

**ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE  
FEIJÃO EM UM SISTEMA HERMÉTICO  
COM EQUIPAMENTO REDUTOR DE  
INÓCULO**

**OSVALDO RESENDE**

**2003**

56281

047990

**OSVALDO RESENDE**

**ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO EM UM SISTEMA  
HERMÉTICO COM EQUIPAMENTO REDUTOR DE INÓCULO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciência dos Alimentos para obtenção do título de “Mestre”.

**Orientador**

**Prof. Dr. Flávio Meira Borém**

**LAVRAS**

**MINAS GERAIS - BRASIL**

**2003**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Resende, Osvaldo

Armazenamento de sementes de feijão em um sistema hermético com  
equipamento redutor de inóculo / Osvaldo Resende. -- Lavras : UFLA, 2003.  
71 p. : il.

Orientador: Flávio Meira Borém.  
Dissertação (Mestrado) – UFLA.  
Bibliografia.

1. Feijão. 2. Semente. 3. Fungo. 4. Equipamento. 5. Redutor de inóculo. 6.  
Armazenamento. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-63.56221

**OSVALDO RESENDE**

**ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO EM UM SISTEMA  
HERMÉTICO COM EQUIPAMENTO REDUTOR DE INÓCULO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciência dos Alimentos para obtenção do título de "Mestre".

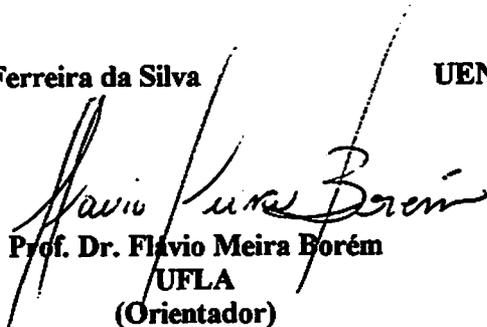
**APROVADA em 11 de julho de 2003**

**Prof. Dr. José da Cruz Machado**

**UFLA**

**Prof. Dr. Roberto Ferreira da Silva**

**UFENF**



**Prof. Dr. Flávio Meira Borém**  
**UFLA**  
**(Orientador)**

**LAVRAS**  
**MINAS GERAIS - BRASIL**

*Aos meus pais, José Resende e Calcina Nazaré Resende, exemplos de caráter, bondade e união. sempre me apoiando em todas as minhas decisões.*

*À minha avó, Irene de Jesus Machado, pela acolhida em sua vida.*

*A meus irmãos, Rosária Aparecida Resende e Leonardo Resende pela união e carinho.*

**DEDICO**

*Aos meus cunhados*

*Diógenes Cirineu Pereira  
Elaine Geralda Leite Resende*

*Aos meus sobrinhos,*

*Vinicius José Resende Pereira  
Thaís Aparecida Resende Pereira  
Lara Fernanda Leite Resende*

**OFEREÇO**

## AGRADECIMENTOS

A DEUS, pelo dom da vida, saúde e presença constante em minha caminhada.

Ao amigo-mestre e também orientador Flávio Meira Borém, pela amizade, incentivo, seu incansável e incomparável esforço, dedicação, carisma, compreensão, presente em todos os momentos desta caminhada.

À equipe de orientação, representada pelos professores Frederico Faúla Sousa e Maria Laene Moreira Carvalho, pelo auxílio e orientações.

Ao professor José da Cruz Machado pelas sugestões, colaboração e ensinamentos.

Ao professor Roberto Ferreira da Silva, pela auxílio e participação na banca examinadora.

À professora Rose, pelo apoio e acompanhamento, em todos os momentos.

À professora Joelma pelo apoio e amizade.

Ao amigo José Claudemir, pela amizade simples, honesta e honrada como sua própria pessoa, pela sua contribuição fundamental para execução deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro indispensável à realização do trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA), pela oportunidade concedida para a realização do curso.

Ao Departamento de Engenharia pela disponibilização de equipamentos e da área física para execução do trabalho.

Aos laboratórios de Sementes e de Fitopatologia pela disponibilidade para realização das análises.

Aos meus pais e minha família, pela união, humildade, simplicidade e apoio em todos os momentos que foram fundamentais nesta caminhada.

Às secretárias Gicelda e Helena, pela atenção, amizade e paciência durante as etapas do curso de Mestrado.

Aos laboratoristas Ana, Dalva, Elza, Cláudio e Ângela, pelo auxílio na realização das análises.

Às estudantes de agronomia Cristiane e Isa, pelo fundamental auxílio na realização das análises.

Aos amigos Silvestre, Mario, Henrique que sempre me apoiaram.

Aos amigos Carlos Henrique e Deise, colegas de mestrado e companheiros de caminhada.

Aos amigos Francisco, Marco Aurélio e Sérgio, eternos amigos.

Ao amigo Virgílio pela amizade e convivência.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para que este sonho se concretizasse.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	iii
1 INTRODUÇÃO .....	01
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	03
2.1 Armazenamento de sementes .....	03
2.1.1 Fatores abióticos e bióticos .....	03
2.1.2 Alterações nas características tecnológicas do produto .....	06
2.1.3 Controle sanitário das sementes e do ambiente de armazenamento .....	08
2.1.4 Uso do equipamento redutor de inóculo (E.R.I.) na atmosfera .....	10
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	14
3.1 Estrutura de armazenamento .....	14
3.1.1 Cilindro .....	17
3.1.2 Caixa com os E.R.I. ....	19
3.1.3 Ventilador.....	22
3.1.4 Caixa com solução salina .....	23
3.1.5 Área de expansão.....	23
3.2 Monitoramento da temperatura e umidade relativa .....	25
3.3 Monitoramento da concentração de CO <sub>2</sub> .....	26
3.4 Análise da contaminação do ar.....	26
3.4.1 Testes complementares.....	26
3.5 Teor de água das sementes .....	27
3.6 Teste de sanidade das sementes .....	27
3.7 Análises fisiológicas .....	28
3.7.1 Teste de germinação .....	28
3.7.2 Envelhecimento acelerado.....	29
3.7.3 Teste de tetrazólio.....	29

3.7.4 Teste de emergência em bandejas .....	30
3.8 Análises tecnológicas.....	34
3.8.1 Taxa de absorção de água .....	31
3.8.2 Tempo de cocção .....	31
3.8.3 Cor do tegumento dos grãos.....	32
3.9 Análises estatísticas .....	33
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>34</b>
4.1 Monitoramento da temperatura e umidade relativa .....	34
4.2 Monitoramento da concentração de CO <sub>2</sub> .....	37
4.3 Análise da contaminação do ar .....	38
4.3.1 Monitoramento da temperatura do ar no interior da caixa com os E.R.I. ....	38
4.3.2 Unidades formadoras de colônias no ar .....	40
4.3.3 Testes complementares.....	45
4.3.3.1 Monitoramento da temperatura no interior da caixa com os E.R.I.....	45
4.3.3.2 Unidades formadoras de colônias no ar .....	47
4.4 Teor de água das sementes .....	49
4.5 Teste de sanidade das sementes.....	50
4.6 Análises fisiológicas .....	52
4.6.1 Teste de germinação .....	52
4.6.2 Envelhecimento acelerado .....	55
4.6.3 Teste de tetrazólio.....	57
4.6.4 Teste de emergência em bandejas .....	59
4.7 Análises tecnológicas.....	60
4.7.1 Taxa de absorção de água .....	60
4.7.2 Tempo de cocção .....	61
4.7.3 Cor do tegumento .....	62
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>65</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>66</b>

## RESUMO

RESENDE, Osvaldo. Armazenamento de sementes de feijão em um sistema hermético com equipamento redutor de inóculo. Lavras: UFLA, 2003, 71p. (Dissertação - Mestrado em Ciência dos Alimentos).

O trabalho foi desenvolvido nos Laboratórios de Processamento de Produtos Agrícolas, Análise de Sementes, Patologia e Grãos e Cereais da Universidade Federal de Lavras, MG. Objetivou-se avaliar o efeito de um equipamento redutor de inóculo (E.R.I.) na manutenção das características fisiológicas, tecnológicas e sanitárias das sementes de feijão, bem como a redução dos esporos de fungos na atmosfera de armazenamento em um sistema hermético com condições controladas de temperatura (24°C) e umidade relativa (87%). Foram construídas quatro estruturas herméticas com circulação de ar forçado para o armazenamento das sementes. Os E.R.I. foram colocados em duas estruturas. Amostras de sementes foram coletadas durante oito semanas, nas quais foram realizadas as análises: sanidade, germinação, envelhecimento acelerado, tetrazólio, emergência em bandejas, taxa de absorção de água, tempo de cocção, teor de água e coloração do tegumento. A presença de inóculo no ar foi monitorada a partir da exposição de placas de petri com meio de cultura BDA salino, localizadas em aberturas laterais nas caixas com os E.R.I. antes e após a passagem do ar pelos E.R.I. A avaliação teve como base a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) dos fungos *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. A temperatura e a umidade relativa do ar no interior das estruturas foram controladas durante o período de armazenamento. A concentração de CO<sub>2</sub> foi monitorada diariamente por meio de um analisador infravermelho. As sementes equilibraram seu teor de água em torno de 19,0% b.u. Os níveis de CO<sub>2</sub> aumentaram ao longo das épocas de armazenamento, devido à respiração das sementes, dos microrganismos e a oxidação de compostos orgânicos promovida pelos E.R.I. A qualidade fisiológica das sementes decresceu acentuadamente ao longo do tempo, afetando negativamente sua viabilidade e seu vigor, independente da presença ou ausência do E.R.I. Houve um escurecimento gradativo do tegumento das sementes mesmo na presença do E.R.I. e nas condições de hermeticidade do sistema. O tempo de cocção foi significativamente superior a

---

Comitê orientador: Flávio Meira Borém – DEG-UFLA (Orientador), Frederico Faúla Sousa - DEG-UFLA e Maria Laene Moreira Carvalho-DAG -UFLA

seeds was increased significantly during the storage period as well as the number of colony units of both fungi in the air. In the air samples collected at the introduction site of the air flow to the equipment fungal colonies were not detected, then indicating the effect of such equipment in relation to both fungi in the storage atmosphere. As the air flow was increased inside the system the effect of the equipment moved to other point. The results of this work provide support to verify that under the presence of the I.R.E. physiological and health quality of bean seeds was not preserved, cooking point and levels of CO<sub>2</sub> were increased, and original color of tegument was not maintained during the assessed period. Presence of fungi in the air can be controlled by that equipment to a certain extension, limited to short distance, and the effect can be managed by controlling the air flow in the system.

# 1 INTRODUÇÃO

O feijão é cultivado em quase todos os países e assume enorme importância na alimentação humana fundamentalmente devido ao seu baixo custo e por ser um alimento balanceado nutricionalmente. É a principal fonte de proteína na alimentação da população brasileira, sendo utilizado como alternativa em substituição a carnes e outros produtos protéicos, formando juntamente com o arroz sua base alimentar (Rios, 2000; Fernandes & Filho, 2001). O mercado mundial movimenta anualmente mais de dezoito milhões de toneladas, sendo o Brasil o segundo maior produtor e consumidor de feijão, com aproximadamente três milhões de toneladas (Agrianual, 2003).

A produção de grãos e sementes geralmente é afetada pelo grave problema de perdas quantitativa e qualitativa, ocasionada pelos fenômenos climáticos e naturais, causando aumento no custo do produto e diminuição da disponibilidade do alimento e do bem-estar da população. Para efeito de comercialização, o armazenamento oferece grande vantagem porque, por ocasião da colheita, o preço do produto é mais baixo e, se este for armazenado em condições adequadas, poderá suprir o mercado em épocas de escassez e, com isso, ser comercializado por preços mais compensadores (Baez, 1993).

Na maioria das vezes, o sucesso da cultura depende, entre outros fatores, do emprego de sementes de boa qualidade no plantio, que exige rigoroso controle de qualidade na produção, colheita e no processamento. Nelas estão contidas todas as potencialidades produtivas da planta, bem como agentes fitopatogênicos responsáveis pelos grandes entraves enfrentados em um processo de produção agrícola. Toda tecnologia, portanto, aplicada à produção de sementes, deve direcionar-se para a obtenção de alta qualidade, sendo ela genética, física e/ou fisiológica.

Além disso, hoje em dia, um rigoroso controle de qualidade é acima de tudo satisfatório quando, além de satisfazer os padrões mínimos de qualidade estabelecidos, contempla as exigências do consumidor. Observa-se, neste sentido, com o advento da ISO 14000, que a tendência internacional é a exigência de desenvolvimento de novas tecnologias de produção vinculadas prioritariamente à preservação ambiental. Não basta apenas produzir muito mas, sim, fazê-lo bem, utilizando o que a ciência oferece de melhor para um processo produtivo eficiente e lucrativo, sem deixar de lado os possíveis impactos ambientais decorrentes de sua utilização (Borém, 1998).

É neste contexto, que se inserem pesquisas de novas metodologias para o armazenamento de sementes, minimizando ou evitando o uso excessivo de produtos tóxicos que são tão utilizados nos processos produtivos agrícolas.

Vários pesquisadores têm estudado os efeitos e o potencial de uso de um equipamento modificador de atmosfera na conservação das características desejáveis de produtos agrícolas com drástica redução de fungos, dispensando o uso de produtos químicos. Considerando os resultados dos trabalhos mais recentes envolvendo este equipamento (Borém, 1998), nos quais algumas dúvidas relativas ao seu funcionamento foram esclarecidas e visto que, tais trabalhos mostraram que existe controle de fungos pelo equipamento, entretanto limitado às suas proximidades, faz-se necessário novos estudos para otimizar seu funcionamento. Além disso, é relevante acompanhar as alterações fisiológicas e tecnológicas ocorridas nas sementes durante o armazenamento na presença deste equipamento.

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo otimizar o efeito de um equipamento redutor de inóculo (E.R.I.) na manutenção das características sanitárias, fisiológicas e tecnológicas das sementes de feijão, bem como a redução dos esporos de fungos na atmosfera de armazenamento em um sistema hermético com circulação de ar forçado em condições controladas de temperatura (24°C) e umidade relativa (87%).

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Armazenamento de sementes

#### 2.1.1 Fatores abióticos e bióticos

A cultura do feijoeiro está sujeita a vários fatores que, direta ou indiretamente, interferem na sua capacidade produtiva. O armazenamento constitui uma das etapas de grande importância dentro desse processo, e boas condições durante esse período contribuem para a manutenção da qualidade da semente.

Durante o armazenamento a deterioração do produto é influenciada por fatores abióticos e bióticos.

Os principais fatores abióticos que afetam a qualidade das sementes são a temperatura e a umidade relativa do ambiente de armazenamento e o teor de água das sementes (Popinigis, 1985).

O teor de água das sementes é função da temperatura e da umidade relativa do ar. Esta característica de higroscopicidade permite que as sementes entrem em equilíbrio com o ambiente absorvendo ou cedendo água. Segundo Aguiar (1993), sementes com alto teor de água tendem a perder sua viabilidade mais rapidamente, pois ocorre uma intensificação da atividade respiratória consumindo suas reservas nutritivas ocorrendo liberação de calor que torna o ambiente de armazenamento propício ao aparecimento de agentes de deterioração.

Valores elevados de temperatura e umidade relativa do ar aceleram o processo deteriorativo das sementes e favorecem a proliferação de microrganismos.

Dentre os fatores bióticos, os fungos são os mais ativos, tendo uma maior habilidade de penetrar diretamente entre os tecidos vegetais (Machado, 2000).

Duas categorias de fungos são associadas às sementes: os fungos de campo e os de armazenamento.

Os fungos de campo não se desenvolvem em sementes armazenadas desde que estas apresentem teor de água adequado para o armazenamento, pois os mesmos perdem gradativamente a viabilidade (Novembre, 1987).

Por outro lado, fungos de armazenamento desenvolvem-se rapidamente durante esta etapa, afetando negativamente a qualidade das sementes armazenadas.

No grupo de fungos de armazenamento, os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* são os mais comumente encontrados em sementes de feijão (Christensen & Kaufmann, 1969; Neergaard, 1977; Dhingra, 1985; Wetzell, 1987).

Fungos que invadem sementes cujo teor de água esteja em equilíbrio com umidade relativa superior a 85%, apresentam crescimento bastante lento à temperatura abaixo de 10°C (Novembre, 1987).

Agarwal & Sinclair (1987) constataram que a presença de fungos em sementes com 17 a 19% de água e mantidas entre 15 a 30°C podem causar rápida perda de viabilidade inutilizando a semente para a semeadura em pouco tempo. De acordo com Christensen & Kaufmann (1974), os maiores riscos de contaminação por fungos de armazenamento ocorrem quando a umidade das sementes encontra-se acima de 13,5%, que geralmente representa as condições reais em que a maioria das sementes é armazenada.

Vale ressaltar que fungos de armazenamento são os principais responsáveis pela perda de viabilidade das sementes armazenadas com teor de água superior a um valor crítico específico para cada espécie fúngica (Dhingra, 1985). Esporos e micélios destes fungos, normalmente já estão presentes nas superfícies das sementes quando estas são colocadas para germinar. Sendo assim

as condições de armazenamento exercem grande influência no desenvolvimento destes fungos durante este processo.

A temperatura ótima para o crescimento e desenvolvimento da maioria dos fungos de armazenamento se encontra entre 28 e 35°C, estando a máxima e a mínima entre 50 e 55°C e 0 e 5°C, respectivamente (Dhingra, 1985; Novembre, 1987; Justice & Bass, 1979).

A atividade de fungos é prontamente reduzida com a diminuição da temperatura e, algumas espécies de *Aspergillus* spp. podem chegar a ampliar sua população 10 a 20 vezes mais rápido quando de 15,6 °C passam a 32,2 °C (Carvalho & Von Pinho, 1997).

Fungos que atacam sementes armazenadas têm características xerofílicas, podendo se desenvolver sob umidades relativas do ar entre 70 e 80%, e em materiais em equilíbrio com estas condições (Agarwal & Sinclair, 1987) e 65 a 90% (Christensen & Kaufmann, 1974).

Estes microrganismos podem estar presentes como contaminantes ou na forma de micélios dormentes entre os tecidos do pericarpo ou do tegumento das sementes (Novembre, 1987) e chegam a ser responsáveis por perdas acima de 30% em grãos armazenados na América Latina, Ásia e África (Neergaard, 1977).

A presença de fungos no processo de armazenamento, bem como seus efeitos negativos diretos na qualidade e vigor das sementes armazenadas, vem sendo criteriosamente observada por diversos pesquisadores tais como Lima et al. (1984), Agrios (1988), Silva (1997), Borém et al. (2000), Borém et al. (2001a), Borém et al. (2001b).

De acordo com Machado (2000), dentre os vários fatores que afetam a qualidade de sementes, a associação de microrganismos constitui uma preocupação eminente, principalmente em países tropicais, onde a diversidade climática faz com que um maior número de problemas sanitários se torne mais

previsível e acentuado.

A ação dos fungos de armazenamento, na qualidade das sementes, contaminando e causando danos nas mesmas, em geral, ocorre após serem colhidas e armazenadas. Podem resultar no enfraquecimento ou morte do embrião, aquecimento da massa de grãos e apodrecimento (Dhingra, 1985), descoloração do produto, transformações bioquímicas, produção de micotoxinas, modificações celulares e outros (Carvalho & Von Pinho, 1997) e em sua maioria atacam, principalmente, o embrião de sementes.

De acordo com Athié (1998), sementes que já tenham sido contaminadas até uma certa extensão por fungos de armazenamento, se mantidos sob condições que permitam que esses microrganismos aumentem, perderão a qualidade mais rápido que grãos sadios armazenados sob as mesmas condições. Decréscimos nas porcentagens de germinação e de emergência também foram verificados por Tanaka & Corrêa (1981), em sementes de feijão, inoculadas previamente ao armazenamento com *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp.

### 2.1.2 Alterações nas características tecnológicas do produto

Como grão, o feijão assume notável importância na alimentação humana. O consumidor brasileiro prefere produtos recém colhidos, que apresentem características culinárias mais satisfatórias. As características de hidratação e tempo de cozimento são fatores importantes que afetam sua qualidade e estão altamente correlacionados (Guevara, 1990). Tais fatores podem ser afetados pela constituição genética associada às condições ambientais de produção e armazenamento (Coelho, 1998).

Segundo Ibarra-Perez et al. (1996), quanto mais rápida a absorção de água maior é a capacidade de cozimento do produto. Na cocção, a estrutura do grão é modificada sendo o amido geleificado e as proteínas desnaturadas. Nesta

etapa ocorre a absorção máxima de água pela aplicação do calor úmido (Valle-Vega, 1990 citado por Duarte, 1995).

A forma com que o feijão é armazenado influencia no endurecimento do tegumento e dos cotilédones e, conseqüentemente, no seu tempo de cozimento (Brackmann et al., 2002).

O desenvolvimento do fenômeno da casca dura (*hardshell*) impede a reidratação dos grãos, sendo favorecida pelas condições de baixa umidade relativa na atmosfera de armazenamento e alto teor de água nas sementes. Por outro lado, o endurecimento dos cotilédones (*hard-to-cook*), que provoca dificuldades na sua cocção, é um fenômeno irreversível e depende principalmente das condições de armazenamento (Sgarbieri, 1987).

Segundo Rios (2000), o teor de água superior ao recomendado para o armazenamento seguro é uma das principais causas de perda das suas características tecnológicas. Para Bragantini (1996), os teores de água recomendados para minimizar estas perdas devem estar entre 13 e 14 % b.u.

As condições de temperatura e umidade durante o armazenamento podem alterar o valor nutritivo do feijão, favorecendo a formação de compostos antinutricionais bem como o desenvolvimento do fenômeno de endurecimento (Coelho, 1998).

Brackmann et al. (2002) verificaram que baixas temperaturas do ambiente de armazenamento provocam menores tempos de cocção do feijão.

Segundo Rios (2000), a proteína do feijão pode sofrer alterações durante o armazenamento, conseqüentemente, o tegumento pode endurecer requerendo maior tempo para sua cocção. Existem várias hipóteses que tentam explicar o fenômeno de endurecimento dos grãos. Uma delas seria a polimerização dos compostos fenólicos presentes na casca, que podem migrar para os cotilédones influenciando a sua composição (Hincks & Stanley, 1987).

Hincks & Stanley (1987) afirmam que possivelmente o processo de lignificação (oxidação e polimerização de compostos fenólicos) é responsável pelo acontecimento do fenômeno de “*hard to cook*” no feijão.

Além dos altos níveis de carboidratos, proteínas e minerais, o feijão apresenta compostos antinutricionais como os polifenóis (taninos) e ácido fítico, que podem estar associados ao fenômeno “*hard to cook*”, aumentando o tempo de cocção e diminuindo sua palatabilidade (Coelho, 1998).

Para Udaeta et al. (1997), os compostos fenólicos estão relacionados com o endurecimento do produto na pós-colheita, ocorrendo um aumento dos seus níveis e no tempo de cocção após 3 e 6 meses de armazenamento nas condições de 30°C e 70%, temperatura e umidade relativa, respectivamente.

Segundo Sartori (1982), os compostos fenólicos também estão correlacionados com o escurecimento do feijão na presença de oxigênio, ocasionado por oxidações enzimáticas ocorridas no tegumento. Os teores de água, temperatura e o período de armazenamento também influenciam no escurecimento do tegumento conforme diversos autores (Burr et al., 1968; Sartori, 1982; Iaderoza et al., 1989).

### **2.1.3 Controle sanitário das sementes e do ambiente de armazenamento**

Em virtude dos danos causados pelo ataque de microrganismos durante o processo de armazenamento vários métodos têm sido testados como alternativas para se conseguir um controle eficiente deste tipo de dano, tais como a aeração, secagem, resfriamento, utilização de atmosfera modificada, termoterapia, inibidores fúngicos e até fumigantes (Athié, 1998).

O uso de produtos químicos visando ao controle de pragas e patógenos é uma prática antiga sendo objeto de algumas tentativas desde o período romano. Nesta época utilizava-se vinho, extrato de cipretes e sal (Machado, 2000).

Atualmente, têm-se procurado métodos alternativos para armazenar

sementes com teor de água e temperaturas acima dos níveis tradicionais com controle eficiente de pragas e a preservação das propriedades qualitativas dos produtos agrícolas (Baez, 1993). Desta forma, há um menor uso de defensivos químicos e, conseqüentemente, problemas menos graves de poluição do ambiente.

Segundo Neegaard (1977), várias tentativas foram feitas, também, quanto ao tratamento de sementes contra fungos de armazenamento. Apesar da maioria das experiências mostrarem que tais tratamentos tiveram um efeito muito limitado, o uso de fungicidas apresentou um efeito direto podendo reduzir o inóculo de fungos não só de campo, mas também de armazenamento.

Para muitos autores, o uso de fungicidas e inseticidas para a proteção de sementes torna-se cada dia mais importante para os produtores, pois possibilita a obtenção de melhor padrão na lavoura e conseqüente melhor produção, tanto em quantidade como em qualidade, sem onerar significativamente o custo de produção. Entretanto, os mesmos não consideram os custos dos danos causados ao ambiente pelo uso intensivo destes produtos tóxicos.

Para evitar ou minimizar o uso de produtos tóxicos durante o armazenamento de sementes, sem comprometer a qualidade das mesmas pela incidência de fungos, torna-se necessário o estudo de alternativas, sejam elas novas substâncias fungicidas ou o desenvolvimento de equipamentos que alterem as características do ambiente de armazenamento desfavoravelmente ao desenvolvimento destes microrganismos.

A termoterapia é um tratamento físico que consiste na exposição das sementes à ação do calor, com a temperatura devidamente regulada, em determinado intervalo de tempo. Este método não é poluente e consegue uma ação erradicante de infecções profundas, entretanto requer a utilização de equipamentos precisos no controle da temperatura, limitando seu uso a algumas espécies e pequenos volumes de sementes (Machado, 2000).

Novas substâncias fungicidas como o ácido propiônico, flavonas e flavonóides têm se mostrado ativas contra fungos de armazenamento, não havendo ainda uma regra que explique sua ação fungicida e, em alguns casos, resultados que comprovem seus benefícios econômicos (Weidenbörner et al., 1992; Weidenbörner & Jha, 1993; White & Coates, 1997).

Por outro lado, o uso de ambiente com baixo potencial de inóculo de fungos de armazenamento, utilizando atmosfera modificada, constitui uma tecnologia promissora na preservação de sementes, principalmente quando esta evita ou minimiza o uso de produtos tóxicos, oferecendo uma alternativa ao uso de fumigantes e fungicidas químicos.

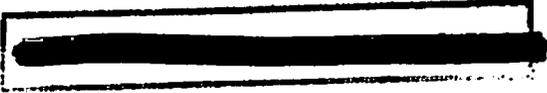
A atmosfera modificada consiste na alteração das concentrações dos gases constituintes da atmosfera de armazenamento. Este método interrompe o processo de deterioração do produto e, dependendo das concentrações dos gases, inibe o desenvolvimento de microrganismos (Santos, 1995).

Entretanto, ainda, é necessário e relevante o desenvolvimento de métodos que viabilizem o armazenamento de grandes quantidades de sementes.

#### **2.1.4 Uso do equipamento redutor de inóculo (E.R.I.) na atmosfera**

O equipamento redutor de inóculo consiste em um bloco de cerâmica refratária com perfurações por onde passa uma resistência elétrica, sendo comercialmente conhecido pelo nome de “*Sterilair*”. Seu princípio de funcionamento baseia-se na convecção natural, desta forma, o ar é levado ao interior do equipamento atravessando os filamentos da resistência elétrica, onde a temperatura aproxima-se de 325°C (Borém et al., 1998), responsável pela “esterilização” dessa camada de ar. O ar tratado é forçado a passar pela massa de sementes por meio de um ventilador centrífugo sendo após reconduzido ao dispositivo modificador de atmosfera.

Segundo Hara et al. (1990), um sistema de armazenamento, que utiliza



um equipamento modificador da atmosfera, foi capaz de conservar amêndoas de cacau por períodos de até 10 meses, mantendo todas suas características desejáveis, além de drástica redução da população de fungos dispensando a utilização de substâncias químicas.

Baez (1993) armazenou grãos de milho, recém colhidos, durante 10 dias e com umidade de 23,1% (b.s.), sem a adição de produtos químicos e na presença do equipamento modificador de atmosfera, em condições de elevada temperatura e umidade relativa, 30°C e 93%, respectivamente. Com a análise do número de colônias de fungos verificou-se que o equipamento modificador de atmosfera promoveu a inibição do número de colônias de fungos do gênero *Aspergillus*.

Considerando o potencial de uso deste equipamento, vários pesquisadores têm estudado seu funcionamento visando conservar as características desejáveis dos produtos agrícolas com drástica redução na população de fungos, dispensando a utilização de substâncias protetoras (Arai, 1989; Hara et al., 1990; Hara, 1991; Baez, 1993; Linares et al., 1993; Borém, 1998).

Testando a eficiência germicida do equipamento modificador de atmosfera, Arai (1989) usou uma câmara de 2,5m<sup>3</sup> com 173 unidades formadoras de colônia por metro cúbico de ar, a uma temperatura de 30 a 35°C e umidade relativa entre 50 a 60%, e concluiu que, após 67 horas de funcionamento, os fungos existentes na câmara foram eliminados.

Durante o armazenamento de feijão carioquinha, apresentando 17,1% (b.u.) recém colhido e sem sofrer nenhum tratamento, Linares et al. (1993) utilizaram uma estrutura contendo um silo com capacidade de 1m<sup>3</sup> interligado a uma câmara com o equipamento modificador de atmosfera, formando um circuito fechado com circulação de ar forçado. Observaram que após 88 dias de armazenamento, não ocorreu o desenvolvimento de fungos e também não foram

verificadas alterações na cor, textura e odor do produto.

Hara (1991) utilizou o equipamento modificador de atmosfera no armazenamento de 60 toneladas de milho a 17,8% (b.u.), sem tratamento químico, num silo metálico convencional durante 66 dias e observou que houve uma inibição do aumento do número de colônias de fungos sem a ocorrência de elevadas perdas na qualidade dos grãos.

De acordo com Barra et al. (1997), os blocos cerâmicos com resistência elétrica, utilizados como equipamento modificador de atmosfera, mantiveram o potencial de germinação dos grãos de milho próximo dos valores iniciais durante 42 dias de armazenamento.

Borém et al. (1998), avaliando as alterações químicas e físicas que esse tipo de equipamento provocaria no ar, constataram que o mesmo foi capaz de ionizar o ar, porém, numa escala bastante reduzida. Além disso, concluíram que o equipamento não liberou substâncias como enxofre, nem compostos orgânicos, especialmente fenóis, entretanto, constataram a produção de  $\text{CO}_2$  durante o seu funcionamento. De acordo com os autores, a presença de  $\text{CO}_2$ , produzido durante o período de armazenamento, provavelmente foi proveniente tanto da oxidação de matéria orgânica como também de outras reações químicas ocorridas no bloco cerâmico. Acredita-se que dentre tais reações, a liberação de  $\text{CO}_2$  tenha ocorrido, a partir de  $\text{CaCO}_3$  em elevadas temperaturas, visto que os autores encontraram elevados teores de  $\text{CaSO}_4$  e cálcio livre no bloco, além de temperaturas de até  $325^\circ\text{C}$  no interior de seus capilares. A oxidação de inóculo seria, até o momento, a hipótese mais provável para explicar o efeito do equipamento relatado anteriormente, sendo notável a necessidade de novas pesquisas para maiores esclarecimentos.

Borém et al. (2001b) estudaram o efeito do equipamento no desenvolvimento de fungos em sementes de feijão, em ambientes com  $30^\circ\text{C}$  de temperatura e 95% de umidade relativa. A partir dos resultados observados,

concluíram que o equipamento apresentou um efeito restrito às suas proximidades sendo capaz de impedir o desenvolvimento de fungos nas sementes sadias situadas a 2 cm do equipamento, entretanto, foi incapaz de impedir o desenvolvimento dos fungos tanto nas sementes já deterioradas localizadas próximas do equipamento como em todas as sementes situadas a 30 cm do aparelho.

Borém et al. (2001a) avaliaram os efeitos deste tipo de equipamento em contêineres não herméticos, contrapondo o equipamento modificador de atmosfera descoberto e recoberto por papel alumínio. Constataram que o efeito deste tipo de equipamento somente apresentou alteração, na qualidade das sementes de feijão, quando avaliada a porcentagem de sementes infestada por insetos (*Acanthoscelides obtectus*), os quais apresentaram ao final de 210 dias de armazenamento, 29,5% de infestação em contêineres com o equipamento modificador descoberto e 70,5% quando utilizado o equipamento recoberto por papel alumínio. Observaram, também, que o equipamento modificador de atmosfera não impediu o escurecimento do tegumento dos grãos.

Avaliando o mesmo sistema, anteriormente citado, Borém et al. (2000) constataram ao longo do período de armazenamento, significativas reduções na porcentagem de sementes portadoras de fungos de campo, independente da presença ou ausência do equipamento utilizado. Entretanto, o inverso ocorreu quando avaliados os fungos de armazenamento, que apresentaram significativo aumento ao longo do tempo, tanto no armazenamento com o equipamento modificador descoberto, quanto na utilização do equipamento recoberto. Vale ressaltar que não foram encontradas diferenças significativas entre as médias do número de unidades formadoras de colônia de fungos, amostradas no ar, quando avaliados os dois sistemas.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Processamento de Produtos Agrícolas do Departamento de Engenharia, no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura, no Laboratório de Patologia do Departamento de Fitopatologia e no Laboratório de Grãos e Cereais do Departamento de Ciências dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras, MG.

Foram utilizadas sementes de feijão, cultivar Pérola, produzidas no município de Lavras, MG, colhidas manualmente e trilhadas mecanicamente quando apresentavam teor de água em torno de 21% b.u. e já apresentando uma contaminação inicial pelos fungos *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 9 com duas repetições (2 tratamentos e 9 épocas de amostragem).

Foram avaliados: dois cilindros herméticos com 60kg de sementes, com ar tratado a partir de quatro equipamentos redutores de inóculo e dois cilindros herméticos com 60kg de sementes, sem tratamento do ar, durante um período de oito semanas.

As amostras das sementes foram retiradas semanalmente, totalizando-se nove épocas, sendo coletadas em três pontos localizados nas alturas 0,10; 0,25 e 0,35m, ao longo do cilindro com o auxílio de um calador. Posteriormente, as amostras foram homogeneizadas formando-se uma amostra composta.

#### 3.1 Estrutura de armazenamento

A estrutura para armazenamento das sementes de feijão foi composta por quatro conjuntos contendo em cada um: cilindros, caixa com os E.R.I., ventilador centrífugo acionado por um motor elétrico, caixa para armazenamento

da solução salina e área de expansão para aumento da pressão estática do ar (Figuras 1 e 2).

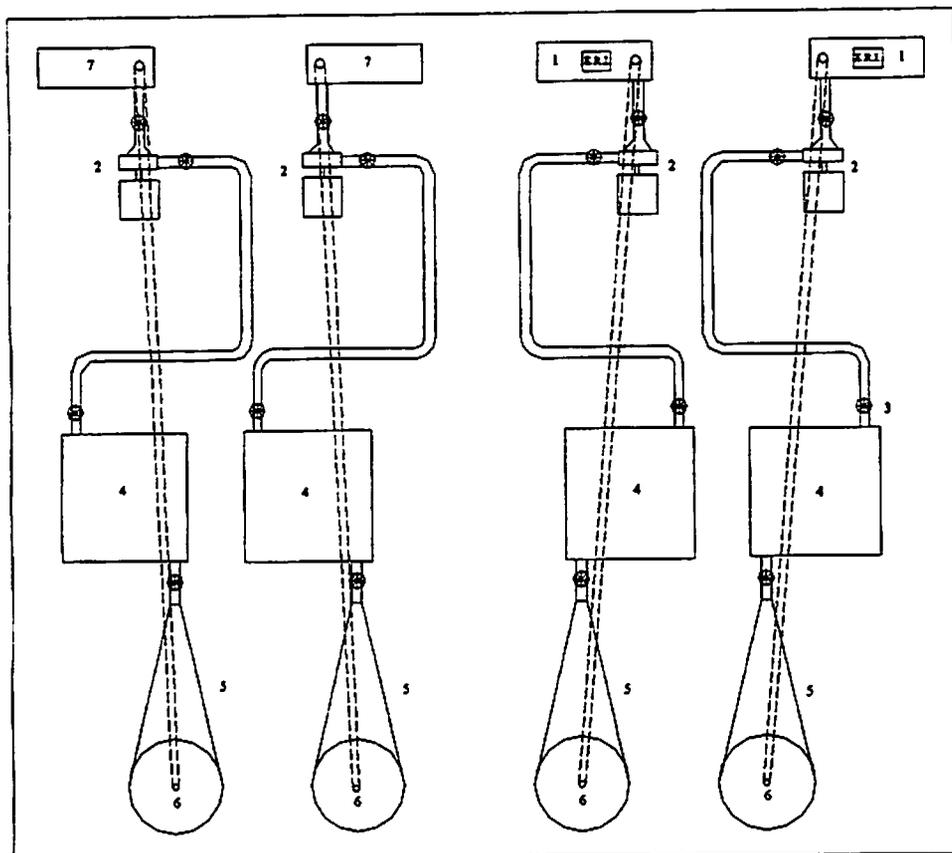


FIGURA 1 Planta baixa do sistema de armazenamento. (1) caixa com os E.R.I.; (2) ventilador centrífugo e motor; (3) registro de gaveta, união e nípios; (4) caixa com solução salina; (5) área de expansão; (6) cilindro; (7) caixa sem os E.R.I.

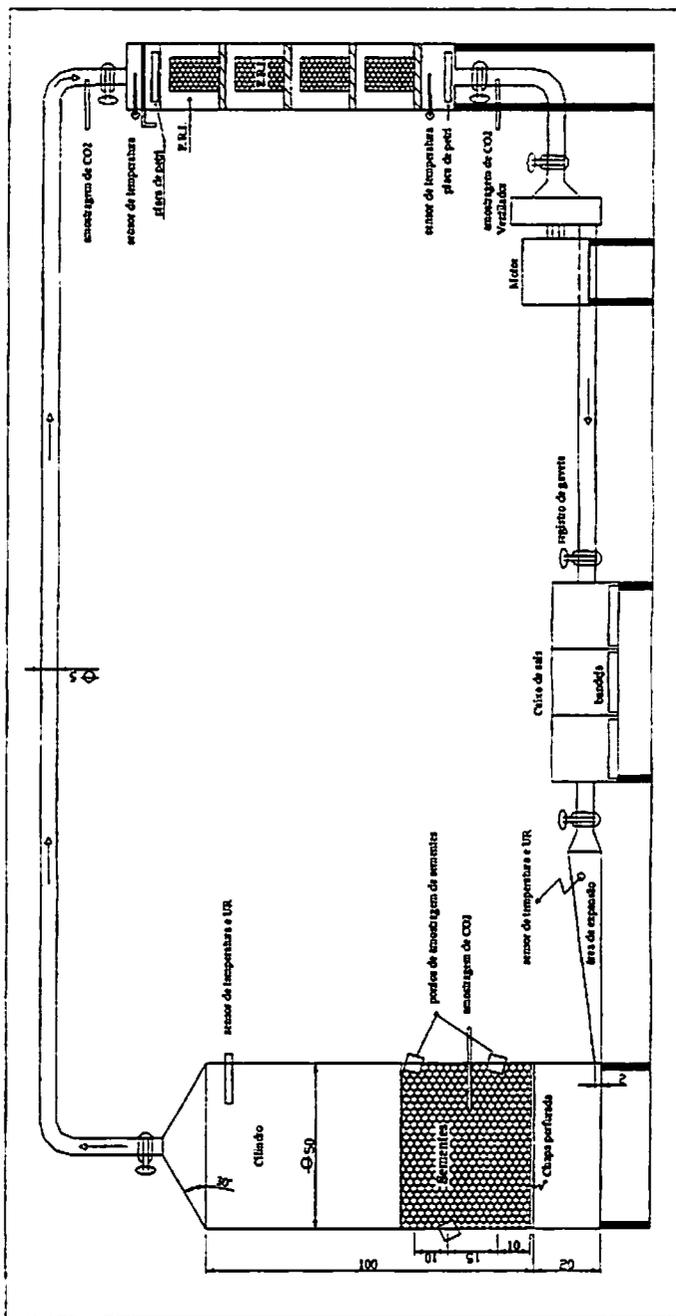


FIGURA 2 Vista lateral do sistema de armazenamento contendo os E.R.I.

### 3. 1. 1 Cilindro

No cilindro, com diâmetro ( $\varnothing$ ) de 0,50m e altura de 1,20m (Figura 3) foram colocados 60kg de sementes formando uma única camada de 0,40m de espessura.

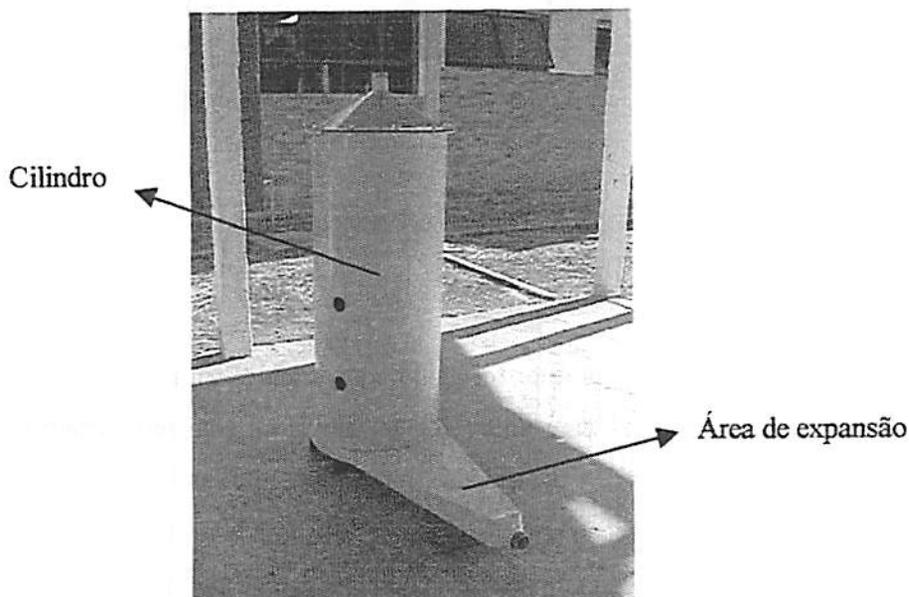


FIGURA 3 Cilindro para armazenamento de sementes e área de expansão.

Para acomodação das sementes, a uma altura de 0,20m, foi acoplado no interior do cilindro um fundo falso, em chapa de aço, contendo 15% de área perfurada (Figura 4).

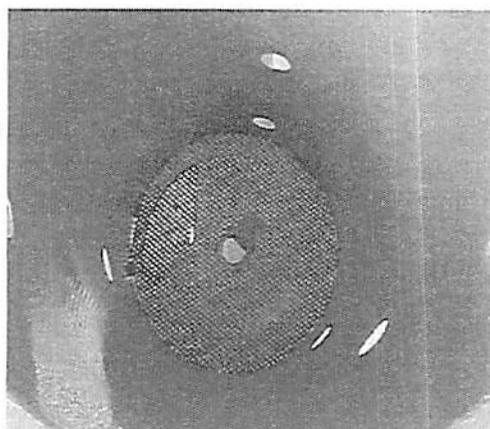


FIGURA 4 Detalhe da chapa perfurada no interior do cilindro.

O cilindro lateralmente foi unido com solda elétrica. A parte inferior e superior foram vedadas com anéis (flange) moldados com ferro chato de 1" x 3/16". Nas extremidades do cilindro foram soldados anéis, os quais foram fixados à tampa e ao fundo por meio de parafusos tipo borboleta com  $\varnothing = 5/16"$ . Entre os anéis foi colocada uma borracha porosa para evitar vazamentos.

As amostras do produto foram retiradas por meio de três perfurações com  $\varnothing=0,05\text{m}$ , localizadas nas seguintes alturas: 0,10, 0,25, 0,35m ao longo do cilindro (Figura 2). Nestas perfurações, soldou-se um cano de aço galvanizado com  $\varnothing=2"$  e comprimento de 0,06m com rosca em uma das extremidades na qual foi colocado um cap fêmea. Entre o cilindro e o cano foi colocado um lençol de borracha com 1/8" de espessura, no qual promoveu-se um corte em forma de cruz, para que este somente se abrisse com a introdução do calador no ato de retirada da amostra.

O cilindro ficou suspenso 0,20m em relação ao piso para facilitar a limpeza e manuseio do produto.

### 3. 1. 2 Caixa com os E.R.I.

A caixa onde foram instalados os E.R.I. possuía as dimensões de 1,00 x 0,60 x 0,20m, contendo cinco divisões internas espaçadas em 0,10; 0,20; 0,20; 0,20; 0,20m (Figura 5).

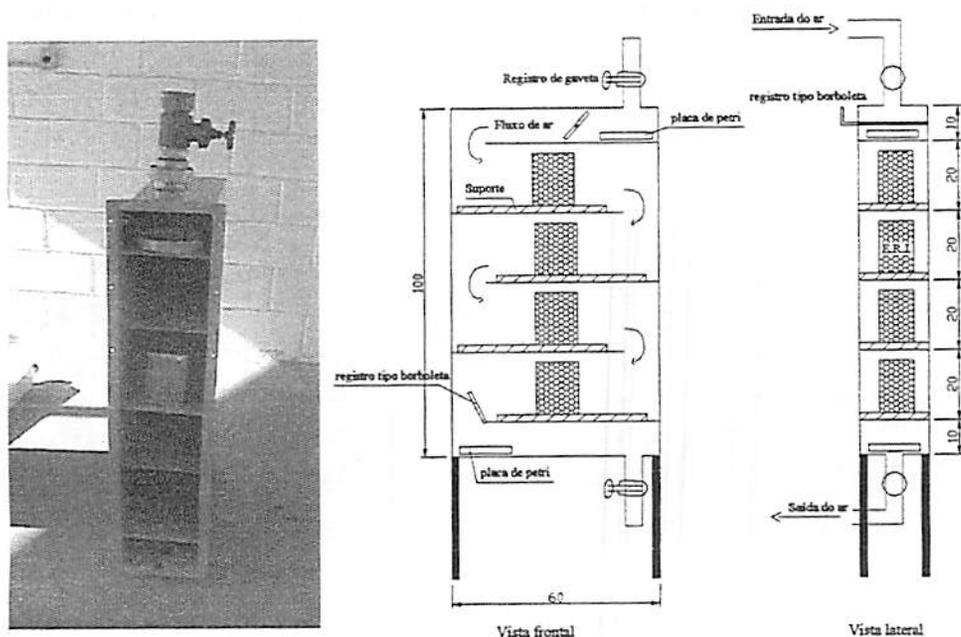


FIGURA 5 Caixa com os E.R.I, desenho esquemático representando as divisões internas, posição do E.R.I., sentido do fluxo de ar, localização das placas de petri e registros utilizados.

As divisões internas foram colocadas para apoiar os E.R.I., possuindo comprimento de 0,55m, ficando assim 0,05m de vão entre as chapas para passagem do ar. Estas aberturas foram colocadas de maneira desencontrada, permitindo a passagem do ar entre a chapa e direcionando-o por toda a extensão

da caixa. Com o auxílio de um suporte os E.R.I. ficaram suspensos 0,02m dentro da caixa para permitir a movimentação do ar no seu interior.

Promoveram-se duas aberturas laterais de 0,20 x 0,05m na parte superior e inferior da caixa para colocação das placas de petri com meio de cultura (BDA), com a finalidade de amostrar a contaminação do ar por fungos (Figura 6). Como tampa, utilizou-se uma chapa metálica de 0,25 x 0,10m sendo fixada à caixa por meio de quatro parafusos de 1/4".

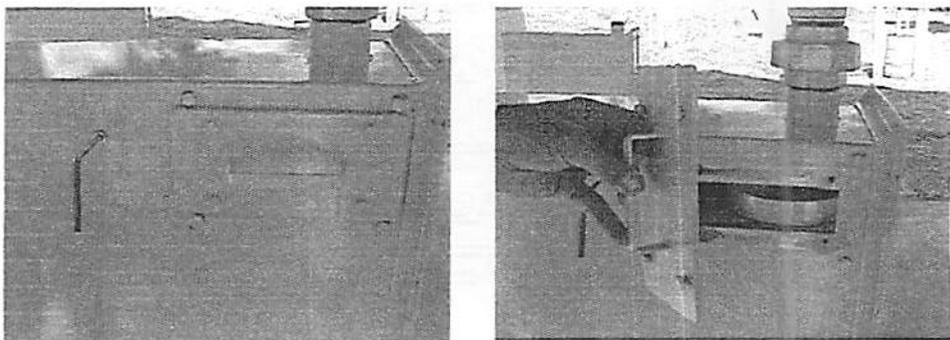


FIGURA 6 Detalhe da abertura lateral na caixa com os E.R.I., para a colocação das placas de petri.

Após a abertura lateral, instalou-se um registro em chapa metálica para minimizar a contaminação do ar, reduzindo o volume da caixa que entrava em contato com o ambiente externo na ocasião da colocação ou retirada da placa de petri (Figura 7).

O registro tipo borboleta, com dimensões de 0,20 x 0,10m, foi composto por duas chapas metálicas (recheadas com um lençol de borracha) afixadas a uma barra de aço rosqueável em forma de "L" a qual possibilitou a sua manipulação externa.

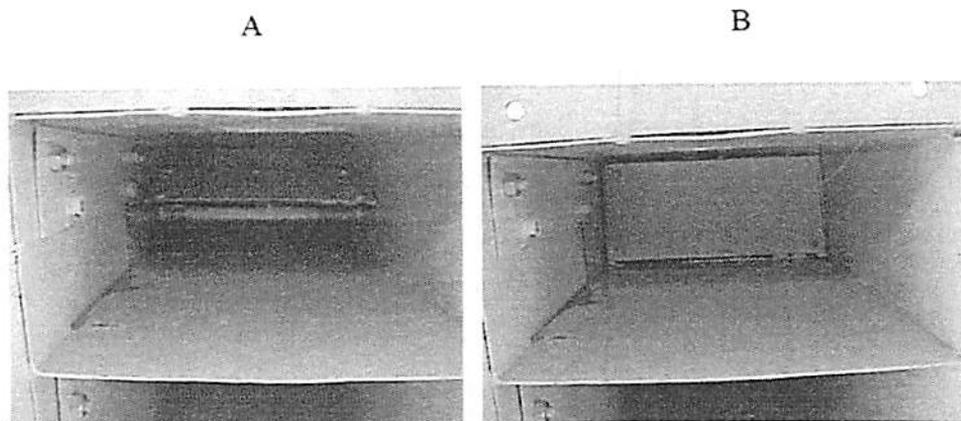


FIGURA 7 Detalhe do registro colocado na caixa com os E.R.I. para minimizar contato com ar externo, (A) aberto e (B) fechado.

A representação esquemática do E.R.I. está representada na Figura 8, contendo detalhamento interno do bloco cerâmico e sua foto.

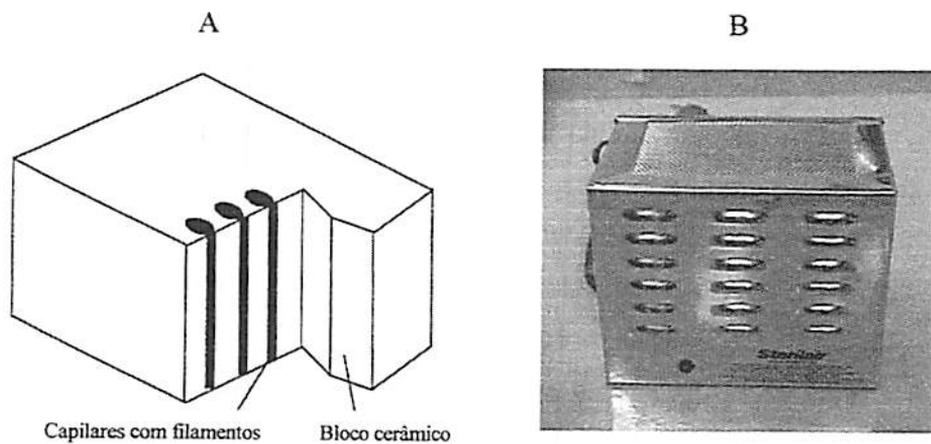


FIGURA 8 Equipamento redutor de inóculo, A-representação esquemática; B-foto.

### 3. 1. 3 Ventilador

O ventilador centrífugo foi acionado por motor trifásico de alta rotação (3.480 rpm) com potência de 1/3 cv, sendo dimensionado para gerar uma vazão máxima de  $2 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ . O rotor e o suporte foram confeccionados em chapa de aço carbono N°12; as paletas e a voluta em chapa N°16 (Figura 9).

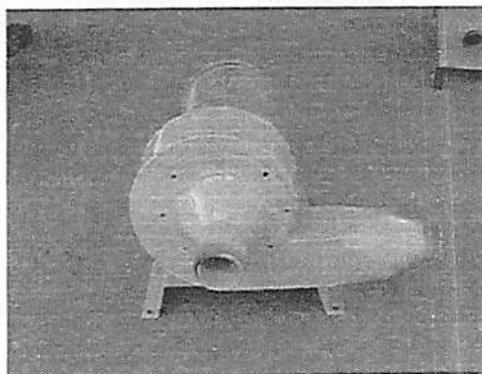


FIGURA 9 Ventilador centrífugo acoplado ao motor.

O fluxo de ar utilizado foi de  $1 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{t}^{-1}$ , correspondente ao valor máximo recomendado para aeração de grãos em regiões quentes (Silva et al., 2000). Para medir o fluxo de ar utilizou-se um anemômetro e para o seu controle um registro de gaveta situado antes da entrada de ar no ventilador. A direção do fluxo de ar está representada na Figura 2.

Para evitar vazamentos entre o eixo do motor e o ventilador fez-se uma proteção com cano de PVC  $\varnothing=2''$ , fixado com resina epóxi e adesivo de silicone.

### 3. 1. 4 Caixa com solução salina

Para manter a umidade relativa, no interior do sistema de armazenamento, em torno de 85%, dimensionou-se uma caixa com 0,66 x 0,66 x 0,20 m, na qual foram mantidas seis bandejas plásticas com solução salina saturada (2 kg de cloreto de potássio e 250 mL água destilada por bandeja). No interior da caixa foram colocadas três divisões em chapa metálica para promover o direcionamento do ar e possibilitar um maior contato com a solução salina (Figura 10).

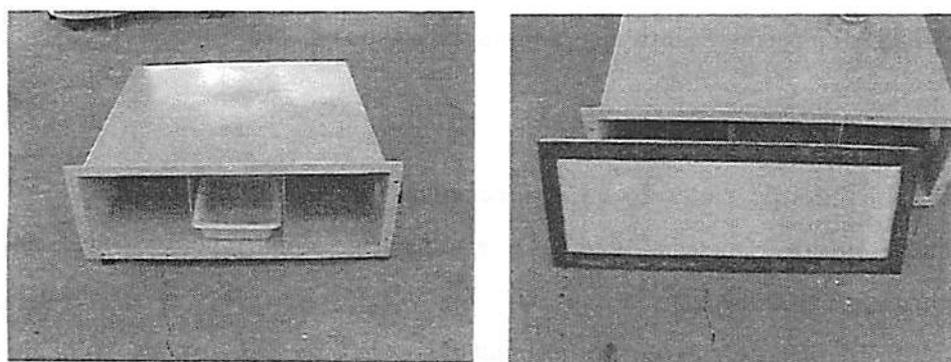


FIGURA 10 Caixa com solução salina, detalhe das divisões internas, bandeja com solução salina e tampa com a borracha de vedação.

### 3. 1. 5 Área de expansão

A área de expansão, responsável pela transformação da energia dinâmica em energia estática, alterou a seção de 0,10 x 0,10m na saída da caixa com solução salina, para 0,50 x 0,02m na entrada do cilindro, ao longo de 0,64m de extensão, (Figura 11), sendo conectada ao cilindro por meio de solda elétrica.

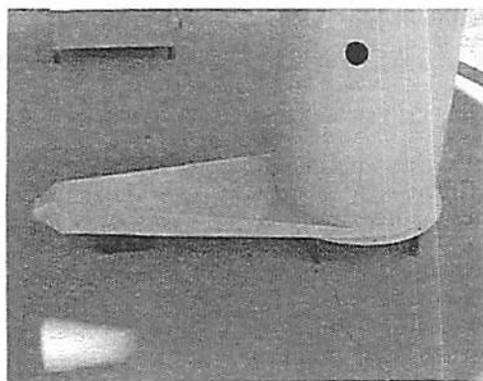


FIGURA 11 Detalhe da área de expansão soldada ao cilindro

Todas as partes foram confeccionadas em chapa de aço carbono nº16 (chapa preta) e pintadas interna e externamente com fundo especial anti-corrosivo e tinta metálica.

A união das partes foi realizada com canos de PVC, curvas de 90° raio longo, registros de gaveta, uniões e nípios, todos com  $\varnothing=2''$ , deixando o sistema hermético, perfazendo um volume interno de  $0,5\text{m}^3$  (Figura 12).

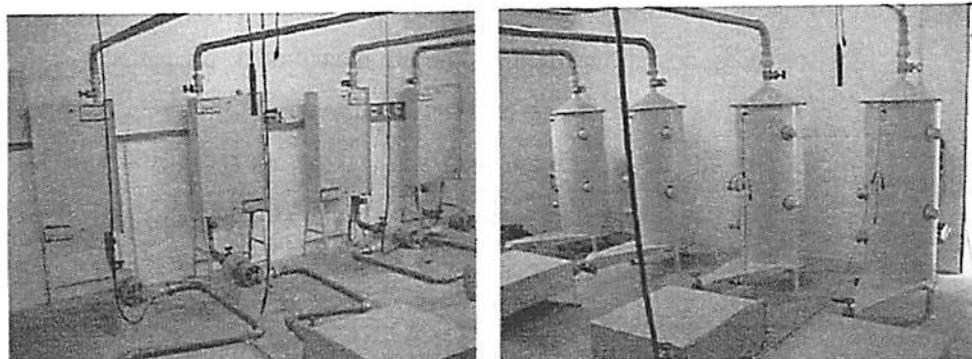


FIGURA 12 Vista geral da estrutura de armazenamento após a montagem das partes.

### 3. 2 Monitoramento da temperatura e umidade relativa

A temperatura e a umidade relativa do ar no interior do sistema foram monitoradas diariamente por meio de sondas instaladas antes do ar atravessar a massa de grãos, na expansão e, após sua passagem pelos grãos, na parte superior do cilindro acima da massa de grãos. Estes sensores interligados a um termohigrômetro digital forneceram temperatura e umidade relativa do ar instantaneamente.

O controle da temperatura ambiente foi realizado por meio de um condicionador de ar.

A umidade relativa do ar no interior das estruturas foi controlada por meio de solução salina (KCl).

Com o objetivo de verificar o aumento de temperatura do ar gerado pelos E.R.I., instalaram-se dois termopares em cada uma das caixas monitorando o ar antes e após sua passagem pelos E.R.I.

### **3. 3 Monitoramento da concentração de CO<sub>2</sub>**

As variações nos níveis de CO<sub>2</sub> foram monitoradas diariamente com o auxílio de um analisador digital de CO<sub>2</sub> com sensor infravermelho.

As amostragens de CO<sub>2</sub> foram realizadas no interior da massa de grãos e na caixa com os E.R.I. antes e após a passagem do ar pelos equipamentos.

### **3. 4 Análise da contaminação do ar**

A presença de inóculo no ar do interior do cilindro foi monitorada a partir da exposição por 15 horas de placas de petri com meio de cultura ágar batata dextrose (BDA salino), autoclavado a 121°C por 20 minutos, composto de 200g de extrato de batata, 40g de dextrose, 15g de ágar, 60g de cloreto de sódio e água destilada.

Para a colocação das placas de petri no interior da caixa com os E.R.I. foram utilizadas as aberturas laterais e os registros descritos na construção do sistema. Durante este procedimento, colocou-se uma chama próxima das aberturas para evitar possíveis contaminações externas.

Todos os utensílios e equipamentos utilizados na colocação e retirada das placas de petri foram esterilizados com álcool, inclusive as mãos do operador.

A contagem do número de unidades formadoras de colônias (UFC) de fungos foi realizada após uma semana de incubação das placas.

#### **3.4.1 Testes complementares**

Ao final das oito semanas de armazenamento, e com as sementes ainda acondicionadas nos cilindros, foram efetuadas algumas alterações no sistema, objetivando uma complementação às análises já realizadas.

As amostragens das UFC de fungos foram realizadas diariamente. Inicialmente os E.R.I. foram desligados por um período de três dias, e no quarto dia

foram religados. Nos dias seguintes, ainda com os E.R.I. ligados, modificou-se o fluxo de ar usado no sistema, sendo alterado de  $1 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{t}^{-1}$  para 4,4 e 6,6  $\text{m}^3 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{t}^{-1}$ , respectivamente.

### **3. 5 Teor de água das sementes**

O teor de água das sementes foi determinado utilizando-se o método padrão de estufa, segundo as Regras para Análises de Sementes (Brasil, 1992).

As sementes foram colocadas em recipientes de alumínio, abertos em estufa com circulação de ar forçado, a  $105 \pm 1^\circ\text{C}$ , durante um período de 24 horas, utilizando-se três repetições de 40g. Após este período as amostras foram retiradas da estufa, resfriadas por 20 minutos em dessecador. O teor de água foi expresso em % b.u.

### **3. 6 Teste de sanidade das sementes**

A sanidade das sementes foi avaliada pelo método de incubação em substrato de papel de filtro (Blotter Test).

Foram utilizadas 8 repetições de 25 sementes para cada amostra. As sementes foram colocadas adequadamente espaçadas em caixas gerbox, (que permitem a transmissão adequada de luz, facilitando a esporulação dos fungos associados às sementes), contendo papel mata-borrão umedecido com água destilada e meio agarizado salino 6%. O meio de cultura utilizado neste teste restringe o desenvolvimento de grande parte dos fungos, favorecendo a identificação dos fungos de armazenamento. Os testes foram realizados sob um regime intermitente de 12 horas de luz e 12 horas de escuro a  $25^\circ\text{C}$ , por um período de 7 dias.

A contagem de sementes infectadas foi realizada sob lupa binocular e microscópio composto para identificação mais segura dos patógenos associados. Foram atribuídas notas de zero a três de acordo com a densidade de inóculos na

semente (Borém, 2001a), 0 para sementes livres de fungos; 1 semente exibindo pequenas colônias de fungos visíveis somente com lupa; 2 sementes exibindo grandes colônias de fungos visíveis sem o uso da lupa e cobrindo uma área inferior a 50% da superfície da semente; 3 sementes com elevado grau de deterioração com colônias de fungos cobrindo uma área superior a 50% da superfície da semente. O Índice de Ocorrência (IO) foi calculado a partir da fórmula de "Mc Kinney" (Equação 1), fornecendo uma média ponderada da ocorrência de fungos na semente.

$$IO = [\Sigma(PO \times N)] \times 100 / (POT \times N_{\text{máx}}) \quad (1)$$

Em que:

IO = índice de ocorrência (%);

PO = porcentagem de ocorrência por nota da escala;

N = nota;

POT = porcentagem de ocorrência total;

$N_{\text{máx}}$  = nota máxima.

### 3. 7 Análises fisiológicas

#### 3. 7. 1 Teste de germinação

O teste de germinação foi efetuado segundo as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Entretanto, foram utilizadas duas repetições de 100 sementes por parcela, dispostas em oito rolos de 25 sementes em papel tipo "germitest", adequadamente umedecidos com água deionizada com o equivalente a 2,5 vezes o seu peso e mantidos em câmara de germinação, regulada à temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , por um período de nove dias.

Foram realizadas duas contagens: a primeira aos cinco dias, avaliando-se o número de plântulas normais, e a segunda aos nove dias, considerando-se o

número de plântulas normais e anormais, e o número de sementes dormentes e mortas. Os resultados foram expressos em porcentagem.

### **3. 7. 2 Envelhecimento acelerado**

O teste do envelhecimento acelerado foi realizado em duas repetições de 100 sementes por parcela. As sementes foram mantidas no interior de caixas plásticas tipo gerbox, esterilizadas com álcool etílico 70%, distribuídas uniformemente sobre uma tela de aço inox sendo adicionado um volume de 40 mL de água deionizada por caixa.

Em seguida, as caixas foram vedadas e mantidas em incubadora tipo BOD, regulada à temperatura constante de  $42 \pm 1^\circ\text{C}$ , por um período de 72 horas.

Após este período, as sementes envelhecidas foram submetidas ao teste de germinação, avaliando-se a porcentagem de plântulas normais e anormais e sementes mortas, aos cinco e nove dias após a montagem do teste, segundo os critérios estabelecidos pelas Regras de Análise de Sementes (Brasil, 1992). O vigor foi expresso em porcentagem de plântulas normais.

### **3. 7. 3 Teste de tetrazólio**

Foram avaliadas 100 sementes por parcela, constituindo duas repetições de 50 sementes. Inicialmente, as sementes foram embebidas em folhas de papel de germinação, umedecidas com água deionizada, sendo posteriormente, levadas a uma câmara de germinação, à temperatura constante de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , durante um período de 16 horas.

Após este período, as sementes foram imersas em solução de sal de 2, 3, 5 cloreto trifênil de tetrazólio a uma concentração de 0,1%, dispostas em becker embalado em papel alumínio, mantidas em câmara de germinação tipo BOD a  $35^\circ\text{C}$ , durante 4 horas.

As sementes, após a lavagem em água corrente, foram avaliadas individualmente, removendo-se o tegumento e seccionando-as longitudinalmente com o auxílio de uma lâmina.

Observou-se, com auxílio de lupa com aumento (6X), a coloração, a ocorrência de danos (mecânico, insetos e por umidade) nas partes externas e internas dos cotilédones; deu-se atenção especial para a região do eixo embrionário, responsável pelo processo de germinação; além da extensão, profundidade do dano e a consistência do tecido.

As sementes foram classificadas de acordo com um padrão de coloração em 7 classes conforme Bhéring et al. (1996).

Os resultados foram expressos em porcentagem média de sementes viáveis para o tetrazólio, sendo os valores de 1 a 3 atribuídos a sementes vigorosas, 1 a 5 às sementes viáveis e 6 e 7 às sementes inviáveis. O vigor final foi expresso pela soma das sementes das classes 1, 2 e 3.

### **3. 7. 4 Teste de emergência em bandejas**

Os testes de emergência foram montados em bandejas plásticas com seis kg de substrato umedecido até 70% da capacidade de campo. Cada parcela compreendeu quatro repetições de 50 sementes, em cada bandeja, totalizando 200 sementes. Como substrato, foi utilizada uma mistura de areia e terra de barranco, na proporção 1:1, ambas devidamente peneiradas. As sementes de feijão foram semeadas a uma profundidade de aproximadamente 0,02m de forma que dois terços (2/3) do substrato ficaram abaixo destas e o restante (1/3) utilizado para cobertura.

As bandejas foram mantidas em sala de germinação, regulada à temperatura de 25°C, por sete dias, contabilizando a porcentagem de plântulas emergidas ao final deste período.

### **3. 8 Análises tecnológicas**

#### **3. 8. 1 Taxa de absorção de água**

Para a determinação da taxa de absorção de água, as amostras foram submetidas à maceração durante um período de 12 horas. Em um becker (capacidade de 100 mL) foram colocados 80 mL de água destilada juntamente com 20 gramas de produto, perfazendo uma relação em massa de 4/1. Após o período de maceração, as amostras foram retiradas dos beckers e colocadas sobre papel de filtro para escoamento da água superficial durante dois minutos. A porcentagem de absorção de água foi determinada segundo Costa et al. (2001) (Equação 2):

$$AG (\%) = [(ME - MI) / MI] \times 100 \quad (2)$$

Em que:

AG : absorção de água (%);

ME : massa após a embebição;

MI : massa inicial antes da embebição.

#### **3. 8. 2 Tempo de cocção**

Para determinação do tempo de cocção foram introduzidas modificações à metodologia descrita por Tomé et al. (2000). As amostras resultantes da avaliação da taxa de absorção de água, previamente maceradas por 12 horas, foram encaminhadas para quantificar o tempo de cozimento. Foi utilizado um aparelho constituído por 25 estiletos com 21,5 cm de comprimento e massa de 82,0 gramas cada um. Na extremidade, o estilete possuía uma ponta afunilada com 2,0 mm de diâmetro e comprimento de 9 mm, a qual fica apoiada perpendicularmente sobre o grão individualmente (Figura 13).

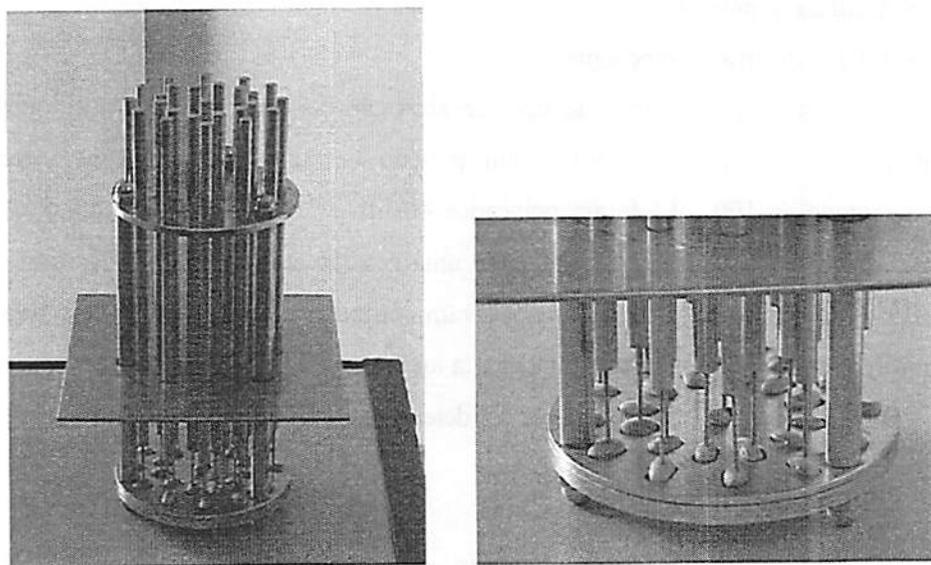


FIGURA 13 Equipamento indicador do tempo de cocção do feijão.

O aparelho foi colocado no interior de um recipiente metálico com um litro de água em estado de ebulição, mantido a volume constante. Os grãos foram considerados cozidos quando o estilete os atravessava e o tempo de cozimento da amostra foi registrado quando a 13ª haste penetrou o grão.

### 3. 8. 3 Cor do tegumento

Para acompanhamento das alterações na coloração do tegumento dos grãos, as amostras foram coletadas semanalmente e armazenadas em freezer à temperatura de  $-17^{\circ}\text{C}$  até o término das oito semanas de armazenamento.

Ao final do experimento as amostras foram submetidas a um teste comparativo para avaliação de possíveis alterações em sua coloração durante o período de armazenamento.

### 3. 9 Análises estatísticas

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 9 com duas repetições (2 tratamentos e 9 épocas de amostragem).

Os dados referentes aos testes de contagem de unidades formadoras de colônias de fungos encontrados antes da passagem do ar pelos E.R.I. foram analisados por um modelo linear generalizado binomial negativo com função de ligação logaritmica, utilizando-se a análise de desvios como critério de verificação do ajuste (Cordeiro, 1986).

Para os demais testes realizaram-se análise de variância e teste de médias pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade com o auxílio do programa aplicativo SISVAR 4.0 segundo Ferreira (2000).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As condições experimentais obtidas neste trabalho possibilitaram a manutenção dos valores da temperatura e umidade relativa favoráveis à deterioração do feijão, o que não foi possível durante os trabalhos desenvolvidos por Borém (1988). Segundo este autor, a redução da umidade relativa e conseqüentemente do teor de água das sementes impossibilitou avaliar com clareza o efeito do equipamento estudado no desenvolvimento de fungos de armazenamento.

### 4.1 Monitoramento da temperatura e umidade relativa

Os valores diários de temperatura e umidade relativa do ar ambiente e do ar no interior dos cilindros são apresentados nas Figuras 14 e 15, respectivamente.

Observa-se na Figura 14 que o valor médio da temperatura ambiente (TA) foi de  $24 \pm 2^\circ\text{C}$  e que a temperatura no interior dos cilindros, tanto na entrada (T.E.C) quanto na saída (T.S.C.) e mesmo na presença do E.R.I, acompanhou as variações da temperatura ambiente com valores médios de  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ . Este fato ocorreu em virtude do material de construção dos cilindros (chapa metálica) permitir uma boa troca térmica.

Verifica-se na Figura 15 que a umidade relativa no interior dos cilindros, na entrada (U.R.E.C) e na saída (U.R.S.C), manteve-se uniforme, com pequenas oscilações, ao longo do período de armazenamento, sem sofrer influência das variações da umidade relativa do ar ambiente (URA) devido à presença da solução salina saturada de KCl colocada no interior das estruturas. Esta condição garantiu a manutenção do teor de água inicial das sementes até o final do experimento.

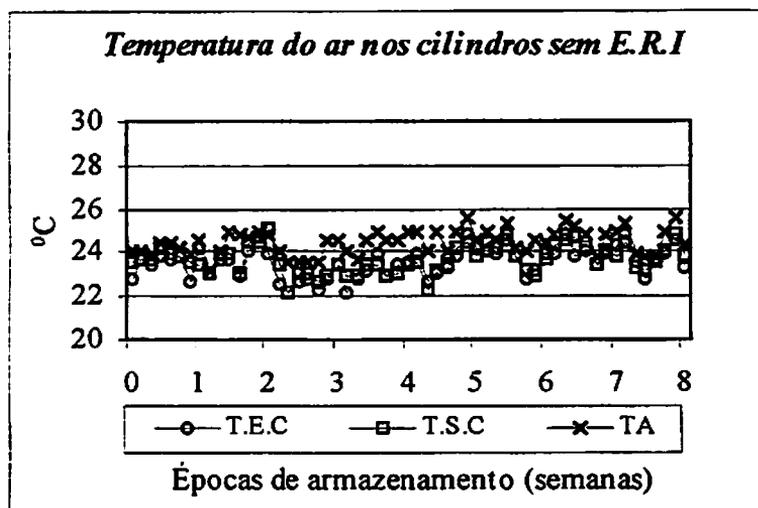
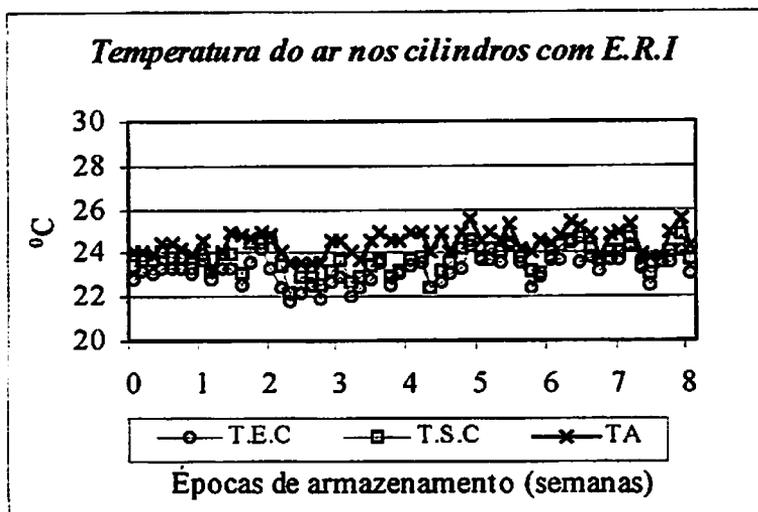


FIGURA 14 Monitoramento das temperaturas do ar: entrada do cilindro (T.E.C); saída do cilindro (T.S.C) e ambiente (TA) ao longo das 9 épocas de amostragem, na presença e ausência dos E.R.I.

Os valores médios da umidade relativa permaneceram elevados em torno de 87% ao longo das épocas de armazenamento. Esta condição foi

selecionada para favorecer o desenvolvimento de fungos de armazenamento e assim avaliar a eficácia do E.R.I. na prevenção de possíveis contaminações.

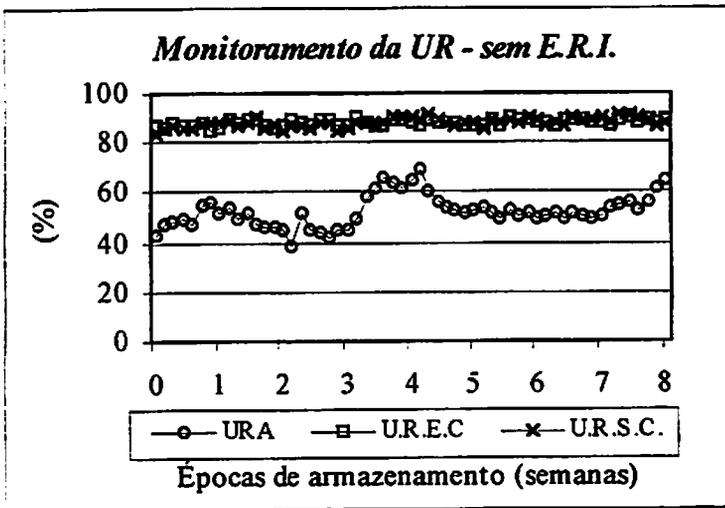
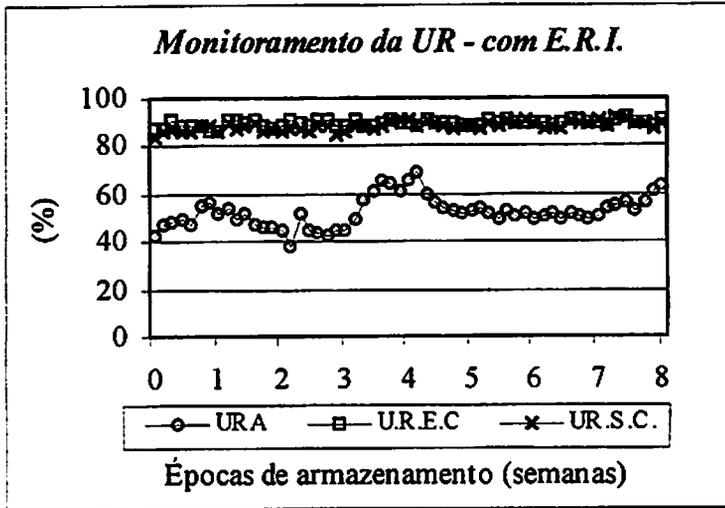


FIGURA 15 Monitoramento das umidades relativas do ar: ambiente (URA); entrada do cilindro (U.R.E.C) e saída do cilindro (U.R.S.C.), ao longo das 9 épocas de amostragem, com e sem o E.R.I.

## 4. 2 Monitoramento da concentração de CO<sub>2</sub>

As concentrações diárias de CO<sub>2</sub> no interior do sistema ao longo do período de armazenamento estão apresentadas na Figura 16.

Os níveis de CO<sub>2</sub> da atmosfera no interior da estrutura de armazenamento aumentaram progressivamente ao longo do tempo.

Esta elevação nas concentrações de CO<sub>2</sub> ocorreu em virtude da respiração das sementes e dos microrganismos e também devido à oxidação de compostos orgânicos promovida pelos E.R.I, explicando, assim, os maiores níveis encontrados nas estruturas contendo os aparelhos redutores de inóculo. Esta oxidação de compostos orgânicos foi relatada como sendo a hipótese mais provável para o efeito do E.R.I. na redução de propágulos de fungos (Hara, 1991; Baez, 1993; Borém et al., 1998).

A partir da sexta semana de armazenamento, os níveis de CO<sub>2</sub> estabilizaram, indicando que as condições internas dos cilindros entraram em equilíbrio.

Ao longo do período de armazenamento, em sua maior parte, a presença do E.R.I. resultou em um acréscimo no nível de CO<sub>2</sub> em aproximadamente um ponto percentual. Borém et al. (1998) verificaram que a concentração de CO<sub>2</sub> no interior de um dessecador contendo um E.R.I. ligado aumentou em seis vezes o seu valor durante seis horas de funcionamento e, após o seu desligamento, a concentração de CO<sub>2</sub> reduziu drasticamente retornando à concentração ambiente. Segundo os autores, além da reação de oxidação de compostos orgânicos, o CO<sub>2</sub> encontrado na atmosfera no interior da estrutura de armazenamento pode estar sendo produzido também pela degradação do carbonato de cálcio, constituinte do bloco cerâmico, na exposição à temperatura de 325°C atingida no interior dos capilares do E.R.I., entretanto não sendo possível determinar a quantidade de CO<sub>2</sub> proveniente de cada reação.

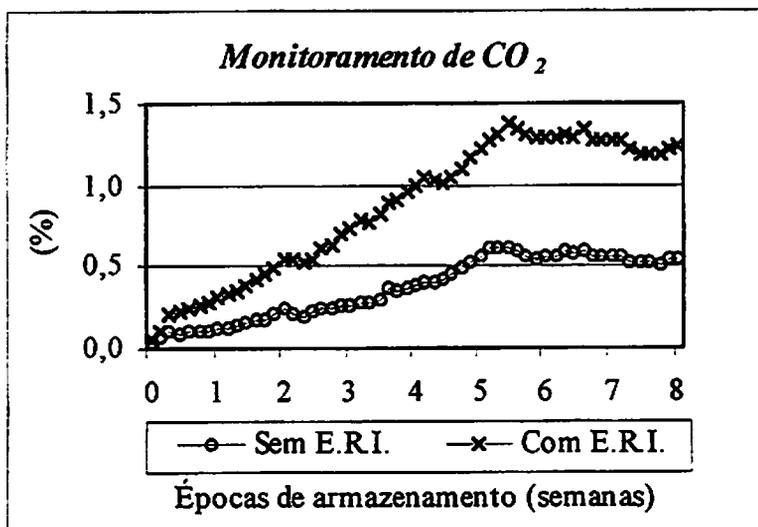


FIGURA 16 Concentrações diárias de CO<sub>2</sub> no ar ao longo do período de armazenamento, na presença e ausência dos E.R.I.

### 4.3 Análise da contaminação do ar

#### 4.3.1 Monitoramento da temperatura do ar no interior da caixa com os E.R.I.

Os valores do monitoramento da temperatura do ar no interior das caixas com e sem os E.R.I. são apresentados na Figura 17.

Observa-se que os valores médios das temperaturas do ar no interior da caixa com a presença dos E.R.I. seguiram a tendência da temperatura ambiente (TA), porém com valores sempre superiores (Figura 17).

Na entrada da caixa a temperatura média do ar (T.E.Cx) permaneceu em torno de 36°C e na saída da caixa (T.S.Cx) em torno de 32°C. Este fato deve-se à energia radiante liberada pelo funcionamento do E.R.I. Sem a presença do E.R.I., os valores médios de temperatura do ar na entrada e saída da caixa acompanharam as variações da temperatura ambiente controlada por meio de um

condicionador de ar e devido à boa condução térmica das chapas metálicas usadas na construção do equipamento.

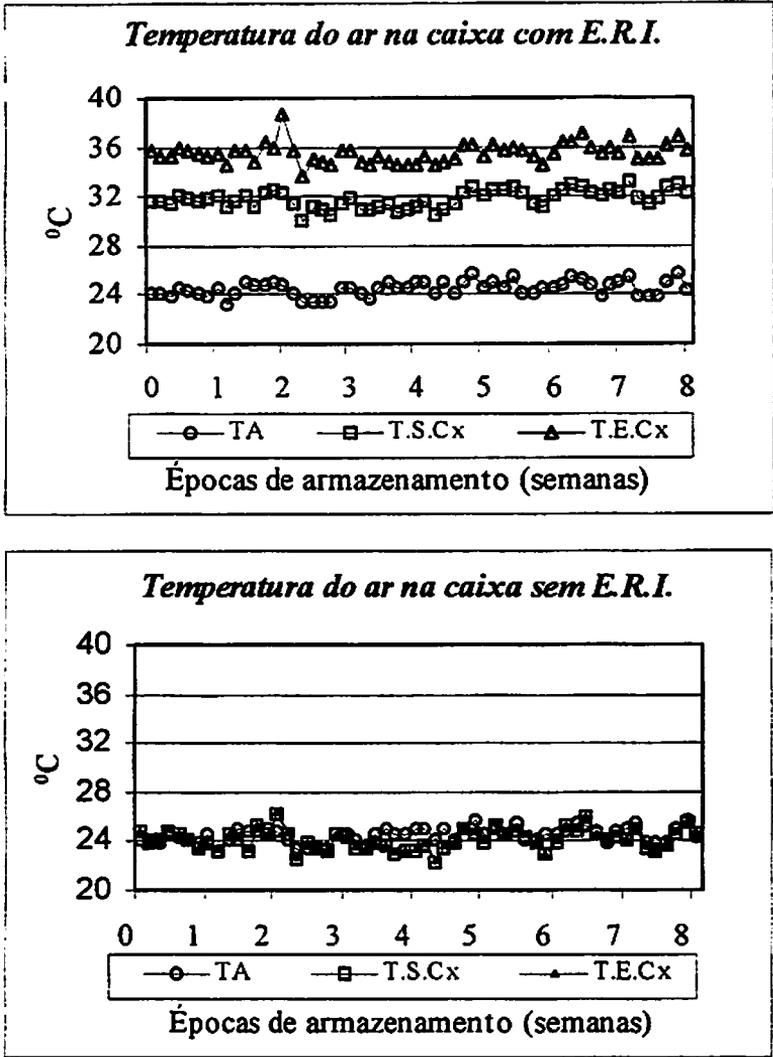


FIGURA 17 Monitoramento das temperaturas do ar: ambiente (TA); saída da caixa (T.S.Cx); entrada da caixa (T.E.Cx), ao longo das 9 épocas de amostragem, na presença e ausência dos E.R.I.

A tubulação utilizada para conduzir o ar apresentava uma seção de 20,25cm<sup>2</sup>. Ao ser conectada à caixa com os E.R.I esta seção foi transformada para 400cm<sup>2</sup>. Desta forma, a velocidade do ar no interior da caixa foi reduzida drasticamente para facilitar a ocorrência de correntes de convecção natural geradas pelo aquecimento do E.R.I. e permitir a passagem do ar através dos seus filamentos sem ocorrer o seu resfriamento e, assim, garantir as condições necessárias para o seu adequado funcionamento.

#### 4. 3. 2 Unidades formadoras de colônia no ar

Os valores médios da contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. amostrados antes da passagem do ar pelos E.R.I. são apresentados nas Tabelas 1 e 2.

TABELA 1 Unidades formadoras de colônias no ar contendo *Aspergillus* spp. amostradas antes da passagem do ar pelo E.R.I., ao longo do período de armazenamento, durante as 9 épocas de amostragem.

Tratamentos	Épocas de amostragem (semanas)								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Sem E.R.I	0	10	11	29	59	68	121	212	506
Com E.R.I	0	10	0	0	0	0	0	0	0

TABELA 2 Unidades formadoras de colônias no ar contendo *Penicillium* spp. amostradas antes da passagem do ar pelo E.R.I., ao longo do período de armazenamento, durante as 9 épocas de amostragem.

Tratamentos	Épocas de amostragem (semanas)								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Sem E.R.I	0	27	15	85	131	171	254	244	380
Com E.R.I	0	29	0	0	0	0	0	0	0

Nas amostragens realizadas na entrada da caixa com a presença dos E.R.I., (Tabelas 1 e 2) não foram encontradas UFC de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. com exceção da primeira semana. Ressalta-se que, na época zero, a amostragem foi realizada antes da colocação das sementes nos cilindros, e na época 1, com as sementes acomodadas, possivelmente não houve tempo suficiente para ocorrer uma atuação eficaz dos E.R.I.

Nas épocas seguintes, verificou-se o efeito dos E.R.I. sobre os esporos de fungos presentes no ar, evitando seu aparecimento mesmo em temperaturas na faixa ótima para o desenvolvimento de fungos de armazenamento, 28 a 35°C. Segundo Hara (1991), este efeito está relacionado à oxidação do material orgânico presente no ar que passa através dos capilares do E.R.I.

Como a contagem de UFC de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp., neste local, teve uma elevada frequência do valor zero, os dados não apresentaram normalidade e foram analisados por um modelo linear generalizado binomial negativo com função de ligação logarítmica, utilizando-se a análise de desvios como critério de verificação do ajuste.

O resumo da análise de desvios para o número de UFC de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. com e sem o tratamento do ar, amostradas antes da sua passagem pelo E.R.I. estão apresentados na Tabela 3.

TABELA 3 Resumo da análise de desvios tipo 1 por um modelo binomial negativo para a variável número de unidades formadoras de colônias de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. com e sem o tratamento do ar, amostradas antes da sua passagem pelo E.R.I.

Fonte de variação	G.L.	Desvio- <i>Aspergillus</i> spp.	Desvio- <i>Penicillium</i> spp.
Tratamento	1	21,40**	15,58**
Época	8	34,52**	39,66**
Trat. x Época	8	42,51**	54,75**
Resíduo	18	21,5485	26,9420

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste  $\chi^2$ .

Como os valores dos desvios residuais (21,5485 e 26,9420) foram inferiores ao quantil superior da distribuição de qui-quadrado com 18 graus de liberdade (28,9) ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 3), verificou-se que os dados seguem o modelo binomial negativo.

Observa-se na Tabela 3 que o número de UFC de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. foi significativamente ( $P < 0,01$ ) inferior nas amostragens realizadas na presença do E.R.I., indicando diferença estatística entre os tratamentos analisados.

Os valores médios da contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. amostrados após a passagem do ar pelos E.R.I. são apresentados nas Tabelas 4 e 5.

Nas amostragens realizadas após a passagem do ar pelos E.R.I., o número de UFC de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. aumentou significativamente ao longo do tempo em ambos os tratamentos. Entretanto, verificou-se uma redução significativa ( $P < 0,05$ ) na quantidade de inóculo presente no ar nas caixas com os E.R.I. (Tabelas 4 e 5).

TABELA 4 Unidades formadoras de colônias no ar contendo *Aspergillus* spp. amostradas após a passagem do ar pelo E.R.I., ao longo do período de armazenamento, durante as 9 épocas de amostragem.

Tratamentos	Épocas de amostragem (semanas)									Média
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	
Sem E.R.I	1	8	6	29	42	88	163	215	491	115,5a
Com E.R.I	1	11	2	35	29	83	123	122	328	81,5b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey (DMS: 29,07; CV: 42,19).

TABELA 5 Unidades formadoras de colônias no ar contendo *Penicillium* spp. amostradas após a passagem do ar pelo E.R.I., ao longo do período de armazenamento, durante as 9 épocas de amostragem.

Tratamentos	Épocas de amostragem (semanas)									Média
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	
Sem E.R.I	0	27	22	108	160	219	255	198	374	151,4a
Com E.R.I	0	17	2	47	58	147	168	97	236	85,6b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey (DMS: 31,56; CV: 38,04).

Nas Tabelas 6 e 7 estão apresentados os testes de médias entre as UFC de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. amostradas nos dois pontos das caixas sem os E.R.I.

Verificou-se que não foram encontradas diferenças significativas entre os valores de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. amostrados nos dois pontos de coleta das amostras (Tabelas 6 e 7).

TABELA 6 Unidades formadoras de colônias no ar contendo *Aspergillus* spp. amostradas nos dois pontos das caixas sem os E.R.I., ao longo do período de armazenamento, durante as 9 épocas de amostragem.

Tratamentos	Épocas de amostragem (semanas)									Média
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	
Antes	0	10	11	29	59	68	121	212	506	112,6a
Após	1	8	6	29	42	88	163	215	491	115,5a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey (DMS: 32,53; CV: 40,72).

TABELA 7 Unidades formadoras de colônias no ar contendo *Penicillium* spp. amostradas nos dois pontos das caixas sem os E.R.I., ao longo do período de armazenamento, durante as 9 épocas de amostragem.

Tratamentos	Épocas de amostragem (semanas)									Média
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	
Entrada	0	27	15	85	131	171	254	244	380	145a
Saída	0	27	22	108	160	219	255	198	374	151,4a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey (DMS: 25,20; CV: 24,29).

O resumo da análise de desvios para o número de UFC de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. na presença do E.R.I. amostradas antes e após a passagem do ar estão apresentados na Tabela 8.

TABELA 8 Resumo da análise de desvios tipo 1 por um modelo binomial negativo para a variável número de unidades formadoras de colônias de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. na presença do E.R.I. amostradas antes e após a passagem do ar.

Fonte de variação	G.L.	Desvio- <i>Aspergillus</i> spp.	Desvio- <i>Penicillium</i> spp.
Tratamento	1	19,98**	11,79**
Época	8	33,82**	37,93**
Trat. x Época	8	49,19**	40,96**
Resíduo	18	23,8602	20,4596

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste  $\chi^2$ .

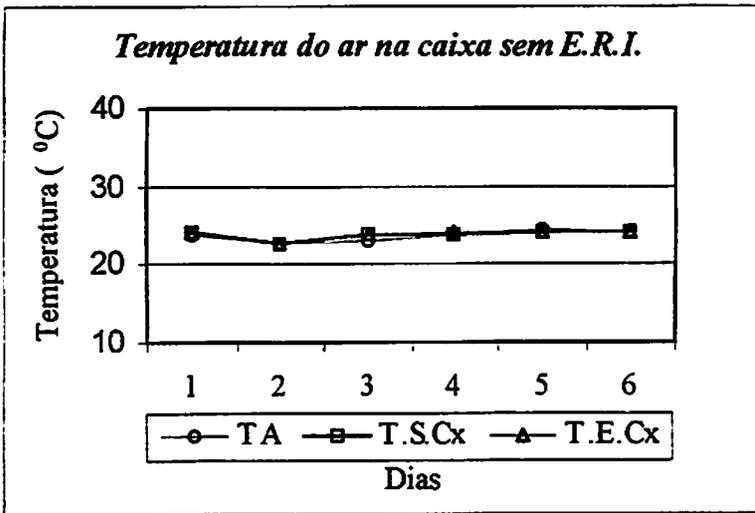
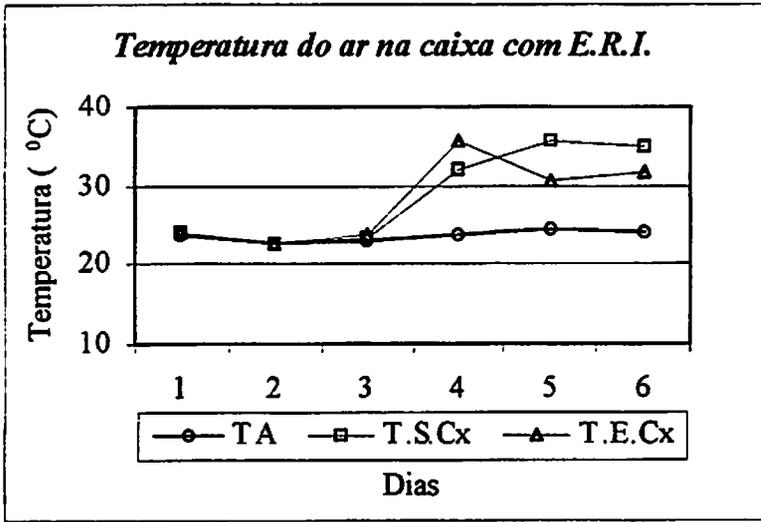
De acordo com a Tabela 8, existe diferença significativamente ( $P < 0,01$ ) entre o número de UFC de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. amostradas antes e após a passagem do ar pelo E.R.I. apresentando valores inferiores na posição de amostragem localizada antes da passagem do ar pelo equipamento.

A princípio, esperava-se que o E.R.I. impedisse o aparecimento de propágulos de fungos na placa de petri localizada após a passagem do ar pelos E.R.I. Entretanto, esta restrição ao desenvolvimento de fungos foi observada em maior intensidade na placa de petri localizada antes da passagem do ar pelos equipamentos. Diante destas observações, as análises foram prolongadas com a realização de testes complementares.

### 4.3.3 Testes complementares

#### 4.3.3.1 Monitoramento da temperatura no interior das caixas com o E.R.I.

Os valores do monitoramento da temperatura do ar no interior das caixas com e sem os E.R.I. são mostrados na Figura 18.



**FIGURA 18** Monitoramento das temperaturas do ar: ambiente (TA); saída da caixa (T.S.Cx); entrada da caixa (T.E.Cx), nas condições diárias após a época 8: 1, 2 e 3 (E.R.I. desligados); 4 (E.R.I. religados); 5 (E.R.I. religados e com fluxo de ar de  $4,4 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{t}^{-1}$ ); 6 (E.R.I. religados e com fluxo de ar de  $6,6 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{t}^{-1}$ ).

As temperaturas do ar na entrada e saída da caixa com os E.R.I. acompanharam a temperatura ambiente nos dias 1, 2 e 3 (E.R.I. desligados). Com os E.R.I. religados (dia 4), ocorreu um aumento das temperaturas do ar no interior da caixa, com a temperatura da entrada sendo superior à saída.

Nos dias 5 e 6, ainda com os E.R.I. religados e aumentando o fluxo de ar no interior do sistema de  $1 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{t}^{-1}$  para 4,4 e 6,6  $\text{m}^3 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{t}^{-1}$ , houve uma inversão nos valores das temperaturas, observando-se valores superiores na saída da caixa. Assim, pode-se observar com o aumento do fluxo de ar um deslocamento da energia radiante emitida pelos E.R.I. da entrada para a saída da caixa. Com a alteração do fluxo e, conseqüentemente da velocidade de ar, ocorreu um aumento na transmissão de energia por convecção, favorecendo o deslocamento da temperatura da entrada para a saída da caixa.

Na caixa sem os E.R.I., as temperaturas do ar no interior do sistema acompanharam as variações da temperatura ambiente como verificado anteriormente durante o período de armazenamento.

#### 4.3.3.2 Unidades formadoras de colônias no ar

Os valores da contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. na atmosfera de armazenamento são apresentadas nas Tabelas 9 e 10.

Verifica-se que com os E.R.I. desligados (1, 2 e 3) ocorreu um aumento das UFC de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. mesmo onde anteriormente não foram encontradas (entrada da caixa com E.R.I.).

Após serem ligados novamente (4), observa-se que na entrada da caixa com os E.R.I. novamente não aparecem UFC, confirmando o efeito do E.R.I. neste local.

Nas amostragens realizadas nos dias 5 e 6, ainda com os E.R.I. religados, porém, com o fluxo de ar maior, nota-se que a ausência de UFC

observado na entrada transferiu-se para a saída da caixa.

Analisando os valores de temperatura e os dados de UFC de fungos no ar, após o aumento do fluxo de ar do sistema, pode-se inferir algumas considerações a respeito do efeito esterilizador do E.R.I. Acredita-se que com um volume de ar protetor pode restringir o aparecimento de inóculos de fungos no seu raio de ação. Esta “bolha de ar” poderia ser deslocada e direcionada em ambientes fechados de acordo com as condições de movimentação de ar. Porém, esta restrição ao desenvolvimento de fungos possui alcance limitado, atingindo pequenas extensões, e exigindo possivelmente um grande número de unidades do E.R.I. para aumentar sua área de ação.

**TABELA 9** Contagem de unidades formadoras de colônias *Aspergillus* spp. antes e após a passagem do ar pelos E.R.I., nas condições diárias após a época 8: 1, 2 e 3 (E.R.I. desligados); 4 (E.R.I. religados); 5 (E.R.I. religados e com fluxo de ar de  $4,4 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{t}^{-1}$ ); 6 (E.R.I. religados e com fluxo de ar de  $6,6 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{t}^{-1}$ ).

Tratamentos	Dias de amostragem					
	1	2	3	4	5	6
Sem E.R.I - Antes	899	770	770	595	1126	1105
Sem E.R.I - Após	808	773	791	553	1234	1318
Com E.R.I - Antes	1233	978	1190	0	103	723
Com E.R.I - Após	893	978	723	468	0	0

**TABELA 10** Contagem de unidades formadoras de colônias *Penicillium* spp. antes e após a passagem do ar pelos E.R.I., nas condições diárias após a época 8: 1, 2 e 3 (E.R.I. desligados); 4 (E.R.I. religados); 5 (E.R.I. religados e com fluxo de ar  $4,4 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{t}^{-1}$ ); 6 (E.R.I. religados e com fluxo de ar  $6,6 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{t}^{-1}$ ).

Tratamentos	Dias de amostragem					
	1	2	3	4	5	6
Sem E.R.I - Antes	226	292	297	149	329	258
Sem E.R.I - Após	166	238	274	372	289	210
Com E.R.I - Antes	106	255	468	0	11	128
Com E.R.I - Após	510	468	298	179	0	0

#### 4. 4 Teor de água das sementes

Os valores do teor de água das sementes são apresentados na Figura 19.

O teor de água das sementes permaneceu em equilíbrio com as condições do ar no interior das estruturas de armazenamento.

A partir da quarta semana de armazenamento, observa-se que o teor de água das sementes no cilindro com a presença dos E.R.I. apresentou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) em relação ao teor de água das sementes sem a presença dos E.R.I. Este fato pode estar associado a uma maior infecção decorrente de microrganismos verificada em elevada intensidade a partir deste período, e com maiores índices de microrganismos encontrados nas sementes com a presença do E.R.I.

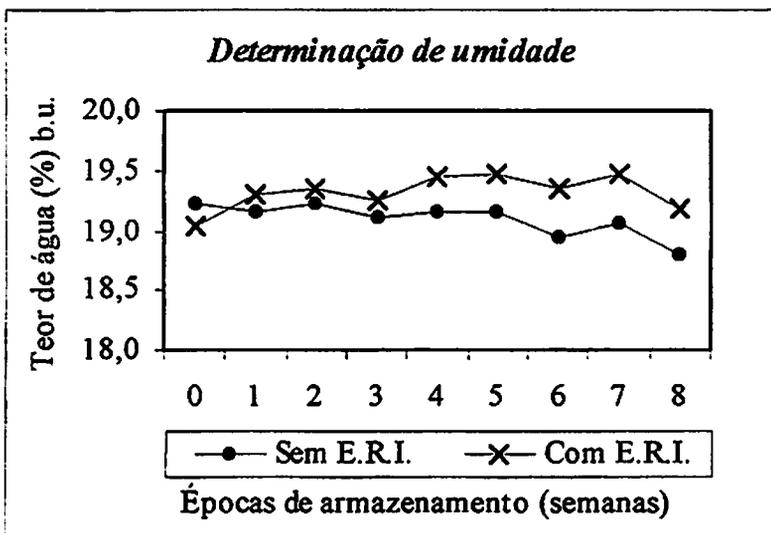


FIGURA 19 Porcentagens dos níveis de umidade das sementes ao longo do período de armazenamento, durante as 9 épocas de amostragem, na presença e ausência dos E.R.I.

#### 4. 5. Teste de sanidade das sementes

O índice de ocorrência (IO) de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. nas sementes armazenadas na presença dos E.R.I. são apresentados na Figura 20.

No início do armazenamento, as sementes recém colhidas já se apresentavam contaminadas por *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp.

Nota-se que o aumento do IO de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp., ao longo das épocas de armazenamento, foi resultado de uma intensa deterioração das sementes que atingiu um nível máximo ao final do experimento.

Além disso, observa-se uma grande semelhança entre as curvas de IO de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp nas duas condições: presença e ausência do E.R.I.

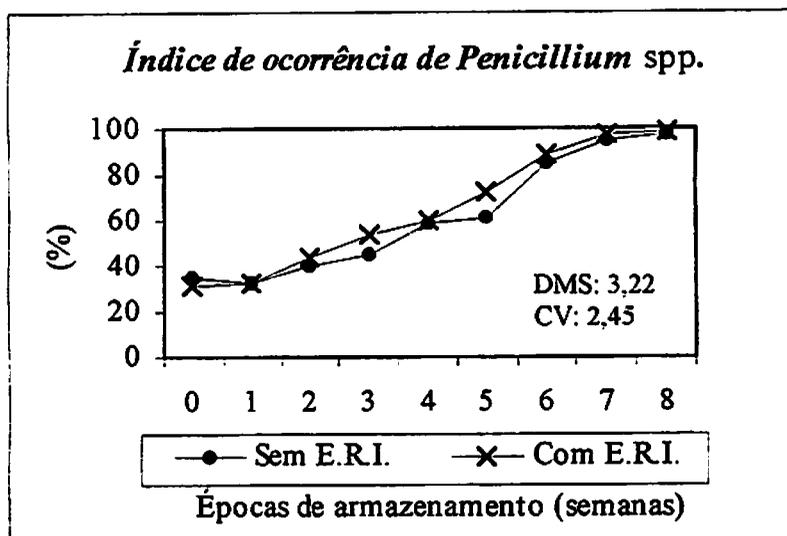
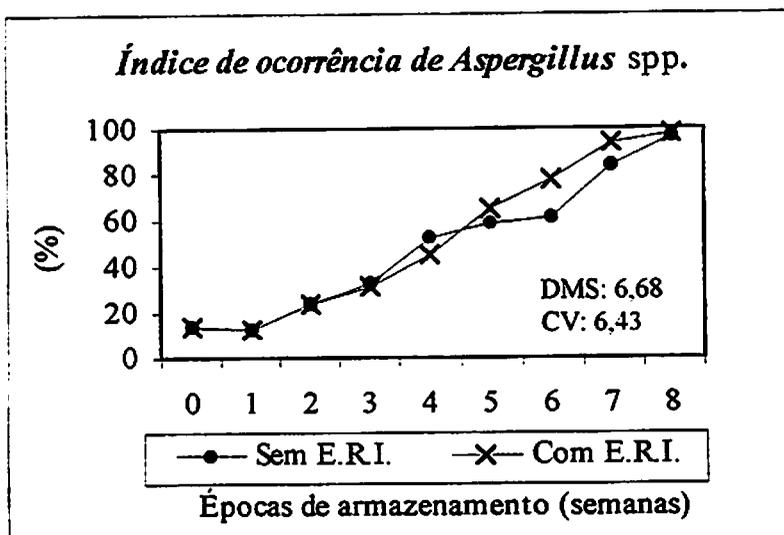


FIGURA 20 Valores médios percentuais do índice de ocorrência de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. nas sementes ao longo das épocas de armazenamento na presença e ausência dos E.R.I.

Observa-se, a partir da época 5, que o valor médio do IO de *Aspergillus* spp. nas sementes com a presença dos E.R.I. (58,33), foi significativamente ( $P < 0,05$ ) menor que na ausência dos E.R.I. (65,24). Entretanto, ao final do período de armazenamento, os valores do IO foram estatisticamente iguais.

A contaminação por *Penicillium* spp. foi significativamente ( $P < 0,05$ ) maior nas sementes com a presença do E.R.I., nas épocas 2, 3, 5 e 6.

Deve-se ressaltar que, em ambos os casos, a semente já apresentava valores elevados do IO de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. ( $IO > 40\%$ ), indicando intenso processo de deterioração.

Os E.R.I. foram incapazes de impedir, ou mesmo diminuir a infecção de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. nas sementes armazenadas em condições favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos, contrapondo-se aos resultados encontrados por Baez (1993) que verificou uma diminuição do número de colônias de fungos nos grãos de milho na presença do equipamento modificador de atmosfera, armazenados em condições controladas de temperatura ( $30^{\circ}\text{C}$ ) e umidade relativa (93%). Porém, neste trabalho, as bandejas contendo o produto foram colocadas próximas ao equipamento modificador de atmosfera em uma única câmara.

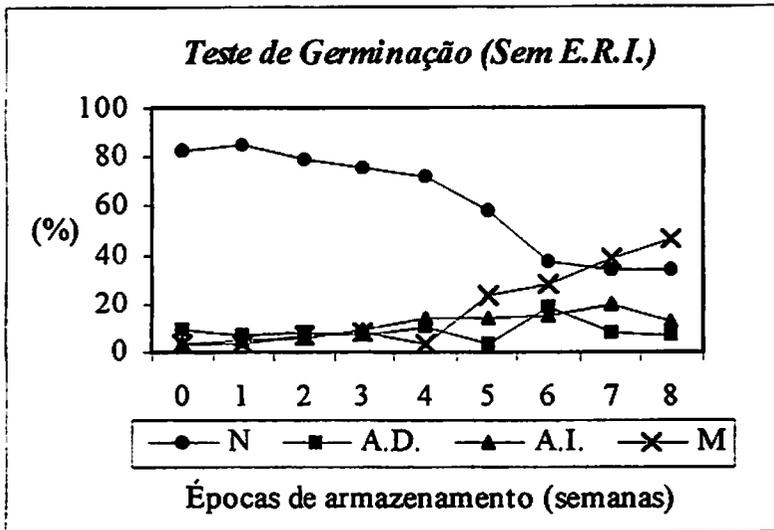
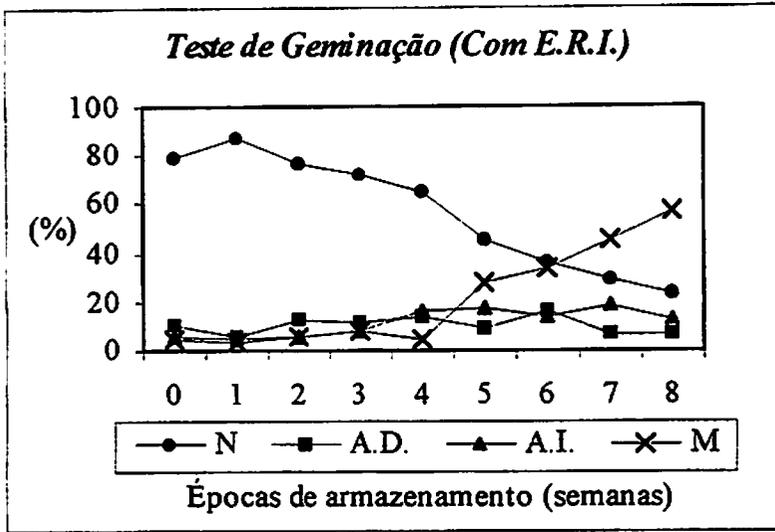
Durante o teste de sanidade das sementes também foram observados outros organismos além dos fungos de armazenamento. Houve o aparecimento ocasional sem quantificação de *Phoma* sp., *Fusarium* sp., *Rhizopus* sp. *Cladosporium* sp. e *Alternaria* sp.

#### 4. 6 Análises fisiológicas

##### 4. 6. 1 Teste de germinação

Os resultados do teste de germinação são mostrados na Figura 21.

Observa-se uma grande semelhança entre os resultados dos dois tratamentos avaliados (com e sem E.R.I.), para o teste de germinação.



**FIGURA 21** Valores médios das porcentagens de plântulas normais (N), anormais deformadas (A.D.), anormais infeccionadas (A.I.) e mortas (M), referentes aos testes de germinação, ao longo do tempo.

Para as condições de armazenamento deste trabalho, era esperada uma redução na germinação das sementes. Observa-se que a presença do E.R.I. não foi capaz de interferir positivamente neste fenômeno.

De acordo com a Tabela 11, a análise estatística demonstrou diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre as médias dos tratamentos apenas para plântulas normais (épocas 5 e 8) e sementes mortas (épocas 7 e 8).

TABELA 11 Resumo das análises de variância para o teste de germinação na presença e ausência dos E.R.I. ao longo das nove épocas de armazenamento.

F.V.	G.L.	Quadrados Médios e Significâncias			
		Normais	Anormal deformada	Anormal infeccionada	Mortas
Tratamento	1	203,0625**	18,7777 <sup>NS</sup>	1,5625 <sup>NS</sup>	75,1111*
Época	8	2.064,4704**	51,8402**	121,6423**	1.381,2569**
Trat.*Época	8	18,4218 <sup>NS</sup>	7,9027 <sup>NS</sup>	3,7500 <sup>NS</sup>	13,9236 <sup>NS</sup>
Resíduo	18	11,2152	8,3611	7,4097	10,2222
C.V. (%)		5,62	29,74	24,05	16,49

<sup>NS</sup> não significativo pelo teste F.

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Ao longo do período de armazenamento, a porcentagem de plântulas normais decresceu contrapondo-se ao aumento das sementes mortas, à medida em que as porcentagens de plântulas anormais mantinham-se praticamente constantes, discordando dos valores encontrados por Borém et al. (2001),

no estudo de sementes de feijão, armazenadas em condições não herméticas, na presença de um equipamento modificador de atmosfera.

Baez (1993), avaliando o armazenamento de milho em condições controladas de temperatura (30<sup>o</sup>C) e umidade relativa (93%) e na presença do equipamento modificador de atmosfera, também verificou diferença nos valores do teste de germinação das sementes, sendo que as porcentagens de plântulas normais e infeccionadas por fungos foram influenciadas pelo equipamento modificador de atmosfera.

Nota-se, na curva de germinação das sementes (plântulas normais), uma sensível queda a partir da época 4 (4<sup>a</sup> semana), coincidindo claramente com o aumento da porcentagem de sementes mortas e com o pequeno acréscimo de plântulas anormais, demonstrando uma crescente e acentuada deterioração das sementes especialmente a partir deste período.

#### 4. 6. 2 Envelhecimento acelerado

Os valores referentes ao teste de envelhecimento acelerado são apresentados na Figura 22.

Assim como no teste de germinação, o valor do vigor das sementes obtido pelo teste de envelhecimento acelerado (Figura 22) reduziu ao longo do tempo de armazenamento. Para Silva (1997), a presença de patógenos, especialmente *Aspergillus* spp., durante o teste de envelhecimento acelerado, interfere negativamente no desempenho das sementes.

A partir da época 5, ocorreu uma diminuição acentuada nos valores de germinação em decorrência, principalmente, do aumento do número de sementes mortas, demonstrando um intenso processo de deterioração. Não foram encontradas diferenças significativas, ao nível de 5% de probabilidade, entre as médias os tratamentos avaliados pelo teste F.

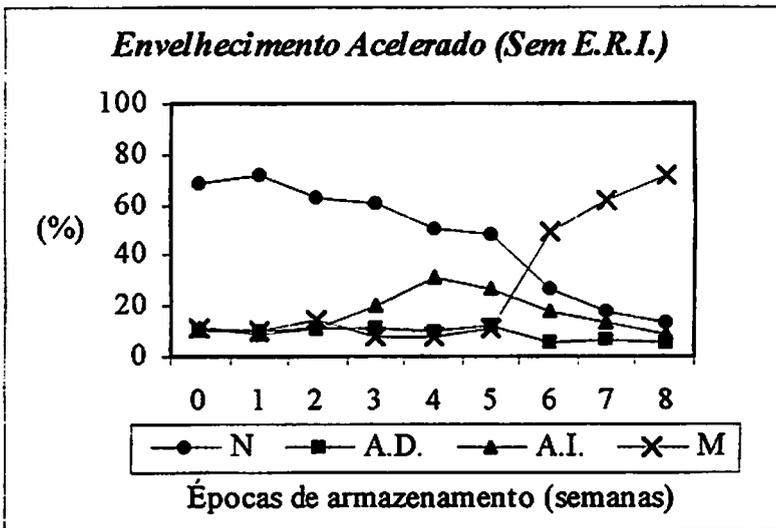
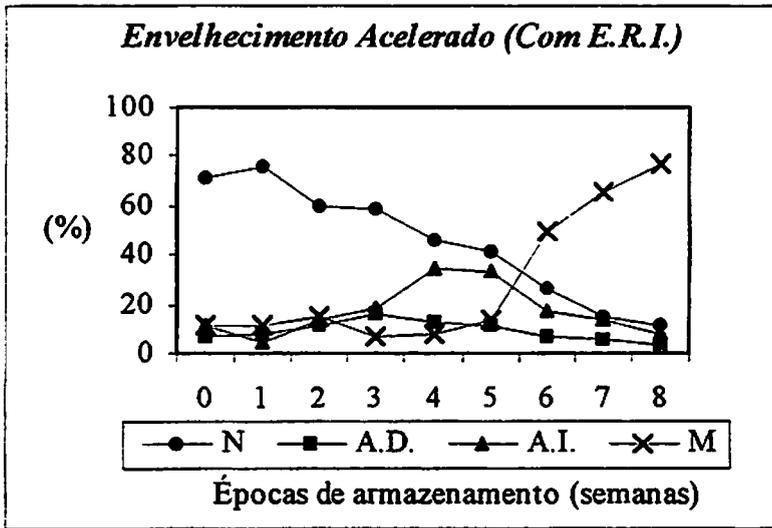


FIGURA 22 Valores médios das porcentagens de plântulas normais (N), anormais deformadas (A.D.), anormais infeccionadas (A.I.) e mortas (M), referentes aos testes de envelhecimento acelerado, ao longo das épocas de armazenamento.

#### 4. 6. 3 Teste de tetrazólio

Os resultados de teste de tetrazólio nas sementes armazenadas na presença e ausência dos E.R.I. estão apresentados na Figura 23.

De acordo com os valores do teste de tetrazólio (Figura 23), nota-se semelhança entre os dois tratamentos avaliados sem diferença significativa.

Similar aos resultados dos testes de germinação e envelhecimento acelerado, pode-se verificar no teste de tetrazólio um decréscimo acentuado nas porcentagens de sementes vigorosas ao longo do período, em contrapartida com a elevação das sementes inviáveis.

As porcentagens de sementes viáveis mantiveram-se praticamente constantes até a terceira e quarta semanas, demonstrando pequenos acréscimos a partir destas épocas. Vale ressaltar que tais variações ocorreram também, principalmente a partir da quarta semana.

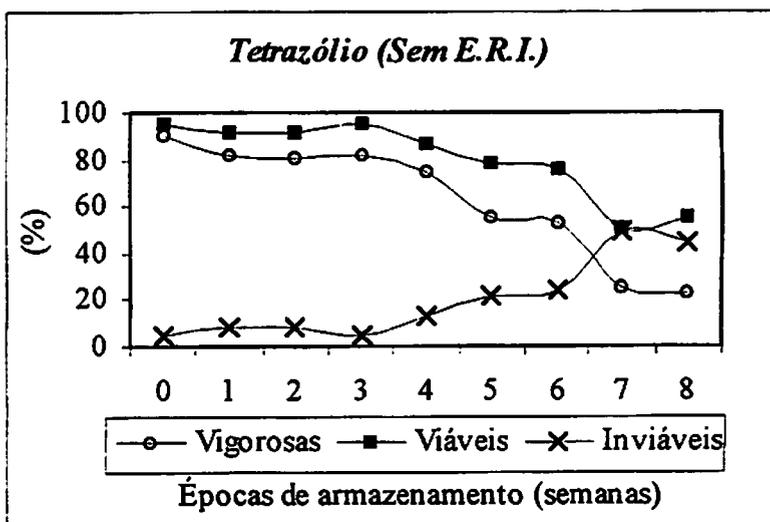
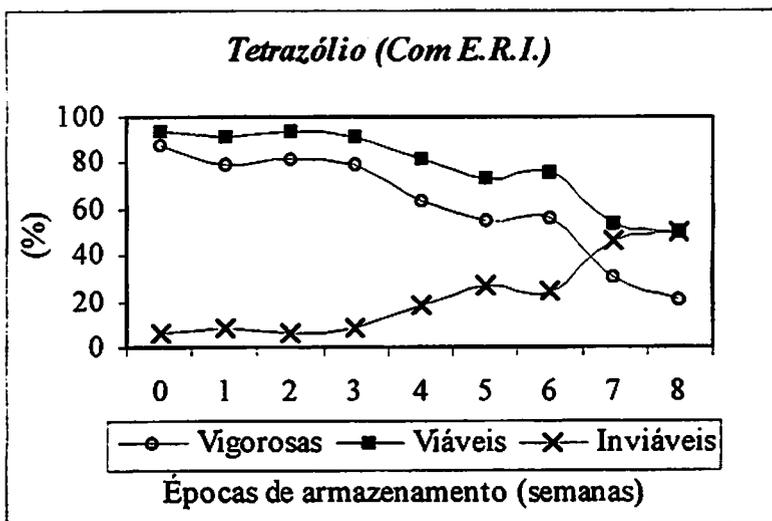


FIGURA 23 Valores médios das porcentagens de sementes vigorosas, viáveis e inviables, referentes ao teste de tetrazólio.

#### 4. 6. 4 Teste de emergência em bandejas

As porcentagens das sementes emergidas armazenadas na presença e ausência dos E.R.I. estão apresentadas na Figura 24.

O teste de emergência em bandejas (Figura 24) igualmente aos testes anteriores, apresentou redução de seus valores ao longo do período de armazenamento, para ambos os tratamentos analisados.

Também a partir da época 4 ocorreu uma queda brusca nos valores de plântulas emergidas, ratificando a elevada degradação das sementes observada a partir desta época, ocasionada pela intensa infecção por fungos nas sementes, que foi acelerada, principalmente pelas condições de temperatura e umidade relativa favoráveis ao seu desenvolvimento.

Pelo teste de F, ao nível de 5% de probabilidade, não houve diferenças significativas entre os tratamentos avaliados em relação ao teste de emergência em bandejas.

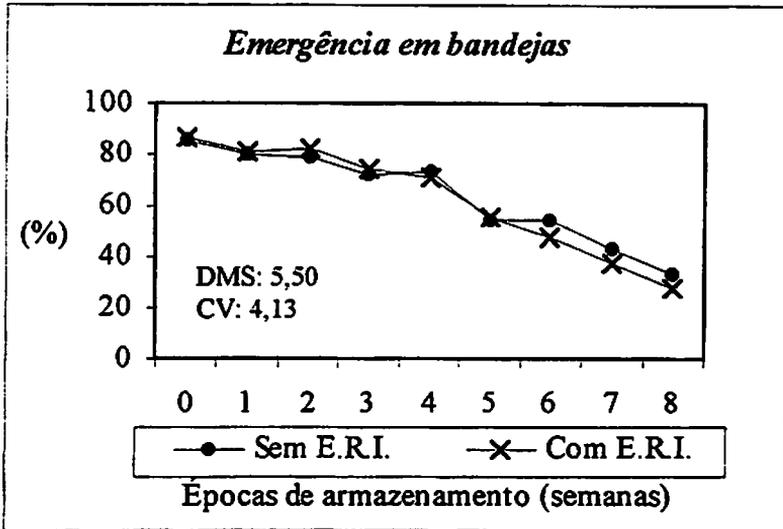


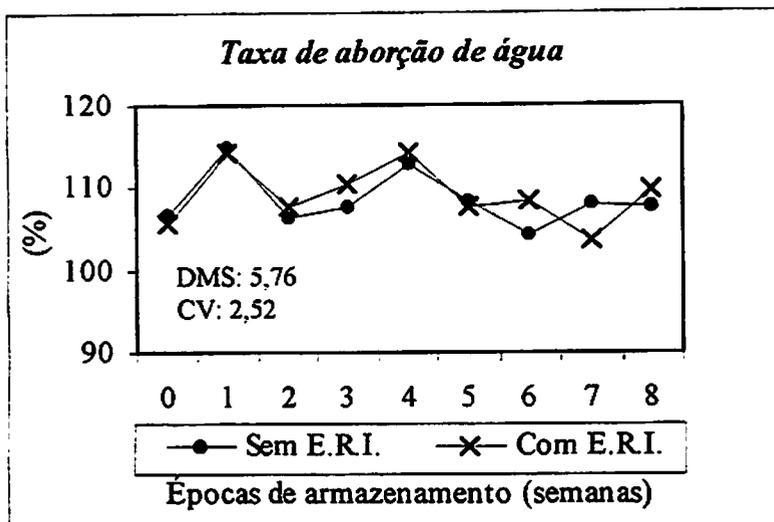
FIGURA 24 Valores médios das porcentagens de plântulas emergidas referentes ao teste de emergência em bandejas.

#### 4. 7 Análises tecnológicas

##### 4. 7. 1 Taxa de absorção de água

Os valores médios da taxa de absorção de água para os dois tratamentos avaliados estão apresentados na Figura 25.

De acordo com o teste F ao nível de 5% de probabilidade não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos. Os menores valores de hidratação foram observados a partir da época 5, demonstrando que, no final do período de armazenamento, o produto apresentava maiores dificuldades em absorver água.



**FIGURA 25** Valores médios das percentagens de absorção de água nas sementes de feijão ao longo das épocas de armazenamento na presença e ausência do equipamento redutor de inóculos.

#### 4.7.2 Tempo de cocção

Os valores do tempo de cocção do feijão, ao longo do período de armazenamento, são apresentados na Figura 26.

Observa-se que a partir da época 3 o tempo de cocção das sementes armazenadas no sistema com a presença do E.R.I. foi significativamente superior (Figura 26).

A amostra inicial de produto (época zero) apresentou um tempo de cozimento médio de 41 minutos. Este valor está coerente ao encontrado por Tomé et al. (2000) analisando grãos de feijão da mesma cultivar Pérola cujo valor médio foi de 42,45 minutos.

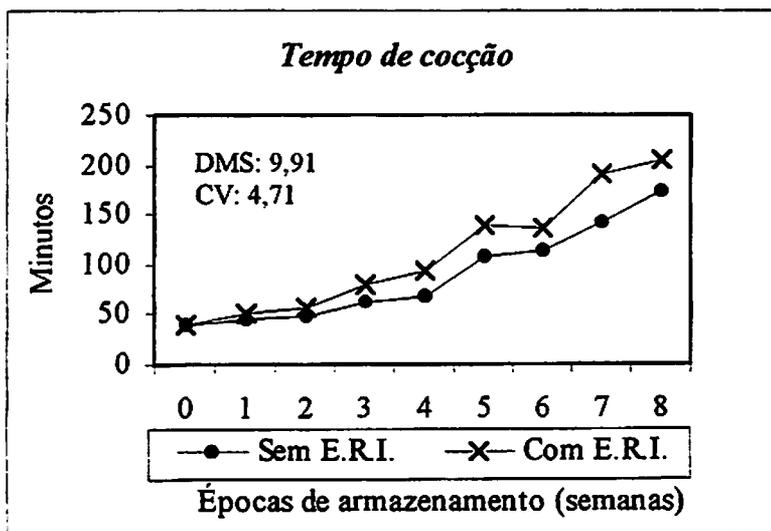


FIGURA 26 Valores médios do tempo de cocção, em minutos, nos grãos de feijão ao longo das épocas de armazenamento na presença e ausência do E.R.I.

Guevara (1990) afirma que o aumento do tempo de cocção está associado com a capacidade de absorção de água. No entanto, no presente trabalho, não foi possível correlacionar o aumento do tempo de cocção com a taxa de absorção de água.

#### 4. 7. 3 Cor do tegumento

Na Figura 27 são apresentadas as variações na coloração do tegumento dos grãos ao longo do tempo na presença e ausência dos E.R.I.

A cor inicial do tegumento dos grãos foi alterada ao longo do tempo de armazenamento, conforme Figura 27. Houve um escurecimento gradativo do tegumento mesmo na presença do E.R.I. e nas condições de hermeticidade do sistema.

O aumento dos níveis de  $\text{CO}_2$  provocado pela respiração do produto e dos microrganismos e pela oxidação de compostos orgânicos provocada pelo funcionamento do E.R.I. não foram suficientes para impedir o escurecimento dos grãos. Segundo Sartori (1982), este escurecimento ocorre principalmente devido à oxidação enzimática de compostos fenólicos que são catalisados pela polifenoloxidase presente no tegumento dos grãos, influenciado pela presença de oxigênio e pela temperatura.

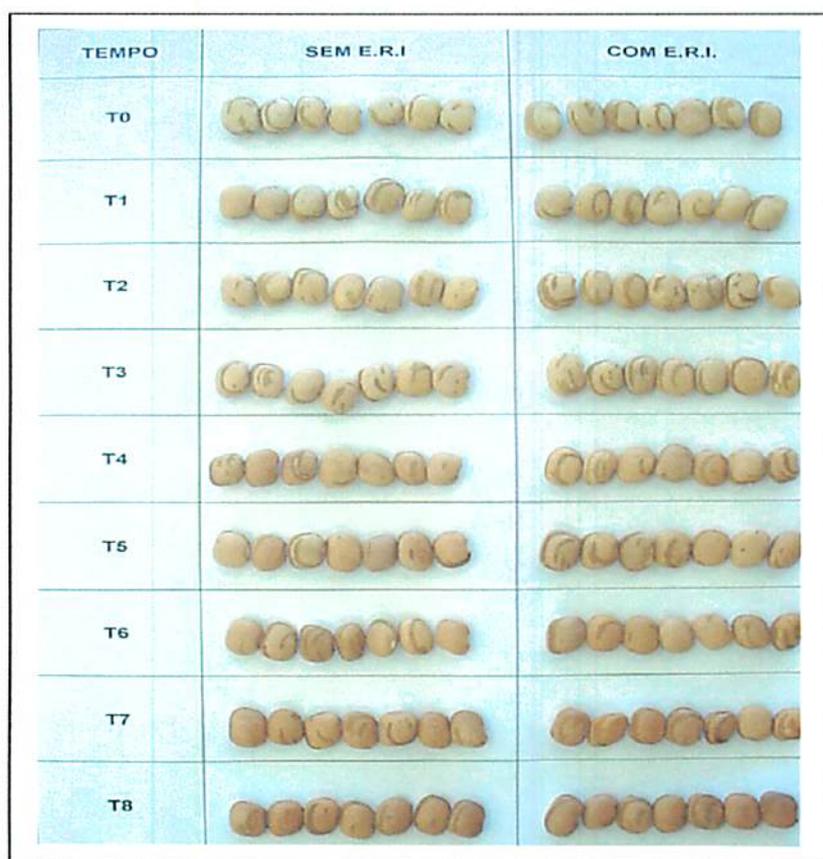


FIGURA 27 Variações na cor do tegumento dos grãos armazenados na presença e na ausência do E.R.I. ao longo das oito semanas.

Linares et al (1993) relatam que o equipamento modificador de atmosfera não provocou nenhuma alteração aparente da cor nos grãos de feijão armazenados durante três meses em um protótipo de silo. Entretanto, Borém et al. (2001), em testes realizados durante o armazenamento de feijão cariquinho na presença do equipamento modificador de atmosfera, verificaram o escurecimento do tegumento dos grãos. Em ambos trabalhos, as condições de temperatura e umidade relativa não foram controladas e o sistema não foi hermeticamente isolado proporcionando, desta forma, trocas gasosas com o ambiente externo.

## 5 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o trabalho, conclui-se que:

- O equipamento redutor de inóculo é eficiente no controle de inóculo de fungos presentes no ar, sendo que seu efeito pode ser deslocado com a alteração do fluxo de ar utilizado no sistema.
- A presença do equipamento redutor de inóculo resulta em um acréscimo no nível de CO<sub>2</sub> em aproximadamente um ponto percentual.
- O equipamento redutor de inóculo é incapaz de controlar os fungos de armazenamento, *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. pré-existentes nas sementes.
- O equipamento redutor de inóculo não contribui para a manutenção da qualidade fisiológica das sementes de feijão, acondicionadas hermeticamente à temperatura de 24°C e 87% de umidade relativa, durante oito semanas de armazenamento.
- O equipamento redutor de inóculo aumenta o tempo de cocção dos grãos de feijão, sendo incapaz de conservar a cor original do seu tegumento.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGARWAL, V. K.; SINCLAIR, J. B. **Principles of seed pathology**. Boca Raton: CRC Press, 1987.
- AGRIANUAL 2003 - Anuário da agricultura brasileira. São Paulo: Comércio & Consultoria, 2003. 544 p.
- AGRIOS, C. N. **Plant pathology**. 2. ed. New York: Academic Press, 1988. 703 p.
- AGUIAR, I. B.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993. 350 p.
- ARAI, H. **Eficácia germicida de steril-air: laudo técnico**. Tokyo: Centro Nacional de Bens Culturais de Tokyo, 1989. 7 p.
- ATHIÉ, I. **Conservação de grãos**. Campinas: Fundação Cargill, 1998. 236 p.
- BAEZ, J. E. A. **Efeito de um equipamento modificador de atmosfera na conservação de grãos de milho**. 1993. 51 p. Tese (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- BARRA, T. S.; HARA, T.; CORRÊA, P. C.; CECON, P. R. Blocos cerâmicos com resistência elétrica como equipamento modificador de atmosfera no controle de insetos da espécie *Sitophilus* sp. no armazenamento de milho. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. 22, n. 1, p. 43-48, 1997.
- BHÉRING, M.C.; SILVA, R.F.; ALVARENGA, E.M., DIAS, D.C.F.S.; PENA, M.F. **Avaliação da viabilidade e do vigor das sementes de feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) pelo teste de tetrazólio**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1996. 27p.
- BORÉM, F. M. **Estudo de um equipamento modificador de atmosfera e seu efeito na qualidade e no armazenamento de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 1998. 84 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Campos dos Goytacazes,

- BORÉM, F. M.; HARA, T.; SILVA, R. F. Alterações químicas e físicas provocadas no ar de armazenamento por um equipamento modificador de atmosfera. *Revista Brasileira de Armazenamento*, Viçosa, v. 23, n. 1, p. 16-27, 1998.
- BORÉM, F. M.; SILVA, R. F.; HARA, T.; MACHADO, J. C. Ocorrência de fungos no ar e em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) armazenadas em ambientes com equipamento modificador da atmosfera. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 24, n. 01, p. 195-202, jan./mar. 2000.
- BORÉM, F. M.; HARA, T.; SILVA, R. F.; TEIXEIRA, V. H. Qualidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) armazenadas com um equipamento modificador de atmosfera. *Revista Brasileira de Armazenamento*, Viçosa, v. 26, n. 1, p. 16-27, 2001a.
- BORÉM, F. M.; SILVA, R. F.; HARA, T.; MACHADO, J. C. Efeito de um equipamento modificador de atmosfera no estabelecimento de fungos em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em ambientes de elevada temperatura e umidade relativa. *Revista Brasileira de produtos Agroindustriais*, Campina Grande, v. 03, n. 01, p. 13-20, jan./abr. 2001b.
- BRACKMANN, A.; NEUWALD, D. A.; RIBEIRO, N. D.; MEDEIROS, E. A. A. Condição de armazenamento de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) do grupo carioca "FT Bonito". *Revista Brasileira de Armazenamento*, Viçosa, v. 27, n. 1, p. 16-20, 2002.
- BRAGANTINI, C. Produção de sementes. In: ARAÚJO, R. S.; AGUSTIN RAVA, C.; STONE, L. F. ZIMMERMANN, M. J. O. *Cultura do feijoeiro comum no Brasil*. Piracicaba: Potafos, 1996. Sc. 4, p. 639-667.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de defesa Agropecuária. *Regras para análise de sementes*. Brasília, 1992. 365 p.
- BURR, K. H.; KON, S.; MORRIS, H. J. Cooking rates of dry beans as influenced by moisture content, temperature and time of storage. *Food Technology*, Chicago, v. 22, n. 3, p. 336-338, Mar. 1968.
- CARVALHO, M. L. M.; VON PINHO, E. V. R. *Armazenamento de sementes*. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 67 p. Curso de Pós-Graduação "Lato Sensu" (Especialização) a Distância: Produção e Tecnologia de Sementes).

CHRISTENSEN, C. M.; KAUFMANN, H. H. **Grain storage: the role of fungi in quality loss.** Minneapolis: University of Minnesota Press, 1969. 153 p.

CHRISTENSEN, C. M.; KAUFMANN, H. H. Microflora. In: CHRISTENSEN, C. M. (Ed.). **Storage of cereal grains and their products.** St. Paul: American Association of Cereal Chemists, 1974. p. 158-193.

COELHO, C. M. M. **Caracterização genética de dois acessos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) com ênfase na qualidade pós-colheita.** 1998. 105 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

CORDEIRO, G. M. **Modelos lineares generalizados.** VII SINAPE. Campinas - SP, 1986. 286 p.

COSTA, G. R.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Variabilidade para a absorção de água nos grãos de feijão do germoplasma da UFLA. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 4, p. 1017-1021, out./dez. 2001.

DHINGRA, O. D. Prejuízos causados por microorganismos durante o armazenamento de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 7, n. 1, p. 139-145, 1985.

DUARTE, M. S. L. **Efeito do tegumento e do caldo de cocção do feijão na qualidade protéica.** 1995. 52 p. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

FERNANDES, G. M. B.; FILHO, B. F. S. **Armazenamento de sementes de feijão na pequena propriedade.** Rio de Janeiro: PESAGRO, 2001. 5 p.

FERREIRA, D. F. **Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0.** REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

GUEVARA, L. L. V. **Avaliação sensorial e inativação de lipoxigenase em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) armazenados em condições ambientais.** 1990. 132 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

HARA, T.; BAGGIO, D.; FIORENZANO, JR. A.; SERÓDIO, R. S.; ABREU, J. M.; RIBEIRO, N. C. A. Armazenamento de cacau comercial em contêiner equipado com esterilizador de ar termo-iônico. In: CONVENÇÃO NACIONAL DA ABRAPÓS, 2., 1990, Curitiba. Anais... Curitiba: ABRAPÓS, 1990. v. 4, 31 p. 1990. Boletim Brasileiro de Pós-colheita. (Edição especial).

HARA, T. Oxidation process offers different approach to storage. *World Grain*, Kansas City, v. 9, n. 1, p. 19-21, Jan./Feb. 1991.

HINCKS, M. J.; STANLEY, D. W. Lignification: evidence for a role in hard-to-cook beans. *Journal of Food Biochemistry*, Trumbull, v. 11, n. 1, p. 41-58, Mar. 1987.

IBARRA-PÉREZ, F. J.; CASTILHO ROSALES, A.; CUELLAR EVENOR, I. Threshing effect on cooking time in commercial beans cultivars from the semiarid highlands of Mexico. *Bean Improvement Cooperative*, Fort Collins, v. 39, p. 264-265, Feb. 1996.

JUSTICE, O. L.; BASS, L. N. *Principles and practices of seed storage*. London: Castle House, 1979. 289 p.

LIMA, E. F.; VIEIRA, R. M.; CARVALHO, J. M. F. C. Influência de *Rhizopus* sp., *Aspergillus niger* e *A. flavus* na deterioração de sementes de algodoeiro armazenadas. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 9, n. 3, p. 555-560, out. 1984.

LINARES, A. W.; GEDANKEN, A.; HARA, T. Armazenagem de feijão carioquinha em protótipo de silo com sistema modificador de atmosfera "biokontrol". In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 2., 1993, Ilhéus, BA. Anais... Ilhéus: SBEA, 1993. p. 1158-1164.

MACHADO, J. C. *Tratamento de sementes no controle de doenças*. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000. 138 p.

MARCOS FILHO, J. Testes de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J de B. (Ed.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES, 1999. p. 1-21.

NEERGAARD, P. *Seed pathology*. London: McMillan Press, 1977. 2 v.

NOVEMBRE, A. D. L. C. Tratamento fungicida e conservação de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). 1987. 147 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

POPINIGIS, F. Fisiologia da semente. 2. ed. Brasília: Agiplan, 1985. 289 p.

RIOS, A. O. Avaliação da época de colheita e do armazenamento no escurecimento e digestibilidade de três cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). 2000. 59 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SANTOS, D. S. Viabilização da atmosfera modificada pelo CO<sub>2</sub> na manutenção da qualidade do milho (*Zea Mays* L.) durante o armazenamento. 1995. 72 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SARTORI, M. R. Technological quality of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) stored under nitrogen. 1982. Dissertation (Ph. D.) - Kansas state University. Department of Grain Scient and Industry, Manhattan.

SGARBIERI, V. C. Alimentação e nutrição – fator de saúde e desenvolvimento. Campinas: UNICAMP, 1987. 387 p.

SILVA, M. A. D. da. Envelhecimento artificial: comportamento fisiológico das sementes do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e suas relações com a presença de microorganismos. 1997. 61 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

SILVA, J. S.; LACERDA FILHO, A. F.; DEVILLA, I. A. Aeração de grãos armazenados. In: SILVA, J. S. (Ed.). Secagem e armazenagem de produtos agrícolas. Viçosa: Aprenda Fácil, 2000. cap. 11, p. 261-277.

TANAKA, M. A. S.; CORRÊA, M. U. Influência da *Aspergillus* e *Penicillium* no armazenamento de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 6, n. 3, p. 451-456, out. 1981.

TOMÉ, P. H. F.; SANTOS, J. P.; CABRAL, L. C.; CHANDRA, P. K.; GONÇALVES, R. A. Uso da atmosfera controlada pelo CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub> na preservação das qualidades tecnológicas do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) durante o armazenamento. *Revista Brasileira de Armazenamento*, Viçosa, v. 25, p. 16-22, 2000.

UDAETA, J. E. M.; LAJOLO, F. M. Compostos fenólicos e sua relação com o endurecimento de feijões (*Phaseolus vulgaris* L.) em diferentes condições de armazenamento. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 2., 1997, Campinas: FEA/UNICAMP, 1997. p. 95.

WEIDENBORNER, M.; HINDORF, H.; WELTZIEN, H. C. An effective treatment of legume seeds with flavonoids and isoflavonoids against storage fungi of the genus *Aspergillus*. *Seed Science & Technology*, Zurich, v. 20, p. 447- 463, 1992.

WEIDENBORNER, M.; JHA, H. C. Antifungal activity of flavonoids and their mixtures against different fungi occurring on grain. *Pesticide Science*, Oxford, v. 38, p. 347 - 351, 1993.

WETZEL, M. M. V. S. Fungos de armazenamento. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. S. (Ed.). *Patologia de sementes*. Campinas: Fundação Cargill, 1987. cap. 9, p. 260-275.

WHITE, D. G.; COATES, S. T. Effect of postharvest application of P-7 grain preservative on storage fungi of corn during ambient air-drying and storage. *Applied Engineering in Agriculture*, v. 13, n. 6, p. 757-762, 1997.

WILCKE, M. E. Storage life of shelled corn treated with a fungicide. *Transactions of the ASAE*, San José, v. 36, n. 6, p. 1847-1854, 1993.