



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

**OZONIZAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO: CINÉTICA DE  
DECOMPOSIÇÃO E EFEITOS FISIOLÓGICOS**

**JEFFERSON VIRGÍNIO DA SILVA SOUZA**

**TESE DE DOUTORADO EM AGRONOMIA**

**BRASÍLIA/DF**  
**JULHO/2018**



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

**OZONIZAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO: CINÉTICA DE  
DECOMPOSIÇÃO E EFEITOS FISIOLÓGICOS**

**JEFFERSON VIRGÍNIO DA SILVA SOUZA**

**ORIENTADORA: ANA MARIA RESENDE JUNQUEIRA, PhD.**  
**CO-ORIENTADOR: ERNANDES RODRIGUES DE ALENCAR, Dr.**

**TESE DE DOUTORADO EM AGRONOMIA**

**BRASÍLIA/DF**  
**JULHO/2018**



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

**OZONIZAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO: CINÉTICA DE  
DECOMPOSIÇÃO E EFEITOS FISIOLÓGICOS**

**JEFFERSON VIRGÍNIO DA SILVA SOUZA**

**TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM AGRONOMIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À  
OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM AGRONOMIA**

**APROVADO POR:**

---

**DR<sup>a</sup> ANA MARIA RESENDE JUNQUEIRA – (FAV/UnB)**  
**(Orientadora)**

---

**DR<sup>a</sup> NARA OLIVEIRA SILVA SOUZA – (FAV/UnB)**  
**(Examinadora interna)**

---

**DR<sup>a</sup> ROSANA DE CARVALHO CRISTO MARTINS – (EFL/UnB)**  
**(Examinadora externa)**

---

**DR. ITAMAR ROSA TEIXEIRA – UEG**  
**(Examinador externo)**

**BRASÍLIA/DF, 11 de julho de 2018.**

## FICHA CATALOGRÁFICA

SJ45o Souza, Jefferson Virgínio da Silva  
Ozonização de sementes de milho: cinética de decomposição e efeitos fisiológicos / Jefferson Virgínio da Silva Souza; orientador Ana Maria Resende Junqueira; co-orientador Ernandes Rodrigues de Alencar. -- Brasília, 2018. 103 p.

Tese (Doutorado - Mestrado em Agronomia) -- Universidade de Brasília, 2018.

1. Ozônio. 2. *Zea mays* L. 3. Pós-colheita. 4. Qualidade Fisiológica. I. Junqueira, Ana Maria Resende, orient. II. Alencar, Ernandes Rodrigues de , co-orient. III. Título.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

SOUZA, J. V. S. **Ozonização de sementes de milho: Cinética de decomposição e efeitos fisiológicos**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2018, 103 p. Tese de Doutorado.

## CESSÃO DE DIREITOS

**AUTOR:** JEFFERSON VIRGÍNIO DA SILVA SOUZA

**TÍTULO DA TESE:** OZONIZAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO: CINÉTICA DE DECOMPOSIÇÃO E EFEITOS FISIOLÓGICOS.

**GRAU:** DOUTOR                      **ANO:** 2018

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta Tese de Doutorado para única e exclusivamente propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva para si os outros direitos autorais de publicação. Nenhuma parte desta Tese de Doutorado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

---

Jefferson Virgínio da Silva Souza  
E-mail: cidadedosol44@gmail.com

A meus pais, João Virgínio (*in memoriam*)  
e Solange Soraia, e a minha filha Letícia  
Virgínia.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, Senhor da minha vida, pelo seu amor inexplicável e por tudo que tem feito por mim.

A meu pai, João Virgínio (*in memorian*), por sempre ter me incentivado e apoiado durante toda a minha vida.

À minha mãe, Solange Campos, que sempre acreditou em mim e faz o seu melhor pra me ver feliz.

Aos meus irmãos, Sheyla, Joanderson, Kharen, Débora, Diego, Kleiton, Mariana, Luíza e ao irmão de coração Anderson, por todos os bons momentos que vivemos juntos e por sempre me ajudarem quando precisei.

A todos os meus amigos, pela convivência harmoniosa que torna a vida mais leve.

A meus familiares, em especial a Cacai, Maria (minha segunda mãe), por tornarem minha vida mais feliz.

À professora Dr<sup>a</sup> Ana Maria Resende Junqueira, pela orientação, oportunidades concedidas, amizade e por tudo que fez até hoje por mim.

Ao professor Dr. Ernandes Rodrigues de Alencar, pelo valioso auxílio na realização deste trabalho, imprescindível para a realização do mesmo.

À professora Nara Oliveira, pelo auxílio e por disponibilizar o laboratório e os equipamentos para realização de diversas etapas deste trabalho.

Aqueles que ajudaram na realização deste trabalho, estudantes de graduação, pós-graduação e orientandos da professora Ana Maria Resende

Junqueira, membros do PET Agronomia e do Centro Vocacional Tecnológico em Agroecologia e Agricultura Orgânica da UnB (CVT).

À Secretaria de Agricultura, Abastecimento e Desenvolvimento Rural – SEAGRI/DF, pela concessão de horário especial de estudante.

À Universidade de Brasília (UnB), Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade concedida para a realização deste curso.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

E Jesus disse-lhe: Se tu podes crer, tudo  
é possível ao que crê.

Marcos 9:23

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fórmula estrutural do ozônio.....	29
Figura 2 – Esquema da ozonização do milho e quantificação da concentração do gás.....	58
Figura 3 – Concentração residual do ozônio em função do tempo em meio poroso contendo grãos de diferentes híbridos de milho, com concentração inicial do gás de 1,28 mg L <sup>-1</sup> .....	63
Figura 4 – Modelo cinético de primeira ordem ajustado aos dados observados de concentração residual de ozônio em meio poroso contendo diferentes híbridos de milho na temperatura de 25°C. ....	64
Figura 5 – Germinação (%) de sementes de milho doce ozonizadas em diferentes concentrações do gás ozônio .....	84
Figura 6 – Germinação (%) de sementes de milho doce em função do tempo de ozonização. Melhorar exposição da equação no gráfico.....	85
Figura 7 – Massa seca (mg) de plântulas de milho doce em sementes ozonizadas com diferentes concentrações do gás ozônio. ....	88
Figura 8 – Massa fresca (mg) de plântulas de milho doce obtidas de sementes ozonizadas em diferentes em função do tempo de ozonização. ....	89
Figura 9 – Curvas de regressão de IVG (A), comprimento de raiz (cm, B), comprimento da parte aérea (cm, C) e comprimento de plântulas (cm, D) obtidos de sementes de milho ozonizadas em diferentes combinações de concentrações e tempo de ozonização. ....	91
Figura 10 – Curvas de regressão de tonalidade de cor (A), saturação de cor (B) e diferença de cor (C) de sementes ozonizadas em função do tempo ozonização. ....	95

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Agentes oxidantes e respectivos potenciais de oxidação.....	30
Tabela 2 – Principais propriedades físico-químicas do ozônio.....	31
Tabela 3 – Efeito do ozônio sobre a qualidade e parâmetros nutricionais .....	38
Tabela 4 – Equações de regressão ajustadas e respectivos coeficientes de determinação ( $r^2$ ) para concentração residual do ozônio ( $\text{mg L}^{-1}$ ) durante o processo de saturação de meio poroso contendo diferentes híbridos de milho, com concentração inicial do gás de 1,28 .....	62
Tabela 5 – Equações de regressão ajustadas em função do tempo para a concentração residual do gás ozônio em meio poroso contendo grãos de diferentes variedades de milho, na temperatura de 25°C e seus respectivos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) e tempos de meia-vida..	65
Tabela 6 – Valores médios de massa específica aparente ( $\text{kg m}^{-3}$ ), de massa específica real ( $\text{g cm}^{-3}$ ), de porosidade (%), de esfericidade (%) e de circularidade (%) dos diferentes híbridos de milho.....	67
Tabela 7 – Características da Cultivar BR 402 .....	77
Tabela 8 – Equações de regressão de índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de raiz (cm), comprimento da parte aérea (cm) e comprimento de plântulas (cm) obtidos de sementes de milho doce ozonizadas em diferentes combinações de concentrações e tempo de ozonização. ....	92
Tabela 9 – Equações de regressão de tonalidade de cor (A), saturação de cor (B) e diferença de cor (C) de sementes de milho doce ozonizadas em função do tempo ozonização .....	96

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>15</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>16</b>
3.1	IMPORTÂNCIA DA CULTURA .....	16
3.2	QUALIDADE DE SEMENTES.....	19
3.3	TESTES DE QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES.....	21
3.3.1	Teste de germinação .....	21
3.3.2	Condutividade elétrica .....	22
3.3.3	Velocidade de germinação .....	23
3.3.4	Comprimento da plântula e peso da matéria seca da plântula.....	23
3.4	CONTAMINAÇÃO POR MICRORGANISMOS .....	24
3.5	GÁS OZÔNIO .....	27
3.5.1	Histórico .....	27
3.5.2	Propriedades do ozônio.....	28
3.5.3	Obtenção de ozônio .....	32
3.5.4	Métodos de quantificação do ozônio residual .....	34
3.5.5	Aplicações do ozônio no combate de pragas e doenças .....	35
3.5.6	Influência do Ozônio sobre propriedade físicas e fisiológicas de vegetais e seus subprodutos .....	38
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>42</b>
	<b>CAPÍTULO 1 – SATURAÇÃO E CINÉTICA DA DECOMPOSIÇÃO DE OZÔNIO EM MEIO POROSO CONTENDO DIFERENTES HÍBRIDOS DE MILHO53</b>	
	<b>RESUMO.....</b>	<b>53</b>
	<b>ABSTRACT.....</b>	<b>54</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>55</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>57</b>

<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>62</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>68</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>69</b>
	<b>CAPÍTULO 2 – EFEITO DO GÁS OZÔNIO NA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MILHO DOCE .....</b>	<b>72</b>
	<b>RESUMO.....</b>	<b>72</b>
	<b>ABSTRACT.....</b>	<b>73</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>74</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>77</b>
2.1	SEMENTES UTILIZADAS.....	77
2.2	ANÁLISES LABORATORIAIS.....	78
2.2.1	Exposição das sementes ao gás ozônio .....	78
2.2.2	Avaliação da qualidade fisiológica das sementes ozonizadas.....	80
2.2.2.1	Teste de germinação (TG) .....	80
2.2.2.2	Crescimento de plântulas.....	81
2.2.2.3	Índice de velocidade de germinação (IVG).....	81
2.2.2.4	Massa seca de plântulas (MS).....	82
2.2.2.5	Delineamento experimental e análise estatística .....	82
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>84</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>97</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>98</b>

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O milho está entre os principais cereais consumidos no mundo, em função da composição química e do valor nutricional, sendo consumido na forma de forragem, grãos e espigas verdes (PINTO et al., 2017). A produção mundial na safra de 2016/17 chegou a 1.076 milhões de toneladas (FIESP, 2017), com uma demanda que aumenta a cada ano, exigindo cada vez mais eficiência na produção.

Existe uma gama de variedades de milho, com características específicas para a sua destinação final, sendo o milho comum (*Zea mays* L.) mais comumente empregado na alimentação animal, enquanto o milho doce (*Zea mays* L. variedade *saccharata*) é utilizado primordialmente na alimentação humana.

Algumas características são almejadas tanto no milho comum quanto no doce para atender a interesses da indústria de envasamento e de produção para o uso *in natura*, sendo elas: possibilidade de plantio durante o ano todo; uniformidade de maturação das espigas; longevidade no período da colheita, com espigas apresentando teor de umidade entre 68% e 75% (adequado para o envasamento e para o consumo *in natura*); índice de espiga igual a um (01) e que tenha comprimento em torno de 20 cm; formato cilíndrico e número de fileiras maior ou igual a 14; espigas cilíndricas e grandes; grãos com equilíbrio entre teores de açúcar e amido para milho comum; teor de sólidos solúveis acima de 30 Bx para o milho doce; grãos profundos e de coloração amarelo intenso ou alaranjado; espessura de pericarpo acima de 45 micra e rendimento industrial igual ou maior que 30% (REGITANO-D'ARCE et al., 2015).

Um dos fatores fundamentais para uma alta produtividade desta cultura é o manejo fitossanitário adequado, pois o milho está sujeito ao ataque de diversos patógenos que podem ocasionar perdas de rendimento consideráveis (CUNHA et al., 2010; JULIATTI et al., 2007). Dentre os microrganismos de importância econômica, destacam-se *Fusarium moniliforme* (Sheld.), *Diplodia maydis* (Berk.) Sacc., *F. graminearum* Schwabe e *Cephalosporium* sp., que podem causar doenças de parte aérea de plantas (LUZ, 1997), bem como *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. que destacam-se durante a fase de armazenamento (AZEVEDO, 1994; MACHADO, 2000).

Uma estratégia potencial para o controle de fungos e detoxificação de grãos nas unidades armazenadoras consiste no uso do ozônio. Características como alta reatividade, penetrabilidade e decomposição espontânea em um produto não tóxico (O<sub>2</sub>) fazem do ozônio um desinfetante viável para garantir a segurança microbiológica dos produtos alimentícios. O gás age diretamente na superfície dos microrganismos e destrói sua parede celular (RIBEIRO, 2016).

O emprego da técnica de ozonização é potencializado pelas vantagens que apresenta, tais como o gás poder ser gerado no próprio local de aplicação, dispensando assim a utilização de recipientes e estruturas especiais para armazenamento como para outros produtos químicos, não apresentar especificidade a um grupo de microrganismos e ser considerado como GRAS (*Generally Recognized as Safe*), o que assegura o seu uso direto em alimentos tanto na forma gasosa quanto dissolvido em água (FDA, 2001; NOVAK; YUAN, 2007).

Desta forma, o estudo dos parâmetros relacionados aos processos de saturação e de decomposição é fundamental para a avaliação da viabilidade técnica e para o dimensionamento de sistemas de ozonização de sementes. Do mesmo

modo, é de considerável importância o conhecimento dos efeitos fisiológicos sobre as sementes ocasionados pelo binômio tempo/concentração do gás ozônio.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a saturação e a cinética de decomposição do ozônio em meio poroso com diferentes híbridos de milho, bem como, analisar o efeito da ozonização sobre as características fisiológicas de sementes de milho doce.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Determinar o tempo necessário para saturação e verificar a concentração residual do gás ozônio após a fumigação de sementes de diferentes híbridos de milho;
- 2) Analisar a cinética de decomposição do gás ozônio na massa de sementes de diferentes híbridos de milho;
- 3) Avaliar o efeito de exposição em diferentes períodos e concentrações de ozônio sobre a germinação de sementes de milho doce;
- 4) Verificar efeito de exposição em diferentes períodos e concentrações de ozônio sobre o desenvolvimento inicial de plântulas de milho doce.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 IMPORTÂNCIA DA CULTURA

O milho é uma cultura que tem diversos empregos, podendo ser consumida *in natura*, empregada na alimentação animal, na composição de alimentos processados ou com finalidades especiais. Dentre os usos especiais, destacam-se o milho pipoca, doce, forrageiro, mini milho, verde, além dos milhos com alta qualidade nutricional (TEIXEIRA et al., 2013).

O milho doce (*Zea mays* L. variedade *saccharata* Sturt) pertence à família *Poaceae*, tribo *Maydeae*, do gênero *Zea* (KWIATKOWSKI; CLEMENTE, 2007). Diferentemente dos outros tipos de milho, é pouco provável que o milho doce tenha ocorrido na natureza como uma raça selvagem (PARENTONI et al., 1990). A hipótese mais aceita é que este surgiu decorrente de mutação seguida de domesticação, considerando que este alimento provavelmente não seria ignorado pelas tribos indígenas de várias regiões da América do Sul, que passariam a utilizar o milho doce como fonte de açúcar (MACHADO, 1980). É originário da América, provavelmente da região do México, tendo sido domesticado em um período entre 7.000 – 10.000 anos atrás, segundo Kwiatkowski e Clemente (2007).

O milho doce é uma hortaliça de cultivo intensivo e de alto valor agregado, destinado ao consumo humano (LUZ et al., 2014). Esta hortaliça possui a presença de alelos mutantes que bloqueiam a conversão de açúcares em amido no endosperma, conferindo o caráter doce, sendo esta a principal diferença entre o

milho doce e o milho convencional (TEIXEIRA et al., 2013; BARBIERE et al., 2005), destacando-se os alelos *sugary* (su1), *brittle* (bt2) e *shrunk* (sh2) (ARAÚJO et al., 2006).

Todos eles promovem alterações na composição dos carboidratos do endosperma da semente, diferenciando-se, porém, quanto à posição nos cromossomos em que estes alelos estão localizados e na proporção de amido e açúcar no grão (TRACY, 2001).

Segundo Teixeira et al. (2013), os grãos de milho doce possuem entre 9 a 14% de açúcares, as cultivares conhecidas como superdoce apresentam de 15 a 25% de açúcares, enquanto que o grão de milho comum, desenvolvido e maduro, é formado de apenas 3% de açúcares. Ainda, segundo o mesmo autor, essas variações são controladas geneticamente e os alelos que condicionam o fenótipo doce são recessivos para a maioria dos mutantes empregados comercialmente.

A botânica e a reprodução do milho doce são idênticas à do milho comum (ARAGÃO, 2002). É uma cultura anual, com a propagação feita por sementes e plantio realizado diretamente no campo. A planta possui em média de 1,30 a 2,50 m de altura, caule ereto, cilíndrico, fibroso, separado em porções por gomos, e, geralmente, recoberto por uma parte da folha, denominada bainha. As folhas são de tamanho médio a grande, cor verde-escura a verde-clara, flexíveis e tem uma nervura central branca, lisa e bem destacada. A planta produz flor masculina (flecha ou pendão) na sua parte mais alta, onde produz os grãos de pólen e a flor feminina (espiga) à meia altura. Cada fio (estilo-estigma) que sai da espiga é responsável pela produção de um grão, depois de fecundada (KWIATKOWSKI; CLEMENTE, 2007).

Em condições de temperaturas adequadas, de média a alta, e com boa disponibilidade hídrica durante todo o ciclo da planta, o milho doce apresenta boa produtividade. A colheita das espigas é realizada quando os grãos estão em estado leitoso, pois os grãos maduros e secos ficam totalmente enrugados devido ao baixo teor de amido na sua composição (PAIVA, 1992).

De acordo com Pereira Filho e Cruz (2002), para obter uma boa aceitação no mercado, tanto para o consumo *in natura* ou para a indústria de conserva, é desejável que as espigas do milho doce apresentem características como grãos dentados amarelos, espigas grandes e cilíndricas, sabugo branco, boa granação, pericarpo delicado e bem empalhadas, com longevidade de colheita. Devem apresentar também boa resistência a pragas e doenças. Além disso, para Luchsinger e Camilo (2008), é desejável que as espigas apresentem grãos com o comprimento em torno de 11 a 12 mm, número de palhas inferior a 14, pois acima disso pode comprometer o rendimento industrial, o que está de acordo com o afirmado por Okumura et al. (2013). Comprimento de grãos inferior a 7, pode, por outro lado, favorecer o ataque de pragas (SAWAZAKI et al., 1990).

De modo geral, diversas pesquisas realizadas com milho doce apontam para uma qualidade inferior de suas sementes em relação ao milho comum, possivelmente devido à maior sensibilidade e suscetibilidade aos danos físicos e àqueles decorrentes das suas alterações bioquímicas (PEREIRA et al., 2008). De acordo com Waters-Jr. e Blanchette (1983), a menor porcentagem de emergência das plântulas no milho doce é devido ao manuseio incorreto das sementes, além de outros fatores que causam a redução da sua qualidade.

## 3.2 QUALIDADE DE SEMENTES

A demanda nacional por milho doce vem crescendo, devido a existência de um mercado consumidor mais exigente, quanto à qualidade deste produto. Porém, um dos entraves para a expansão da produção no País é que as sementes apresentam problemas de baixa qualidade fisiológica, quando comparadas ao milho comum (ZUCARELI et al., 2014).

Segundo Popinigis (1985), a qualidade de semente é o somatório de todos os atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários que afetam a sua capacidade de originar plantas de alta produtividade, conforme descrito a seguir:

- Qualidade genética: Consiste, entre outros, dos atributos de pureza varietal, homogeneidade, potencial de produtividade, resistência a moléstias e insetos, precocidade e qualidade do produto;
- Qualidade física: A qualidade física compreende a pureza e a condição física da semente. A pureza física é caracterizada pela proporção de componentes físicos presentes no lote de sementes, tais como sementes puras, sementes silvestres, outras sementes cultivadas e substâncias inertes. A condição física é caracterizada pelo teor de umidade, tamanho, cor, densidade, aparência, injúrias mecânicas e causadas por insetos, infecções por doenças e uniformidade quanto a essas características;
- Qualidade sanitária: A qualidade sanitária compreende a condição da semente quanto à presença e grau de ocorrência de fungos, bactérias, vírus, nematoides e insetos que causam doenças ou injúrias à semente,

ou que, transmitidos pela semente, são capazes de causar doenças e reduções na qualidade e produtividade das lavouras;

- Qualidade fisiológica: A qualidade fisiológica da semente é a sua capacidade de desempenhar funções vitais, caracterizada pela sua germinação, seu vigor e sua longevidade.

A alta qualidade da semente reflete-se diretamente na cultura resultante, em termos de uniformidade da população, da ausência de moléstias transmitidas pela semente, do alto vigor das plantas e da maior produtividade.

O uso de sementes de alta qualidade é um dos pré-requisitos fundamentais para se conseguir maior produtividade na lavoura. A qualidade fisiológica das sementes é influenciada pelas características genéticas herdadas de seus progenitores, além da germinação e vigor, sendo estes dois últimos fatores afetados pelas condições ambientais, métodos de colheita, secagem, processamento, tratamento, armazenamento e embalagem (ANDRADE et al., 2001).

A utilização de sementes de boa qualidade, no tocante aos atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários, é fator crucial para a manifestação da capacidade produtiva de híbridos ou variedades (FANCELLI; NETO, 2004).

Duas características são fundamentais na avaliação da qualidade fisiológica da semente: germinação e vigor (POPINIGIS, 1985).

Diversos testes têm sido desenvolvidos, aprimorados e utilizados visando estimar a qualidade fisiológica de sementes, como testes de envelhecimento acelerado, condutividade elétrica, teste de frio, lixiviação de eletrólitos, teste do tetrazólio, entre outros, segundo Borges (2016).

### 3.3 TESTES DE QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES

#### 3.3.1 Teste de germinação

Em tecnologia de sementes, o conceito de germinação é definido como a emergência e desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, dando origem a uma plântula normal, em condições ambientais favoráveis. Para avaliar a máxima germinação da semente, faz-se o teste de germinação, em condição de laboratório, sendo o teste mais amplamente utilizado para avaliar a qualidade de sementes, em conjunto com outros testes (BORGES, 2016).

Os resultados do teste de germinação são utilizados para comparar a qualidade fisiológica de lotes, determinar a taxa de semeadura e servir como parâmetro de comercialização de sementes (COIMBRA et al., 2007). Para obtenção de resultados comparáveis entre empresas que comercializam sementes e laboratórios, a adoção de procedimento padrão nas várias fases do teste de germinação torna-se imprescindível (ISTA, 2004; MARCOS FILHO et al., 1987). Assim, o teste é realizado seguindo-se uma metodologia padronizada, sob condições artificiais controladas de laboratório, altamente favoráveis, para que se obtenha a maior porcentagem de germinação no menor tempo possível (COIMBRA et al., 2007).

### **3.3.2 Condutividade elétrica**

A avaliação do vigor de sementes representa uma ferramenta básica e fundamental em programas de produção de sementes, pois permite o monitoramento da qualidade da produção (BORGES, 2016). Desta forma, podem ser observadas diferenças na qualidade fisiológica de sementes de lotes que porventura apresentem poder germinativo semelhante, mas que apresentem comportamentos diferentes sob condições de campo ou durante armazenamento. Essa diferença pode ser explicada pelas primeiras alterações nos processos bioquímicos associados à deterioração que, normalmente, ocorrem antes que se observe diminuição na capacidade germinativa (RIBEIRO, 1999). Os testes de vigor são de grande relevância e altamente indicados como complementares ao teste de germinação, pois simulam condições adversas, indicando com maior acurácia o desempenho das sementes no campo. Entre os testes mais utilizados estão o índice de velocidade de germinação, teste de frio, condutividade elétrica, índice de velocidade de emergência e emergência em campo (OLIVEIRA, 2009).

A utilização da condutividade elétrica de sementes vem ganhando espaço na determinação de qualidade desses produtos (NASCIMENTO et al., 2012). Este é um teste de análise indireta, que avalia o grau de integridade das membranas celulares por meio dos eletrólitos liberados em meio aquoso, sendo que quanto maior a quantidade de lixiviados mais provável seja que a semente avaliada possua baixo vigor (TORRES et al., 2009).

Rosa et al. (2000) e Costa e Carvalho (2006) classificaram lotes de milho com diferentes danos causados pela secagem utilizando o teste de condutividade

elétrica, o qual definiram como eficiente, rápido e prático. Lin (1988) observou correlação entre o aumento da lixiviação eletrolítica com perda de vigor e germinação em sementes de milho submetidas a armazenamento sob condições de 25°C e 79% de umidade relativa, durante o tempo de 92 dias.

### **3.3.3 Velocidade de germinação**

Esse teste baseia-se no princípio de que lotes de sementes mais vigorosas são as que possuem maior velocidade de germinação, de forma que se determina o vigor por meio da avaliação do índice de velocidade de germinação das sementes (OLIVEIRA et al., 2009). A realização deste teste poderá ser feita em conjunto com o teste de germinação, obedecendo às prescrições das Regras para análise de sementes (BRASIL, 1992).

### **3.3.4 Comprimento da plântula e peso da matéria seca da plântula**

A análise do crescimento de plântulas pode ser mensurada por meio de duas grandezas físicas, o comprimento e a massa seca. Estes testes apresentam a vantagem de serem métodos simples e que não estão sujeitas a análise subjetiva do analista, facilitando a reprodutibilidade dos resultados (NAKAGAWA, 1999).

A determinação do comprimento médio das plântulas normais é realizada devido ao fato de as amostras que expressam os maiores valores serem mais vigorosas. De similar modo, a avaliação do peso de matéria seca preceitua que as amostras que apresentam maiores pesos médios de matéria seca de plântulas normais são consideradas mais vigorosas (OLIVEIRA et al., 2009). Isto deve-se ao fato de as sementes mais vigorosas proporcionarem maior transferência de massa seca de seus tecidos de reserva para o eixo embrionário, na fase de germinação, originando plântulas com maior peso e tamanho, em função do maior acúmulo de matéria (NAKAGAWA, 1999).

#### 3.4 CONTAMINAÇÃO POR MICRORGANISMOS

O milho pode estar sujeito à contaminação por uma microbiota fúngica diversa durante a formação dos grãos, na colheita, no transporte e no armazenamento, com redução da qualidade sanitária, física e nutricional de sementes (FARIAS et al., 2000). Altos teores de açúcares solúveis, teores reduzidos de reservas no endosperma e pericarpo tenro são características de sementes de milho doce que, acarretam rápida perda da viabilidade e as tornam mais suscetíveis a danos mecânicos e à entrada de patógenos (GUISCHEM et al., 2002).

A presença de microrganismos patogênicos pode alterar substancialmente o desempenho de plântulas em campo e o comportamento da semente durante o período de armazenamento, sendo os efeitos mais importantes quando se tratam de patógenos colonizadores de tecidos internos da semente (MACHADO, 2000). No

caso de semente de milho, a presença de *Fusarium moniliforme* (Sheld.), *Diplodia maydis* (Berk.) Sacc., *F. graminearum* Schwabe e *Cephalosporium* sp. é muito frequente e pode causar doenças de parte aérea de plantas (LUZ, 1997), enquanto *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. destacam-se no armazenamento (MACHADO, 2000).

Danos provocados por fungos em grãos vão além dos físicos ou estéticos, podendo também causar o desenvolvimento de toxinas. Algumas espécies de fungos denominados toxigênicos, podem produzir micotoxinas, substâncias químicas provenientes do metabolismo secundário de diversos fungos, capazes de provocar doenças graves, como tumores cancerígenos. Importante ressaltar que somente a presença do fungo toxigênico não implica na produção de micotoxina, visto que dependerá da capacidade de biossíntese do fungo e das condições climáticas existentes, conforme relatado por Nascimento et al. (2012).

As micotoxinas são metabólitos secundários, sintetizados no final da fase exponencial de crescimento de alguns fungos. Alguns desses compostos 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, sendo a B1 a mais tóxica, conforme Farias et al. (2000).

No entanto, as de maior importância são responsáveis pelos maiores índices de contaminação de grãos, sementes e outros alimentos, como as ocratoxinas produzidas por algumas espécies do gênero *Aspergillus* e *Penicillium*; as aflatoxinas produzidas por fungos do gênero *Aspergillus*, como *A. flavus* e *A. parasiticus*; e as

fusariotoxinas, que possuem como principais representantes os tricotecenos, a zearalenona e as fumonisinas, produzidas por diversas espécies do gênero *Fusarium* (SCUSSEL, 1998; MALLMANN; DILKIN, 2007).

Os gêneros *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. se destacam dentre os fungos toxigênicos (SILVA et al., 2007), como os principais deterioradores de grãos de milho armazenado e patógenos de sementes (MACHADO, 1988; RIBEIRO et al., 2003). Kawashima e Soares (2006) apontam a presença de fungos toxigênicos no milho com predominância de *Fusarium*, seguido de *Penicillium* e *Aspergillus*. Na fase de armazenamento, o risco de contaminação de sementes com fungos patogênicos é dependente do controle de fatores ambientais. A colheita realizada sob condições úmidas ou executadas com equipamentos desregulados podem propiciar, desde o campo, a associação de fungos, como *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. (MACHADO, 1988).

Esses fungos podem depreciar a qualidade das sementes quanto ao poder germinativo, pela colonização do embrião; causar descoloração e apodrecimento, com reflexos tanto na viabilidade como no valor comercial e nutritivo das sementes; aumentar a taxa de ácidos graxos, provocando rancificação de óleos; gerar aquecimento da massa de sementes devido ao aumento da taxa respiratória e, com isto, uma deterioração mais rápida, além de produzir as micotoxinas, letais ao homem e aos animais (NASCIMENTO et al., 2012).

## 3.5 GÁS OZÔNIO

### 3.5.1 Histórico

O gás ozônio foi descoberto em 1785 por Martins Van Marum (JORGE et al., 2006; SUNNEN, 1988), e batizado em 1840 por Christian Friedrich Schönbein (JORGE et al., 2006), quando ao liberar descargas elétricas numa campânula de vidro contendo oxigênio, observou a aparição de um gás de coloração azulada, de odor forte e penetrante, o qual chamou de ozônio, que do grego *ozein* significa odorante (FERREIRA et al., 2014).

Após sua descoberta, o ozônio despertou grande interesse devido suas características altamente oxidantes e passou a ser empregado para as mais diversas finalidades (KUNZ et al., 1999). Foi utilizado, pela primeira vez, como agente conservante de alimentos em 1909, em câmaras frias de estocagem de carnes (COELHO et al., 2015). Em escala industrial seu uso ocorreu no início do Século XX, na França, no tratamento de águas de abastecimento (GLAZE, 1987). Porém, um grande fator limitante para utilização de ozônio em larga escala foi o alto custo dos sistemas de geração deste gás (KUNZ et al., 1999).

Em 1982 o gás foi declarado como substância reconhecidamente segura (GRAS – “*Generally Recognized as Safe*”), pelo FDA (*Food and Drug Administration*), sendo permitida a sua utilização como sanificante para água engarrafada em um primeiro momento e, estendida posteriormente aos alimentos (KIM et al., 1999; FREITAS-SILVA; VENÂNCIO, 2010). A partir da década de 80 houve um crescente

interesse na aplicação de ozônio no processamento de alimentos e a utilização de sua forma gasosa na sanitização surgiu como interesse alternativo ao tradicional tratamento à base de cloro em virtude da sua eficácia em baixas concentrações, pouco tempo de contato e sua decomposição em produtos não tóxicos (COELHO et al., 2015).

Dalsasso (1999) relata que no Brasil o uso da tecnologia do ozônio teve início em 1983 com a necessidade de algumas estações de tratamento de água de alternativas para os métodos convencionais de pré-cloração e pré-aeração de águas superficiais. Em 1985, algumas indústrias deram início ao processo de tratamento de água em suas estações por meio da pré-ozonização. Nesse mesmo período, as indústrias de engarrafamento de água mineral também passaram a utilizar o ozônio no controle bacteriológico da água.

Em 2001, a FDA aprovou o uso do ozônio como agente antimicrobiano em alimentos, tanto na fase gasosa como dissolvido em água (FDA, 2001). O tempo de exposição necessário para inativação de microrganismos depende da espécie microbiana e da concentração do ozônio, sendo que uma concentração menor que  $0,02 \text{ mg L}^{-1}$  é suficiente para tratar água pura (SANCHEZ, 2015).

### **3.5.2 Propriedades do ozônio**

O composto ozônio é uma forma alotrópica do elemento oxigênio, formado por 3 átomos unidos por ligações covalentes que forma um ângulo de  $127^\circ$  entre si (BOCCI, 2005). Na figura 1 é mostrada a representação estrutural do ozônio.

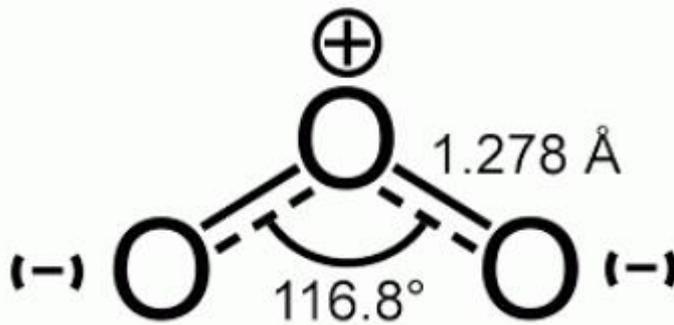


Figura 1 – Fórmula estrutural do ozônio.  
Fonte: Bonaldo (2010).

O gás é abundante na estratosfera (SUNNEN, 1988), formado naturalmente em pequenas quantidades ( $0,05 \text{ mg/L}^{-1}$ ) pela ação da radiação ultravioleta do sol sobre o oxigênio. Uma pequena quantidade de ozônio também é formada na troposfera como subproduto das reações fotoquímicas entre hidrocarbonetos, oxigênio e nitrogênio que são lançados por automóveis, indústrias, florestas e ação vulcânica. O gás serve como barreira contra a radiação ultravioleta (UV) emitida pelo sol (JORGE et al., 2006), mas é um composto muito instável que se desintegra facilmente em O<sub>2</sub>, voltando à sua conformação original graças à reação endotérmica da radiação UV e/ou descarga elétrica (JORGE et al., 2006; BOCCI, 2005).

Dentre as várias motivações para seu uso neste tipo de atividade podem-se destacar duas: é um forte agente oxidante ( $E_0 = 2,07 \text{ V}$ ), apenas o flúor dentre as substâncias químicas ordinárias possui um potencial de redução maior que o ozônio ( $E_0 = 3,06 \text{ V}$ ); e não é uma fonte intrínseca de poluição (MAHMOUD; FREIRE, 2007). A primeira propriedade permite que o ozônio possa oxidar diversos compostos orgânicos e inorgânicos (ATKINS, 2002). Alguns outros oxidantes geralmente empregados, como por exemplo o KMnO<sub>4</sub> ( $E_0 = 1,7 \text{ V}$ ) e Cl<sub>2</sub> ( $E_0 = 1,36 \text{ V}$ ) (ATKINS, 2002), costumam levar à formação de subprodutos (íons de metais

pesados e compostos organoclorados, respectivamente) que podem ser inclusive mais tóxicos que os compostos poluentes originais.

Diante disto se evidencia a segunda propriedade vantajosa do ozônio, pois seu produto preferencial de degradação é o oxigênio, um produto não poluente e indispensável para as atividades biológicas aeróbicas dos ecossistemas aquáticos (MANAHAN, 2005). Na Tabela 1 são mostrados os valores dos potenciais de oxidação de diferentes agentes oxidantes.

Tabela 1 – Agentes oxidantes e respectivos potenciais de oxidação.

<b>Agente oxidante Potencial de oxidação (mV)</b>	
Flúor	3,06
Ozônio	2,07
Peróxido de hidrogênio	1,78
Permanganato	1,67
Dióxido de cloro	1,50
Hipoclorito	1,49
Cloro	1,36

Fonte: Manley et al. (1967 apud SILVA et al., 2011).

Em altas concentrações o ozônio apresenta-se com uma coloração azulada, enquanto em baixa concentração e temperatura ambiente é um gás incolor. A solubilidade em água diminui com o aumento da temperatura, tornando o gás mais instável. No entanto, este fator não altera de maneira decisiva o poder de desinfecção do ozônio; as propriedades sanificantes do ozônio são relativamente independentes da temperatura (SILVEIRA, 2004; LAPOLLI et al., 2003; LANGLAIS et al., 1991).

Altos valores de pH favorecem a formação de diversos tipos de compostos oxidantes com reatividades diferentes, como radicais livres hidroxila, assim como favorece a decomposição do ozônio (DI BERNARDO; DANTAS, 2005; LAPOLLI et

al., 2003). O ozônio apresenta massa molar de 48 Da e condensa a  $-111,9^{\circ}\text{C}$  (RUSSEL et al., 1999). Nos processos de oxidação com ozônio em meio aquoso podem ocorrer dois processos, a reação direta, quando o ozônio reage diretamente com os compostos orgânicos, ou reação indireta quando ocorre a decomposição do ozônio e os radicais hidroxila formados reagem com os compostos orgânicos (HELENO, 2013).

O tipo de reação que irá ocorrer entre o ozônio e os compostos orgânicos depende principalmente da concentração de ozônio e de radicais hidroxilas. Em meios ácidos ( $\text{pH} < 4$ ) predomina mecanismos de reação direta, ou seja, via ozônio molecular. À medida que o valor do pH aumenta, maior quantidade de radicais hidroxila são formados. Para valores de pH acima de 10 a decomposição do ozônio em hidroxilas é instantâneo e o mecanismo de reação direta predomina. Contudo, em pH em torno de 7 podem ocorrer as duas reações, tanto direta quanto indireta (HELENO, 2013).

A Tabela 2 apresenta as principais propriedades físico-químicas do ozônio.

Tabela 2 – Principais propriedades físico-químicas do ozônio.

<b>Propriedades físico-químicas</b>	
Massa molar	48 Da
Massa específica ( $0^{\circ}\text{C}$ e 101,3 kPa)	2,154 kg/m <sup>3</sup>
Ponto de ebulição	$-111,9 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$
Ponto de fusão	$-192,5 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$
Solubilidade em água a $0^{\circ}\text{C}$	20 g/m <sup>3</sup>
Solubilidade em água a $30^{\circ}\text{C}$	1,5 g/m <sup>3</sup>
Temperatura crítica	$-12,1^{\circ}\text{C}$
Pressão crítica	5,53 Mpa

Fonte: Vidal (2003); Manley et al. (1967 apud SILVA et al., 2011).

A molécula de ozônio pode agir como um dipolo, como um agente eletrofílico ou como um agente nucleofílico. A reação eletrofílica é restrita a locais na molécula que apresentam uma alta densidade eletrônica e, em particular, a algumas combinações aromáticas. Substitutos aromáticos com grupo de elétrons doadores (OH, NH<sub>2</sub> e compostos similares) mostram alta densidade eletrônica nos carbonos localizados na posição orto e são altamente reativos nesta posição (SILVA et al., 2011). Ao contrário, os substitutos aromáticos sem grupo de elétrons doadores reagem fracamente com o ozônio. Neste caso, o ataque inicial do ozônio molecular acontece principalmente na posição para. As reações nucleofílicas são encontradas em sítios moleculares que mostram um déficit eletrônico, principalmente nos carbonos que não apresentam grupos de elétrons doadores (SILVA et al., 2011).

### 3.5.3 Obtenção de ozônio

A formação do ozônio na estratosfera é proporcionada pelos raios ultravioleta provenientes do sol, com comprimento de onda menor que 242,5 nm – radiação de maior energia – que dissociam as moléculas de O<sub>2</sub>, resultando em dois átomos livres de oxigênio que se combinam com as moléculas de O<sub>2</sub> de maneira a produzir O<sub>3</sub>, conforme equação 1, sugerida por Bonaldo (2010).

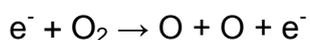


Equação 1



Onde  $h$  é a constante de Planck e  $\nu$  é a frequência da radiação, sendo que o produto  $h\nu$  resulta em energia.  $M$  representa uma molécula de nitrogênio,  $N_2$ , ou oxigênio,  $O_2$ , que dissipa a energia emitida pela reação, de forma a evitar a decomposição do  $O_3$ .

Devido à instabilidade do ozônio, o que impede sua armazenagem, torna-se necessário sua geração “in situ” (KUNZ et al., 1999). Dentre os diferentes processos utilizados para a geração de ozônio, o mais difundido é o método de descarga por efeito corona, sendo atualmente utilizado em praticamente todos os ozonizadores disponíveis comercialmente devido a maior quantidade de ozônio gerado com menor custo (ALMEIDA et al., 2004). Por meio deste método, o ozônio é gerado pela passagem de ar ou oxigênio puro entre dois eletrodos submetidos a uma elevada diferença de potencial (aproximadamente 10.000 V). Isto causa a dissociação do oxigênio, sendo a formação do ozônio consequência da recombinação em  $O_3$ , conforme equação 2 (BONALDO, 2010).



Equação 2



Onde  $M$  representa algum elemento utilizado para absorver o excesso de energia da reação.

### 3.5.4 Métodos de quantificação do ozônio residual

Os métodos disponíveis para a quantificação de ozônio residual presentes na fase gasosa ou na fase líquida são importantes, especialmente para determinação da dose de ozônio a ser aplicada sobre diferentes alimentos (COELHO et al., 2015). Uma adequada quantificação do ozônio possui reflexos nos custos, eficiência, segurança e na melhoria do projeto e da construção de geradores de ozônio (SILVA et al., 2011).

Os métodos disponíveis para quantificação do ozônio gasoso e dissolvido baseiam-se nas suas propriedades físicas ou na sua considerável reatividade química. Dentre eles, os mais utilizados são os métodos iodométrico, radiação ultravioleta e o colorimétrico do índigo (HELENO, 2013).

O método iodométrico é utilizado para determinar a concentração de ozônio residual tanto gasoso quanto dissolvido. Neste método, os íons iodeto são oxidados a iodo pelo ozônio numa solução de iodeto de potássio. Então o iodo liberado é titulado com uma solução padronizada de tiosulfato de sódio. Como o iodeto reage rapidamente, a decomposição do ozônio torna-se um fator que influencia na determinação (HELENO, 2013). Por este motivo, antes da titulação do iodo/tiosulfato, é necessário acidificar o meio para que qualquer íon iodato volte a iodo (GORDON, 1995).

O método colorimétrico do índigo é mais sensível, preciso, rápido e seletivo que outros métodos comumente utilizados com vista à determinação do ozônio residual. No método do índigo uma solução estoque de índigo é preparada usando-se ácido fosfórico e índigo trissulfonato de potássio. Este método se baseia na

oxidação do corante índigo pelo ozônio ocasionando redução na intensidade da cor azul desta solução. Ao reagir como o índigo trissulfonato de potássio, o ozônio provoca o descolorimento da solução (COELHO et al., 2015).

A radiação ultravioleta também pode ser usada para determinar a quantidade residual de ozônio gasoso a um comprimento de onda de 253,7 nm, em que a absorvância é máxima. Instrumentos para medir a quantidade de ozônio por meio da absorção da radiação UV são fornecidos por vários fabricantes para concentrações de gás abaixo de  $1 \text{ g m}^{-3}$ . Em geral, estes instrumentos medem a quantidade de luz quando o ozônio está ou não presente na amostra (SILVA et al., 2011).

### **3.5.5 Aplicações do ozônio no combate de pragas e doenças**

A utilização indiscriminada de agrotóxicos tem levado à contaminação do meio ambiente e à resistência de insetos, ácaros, fungos fitopatogênicos e plantas daninhas (BRITO et al., 2012), gerando a aplicação de maior volume de agrotóxicos e com maior frequência de aplicação, resultando em mais contaminação. Dentre as novas tecnologias no controle de pragas, o ozônio pode tornar-se uma alternativa ecologicamente correta e economicamente viável no âmbito da manutenção e preservação da qualidade dos produtos de origem vegetal (ROZADO et al., 2008). O ozônio tem por característica a instabilidade, de forma que se decompõe rapidamente em oxigênio sem deixar resíduos, o que é uma das principais vantagens de sua utilização em relação aos fumigantes convencionais (HANSEN et

al., 2013). Além disso, pode ser gerado no próprio local de aplicação (KELLS et al., 2001).

O ozônio é um poderoso agente oxidante que pode atuar na inativação ou inibição do desenvolvimento de microrganismos (ALENCAR, 2009). Mediante estresse oxidativo, o gás pode deteriorar as membranas celulares ou provocar a morte celular de microrganismos (HOLLINGSWORTH; ARMSTRONG, 2005). 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. Esse gás ataca também grupos sulfidríla de enzimas, ocasionando o colapso da atividade enzimática celular (SILVA et al., 2011).

Dentre as espécies já estudadas e que apresentaram sensibilidade ao ozônio, destacam-se as bactérias *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* O157 e *Listeria monocytogenes* (ALWI; ALI, 2014; SHEELAMARY; MUTHUKUMAR, 2011); os fungos *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Aureobasidium* sp., *Cladosporium* sp., *Geotrichum* sp., *Mucor* sp., *Penicillium brevicompactum*, *Stachybotris chartarium*, *Trichoderma viride*, *Ulocladium* sp., *Botrytis cinerea*, *Fusarium verticillioides* e *Colletotrichum magna* (MYLONA et al., 2014; BARBONI et al., 2010; HUDSON; SHARMA, 2009); e os protozoários *Acanthamoeba* sp., *Encephalitozoon intestinalis*, *Giardia lamblia* e *Giardia muris* (GRAY, 2014).

O ozônio degradou *Aspergillus flavus* em grãos de trigo, tendo sido observada variação significativa entre os tempos de ozonização na redução do microrganismo. O tratamento com ozônio a 40 ppm por 20 min apresentou-se como um método potencialmente eficaz para a degradação de *A. flavus* em grãos de trigo,

em trabalho conduzido por El-Desouky et al. (2012). Abdel-Wahhab et al. (2011) estudaram o efeito do gás ozônio no controle de fungos e aflatoxinas em amendoim e concluíram que o O<sub>3</sub> deve ser usado para reduzir a deterioração dos fungos e a contaminação por aflatoxinas no amendoim preparado para exportação ou para consumo local, para alcançar o nível máximo estabelecido no regulamento de normas egípcias, bem como em muitos países da UE.

Sahab et al. (2013) verificaram que a exposição a 40 ppm de O<sub>3</sub> durante 10 minutos degrada significativamente aflatoxinas, não interferindo no teor de gorduras e proteínas, podendo ser utilizado eficazmente para a descontaminação de sementes de amendoim contaminados com aflatoxinas. Santos et al. (2016) observaram que a concentração e o tempo de saturação do gás ozônio nos grãos de arroz foram de 5 mg L<sup>-1</sup> e 13,97 min, respectivamente. Observou-se redução em 3,8 ciclos log (100%) na contagem de leveduras e completa inibição para os fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* nos grãos ozonizados.

Em grãos de amendoim, Alencar et al. (2012) relataram reduções de 2 e 3 ciclos log na contagem de unidades formadoras de colônias de fungos totais presentes nos grãos, nas concentrações de 13 e 21 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, para o período de exposição de 96 h. Do mesmo modo, foi observado redução de 2 ciclos logarítmicos na contagem de leveduras em grãos de milho ozonizados a uma concentração de ozônio de 2,14 mg L<sup>-1</sup>, pelo período de 50 h, conforme Brito Junior (2013).

### 3.5.6 Influência do Ozônio sobre propriedade físicas e fisiológicas de vegetais e seus subprodutos

Apesar de muitos estudos comprovarem a eficiência do ozônio na sanitização de grãos, existem algumas limitações para o seu uso (MILAGRES, 2014). Este gás não pode ser considerado universalmente benéfico aos alimentos, pois em altas concentrações pode afetar a qualidade nutricional e sensorial, alterando o sabor e a coloração do produto alimentício (COELHO et al., 2015). Em concentrações elevadas o gás pode ser extremamente tóxico e capaz de causar danos oxidativos, odor desagradável e alteração na coloração do alimento, assim como, quando utilizado em meio aquoso com a presença de íon brometo, podem formar compostos bromados, podendo ocasionar riscos carcinogênicos (VIDAL et al., 2003). Além disso, podem ocorrer alterações na qualidade do grão após tratamento durante períodos muito longos, conforme revisão elaborada por Milagres (2014) e descrita na Tabela 3:

Tabela 3 – Efeito do ozônio sobre a qualidade e parâmetros nutricionais

<b>Produto</b>	<b>Concentração</b>	<b>Forma de aplicação</b>	<b>Qualidade e parâmetros nutricionais</b>	<b>Referências</b>
Milho	50 ppmv	Fumigação	Não houve alteração na qualidade fisiológica dos grãos de milho, exceto quando esses foram expostos a um período acima de 11 dias consecutivos.	Rozado et al., (2008)
Arroz	50 ppmv	Fumigação	O arroz tratado com ozônio aumentou o pico de força de adesividade depois que cozido, a casca ficou com	Mendez et al., (2003)

			uma coloração marrom escuro intensa e foi percebido um odor de vinagre.	
Milho (pipoca)	50 ppmv	Fumigação	O tratamento com o ozônio atuou indiretamente na diminuição do volume de expansão do milho (pipoca), mas não influenciou na composição de ácidos graxos, aminoácidos e na moagem.	Mendez et al., (2003)
Trigo	50 ppmv	Fumigação	Trigo tratado com ozônio não mostrou diferenças nas proteínas, rendimento e cor da farinha quando comparado ao controle. Além disso, não alterou significativamente as propriedades de panificação de trigo duro, como a absorção de água, o tempo para assar e o peso da massa.	Mendez et al., (2003)
Milho	50 g m-3	Água ozonizada	Não houve alterações significativas para o teor de ácido graxo assim como, não houve oxidação lipídica dos grãos.	Prudente e King (2002)
Milho	10-12%	Fumigação	O teor de proteína de milho tratado com ozônio foi menor do que a do milho não tratado, indicando que a proteína pode ter sido destruída pelo processo de ozonização, o que influencia no valor nutritivo do grão de milho.	Wang et al., (2008)

Fonte: Milagres, 2014.

Contudo, as alterações ocasionadas pelo ozônio dependem da composição química do alimento, da dosagem de ozônio e das condições do tratamento utilizado (KIM et al., 1999), podendo por vezes causar alterações benéficas nas sementes.

Herrera (2012) constatou que o ozônio não afetou o vigor das sementes de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), nem os caracteres morfofisiológicos e de rendimento. Além disso, o tempo de exposição ao ozônio não afetou os parâmetros de velocidade e germinação e o percentual de germinação.

Montalvo et al. (2015) em pesquisa com sorgo, observaram que o tratamento com ozônio por 72 horas promoveu maior percentual de germinação quando comparado à testemunha. No teste de emergência, a testemunha apresentou percentual de 70%, enquanto que no tratamento com ozônio por 72 horas obteve-se percentual de 95%, seguido pelos demais tratamentos em que as sementes foram submetidas a 40 ppm do gás. Os parâmetros de comprimento da raiz e da parte aérea não foram afetados pelo ozônio. Foi provado que o ozônio aumenta a porcentagem de germinação, mas não afeta o vigor das sementes de *Sorghum bicolor* L.

Resultados obtidos por Chea (2010) e Herrera (2012) demonstraram que sementes de feijão comum expostas a uma concentração de 50 ppm de ozônio não tiveram os parâmetros de velocidade e percentual de germinação afetados. Resultados semelhantes foram obtidos por Combo et al. (2017), que demonstraram que o ozônio não afetou o vigor das variedades de feijão BAT-304 e Delicias-364. O tempo de exposição não afetou os parâmetros de velocidade de germinação e percentual de germinação de sementes de *Phaseolus vulgaris* L.

Savi et al. (2014) observaram que o tratamento com ozônio por até 2 h não teve efeito sobre a capacidade de germinação dos grãos de trigo, ao passo que tratá-los por 3 horas reduziu a capacidade em 12%. A reduzida capacidade de germinação pode estar relacionada à atividade reduzida de enzimas relacionadas e à ruptura da estrutura, de forma que a seleção de condições de reação adequadas

pode alcançar os resultados funcionais desejados sem afetar a propriedade de germinação dos grãos, segundo relata Zhu (2018).

Em que pese o desenvolvimento de pesquisas com ozônio em diversas culturas, ainda são incipientes as informações sobre a cinética de decomposição desse gás em meio poroso contendo híbridos de milho doce, bem como o efeito da ozonização sobre as características fisiológicas dessas sementes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-WAHHAB, M.A. et al. Efficacy of ozone to reduce fungal spoilage and aflatoxin contamination in peanuts. **International Journal of Nuts and Related Sciences**, v. 2, n. 4, p. 01-14, 2011.

ALENCAR, E. R. et al. Efficacy of ozone as a fungicidal and detoxifying agent of aflatoxins in peanuts. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 4, p. 899-905, 2012.

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

ALMEIDA, E. et al. Tratamento de efluentes industriais por processos oxidativos na presença de ozônio. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 818- 824, 2004.

ALWI, N. A.; ALI, A. Reduction of Escherichia coli O157, Listeria monocytogenes and Salmonella enterica sv. Typhimurium populations on freshcut bell pepper using gaseous ozone. **Food Control**, v. 46, p. 304-311, 2014.

ANDRADE, R. V. et al. Qualidade fisiológica das sementes do milho híbrido simples HS 200 em relação ao tamanho. **Ciência & Agrotecnologia**, v. 25, n. 3, p. 576-582, maio/jun. 2001.

ARAGÃO, C. A. **Avaliação de híbridos simples braquíticos de milho super doce (Zea mays L.) portadores do gene shrunken--2 (sh2sh2) utilizando o esquema dialélico parcial.** Botucatu, 2002, 101p. Tese (Doutorado em Agronomia). Faculdade de Ciências Agrônômicas – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

ARAÚJO, E. F. et al. Maturação de sementes de milho doce: Grupo superdoce. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 2, p. 69-76, 2006.

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

AZEVEDO, L. G.; GAMBALE, W.; CORRÊA, B. Mycoflora and aflatoxigenic species of *Aspergillus* sp. isolated from stored maize. **Microbiologia**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 46-50, 1994.

BARBIERI, V. H. B. et al. Produtividade e rendimento industrial de híbridos de milho doce em função de espaçamentos e populações de plantas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 3, p. 826-830, jul./set. 2005.

BARBONI, T.; CANNAC, M.; CHIARAMONTI, N. Effect of cold storage and ozone treatment on physicochemical parameters, soluble sugars and organic acids in *Actinidia deliciosa*. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 946–951, 2010.

BOCCI, V. **Ozone**: A new medical drug. Dordrecht: Springer, 2005.

BONALDO, J. P. **Conversores para alimentação de células geradoras de ozônio**. Campinas, 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) - Faculdade de Engenharia Elétrica e de Computação. Departamento de Sistemas e Controle de Energia. Laboratório de Condicionamento de Energia Elétrica. UNICAMP - Universidade Estadual de Campinas.

BORGES, I. O. **Teste de condutividade elétrica em sementes de milho doce**. Brasília, 2016, 37 f. Monografia (Graduação em Engenharia Agrônoma) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Universidade de Brasília.

BRITO JUNIOR, J. G. **Ozônio como agente fungicida e seu efeito na qualidade dos grãos de milho**. Minas Gerais, 2013. 56 p. Tese (Doctor Scientiae) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola. Universidade Federal de Viçosa.

BRITO, D. R. et al. Efeito dos óleos de citronela, eucalipto e composto citronela, sobre micoflora e desenvolvimento de plantas de milho. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 184-192, nov. 2012.

CHEA, A. **Efecto del ozono (O<sub>3</sub>) sobre *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) y granos de *Phaseolus vulgaris* L.** Villa Clara, 2010. Tesis (Master en Agricultura Sostenible). Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Cuba.

COELHO, C. C. S. et al. Ozonização como tecnologia pós-colheita na conservação de frutas e hortaliças: Uma revisão. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v. 19, n. 4, p. 369–375, 2015.

COIMBRA, R. A. et al. Teste de germinação com acondicionamento dos rolos de papel em sacos plásticos. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 92-97, 2007.

COMBO, I. B. I. et al. Efecto del ozono (O<sub>3</sub>) sobre semillas almacenadas del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). **Centro Agrícola**, v. 44, n. 4, p. 43-48, oct./dic. 2017.

COSTA, P. S. C.; CARVALHO, M. L. M. Teste de condutividade elétrica individual na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de café (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 1, p. 92-96, 2006.

CUNHA, J. P. A. R. et al. Aplicação aérea e terrestre de fungicida para o controle de doenças do milho. **Ciência Agrônômica**, v. 41, n. 3, p. 366-372, 2010.

DALSASSO, R. L. **Pré-ozonização de águas contendo agrotóxico, seguida de filtração direta**. Florianópolis, 1999. 135 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). Universidade Federal de Santa Catarina.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A. D. B. **Métodos e técnicas de tratamento de água**. v. 2. São Carlos: Rima, 2005.

EI-DESOUKY, T. A. et al. Effect of Ozone Gas on Degradation of Aflatoxin B1 and *Aspergillus flavus* Fungal. **Journal Environment Analytic Toxicol**, v. 2, n. 1, p. 128, 2012.

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. 2. ed. Guaíba: Agropecuária, 2004.

FARIAS, A. X. et al. Contaminação endógena por *Aspergillus* spp. em milho pós-colheita no estado do Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 3, p. 617- 21, 2000.

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

FEDERAÇÃO DAS INDÚSTRIAS DO ESTADO DE SÃO PAULO (FIESP). **Safra Mundial de Milho 2017/18 – 12º Levantamento do USDA**. Informativo abr. 2018. Disponível em: <<http://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/safra->

mundial-de-milho-2/attachment/file-20180411191854-boletim milho abril 2018/>.  
Acesso em: 25 abr. 2018.

FERREIRA, R. et al. Ozonioterapia: Uma visão crítica e atual sobre sua utilização em periodontia e implantodontia - revisão de literatura. **Innovations Implant Journal: Biomaterials and Esthetics**, v. 9, n. 2-3, p. 35-39, 2014.

FREITAS-SILVA, O.; VENÂNCIO, A. Ozone applications to prevent and degrade mycotoxins: A review. **Drug Metabolism Reviews**, v. 42, n. 4, p. 612-620, 2010.

GLAZE, W. H. Drinking-water treatment with ozone. **Environmental Science & Technology**, v. 21, n. 3, p. 224-230, Mar. 1987.

GORDON, G. The chemistry and reactions of ozone in our environment. **Progress in Nuclear Energy**, v. 29, Supplement, p. 89-96, 1995.

GRAY, N. F. Ozone disinfection. Chapter Thirty-three. In: **Microbiology of Waterborne Diseases**. 2014, p. 599-615.

GUISCHEM, J. M.; NAKAGAWA, J.; ZUCARELI, C. Qualidade fisiológica de sementes de milho-doce BR 400(BT) em função do teor de água na colheita e da temperatura de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 24, n. 1, p. 220-228, 2002.

HANSEN, L. S.; HANSEN, P.; JENSEN, K. M. V. Effect of gaseous ozone for control of stored product pests at low and high temperature. **Journal of Stored Products Research**, v. 54, p. 59-63, 2013.

HELENO, F. F. **Ozonização**: Uma estratégia para remoção de resíduos de agrotóxicos em alimentos. Minas Gerais, 2013. Tese (Doctor Scientiae) - Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação em Agroquímica. Universidade Federal de Viçosa.

HERRERA, R. V. **Efecto de especies de plantas y ozono (O3) sobre Zabrotes subfasciatus (Boheman)**. Santa Clara, 2012. 166 p. Tese (Doutorado em Ciências Agrícolas) - Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Villa Clara, Cuba.

HOLLINGSWORTH, R. G.; ARMSTRONG, J. W. Potential of Temperature, Controlled Atmospheres, and Ozone Fumigation to Control Thrips and Mealybugs on

Ornamental Plants for Export. **Journal of Economic Entomology**, v. 98, n. 2, p. 289-298, 2005.

HUDSON, J. B.; SHARMA, M. The practical application of ozone gas as an anti-fungal (anti-mold) agent. **Ozone-Science & Engineering**, v. 31, n. 4, p. 326-332, 2009.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. Germination. In: ISTA. **International Rules for Seed Testing**. Bassersdorf: ISTA, 2004, p. 5.1- 5.5; 5A.1-5A.50.

JORGE, R. A. et al. Producción científica sobre aplicaciones terapéuticas del ozono en el Web of Science. **ACIMED**, Ciudad de La Habana, v. 14, n. 1, feb. 2006.

JULIATTI, F. C. et al. Efeito do genótipo de milho e da aplicação foliar de fungicidas na incidência de grãos ardidos. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 2, p. 34-41, 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**, v. 26, n. 3, p. 516-521, 2006.

KELLS, S. A. et al. Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. **Journal of Stored Products Research**, v.37, n. 4, 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**, v. 62, n. 9, p.1071-1087, 1999.

KUNZ, A. et al. Assembly and optimization of a system for ozone utilization in laboratory scale. **Química Nova**, v. 22, n. 3, p. 425-428, 1999.

KWIATKOWSKI, A; CLEMENTE, E. Características do milho doce (Zea mays) para industrialização. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 1, n. 2, p. 93-103, 2007.

LANGLAIS, B.; RECKHOW, D. A.; BRINK, D. R. **Ozone in water treatment: application and engineering**. Chelsea: AWWARF and Lewis Publishers, 1991.

LAPOLLI, F. R. et al. 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.

LIN, S. S. Efeito do período de armazenamento na lixiviação eletrolítica dos solutos celulares e qualidade fisiológica da semente de milho (*Zea mays* L.) e feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.10, n. 3, p. 59-67, 1988.

LUCHSINGER, A.; CAMILO, F. Rendimiento de maíz dulce y contenido de sólidos solubles. **Idesia**, v.26, n. 3, p. 21-29, 2008.

LUZ, J. M. Q. et al. Produtividade de genótipos de milho doce e milho verde em função de intervalos de colheita. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 163-167, 2014.

LUZ, W. C. **Tratamento de sementes de milho com fungicidas**. Passo Fundo: Embrapa-CNPT, Circular Técnica, n. 7, 1997.

MACHADO, J. A. **Melhoramento genético do milho doce (*Zea mays* L.)**. Piracicaba, 1980. 78 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luís de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

MACHADO, J. C. **Patologia de sementes**: fundamentos e aplicações. Brasília: Ministério da Educação; Lavras: ESAL/ FAEPE, 1988.

\_\_\_\_\_. Patologia de sementes: Significado e atribuições. In: CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes**: Ciência, tecnologia e produção. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000.

MAHMOUD, A.; FREIRE, R. Métodos emergentes para aumentar a eficiência do ozônio no tratamento de águas contaminadas. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 198-205, 2007.

MALLMANN, C. A.; DILKIN, P. **Micotoxinas e micotoxicoses em suínos**. Santa Maria: Edição do Autor, 2007.

MANAHAN, S. E. **Environmental Chemistry**, 8. ed. CRC Press: Boca Raton, 2005.

MARCOS FILHO, J.; CICERO, S. M.; SILVA, W. R. **Avaliação da qualidade de sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987.

MCDONALD, M. B.; SULLIVAN, J.; LAWER, M. J. The pathway of water uptake in maize seeds. **Seed Science and Technology**, v. 22, n. 1, p. 79-90, 1994.

MENDEZ, F. et al. Penetration of ozone into columns of stored grains and effects on chemical composition and processing performance. **Journal of Stored Products Research**, v. 39, n. 1, p. 33-44, 2003.

MILAGRES, R. L. **Ozônio como fumigante para controle de insetos em produtos armazenados**. Minas Gerais, 2014. 28 f. Monografia (Graduação em Agronomia) Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Fitotecnia. Universidade Federal de Viçosa.

MONTALVO, I. M.; HERRERA, R. V.; MORALES, M. C. Efecto del ozono (O<sub>3</sub>) sobre el vigor de las semillas de sorgo (*Sorghum bicolor* [L.] Moench) variedad UDG-11. **Centro Agrícola**, v. 42, n. 1, p. 11-16, 2015.

MYLONA, K. et al. 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.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (ed.). **Vigor de sementes: Conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999, p. 2.1-2.24.

NASCIMENTO, V. R. G. et al. Desempenho de estratégias de aeração de milho armazenado: Fungos e condutividade elétrica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v. 16, n. 1, p. 113-121, 2012.

NOVAK, J. S.; YUAN, J. T. C. The ozonation concept: advantages of ozone treatment and commercial developments. In: TEWARI, G.; JUNEJA, V. K. (eds.). **Advances in thermal and non-thermal food preservation**. Ames: Blackwell Publishing, 2007, p. 85-193.

OKUMURA, R. S. et al. Sweet corn: Genetic aspects, agronomic and nutritional traits. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, Guarapuava, v. 6, n. 1, p. 105-114, 2013.

OLIVEIRA, A. C. S. et al. Testes de vigor em sementes baseados no desempenho de plântulas. **Inter Science Place**, v. 2, n. 4, p. 1-21, 2009.

OLIVEIRA, A. C. S. **Qualidade fisiológica de sementes de milho armazenadas em diferentes embalagens reutilizáveis sob dois ambientes**. Rio de Janeiro, 2009, 86 f. Tese (Mestrado em Produção Vegetal). Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. UENF - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

PAES, M. C. D. **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho**. Circular técnica, n. 75. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006.

PAIVA, Edilson et al. Seleção de progênies de milho doce de alto valor nutritivo com auxílio de técnicas eletroforéticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, n. 8, p. 1213-1218, 1992.

PARENTONI, S. N. et al. Milho doce. **Informe Agropecuário**, v. 14, p. 17-22, 1990.

PEREIRA FILHO, I. A.; CRUZ, J. C. **Cultivares de Milho para o consumo verde**. Circular Técnica, n. 15. Sete Lagoas, Embrapa Milho e Sorgo, 2002.

PEREIRA, A. F. et al. Qualidade fisiológica de sementes e desempenho agrônômico de genótipos de milho doce. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 38, n. 4, p. 249-261, out./dez. 2008.

PINTO, A. A. et al. Produção de espigas verdes por diferentes cultivares comerciais de milho em função da adubação NPK de semeadura. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 16, n. 3, p. 414-425, 2017.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. 2. ed. Brasília: AGIPLAN, 1985.

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

REGITANO-DARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F.; CASTELUCCI, A. C. L. Processamento e Industrialização do Milho para alimentação humana. **Visão Agrícola**, v. 13, p. 138-140, 2015.

RIBEIRO, D. F. **Ozônio como agente fungicida e de degradação de micotoxinas em híbridos de milho**. Minas Gerais, 2016. 47p. Dissertação (Magister Scientiae) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola. Universidade Federal de Viçosa.

RIBEIRO, D. M. V. **Adequação do teste de condutividade elétrica de massa e individual para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho (*Zea mays* L.)**. Lavras, 1999. 105 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras.

RIBEIRO, S. A. L. et al. Fungos filamentosos isolados de produtos derivados do milho comercializados em Recife, Pernambuco. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, p. 223-229, 2003.

ROSA, S. D. V. F. et al. Eficácia do teste de condutividade elétrica para uso em estudos de danos de secagem em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 1, p. 54-63, 2000.

ROZADO, A. F. et al. Aplicação de ozônio contra *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 12, n. 3, p. 282–285, 2008.

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

SAHAB, A. F. et al. Effect of ozone gaseous on aflatoxin degradation and fat and protein content in peanut seeds. **Journal of Applied Sciences Research**, v. 9, n. 3, p. 2170-2175, 2013.

SÁNCHEZ, B. A. O. **Ozônio como agente fungicida e efeito na qualidade de amendoim**. Brasília, 2015. 102 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade de Brasília.

SANTOS, R. R. et al. Ozone as fungicide in rice grains. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, n. 3, p. 230–235, 2016.

SAVI, G. D. et al. Ozone treatment efficiency on *Fusarium graminearum* and deoxynivalenol degradation and its effects on whole wheat grains (*Triticum aestivum*

L.) quality and germination. **Journal of Stored Products Research**, v. 59, p. 245-253, 2014.

SAWAZAKI, E. et al. Milho verde: Avaliação da resistência à lagarta da espiga, da espessura do pericarpo e outras características agronômicas. **Bragantia**, v. 49, n. 2, p. 241-251, 1990.

SCUSSEL, V. M. **Micotoxinas em alimentos**. Florianópolis, SC: Insular, 1998.

SHEELAMARY, M.; MUTHUKUMAR, M. Effectiveness of ozone in inactivating *Listeria monocytogenes* from Milk Samples. **World Journal of Young Researchers**, v. 1, n. 3, p. 40-44, 2011.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3.ed. São Paulo: Varela, 2007.

SILVA, S. B. et al. Potencialidades do uso do ozônio no processamento de alimentos. **Ciências Agrárias**, 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**. Porto Alegre, 2004. Dissertação (Doutorado em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental) - Universidade do Rio Grande do Sul.

SUNNEN, G. V. Ozone in medicine: Overview and future directions. **Journal of Advancement in Medicine**, v. 1, n. 3, p. 59-74, 1988.

TEIXEIRA, F. F. et al. **Melhoramento do milho-doce**. Documentos 154. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, ago. 2013.

TORRES, S. B. et al. Teste de condutividade elétrica em sementes de gergelim. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 3, p. 70-77, 2009.

TRACY, W. F. Sweet corn. In: HALLAUER, A. R. **Specialty corn**. Boca Raton, 2001, p. 155-198.

VIDAL, F. J. R. Influencia Del tratamiento con ozono en los procesos de potabilización del agua. In: **Anais da I Jornadas de Ciencias Ambientales**. Madrid, 3 -14 nov. 2003.

WANG, Y. et al. Lutein from Ozone-Treated Corn Retains Antimutagenic Properties. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 56, n. 17, p. 7942–7949, 2008.

WATERS JR., L.; BLANCHETTE, B. Prediction of sweetcorn field emergence by conductivity and cold tests. **Journal of American Society Horticultural Science**, v. 108, n. 5, p. 778-781, 1983.

ZHU, F. Effect of ozone treatment on the quality of grain products. **Food Chemistry**, v. 264, 358–366, 2018.

ZUCARELI, C. et al. Qualidade fisiológica de sementes de milho doce classificadas pela espessura e largura. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 1, p. 71-78, jan./mar. 2014.

## CAPÍTULO 1 – SATURAÇÃO E CINÉTICA DA DECOMPOSIÇÃO DE OZÔNIO EM MEIO POROSO CONTENDO DIFERENTES HÍBRIDOS DE MILHO

### RESUMO

Objetivou-se neste estudo avaliar a saturação e a cinética de decomposição do ozônio em meio poroso contendo grãos de diferentes híbridos de milho. Foram utilizados híbridos de milho comum, AG 1051, e os de milho super doce, Tropical Plus, GSS 42072, GSS 41499 e GSS 41243. Foram usadas amostras de 1 kg de milho, com teores de água de 13,0% (b.u.), acondicionadas em recipientes de vidro com capacidade de 3,25 L. Os grãos foram ozonizados na concentração de 1,28 mg L<sup>-1</sup>, a 25 °C e vazão do gás de 5,0 L min<sup>-1</sup>. Foram determinados o tempo e a concentração de saturação, o tempo de meia-vida, e as propriedades físicas massa específica aparente, massa específica real, porosidade, esfericidade e circularidade de cada um dos híbridos. O experimento foi realizado com delineamento experimental inteiramente casualizado, com três repetições, utilizando-se análise de regressão dos dados. No que se refere ao tempo de saturação do gás, os valores obtidos permaneceram entre 6,6 e 163,9 min, com concentração de saturação variando de 0,34 a 1,12 mg L<sup>-1</sup>. Quanto ao tempo de meia-vida do ozônio, o maior valor obtido foi 10,5 min para o híbrido de milho comum AG 1051 e o menor valor 0,16 min, para o híbrido de milho super doce GSS 41499. Verificou-se que a saturação e cinética de decomposição do ozônio em milho é dependente do híbrido contido no meio poroso. A decomposição do ozônio é mais rápida em meio poroso contendo híbridos de milho super doce.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L., ozonização, concentração de saturação, tempo de meia-vida.

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the saturation and kinetics of ozone decomposition gas in porous medium containing grains of different hybrids of corn. The common corn hybrid AG 1051, the super sweet corn Tropical Plus, GSS 42072, GSS 41499 and GSS 41243 were used. Samples of 1 kg grains with water contents of 13.0% (bu) were used, conditioned in glass containers with 3.25 L capacity. The grains were ozonized at the concentration of  $1.28 \text{ mg L}^{-1}$ , at  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , and gas flow of  $5.0 \text{ L min}^{-1}$ . The time and saturation concentration, the half-life time, and physical properties such as apparent specific mass, actual specific mass, porosity, sphericity and circularity were determined of each maize hybrid. The experiments were conducted in a completely randomized design with three replicates, using regression analysis in the data. Regarding the gas saturation time, the values obtained remained between 6.6 and 163.9 min, with a saturation concentration varying from 0.34 to  $1.12 \text{ mg L}^{-1}$ . As for the half-life of ozone, the highest value was 10.5 min for the common corn hybrid AG 1051 and the lowest value 0.14 min for the super sweet corn hybrid GSS 41499. It was concluded that the saturation and decomposition kinetics of ozone in corn is dependent on the hybrid contained in the porous medium. Ozone decomposition is faster in porous medium containing super sweet corn hybrids than on common corn hybrid.

**Key-words:** *Zea mays* L., ozonization, saturation concentration, half-life time.

## 1 INTRODUÇÃO

A ozonização tem sido proposta como alternativa no controle de pragas de grãos, em função do aumento da resistência dos insetos, principalmente no que se refere ao fumigante fosfina, e o aumento da demanda por produtos livres de resíduos de pesticidas (XINYI et al., 2017; PANDISELVAM et al., 2015; TIWARI et al., 2010).

Encontram-se na literatura diversos relatos referentes à eficácia do ozônio no controle de insetos-praga de grãos, tais como *Tribolium castaneum*, *Sitophilus zeamais*, *S. oryzae*, *Oryzaephilus surinamensis* *Rhyzopertha dominica* e larvas de *Plodia interpunctella* (SILVA et al., 2016; BONJOUR et al., 2011; KELLS et al., 2001; ROZADO et al., 2008; SOUSA et al., 2008). O ozônio também tem sido utilizado como agente antimicrobiano, com eficiência comprovada no controle de diferentes espécies de bactérias e de fungos (SANTOS et al., 2016; CONCHA-MEYER et al., 2014; ALENCAR et al., 2012; HUDSON; SHARMA, 2009; IGURA et al., 2004; KELLS et al., 2001; KIM; YOUSEF, 2000).

Diante da expressiva aplicabilidade do ozônio como agente protetor, é fundamental estudar os parâmetros relacionados à distribuição do gás durante a fumigação dos grãos, avaliando a saturação e a cinética de decomposição no meio poroso. O ozônio gasoso apresenta meia vida inferior a 20 min, a 20°C (NOVAK; YUAN, 2007) e reage rapidamente em meio contendo material orgânico, decompondo-se em oxigênio (CULLEN et al., 2009). Temperatura e teor de água são fatores que influenciam a decomposição do ozônio em meio poroso contendo grãos, conforme relatado por Alencar et al. (2011) e por Pandiselvam et al. (2015).

Ressalta-se que há poucos relatos referentes à saturação e à decomposição do ozônio em meio poroso contendo grãos (ROBERTO et al., 2016; SANTOS et al., 2016; PANDISELVAM et al., 2015; ALENCAR et al., 2011; SANTOS et al., 2007). Para Alencar et al. (2011), os parâmetros relacionados aos processos de saturação e de decomposição são fundamentais para a avaliação da viabilidade técnica e para o dimensionamento de sistemas de ozonização de grãos. Em função das diferenças na composição química, bem como nas propriedades físicas, é importante estudar esses processos nos diferentes grãos. Então, o presente estudo teve como objetivo avaliar a saturação e a cinética de decomposição do ozônio em meio poroso com diferentes híbridos de milho.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Pré-processamento e Armazenamento de Produtos Vegetais, da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, da Universidade de Brasília, Brasília-DF, Brasil (15° 45' 46.70" S / 47° 52' 10.25" O), de janeiro a agosto de 2016.

O gás ozônio foi obtido por meio de um gerador de ozônio, desenvolvido pela empresa Ozone & Life, Modelo O&L 3.0-O2-RM. No processo de geração do ozônio, foi utilizado como insumo o oxigênio com grau de pureza de aproximadamente 90%, isento de umidade, obtido de concentrador de oxigênio acoplado ao gerador.

Na avaliação do processo de saturação e da cinética de decomposição do gás ozônio no meio poroso, foram utilizados grãos de quatro híbridos de milho super doce (Tropical Plus; GSS 42072; GSS 41499; GSS 41243) e um híbrido de milho comum (AG 1051), com teor de água em torno de 13% (b.u.). Na quantificação da concentração de ozônio foi adotado o método iodométrico, descrito por Clescerl et al. (1999). Realizaram-se três ensaios sob mesmas condições para cada híbrido de milho.

Foram determinados os tempos e as respectivas concentrações de saturação ( $C_{\text{Sat}}$ ) na avaliação do processo de saturação, de acordo com Santos et al. (2007). Para determinar o tempo de saturação do gás ozônio em meio poroso contendo diferentes híbridos de milho, fez-se a injeção do gás, na concentração de 1,28 mg L<sup>-1</sup>, utilizando-se recipientes de vidro com capacidade de 3,25 L, contendo 1 kg de grãos (Figura 2).

Ressalta-se que a concentração do ozônio de  $1,28 \text{ mg L}^{-1}$  é superior a utilizada por Rozado et al. (2008), que foi eficiente no controle de insetos-praga de grãos armazenados em grãos de milho. Adotou-se vazão de entrada do gás equivalente a  $5,0 \text{ L min}^{-1}$ , na temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$ . Determinou-se a concentração residual do gás após a passagem pelo produto, em intervalos de tempos regulares de 5 min, até que se mantivesse praticamente constante.

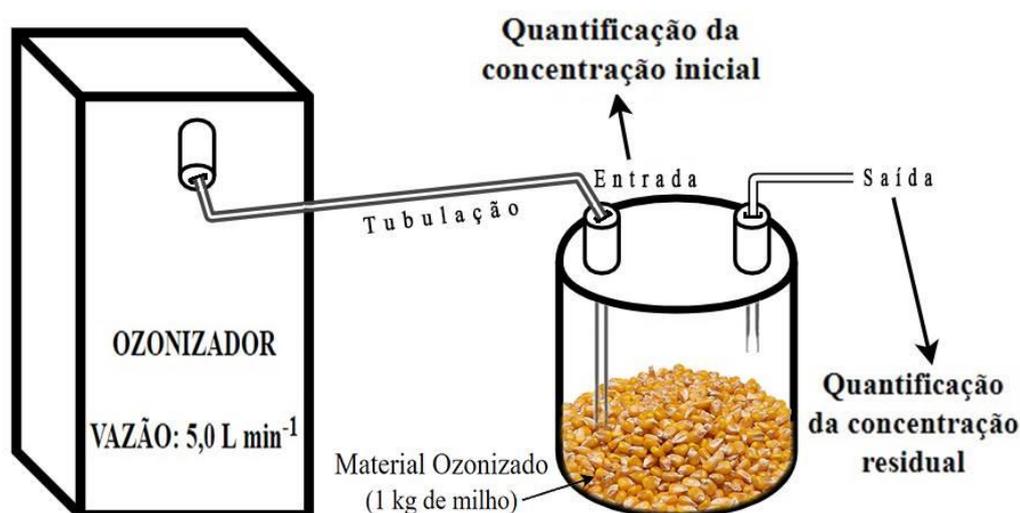


Figura 2 – Esquema da ozonização do milho e quantificação da concentração do gás.

Para relacionar a concentração residual do gás ozônio com o tempo, realizou-se ajuste da equação sigmoidal aos dados obtidos (Eq. 1)

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

Em que:

C - concentração do gás ozônio,  $\text{mg L}^{-1}$ ;

t – tempo, min; e,

a, b, c - constantes da equação.

A partir das constantes b e c das equações ajustadas, foi possível obter os tempos de saturação do ozônio (Eq. 2) nos meios porosos compostos pela massa

de grãos de diferentes híbridos, conforme descrito por Venegas et al. (1998). Conhecendo-se os valores referentes ao tempo de saturação, calcularam-se as respectivas concentrações de saturação.

$$t_{\text{sat}} = b + 2c \quad (2)$$

Em que:

$t_{\text{sat}}$  - tempo de saturação, min.

A cinética de decomposição do ozônio foi avaliada depois da saturação do meio poroso, quantificando-se a concentração residual pelo método iodométrico, após diferentes intervalos de tempo durante os quais não era efetuada injeção do gás e acontecia a decomposição espontânea, seguindo metodologia adotada por Santos et al. (2007). Na quantificação do ozônio residual, depois dos diferentes períodos de repouso, injetou-se ar atmosférico, adotando-se vazão de  $1,0 \text{ L min}^{-1}$ .

O modelo cinético de primeira ordem, Eq. 3, foi ajustado aos dados da concentração residual do ozônio em função dos diferentes intervalos de tempo (WRIGHT, 2004). O ajuste do modelo de cinética de decomposição, após linearização, Eq. 4, foi realizado por meio de análise de regressão. A constante da taxa de decomposição ( $k$ ) é dada pela inclinação da reta depois do ajuste dos modelos integrados e linearizados.

$$\frac{dC}{dt} = -kC \quad (3)$$

$$\ln C = \ln C_0 - kt \quad (4)$$

Em que:

$C$  - concentração do gás ozônio,  $\text{mg L}^{-1}$ ;

$t$  - tempo, min;

$k$  - constante da taxa de decomposição,  $\text{min}^{-1}$ ; e,

$C_0$  - concentração de saturação do gás ozônio,  $\text{mg L}^{-1}$ .

Calculou-se, a partir dos valores da constante da taxa de decomposição, o tempo de meia vida ( $t_{1/2}$ ) do ozônio em meio poroso contendo massa de grãos de diferentes híbridos de milho que, para o modelo cinético de primeira ordem, é definido pela Eq. 5 (WRIGHT, 2004):

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (5)$$

Foram determinadas ainda, as seguintes propriedades físicas dos diferentes híbridos: massa específica aparente, massa específica real, porosidade, circularidade e esfericidade. A massa específica aparente ( $\rho$ ) foi determinada por meio da relação entre a massa e volume ocupado pelos grãos de milho e a massa específica real ( $\rho_r$ ) obtida de acordo com Moreira et al. (1985). Conhecendo-se a massa específica aparente e a massa específica real, obteve-se a porosidade (P) a partir da Eq. 6.

$$P = 1 - \frac{\rho}{\rho_r} \quad (6)$$

A esfericidade e circularidade foram determinadas conforme definido por Mohsenin (1986), utilizando-se as Eqs. 7 e 8, com medição em paquímetro das dimensões de 50 grãos de cada híbrido de milho.

$$\phi = \left[ \frac{(a b c)^{\frac{1}{3}}}{a} \right] 100 \quad (7)$$

$$C = 100 \left( \frac{d_i}{d_c} \right) \quad (8)$$

Em que:

$\phi$  - esfericidade, %;

a - maior dimensão característica do grão, mm;

b - dimensão característica média do grão, mm;

c – menor dimensão característica do grão, mm;

C - circularidade, %;

$d_i$  - diâmetro do maior círculo inscrito, mm; e,

$d_c$  - diâmetro do maior círculo circunscrito, mm.

O experimento foi realizado com delineamento experimental inteiramente casualizado, em triplicata, utilizando-se análise de regressão dos dados. Para a obtenção das equações de regressão e plotagem dos gráficos, referentes ao processo de saturação e cinética de decomposição, utilizou-se o software SigmaPlot 10.0.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação ao tempo de saturação, verificou-se que os valores permaneceram na faixa entre 6,5 e 163,9 min, sendo que o maior valor foi obtido para o híbrido GSS 41499 (Tabela 4 e Figura 3). A concentração de saturação do gás ozônio variou de 0,34 e 1,12 mg L<sup>-1</sup>, tendo sido obtido o maior valor para o híbrido de milho comum AG 1051, equivalente a 87,5% da concentração inicial, com tempo de saturação de 6,5 min. Por outro lado, para o híbrido de milho super doce GSS 41499 obteve-se concentração de saturação equivalente a 26,6% da concentração inicial, associado ao maior tempo de saturação que foi de 163,9 min.

Tabela 4 – Equações de regressão ajustadas e respectivos coeficientes de determinação (r<sup>2</sup>) para concentração residual do ozônio (mg L<sup>-1</sup>) durante o processo de saturação de meio poroso contendo diferentes híbridos de milho, com concentração inicial do gás de 1,28

Variedade de milho	Equações ajustadas	r <sup>2</sup>	t <sub>Sat</sub> (min)	C <sub>Sat</sub> (mg L <sup>-1</sup> )
AG 1051	$\hat{y} = \frac{1,27}{1+e^{-\left(\frac{x-3,47}{1,50}\right)}}$	0,95	6,5	1,12
Tropical Plus	$\hat{y} = \frac{0,77}{1+e^{-\left(\frac{x-31,48}{10,45}\right)}}$	0,95	52,4	0,68
GSS 41499	$\hat{y} = \frac{0,39}{1+e^{-\left(\frac{x-145,47}{9,29}\right)}}$	0,99	163,9	0,34
GSS 42072	$\hat{y} = \frac{0,41}{1+e^{-\left(\frac{x-103,13}{8,33}\right)}}$	0,99	119,8	0,36
GSS 41243	$\hat{y} = \frac{0,95}{1+e^{-\left(\frac{x-35,98}{26,67}\right)}}$	0,93	88,4	0,83

t<sub>Sat</sub> - Tempo de saturação; C<sub>Sat</sub> - Concentração de saturação

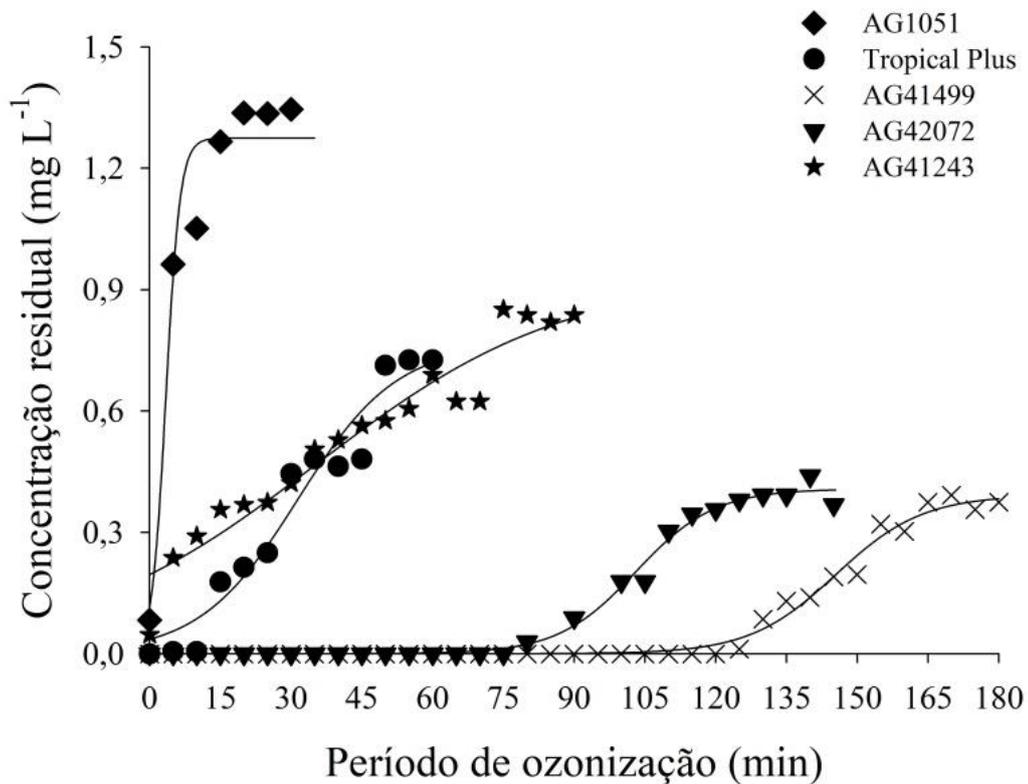


Figura 3 – Concentração residual do ozônio em função do tempo em meio poroso contendo grãos de diferentes híbridos de milho, com concentração inicial do gás de 1,28 mg L<sup>-1</sup>.

O comportamento observado, no que tange ao processo de saturação de meio poroso contendo os grãos dos diferentes híbridos de milho, manteve-se de acordo com Strait (1998), Kells et al. (2001) e Mendez et al. (2003), que afirmaram que o comportamento do ozônio durante a fumigação dos grãos apresenta duas fases distintas. De acordo com esses autores os grãos apresentam sítios ativos na sua superfície que reagem com o ozônio durante a fumigação inicial, ocorrendo rápida degradação do gás, e conseqüentemente, a eliminação desses sítios (fase 1). Uma vez que estes locais tenham reagido com o ozônio (fase 2), a taxa de degradação de ozônio diminui.

O processo de decomposição do ozônio (Figura 4 e Tabela 5) foi mais acelerado nos híbridos de milho super doce GSS 42072 e GSS 41499, com os valores de constante da taxa de decomposição ( $k$ ) equivalentes a 0,835 e 4,471  $\text{min}^{-1}$ , respectivamente. Deve-se ressaltar que o valor de  $k$  no meio poroso contendo grãos do híbrido GSS 41499 é 5,3 vezes maior que para híbrido GSS 42072. Menores taxas de decomposição foram observadas nos híbridos AG 1051, Tropical Plus e GSS 41243, com valores de 0,066, 0,110 e 0,185  $\text{min}^{-1}$ , respectivamente.

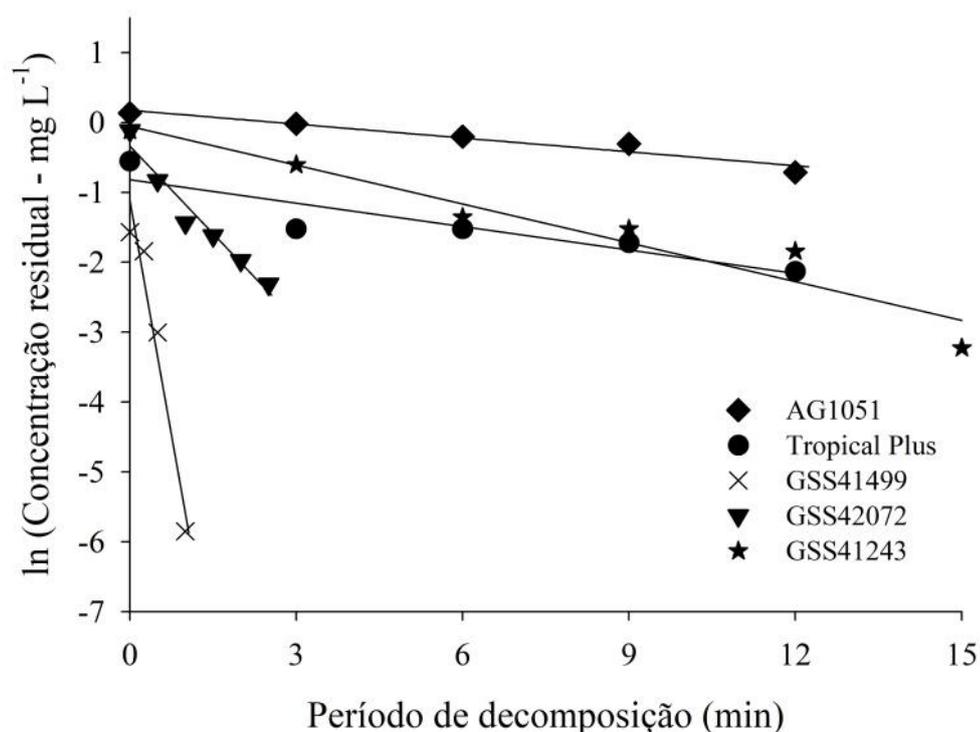


Figura 4 – Modelo cinético de primeira ordem ajustado aos dados observados de concentração residual de ozônio em meio poroso contendo diferentes híbridos de milho na temperatura de 25°C.

Com relação ao tempo de meia vida do ozônio (Tabela 5), os maiores valores foram para os híbridos AG 1051 e Tropical Plus, equivalentes a 10,5 e 6,3 min, respectivamente. Os menores valores de tempo de meia vida foram obtidos

para os grãos dos híbridos GSS 41499 e GSS 42072, que se destacaram por apresentar maior tempo de saturação, como verificado na Tabela 5.

Tabela 5 – Equações de regressão ajustadas em função do tempo para a concentração residual do gás ozônio em meio poroso contendo grãos de diferentes variedades de milho, na temperatura de 25°C e seus respectivos coeficientes de determinação (R<sup>2</sup>) e tempos de meia-vida

Híbrido de milho	Equações ajustadas	r <sup>2</sup>	Tempo de meia-vida (min)
AG 1051	$\hat{y} = 0,174 - 0,066 * x$	0,94	10,50
Tropical Plus	$\hat{y} = -0,821 - 0,110 * x$	0,84	6,30
GSS 41499	$\hat{y} = -1,111 - 4,471 * x$	0,94	0,16
GSS 42072	$\hat{y} = -0,339 - 0,835 * x$	0,96	0,80
GSS 41243	$\hat{y} = -0,057 - 0,185 * x$	0,92	3,80

\*Significativo a 0,05 de probabilidade pelo teste F

Os tempos de meia-vida do ozônio obtidos nesta pesquisa foram menores que os observados na ausência de material biológico (20 a 50 min), bem como em soluções aquosas (20 a 30 min) (KHADRE et al., 2001), confirmando a influência da composição do meio na reatividade do gás. Santos et al. (2007) estudaram a cinética de decomposição do ozônio em milho comum, utilizando-se a concentração de 100 ppm ( $\approx 0,21 \text{ mg L}^{-1}$ ). Esses autores obtiveram tempo de meia vida de 5,57 min, comportamento similar ao observado no híbrido Tropical Plus.

Em meio poroso contendo amendoim com 7,1% de teor de água a 25°C, Alencar et al. (2011) obtiveram tempo de meia-vida equivalente a 7,7 min, valor superior a todos os híbridos de milho super doce, porém inferior ao híbrido de milho comum.

Foram observadas diferenças expressivas nos processos de saturação e de decomposição do gás ozônio, quando utilizados os diferentes híbridos de milho. É possível que tais diferenças estejam associadas às propriedades físicas dos grãos. Na Tabela 6 são apresentados dados referentes à massa específica aparente, à massa específica real, à porosidade, à esfericidade e à circularidade dos diferentes híbridos de milho. Os maiores valores de tempo de saturação associados a menores valores de concentração de saturação foram obtidos nos híbridos de milho super doce.

Em geral, os híbridos de milho super doce apresentaram os menores valores de massa específica aparente e massa específica real e os maiores valores de porosidade, esfericidade e circularidade, quando se comparou com o híbrido de milho comum (AG1051). Encontram-se na literatura dados relacionados a outros tipos de grãos e que as diferenças observadas também podem estar relacionadas às propriedades físicas.

Para grãos de amendoim, Alencar et al. (2011) observaram tempo e concentração de saturação equivalentes a 175 min e  $0,26 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente, para grãos com teor de água de 7,1%, concentração inicial do gás de  $0,45 \text{ mg L}^{-1}$ , a  $25^{\circ}\text{C}$ . Santos et al. (2016) estudaram o processo de saturação em meio poroso contendo grãos de arroz, adotando-se vazão de  $1,0 \text{ L min}^{-1}$  e concentração de  $10,13 \text{ mg L}^{-1}$ , e observaram tempo e concentração de saturação equivalentes a 13,97 min e  $5,00 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente.

Tabela 6 – Valores médios de massa específica aparente (kg m<sup>-3</sup>), de massa específica real (g cm<sup>-3</sup>), de porosidade (%), de esfericidade (%) e de circularidade (%) dos diferentes híbridos de milho.

Híbrido de milho	Massa específica		Porosidade (%)	Esfericidade (%)	Circularidade (%)
	Aparente (kg m <sup>-3</sup> )	Real (g cm <sup>-3</sup> )			
AG1051	763,4 ± 3,9	1.160,2 ± 3,9	35,5 ± 0,2	59,9 ± 5,7	56,5 ± 3,7
Tropical Plus	442,8 ± 1,8	897,9 ± 17,4	50,7 ± 1,2	86,1 ± 8,1	68,9 ± 6,4
GSS 41499	533,2 ± 4,0	1.019,2 ± 18,6	47,7 ± 1,2	86,2 ± 10,4	85,6 ± 6,8
GSS 42072	561,7 ± 5,1	1.021,2 ± 18,2	45,7 ± 1,1	89,1 ± 9,1	87,6 ± 6,2
GSS 41243	542,2 ± 2,8	1.028,2 ± 4,9	47,3 ± 0,3	82,5 ± 11,7	82,1 ± 7,6

É possível ainda que a diferença na composição química dos híbridos tenha influenciado os processos de saturação e de decomposição do ozônio. Segundo Tiwari et al. (2010), a difusão do ozônio depende da composição química do meio porque esse gás reage com os constituintes químicos presentes na camada externa dos mesmos. Ressalta-se que o milho doce difere do milho comum pelo alto teor de açúcares e baixo teor de amido (ARAÚJO et al., 2001).

Enquanto que o milho super doce possui em torno de 25% de açúcar e 15 a 25% de amido, o milho comum apresenta aproximadamente 3% de açúcar e entre 60 e 70% de amido (PEREIRA FILHO et al., 2003). Estudos posteriores que possam elucidar a influência das propriedades físicas e da composição química são fundamentais para a implementação da ozonização como técnica de conservação de grãos de milho durante o armazenamento.

#### 4 CONCLUSÕES

1. Os processos de saturação e cinética de decomposição do ozônio em grãos de milho são dependentes do híbrido contido no meio poroso;
2. O processo de saturação é mais lento em híbridos de milho super doce, com menores valores de concentração de saturação e maiores valores de tempo de saturação, do que os valores observados no híbrido de milho comum;
3. A decomposição do ozônio é mais rápida em meio poroso contendo grãos de milho super doce que em grãos de milho comum.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALENCAR, E. R. et al. Decomposition kinetics of gaseous ozone in peanuts. **Engenharia Agrícola**, v. 31, n. 5, p. 930-939, 2011.

\_\_\_\_\_. Efficacy of ozone as a fungicidal and detoxifying agent of aflatoxins in peanuts. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 4, p. 899-905, 2012.

ARAÚJO, E. F.; CORREA, P. C.; SILVA, R. F. Comparação de modelos matemáticos para descrição das curvas de dessecamento de sementes de milho-doce. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, n. 7, p.991-995, 2001.

BONJOUR, E. L. et al. Efficacy of ozone fumigation against the major grain pests in stored wheat. **Journal of Economic Entomology**, v. 104, n. 1, p. 308-316, 2011.

CLESCERL, L. S.; GREENBERG, A. E.; EATON, A. D. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20. ed. Denver: American Water Works Association, 1999.

CONCHA-MEYER, A. et al. Survival of *Listeria monocytogenes* on fresh blueberries (*Vaccinium corymbosum*) stored under controlled atmosphere and ozone. **Journal of Food Protection**, v.77, n. 5, p.832-836, 2014.

CULLEN, P. J. et al. Modelling approaches to ozone processing of liquid foods. **Trends in Food Science & Technology**, v.20, n. 3-4, p.125-136, 2009.

HUDSON, J. B.; SHARMA, M. The practical application of ozone gas as an anti-fungal (anti-mold) agent. **Ozone: Science & Engineering**, v. 31, n. 4, p. 326-332, 2009.

IGURA, N. et al. Research note: Inactivation efficiency of ozonated water for *Fusarium oxysporum* conidia under hydroponic greenhouse conditions. **Ozone: Science & Engineering**, v. 26, n. 5, p.217-221, 2004.

KELLS, S. A. et al. Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. **Journal of Stored Products Research**, v.37, n. 4, p.371-383, 2001.

KHADRE, M. A.; YOUSEF, A. E.; KIM, J. G. Microbiological aspects of ozone applications in food: A review. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 9, p.1242-1252, 2001.

KIM, J.-G.; YOUSEF, A. E. Inactivation kinetics of foodborne spoilage and pathogenic bacteria by ozone. **Journal of Food Science**, v.65, n. 3, p. 521-528, 2000.

MENDEZ, F. et al. Penetration of ozone into columns of stored grains and effects on chemical composition and performance. **Journal of Stored Products Research**, v.39, n. 1, p. 33-44, 2003.

MOHSENIN, N. N. **Physical properties of plant and animal materials**. 2. ed. Amsterdam: Gordon and Breach Gordon and Breach Publishers, 1986.

MOREIRA, S. M. C.; CHAVES, M. A.; OLIVEIRA, L. M. Comparação da eficiência de líquidos na determinação da massa específica aparente de grãos agrícolas. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 9, n. 1-2, p. 22-24, 1985.

NOVAK, J. S.; YUAN, J. T. C. The ozonation concept: Advantages of ozone treatment and commercial developments. In: TEWARI, G.; JUNEJA, V. K. (ed.). **Advances in thermal and non-thermal food preservation**. Chap. 7. Ames: Blackwell Publishing, 2007, p.185-193.

PANDISELVAM, R.; THIRUPATHI, V.; ANANDAKUMAR, S. Reaction kinetics of ozone gas in paddy grains. **Journal of Food Process Engineering**, v. 38, n. 6, p. 594-600, 2015.

PEREIRA FILHO, I. A.; CRUZ, J. C.; GAMA, E. E. G. Cultivares para o consumo verde. In: PEREIRA FILHO, I. A. **O cultivo do milho verde**. Capítulo I. Brasília: Embrapa Milho e Sorgo, 2003, p. 17-30.

ROBERTO, M. A. et al. Saturação do ozônio em coluna contendo grãos de amendoim e efeito na qualidade. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 19, p. 1-8, 2016.

ROZADO, A. F. et al. Aplicação de ozônio contra *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, n. 3, p. 282-285, 2008.

SANTOS, J. E. et al. Ozonization process: Saturation time, decomposition kinetics and quality of maize grains (*Zea mays* L.). In: **IOA Conference and Exhibition, 2007**. Valencia. Proceedings... Valencia: IOA, 2007, p. 1-6.

SANTOS, R. R. et al. Ozone as fungicide in rice grains. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, n. 3, p. 230-235, 2016.

SILVA, G. N. et al. Ozone to control *Rhizopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) in stored wheat grains. **Journal of Stored Products and Postharvest Research**, v. 7, n. 4, p. 37-44, 2016.

SOUSA, A. et al. Ozone as a management alternative against phosphine-resistant insect pests of stored products. **Journal of Stored Products Research**, v. 44, n. 4, p. 379–385, 2008.

STRAIT, C. A. **Efficacy of ozone to control insects and fungi in stored grain**. 1998. 59 f. 1998. Dissertation (Master of Science) – Department of Entomology. Purdue University, West Lafayette.

TIWARI, B. K. et al. Application of ozone in grain processing. **Journal of Cereal Science**, v. 51, n. 3, p. 248-255, 2010.

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

WRIGHT, M. R. **An introduction to chemical kinetics**. New York: Wiley, 2004.

XINYI, E.; SUBRAMANYAM, B.; LI, B. Efficacy of ozone against phosphine susceptible and resistant strains of four stored-product insect species. **Insects**, v. 8, n. 2, p. 1-14, 2017.

## CAPÍTULO 2 – EFEITO DO GÁS OZÔNIO NA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MILHO DOCE

### RESUMO

O ozônio ( $O_3$ ) é um gás com alto poder de oxidação que vem sendo empregado nas mais diversas áreas. Na agricultura sua utilização tem se mostrado promissora no controle de pragas e doenças, pela sua capacidade biocida e por ser seguro no emprego em alimentos, tendo em vista não deixar resíduos tóxicos nos produtos. Contudo, o gás pode influenciar positiva ou negativamente algumas características dos produtos ozonizados. Diante disto, objetivou-se neste trabalho avaliar a qualidade fisiológica de sementes de milho doce submetidas ao processo de ozonização. As sementes foram submetidas a quatro concentrações ( $4 \text{ mg/L}^{-1}$ ,  $9 \text{ mg/L}^{-1}$ ,  $14 \text{ mg/L}^{-1}$  e  $22 \text{ mg/L}^{-1}$ ) e a quatro períodos de exposição (30, 60, 90 e 120 minutos), além da testemunha sem nenhum tratamento, em um delineamento experimental inteiramente casualizado. Foram realizados os seguintes testes para avaliação da qualidade fisiológica da semente: teste de germinação (TG); comprimento de plântula (CP), comprimento de parte aérea (CPA) e de raiz (CR); índice de velocidade de germinação (IVG); massa seca de plântulas (MS) e coloração. Observou-se que as sementes submetidas às menores concentrações e aos menores tempos de exposição ao gás apresentaram respostas positivas no processo de germinação, enquanto que altas concentrações e períodos maiores de exposição ao gás diminuíram o percentual de germinação das sementes. Todas as concentrações do gás proporcionaram aumento da massa seca da plântula em relação à testemunha. O tratamento com concentração de  $14 \text{ mg L}^{-1}$  induziu uma resposta positiva nos parâmetros de comprimento de raiz, parte aérea e de plântulas em todos os tempos de exposição pesquisados. A ozonização afetou o parâmetro diferença de cor em todas as condições estudadas. Conclui-se que a ozonização apresenta potencial para incrementar respostas fisiológicas de sementes de milho doce.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L. grupo saccharata Sturt, ozonização, concentração, tempo de exposição, qualidade de sementes.

## ABSTRACT

Ozone ( $O_3$ ) is a gas with high oxidation power that has been used in several areas. In agriculture, its use has shown promise in the control of pests and diseases, because of its biocidal capacity and because it is safe in use in food, in order not to leave toxic residues in the products. The gas may, positively or negatively, influence some characteristics of the ozonated products. In view of this, the objective of this study was to evaluate the physiological quality of sweet corn seeds submitted to the ozonation process. The seeds were submitted to four concentrations ( $4 \text{ mg / L}^{-1}$ ,  $9 \text{ mg / L}^{-1}$ ,  $14 \text{ mg / L}^{-1}$  and  $22 \text{ mg / L}^{-1}$ ) and to four exposure periods (30, 60, 90 and 120 minutes), in addition to the control without any treatment, in a completely randomized experimental design. The following tests were carried out to evaluate the physiological quality of the seed: germination standard test (TG); length of seedling (CP), shoot (CPA) and root (CR) length; germination speed index (IVG); dry mass of seedlings (DM) and staining (color). It was observed that the seeds submitted to the lowest concentrations and the shorter times of exposure to the gas presented positive responses in the germination process, while high concentrations and longer periods of gas exposure decreased the germination percentage of the seeds. All gas concentrations provided increased seedling dry mass in relation to the control. Treatment with a concentration of  $14 \text{ mg L}^{-1}$  induced a positive response in root, shoot and seedling length parameters at all the exposure times studied. Ozonation affected the parameter color difference in all conditions studied. It was concluded that ozonation has the potential to increase the physiological responses of sweet corn seeds.

**Key-words:** *Zea mays* L. group *saccharata* Sturt, ozonization, concentration, exposure time, seed quality.

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil, como grande produtor de milho comum, apresenta também grande potencial para produção de milho doce (FERREIRA et al., 2011). O principal destino deste último é o processamento pela indústria para alimentação humana (OLIVEIRA JUNIOR et al., 2006). O milho doce possui alelos mutantes que bloqueiam a conversão de açúcares em amido no endosperma e conferem aos grãos alto teor de açúcares e baixo teor de amido (ZUCARELLI et al., 2012; BHATT et al., 2012), caracterizando uma matéria-prima com excelentes características sensoriais para a indústria de conservas (PERFEITO et al., 2017).

A demanda nacional por milho doce cresce a cada ano. Porém, um dos entraves para a expansão da produção no País é que as sementes apresentam problemas de baixa qualidade fisiológica, quando comparadas ao milho comum (ZUCARELLI et al., 2014). Assim, o milho doce possui peculiaridades que tornam a produção de sementes de alta qualidade mais difícil do que na maioria dos milhos normais, principalmente, no tocante à sua tolerância ao armazenamento e ao baixo vigor da semente (MARTINS NETTO et al., 2007).

Relaciona-se este problema à reduzida quantidade de amido e maior quantidade de açúcares no endosperma, que acarretam a formação de espaços entre a camada de aleurona e o pericarpo da semente, durante a maturação, deixando-a enrugada (ZUCARELLI et al., 2014). Outros fatores como a maturidade incompleta dos grãos e a fina espessura também contribuem com os problemas fisiológicos (KWIATKOWSKI; CLEMENTE, 2007), o que pode favorecer a

colonização microbiana, que pode ser acelerada devido à quantidade de açúcar presente nas sementes (GOMES JUNIOR et al., 2009).

Dentre os principais fungos associados às sementes de milho doce listados, encontram-se o *Fusarium verticillioides*, *Cladosporium* spp., *Penicilium* spp. (CAMARGO, 2003; GUISTEM et al., 2001), *Aspergillus* sp. e *Cephalosporium* sp. (CAMARGO, 2003). Sob condições ambientais favoráveis, estes fungos toxigênicos podem produzir micotoxinas durante o crescimento da planta, ou após a colheita e em armazenamento (VALMORBIDA, 2016), situação que requer a adoção de medidas de controle. O homem e os animais são expostos a estas micotoxinas por absorção através da pele, ingestão ou inalação (MOHAPATRA et al., 2017), que podem ocasionar diarreia, redução do apetite, vômitos, doença pulmonar, inflamação gastrointestinal, comprometimento do crescimento, vários tipos de câncer, biossíntese anormal de proteínas, imunossupressão, carcinogênese e morte, dependendo do grau de exposição (SHUKLA et al., 2009; SHEPHARD, 2008; LACEY, 1975).

O uso de fungicidas sintéticos tem ocorrido com grande frequência para o controle de contaminação fúngica em grãos armazenados (ARINO; BULLERMAN, 1993). No entanto, a preocupação com os riscos à saúde associados aos resíduos desses produtos nos grãos, particularmente, durante os períodos de pós-colheita e armazenamento (GUAN et al., 2011), tem levado os consumidores, cada vez mais exigentes, a buscarem produtos mais seguros e com menor impacto ao meio ambiente e à saúde humana (BEIRÃO-DA-COSTA et al., 2014).

Neste cenário, uma estratégia moderna e eficiente que tem sido sugerida é o uso de gás ozônio (O<sub>3</sub>), que é conhecido por ser um forte agente antimicrobiano, que pode atuar na inativação ou inibição do desenvolvimento de diversas espécies de

fungos (SANTOS et al., 2016), provocando, mediante estresse oxidativo, a deterioração das membranas celulares ou a morte celular de microrganismos (HOLLINGSWORTH; ARMSTRONG, 2005).

O ozônio tem várias propriedades que são desejáveis quando comparado a outros produtos químicos usados para a preservação de milho (WHITE et al., 2009). Pode ser prontamente produzido no local a partir do ar ambiente e, portanto, seu uso não requer armazenamento e manuseio de produtos químicos tóxicos (VAN LEEUWEN et al., 2003; SANKARAN et al., 2008). Não obstante a comprovada eficiência da ozonização como método de controle de microrganismos, a sua utilização requer um adequado manejo, tendo em vista as evidências que o gás em determinadas situações pode afetar negativamente a qualidade dos grãos (KIM et al., 1999).

Para o uso eficaz e seguro, a concentração de ozônio ideal, tempo de contato e outras condições de tratamento devem ser definidos para cada produto (COELHO et al., 2015). Desta forma, considerando serem incipientes estudos sobre os efeitos do gás ozônio sobre sementes de milho doce, objetivou-se com este trabalho avaliar a qualidade fisiológica dessas sementes expostas ao O<sub>3</sub> em diferentes combinações de concentração e tempo de exposição.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 SEMENTES UTILIZADAS

Foram utilizadas sementes de milho-doce da cultivar “Doce Cristal” (BR – 402), portadora do gene *sugary-1* (*su<sub>1</sub>*). O material foi fornecido pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, sem nenhum tipo de tratamento químico, com teor de água em torno de 13,0% b.u. Esta cultivar apresenta as seguintes características agronômicas:

Tabela 7 – Características da Cultivar BR 402

<b>Características Cultivar BR 402</b>	
Ciclo (Dias)	Tardio-95 (90-100)
Coloração de planta	Verde
Número de fileiras na espiga	14 – 18
Profundidade do grão	Grande
Coloração do grão	Amarelo-Pálido
Produtividade em espiga (t/ha)	12
Rusticidade	Alta

Fonte: Reifschneider et al. (1984).

## 2.2 ANÁLISES LABORATORIAIS

### 2.2.1 Exposição das sementes ao gás ozônio

As análises foram realizadas nos Laboratórios de Pré-Processamento e Armazenamento de Produtos Vegetais e no Laboratório de Sementes, ambos da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, da Universidade de Brasília, Brasília-DF, Brasil.

O gás ozônio foi obtido por meio de um gerador de ozônio, desenvolvido pela empresa Ozone & Life, Modelo O&L 3.0-O2-RM. No processo de geração do ozônio, foi utilizado como insumo o oxigênio com grau de pureza de aproximadamente 90%, isento de umidade, obtido de concentrador de oxigênio acoplado ao gerador. Foram pesadas amostras de 100 g de sementes de milho doce, acondicionadas em recipiente de vidro, com capacidade de 3,25 L, para ozonização.

Foram adotadas as concentrações de 4; 9; 14 e 22 mg L<sup>-1</sup>, por períodos de exposição de 0, 30, 60, 90 e 120 minutos, formando um fatorial 4x5, sendo 4 concentrações de ozônio em 5 períodos de exposição, totalizando vinte tratamentos, em três repetições, conforme descrito a seguir:

- C1T1 - Concentração de 4 mg.L<sup>-1</sup> no período de exposição de 0 minutos;
- C1T2 - Concentração de 4 mg.L<sup>-1</sup> no período de exposição de 30 minutos;

- C1T3 - Concentração de 4 mg.L<sup>-1</sup> no período de exposição de 60 minutos;
- C1T4 - Concentração de 4 mg.L<sup>-1</sup> no período de exposição de 90 minutos;
- C1T5 - Concentração de 4 mg.L<sup>-1</sup> no período de exposição de 120 minutos;
- C2T1 - Concentração de 9 mg.L<sup>-1</sup> no período de exposição de 0 minutos;
- C2T2 - Concentração de 9 mg.L<sup>-1</sup> no período de exposição de 30 minutos;
- C2T3 - Concentração de 9 mg.L<sup>-1</sup> no período de exposição de 60 minutos;
- C2T4 - Concentração de 9 mg.L<sup>-1</sup> no período de exposição de 90 minutos;
- C2T5 - Concentração de 9 mg.L<sup>-1</sup> no período de exposição de 120 minutos;
- C3T1 - Concentração de 14 mg.L<sup>-1</sup> no período de exposição de 0 minutos;
- C3T2 - Concentração de 14 mg.L<sup>-1</sup> no período de exposição de 30 minutos;
- C3T3 - Concentração de 14 mg.L<sup>-1</sup> no período de exposição de 60 minutos;
- C3T4 - Concentração de 14 mg.L<sup>-1</sup> no período de exposição de 90 minutos;
- C3T5 - Concentração de 14 mg.L<sup>-1</sup> no período de exposição de 120 minutos;

- C4T1 - Concentração de 22 mg.L<sup>-1</sup> no período de exposição de 30 minutos;
- C4T2 - Concentração de 22 mg.L<sup>-1</sup> no período de exposição de 30 minutos;
- C4T3 - Concentração de 22 mg.L<sup>-1</sup> no período de exposição de 60 minutos;
- C4T4 - Concentração de 22 mg.L<sup>-1</sup> no período de exposição de 90 minutos;
- C4T5 - Concentração de 22 mg.L<sup>-1</sup> no período de exposição de 120 minutos;

Testemunha: sementes sem tratamento com gás ozônio.

Imediatamente após a ozonização, foram realizados os testes de qualidade fisiológica.

## **2.2.2 Avaliação da qualidade fisiológica das sementes ozonizadas**

### *2.2.2.1 Teste de germinação (TG)*

Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes por tratamento, colocadas para germinar em substrato papel “*germitest*” previamente autoclavado. Em seguida foram feitos rolos que foram umedecidos com água destilada autoclavada, na quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco e

colocadas em germinador regulado a 25°C, por sete dias, segundo critérios descritos nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Ao final do teste computou-se o número de plântulas normais e os resultados foram expressos em porcentagem.

#### *2.2.2.2 Crescimento de plântulas*

A medição foi realizada nas plântulas normais oriundas do teste de germinação, após sete dias de instalação do mesmo. Para efetuar as medições foi utilizada uma régua (cm) fixada em mesa para suporte do material. As medições manuais das plântulas foram realizadas para determinar o comprimento de plântula (CP) e de radícula (CR), segundo metodologia proposta por Vieira e Carvalho (1994).

#### *2.2.2.3 Índice de velocidade de germinação (IVG)*

O teste foi estabelecido conjuntamente com o teste padrão de germinação. A contagem do número de plântulas normais foi realizado no segundo, quarto e sétimo dias após a instalação do teste. Com os dados do número de plântulas normais, calculou-se o índice de velocidade de germinação, empregando-se a fórmula de Maguire (1962):

$IVG = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn$ ; onde:

IVG = Índice de velocidade de germinação;

G1, G2, Gn = número de plântulas normais computadas na primeira contagem, na segunda contagem e na última contagem;

N1, N2, Nn = número de dias de semeadura à primeira, segunda e última contagem.

#### 2.2.2.4 *Massa seca de plântulas (MS)*

Foram avaliadas as plântulas normais, obtidas a partir dos testes de germinação, excluindo destas o endosperma restante. As repetições de cada tratamento foram acondicionadas em sacos de papel, identificadas, e levadas à estufa com circulação de ar forçado, mantida à temperatura de 80°C por um período de 24 horas (NAKAGAWA, 1994). Após este período, cada repetição teve a massa avaliada em balança com precisão de 0,001g, e os resultados médios expressos em miligramas.

#### 2.2.2.5 *Delineamento experimental e análise estatística*

O experimento foi realizado com delineamento experimental inteiramente casualizado, utilizando-se análise de regressão dos dados. Para a obtenção das

equações de regressão e plotagem dos gráficos utilizou-se o software SigmaPlot

10.0.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Figura 5 apresenta o comportamento dos valores médios do percentual de germinação expostos ao gás ozônio nas diferentes concentrações. O percentual de germinação das sementes de milho apresentou variação significativa a 5% de probabilidade. Na concentração de 4 mg L<sup>-1</sup> obteve-se o maior percentual de germinação, 53%, seguida das concentrações 9 e 14 mg L<sup>-1</sup> que apresentaram percentual de germinação de 49%, e pela concentração de 22 mg L<sup>-1</sup> com valor de 41%.

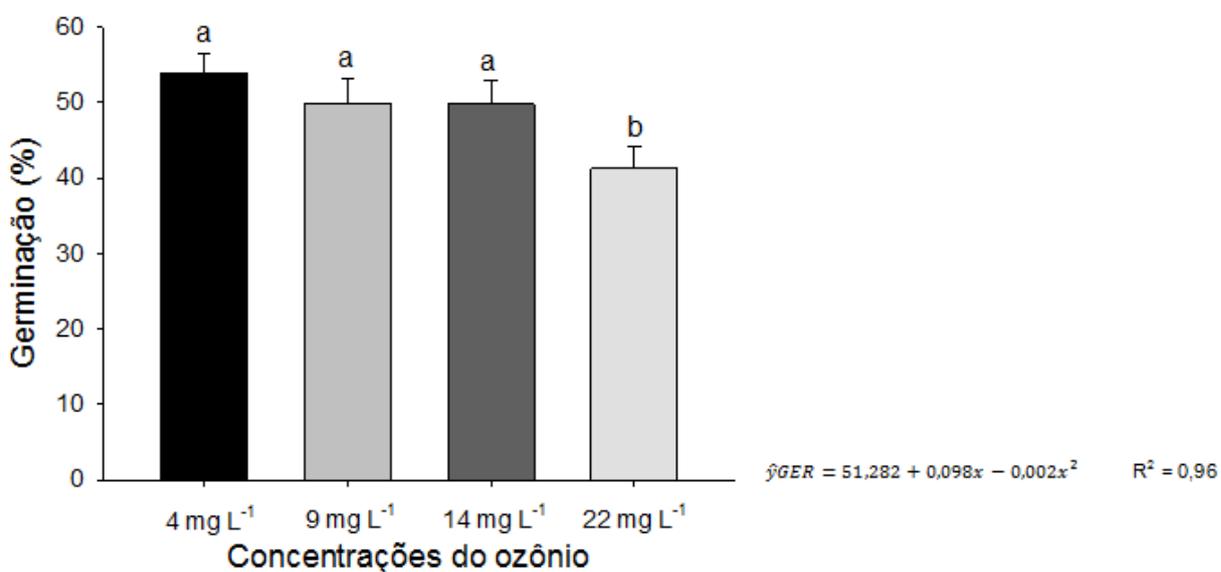


Figura 5 – Germinação (%) de sementes de milho doce ozonizadas em diferentes concentrações do gás ozônio

O efeito fumigante e sanificante do gás ozônio deve atender, em princípio, à condição de inalterabilidade das características físicas e fisiológicas dos grãos (BRITO JÚNIOR, 2013). No entanto, diversos estudos apontam que o ozônio pode ter efeitos sobre a germinação de sementes.

Violleau et al. (2007) trataram sementes de milho com ozônio e concluíram que uma exposição na concentração de 20 g/m<sup>3</sup> durante 6,8 e 20,5 minutos teve um efeito positivo sobre a taxa de germinação, sendo este fenômeno particularmente no início da germinação.

No tocante à germinação das sementes em função do tempo de ozonização, o melhor resultado foi observado no tratamento com 30 minutos de exposição ao gás, que apresentou um percentual de germinação de 54% de germinação. Observou-se uma queda significativa no percentual de germinação à medida que se aumentavam os tempos de exposição, reduzindo abaixo de 45% com 120 minutos de ozonização (Figura 6). Nas sementes que não foram ozonizadas obteve-se um percentual de 50,04 % de germinação.

Vale ressaltar que todos os tratamentos e a testemunha apresentaram porcentagens de germinação abaixo do padrão exigido para a comercialização pra esta variedade que é 70% (BRASIL, 2013).

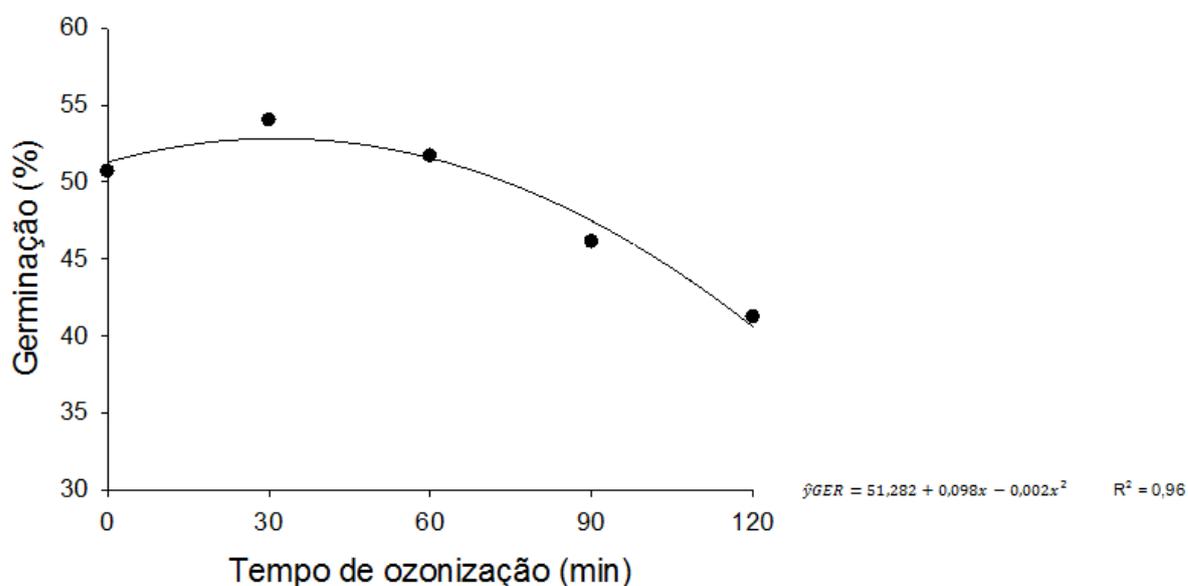


Figura 6 – Germinação (%) de sementes de milho doce em função do tempo de ozonização. Melhorar exposição da equação no gráfico

Em pesquisa com *Phaseolus vulgaris*, variedades BAT-304 e Delicias-264, Combo et al. (2017) verificaram que o tempo de exposição ao ozônio não afetou os parâmetros de velocidade e percentual de germinação, sendo estes resultados semelhantes aos obtidas por Herrera (2012) em pesquisa conduzida com aquela espécie.

Montalvo et al. (2015) em pesquisa com sorgo, observaram que o tratamento com ozônio por 72 horas promoveu um maior percentual de germinação quando comparado à testemunha. No teste de emergência, a testemunha apresentou percentual de 70%, enquanto que no tratamento com ozônio por 72 horas obteve-se percentual de 95%, seguido pelos demais tratamentos em que as sementes foram submetidas a 40 ppm do gás. Foi provado que o ozônio aumenta a porcentagem de germinação, mas não afeta o vigor das sementes de *Sorghum bicolor* L. Maximiano (2017) não observou alterações nos parâmetros de germinação de sementes de milho embebidas em água com concentração de até 30 mg L<sup>-1</sup> de ozônio, por um período de até 120 minutos.

Em outros trabalhos, foram encontrados resultados em que o ozônio apresentou efeitos negativos sobre a germinação de sementes. A germinação de sementes de trigo foi significativamente reduzida após uma exposição muito longa ao gás ozônio (WU et al., 2006). Savi et al. (2014) observaram uma redução na taxa de germinação de trigo de 12,5% após exposição de 180 minutos. Em pesquisa com dormência de sementes de *Lycopersicon esculentum*, foi observado por Sudhakar et al. (2011) que longos períodos de exposição e altas concentrações de ozônio prejudicam a germinação das sementes.

O ozônio reage com os constituintes químicos presentes na camada externa do tegumento (revestimento da semente) e, dependendo da concentração e duração

da exposição, o gás pode causar alterações físicas e bioquímicas nesta camada. Outras variáveis como temperatura, umidade, características dos grãos e a presença de insetos e microrganismos, na superfície das sementes podem afetar sua qualidade (SAVI, 2014).

Os resultados obtidos nesta pesquisa evidenciam que uma baixa concentração e um tempo curto de exposição favoreceram a germinação das sementes de milho doce. Isto pode ser explicado pela ação primária do ozônio na oxidação de amido que pode favorecer o processo inicial da germinação, agindo diretamente sobre os lipídios de membrana e seu metabolismo, causando diferentes efeitos. Além disso, segundo Ibanhes Neto et al. (2017), alterações nos balanços bioquímicos como por exemplo, efeitos sobre enzimas e sistemas enzimáticos, podem auxiliar no processo de germinação.

Nas observações desta pesquisa, altas concentrações e tempo longo de exposição resultaram em decréscimo na taxa de germinação. Em alguns casos, o gás pode promover a oxidação excessiva e/ou degradação de constituintes químicos presentes nas sementes. A oxidação de amido e lipídios, modificações de proteínas, descoloração de tegumento ou perda de germinação de sementes podem ocorrer devido ao uso excessivo do gás  $O_3$  e foram relatados por Tiwari et al. (2010).

Os testes de vigor são ferramentas importantes para a complementação das informações obtidas no teste de germinação, apresentando relação mais estreita com o desempenho de sementes durante o armazenamento e em condições de campo (KIKUTI; MARCOS FILHO, 2012). Nesta pesquisa, foram realizados testes de vigor com base no desempenho de plântulas que visam avaliar atributos que indiretamente se relacionam com vigor (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

Foram observadas variações significativas ( $p < 0,05$ ) na produção de massa seca em função das concentrações de ozônio. As plântulas oriundas de sementes que foram ozonizadas na concentração de  $22 \text{ mg L}^{-1}$  apresentaram maior produção de massa seca, comparadas ao observado nos demais tratamentos. Não houve variação significativa entre as concentrações de  $4, 9$  e  $14 \text{ mg L}^{-1}$ , conforme pode ser observado na figura 7.

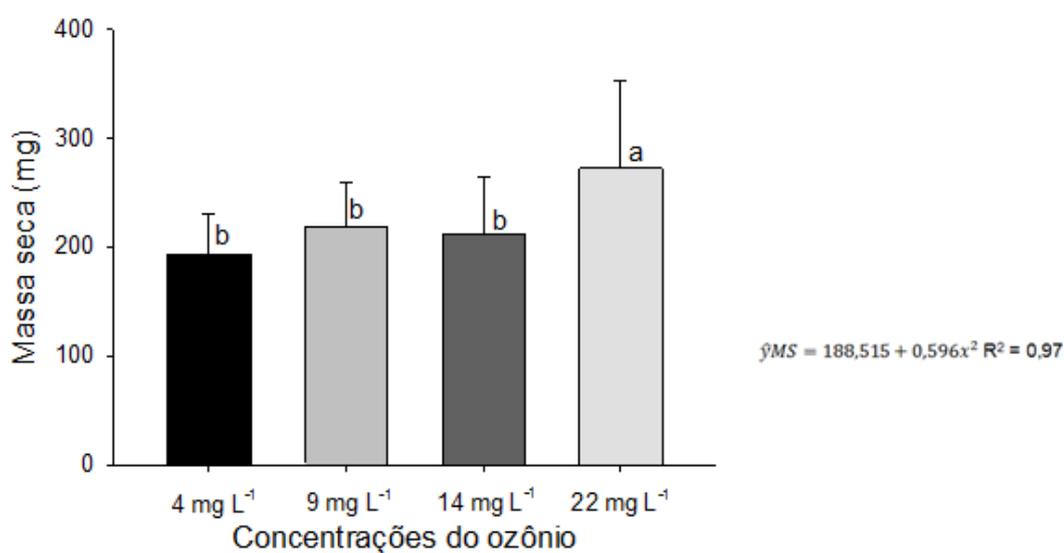


Figura 7 – Massa seca (mg) de plântulas de milho doce em sementes ozonizadas com diferentes concentrações do gás ozônio.

O tempo de ozonização afetou positivamente a produção de massa seca de plântulas (Figura 8). Todos os tratamentos proporcionaram um aumento na produção de massa seca em relação à testemunha, com destaque para os tratamentos com 90 e 120 minutos de exposição ao gás.

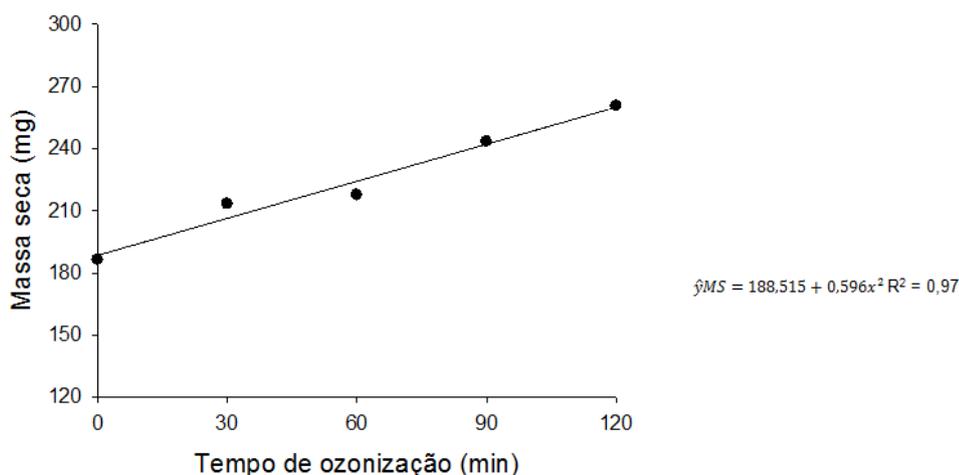


Figura 8 – Massa fresca (mg) de plântulas de milho doce obtidas de sementes ozonizadas em diferentes em função do tempo de ozonização.

Com relação aos demais testes de qualidade fisiológica referentes ao desenvolvimento inicial de plântulas (índice de velocidade de germinação, comprimento de parte aérea, comprimento de radícula e plântula) observou-se um efeito significativo da interação concentração de ozônio e período de exposição ao gás ( $p \leq 0,05$ ).

De forma geral, a ozonização das sementes de milho doce promoveu um desenvolvimento inicial mais acentuado das plântulas de milho, medido por meio do índice de velocidade de germinação, comprimento de plântula, comprimento de parte aérea, e no comprimento de radícula, quando comparados com a testemunha (Figura 9). As plântulas de milho apresentaram o maior desenvolvimento inicial na concentração de  $4 \text{ mg L}^{-1}$  de ozônio no período de exposição de 60 minutos, seguido das concentrações  $9 \text{ mg L}^{-1}$  e  $4 \text{ mg L}^{-1}$  com 30 minutos de exposição para índice de velocidade de germinação (IVG). Na concentração de  $22 \text{ mg L}^{-1}$  foi observado desempenho inferior para IVG em todos os tempos de exposição.

Para comprimento de radícula, os maiores valores foram observados na concentração de  $14 \text{ mg L}^{-1}$  nos tempos de exposição de 120 e 30 minutos. Resposta semelhante foi observada na avaliação de comprimento de parte aérea, onde observou-se maior desenvolvimento de radícula na concentração de  $14 \text{ mg L}^{-1}$  nos tempos de exposição de 120 e 30 minutos.

Com relação ao comprimento total de plântulas, a concentração de  $14 \text{ mg L}^{-1}$  proporcionou resultados superiores a todos os demais tratamentos e testemunha em todos os tempos de ozonização (Figura 9).

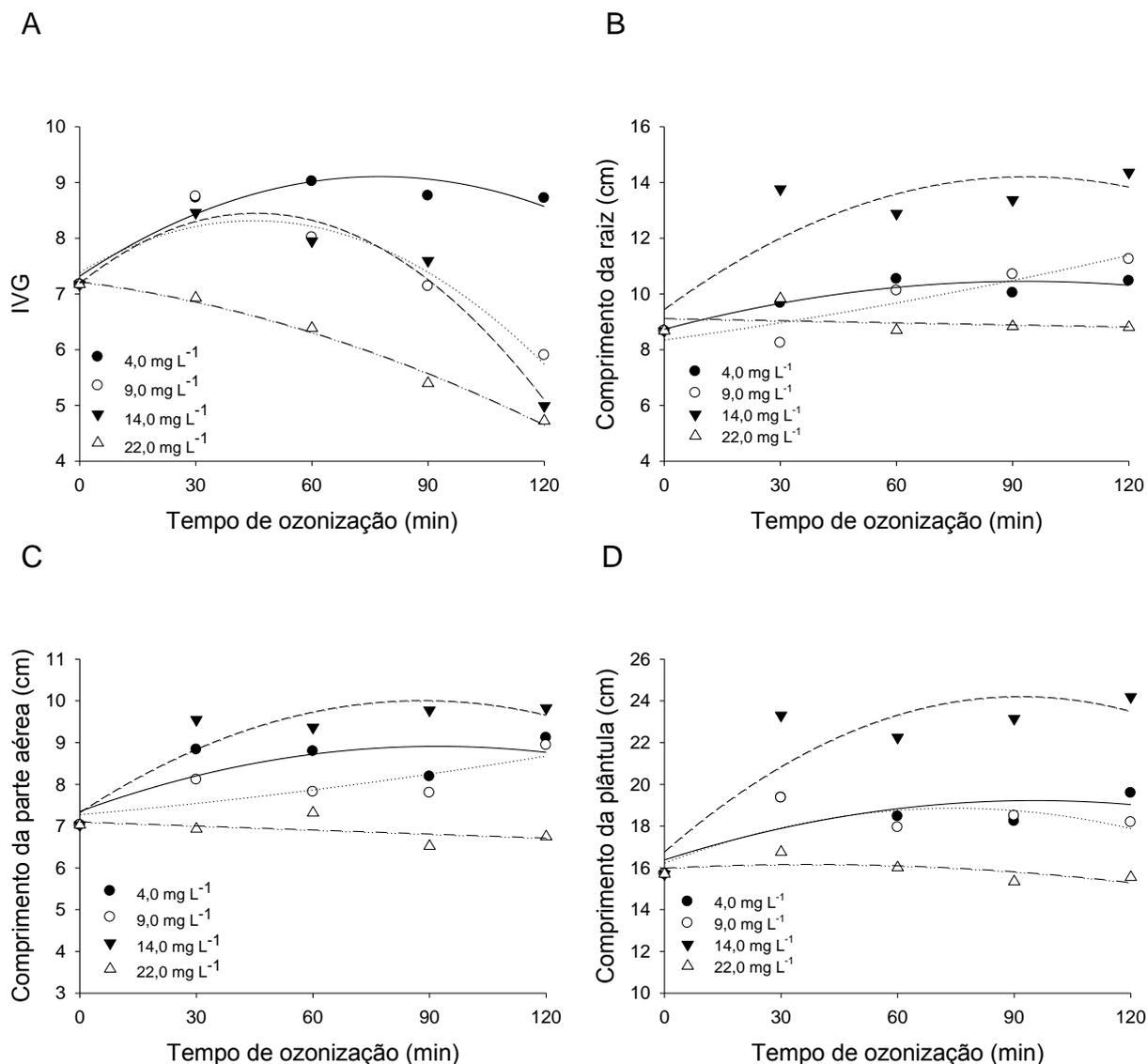


Figura 9 – Curvas de regressão de IVG (A), comprimento de raiz (cm, B), comprimento da parte aérea (cm, C) e comprimento de plântulas (cm, D) obtidos de sementes de milho ozonizadas em diferentes combinações de concentrações e tempo de ozonização.

Tabela 8 – Equações de regressão de índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de raiz (cm), comprimento da parte aérea (cm) e comprimento de plântulas (cm) obtidos de sementes de milho doce ozonizadas em diferentes combinações de concentrações e tempo de ozonização.

Variável	Concentração (mg L-1)	Equações ajustadas	R2
IVG	4,0	$\hat{y} = 7,318 + 0,046x - 0,001x^2$	0,90
	9,0	$\hat{y} = 7,400 + 0,041x - 0,001x^2$	0,90
	14,0	$\hat{y} = 7,188 + 0,055x - 0,001x^2$	0,96
	22,0	$\hat{y} = 7,219 - 0,009x - 0,001x^2$	0,99
Comprimento de raiz (cm)	4,0	$\hat{y} = 8,731 + 0,037x - 0,001x^2$	0,88
	9,0	$\hat{y} = 8,373 + 0,019x$	0,87
	14,0	$\hat{y} = 9,440 + 0,102x - 0,001x^2$	0,75
Comprimento da parte aérea (cm)	22,0	$\hat{y} = 9,117 - 0,003x$	0,06
	4,0	$\hat{y} = 7,353 + 0,034x - 0,001x^2$	0,59
	9,0	$\hat{y} = 7,291 + 0,008x$	0,66
Comprimento de plântulas (cm)	14,0	$\hat{y} = 7,322 + 0,061x - 0,001x^2$	0,85
	22,0	$\hat{y} = 7,102 - 0,003x$	0,26
	4,0	$\hat{y} = 16,383 + 0,060x - 0,001x^2$	0,57
Comprimento de plântulas (cm)	9,0	$\hat{y} = 16,183 + 0,083x - 0,001x^2$	0,65
	14,0	$\hat{y} = 16,764 + 0,1623x - 0,001x^2$	0,79
	22,0	$\hat{y} = 15,988 - 0,001x$	0,40

Plantas de sorgo originadas de sementes tratadas com ozônio não apresentaram diferenças significativas com as provenientes de sementes não tratadas, em relação ao comprimento de raízes. No tocante ao comprimento de parte aérea, as plantas originadas de sementes tratadas com ozônio apresentaram maiores valores em relação ao controle, embora não houvesse diferença estatística entre eles (MONTALVO, 2015).

Resultados semelhantes foram obtidos Herrera (2012), em pesquisa com feijão comum (*Phaseolus vulgaris*), que não observou diferenças significativas entre os tratamentos de sementes com ozônio e o controle no que tange ao comprimento

de parte aérea, comprimento de raízes, peso fresco e seco de plântulas. Em contrapartida, Mira (2011) observou que em sementes de feijão comum, variedade Guamá-23, expostas ao tratamento de ozônio durante 24 horas e o controle apresentaram velocidade e percentual de germinação superior a 90%, enquanto que aquelas expostas ao ozônio durante 48 e 72 horas apresentaram percentuais de germinação superiores a 80 e 74%, respectivamente.

O efeito do ozônio no comprimento de parte aérea e na raiz da plântula de feijoeiro, 7 dias após a germinação das sementes de BAT-304, mostrou que as sementes expostas à atmosfera não modificada (controle) foram as que atingiram maiores comprimentos evidenciando diferenças significativas com as sementes expostas aos três tempos de tratamento com ozônio. Quanto mais tempo as sementes estiverem no ozônio, menores foram os comprimentos de parte aérea e da raiz (MIRA, 2011). Desta forma, pode-se observar que o ozônio acarreta diferentes reações em plantas da mesma espécie.

O desenvolvimento inicial das plântulas de milho foi intensificado mediante a exposição das sementes a água, especialmente nas concentrações de  $0 \text{ mg L}^{-1}$  e  $30 \text{ mg L}^{-1}$  de ozônio, durante um período de 60 a 90 minutos, seguido de secagem natural das sementes (MAXIMIANO, 2017). Violleau et al. (2007) em pesquisa com sementes de milho, realizaram o tratamento com oxigênio puro ( $[\text{O}_3] = 0 \text{ g/m}^3$ ) e ozônio ( $[\text{O}_3] = 20 \text{ g/m}^3$ ) durante 6, 8 ou 20,5 minutos. Avaliou-se comprimento de plântula e de radícula, após 3, 4 e 5 dias. Observou-se que as sementes tratadas com ozônio apresentaram maiores medidas e teve um início mais rápido de germinação e com comprimento maior de radícula. No entanto um tempo maior de exposição ao ozônio reduziu a taxa de germinação.

No que se refere à tonalidade ( $h^\circ$ ), saturação (C) e diferença de cor ( $\Delta E$ ), observou-se uma tendência de elevação dos valores em relação à testemunha, independentemente do tempo de ozonização. Para saturação de cor o maior valor, 24, foi obtido com 30 minutos de ozonização, enquanto que o tempo de 90 minutos foi responsável pelo maior acréscimo da tonalidade de cor.

Em relação à diferença de cor, houve expressiva diferença entre a testemunha e os demais tratamentos. Deve-se notar que algumas modificações (deformações e rupturas) podem ocorrer na estrutura das sementes após a exposição ao agente oxidante. Por outro lado, as alterações bioquímicas são frequentemente associadas a alterações morfológicas, segundo Savi (2014).

A cor é um atributo importante de qualidade dos produtos de grãos (ZHU, 2018). O ozônio tende a afetar a cor de farinha de grãos em diferentes concentrações e a cor tende a ser afetada pelo tratamento com ozônio de diferentes maneiras em função das condições de reação (SUI et al., 2016; QI et al., 2016).

Sui et al. (2016) constataram que o tratamento com ozônio aumentava a leveza ( $L^*$ ) de farinha de trigo (por exemplo, de 93 a 97). Observações semelhantes foram registradas por outros pesquisadores (LI et al., 2012; QI et al., 2016; MEI et al., 2016; WANG et al., 2016; MARSTON et al., 2015) em outras farinhas, como por exemplo as de milho e sorgo. No geral, o tratamento com ozônio aumentou a brancura da farinha, diminuindo o amarelecimento (ZHU, 2018). A brancura crescente de farinha pode ser resultado da oxidação do ozônio de corantes, tais como polifenóis e carotenóides nos grãos (MARSTON et al., 2015).

Mendez et al. (2003) observaram descoloração de casca de arroz ozonizado (50 ppm por 30 dias) que também apresentou odor de vinagre em relação aos

tratamentos controle. Savi et al. (2014) não observaram alterações físicas nos grãos de trigo tratados com O<sub>3</sub>.

As variações nos aspectos da coloração podem ser explicadas pelo alto potencial de oxidação do ozônio, equivalente a 2,07 Mv (COELHO et al., 2015). No entanto, vale ressaltar que as alterações observadas não são determinantes do ponto de vista qualitativo, tendo em vista que, neste caso, não estão relacionadas com perdas de vigor e germinação e nem determinam sua aceitação no mercado.

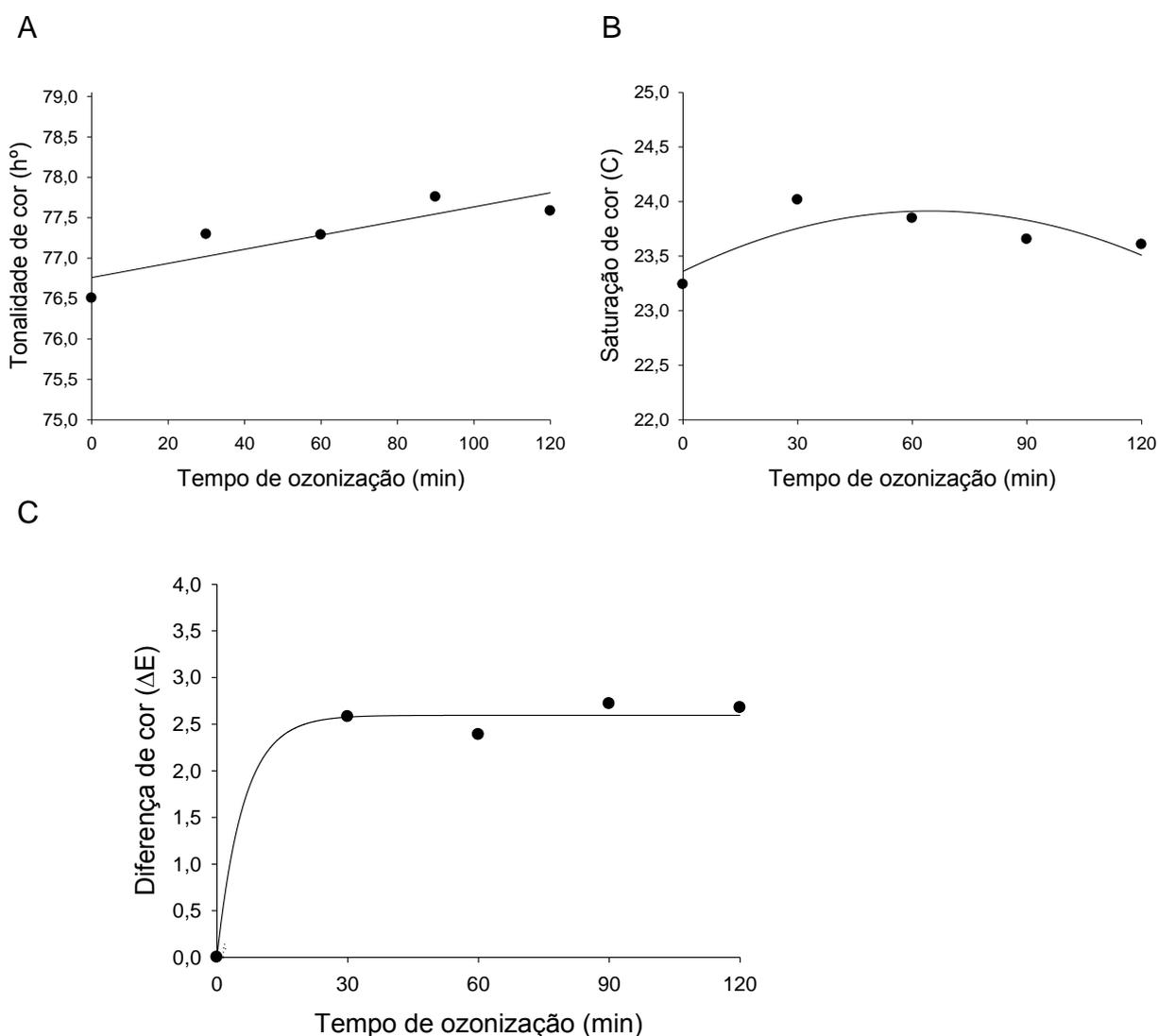


Figura 10 – Curvas de regressão de tonalidade de cor (A), saturação de cor (B) e diferença de cor (C) de sementes ozonizadas em função do tempo ozonização.

Tabela 9 – Equações de regressão de tonalidade de cor (A), saturação de cor (B) e diferença de cor (C) de sementes de milho doce ozonizadas em função do tempo ozonização

<b>Variáveis</b>	<b>Equação ajustada</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
Tonalidade de cor	$\hat{y} = 76,760 + 0,001x$	0,75
Saturação de cor	$\hat{y} = 23,360 + 0,017x - 0,001x^2$	0,63
Diferença de cor	$\hat{y} = 2,595(1 - e^{(-0,164x)})$	0,99

## 4 CONCLUSÕES

1. Diferentes concentrações e tempos de exposição influenciaram os aspectos fisiológicos de sementes do milho doce da cultivar “Doce Cristal” (BR-402);
2. A ozonização afetou os parâmetros de germinação das sementes. As concentrações de 4 e 9 mg L<sup>-1</sup> promoveram um incremento no percentual de germinação, enquanto que a concentração de 22 mg L<sup>-1</sup> ocasionou uma diminuição desse parâmetro;
3. O desenvolvimento inicial das plântulas foi intensificado após a exposição de sementes ao gás ozônio, principalmente na concentração de 14 mg L<sup>-1</sup> de ozônio e tempo de exposição de 120 minutos para os parâmetros de crescimento de plântula e 4 mg L<sup>-1</sup> de ozônio, no período de exposição de 60 minutos, para o índice de velocidade de germinação;
4. A ozonização afetou o parâmetro diferença de cor em todas as condições estudadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARINO, A. A.; BULLERMAN, L. B. Growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 as affected by the fungicide iprodione. **Journal of Food Protection**, v. 56, n. 8, p. 718-721, 1993.

BEIRÃO-DA-COSTA, S. et al. Alternative sanitizing methods to ensure safety and quality of fresh-cut kiwifruit. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 38, n. 41, p. 1-10, 2014.

BHATT, P. S.; YAKADRI, M.; SIVALAKSHMI, Y. Influence of varying plant densities and nitrogen levels on yield attributes and yield of sweet corn. **International Journal of Bio-Resource e Stress Management**, v. 3, n. 3, p. 169-172, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 45, de 17 de setembro de 2013. **Diário Oficial da União**, Brasília/DF, 20 set. 2013, p. 25, Seção 1.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009.

BRITO JUNIOR, J. G. **Ozônio como agente fungicida e seu efeito na qualidade dos grãos de milho**. Viçosa, 2013. Tese. (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Departamento de Construções rurais e ambiência; Energia na agricultura; Mecanização agrícola; Processamento de produção. Universidade Federal de Viçosa.

CAMARGO, R. **Armazenamento a vácuo de semente de milho doce**. Lavras, 2003. 81p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras.

COELHO, Caroline C. S. et al. Ozonização como tecnologia pós-colheita na conservação de frutas e hortaliças: Uma revisão. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v. 19, n. 4, p. 369-375, 2015.

COMBO, I. et al. Efecto del ozono (O<sub>3</sub>) sobre semillas almacenadas del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). **Centro Agrícola**, Santa Clara, v. 44, n. 4, p. 43-48, 2017.

FERREIRA, M. G. et al. Aspectos químicos e físicos dos grãos de milho doce sob estresse hídrico. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**, Pombal, v. 1, n. 1, p. 1-6, 2011.

GOMES JUNIOR, F. G. et al. Incidência de patógenos e vigor de sementes de milho doce submetidas a danos mecânicos. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 3, p. 179-183, 2009.

GUAN, S. et al. Microbial strategies to control aflatoxins in food and feed. **World Mycotoxin Journal**, v. 4, n. 4, p. 413-424, 2011.

GUISCEM, J. M. et al. Fungos associados a sementes de milho doce dos cultivares BR 400 (bt), BR 401 (su) e BR 402 (SU). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 24, n. 1, p. 247, 2001.

HERRERA, R. V. **Efecto de especies de plantas y ozono (O3) sobre Zabrotes subfasciatus (Boheman)**. Santa Clara, 2012. Tese (Doutorado em Ciências Agrícolas) - Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Villa Clara, Cuba.

HOLLINGSWORTH, R. G.; ARMSTRONG, J. W. Potential of temperature, controlled atmospheres, and ozone fumigation to control thrips and mealybugs on ornamental plants for export. **Journal of economic entomology**, v. 98, n. 2, p. 289-298, 2005.

IBANHES NETO, H. F. et al. **Exposição de sementes de rabanete a diferentes tempos de tratamento com gás ozônio**. 2017. V Congresso Online – Agronomia. Disponível em: <[http://www.convibra.com.br/upload/paper/2017/85/2017\\_85\\_13629.pdf](http://www.convibra.com.br/upload/paper/2017/85/2017_85_13629.pdf)>. Acesso em: 29 abr. 2018.

KIKUTI, A. L. P.; MARCOS FILHO, J. Testes de vigor em sementes de alface. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 1, p. 44-50, 2012.

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**, v. 62, n. 9, p. 1071-1087, 1999.

KWIATKOWSKI, A; CLEMENTE, E. Características do milho doce (*Zea mays* L.) para industrialização. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Ponta Grossa, v. 1, n. 2, p. 93-103, 2007.

LACEY, J. Potential hazards to animals and man from microorganisms in fodders and grain. **Transações da British Mycological Society**, v. 65, n. 2, p. 171-184, 1975.

LI, M. et al. Evaluation the quality characteristics of wheat flour and shelf-life of fresh noodles as affected by ozone treatment. **Food Chemistry**, v. 135, n. 4, p. 2163-2169, 2012.

MARSTON, K.; KHOURYIEH, H.; ARAMOUNI, F. Evaluation of sorghum flour functionality and quality characteristics of gluten-free bread and cake as influenced by ozone treatment. **Food Science and Technology International**, v. 21, n. 8, p. 631–640, 2015.

MARTINS NETTO, D. A. et al. **Maturação fisiológica de milho doce e sua relação com a qualidade das sementes**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 03. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2007.

MAXIMIANO, C. V. **Pré-condicionamento de sementes de milho em água com diferentes concentrações de ozônio no desenvolvimento inicial da plântula e no controle de Fusarium spp.** Brasília, 2017. Dissertação. (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade de Brasília.

MEI, J. et al. Effects of ozone treatment on medium hard wheat (*Triticum aestivum* L.) flour quality and performance in steamed bread making. **CyTA-Journal of Food**, vol. 14, n. 3, p. 449–456, 2016.

MENDEZ, F. et al. Penetration of ozone into columns of stored grains and effects on chemical composition and performance. **Journal of Stored Products Research**, v. 39, n. 1, p. 33-44, 2003.

MIRA, Y. **Efecto del ozono (O<sub>3</sub>) sobre adultos de Zabrotes subfasciatus (Bohemann) y granos de frijol común**. Santa Clara, 2011. Tese (Doutorado em Ciências Agrícolas) - Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Villa Clara, Cuba.

MOHAPATRA, D. et al. Critical factors responsible for fungi growth in stored food grains and non-chemical approaches for their control. **Industrial crops and products**, v. 108, p. 162-182, 2017.

MONTALVO, I. M.; HERRERA, R. V.; MORALES, M. C. Efecto del ozono (O<sub>3</sub>) sobre el vigor de las semillas de sorgo (*Sorghum bicolor* [L.] Moench) variedad UDG-11. **Centro Agrícola**, v. 42, n. 1, p. 11-16, 2015.

OLIVEIRA JUNIOR, L. F. G. et al. Seleção de genótipos de milho mais promissores para o consumo in natura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 159-165, 2006.

PERFEITO, D. G. A. et al. Caracterização pós-colheita de milho doce submetido ao parcelamento de fertirrigação nitrogenada. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 20, n. e2016140, p. 1-7, 2017.

QI, L. et al. Detoxification of zearalenone and ochratoxin A by ozone and quality evaluation of ozonised corn. **Food Additives & Contaminants, Part A**. v. 33, n. 11, p. 1700–1710, 2016.

REIFSCHNEIDER, FJB, et al. Milhos Doces Superdoce (BR400), Doce de Ouro (BR401) e Doce Cristal (402). **Horticultura Brasileira**. v.2, n.2, p. 53-54, 1984.

SANKARAN, S. et al. Ozone as a selective disinfectant for nonaseptic fungal cultivation on corn-processing wastewater. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 17, p. 8265-8273, 2008.

SANTOS, R. R. et al. Ozone as fungicide in rice grains. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 20, n. 3, p. 230–235, 2016.

SAVI, G. D. et al. Ozone treatment efficiency on *Fusarium graminearum* and deoxynivalenol degradation and its effects on whole wheat grains (*Triticum aestivum* L.) quality and germination. **Journal of Stored Products Research**, v. 59, p. 245-253, 2014.

SHEPHARD, G. S. Impact of mycotoxins on human health in developing countries. **Food Additives and contaminants**, v. 25, n. 2, p. 146-151, 2008.

SHUKLA, R. et al. Efficacy of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown essential oil and its monoterpene aldehyde constituents against fungi isolated from some edible legume seeds and aflatoxin B<sub>1</sub> production. **International Journal of Food Microbiology**, v. 135, n. 2, p. 165-170, 2009.

SUDHAKAR, N. et al. Assessing influence of ozone in tomato seed dormancy alleviation. **American Journal of Plant Sciences**, v. 2, n. 3, p. 443-448, 2011.

SUI, Z. et al. Ozonation treatment improves properties of wheat flour and the baking quality of cake. **Philippine Agricultural Scientist**, v. 99, n. 1, p. 50–57, 2016.

TIWARI, B. K. et al. Application of ozone in grain processing. **Journal of Cereal Science**, v. 51, p. 248-255, 2010.

VALMORBIDA, R. **Fungos e micotoxinas em grãos de milho (Zea mays L.) e seus derivados produzidos no estado de Rondônia, região norte do Brasil**. Florianópolis, 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Ciência e Tecnologia dos alimentos. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. Universidade Federal de Santa Catarina.

VAN LEEUWEN, J.; PIPE-MARTIN, C.; LEHMANN, R. Water reclamation at South Caboolture. Queensland, Australia. **Ozone Science & Engineering**, v. 25, n. 2, p. 107-120, 2003.

VIOLLEAU, F. et al. Increase of corn seeds germination by oxygen and ozone treatment. In: **IOA conference and exhibition**, Valencia, Spain, oct. 2007, p. 29-31.

WANG, L. et al. Effect of ozone treatment on deoxynivalenol and wheat quality. **Plos One**, 11, e0147613, 2016.

WHITE, S. D. et al. Mycoflora of high-moisture maize treated with ozone. **Journal of Stored Products Research**, v. 55, p. 84-89, 2013.

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

ZHU, F. Effect of ozone treatment on the quality of grain products. **Food Chemistry**, v. 264, p. 358–366, out. 2018.

ZUCARELI, C. et al. Doses e épocas de aplicação de nitrogênio em cobertura na qualidade fisiológica de sementes de milho doce. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 3, p. 480-487, 2012.

\_\_\_\_\_. Qualidade fisiológica de sementes de milho doce classificadas pela espessura e largura. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 1, p. 71-78, jan./mar. 2014.