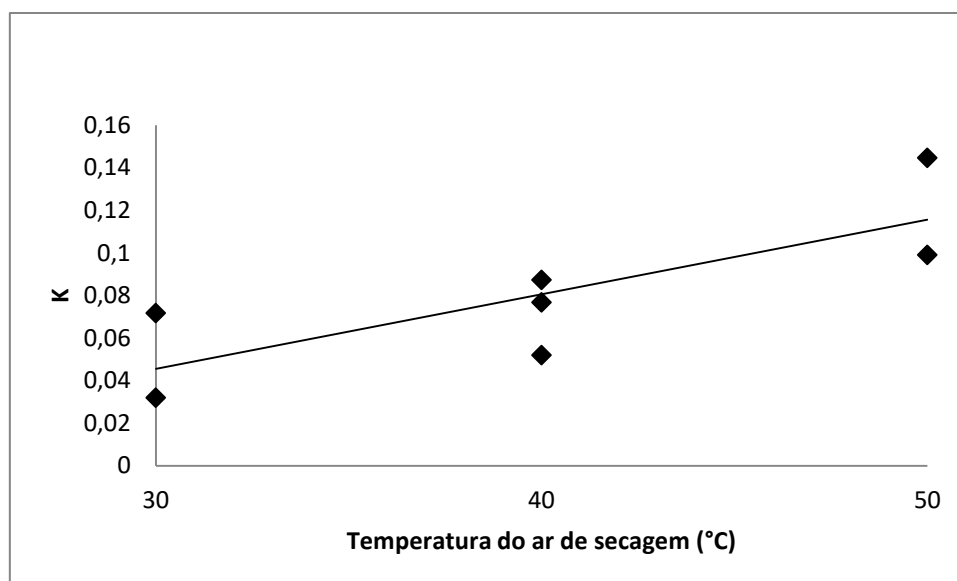


Figura 6 Resposta do coeficiente **k** da equação do Modelo de aproximação da difusão.

Na tabela 13, são apresentados os efeitos estimados para o coeficiente **b** da equação de aproximação de difusão para prever o processo de secagem de soja, juntamente com os parâmetros da regressão.

Tabela 13 Efeitos estimados do coeficiente **b** do modelo de Aproximação da difusão para prever o processo de secagem

Fatores	Efeitos	P-valor	Coeficientes
Média/Interação	0,067365	0,000214*	0,067365
Tempo (min) (t)	-0,031222	0,006904*	-0,015611
Temperatura (°C) (T)	-0,021375	0,014559*	-0,010688
T x t	0,011624	0,046826*	0,005812

* significativo a 10% de probabilidade. ^{ns} não significativo a 10% de probabilidade

Os efeitos obtidos para o coeficiente **b** mostram que quando aumenta-se o tempo de aplicação de O₃ de 5 para 15 minutos há um decréscimo de -0,031 no parâmetro ajustado, e de -0,021 em função da temperatura, avaliando pelo valor de p todos os fatores são significativos a um intervalo de confiança de 90%.

A partir das variáveis significativas, efetuou-se uma análise de variância (ANOVA) que é apresentada na Tabela 14.

Tabela 14 Análise de variância para o coeficiente **b** da equação do Modelo de aproximação da difusão

Fonte de variação	SQ	GL	MQ	F	F tab
Regressão	1,57E-03	3	5,22E-04	8,59	5,39
Resíduo	1,82E-04	3	6,08E-05		
Falta de ajuste	1,69E-04	1	1,69E-04	24,81	8,53
Erro Puro	1,36E-05	2	6,80E-06		
Total	1,75E-03	6			

Coeficiente de determinação (R^2) = 0,90

O valor obtido para o R^2 foi de 0,90, indicando, assim, que 90% da variabilidade na resposta pode ser explicada pelo modelo. Este valor é considerado satisfatório para a obtenção de um modelo válido e útil para fins preditivos. Este modelo foi considerado preditivo; contudo, apresentou falta de ajuste.

O modelo matemático preditivo do coeficiente **b** da equação do Modelo de aproximação da difusão em função da temperatura e do tempo de aplicação é apresentado na Equação 14.

$$\hat{b} = 0,0673 - 0,0156 t - 0,01068 T + 0,005 t T \quad \text{Eq.(14)}$$

Sendo:

\hat{b} - Coeficiente **b** do modelo de aproximação da difusão (Eq. 9);

t - valor codificado de tempo da aplicação do ozônio;

T - valor codificado de temperatura do ar de secagem.

Na figura 7 é apresentada a superfície de resposta gerada pelo modelo da equação número (14).

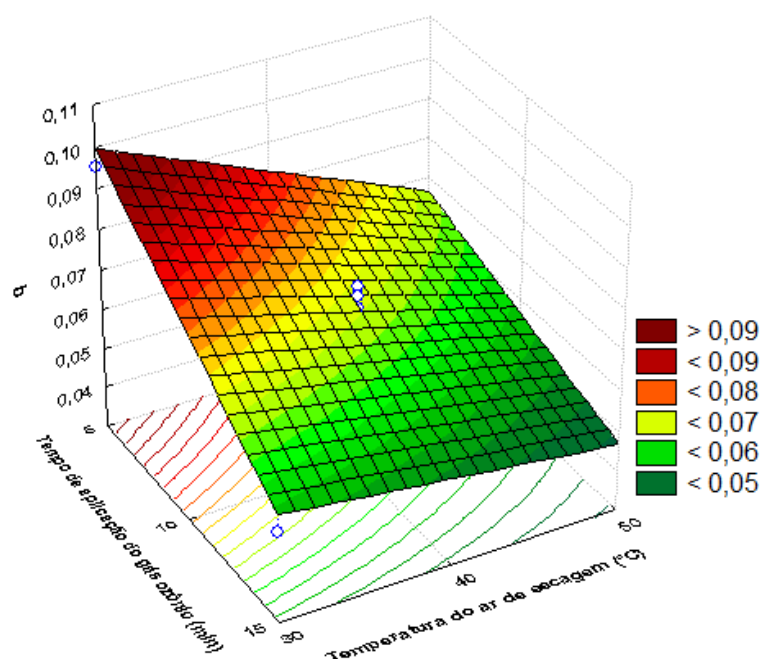


Figura 7 Superfície de resposta para o coeficiente **b** da equação do Modelo de aproximação da difusão.

5.1.3 Efeitos da secagem com O_3 na descontaminação microbiológica

Na contaminação microbiológica, o processo de secagem das sementes contribuiu para a diminuição das colônias fúngicas, efeito esse que foi observado nas secagens sem a aplicação de ozônio de 30, 40 e 50 °C. Isso ocorre porque o

desenvolvimento dos microrganismos pode ser limitado ou inibido pela secagem de grãos em secadores ou por ventilação ativa, reduzindo o teor de umidade até 13 a 14% (ZVICEVIČIUS et al., 2005). No entanto, os meios mencionados não asseguram a destruição total dos microrganismos nos grãos (GLUSHCHENKO; GLUSHCHENKO, 2003). Os dados são apresentados na Tabela 15.

Tabela 15 Contagem de colônias fúngicas (UFC g⁻¹) após secagem (AS) e após 45 dias de armazenamento (AA) e redução em relação ao controle

Tratamentos	AS (UFC g⁻¹)	Redução (%)	AA (UFC g⁻¹)	Redução (%)
Controle de Campo	84x10 ⁻³	---	84 x10 ⁻³	---
30 °C 5 minutos de O ₃	14 x10 ⁻³	83,34%	19 x10 ⁻³	77,39%
30 °C 15 minutos de O ₃	14 x10 ⁻³	83,34%	18 x10 ⁻³	78,58%
50 °C 5 minutos de O ₃	27 x10 ⁻³	67,86%	33 x10 ⁻³	60,72%
50 °C 15 minutos de O ₃	21 x10 ⁻³	75,00%	24 x10 ⁻³	71,43%
40 °C 10 minutos de O ₃	15 x10 ⁻³	82,15%	21 x10 ⁻³	75,00%
40 °C 10 minutos de O ₃	20 x10 ⁻³	76,20%	23 x10 ⁻³	72,63%
40 °C 10 minutos de O ₃	23 x10 ⁻³	72,62%	27 x10 ⁻³	67,86%
Tratamentos sem aplicação de O₃				
30 °C	43 x10 ⁻³	48,81%	75 x10 ⁻³	11,00%
50 °C	32 x10 ⁻³	61,91%	56 x10 ⁻³	33,34%
40 °C	35 x10 ⁻³	58,34%	38 x10 ⁻³	54,77%

O gás ozônio foi eficiente na combinação com a temperatura de secagem de 30 °C e os tempos de aplicações do gás de 5 e 15 minutos, diminuindo em 83,34% a quantidade de colônias fúngicas em relação ao controle de campo.

Na Tabela 16 são apresentados os efeitos estimados de contaminação fúngica (AS) para prever o processo de secagem do milho, juntamente com os parâmetros de regressão.

Tabela 16 Efeitos estimados da análise de contaminação fúngica (AS)

Fatores	Efeitos	P-valor	Coefficientes
Média/Interação	19142,86	0,006307*	19142,86
Tempo (min) (t)	-3000,00	0,535242 ^{ns}	-1500,00
Temperatura (T)	10000,00	0,131801 ^{ns}	5000,00
T x t	-3000,00	0,535242 ^{ns}	-1500,00

* significativo a 10% de probabilidade. ^{ns} não significativo a 10% de probabilidade

Os resultados do teste de contaminação fúngica (AS) apresentaram diminuição de -3000 colônias conforme o aumento de tempo de aplicação de ozonização, enquanto que o aumento da temperatura fez com que a quantidade de colônias aumentasse em 10000, não sendo estatisticamente significativo a (p<0,1).

Na tabela 17 são apresentados os efeitos estimados de contaminação fúngica (AA) para prever o processo de secagem do milho, juntamente com os parâmetros de regressão.

Tabela 17 Efeitos estimados da análise de contaminação fúngica após 45 dias de armazenamento (AA)

Fatores	Efeitos	P-valor	Coefficientes
Média/Interação	23571,43	0,002391*	23571,43
Tempo (min) (t)	-5000,00	0,243350 ^{ns}	-2500,00
Temperatura (T)	10000,00	0,082015 ^{ns}	5000,00
T x t	-4000,00	0,320634 ^{ns}	-2000,00

* significativo a 10% de probabilidade. ^{ns} não significativo a 10% de probabilidade.

Os efeitos relativos à contaminação fúngica (AA) apresentam uma diminuição de -5000 colônias de acordo com o aumento de tempo de ozonização, enquanto que a temperatura fez com que aumentassem em 10000 colônias após o período de armazenagem, sendo estatisticamente significativo a ($p < 0,1$).

A partir das variáveis significativas, efetuou-se uma análise de variância (ANOVA), que é apresentada na Tabela 18.

Tabela 18 Análise de variância para a variável contaminação fúngica após 45 dias de armazenamento (AA)

Fonte de variação	SQ	GL	MQ	F	F tab
Regressão	1,00E+08	1	1,00E+08	8,37	4,06
Resíduo	5,97E+07	5	11942857,14		
Falta de ajuste	4,10E+07	3	13682539,68	1,47	9,16
Erro Puro	1,87E+07	2	9333333,33		
Total	1,60E+08	6			

Coefficiente de determinação (R^2) = 0,63.

O valor obtido para o R^2 foi de 0,63, indicando assim que 63% da variabilidade na resposta pode ser explicada pelo modelo. Este valor é considerado insatisfatório para a obtenção de um modelo válido e útil para fins preditivos.

O modelo matemático preditivo para a temperatura da variável contaminação fúngica (AA) é apresentado na Equação 16.

$$\widehat{UFC} = 23571,43 + 5000 T \quad \text{Eq.(16)}$$

Sendo:

\widehat{UFC} - variável resposta para contaminação fúngica após armazenagem;

T - temperatura de secagem.

Na Figura 8 são apresentadas as superfícies de resposta geradas pela Equação 16.

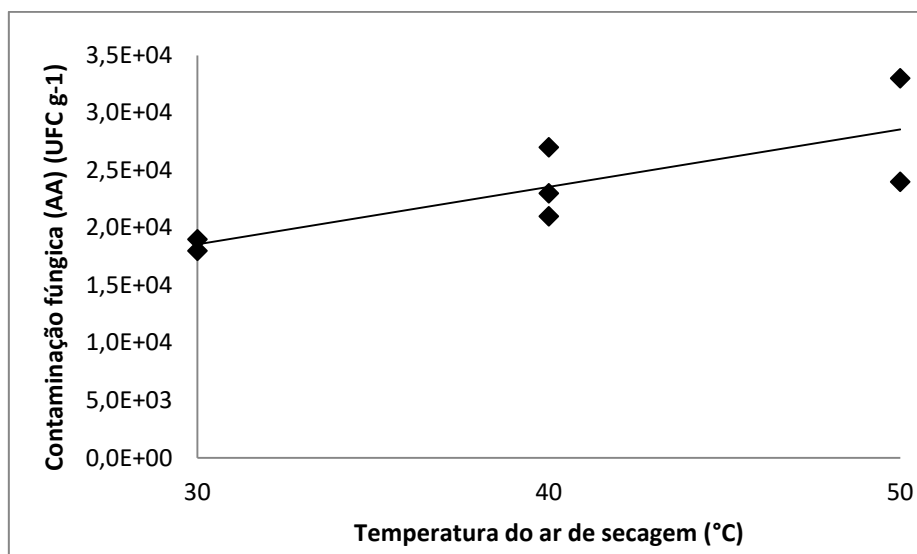


Figura 8 Resposta para prever a contaminação fúngica após o armazenamento (AA) em função da temperatura do ar de secagem, sob diferentes combinações de tempo e temperatura.

Na Tabela 19 são apresentados os efeitos estimados de descontaminação fúngica (AS) para prever o processo de secagem do milho, juntamente com os parâmetros de regressão.

Tabela 19 Efeitos estimados da análise de descontaminação fúngica (AS)

Fatores	Efeitos	P-valor	Coefficientes
Média/Interação	77,2157	0,000555*	77,21571
Tempo (min) (t)	3,57	0,535586 ^{ns}	1,78500
Temperatura (T)	-11,91	0,131823 ^{ns}	-5,95500
T x t	3,5700	0,535586 ^{ns}	1,78500

* significativo a 10% de probabilidade. ^{ns} não significativo a 10% de probabilidade.

Os resultados relativos à descontaminação fúngica mostram que, de acordo com o aumento da exposição ao gás ozônio para a variável (AS), ocorria aumento da descontaminação em 3,57 colônias, e conforme a temperatura era aumentada, a descontaminação sofria decréscimo de -11,91 colônias, não sendo estatisticamente significativo a ($p < 0,1$).

Os resultados para a variável (AA) são apresentados na tabela 20.

Tabela 20 Efeitos estimados da análise de descontaminação fúngica após 45 dias de armazenamento (AA)

Fatores	Efeitos	P-valor	Coefficientes
Média/Interação	71,9443	0,000365*	71,94429
Tempo (min) (t)	5,95	0,243448 ^{ns}	2,97500

Temperatura (T)	-11,91	0,081937 *	-5,95500
T x t	4,7600	0,320744 ^{ns}	2,38000

* significativo a 10% de probabilidade. ^{ns} não significativo a 10% de probabilidade

Os resultados obtidos para a variável (AA) foram de aumento da descontaminação fúngica de 5,95 de acordo com o aumento no tempo da exposição do gás, e decréscimo de -11,91 de acordo com o aumento da temperatura, sendo seu resultado estatisticamente significativo a ($p < 0,1$).

A partir das variáveis significativas, efetuou-se uma análise de variância (ANOVA), que é apresentada na Tabela 21.

Tabela 21 Análise de variância para a variável descontaminação fúngica após 45 dias de armazenamento (AA)

Fonte de variação	SQ	GL	MQ	F	F tab
Regressão	141,84810	1	141,85	8,39	4,06
Resíduo	84,57847	5	16,92		
Falta de ajuste	58,12867	3	19,38	1,47	9,16
Erro Puro	26,44980	2	13,22		
Total	226,42657	6			

O valor obtido para o R^2 foi de 0,63, indicando, assim, que 63% da variabilidade na resposta pode ser explicada pelo modelo. Este valor é considerado insatisfatório para a obtenção de um modelo válido e útil para fins preditivos.

O modelo matemático preditivo para a temperatura da variável descontaminação fúngica (AA) é apresentado na Equação 17.

$$\widehat{Df AA} = 71,94429 - 5,95500 T \quad \text{Eq.(17)}$$

Sendo:

$\widehat{Df AA}$ - variável resposta para descontaminação fúngica após armazenagem;

T - temperatura de secagem.

Na Figura 9 é apresentada a superfície de resposta gerada pela Equação 17.

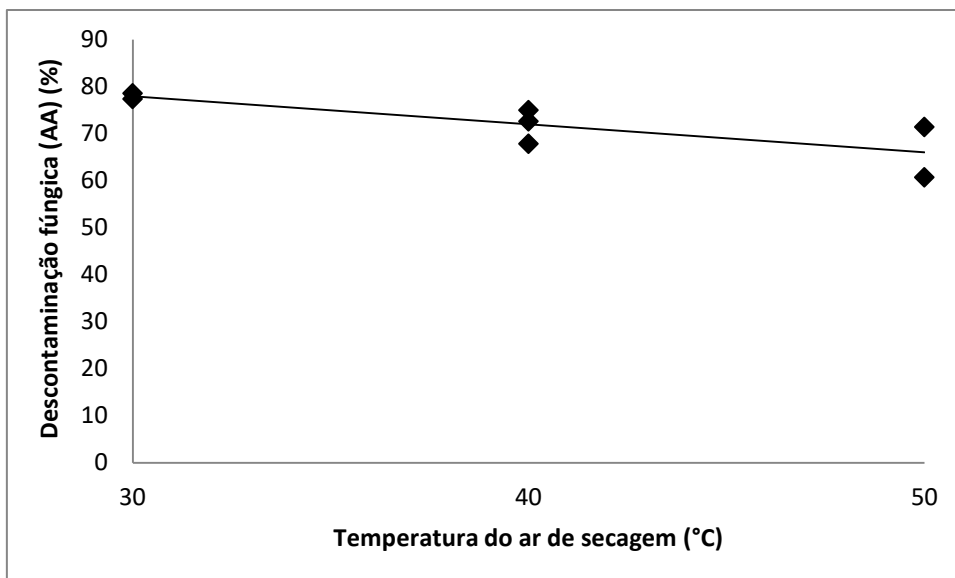


Figura 9 Resposta para prever a descontaminação fúngica após o armazenamento (AA) em função da temperatura do ar de secagem, sob diferentes combinações de tempo e temperatura.

Os resultados observados devem-se ao fato da interação entre o gás ozônio e a temperatura, pois conforme a temperatura aumenta, o gás acaba tornando-se mais instável.

A eficácia do gás ozônio na temperatura de 30 °C pode ser explicada devido ao tempo de demora na remoção da umidade excessiva contida no interior da semente por meio de evaporação causada pelo ar aquecido a 30 °C e, assim, o ozônio conseguiu atuar mais livremente em ambiente com maior umidade. Tal observação foi verificada por White et al. (2013), examinando o efeito do O₃ gasoso nas concentrações de 0, 50, 500, 1000 e 15000 ppm (equivalentes a aproximadamente 0; 0,11; 1,10; 2,20; 33,00 mg L⁻¹) por um período de 60 min e fluxo de 0,5 L min⁻¹ em grãos de milho com teor de água de 18, 22 e 26%, quando observaram que o ozônio é capaz de reduzir o índice de ocorrência de fungos em grãos de milho durante o armazenamento. Segundo os autores, a ozonização no milho com maior teor de água foi mais eficiente no controle da atividade fúngica quando comparada às amostras de milho com menor teor de água.

Do mesmo modo, Mylona et al. (2014), ao ozonizar grãos de milho naturalmente contaminados com fungos do gênero *Fusarium*, nas concentrações de 100 e 200 ppm (equivalentes a aproximadamente 0,22 e 0,44 mg L⁻¹), verificaram uma redução de 100% nas populações fúngicas, embora não tenham observado diferença entre as duas concentrações aplicadas do gás. Porém, alguns estudos comprovam que períodos de exposição mais longos podem ter um efeito mais efetivo no controle de fungos em grãos (ALENCAR et al., 2012; SANTOS et al., 2016).

O efeito prolongado de utilização do gás ozônio na descontaminação de grãos de milho híbridos foi verificado por Ribeiro (2016), o índice de ocorrência dos fungos *A. flavus*, *F. verticillioides* e *Penicillium* spp. reduziu 96% no híbrido 30F53H após 60 h de exposição ao ozônio na concentração de 13,5 mg L⁻¹. Já no híbrido AS1581 PRO foram observadas reduções de 93,8, 99,3 e 99,7 para o índice de ocorrência de *A. flavus*, *F. verticillioides* e *Penicillium* spp., na mesmo tempo de exposição e concentração.

Resultados semelhantes em relação à umidade dos grãos no momento da aplicação do gás foram observados em outras culturas, como trigo e cevada, em estudo realizado por Raila et al. (2006), em que os pesquisadores observaram 2,2 vezes maior descontaminação de fungos em grãos de trigo em uma umidade de grãos de 15,2% e 3 vezes maior na umidade de grãos de 22,0% em comparação com condições secas, e por Allen; Wu e Doan (2003), quando, na aplicação de ozônio para descontaminação de cevada armazenada, os pesquisadores observaram que a maior presença de água nos grãos de cevada melhorou a eficácia do ozônio como fungicida.

Isto pode ocorrer devido à maior eficácia de ozônio em meios aquosos em comparação com uma fase gasosa e pelo movimento mais lento do ozônio dentro das camadas de grãos em condições de umidade maior, permitindo, assim, maior tempo de exposição. Por isso, a umidade é um fator importante e que influencia na eficácia de ozônio. A aplicação de ozônio gasoso seco é relatada como sendo menos eficaz se comparada à úmida (ALLEN; WU; DOAN, 2003, KIM; YOUSEF; KHADRE, 2003).

Outro fator importante diz respeito à estabilidade do gás ozônio quanto à temperatura. Por ser altamente instável, sua dissociação para oxigênio é muito mais rápida em contato com temperaturas elevadas e, por tal motivo, o gás não se mostrou tão eficiente quando aplicado juntamente com a temperatura de 50 °C: quanto maior a concentração e maior a temperatura, maior a dissociação, e vice-versa.

5.1.4 Teor de umidade

A utilização do gás ozônio durante a secagem dos grãos não afetou a cinética da secagem. A perda de umidade pelas sementes durante a secagem foi a necessária para o seu armazenamento, os resultados obtidos com a secagem e em comparação com a perda de umidade após 45 dias de armazenamento embalados em sacos de papel craft e em temperatura ambiente (± 28 °C) são apresentados na Tabela 22.

Tabela 22 Teor de umidade de das sementes de milho após a realização das secagens (AS) e após 45 dias de armazenamento (AA)

Tratamentos	AS (%)	AA (%)
30 °C 5 minutos de O ₃	12,03	11,19
30 °C 15 minutos de O ₃	11,23	11,12
50 °C 5 minutos de O ₃	12,23	10,84
50 °C 15 minutos de O ₃	12,21	10,83
40 °C 10 minutos de O ₃	11,83	10,7
40 °C 10 minutos de O ₃	11,62	10,81
40 °C 10 minutos de O ₃	11,53	10
Tratamentos sem aplicação de O₃		
30 °C	10,34	8,58
40 °C	10,13	10,15
50 °C	10,74	10,55

Os resultados de testes estatísticos para o teor de umidade (AS) demonstraram que o tempo de aplicação de ozônio e da temperatura não foram estatisticamente significativos. O teor de umidade final das sementes, -0,41%, com o aumento do tempo de aplicação de ozônio e o aumento da temperatura, influenciou em 0,59% no teor umidade. Estes resultados eram os esperados pois as secagens eram encerradas quando o teor de umidade ficava em torno de 12%.

Os resultados de testes estatísticos para o teor de umidade (AS) demonstraram que o tempo de aplicação de ozônio e da temperatura não foram estatisticamente significativos. O teor de umidade final das sementes, -0,04%, com o aumento do tempo de aplicação de ozônio e o aumento da temperatura, influenciou em -0,32% no teor umidade.

A redução do teor de água observada nos grãos armazenados durante o período de 45 dias é resultado da capacidade da semente de ceder ou absorver umidade de acordo com a umidade relativa do ar contido no espaço intersticial da massa de grãos. No equilíbrio higroscópico, a pressão de vapor d'água dentro do grão é igual à pressão de vapor d'água contido no ar. Quando o grão e o ar que o envolve apresentam diferentes pressões de vapor, a umidade se movimenta da substância com maior pressão de vapor para aquela que possui menor pressão até atingir um ponto de equilíbrio. Neste ponto cessa o transporte da umidade. Devido a esta propriedade, que se constitui uma das características mais importantes, os grãos armazenados em recipientes permeáveis, como, por exemplo, o saco de juta, tem o seu teor de umidade frequentemente alterado pelas oscilações da umidade relativa do ar atmosférico (D'ARCE, 2004).

Paraginski et al. (2015), também observou a redução do teor de água em sementes mantidas na temperatura controlada de 35 °C o valor reduziu de 14,31% no início do armazenamento para 7,79% ao final de 12 meses. Também está de acordo, com estudos realizados por Faroni et al. (2005), que encontraram decréscimo no teor de água inicial de grãos de milho armazenados com 13,5% durante 6 meses de armazenamento nas temperaturas de 30 e 40 °C.

Segundo Bewley e Black (1992), na secagem das sementes, os tonoplastos e plasmodesmos, que normalmente retêm solutos, perdem sua integridade, deixando de agir como barreira a embebição. Se esta for muito rápida ou extemporânea não ocorre a sua reconstituição, ocorrendo perda dos solutos e consequente queda do vigor da semente.

5.1.5 Efeitos da secagem com gás ozônio na germinação das sementes de milho

Os resultados da germinação das sementes de milho após a secagem em diferentes temperaturas e tempos de aplicação de O₃ são apresentados na Tabela 23. Todos os tratamentos apresentaram um percentual de germinação em média de 91,7%, independente da temperatura de secagem e do tempo de aplicação do gás ozônio durante o processo de secagem.

Tabela 23 Germinação de sementes de milho após a realização das secagens (AS) e após 45 dias de armazenamento (AA)

Tratamentos	AS (%)	AA (%)
30 °C 5 minutos de O ₃	93	92
30 °C 15 minutos de O ₃	90	91
50 °C 5 minutos de O ₃	91	94
50 °C 15 minutos de O ₃	91	88
40 °C 10 minutos de O ₃	91	90
40 °C 10 minutos de O ₃	93	91
40 °C 10 minutos de O ₃	91	90
Tratamentos sem aplicação de O₃		
30 °C	92	89
50 °C	93	92
40 °C	90	89

De acordo com a Tabela 24, são apresentados os efeitos estimados para os teores de germinação (AS) para prever o processo de secagem do milho, juntamente com os parâmetros de regressão.

Tabela 24 Efeitos estimados da análise do teor de germinação, após a secagem (AS)

Fatores	Efeitos	P-valor	Coefficientes
Média/Interação	91,42	0,000023*	91,42

Tempo (min) (t)	-1,50	0,323519 ^{ns}	-0,75
Temperatura (T)	-0,50	0,707230 ^{ns}	-0,25
T x t	1,50	0,323519 ^{ns}	0,75

*Significativo a 10% de probabilidade. ^{ns} não significativo a 10% de probabilidade.

Os resultados da análise estatística para a variável (AS) demonstram que ao ponto que se aumenta o tempo de aplicação de ozônio tem um decréscimo de -1,5 na germinação das sementes, enquanto que o aumento da temperatura influencia em -0,5, não sendo estatisticamente significativo a ($p < 0,1$).

A Tabela 25 apresenta os efeitos estimados para os teores de germinação (AA) para prever o processo de secagem do milho, juntamente com os parâmetros de regressão.

Tabela 25 Efeitos estimados da análise do teor de germinação, após 45 dias de armazenamento (AA)

Fatores	Efeitos	P-valor	Coefficientes
Média/Interação	90,85	0,000006*	90,85714
Tempo (min) (t)	-3,50	0,026148*	-1,75000
Temperatura (T)	-0,50	0,477767 ^{ns}	-0,25000
T x t	-2,50	0,049414*	-1,25000

*significativo a 10% de probabilidade. ^{ns} não significativo a 10% de probabilidade

Os resultados de germinação de sementes de milho após a secagem (AA) demonstraram que o tempo de aplicação de ozônio e da temperatura foram estatisticamente significativo a ($p < 0,1$). Com o aumento do tempo de ozonização observou-se uma diminuição de -3,5% no teor de germinação enquanto o aumento da temperatura promoveu uma diminuição de 0,5%.

Com relação ao percentual de germinação das sementes realizados pelo teste padrão de germinação (TPG), a diminuição no índice em comparação com o controle é devido à retirada de umidade pelo processo de secagem, fator esse que é explicado pela desintegração do sistema de membranas celulares, possivelmente por alterações nos lipídeos que as constituem. Quando a água é removida da semente durante o processo de secagem, ocorre a perda da integridade estrutural das membranas, sendo que a água está associada a superfícies macromoleculares, mantendo sua integridade (PAMMENTER; BERJAK, 1999).

A partir das variáveis significativas, efetuou-se uma análise de variância (ANOVA), que é apresentada na Tabela 26.

Tabela 26 Resumo da análise de variância da regressão para a resposta germinação após 45 dias (AA)

Fonte de variação	SQ	GL	MQ	F	F tab
Regressão	12,25000	1	12,25	7,12	4,06

Resíduo	8,60714	5	1,72		
Falta de ajuste	7,94048	3	2,65	7,94	9,16
Erro Puro	0,66667	2	0,33		
Total	20,85714	6			

O coeficiente de correlação (R^2) foi de 0,59, indicando que 59% da variabilidade na resposta pode ser explicada pelo modelo. Este valor é considerado insatisfatório para a obtenção de um modelo válido e útil para prever os resultados observados.

O modelo matemático preditivo para tempo de aplicação do gás ozônio da variável germinação (AA) é apresentado na Equação 15.

$$\widehat{Ger AA} = 90,857 - 1,750 t \quad \text{Eq.(15)}$$

Sendo:

$\widehat{Ger AA}$ - variável resposta para germinação após armazenagem;

t - valor codificado de tempo da aplicação do ozônio.

Na Figura 10 é apresentada a superfície de resposta gerada pela Equação 15.

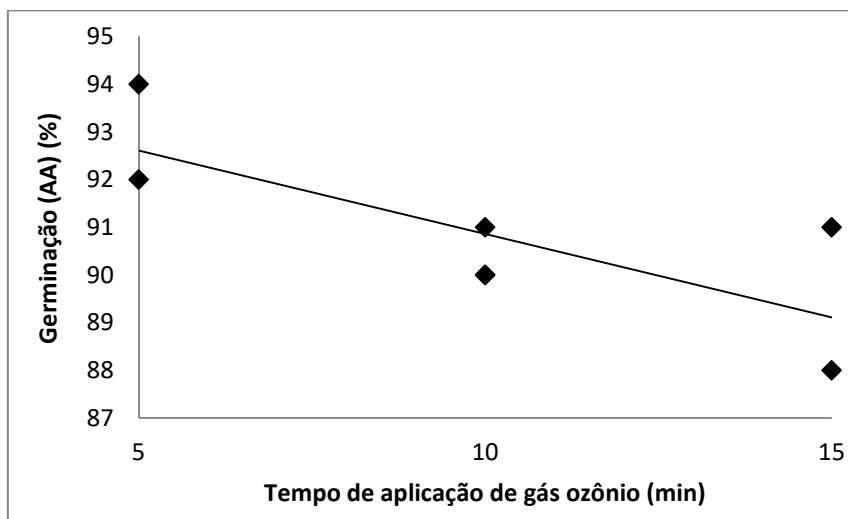


Figura 10 Gráfico de resposta para prever a germinação após o armazenamento em função do tempo de aplicação de ozônio e a interação entre tempo e temperatura.

Este fato pode ser explicado devido ao genótipo do milho utilizado. Autores constataram haver tolerância diferente de sementes de milho secas a altas temperaturas, em função do material genético considerado (AHRENS et al., 1998; ROVERI et al., 2004). Genótipos tolerantes a altas temperaturas de secagem podem

proporcionar redução no tempo de secagem, uma etapa crítica no sistema de produção de sementes de milho (ROVERI et al., 2004).

Constata-se também que a aplicação de ozônio durante a secagem não influenciou a qualidade fisiológica das sementes, o que também foi observado por Reis (2015), cujo objetivo foi tratar as sementes de milho com ozônio mas sem o objetivo da secagem, sendo que a aplicação do gás era feita na quantidade de 10 e 20 mg L⁻¹, por períodos de exposição de 0,5 hora, 1 hora, 1,5 horas e 2 horas, demonstrando que gás ozônio não interferiu na qualidade fisiológica das sementes de milho e que houve uma tendência de favorecimento da germinação na concentração de 20 mg L⁻¹.

No estudo com milho de Violleau et al. (2007), foi observado favorecimento do comprimento de plântulas em sementes que foram tratadas com ozônio; contudo, quando se aumentou o período de exposição de 6 para 20,5 minutos, observou-se redução na taxa de germinação.

5.1.6 Germinação avaliada pelo do teste de tetrazólio

O teste de tetrazólio não apresentou danos aos tecidos das sementes, sendo que estas continuaram viáveis após a aplicação da secagem com o ozônio. O teste é realizado juntamente com o teste de germinação de sementes e admite diferença de até 5% entre os seus resultados (ABRATES, 1999).

Os resultados encontrados são apresentados na tabela 27.

Tabela 27 Viabilidade das sementes pelo teste de tetrazólio, após secagem (AS) e após 45 dias de armazenamento (AA)

Tratamentos	AS (%)	AA(%)
30 °C 5 minutos de O ₃	93	93
30 °C 15 minutos de O ₃	93	90
50 °C 5 minutos de O ₃	90	90
50 °C 15 minutos de O ₃	94	91
40 °C 10 minutos de O ₃	93	93
40 °C 10 minutos de O ₃	94	92
40 °C 10 minutos de O ₃	95	90
Tratamentos sem aplicação de O₃		
30 °C	94	94
50 °C	94	87
40 °C	90	92

Os resultados analisados para a variável (AS) demonstraram que o tempo de aplicação de ozônio e da temperatura não foram estatisticamente significativos a ($p < 0,1$). Os resultados dos efeitos são apresentados na tabela 2

Tabela 28 Efeitos estimados da análise de tetrazólio, após secagem (AS)

Fatores	Efeitos	P-valor	Coefficientes
Média/Interação	93,14	0,000016*	93,14286
Tempo (min) (t)	2,00	0,183503 ^{ns}	1,00000
Temperatura (T)	-1,00	0,422650 ^{ns}	-0,50000
T x t	2,00	0,183503 ^{ns}	1,00000

*Significativo a 10% de probabilidade. ^{ns} não significativo a 10% de probabilidade

Com o aumento do tempo de ozonização observou-se aumento de 2,00 na avaliação de tetrazólio enquanto que o aumento da temperatura promoveu diminuição de -1,00 não sendo estatisticamente significativos a ($p < 0,1$).

O mesmo resultado foi encontrado para a variável (AA), apresentado na Tabela 29.

Tabela 29 Efeitos estimados da análise de tetrazólio, após 45 dias de armazenamento (AA)

Fatores	Efeitos	P-valor	Coefficientes
Média/Interação	91,28	0,000040*	91,28571
Tempo (min) (t)	-1,00	0,579916 ^{ns}	-0,50000
Temperatura (T)	-1,00	0,579916 ^{ns}	-0,50000
T x t	2,00	0,320634 ^{ns}	1,00000

*significativo a 10% de probabilidade. ^{ns} não significativo a 10% de probabilidade

Onde o aumento da exposição ao gás ozônio teve decréscimo de -1,00 e a temperatura de -1,00, também não sendo resultados significativos estatisticamente a ($p < 0,1$).

5.1.7 Teste de condutividade elétrica nas sementes

A avaliação da condutividade elétrica de grãos de milho constitui um dos procedimentos analíticos com o propósito de se analisar o vigor e, portanto, a condição fisiológica destes grãos. Seus resultados expressam a quantidade de íons lixiviados do interior dos grãos para o meio externo, ou seja, a solução na qual estão mergulhados, representando diretamente seu grau de deterioração (VIEIRA; CARVALHO, 1994). Resultados que possuem menor valor são as sementes mais vigorosas: quanto maior o valor da condutividade, pior a qualidade da semente. Os resultados são apresentados na Tabela 30.

Tabela 30 Viabilidade das sementes pelo teste de condutividade elétrica, após secagem (AS) e após 45 dias de armazenamento (AA)

Tratamentos	AS ($\mu\text{S.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$)	AA ($\mu\text{S.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$)
30 °C 5 minutos de O ₃	10,17	11,18
30 °C 15 minutos de O ₃	15,32	15,5
50 °C 5 minutos de O ₃	15,18	15,24

50 °C 15 minutos de O ₃	14,06	14,5
40 °C 10 minutos de O ₃	16,45	17,8
40 °C 10 minutos de O ₃	16,93	18,44
40 °C 10 minutos de O ₃	15,33	15,66
Tratamentos sem aplicação de O₃		
30 °C	13,07	17,39
40 °C	16,5	17,51
50 °C	14,31	16,39

De acordo com a análise estatística realizada não houve diferença significativa ($p < 0,1$) dos resultados da variável (AS). Os resultados dos efeitos são apresentados na Tabela 31.

Tabela 31 Efeitos estimados da análise de tetrazólio, após secagem (AS)

Fatores	Efeitos	P-valor	Coefficientes
Média/Interação	14,77714	0,000441*	14,77714
Tempo (min) (t)	2,01	0,133563 ^{ns}	1,00750
Temperatura (T)	1,87	0,149823 ^{ns}	0,93750
T x t	-3,13	0,062255 ^{ns}	-1,56750

*significativo a 10% de probabilidade. ^{ns} não significativo a 10% de probabilidade

A condutividade elétrica da variável (AS) aumentou em 2,01 de acordo com o aumento do tempo à exposição ao gás ozônio e, para a temperatura, aumento de 1,87, não sendo, portanto, resultado estatisticamente significativo a ($p < 0,1$).

Os resultados dos efeitos para a variável (AA) são apresentados na Tabela 32.

Tabela 32 Efeitos estimados da análise de tetrazólio, após 45 dias de armazenamento (AA)

Fatores	Efeitos	P-valor	Coefficientes
Média/Interação	15,47429	0,001262*	15,47429
Tempo (min) (t)	1,79	0,343900 ^{ns}	0,89500
Temperatura (T)	1,53	0,403548 ^{ns}	0,76500
T x t	-2,53	0,224382 ^{ns}	-1,26500

*significativo a 10% de probabilidade. ^{ns} não significativo a 10% de probabilidade

A condutividade elétrica aumentou em 1,79 de acordo com o aumento do tempo da ozonização, enquanto o aumento da temperatura promoveu aumento de 1,53, não sendo, portanto, resultado estatisticamente significativo a ($p < 0,1$).

No estudo realizado por Pinheiro (2016), sementes de milho híbrido 30F53H foram submetidos a exposição da semente em água borbulhada sem ozônio e na concentração de 10 mg L⁻¹, em quatro períodos de tempo: 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 horas. Foi observado que o maior teste de condutividade elétrica foi encontrado na semente em água borbulhada sem ozônio, em comparação com a condição da semente em água borbulhada com ozônio na concentração de 10 mg L⁻¹, demonstrando que a

exposição da semente ao ozônio em água afetou a integridade de membranas das sementes.

6 CONCLUSÕES

- 1- Entre os modelos estudados, o que melhor representou o processo de secagem de sementes de milho utilizando gás ozônio, foi o modelo de aproximação da difusão.
- 2- O gás ozônio mostrou-se eficaz na descontaminação das sementes de milho sem que interferisse significativamente na qualidade fisiológica das sementes.
- 3- A eficiência da aplicação do gás ozônio diminui quando combinado com a temperatura de 50 °C, pois esta influencia na molécula de ozônio fazendo com que dissocie-se e retorne a oxigênio mais rapidamente.
- 4- Outros trabalhos devem ser realizados para fixar o tempo de ozônio necessário para a completa descontaminação em sementes de milho sem que essas percam suas qualidades fisiológicas.

REFERÊNCIAS

ABRATES – Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes. **Comitê de Vigor de Sementes**, 1999.

AHRENS, D. C.; BARROS, A. S. R.; VILLELA, A.; LIMA, D. Qualidade de sementes de milho (*Zea mays* L.) sob condições de secagem intermitente. **Scientia Agrícola**, v. 55, n. 2, p. 320-325, 1998.

ALENCAR, E. R.; FARONI, L. R. A.; SOARES, N. F. F.; SILVA, A. S.; CARVALHO, M. C. S. Efficacy of ozone as a fungicidal and detoxifying agent of aflatoxins in peanuts. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 92, n. 4, p. 899-905, 2012.

ALLEN, B.; WU, J.; DOAN, H.; Inactivation of fungi associated with barley grain by gaseous ozone. **Journal of Environmental Science and Health**, v. 38, n. 5, p. 617-630, 2003.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **MB-2750**: contagem de bolores e leveduras em placas. Rio de Janeiro, set. 1987. p 1-2.

ARAÚJO, E. F.; ARAÚJO, R. F.; SOFIATTI, V.; SILVA, R. F. da. Qualidade fisiológica de sementes de milho-doce colhidas em diferentes épocas. **Bragantia**, v. 65, n. 4, p. 687-692, 2006.

BABALIS, S.J.; BELESSIOTIS, V. G. Influence of the drying conditions on the drying constants and moisture diffusivity during the thin-layer drying of figs. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 65, n. 3, p. 449-458, 2004.

BAKKER-ARKEMA, F. W. **CIGR Handbook of Agricultural Engineering** Volume IV Agro-Processing Engineering. St. Joseph: American Society of Agricultural Engineers, 1999. 527 p.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Physiology and Biochemistry of seeds**. Vol. 1. New York: Springer Verlag, 1992. 390 p.

BRASIL - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009a. 399 p.

BRITO JÚNIOR, J. G. **Ozônio como agente fungicida e seu efeito na qualidade dos grãos de milho**. 68 f. 2013. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

BROOKER, D.B.; BAKKER-ARKEMA, F.W.; HALL, C.W. **Drying cereal grains**. Westport: Avi Publishing, 1974. 265 p.

BROOKER, D. B.; BAKER-ARKEMA, F. W.; HALL, C. W. **Drying and storage of grains and oilseeds**. New York: AVI Book Publication, 1992. 450 p.

CARLESSO, V. O.; BERBERT, P. A.; SILVA, R. F.; THIÉBAUT, J. T. L. Secagem, armazenamento e qualidade fisiológica de sementes de maracujá-amarelo. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 33, n. 1, p. 9-18, 2008

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. Composição química de sementes. In: CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: Funep, 2000. p. 66-97.

CARVALHO, N. M. **A secagem de sementes**. Jaboticabal: Funep, 2005. 184 p.

CHRIST, D.; KREIBICH, H.H.; VALMORBIDA, R.; SAVI, G.D.; SILVA, J.R.; SCUSSEL, V. M. Antifungal Properties of Ozone Gas in Stored Naturally Contaminated Dry Maize (*Zea mays* L.) Grains. **Scholars Journal of Engineering and Technology**, v. 5, n. 4, p. 146-152, 2017.

CONAB. **Safras / Séries Históricas, 2014**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 30 jan. 2016

CONAB. **Acompanhamento da safrabrasileira de grãos, v. 5- Safra 2015/16 - Quinto levantamento**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_02_04_11_21_34_boletim_graos_fevereiro_2016_ok.pdf>. Acesso em: 26 de fev. 2016.

CORRÊA, P. C.; CHRIST, D.; MARTINS, J. H.; MANTOVANI, B. H. M.; Curvas de dessecção e calor latente de vaporização para as sementes de milho pipoca (*zea mays*). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 2, n. 1, p. 75-79,1998.

CORRÊA, P. C.; AFONSO JÚNIOR, P. C.; MARTINS, P. M.; MELO, E. C.; RADÜNZ, L. L. Modelo matemático para representação da higroscopicidade de plantas. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. 27, n. 1, p. 8-15, 2002.

CORRÊA, P. C.; AFONSO JÚNIOR, P. C.; RIBEIRO, D. M.; SILVA, F. S. Equilíbrio higroscópico de milho, alpiste e painço: obtenção e modelagem. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 10, n. 1, p. 162-167, 2006.

CORRÊA, P. C. RESENDE, O.; MARTINAZZO, A. P.; GONELI, A. L. D.; BOTELHO, F. M. Modelagem matemática para a descrição do processo de secagem do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em camadas delgadas. **Engenharia Agrícola**, v. 27, n. 2, p. 501-507, maio/ago, 2007.

CRUZ J.C.; SILVA G.H.; PEREIRA FILHO I.A.; GONTIJO NETO M.M.; MAGALHÃES, P. C. Sistema de produção de milho safrinha de alta produtividade: Safras 2008 e 2009. **Circular Técnica,160**.Sete Lagoas, Embrapa, 2011. 10p.

DALPASQUALE, V.A. Post-harvesting corn losses indexes in a storage unit: A case study. In: LORINI, I.; BACALTCHUK, B.; BECKEL, H.; DECKERS, D.; SUNDFELD, E.;SANTOS, J.P.; BIAGI, J.D.; CELARO, J.C.; FARONI, L.R.D'A.; BORTOLINI, L.O.F.; SARTORI, M.R.; ELIAS, M.C.; GUEDES, R.N.C.; FONSECA, R.G.; SCUSSEL, V.M. (Eds.). **Proceedings of the 9th international working conference on stored product protection**. Campinas: ABRAPÓS, 15 a 18 out., p.64-70, 2006

DAYNARD, T. B.; DUNCAN, W. G. The black layer and grain maturity in corn. **Crop Science**, v. 9, n. 4, p. 473-476, 1969.

D'ARCE, M. A. B. R. **Pós colheita e armazenamento de grãos**. Texto compilado para a disciplina "LAN 2444 Tecnologia de Produtos Agropecuários II" - Departamento Agroindústria, Alimentos e Nutrição. São Paulo: ESALQ/USP, 2004.

DOYMAZ, I. Drying kinetics of White mulberry. **Journal of Food Engineering**, Netherlands, v. 61, p. 341-346, 2004.

DUBOIS, M.; COSTE, C.; DESPRES, A.G.; EFSTATHIOU, T.; NIO, C.; DUMONT, E.; Parent- Massin, D. Safety of oxygreen (R), an ozone treatment on wheat grains. Part 2. Is there a substantial equivalence between oxygreen-treated wheat grains and untreated wheat grains? **Food Additives & Contaminants**, Abingdon, v. 23, n. 1, p. 1-15, 2006.

FARIAS, A. X.; ROBBS, C. F.; BITTENCOURT, A. M.; ANDERSEN, P. M.; CORRÊA, T. B. S. Contaminação endógena por *Aspergillus* spp. em milho pós-colheita no estado do Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília v. 35, n. 3, p. 617-621, 2000

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

FLEURAT-LESSARD, F. Qualitative reasoning and integrated management of the quality of stored grain: a promising new approach. **Journal of Stored Products Research**, v. 38, n. 3, p. 191-218, 2002.

GRAHAM, D.M. Use of ozone for food processing. **Food Technology**, Chicago, v. 6, n. 51, p. 72-75, 1997.

GLUSHCHENKO, L.F.; GLUSHCHENKO, N.A. Intensifikaciya Processov Piscevyh i Sel'skohozyaystvennyh Proizvodstv Ozonovozdushnymi Smesyami. **Velikiy Novgorod**, 2003.

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

HOIGNE, J.; BADER, H. Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water. **Water Research**, Oxford, v. 17, p. 185-194, 1983.

HUNT, N. K.; MARIÑAS, B. J. Inactivation of *Escherichia coli* with ozone: chemical and inactivation kinetics. **Water Research**, Kidlington, v. 33, n. 11, p. 2633-2641, 1999.

JAY, M.J. **Modern food microbiology: mycotoxins**. 5.ed. New York : Chapman and Hall, 1996. p.595-611.

KASHANINEJAD, M.; MORTAZAVI, A.; SAFEKORDI, A.; TABIL, L.G. Thin-layer drying characteristics and modeling of pistachio nuts. **Journal of Food Engineering**, v. 78, 98-108p, 2007.

KAWASHIMA, L. M. & SOARES, L. M. V. Incidência de fumonisina B1, aflatoxinas B1, B2, G1 e G2, ocratoxina A e zearalenona em produtos de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.3, p.516-521, 2006.

KELLS, S. A.; MASON, L. J.; MAIER, D. E.; WOLOSHUK, C. P. Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. **Journal of Stored Products Research**, Elmsford, v. 37, p. 371-382, 2001.

KIM, J. G.; YOUSEF, A. E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 62, n. 9, p. 1071–1087, 1999.

KOIKE, K.; INOUE, G.; SUZUKI, M.; SAIDA, J.; KOMATSU, I. Decomposition characteristics of concentrated ozone. **Journal of Chemical Engineering of Japan**, n. 31, p. 195-200, 1998.

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

LAPOLLI, F. R.; SANTOS, L. F.; HÁSSEMER, M. E. N.; AISSE, M. M.; PIVELI, R. P. **Desinfecção de efluentes sanitários por meio da ozonização**. In: GONÇALVES, R. F. (Coord.). Desinfecção de efluentes sanitários, remoção de organismos patogênicos e substâncias nocivas: aplicação para fins produtivos como agricultura, aquicultura e hidropônica. Vitória: PROSAB, 2003. p. 169-208

LOGUERCIO-LEITE; C.; GROPOSO, C.; DRESCHLER-SANTOS, E.R.; FIGUEIREDO, N.F.; . GODINHO, P.S.; ABRÃO, R.L. A particularidade de ser um fungo – I. Constituintes celulares. **Revista Biotemas**, vol. 19 n. 2, 2006.

LULLIEN-PELLERIN, V. Ozone in grain processing. In: O'DONNELL, C.; TIWARI, B.; CULLEN, P. J.; RICE, R. G. (Eds.) **Ozone in food processing**. West Sussex: The Atrium, p. 81-96, 2012.

LUO, X.; WANG, R.; WANG, L.; LI, Y.; BIAN, Y.; CHEN, Z.; Effect of ozone treatment on aflatoxin B1 and safety evaluation of ozonized corn. **Food Control**, Vurrey, v. 37, p. 171-176, 2014 a.

LUO, X.; WANG, R.; WANG, L.; LI, Y.; WANG, Y.; CHEN, Z. Detoxification of aflatoxin in corn flour by ozone. **Journal of the science of food and agriculture**, Oxford, v. 94, n. 11, p. 2253–2258, 2014b.

MADAMBA, P. S.; DRISCOLL, R. H.; BUCKLE, K. A. Thin layer drying characteristics of garlic slices. **Journal of Food Engineering**, Netherlands, v. 29, p. 75-97, 1996.

MAHAPATRA, A.K.; MUTHUKUMARAPPAN, K.; JULSON, J.L. Applications of ozone bacteriocins and irradiation in food processing: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 45, p. 447-461, 2005.

MANLEY, T. C., & NIEGOWSKI, S. J. (1967). **Ozone**. In Encyclopedia of chemical technology (Vol. 14, 2nd ed., pp. 410–432). Wiley: New York, NY.

MARQUES, O.J.; VIDIGAL FILHO, P. S.; DALPASQUALE, V. A.; SCAPIM, C.A.; PRICINOTTO, L.F.; MACHINSKI JÚNIOR, M. Incidência fúngica e contaminações por micotoxinas em grãos de híbridos comerciais de milho em função da umidade de colheita. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 4, p. 667-675, 2009.

MASON, L.J.; WOLOSHUK, C.P.; MAIER, D.E. Efficacy of ozone to control insects, molds and mycotoxins. Nicosia. In: DONAHAYE, E.J.; NAVARRO, S.; VARNAVA, A. (Eds.) **Proceedings** of the International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products. Cyprus Printer Ltd.; Nicosia, pp. 665-670, 1997

MCDONOUGH, M. X.; CAMPABADAL, C. A.; MASON, L. J.; MAIER, D. E.; DENVER, A.; WOLOSHUK, C. Ozone application in a modified screw conveyor to treat grain for insect pests, fungal contaminants, and mycotoxins. **Journal of Stored Products Research**, Elmsford, v. 47, n. 3, p. 249-254, 2011a.

MCKENZIE, K.S.; KUBENA, L.F.; DENVER, A.J.; ROGERS, T.D.; HITCHEMS, G.D.; BAILEY, R.H.; HARVEY, R.B.; BUCKLEY, S.A.; PHILLIPS, T.D. Aflatoxicosis in turkey poult is prevented by treatment of naturally contaminated corn with ozone generated by electrolysis. **Poultry Science**, College Station, v. 77, n. 8, 1094-1102, 1998.

MENDEZ, F.; MAIER, D.E.; MASON, L.J.; WOLOSHUK, C.P. Penetration of ozone into columns of stored grains and effects on chemical composition and processing performance. **Journal of Stored Products Research**, Elmsford, v. 39, n. 1, p. 33-44, 2003.

MOHAPATRA, D.; RAO, P. S. A thin layer drying model of parboiled wheat. **Journal of Food Engineering**, London, v. 66, n. 4, p. 513-518, 2005.

MORAIS, S. J. S. **Cinética de secagem de grãos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)**. 74 f. 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola). Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2010.

MYLONA, K.; KOGKAKI, E.; SULTYOK, M.; MAGAN, N. Efficacy of gaseous ozone treatment on spore germination, growth and fumonisin production by *Fusarium verticillioides* *in vitro* and *in situ* in maize. **Journal of Stored Products Research**, v. 59, p. 178-184, 2014.

MURRAY, R.G.; PUMELA, S.; ELSON, H.E. The location of the mucopeptide of sections of the cell wall of *Escherichia coli* and other gram negative bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 11, n. 3, p. 547-560, 1965.

NAITO, S.; TAKAHARA, H. Ozone contribution in food industry in Japan. **Ozone: Science & Engineering**, v. 28, n. 6, p. 425-429, 2006.

PAES, M.C.D. Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho. **Circular Técnica**. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, n. 15, p. 1-6, 2006.

PAMMENTER, N, M.; BERJAK, P. Uma revisão da fisiologia de sementes recalcitrantes em relação aos mecanismos de tolerância à dessecação. **Seed Science research**, Wallingford, v. 9, n. 1, p. 13-37, 1999.

PARAGINSKI, P.T.; ROCKENBACH, B.A.; DOS SANTOS, R.F.; MOACIR C. ELIAS, M.C.; MAURÍCIO DE OLIVEIRA, M. Qualidade de grãos de milho armazenados em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.19, n. 4, p.358–363, 2015.

PEREIRA, J. A. M.; QUEIROZ, D.M. de. **Higroscopia**. Viçosa: Centreinar, 1987. 28 p.

PINHEIRO. A. P. F. **Efeito do tratamento de sementes com ozônio na cultura do milho**. 2016. 42 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia). Universidade de Brasília. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Brasília, 2016

PRUDENTE JR.; A.D.; KING, J.M. Efficacy and safety evaluation of ozonation to degrade aflatoxin in corn. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 67, n. 8, p. 2866-2872, 2002.

PRYOR, A.; RICE, R.G. Introduction to the use of ozone in food processing applications. In: **14th Ozone World Congress**, Dearborn, p. 26-36, 1999.

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

REIS, M. I. C. C. **Avaliação da qualidade fisiológica em sementes de milho tratadas com ozônio**. 2015, 47 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia). Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Brasília, 2015.

RESENDE, O.; FERREIRA, L.U.; ALMEIDA, D.P. Modelagem matemática para descrição da cinética de secagem do feijão-adzuki (*Vigna angularis*). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 12, n. 2, p. 171-178, 2010.

RIBEIRO, Daniel Francis, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2016. **Ozônio como agente fungicida e de degradação de micotoxinas em híbridos de milho**. Orientadora: Lêda Rita D'Antonino Faroni. Coorientador: Marco Aurélio Guerra Pimentel.

RICE, R. G. Application of ozone in water and waste water treatment. In: RICE, R. G.; BROWNING, M. J. (Eds.) **Analytical aspects of ozone treatment of water and waste water**. Syracuse: The Institute, 1986. p. 7-26.

ROVERI, J. S. C. B.; VON PINHO, E. V. de R.; VON PINHO, R. G.; SILVEIRA, C. M. DA. Tolerância de sementes de linhagens de milho à alta temperatura de secagem. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 5, p. 1107-1114, 2004.

ROZADO, A. F. **Distribuição do gás ozônio em milho armazenado em silo metálico usando sistema de aeração**. 2013. 75 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

RUSSEL, A. D.; HUGO, W. B.; AVLIFFE, G. A. J. Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization. 3. ed. **Oxford: Blackwell Science**, 1999. 826 p.

SCOTT, D.B.M.; LESHER, E.C. Effect of ozone on survival and permeability of *Escherichia coli*. **Journal of Bacteriology**, v. 85, p. 367-376, 1963.

SCUSSEL, V. M. **Micotoxinas em Alimentos**. Florianópolis: Insular, 1998. 144 p.

SILVA, L.C. **Fungos e Micotoxinas em Grãos Armazenados, 2005**. Disponível em: <<http://www.agais.com/fungos.htm>> Acesso em: 20 ago. 2016.

SILVA, J. S. **Secagem e Armazenagem de Produtos Agrícolas**. In: SILVA, J.S.; BERBERT, P. A.; RUFATO, S.; AFONSO, A.D.L. Indicadores de qualidade. Viçosa: Aprenda Fácil, 2008, 560 p. p. 63-108.

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

SILVEIRA, I. C. T. **Cloro e ozônio aplicados a desinfecção de efluente hospitalar tratado em contadores biológicos rotatórios, com avaliação de efeitos tóxicos em DAPHNIA SIMILIS**. 2004. 173 f. Tese (Doutorado em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental). Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

TEKRONY, D. M.; HUNTER, J. L. Effect of seed maturation and genotype on seed vigor in maize. **Crop Science**, v. 35, p. 857-862, 1995.

TEIXEIRA, M. A. P. **Desempenho de diferentes métodos de secagem e seus efeitos sobre a qualidade fisiológica de Sementes de sorgo granífero (sorghum bicolor (L.) Moench)**. 2006. Dissertação. (Mestrado em Zootecnia, Área de Concentração Plantas Forrageiras). PUCRS, Porto Alegre, 2006.

TIWARI, B.K.; BRENNAN, C.S.; CURRAN, T.; GALLAGHER, E.; CULLEN, P. J.; O'DONNELL, C.P. Application of ozone in grain processing. **Journal of Cereal Science**, London, v. 51, n. 3, p. 248-255, 2010.

USDA. **World Agricultural Production**. Disponível em: <<http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf>>. Acesso em 19 de mar. 2016.

VICTORIN, K. Review of the genotoxicity of ozone. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 277, p. 221-238, 1992

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N. M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164p.

VIOLLEAU, F.; HADJEBA, K.; ALBET, J.; CAZALIS, R.; SUREL, O. Increase of corn seeds germination by oxygen and ozone treatment. **IOA Conference and Exhibition**, Valencia, Spain, October 29-31, 2007.

VITORINO, R. B. **Modelagem e simulação matemática do processo de secagem de milho**. 2009. 52 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2009.

VOCA N.; KRICKA, T.; MATIN, A.; JANUŠIĆ, V.; JUKIĆ, Ž.; KIŠEVIĆ, M. Activation energy of water release rate from corn kernel during convective drying. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, Zagreb, v. 72, n. 3, p. 199-204, 2007.

WEAVERS, L.K.; WICKRAMANAYAKE, G.B. Disinfection and sterilization using ozone. In: BLOCK, S.S. (Ed.), **Disinfection, Sterilization, and Preservation**. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2001. p. 205-214

WHITE, S.D.; MURPHY, P. T.; LEANDRO, L.F.; BERN, C.J.; BEATTIE, S.E.; LEEUWEN, J.H.V. Mycoflora of high-moisture maize treated with ozone. **Journal of Stored Products Research**, v. 55, p. 84-89, 2013.

WICKRAMANAYAKE, G. B. Disinfection and sterilization by ozone. In: BLOCK, S. S. (Ed.). **Disinfection and sterilization and preservation**. 4. ed. Philadelphia: Lea and Febiyer, 1991. p. 182-190

ZVICEVIČIUS, E.; RAILA, A.; NOVOŠINSKAS, H.; KRASAUSKAS, A.; BRAZAUSKIENĖ, I.; PETRAITIENĖ, E.; Influence of active ventilation on mycological contamination during grain drying. **Botanica Lithuanica**, Suppl. 7, p. 115-122, 2005.