

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS FRANCISCO BELTRÃO
COORDENAÇÃO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS
CURSO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

BIANCA REBONATTO
POLIANA CITTADIM

**PROCESSO DE ARMAZENAMENTO DO MILHO EM SILO A
GRANEL EM COOPERATIVA DE FRANCISCO BELTRÃO – PR**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

FRANCISCO BELTRÃO

2014

BIANCA REBONATTO

POLIANA CITTADIM

**PROCESSO DE ARMAZENAMENTO DO MILHO EM SILO A
GRANEL EM UMA COOPERATIVA NO MUNICÍPIO DE
FRANCISCO BELTRÃO – PR**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado ao Curso Superior de Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Hernan Vielmo

Co-orientadora: Prof. Dr^a Elisabete Hiromi Hashimoto

FRANCISCO BELTRÃO
2014

FOLHA DE APROVAÇÃO

PROCESSO DE ARMAZENAMENTO DO MILHO EM SILO A GRANEL EM UMA COOPERATIVA NO MUNICÍPIO DE FRANCISCO BELTRÃO – PR

Por

Bianca Rebonatto, Poliana Cittadim

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos, no Curso Superior de Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

BANCA AVALIADORA

Prof^a. *Dra.* Elisabete Hiromi Hashimoto
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

Prof. *Dra.* Ellen Porto Pinto
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

Prof. *Dr.* Hernan Vielmo
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR
(Orientador)

Prof. *Dra.* Cleusa Ines Weber
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR
(Coordenador do curso)

Francisco Beltrão, fevereiro de 2014.

“A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso.”

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaríamos de agradecer a Deus, por guiar nossos passos, nos dando forças para seguir em frente e colocando em nosso caminho pessoas e oportunidades maravilhosas.

Aos nossos pais, irmãs e cunhados, que sempre nos incentivaram, acreditando em nós e nos apoiando em todos os momentos difíceis, não medindo esforços para que os nossos objetivos sejam alcançados. Aos namorados por estarem ao nosso lado nos dando força e não deixando-nos desistir.

Agradecemos ao nosso orientador, professor Hernan Vielmo pela dedicação, por acreditar e incentivar nosso trabalho nos auxiliando durante todo o tempo, fazendo parte de nossas vidas disposto a nos ajudar sem medir esforços. A co-orientadora, professora Elisabete Hiromi Hashimoto por toda sua disponibilidade e atenção mesmo entre sua rotina de mãe, sempre nos ajudando e acompanhando.

Agradecemos aos colegas de laboratório Naara, Caroline, Michel e Ronaldo por terem nos auxiliado durante todo o período de análises. De forma geral agradecemos a todos que direta ou indiretamente fizeram parte dessa etapa de nossas vidas: a Universidade, os professores, os colegas de sala, trabalho e os demais amigos.

Agradecemos imensamente à cooperativa que cedeu as amostras e seu espaço para o estudo. Ao gerente da unidade Cléverson Penso, por ter acreditado no projeto nos incentivando e ajudando. Ao Hilario Rebonatto encarregado de armazém, por ter nos ajudado com a coleta das amostras e ter nos passado seu conhecimento prático sobre armazenagem de grãos. Ao Jocemar Carpenedo, supervisor e responsável por toda parte de armazenagem das unidades da cooperativa, pela sua disponibilidade de materiais e seus conhecimentos repassados.

*“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades,
lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram
conquistadas do que parecia impossível.” (Charles
Chaplin)*

RESUMO

REBONATTO, Bianca.; CITTADIM, Poliana. **Processo de armazenamento do milho em silo a granel em uma cooperativa no município de Francisco Beltrão – PR.** 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Francisco Beltrão.

O milho é o terceiro cereal mais produzido do mundo, com potencial de ser cultivado em praticamente todas as regiões do mundo. De extrema importância para a economia, destinado um percentual dessa produção para a exportação e o consumo interno, para alimentação animal (como ração), silagem ou consumo humano. No entanto, o grão é suscetível a transformações na lavoura e, principalmente, durante seu período de armazenamento. Na armazenagem o grão está sujeito a ataques de insetos, roedores e fungos micotoxigênicos, além de alterações físicas e químicas, como perda de proteínas, valor energético e água. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade físico-química, microbiológica e de aflatoxina B1 em milho armazenado em silo a granel, safra 2012/2013, em uma cooperativa de Francisco Beltrão/PR. As amostras foram coletadas, após o enchimento do silo, sendo seis amostras em diferentes alturas, para caracterizar o milho armazenado e sete amostras (uma por mês) durante o período de armazenamento. Foram realizadas análises físico-químicas, análise microbiológica, análise de micotoxinas e o monitoramento dos fatores temperatura e umidade relativa (UR%) dentro do silo durante o período de armazenamento. Os resultados obtidos pelas análises demonstraram que o processo de armazenamento do produto foi eficiente sendo que os resultados de proteína bruta e lipídios mantiveram-se constantes (variando de 7,47 % e 5,06%, no início e de 7,24-8,74% e 4,24-5,69% ao longo da armazenagem, respectivamente). Os principais gêneros de fungos detectados foram *Penicillium*, *Fusarium* (nd a $3,3 \times 10^4$ UFC/g no início e até $2,6 \times 10^5$ UFC/g ao longo da armazenagem) e *Aspergillus* spp ($1,0 \times 10^3$ a $2,6 \times 10^5$ UFC/g no início e até $1,9 \times 10^5$ UFC/g ao longo da armazenagem). Detectou-se presença de micotoxinas (aflatoxina B1) abaixo do limite de quantificação do método analisado, e a temperatura e umidade relativa do silo se mantiveram em equilíbrio, sendo que a temperatura variou de 11 a 21° C e a UR de 52 a 68%, não causando danos aos grãos durante todo o período de armazenagem.

Palavras-chave: Milho. Armazenagem. Micotoxinas. Análise físico-química.

ABSTRACT

REBONATTO, Bianca; CITTADIM, Poliana. **Process of corn grains in a silo bulk at a cooperative in the city of Francisco Beltrao – PR. 2014.** Course Completion Project (Food Technology). Federal Technological University of Parana. Francisco Beltrao.

Corn is the world's third most produced cereal, with potential to be cultivated in practically all regions of the world. Extremely important for the economy, a percentage of that production is destined to export and domestic consumption, animal feed (as feed), silage or human consumption. However, the grain is susceptible to changes during farming and especially during the storage. During storage, the grain is subject to insect, rodent and mycotoxigenic fungi attacks, as well as physico-chemical changes such as loss of protein, energy value and water. The present study aimed to evaluate the physico-chemical, microbiological and aflatoxin B1 qualities of corn grains stored in silo bulk, 2012/2013 crop, at a cooperative in Francisco Beltrao-PR. The samples were collected, after the silo's filling, being six samples at different heights to characterize the stored corn grains and seven samples (one per month) during the storage period. Were performed physico-chemical (moisture, lipid, protein and ash), fungi's microbiological, and mycotoxin analyzes, as well as the monitoring of the temperature and relative humidity (RH%) factors inside the silo during storage. The results obtained by the analysis demonstrated that the process of storing the product was efficient and the results of crude protein and lipids remained constant (ranging from 7.47% to 5.06% at the beginning and 7.24 to 8.74% and 4.24 to 5.69% during storage, respectively). The main genera of fungi were detected *Penicillium*, *Fusarium* (nd 3,3 x10⁴ CFU / g at baseline and up to 2.6 x10⁵ CFU / g during storage) and *Aspergillus* spp (1.0 x10³ a 2,6 x10⁵ CFU / g at the beginning and up to 1.9 x10⁵ CFU / g during storage). We detected the presence of mycotoxins (aflatoxin B1) below the quantification limit of the method analyzed, and the temperature and humidity of the silo remained in equilibrium, and the temperature ranged from 11 to 21 ° C and RH 52-68%, not causing damage to the grains during the storage period.

Key Words: Corn. Storage. Mycotoxins. Physico-Chemical Analysis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	11
2.1 Objetivos específicos	11
3 REVISÃO DA LITERATURA	12
3.1 História do milho	12
3.1.1 <i>Milho na América</i>	12
3.2 Produção	13
3.3 Características físico-químicas	14
3.4 Armazenagem de grãos	15
3.4.1 <i>Classificação dos grãos</i>	16
3.4.2 <i>Limpeza dos grãos armazenados</i>	18
3.4.3 <i>Secagem</i>	19
3.4.4 <i>Armazenagem em silos a granel</i>	22
3.5 Pragas na armazenagem	24
3.6 Fungos	26
3.7 Micotoxinas	27
3.7.1 <i>Aflatoxinas</i>	29
4 METODOLOGIA	31
4.1 Amostras de milho	32
4.1.1 <i>Preparo da amostra para análise</i>	32
4.2 Análise físico-química	33
4.2.1 <i>Secagem direta em estufa a 105°C</i>	33
4.2.2 <i>Cinzas totais</i>	33
4.2.3 <i>Lipídios ou extrato etéreo – Extração direta em Soxhlet</i>	34
4.2.4 <i>Determinação de proteínas – Método Kjeldahl</i>	35
4.3 Análise microbiológica	35
4.3.1 <i>Método de contagem dos principais bolores isolados do milho</i>	35
4.4. Análise de aflatoxina	36
4.4.1 <i>Determinação de aflatoxina B1 em milho por Cromatografia em Camada Delgada – CCD</i>	36
4.4.2 <i>Extração de aflatoxina</i>	36
4.4.3 <i>Análise de aflatoxina B1</i>	38
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39

5.1 Análise microbiológica	39
5.2 Análise aflatoxina B1 (AFB1)	42
5.4 Temperatura e umidade relativa – UR	50
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	55
REFERÊNCIAS	56

1 INTRODUÇÃO

De acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), o milho é o terceiro cereal mais produzido no mundo, estando sua produção média nos últimos cinco anos em 833,56 milhões de toneladas. O Brasil ocupa o terceiro lugar produzindo cerca de 72,73 milhões de toneladas do cereal na safra 2011/2012 (SEAB/DERAL, 2012).

O milho possui em sua composição vitaminas A e do complexo B, proteínas, gorduras, carboidratos, cálcio, ferro, fósforo, amido e fibras. (MUSSOLINI, 2009). Utilizado principalmente na alimentação animal, e na alimentação humana, seu consumo ocorre principalmente na forma de seus derivados, como óleo, farinha, amido, margarina, xarope de glicose, dentre outros (LENZ et al; 2011).

Logo após a colheita, os grãos devem ser armazenados em locais apropriados, pois estão sujeitos a transformações. Em cooperativas praticamente todo o armazenamento é feito em silos a granel, os quais devem estar limpos, protegidos da luz, calor e umidade (EMBRAPA, 2004). Os silos devem apresentar ainda um sistema de ventilação, para renovar o ar no interior da massa de grãos, mantendo assim, a temperatura intragranular e a umidade na faixa ideal de conservação, uniformizando a temperatura no interior do silo. Tais procedimentos visam evitar perdas por acúmulo de umidade e aquecimento. No entanto, devido a fatores como a temperatura e umidade, o milho é comumente contaminado por fungos, tanto na pré-colheita, como na pós-colheita, acarretando em perdas e contaminações, com possível ocorrência de produção de micotoxinas (DEMARCHI, 2010).

A presença de micotoxinas em alimentos representa um grave risco aos alimentos e a saúde pública. As aflatoxinas são um grupo de micotoxinas de suma importância em alimentos e rações, tendo como principal substrato para sua produção os cereais, ocasionando prejuízos econômicos, além de problemas à saúde humana e animal.

Propõe-se neste trabalho, avaliar a qualidade físico-química, microbiológica, de aflatoxina B1 e os fatores temperatura e umidade relativa –

UR dentro do silo, em híbridos de milho safra 2012/2013 armazenados em silo a granel de uma cooperativa de Francisco Beltrão-PR.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a qualidade físico-química, microbiológica e a presença de aflatoxina B1 ao longo da armazenagem em silo a granel produzido em Francisco Beltrão/ PR durante a safra 2012/2013.

2.1 Objetivos específicos

- ✓ Determinar o teor de umidade, lipídeos, proteínas e cinzas, no milho armazenado;
- ✓ Realizar análise microbiológica no milho armazenado;
- ✓ Quantificar aflatoxina B1 em amostras de milho armazenado;
- ✓ Monitorar os fatores temperatura e umidade relativa dentro do silo.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 História do milho

O milho vem sendo consumido desde civilizações antigas a cerca de 7.300 anos por povos que viviam em ilhas próximas ao litoral mexicano, como Maias, Astecas e Incas (ARAUJO, 2008). O nome do cereal significa o "sustento da vida" e é considerado um alimento sagrado que traduzia a relação de sobrevivência homem-milho, um alimento de muita utilidade, uma vez que o milho é uma cultura, e, portanto, não se produz, tem que ser plantado, semeado pelas mãos dos homens (URU, 2007).

A domesticação do milho por seleção para produzir maior número de espécies aconteceu inicialmente no sudoeste do México, e posteriormente espalhou-se pelos povos da região da América como Panamá e Estados Unidos (ARAUJO, 2008). Por volta de 1930, intensificaram-se os trabalhos de melhoramento genético, resultando numa maior variabilidade, sendo conhecido o que se chama hoje de milho híbrido, obtido por linhagens promissoras de combinação e cruzamento (URU, 2007).

3.1.1 Milho na América

Aproximadamente 500 anos atrás uma esquadra de caravelas chega ao Brasil, trazendo consigo grandes mudanças e o início da colonização dos povos que habitavam a América do Sul. Cristovão Colombo é considerado o descobridor da América e também do milho, por ser o responsável pela disseminação e ensinamento sobre as diferentes maneiras de utilização culinária do grão (FREITAS, 2011).

“Quando Cristovão Colombo descobriu a América, o milho constituiu-se, dentre os vegetais, a base alimentícia dos indígenas que aqui viviam e era cultivado desde a Argentina até o Canadá. Logo após a descoberta da América, o milho foi levado para Espanha, Portugal, França e Itália, onde era a princípio cultivado em jardins mais como planta exótica e ornamental. Uma vez reconhecido seu valor alimentar, passou a ser cultivado como planta econômica e difundiu-se para o resto da Europa, para Ásia e Norte da África” (CAMPOS, 1973).

À medida que os europeus foram colonizando as Américas, em meados de 1942, já encontraram vários tipos de milho domesticados e cultivados pelos nativos. Com a interação dos povos teve-se acréscimos nas variedades de milho, permitindo melhorias no seu desenvolvimento (ARAUJO, 2008). Existem relatos da existência do cultivo do milho pelos índios antes mesmo da chegada dos portugueses ao Brasil, o cereal era o principal ingrediente na dieta da tribo guarani (URU, 2007 apud FERNANDES 2004, p. 36).

3.2 Produção

Atualmente, estima-se em 175,2 milhões de hectares a área semeada com milho no mundo, resultando em um aumento de aproximadamente 4% em relação ao ano anterior. Os Estados Unidos é o principal produtor, exportador e consumidor mundial de milho representando 36% da produção e 32% do consumo mundial dos últimos cinco anos. Cerca de 50% de sua produção é utilizada para consumo animal e 1/3 é utilizada para produção de etanol (SEAB/DERAL, 2012).

O Brasil ocupa hoje o 3º lugar na produção mundial do milho, representando 7,2% do total produzido no mundo. De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2012), a produção total de milho no Brasil na safra 2011/2012 foi de 72,73 milhões de toneladas, destacando-se a 2º safra, em que houve acréscimo em torno de 23% na área semeada no país. A safra 2011/2012 do cereal obteve valores recordes superando o 58,6 milhões de toneladas obtidos na safra 2007/2008.

A produção de milho no Brasil caracteriza-se pela divisão da produção em duas épocas de plantio. O plantio de verão (primeira safra) realizado na época tradicional, variando do final de agosto na região Sul até os meses de outubro/novembro no Sudoeste e Centro Oeste. Nos últimos anos vem sendo constante o crescimento do milho “safrinha”, principalmente na região centro-oeste e nos estados do Paraná e São Paulo, plantado nos meses de fevereiro ou março, após a colheita precoce da soja (EMBRAPA, 2008).

O Paraná é o líder da produção brasileira, representando 23% da safra 2011/2012. No Paraná, a SEAB possui 22 núcleos regionais, dos quais na 1ª safra de milho o núcleo regional de Ponta Grossa é responsável por 18% da produção paranaense de milho, seguido de Curitiba com 13%, Guarapuava com 10%, Francisco Beltrão com 9% e Pato Branco com 7% do total produzido. Segundo a CONAB, 2012 a maior parte do milho produzido no Paraná, cerca de 10 milhões de toneladas anuais, é consumida no próprio Estado, destinado principalmente à avicultura e suinocultura. Em seguida vem o estado do Mato Grosso, respondendo por 21% da produção total, seguido do estado de Goiás e Minas Gerais, totalizando 12% cada da safra brasileira (SEAB/ DERAL, 2012).

3.3 Características físico-químicas

O milho é um dos cereais que possui maior capacidade de produção, sendo mais eficiente na produção de matéria seca por área (PEIXOTO, 2002). Possui aproximadamente 70 a 73% de amido, 9 a 10% de proteínas, 4 a 5% de óleo, 1 a 2% de cinzas, 2% de açúcares e 9 a 10% de fibras, vitamina A e vitaminas do complexo B, além de minerais como cálcio, ferro e fósforo (MUSSOLINI, 2009 apud JACKSON; SHANDERA, 1995).

Seu consumo é destinado tanto para o consumo humano, podendo ser transformado em óleo, farinha, amido, margarina, xarope de glicose, cereais matinais, corantes, gelatinosos, adesivos, alimentos protéicos como para a alimentação de animais, sendo esse seu principal destino na fabricação de

ração animal, silagem ou consumo direto, correspondendo a 75% da produção nacional. (BRASIL, 2012).

“Os grãos de milho apresentam colorações variáveis, podendo apresentar-se na cor amarela, branca, vermelha e preta. Seu peso individual é de 250 a 300mg e sua composição média em base seca é 72% de amido, 9,5% de proteína, 9% de fibra e 4% de óleo. Conhecido botanicamente como uma cariopse o milho é formado por quatro principais estruturas físicas: endosperma, gérmen, pericarpo (casca) e ponta. O endosperma representa a maior fração do grão (82%) de seu peso seco, o qual é constituído basicamente de amido (88%) e onde se encontram as proteínas de reserva (8%) do tipo prolamina, chamadas de zeínas. O gérmen representa 11% do grão do milho onde se concentra 83% dos lipídios, 78% dos minerais, 26% das proteínas e 70% dos açúcares. O pericarpo representa 5% do grão, sendo a estrutura que protege as outras estruturas do grão da elevada umidade do ambiente, insetos e micro-organismos é rica em fibras (54%) e apresenta como principais componentes: lipídio (1,3%), proteínas (2,6%), minerais (2,9%), amido e açúcares. A ponta representa apenas 2% do grão é composta por amido, lipídios, minerais e açúcares, em pequena porcentagem. As proteínas de reserva, encontradas em maior abundância no grão de milho, são ricas nos aminoácidos metionina e cisteína, mas pobres em lisina e triptofano, as quais são essenciais à nutrição humana e de alguns monogástricos” (PAES 2006 apud SHOTWELLAND LARKINS, 1989).

3.4 Armazenagem de grãos

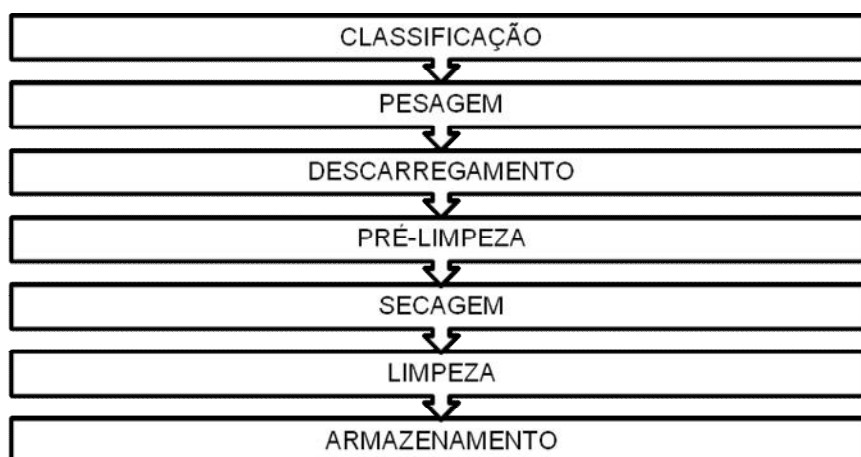
Rodrigues (2007) define armazenagem como a gestão econômica do espaço necessário para manter estoques pertencentes a terceiros, englobando todas as funções de localização, dimensionamento de área, arranjo físico, recuperação do estoque e recuperação de armazém.

Ainda que muitos avanços de pesquisa e tecnologia de pós-colheita tenham ocorrido, a secagem ainda é praticamente o único método utilizado para a conservação de grãos no Brasil e em grande parte do mundo. A capacidade de preservação da qualidade, salubridade e do valor nutritivo dos grãos durante o período de armazenagem não depende exclusivamente das condições de produção e colheita, mas do armazenamento e manutenção das circunstâncias de estocagem do produto (ELIAS, 2003).

As adulterações decorrentes da armazenagem refletem em perdas qualitativas e quantitativas, dessa forma, as quantitativas consideram o

metabolismo dos grãos ou organismos associados, ocasionando a perda do conteúdo da matéria seca dos grãos. Perdas qualitativas são as reações químicas e enzimáticas, presença de materiais estranhos, impurezas e ataque microbiano, resultando em danos no valor nutricional, germinativo e comercial, com a possibilidade de formação de substâncias tóxicas no produto armazenado (ELIAS, 2003).

O fluxograma 1 demonstra o processo de armazenamento desde a chegada do produto até sua armazenagem.



FLUXOGRAMA 1- Processo de armazenamento de grãos

3.4.1 Classificação dos grãos

A classificação é um instrumento auxiliar no processo de comercialização de produtos agrícolas, que consiste em determinar a qualidade do produto através de um padrão estabelecido através da portaria nº 845, de 08 de novembro de 1976, que estabelece as especificações para a padronização, classificação e comercialização do milho (SENAR, 2004).

Para a classificação e determinação de um lote de grãos, leva-se em consideração o teor de umidade, impurezas, matérias estranhas, grãos trincados, quebrados e atacados por insetos. A coleta da amostra é realizada no momento de recebimento do produto, utilizando-se caladores que realizam a

coleta ao acaso em lugares e profundidades diferentes da carga, objetivando uma amostragem homogênea, conforme Figura 1 (FORNEL, 2010).



Figura 1 – Coleta da amostra para classificação. Fonte: Autoras (2014).

A classificação de impurezas, matérias estranhas, grãos trincados, ardidos, brotados, avariados dentre outras especificações é realizada sobre o que estabelece a legislação vigente (BRASIL, 1976).



Figura 2: Classificação de impurezas da amostra. Fonte: Autoras (2014).

O conteúdo de umidade dos grãos pode ser determinado por métodos diretos ou indiretos. Métodos diretos geralmente são empregados em trabalho de laboratório, aquecendo a amostra de grãos para retirar a umidade e pesando antes e depois de aquecer, seguindo um procedimento padronizado que resultará na quantidade de perda de água no produto. O método indireto geralmente é utilizado em unidades de armazenamento, no qual os medidores de umidade medem a resistência elétrica do produto e a relaciona com o teor de umidade do produto. O conteúdo de umidade é a quantidade de água que pode ser removida do material sem alteração da estrutura molecular do sólido (HEUERT, 2011).

3.4.2 Limpeza dos grãos armazenados

A limpeza é a operação que visa reduzir e eliminar o teor de impurezas nas massas de grãos, fragmentos do próprio produto, e de matérias estranhas (detritos vegetais, sementes de vegetação nativa, torrões de terra, dentre outras). As impurezas que acompanham o produto se não eliminadas afetam consideravelmente sua qualidade, sofrendo interferências durante sua armazenagem e posterior comercialização (PARK et al; 2007).

As impurezas em uma massa de grãos dificultam as operações de secagem, aeração e expurgo. A massa de grãos contendo impurezas é portadora de ampla quantidade de micro-organismos, assim sendo proporciona condições que aceleram a deterioração do produto. As impurezas sempre apresentam atividade de água maior que a do produto oferecendo condições favoráveis para o desenvolvimento de fungos (CASEMG, 2013).

A limpeza é realizada através de máquinas de pré-limpeza e limpeza até os níveis adequados para armazenagem e comercialização. É retirada de uma parte das impurezas do produto facilitando seu transporte pelos elevadores, conforme mostra na Figura 3. A secagem é realizada com mais facilidade e a remoção de materiais verdes e palhas evita fermentações na massa de grãos quando armazenados. As máquinas de pré-limpeza e de

limpeza operam segundo os mesmos princípios. O produto é separado de outros materiais pela ação de uma corrente de ar e por peneiras (CASEMG, 2013).



Figura 3 – Limpeza e pré limpeza de milho. Fonte: Autoras (2014).

3.4.3 Secagem

“A secagem é um conjunto de ciência, tecnologia e arte, baseado em extensiva observação experimental e experiência operacional. Durante a secagem é necessário um fornecimento de calor para evaporar a umidade do material e também deve haver um sorvedor de umidade para remover o vapor de água, formado a partir da superfície do material a ser seco” (ALONSO, 1998).

O teor de água é o fator mais importante para determinar a qualidade de sementes no armazenamento, pelo fato de interferir em sua atividade biológica, atividade dos micro-organismos e sensibilidade à danificação mecânica. A secagem de grãos constitui uma ferramenta essencial para sua produção e qualidade, visa manter o teor de água adequado para as operações de beneficiamento, transporte e armazenamento, reduzindo ao mínimo os

impactos que a qualidade dos grãos possa sofrer durante essas etapas (AVELAR, VILLELA, PESKE, 2013).

Existem diversos sistemas e tecnologias de secagem disponíveis no mercado. Porém, em cooperativas, armazéns e cerealistas utiliza-se basicamente o método de secagem artificial, que pode ser classificado quanto à periodicidade de exposição da massa de sementes ao ar de secagem, em contínuo ou intermitente, e quanto à movimentação das sementes em estacionário ou de fluxo contínuo (AVELAR, VILLELA, PESKE, 2013).

A cooperativa na qual realizou-se o estudo utiliza-se do método de secagem intermitente, na qual a semente permanece em exposição ao ar aquecido na câmara de secagem em intervalos ajustados de tempo, interpolados por período sem exposição, nos quais ficam na câmara de equalização, ocorrendo homogeneização da umidade e da temperatura da massa (AVELAR, VILLELA, PESKE, 2013).

O secador possui calhas ou dutos de ar dispostos de forma paralela, de forma que o ar entra pelo lado da fornalha e sai pelo lado do ventilador, que se encontra do lado oposto. As calhas cruzadas formam um ângulo de 90° entre si, fazendo com que o ar quente entre por um lado e saia formando um ângulo reto, sendo assim, a fornalha e o ventilador não se encontram em linha. Este sistema apresenta dificuldade para limpeza da torre, comprometendo a atuação e colocando-o em risco de incêndio, além de não oferecer uma secagem uniforme em toda a seção (COMIL, 2013; KEPLER WEBER, 2013).

O monitoramento do ar de secagem é realizado em três pontos da torre, através de sensores localizados na entrada do primeiro estágio de secagem, no segundo estágio e na saída para os ventiladores. O aparelho de medição está incorporado ao quadro de comando de descarga, podendo ser programado para emitir sinal sonoro quando os valores saírem da faixa de temperaturas pré-programadas. O sistema de carregamento de grãos pode ser intermitente, trabalhando por carga, não possuindo zonas de resfriamento recebem uma carga de grãos que circula na torre até a completa secagem (BROD, 1999).

O principal componente de um secador é a torre, dividida em duas zonas. Na parte superior, conhecido como câmara de secagem o ar entra

aquecido. A segunda zona, estabelecida na parte inferior, é a zona de resfriamento da massa de grãos, conforme descrito nas Figura 4 e 5.

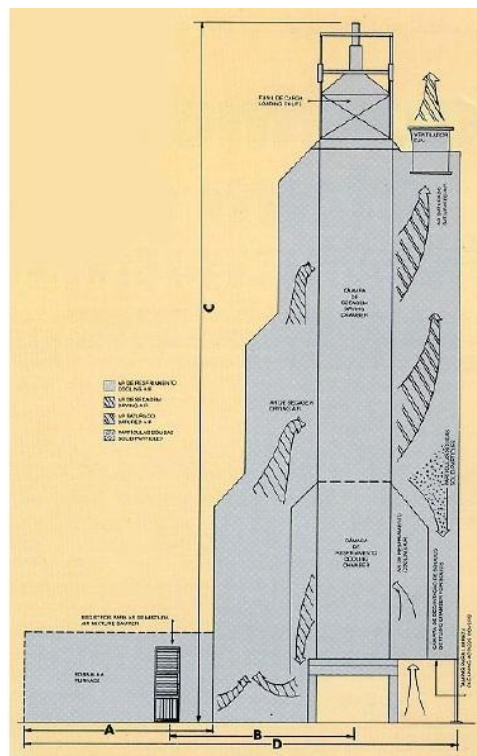


Figura 4 – Secador contínuo de fluxo misto. Fonte: Kepler Weber (2013).

“A torre é formada por quadros laterais. Estas fazem o fechamento e a estrutura lateral da torre de secagem, são aparafusados entre si e sustentam os difusores de entrada e saída do ar. Espelhos e dutos ou calhas são dispositivos montados que permitem a entrada do ar, sendo os do lado da fornalha abertos e do lado do ventilador fechados. Este procedimento auxilia no direcionamento do fluxo do ar em contracorrente ou concorrente, possibilitando que o ar atravesse uma camada de grão da ordem de 210 mm. Neste momento é que se dá a troca de calor do ar com a massa de grãos e a umidade do grão com o ar. Na câmara de resfriamento, os grãos trocam calor com o ar, resfriando-se” (PARK et al; 2007).

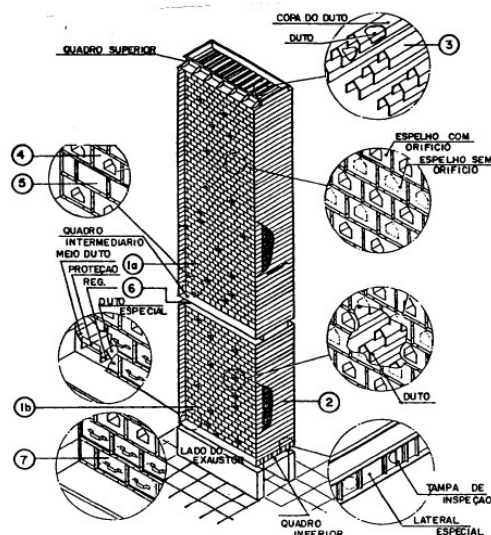


Figura 5 - Detalhe da torre de secagem. Fonte: Kepler Weber (2013).

Para cada tipo de grão, recomenda-se uma temperatura de ar de aquecimento, no caso do milho as faixas de temperatura variam de 80°C a 100°C. Após a secagem realizada deixando o produto com 14% de umidade, os grãos devem ser armazenados em locais apropriados, para que não sofram alterações na qualidade inicial.

3.4.4 Armazenagem em silos a granel

O armazenamento pode ser realizado tanto em sacos como em silos a granel. No caso de cooperativas de armazenamento de grãos, em geral o armazenamento é feito em silos a granel, os quais devem estar limpos, protegidos da luz, calor e umidade, além de possuir um sistema de ventilação muito eficiente (EMBRAPA, 2004).

Os silos são constituídos de chapas zincadas fixadas com parafusos, suportando ventos de até 120 Km/h. Possuem escadas internas e externas permitindo acesso ao silo para inspeção e limpeza. Dispõe também, de um sistema de termometria para leitura da temperatura da massa de grãos no interior do silo, possibilitando o acionamento dos ventiladores e sistemas de aeração na hora exata (COMIL, 2013; KEPLER, 2013).

Os grãos são materiais higroscópicos, ou seja, têm capacidade de ceder ou absorver a umidade do ar que os envolve. Ao respirar o grão absorve oxigênio liberando calor, umidade e anidrido carbônico, elevando assim sua temperatura, acarretando em ações microbianas graves e irreversíveis (ELIAS, 2003).

O equilíbrio higroscópico representa uma estabilização entre a temperatura e umidade do grão e a temperatura e umidade relativa do ar. Quando em temperaturas iguais ocorre a igualdade das tensões entre a percentagem de umidade dos grãos e a umidade relativa do ar. Assim, quando há equivalência no deslocamento da umidade ocorrerá o equilíbrio higroscópico (CUNHA, 2001).

A migração de umidade está relacionada com a temperatura e o teor de umidade do grão e é a maior causadora de danos que ocorrem em grãos estocados. No inverno, o ar frio que está localizado junto à parede do silo provoca um fluxo de ar que circula em seu interior, de cima para baixo. Ao mesmo tempo, o ar existente entre os grãos no fundo e no centro do silo absorve o calor dos grãos quentes, forçando o ar a subir. A combinação do fluxo do ar frio com o fluxo de ar quente faz o ar circular. Quando o ar se aproxima da superfície da massa armazenada a umidade condensa nos grãos frios da superfície, provocando uma zona de umidade e uma crosta de grãos em deterioração. No verão, o processo ocorre no sentido inverso ao do inverno (CUNHA, 2001). A Figura 6 demonstra um esquema de migração de umidade no inverno e verão.

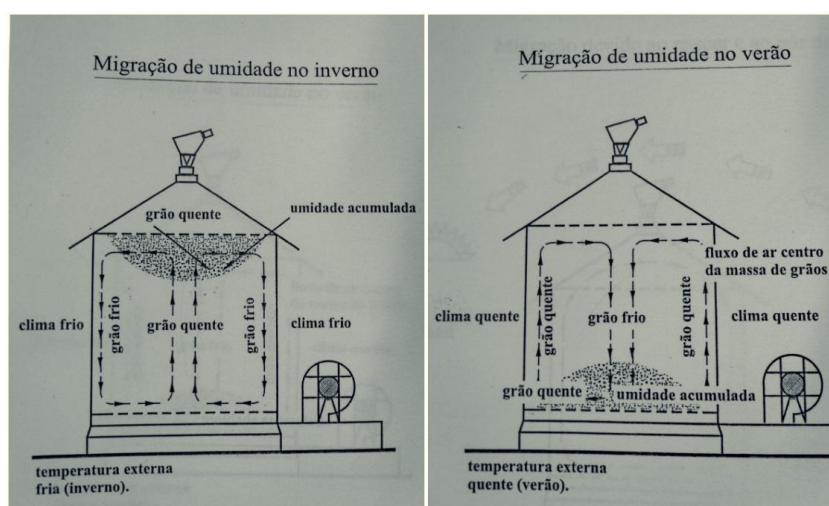


Figura 6: Migração de umidade em silo no inverno e verão. Fonte: Cunha (2001).

A instrução normativa nº03, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, publicada no Diário Oficial da União em 18/01/2010 estabelece que: as unidades armazenadoras para produtos a granel, devem ser dotadas de sistema de aeração em condições operacionais adequadas. As estruturas de armazenagem do tipo vertical devem ser dotadas de sistema de aeração com fluxo de ar de no mínimo 0,05 metro cúbico por minuto, para cada tonelada de capacidade estática (BRASIL, 2010).

A aeração de grãos é a passagem forçada do ar no interior da massa dos grãos, promovendo a redução e uniformização da temperatura na massa de grãos armazenados, visando uma boa conservação pela redução da atividade metabólica do grão e dos organismos associados, evitando perdas por concentração de umidade e aquecimento, impossibilitando o desenvolvimento de fungos e produção de micotoxinas. A aeração realizada por insuflação consiste na aspiração por um ventilador ou exaustor, que conduz através dos dutos de distribuição o ar por sistemas de canaletas. O ar insuflado irá expulsar o ar modificado sem atravessar a massa de grãos, com exceção dos que estiverem rente ao corpo do silo (ELIAS et al; 2011; QUIRINO, 2011).

3.5 Pragas na armazenagem

Uma vez armazenado, o grão está sujeito a transformações, deteriorações e perdas devido à interação de fenômenos físicos, químicos e biológicos. Os principais fatores que influenciam são: temperatura, umidade, disponibilidade de oxigênio, micro-organismos, insetos, roedores e pássaros (EMBRAPA, 2007).

Os insetos são os principais responsáveis por perdas no milho no período de armazenagem atacando inicialmente a região do embrião do milho, onde o ovo é depositado, resultando no nascimento das larvas que completam seu desenvolvimento dentro da semente. Segundo dados da EMBRAPA 2007, em milhos armazenados a granel em silos, ou sacarias pode-se chegar a uma baixa percentual de 1 a 2% do peso do grão devido as perdas por insetos. A

maioria dos insetos que atacam os grãos armazenados são de origem tropical e subtropical. As condições ideais de desenvolvimento ficam entre 23 e 25°C, com umidade relativa próxima de 70% (SILVA, FILHO,DEVILLA, 2009).

O *Sitophilus zeamais* (caruncho) é uma das principais pragas dos grãos armazenados, responsável pela perda de grãos e subprodutos. São besouros pequenos medindo aproximadamente 3 mm de comprimento, possuem quatro manchas avermelhadas no élitro, suas larvas apresentam coloração amarelo-clara com a cabeça mais escura e as pupas brancas. Seus ovos são colocados sobre os grãos e após eclodirem o perfuram para se alimentar (BRAGA; et al, 2003). Outra praga conhecida por seus estragos no milho armazenado é a *Sitotroga cerearella* (mariposa) de cor amarelo-palha (conhecida como traça dos cereais), que mede entre 5mm e 6mm de comprimento. A *Sitophilus oryzae* também tem sua importância e é formada por pequenos besouros de cor castanho-escura que medem entre 2mm e 3mm (EMBRAPA, 2006).

Outra praga que causa grandes prejuízos aos milhos são os ratos, que além de destruírem grande quantidade de grãos incorporam mau cheiro pela urina, que pode contaminar os grãos com bactérias causadoras de doenças como a leptospirose (ARAUJO, 2008). Estima-se uma perda anual de até 8% da produção mundial de cereal e raízes, visto que cada roedor consegue consumir por dia o equivalente a 10% do seu peso (ZULEN, 2007).

O manejo integrado de pragas (MIP) é um sistema de controle de que procura preservar e aumentar os fatores de mortalidade natural das pragas pelo uso integrado dos métodos de controle selecionados com base em parâmetros técnicos, econômicos, ecológicos e sociológicos. O MIP é dividido em 3 etapas: avaliação do agroecossistema, tomada de decisão e seleção dos métodos de controle (PICANÇO, 2010).

A temperatura e umidade são dois quesitos extremamente importantes na ocorrência de insetos e fungos no armazenamento. A grande parte das espécies de insetos e fungos reduz sua atividade biológica a 15°C. Grãos com elevados teores de umidade tornam-se vulneráveis ao ataque de insetos e fungos (ZULEN, 2007).

3.6 Fungos

Mofos ou bolores são micro-organismos eucarióticos, multicelulares e filamentosos. Sua atividade pode ocasionar alterações no sabor e na qualidade dos alimentos. Algumas destas alterações são desejáveis, como na fabricação de queijos. Porém, em muitos casos, os fungos podem causar transformações indesejáveis nos alimentos produzindo sabores e odores desagradáveis causados por diferentes graus de deterioração (MAZIERO, 2010).

Os grãos de milho estão suscetíveis à deterioração por fungos em duas etapas: na pré-colheita, com podridões de espigas e formação de grãos ardidos e na pós-colheita dos grãos durante o beneficiamento, armazenamento e transporte (PINTO, 2005). As podridões destacam-se no mundo entre as mais importantes doenças que atacam a cultura do milho por causarem redução de produção e de qualidade de grãos (COSTA et al., 2005; VIANA, 2009).

Os fungos podem atacar o grão causando danos físicos como descolorações, redução nos conteúdos de carboidratos, proteínas e açúcares totais. O milho ardido tem como principal responsável o ataque de fungos na lavoura. Esses fungos podem ser divididos em dois grupos: a) apenas produzem grãos ardidos; e b) além da produção de grãos ardidos, são produtores de toxinas (micotoxinas). São considerados ardidos os grãos que possuem pelo menos um quarto de sua superfície com descolorações (EMBRAPA, 2010).

Outro gênero que se destaca é o *Aspergillus*, classificado entre os fungos de armazenagem, exigindo elevada umidade para seu desenvolvimento, causando doenças em homens e animais, podendo ser patogênicos, com destaque para *Aspergillus flavus*, fungo de armazenamento produtor de aflatoxinas (GASPERINI, 2011). Os esporos de *Aspergillus* estão amplamente distribuídos no meio ambiente, especialmente em locais contendo matéria orgânica em decomposição (CRUZ, 2007). São considerados iniciadores da deterioração das sementes estando ou não associadas a outros fatores, como pequenas aberturas nas superfícies das sementes causadas por insetos, transporte e armazenamento (MULLER, 2010).

Entre os fungos, destaca-se o gênero *Fusarium* que é classificado como um fungo imperfeito, caracterizado por um micélio hialino, ramificado e tabicado, com esporos em forma de fiáides e conídios de forma e tamanho variável (LEAL et al., 2005). Pode ser encontrado no solo e em várias regiões do mundo, sobretudo em locais de clima tropical e subtropical sobrevivendo por longos períodos no solo pela formação de estruturas chamadas clamidósporos, podendo colonizar ramos, folhas, inflorescências e frutos através de seus conídeos que são disseminados pelo ar ou pela água (PINTO, 2005; TINOCO, 2010). Sua temperatura ótima de desenvolvimento está situada entre 20 a 25°C. Produzem toxinas como fumonisinas, tricotecenos, zearalenona, moliformina e ácido fusárico, além de patologias em plantas. A presença do fungo toxigênico não implica impreterivelmente na produção de micotoxinas, as quais estão intimamente relacionadas à capacidade de biossíntese do fungo e das condições ambientais predisponentes, como em alguns casos, a alternância das temperaturas diurna e noturna (PINTO, 2005).

3.7 Micotoxinas

Micotoxina é o termo usado para descrever substâncias tóxicas formadas durante o crescimento de fungos, o que está associado a mudanças na natureza física do alimento no sabor, odor e aparência (CANÇADO, 2004). Jay (2005) define micotoxinas como sendo metabólitos secundários produzidos por fungos filamentosos. São moléculas um tanto quanto diferentes com estruturas que variam de simples anéis heterocíclicos apresentando peso molecular de até 50 Da, a grupos de 6 a 8 anéis heterocíclicos irregularmente dispostos e com peso molecular total >500 Da e que não apresentam imunogenicidade (FREIRE et al; 2007).

As micotoxinas presentes em alimentos são um sério problema para a saúde pública e para a qualidade dos alimentos. Há muitos anos os fungos foram conhecidos pela sua capacidade de produzir metabólitos tóxicos, no

entanto, os seus efeitos foram largamente ignorados, tornando as micotoxicoses negligenciadas. Os órgãos mais afetados são: fígado, rins, cérebro, músculos e o sistema nervoso. Os sintomas vão desde náuseas e vômitos até a falta de coordenação dos movimentos (ou ataxia) e morte (CANÇADO, 2004).

Os principais substratos para a produção dessas toxinas são os cereais, cujas perdas segundo estimativa da Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO chegam a 25% dos grãos produzidos (AMARAL et al; 2006). De acordo com a quantidade ingerida e tempo de exposição à micotoxicose é classificada em aguda, crônica e subcrônica, tendo esta mais importância econômica causando redução na produtividade e no crescimento dos animais (YANAKA et al; 2007).

As micotoxinas podem entrar na cadeia alimentar humana e animal por meio de contaminação direta ou indireta. Sabe-se que a maioria dos alimentos e rações pode permitir o crescimento e o desenvolvimento de fungos toxigênicos, tanto durante a produção, processamento, transporte e o armazenamento (FREIRE et al; 2007, apud FRISVAD, 1992).

A contaminação direta ocorre quando o produto é diretamente usado na alimentação humana ou de animais, sendo contaminado por um fungo toxigênico, com posterior formação de micotoxinas. Já, a contaminação indireta de alimentos e rações ocorre quando um ingrediente qualquer foi previamente contaminado por um fungo toxigênico, e mesmo que o fungo tenha sido eliminado durante o processamento as micotoxinas ainda permanecerão no produto final (SILVA, 2005; FREIRE et al; 2007, apud FRISVAD e SAMSON, 1992).

Para prevenção e controle das micotoxinas, deve-se observar que os fungos não podem se desenvolver (ou micotoxinas serem produzidas) em alimentos precisamente secos. Para reduzir e prevenir a produção da maioria das micotoxinas, o processo de secagem deve ser feito logo após a colheita e o mais rápido possível. Para um alimento seguro deve-se manter a atividade de água (a_w) em aproximadamente 0,7. A manutenção de alimentos abaixo de 0,7 a_w é uma técnica eficaz usada mundialmente para controlar estragos provocados por fungos e produção de micotoxinas em alimentos. Os insetos são as principais causas de estragos, pragas de insetos do campo e algumas espécies de armazenamento estragam o grão e estimulam em ambiente úmido

o crescimento de fungos no grão em amadurecimento. No armazenamento, muitas espécies de insetos atacam o grão, e a umidade que pode acumular oferece um meio ideal para fungos (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009).

3.7.1 Aflatoxinas

Dentre as micotoxinas, a aflatoxina é a mais estudada, havendo relatos da sua descoberta desde 1960. São metabólitos secundários produzidos por algumas cepas de *Aspergillus*, principalmente das espécies *A. flavus* e *A. parasiticus*, os quais desenvolvem-se naturalmente em produtos alimentícios, como amendoim, milho, feijão, arroz, trigo, dentre outros cereais (OLIVEIRA, GERMANO, 1997).

A palavra aflatoxina pode ser utilizada para designar 17 substâncias químicas, tendo quatro, como as principais que são: B1, B2, G1 e G2. Quando submetidas à luz ultravioleta apresentam fluorescência, azul-violeta ou esverdeada, por isso, são representadas pelas letras B (blue-azul) ou G (Green - verde), já os índices 1 e 2 referem-se à sua mobilidade cromatográfica (CANÇADO, 2004).

Podem ser encontradas em frutas secas, oleaginosas como amendoim, e cereais como milho, feijão, arroz, trigo, dentre outros. Em condições de umidade e temperatura elevadas constituem um sério risco à saúde humana devido aos seus efeitos tóxicos imediatos, imunossupressores, mutagênicos, teratogênicos e carcinogênicos (MAZIERO, 2010).

Nos grãos de milho armazenados o desenvolvimento de micotoxinas ocorre por fungos especialmente do gênero *Aspergillus*, que necessitam de temperatura, umidade relativa do ar e substrato adequados para o desenvolvimento. São condições ótimas para a produção de aflatoxinas em grãos de milho: umidade relativa de 80 a 85%, umidade dos grãos de 17% e temperatura de 24 a 35°C. Porém, aliado a presença de oxigênio e um longo período de armazenamento pode haver produção de micotoxinas com umidade 12% (DILKIN et al., 2000).

A produção de aflatoxinas por *Aspergillus flavus* só pode iniciar-se com atividade de água (aw) a partir de 0,83, porém, a aw mínima para o crescimento e produção de aflatoxinas é influenciada pela temperatura, sendo que temperaturas abaixo de 13°C são capazes de prevenir a formação de aflatoxinas, e temperaturas entre 24 e 30°C são mais favoráveis para a produção da mesma (CANÇADO, 2004 apud Bullerman et al, 1984).

No Brasil, a ANVISA – Agência Nacional da Vigilância Sanitária publicou no Diário Oficial da União a resolução RDC nº 7 de 18 de fevereiro de 2011, a qual dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. Os limites máximos toleráveis de aflatoxinas B1, B2, G1, G2 em milho, milho em grão (inteiro, partido, amassado, moído), farinhas ou sêmolos de milho é de 20 Ug/kg.

4 METODOLOGIA

Na safra verão 2012/2013, um total de 13 amostras, em três repetições foram coletadas de um silo a granel com capacidade de armazenamento de 4.800 toneladas (80.000 sacos) em uma cooperativa de Francisco Beltrão – PR. A coleta foi realizada com caladores, em diferentes alturas do silo, com o auxílio de funcionários da cooperativa os quais utilizaram os equipamentos de proteção individual - EPI. Foram retirados aproximadamente 1 Kg de milho, homogêneos e acondicionados em sacos de papel. Estes mantiveram-se resfriados e foram encaminhados ao laboratório da UTFPR-FB, em até 24 horas após a coleta.

As primeiras 06 amostras foram realizadas em diferentes alturas do silo em um único dia no mês de maio, objetivando caracterizar o milho armazenado, conforme descrito na Figura 7. Posteriormente realizaram-se coletas mensais, nos meses de junho a dezembro de 2013, sempre em momentos de retirada de grãos de milho do silo.

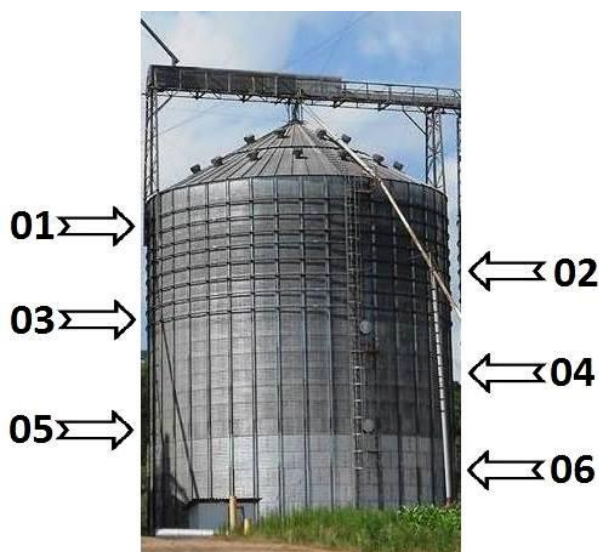
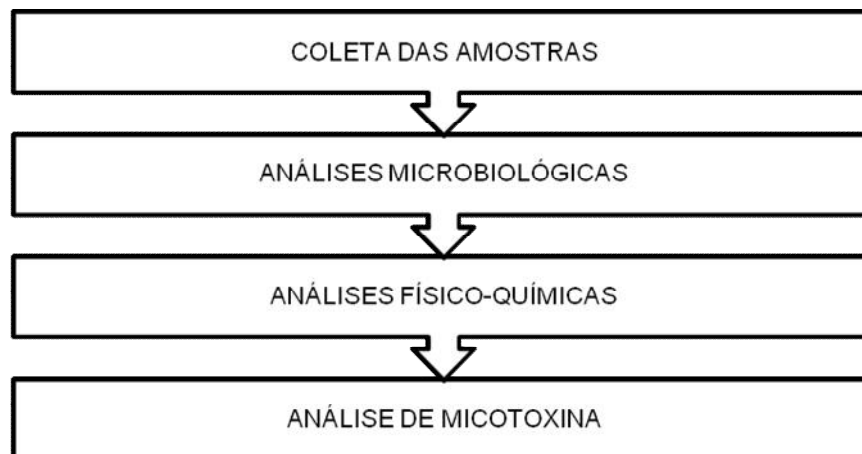


Figura 7 – Amostragem para caracterização do milho armazenado Fonte: Autoras (2014).

Durante o período de trabalho, fez-se o acompanhamento mensal de temperatura e umidade relativa- UR no silo, analisando possíveis alterações

que pudessem acarretar em problemas na armazenagem. A medição da temperatura e umidade relativa - UR pode ser usada como um método para constatar a causa da deterioração de grãos armazenados.

As análises foram realizadas nos laboratórios de Química, e Microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Francisco Beltrão, conforme mostra no fluxograma 2.



Fluxograma 2- Procedimento Experimental.

4.1 Amostras de milho

4.1.1 Preparo da amostra para análise

As amostras foram homogeneizadas, conservadas em sacos de papel em local seco e arejado. Através do quarteamento manual foram espalhados 1kg da amostra com uma espátula sobre uma folha grande de papel. Logo após, foram separadas em quatro partes em forma de cruz, retirando-se dois segmentos opostos devolvendo-o para o pacote. Misturou-se as duas partes restantes e repetiu-se o processo de separação de quatro segmentos, continuando até obter 200 g de material, para análise em triplicata. As amostras

foram então submetidas à análise microbiológica (contagem dos principais bolores isolados do milho), análises físico-químicas e de micotoxinas.

4.2 Análise físico-química

Para a realização das análises físico-químicas, foram seguidos os procedimentos descritos pelo Instituto Adolf Lutz (IAL, 2008) e para determinação de proteínas utilizou-se o método Kjeldahl (AOAC, 1997).

4.2.1 Secagem direta em estufa a 105°C

Inicialmente, triturou-se a amostra de milho e pesou-se uma quantidade de 10g, as quais foram colocadas em cadinho de porcelana previamente tarado. A amostra foi então transferida para uma estufa a 105°C, a qual permaneceu durante 6 horas até peso constante. Calculado de acordo com a equação:

$$U (\%) = \frac{P_i - P_f}{P_i - T} \times 100 \quad (1)$$

Onde: U (%) = porcentagem de umidade

P_i = peso inicial da amostra

P_f = peso final

T = peso do recipiente

4.2.2 Cinzas totais

O procedimento foi realizado após a determinação de umidade a 105°C, possibilitando assim que a amostra já estivesse seca. Transferiu-se esta

para mufla a 550°C, por aproximadamente 8 horas. A amostra foi resfriada em dessecador até a temperatura ambiente e pesada. Calculando de acordo com a equação 2.

$$\text{Cinzas totais} = \frac{100 \times N}{P} \quad (2)$$

Onde: N= número de gramas de cinzas

P=numero de gramas de amostra

4.2.3 Lipídios ou extrato etéreo – Extração direta em Soxhlet

Pesou-se 2 a 5 g da amostra em papel filtro e esta foi grampeada. Transferiu-se o cartucho para o aparelho extrator tipo Soxhlet. Acoplou-se o extrator ao balão de fundo chato previamente tarado a 105°C. Adicionou-se éter de petróleo em quantidade suficiente para um extrator Soxhlet e meio. Adaptou-se a um refrigerador de bolas, mantendo-se sob aquecimento em chapa elétrica, à extração contínua por 8 horas (quatro a cinco gotas por segundo). Retirou-se o papel de filtro grampeado, destilou-se o éter em rotaevaporador rotativo transferiu-se o balão com o resíduo extraído para uma estufa a 105°C, mantendo-se por cerca de uma hora. Resfriou-se em dessecador até a temperatura ambiente. Pesou-se as amostras, calculado de acordo com a equação 3.

$$L(\%) = \frac{P_f - P_i}{\text{g amostra}} \times 100 \quad (3)$$

onde: L(%) = porcentagem de lipídeos

P_f=peso final do balão

P_i=peso inicial do balão

4.2.4 Determinação de proteínas – Método Kjeldahl

A determinação de proteínas foi realizada pelo método semi-micro Kjeldahl, onde se determina o nitrogênio contido na matéria orgânica, incluindo o nitrogênio protéico e outros compostos nitrogenados não protéicos. O método Kjeldahl é constituído de três etapas: digestão, destilação e titulação. Calculado de acordo com as equações 4 e 5.

$$N\% = \frac{V \times N \times f \times 14 \times 100}{m} \quad (4)$$

Onde: N% = porcentagem de nitrogênio total da amostra;

V = volume gasto de HCl gasto na titulação (mL);

N = concentração (mol/L) do padrão (HCl);

f = fator de correção do padrão;

m = massa da amostra (mg).

$$PB (\%) = \%N \times FE \quad (5)$$

Onde: PB (%): porcentagem de proteína bruta contida na amostra;

FE: fator específico de conversão: 6,25

4.3 Análise microbiológica

4.3.1 Método de contagem dos principais bolores isolados do milho

A quantificação de bolores em alimentos é feita pelo método de contagem padrão em placas, determinando-se o número de unidades formadoras de colônias (UFC). O método utilizado no trabalho foi o plaqueamento *Pour plate*.

Foram seguidos os procedimentos conforme descrito por Silva et al.; (2007). A contagem dos principais bolores isolados do milho foi realizada a partir de 25 g da amostra que foi assepticamente triturada e homogeneizada. As amostras foram adicionadas a um erlenmeyer contendo 225 mL de solução peptonada a 0,1%, resultando na diluição 10^{-1} . Procedendo-se a diluição seriada com solução peptonada de 10^{-1} a 10^{-5} . Após realizadas as diluições, pipetou-se assepticamente 1 mL da amostra (equivalente a diluição 10^0) em triplicata, em placas de Petri, devidamente esterilizadas e identificadas, repetindo-se o procedimento para as demais diluições (10^{-1} ; 10^{-2} ; 10^{-3} ; 10^{-4} e 10^{-5}). Em cada uma das placas contendo a amostra, foram adicionados cerca de 20mL de Ágar Batata Dextrose (BDA) e homogeneizadas. Após a solidificação do meio, as placas foram incubadas invertidas por 5 dias em estufa BOD a 25°C.

4.4. Análise de aflatoxina

4.4.1 Determinação de aflatoxina B1 em milho por Cromatografia em Camada Delgada – CCD

A análise de aflatoxinas por CCD (cromatografia em camada delgada) foi conduzida conforme metodologia descrita por Soares e Rodriguez – Amaya (1989), apud ONO, et al. (2007), conforme a Figura 8.

4.4.2 Extração de aflatoxina

Inicialmente triturou-se 200g de amostra para granulometria de 50 “mesh” e homogeneizou-se. Em seguida, pesou-se 50g de amostra triturada e adicionou-se 270 mL de metanol e 30 mL de cloreto de potássio (KCl) 4%. Agitou-se em liquidificador por 5 minutos. Filtrou-se o extrato em papel de filtro comum e transferiu-se 150 mL do filtrado para um béquer de 500 mL.

Adicionou-se ao béquer de 150 mL de solução clarificante de sulfato de amônio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ a 30% e cerca de 20g de terra de diatomácea, agitando-se com bastão de vidro. Filtrou-se novamente em papel filtro comum, transferiu-se 150 mL do filtrado para um funil de separação, adicionou-se 150 mL de água destilada e 10 mL de clorofórmio. Agitou-se o funil de separação suavemente por 3 minutos para extrair a toxina. Esperou-se a separação das fases (aquosa e clorofórmica) e coletou-se 5,0 mL da fase inferior (clorofórmica) em um frasco. Repetiu-se a operação com a adição de 10 mL de clorofórmio ao funil de separação. Agitou-se e esperou-se a separação das fases, coletou-se 5,0 mL da fase inferior do funil no mesmo frasco contendo os 5,0 mL da primeira partição e transferiu-se o volume total da fração clorofórmica (10 mL) para um tubo e evaporou-se em banho-maria a 50°C sobre fluxo de nitrogênio gasoso.

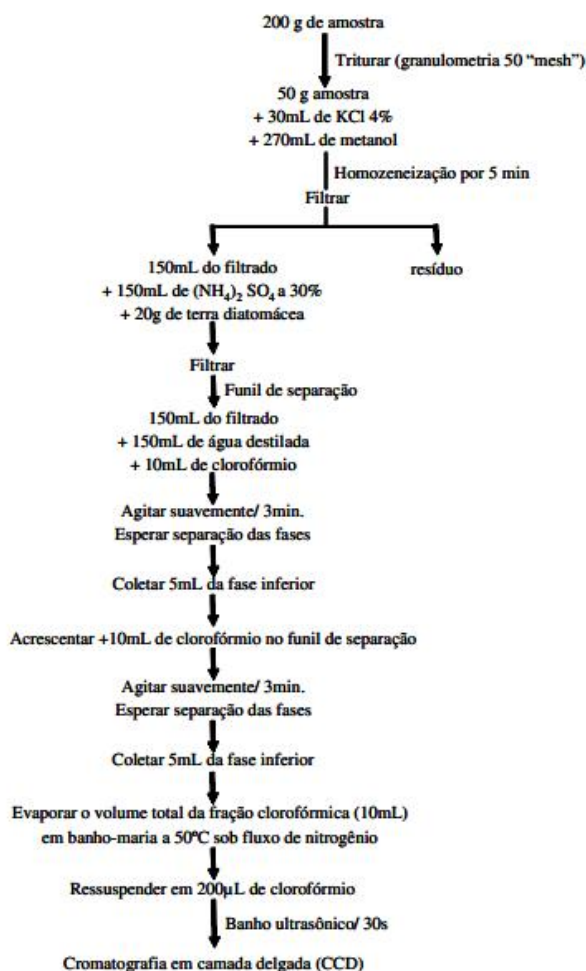


Figura 8 – Fluxograma para determinação da presença de aflatoxina em grãos. Fonte: ONO, et al. (2007).

4.4.3 Análise de aflatoxina B1

Ativou-se a placa cromatográfica (20 x 20 cm, sílica gel 60) colocando-a em estufa a 100°C por 30 minutos.

Ressuspendeu-se o resíduo da amostra com 200µL de clorofórmio em agitador de tubos por 30 segundos. Aplicou-se a 2,0 cm da base dois pontos de amostra (5µL) e quatro pontos (2,5; 5,0; 7,5 e 10 µL) de padrão de aflatoxinas (2,5 µg/mL) na cromatoplaca. Colocou-se a cromatoplaca em cuba cromatográfica contendo como fase móvel tolueno, acetato de etila, clorofórmio, e ácido fórmico (70: 50: 50: 20). Removeu-se a placa após o desenvolvimento de 10 cm de corrida e deixou-a secar. Visualizou-se a placa sob luz UV a 366nm. Para a quantificação, comparou-se a intensidade de fluorescência da banda comparada à micotoxina na amostra e no padrão.

4.4.4 Análise estatística

Os dados obtidos das análises físico-químicas foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e como existiu diferença significativa entre as amostras, foi então, realizado teste de Tukey para comparação de médias. Os resultados foram expressos em tabelas e gráficos e foram comparados com os dados da literatura, de modo a estabelecer um parâmetro para as alterações físico-químicas, microbiológicas e de aflatoxina B1.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise microbiológica

As tabelas 1 e 2 demonstram os resultados de 13 amostras de milho coletadas nos meses de maio a dezembro de 2013, sendo na tabela 1 as 6 primeiras (BP01-BP06) coletadas no mesmo dia em diferentes alturas do silo no mês de maio, com o objetivo de caracterizar o milho armazenado. Na tabela 2 estão as demais amostras (BP07 a BP13) que foram coletadas mensalmente a partir do mês de junho a dezembro/2013, para que pudesse ser realizado o acompanhamento de suas alterações ao longo do tempo de armazenagem. Os resultados foram calculados de acordo com as médias de 3 repetições para cada amostra. No presente trabalho não será apresentado a contagem total de bolores e leveduras, somente dos bolores mais frequentes isolados.

Tabela 1 - Contagem inicial dos principais bolores isolados do milho na amostra de caracterização.

Amostra	Bolores (UFC/g)		
	<i>Penicillium sp.</i>	<i>Fusarium verticillioides</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
BP01	3,6x10 ⁵ (±2,33)	3,3x10 ⁴ (±2,08)	1,3x10 ⁵ (±0,57)
BP02	2,6x10 ⁵ (±0,88)	1,6x10 ⁴ (±0,91)	1,8x10 ⁵ (±1,02)
BP03	3,9x10 ³ (±1,93)	n.d	2,6x10 ⁵ (±1,09)
BP04	4,0x10 ⁴ (±1,41)	n.d	2,3x10 ⁴ (±1,52)
BP05	2,9x10 ⁴ (±3,15)	2,7x10 ⁴ (±2,28)	1,0x10 ³ (±0,70)
BP06	1,9x10 ⁴ (±0,74)	2,3x10 ² (±1,83)	2,2x10 ³ (±2,07)

n.d: não detectado

*BP faz referência ao nome das alunas, seguido do respectivo número das amostras coletadas

Os dados expressos na tabela 1 representam a contagem de bolores isolados do milho através das amostras de caracterização, as quais foram coletadas ao mesmo tempo no mês de maio em diferentes alturas do silo.

De acordo com os dados da tabela 1, pode-se observar que o maior valor apresentado para o gênero *Penicillium* foi de $3,6 \times 10^5$ UFC/g na amostra BP01, enquanto o menor valor foi na amostra BP03 com resultado de $3,9 \times 10^3$ UFC/g. Para o gênero *Fusarium* os resultados variaram de $3,3 \times 10^4$ UFC/g na amostra BP01 sendo este o valor máximo apresentado, e as amostras BP03 e BP04 respectivamente não foi detectada a presença do gênero *Fusarium*. A amostra BP01 foi responsável pela maior presença de *Penicillium* e *Fusarium*, dando indícios de que essa amostra estava contaminada e que possivelmente essa contaminação ocorreu no campo em virtude dos gêneros apresentados serem de característicos do campo.

Quando analisamos o gênero *Aspergillus* pode-se notar que o valor máximo apresentado foi de $2,6 \times 10^5$ UFC/g na amostra BP03, a qual não apresentou indícios do gênero *Fusarium* e obteve a contagem mais baixa de todas as amostras avaliadas na caracterização para o gênero *Penicillium*. O valor mínimo para *Aspergillus* foi de $1,0 \times 10^3$ UFC/g na amostra BP05, a qual apresentou valores médios para os gêneros *Penicillium* e *Fusarium*.

A tabela 2 demonstra os resultados obtidos para contagem dos principais bolores isolados do milho durante os 8 meses de armazenamento.

Tabela 2 - Contagem dos principais bolores isolados do milho armazenado.

Amostra	Bolores (UFC/g)		
	<i>Penicillium sp.</i>	<i>Fusarium verticillioides</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
BP07	$4,7 \times 10^4$ ($\pm 3,10$)	$1,5 \times 10^4$ ($\pm 0,66$)	$2,2 \times 10^3$ ($\pm 1,48$)
BP08	$2,1 \times 10^2$ ($\pm 1,01$)	$3,8 \times 10^3$ ($\pm 3,06$)	$4,2 \times 10^2$ ($\pm 2,53$)
BP09	$4,0 \times 10^2$ ($\pm 1,41$)	$1,6 \times 10^2$ ($\pm 0,57$)	$3,2 \times 10^3$ ($\pm 0,35$)
BP10	$5,4 \times 10^5$ ($\pm 2,37$)	$6,2 \times 10^4$ ($\pm 1,90$)	$3,2 \times 10^4$ ($\pm 3,18$)
BP11	$4,2 \times 10^5$ ($\pm 3,13$)	$3,8 \times 10^4$ ($\pm 2,94$)	$1,9 \times 10^5$ ($\pm 1,58$)
BP12	$3,6 \times 10^4$ ($\pm 2,97$)	n.d	$1,3 \times 10^4$ ($\pm 0,47$)
BP13	$3,1 \times 10^3$ ($\pm 1,45$)	$2,5 \times 10^2$ ($\pm 2,12$)	$2,9 \times 10^4$ ($\pm 2,32$)

n.d.: não detectado

*BP faz referência ao nome das alunas, seguido do respectivo numero das amostras coletadas

Conforme os dados expressos na tabela 2 pode-se observar que os 3 gêneros isolados do milho durante o armazenamento apresentaram resultados elevados na contagem de UFC/g, sendo os gêneros *Aspergillus* e *Fusarium* os mais importantes envolvidos na produção de micotoxinas. Os principais fatores que favorecem o crescimento desses micro-organismos em cereais armazenados são: alta umidade relativa do ar, teor de água do substrato e temperatura de armazenamento (BENTO et al; 2012).

De acordo com os dados observados na tabela 1 e 2, o gênero *Aspergillus flavus* esteve presente desde a coleta da amostra de caracterização (tabela 1), com presença até o final do período de armazenamento (tabela 2). O aparecimento do gênero *Aspergillus* em todas as amostras pode ser consequência da cooperativa receber milho de diferentes variedades com umidades e contaminações diferentes, podendo ocasionar um favorecimento ao crescimento dos fungos pós-colheita.

Uma vez armazenado no silo, o milho não passou pelo processo de homogeneização, o que demonstra a heterogeneidade nos resultados apresentados ao longo do período de armazenamento, e apenas uma das amostras (BP02) apresentou presença de aflatoxina B1, mas em quantidade inferior ao que determina a legislação (BRASIL, 2011).

Importante destacar que a amostra BP02 é uma amostra de caracterização, portanto o desenvolvimento da aflatoxina B1 detectada, provavelmente ocorreu antes da entrada no silo. Este entendimento baseia-se no fato de que esta amostra de milho foi uma das últimas a entrar no silo, e também uma das primeiras a sair, já que o processo de retirada dos grãos no silo ocorre de cima para baixo (Figura 7), não havendo portanto tempo suficiente para o desenvolvimento do fungo e consequente produção da toxina na armazenagem.

Santin, et al (2004) sugere que a mistura de lotes de grãos infectados com outros não infectados prejudica a qualidade e o valor comercial de toda a produção, por favorecer o desenvolvimento de fungos pós-colheita, caso não seja realizada a secagem adequada, monitoramento periódico da temperatura, monitoramento do teor de umidade dos grãos e do ambiente durante o armazenamento do produto.

Segundo Pereira et al.(2002) a contaminação e a deterioração causadas por fungos nos alimentos são mais comuns que as ocasionadas por qualquer outro grupo de micro-organismo. A contaminação por fungos é importante não somente sob o ponto de vista sensorial, mas também pelo perigo que a produção de micotoxinas representa ao consumidor.

Mattos et al.(2009), avaliou a qualidade dos grãos de milho utilizados em uma indústria alimentícia de Campina Grande no período de 2004 e 2005, e observaram que o gênero *Aspergillus* foi o de crescimento mais acentuado, tendo sido encontrado em 100% das amostras analisadas.

Farias et al. (2000) e Ribeiro et al. (2003) estudaram o grão de milho armazenado e seus derivados, sendo os principais fungos detectados pertencentes aos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium*. Bento, et al (2012), avaliaram 84 amostras de milho oriundas de unidades armazenadoras das regiões Norte, Sul, Leste e Oeste do estado de Mato Grosso, referente às safras 2009 e 2010. A identificação dos patógenos obteve prevalência dos gêneros *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium*.

Os fungos do gênero *Aspergillus* são fungos de armazenamento, indicadores de deterioração de sementes e grãos, podendo ocasionar a produção de micotoxinas. Esses fungos necessitam de teores de umidade entre 13% e 18%, havendo pouca incidência durante o crescimento da planta no campo e nos grãos recém-colhidos (SANTIN, 2001).

Vecchiatto et al. (1994), Cirio (1998) afirmam que o aparecimento do gênero *Penicillium* pode estar relacionada à incidência de *Aspergillus*, ocasionando o fenômeno de competitividade entre os gêneros. Os teores de umidade exigidos por *Penicillium* estão acima de 16,5%. Em geral, *Aspergillus* desenvolvem em teores de umidade mais baixos (13,5%), no entanto com crescimento muito rápido acima deste valor, produzem calor e umidade metabólica que favorecem a sucessão das espécies e de gêneros de fungos.

5.2 Análise aflatoxina B1 (AFB1)

Os resultados das análises de aflatoxina B1 em grãos de milho oriundos da cooperativa revelaram que, do total de 13 amostras avaliadas

apenas 1 (7,70%) apresentou a aflatoxina B1, porém, com nível abaixo do limite máximo (20 µg/Kg) estabelecido pela ANVISA. (2011) (e abaixo do limite de quantificação do método analisado). A amostra com presença da aflatoxina B1 foi à amostra BP02 que apresentou resultado de $1,8 \times 10^5$ UFC/g para o gênero *Aspergillus*. Esta amostra apresentou na coleta um teor de umidade de 7,57%, umidade muito abaixo da umidade requerida pelo fungo para o seu crescimento. O que nos leva a crer que esta contaminação possa ter ocorrido anteriormente a sua entrada no silo, pois a mesma foi coletada no mês de maio, logo após sua chegada à cooperativa e posterior à sua secagem, momento em que foi realizada a caracterização do silo, onde foram coletadas as 6 amostras para caracterizar a qualidade do milho no início do processo de armazenamento (BP01;BP02;BP03;BP04;BP05;BP06). As demais amostras foram coletadas mensalmente em sequência (BP07: junho; BP08: julho) e assim sucessivamente até amostra final (BP13:dezembro), sendo que as mesmas não apresentam sequer vestígio da aflatoxina B1 no decorrer dos 8 meses de armazenamento.

O teor de umidade das amostras analisadas variou de 8,52% na amostra BP13 a 12,36% na amostra BP07, níveis esses inferiores ao valor máximo (14,5%) permitido pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, conforme Portaria do nº845 de 1976 (BRASIL, 1976). Prado et al. (1995) apud Almeida (2009), sugere que a ausência de contaminação por aflatoxinas pode ser atribuída a níveis reduzidos de umidade, entre 13% e 13,5%.

A boa qualidade dos grãos recebidos e os resultados encontrados demonstraram que, a baixa frequência e níveis de contaminação por aflatoxina B1 nas amostras de milho avaliadas podem ser consequência do eficiente processo de armazenamento do milho em silo a granel, realizado pela cooperativa ao longo dos meses de armazenamento, controlando todo o processo desde o início com a recepção, limpeza e secagem do grão, seguida pelo controle de temperatura, umidade relativa e aeração dentro do silo.

Ramos et al. (2008), avaliaram a contaminação por aflatoxinas em híbridos de milho cultivados em três regiões do estado de Goiás, onde detectou presença do gênero *Aspergillus* em todas as amostras provenientes do município de Jataí-GO, indicativo de que possivelmente nas lavouras deste

município o fungo esteve presente nos grãos de milho em algum momento do seu ciclo de produção.

Cortês, et al. (2000) constataram que 28,57% das amostras de milho retiradas de lavouras do estado de Mato Grosso apresentavam nível médio de aflatoxinas de 12,35 µg/kg, indicando que o milho no ponto de colheita já apresentava contaminação por aflatoxinas.

Marques et al. (2009) também analisaram a incidência de fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* e as contaminações com micotoxinas em grãos de cinco híbridos comerciais de milho em função da umidade de colheita, e observaram que a produção de aflatoxinas ocorreu em grãos ainda nas espigas, no campo, devido a condições ambientais favoráveis aos patógenos.

Almeida et al (2009) em seu estudo, coletaram 80 amostras de milho destinadas a fábrica de rações, obtendo teores de umidade entre 10,1 a 13,8%, sendo destas 8 contaminadas com níveis variáveis de 1 a 5 U_g/kg de aflatoxina B₁, valores considerados abaixo do nível máximo permitido pela Portaria MA/SNAD/SFA nº. 7 de 1988 para qualquer matéria-prima a ser utilizada, diretamente ou como ingrediente para rações destinadas ao consumo animal.

5.3 Análises físico-químicas

Os valores da composição físico-química estão dispostos nas tabelas 3 e 4, sendo BP01 a BP06 amostras coletadas no mês de maio para caracterização do silo, que para discussão dos resultados foi realizado a média e tratamento estatístico das 6 amostras entre si, obtendo um valor único para cada parâmetro analisado, havendo diferença significativa para cinzas, proteínas e lipídeos. As demais amostras coletadas mensalmente a partir de junho (BP07) a dezembro (BP13) foram comparados com a média da caracterização e realizados teste de média e análise estatística para cada amostra mensal existindo diferença entre elas.

Tabela 3. Características físico-químicas de amostras de grãos de milho para caracterização em silos a granel em cooperativa de Francisco Beltrão-PR.

	Parâmetros (%)			
	Umidade	Cinzas*	Proteínas*	Lipídeos*
BP01	8,15 a (±0,10)	1,52 a (±0,03)	8,61 b (±1,201)	5,06 b (±0,424)
BP02	7,57 a (±0,43)	1,74 b (±0,10)	8,23 b (±0,281)	5,12 b (±0,529)
BP03	9,77 a (±3,12)	1,47 a (±0,13)	7,43 b (±0,464)	5,18 c (±1,264)
BP04	9,37 a (±1,14)	1,61 b (±0,23)	7,21 b (±0,246)	4,86 a (±0,260)
BP05	8,13 a (±0,03)	1,87 c (±0,21)	6,39 a (±0,170)	5,96 d (±0,775)
BP06	8,21 a (±0,08)	1,58 b (±0,13)	7,00 a (±0,326)	4,17 a (±0,405)
Média da Caracterização	8,53	1,63	7,47	5,058

* base seca **BP faz referência ao nome das alunas, seguido do respectivo numero das amostras coletadas

Os resultados expressos na tabela 3 representam as análises físico-químicas para as amostras codificadas de BP01 a BP06 as quais referem-se à caracterização do produto, retirado em diferentes alturas do silo de armazenagem, (conforme figura 7). Houve diferença significativa entre as amostras analisadas para os parâmetros de cinzas, proteínas e lipídios. Não havendo diferença significativa entre as amostras para a umidade, o que nos sugere que o processo de secagem realizado pela cooperativa foi eficiente, de modo que todos os grãos estavam com teores próximos de umidade ao entrar no silo. Apesar dos teores de umidade terem variado, não atingiram valores que pudessem propiciar micotoxinas acima do limite de quantificação do método utilizado e perante a legislação vigente (BRASIL, 2011).

Tabela 4. Características físico-químicas de grãos de milho armazenados em silos a granel em cooperativa de Francisco Beltrão-PR

Amostra	Umidade	Parâmetros (%)		
		Cinzas*	Proteínas*	Lipídeos*
Média da Caracterização	8,53 a	1,63 b	7,47 abc	5,058 ab
BP07	12,36 d (±0,21)	1,36 a (±0,10)	7,24 ab (±0,23)	6,34 b (±0,25)
BP08	11,08 cd (±0,21)	1,63 b (±0,32)	8,45 bc (±0,25)	4,24 a (±0,22)
BP09	8,87 a (±0,67)	1,70 b (±0,14)	8,07 bc (±0,09)	5,69 ab (±0,12)
BP10	9,22 ab (±0,14)	1,99 c (±0,20)	7,58 abc (±0,20)	5,64 ab (±0,44)
BP11	12,13 cd (±0,20)	1,97 c (±0,08)	7,46 abc (±0,56)	5,48 ab (±0,39)
BP12	10,29 bc (±0,07)	2,11 c (±0,12)	8,74 bc (±0,22)	5,23 ab (±0,11)
BP13	8,52 a (±0,50)	1,93 c (±0,08)	8,02 bc (±0,72)	5,02 ab (±0,24)

* base seca **BP faz referência ao nome das alunas, seguido do respectivo número das amostras coletadas

De acordo com a tabela 4 pode-se observar que proteínas e lipídeos apresentaram diferença significativa quando comparadas as amostras de caracterização (BP01-BP06), e quando analisadas mensalmente (BP07-BP13). Por outro lado, cinzas e umidade apresentaram diferença significativa quando comparadas com a amostra de caracterização e quando comparadas ao armazenamento. Houve diferença significativa entre as amostras, inclusive quando comparadas a amostra de caracterização. Essas variações apresentadas ao longo do período de armazenamento podem ser decorrência da mudança de clima e temperatura, como também em função das diferentes variedades de milho existentes dentro do silo.

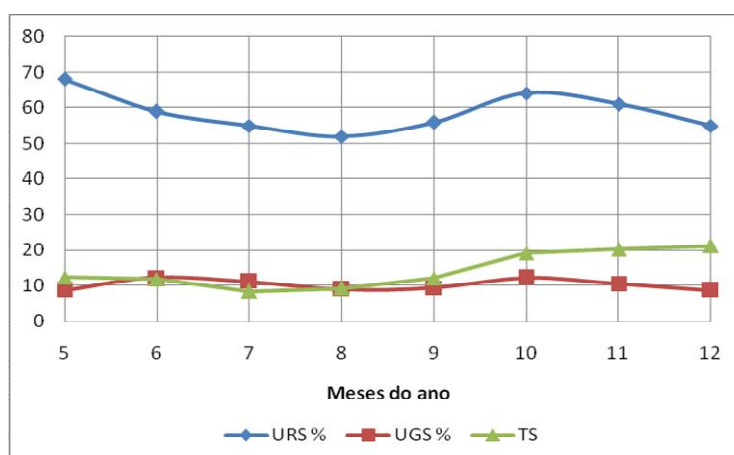
No gráfico 1, estão dispostos os resultados da umidade relativa – UR% (URS) e temperatura °C do silo (TS) comparadas com a umidade do grão % (UGS) armazenado no mês de maio (5) até o mês de dezembro (12). Pode-se notar que no início do armazenamento o grão apresentava baixa umidade,

enquanto o silo temperatura baixa, mantendo umidade relativa alta. No entanto, a partir do mês de junho (6) até o mês de setembro (9) a umidade do grão obteve comportamento similar, mantendo-se constante. À medida que a UR diminuiu, a temperatura aumentou, do mesmo modo que quando a temperatura diminuiu, a UR aumentou. No mês de outubro (10) a umidade relativa do ar no silo aumentou, aumentando também a umidade do grão armazenado para 12,14%. Nos meses de novembro e dezembro a UR diminuiu para 61% e 55% respectivamente, influenciando diretamente na umidade do grão que foi para 10,30% no mês de novembro (11) e 8,52% no mês de dezembro (12).

Sendo o teor de água um fator importante para determinar a qualidade das sementes no armazenamento, a secagem de grãos constitui uma ferramenta essencial para sua qualidade, visando manter o teor de água adequado para as operações de beneficiamento, transporte e armazenamento, (AVELAR, VILLELA, PESKE, 2013). Neste estudo os valores encontrados atendem a legislação vigente (BRASIL, 1976).

Segundo Weber (2005) o teor de umidade das sementes é mais afetado pela umidade relativa do ar do que pela temperatura, mostrando o papel da umidade do ar na manutenção da umidade das sementes no armazenamento. O teor de umidade dos grãos armazenados aumenta rapidamente quando em contato com uma umidade relativa do ar superior a 70%.

Gráfico 1 – Relação entre UR (URS) e temperatura do silo (TS) x umidade dos grãos %



Arce (2009) afirma que por serem materiais higroscópicos o grão tem capacidade de ceder ou absorver umidade de acordo com a baixa ou alta umidade relativa do ar contido na massa de grãos. Portanto, em contato com o ambiente onde a umidade relativa oscila ganharão ou perderão umidade e tendem a manter o equilíbrio de sua umidade com determinada umidade relativa do ar, a certa temperatura.

Ferrari Filho (2011) encontrou valores de 10,34 a 15,93% de umidade por diferentes métodos de secagem, o primeiro foi secagem com uso de energia solar e o segundo com uso de ar natural, no tempo zero e no tempo de 9 meses respectivamente, o que leva a concluir que o método de secagem pode influenciar na umidade no produto bem como o tempo de armazenamento.

Conforme Muir (1973) o aumento no teor de água ocorre tanto pela atividade respiratória dos grãos quanto pela microflora associada. O comportamento higroscópico dos grãos no armazenamento é fundamental para a conservação do produto e o manejo do sistema de armazenamento (ELIAS, 2008).

A análise estatística demonstrou que houve variância entre a média da amostra de caracterização e as demais amostras coletadas mensalmente. Para os teores de cinzas, proteínas e lipídios deve ser considerado o fato de que o milho recebido pela cooperativa era procedente de diferentes produtores, os quais comercializam milhos de diferentes cultivares, com valores nutricionais diferentes. Quando entra no silo todo o milho é misturado, não podendo fazer distinção entre as variedades, sendo esse o motivo de algumas amostras terem apresentado valores maiores ou menores para determinados fatores. Os valores apresentados durante o período de armazenamento são considerados comuns.

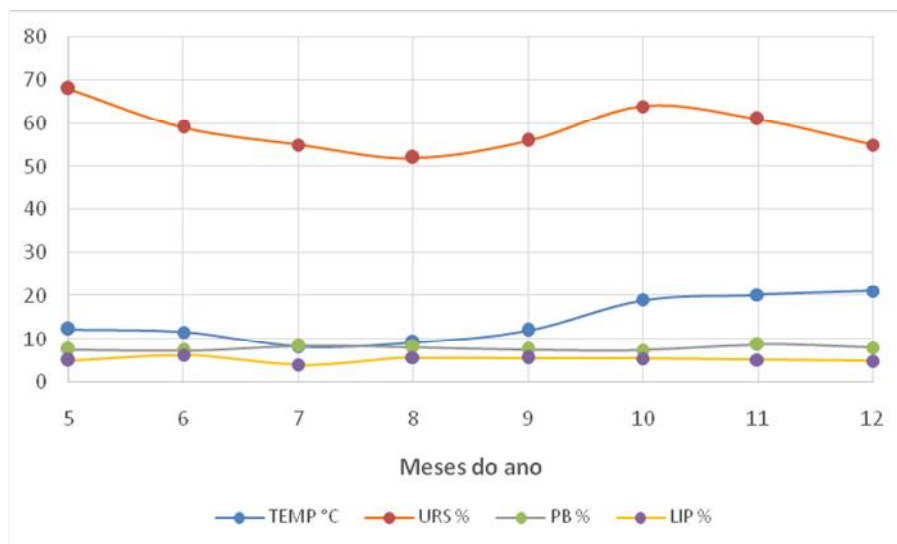
Os teores de mineral (cinzas) encontrados no trabalho foram de 1,36 a 2,11% durante o período de armazenamento. Valores entre 1,46 a 2,4% foram encontrados por Ferrari Filho (2011) em seu estudo, apresentou resultados condizentes com os encontrados neste estudo. Os mesmos autores também demonstram que há um leve aumento no teor final de cinzas ao longo do período de armazenagem. Luchin; Barcaccia; e Parrini (2003) avaliando milho crioulo encontraram valores médios de mineral de 1,56%. Já para milho

híbrido, Gonçalves et al. (2003) encontraram valores de 1,27%. Segundo Salunkle et al. (1985), o conteúdo mineral é dentre os constituintes químicos do grão de milho o que apresenta as maiores variações no seu conteúdo durante o armazenamento.

O gráfico 2 representa os resultados de proteína e lipídios durante os 8 meses de armazenamento, comparando-os com a temperatura do silo e umidade relativa. Os teores de proteínas e lipídios não sofreram alterações ao longo do armazenamento, podendo-se observar que mesmo que a umidade relativa e temperatura variaram, não foi o suficiente para causar danos aos grãos, pois a umidade relativa não ultrapassou os 70% valor considerado crítico, e a temperatura manteve-se em níveis aceitáveis para boa conservação de grãos, próximo a 18°C (DEVILLA, 2004).

No presente trabalho os valores de proteína bruta foram de 7,47 a 8,74% durante o período de armazenamento. Em estudo realizado por Bordignon (2009), o teor de proteína foi de 9,14 a 9,80% para milhos híbridos de textura dura e semidura, respectivamente. Pinto (2009) encontrou em sua caracterização de milho valor médio 9,5% de proteína bruta.

Gráfico 2: Temperatura e umidade relativa no silo X Proteínas e Lipídios.



Ferrari Filho (2011), revelou que as variações de perda de proteína ocorrem entre 3 e 6 meses de armazenamento e depois desse tempo tendem a estabilizar. O autor também encontrou valores de proteína de 9,58 a 10,84%.

Os teores de lipídeos neste trabalho foram de 4,24 a 6,34% durante o período de coleta das amostras. Ferrari Filho (2011) encontrou em seu estudo resultados entre 4,55 a 5,74% de lipídeos, sendo o primeiro resultado com 9 meses de armazenamento e o segundo no início do processo. Santos (2006) relata que o material armazenado está sujeito a transformações, deteriorações e perdas devido a interações entre os fenômenos físicos, químicos e biológicos. Sendo que os fatores que exercem grande influência nesse ambiente são a temperatura, umidade, disponibilidade de oxigênio, micro-organismos e insetos.

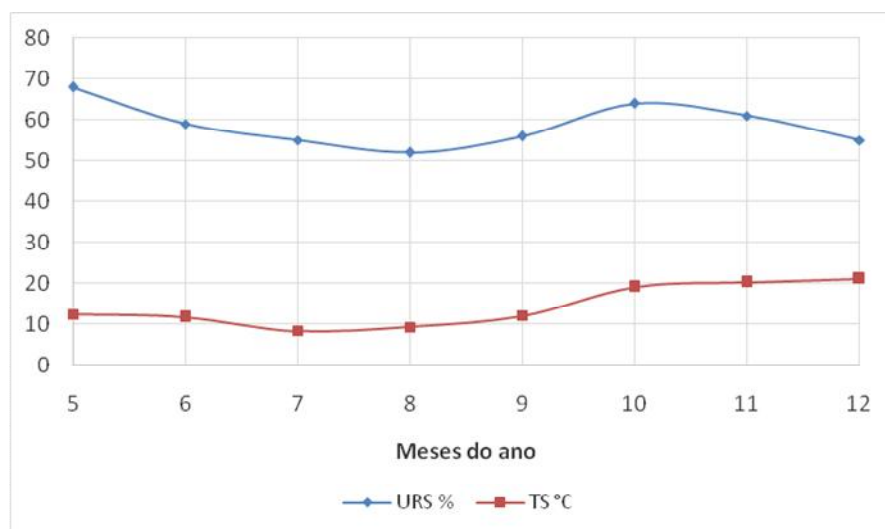
Para Rupollo et al (2004), os lipídios são os constituintes mais suscetíveis à degradação química e influenciam diretamente na secagem e conservabilidade do produto armazenado. Além disso, Gutkoski, et al (2005) dizem que a velocidade das alterações dos lipídios depende da umidade, da temperatura e do tempo de armazenamento do milho.

5.4 Temperatura e umidade relativa – UR

O gráfico 3 expressa os resultados de média da temperatura do silo e umidade relativa do ar dentro do silo durante o período de armazenamento, onde o mês 5 representa maio, e assim sucessivamente até o mês de dezembro (12). A temperatura do silo se manteve baixa durante todo o período analisado, considerando que a partir de outubro (10) temos temperaturas mais elevadas devido ao verão. A média das temperaturas mínimas foi de 11°C no mês de junho e a máxima de 21°C no mês de dezembro, enquanto a média mensal das umidades relativas mínimas foi de 52% e a máxima 68%. À medida que a temperatura foi aumentando, a umidade relativa do silo foi diminuindo e o pico de umidade relativa não ultrapassou os 70% durante todo o período de armazenamento, teor considerado seguro para o desenvolvimento de micro-

organismos (SILVA, 2009). Nesse sentido, e com base nos resultados obtidos, podemos considerar que a forma de armazenamento conduzida pela cooperativa foi eficiente.

Gráfico 3: Relação entre umidade relativa do silo URS-% e temperatura do silo TS- °C.



Nascimento, Queiroz (2011) apud BENEDETTI (1992), explicam que as variações da temperatura em grãos armazenados são devidas as fontes de calor interna e externa ao sistema. As fontes internas são originárias da respiração do produto, da ação de insetos e micro-organismos, enquanto a temperatura ambiente e a radiação solar são as fontes externas.

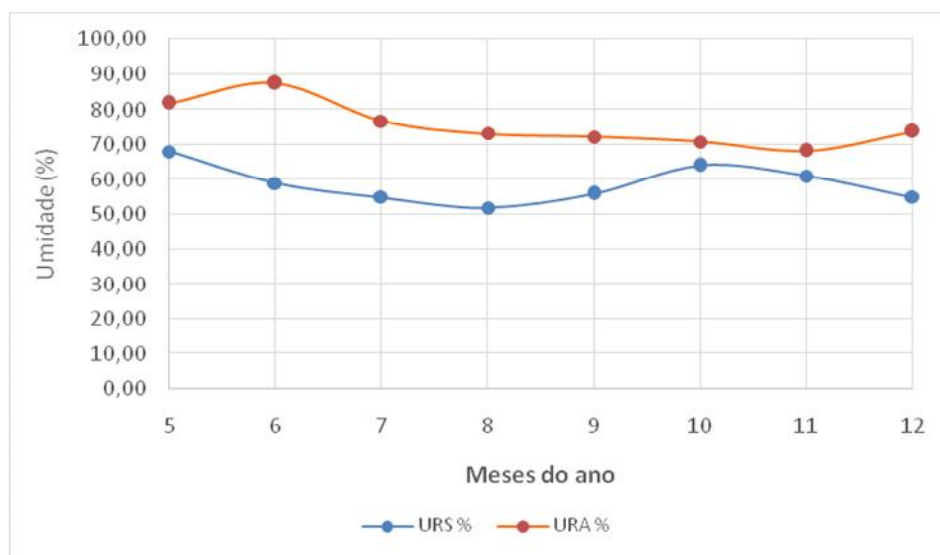
Os grãos como qualquer material higroscópico, mantêm equilíbrio de sua umidade com determinada umidade relativa do ar – UR, a uma dada temperatura. Quando o grão e o ar que o envolve apresentam diferentes pressões de vapor, a umidade se movimenta da substância com maior pressão de vapor para aquela que possui menor pressão até atingir um ponto de equilíbrio (ARCE, 2009).

Bordignon (2009) estudou a relação das condições de armazenamento e a qualidade fisiológica de sementes, analisando as condições de temperatura e umidade relativa dentro do silo, demonstrando que possivelmente as condições de armazenagem quando comparadas com a condição ambiental foram melhores que em ambiente, em virtude de um regime mais uniforme de

temperatura e umidade relativa do ar. Como as sementes são higroscópicas e seu conteúdo de água varia conforme as condições do ar circundante e do ar intersticial, o conteúdo de água destas sementes sofre uma menor variação durante o armazenamento.

O gráfico 4, expressa os resultados de umidade relativa do ar dentro do silo comparados com os dados de umidade relativa do ar fornecidos pelo Instituto Tecnológico SIMEPAR (2013). Pode-se observar que a umidade relativa do ar dentro do silo esteve homogênea durante praticamente todo o período de armazenagem, estando abaixo dos valores apresentados pelo SIMEPAR. Apenas no mês de novembro (11) que as médias de umidade relativa se aproximaram. Tais resultados permitem dizer que mesmo quando a umidade relativa do ar ambiente esteve a níveis mais altos, o processo de aeração e controle de temperatura e umidade relativa dentro do silo foram eficientes, não submetendo o grão sobre estresse de ganho e perda de água várias vezes durante o ciclo de armazenagem. Valores mais altos que 70% de umidade relativa poderiam prejudicar os grãos armazenados, permitindo maior ataque de micro-organismos.

Gráfico 4: Umidade relativa do silo X umidade relativa do ar SIMEPAR



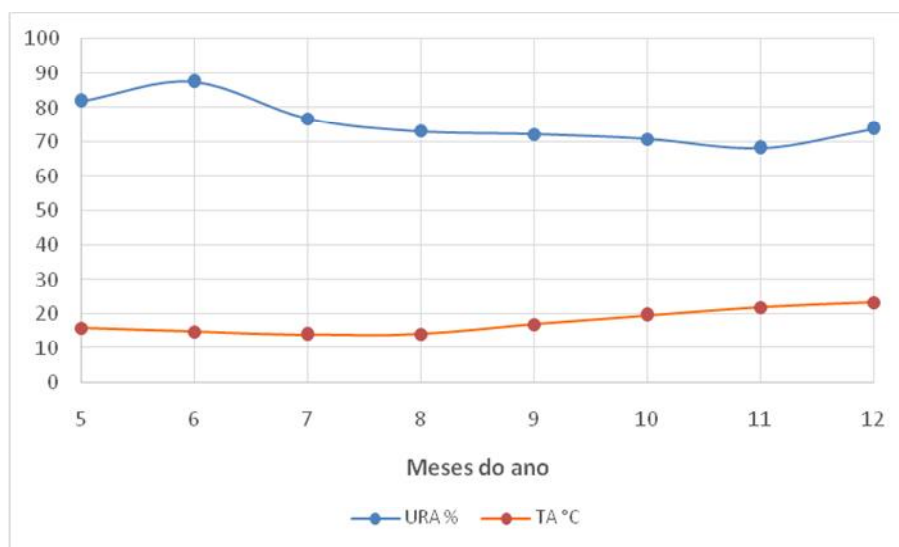
Fonte: SIMEPAR (2013)

Silva et al. (2009) afirmam que os grãos podem ser armazenados por maiores períodos de tempo, se a temperatura for baixa (8 a 10°C) e a umidade relativa não ultrapassar os 70%, pois a maioria dos insetos e micro-organismos que atacam os grãos armazenados se desenvolvem melhor à umidade relativa mais elevadas.

Bordignon (2009) verificou que quando as médias de umidade relativa do ar permanecem mais homogêneas durante a armazenagem, as sementes não sofrem estresse com ganho e perda de água no ciclo de armazenagem, possibilitando manter a qualidade das sementes por um período mais longo de tempo.

O gráfico 5 demonstra resultados de temperatura e umidade relativa apresentados pelo Instituto Tecnológico SIMEPAR, o qual mantém uma estação meteorológica na cidade de Francisco Beltrão. Os dados expressos no gráfico representam os meses de maio (5) e dezembro (12), mesmo período em que se realizou o acompanhamento do milho no silo.

Gráfico 5: Temperatura e umidade relativa em uma estação meteorológica de Francisco Beltrão.



Fonte: SIMEPAR (2013).

Nos meses frios a temperatura esteve em média a 14°C, e umidade relativa próxima a 80%, demonstrando que em temperaturas mais baixas temos umidade relativa mais alta. A partir do mês de setembro (9), as temperaturas começaram a subir, diminuindo a umidade relativa do ar. Assim, em temperaturas mais altas temos umidade relativa mais baixa. Diferentemente do silo, a umidade relativa do ar ambiente sofre alterações climáticas mais facilmente, assim quando chove a umidade relativa aumenta e geralmente a temperatura diminui. Este gráfico representa a importância do controle de temperatura e umidade relativa, pois as mesmas apresentam variações durante o ano e que precisam ser contornadas para que não existam problemas durante a armazenagem de grãos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho nos permite tecer as seguintes considerações:

- a) Não houve o desenvolvimento de micro-organismos (fungos) a ponto de comprometer a qualidade do produto armazenado.
- b) Não houve detecção de aflatoxina, do tipo B1, acima dos níveis permitido pela legislação.
- c) As análises físico-químicas demonstraram que o produto armazenado manteve sua qualidade durante todo o período avaliado.
- d) Os parâmetros de temperatura e umidade relativa do ar dentro do silo mantiveram-se dentro dos padrões recomendados para um armazenamento eficiente.

Com base nos resultados obtidos neste experimento, conclui-se que o processo de armazenamento desenvolvido pela cooperativa é eficiente para a manutenção da qualidade do produto armazenado.

REFERÊNCIAS

- ALESSI, M.; RAUPP, D.; GARDINGO, J.; **Caracterização do Processamento da Farinha de Milho Biju para o Aproveitamento dos Subprodutos**. Publ. UEPG Exact Soil Sci, Agr. Sci. Eng., Ponta Grossa, 9 (2): 31-39, ago. 2003.
- ALMEIDA, A.V.A.F.; et.al; **Ocorrência de Aflatoxinas em Milho Destinado a Alimentação de Aves do Estado da Bahia**. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.76, n.3, p.353-358, jul./set., 2009.
- ALONSO, L.F.T. Desenvolvimento de um aplicativo para o projeto de secadores industriais. **Exame de qualificação para doutorado em Engenharia Agrícola** - FEAGRI - UNICAMP. Campinas, 1998. 49 p.
- AMARAL, K.; et al. Aflatoxinas em Produtos à Base de Milho Comercializados no Brasil e Riscos para a Saúde Humana. **Revista: Ciência e Tecnologia em Alimentos**. Campinas, abr.-jun. 2006. 30p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **A.O.A.C.** Official methods of analysis, 16 ed, rev e cum. Washington. D.L. 1997.
- ARAÚJO, C.; É hora de armazenar o milho e ficar atento às pragas de grãos armazenados. **Jornal Eletrônico da EMBRAPA milho e sorgo**. Ano 02 - Edição 05 - Março de 2008.
- ARCE, M.A.B.; Pós-colheita e Armazenamento de Grãos. Depto. Agroindústria, Alimentos e Nutrição **ESALQ/USP**, 2009.
- AVELAR, S.A.; VILLELA, F.A.; PESKE, S.T.; Avanços na secagem de sementes, emprego de ar desumidificado por resfriamento. **Revista Grãos – da semente ao consumo**, julho/agosto, 2013.
- BENTO, L.F.; et.al. Ocorrência de Fungos e Aflatoxinas em Grãos de Milho. **Rev Inst Adolfo Lutz**. 2012; 71(1):44-9
- BORDIGNON, B.C.S.; Relação das Condições de Armazenamento com a Qualidade Fisiológica de Sementes e Composição do Óleo Extraído de Cultivares de Soja. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Santa

Maria Centro de Ciências Rurais Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Santa Maria, RS, Brasil 2009.

BRAGA, L.; et al. Uso de Ratos de Laboratório para Determinar o Valor Nutritivo do Milho em Diversos Níveis de Carunchamento. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.32, n.2, p.331-336, 2003.

BRASIL. Agência Nacional da Vigilância Sanitária – ANVISA. **RESOLUÇÃO - RDC Nº 7, DE 18 DE FEVEREIRO DE 2011.**

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Milho. 2012. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/milho>. Acesso em 21 de janeiro de 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. **Instrução Normativa 03/2010.**

BRASIL. Ministério da agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. **Portaria Nº845, de 8 de novembro de 1976.** Padronização, classificação e comercialização interna de milho.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria nº. 07, de 09 de novembro de 1988. Estabelece os padrões mínimos das diversas matérias primas empregadas na alimentação animal. **Diário Oficial da União**, 09 de novembro de 1988.

BROD, F.P.R. Construção e teste de um secador vibro-fluidizado. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Faculdade de Engenharia Agrícola, UNICAMP, Campinas, 1999.

CANÇADO, R. A. Avaliação microbiológica e micotoxicológica de grãos de milho (*Zea mays* Linné) e soja (*Glycine max* (Linné) Merrill) provenientes de cultivo convencional das sementes naturais e geneticamente modificadas. 2004. 166 f. **Tese doutorado em Tecnologia em alimentos**-Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

CAMPOS, T.; FILHO, V.; **Principais Culturas** 2ed. Campinas, Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, p. 109-111, 1973.

CASEMG – Companhia de Armazéns e Silos do Estado de Minas Gerais. Processo de Limpeza. Disponível em:

http://www.casemg.com.br/servicos/limp_processo.htm, acesso em 06 de novembro de 2013.

CIRIO,G.M.; Detecção e Controle de Fungos em Sementes de Milho (Zea Mays) Armazenadas. **Dissertação** Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1998.

COMIL – Silos e Secadores: Secadores. Disponível em: <http://www.comil.com.br/ptb/produtos/secadores>, acesso em 06 de novembro de 2013.

CONAB- Companhia Nacional de Abastecimento. **Produção de milho no Paraná, 2012**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/>, acesso em 05 de setembro de 2013.

CORTES.N.A. Ocorrência de aflatoxinas em milho produzido pelo sistema tradicional de cultivo, em comunidades de agricultura familiar, no estado de Mato Grosso. **Hig Alimentar. 2000**;14(77):16-25

COSTA,R.; et al. Podridões do colmo e das raízes. Agência de informação – **EMBRAPA**, 2005.

CUNHA,O.P.; Curso operacional de preparação para a safra e pós colheita. **Apostila: Dryeration**, 2001.

CRUZ, P.; *Aspergillus parasiticus*. Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza. São Paulo, 2007.

DEMARCHI, M. Análise da conjuntura agropecuária-safra 2010/11. **SEAB** (Secretaria da agricultura e do abastecimento -Estado do Paraná). Boletim informativo/outubro de 2010.

DEVILLA, I.; et al. Variação da temperature e umidade de grãos armazenados em silos com aeração. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, V.8, N.2/3, P.284-291, 2004.

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

DIONELLO, R.G. Método de secagem e sistema de armazenamento na qualidade dos grãos e na ocorrência de micotoxinas em milho. 2000. 42f. **Dissertação (mestrado)** -Programa de Pós graduação em Ciências e Tecnologia Agroindustrial da Faculdade de agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2000.

ELIAS, M.; Armazenamento e Conservação de Grãos. Universidade federal de Pelotas, 2003.

ELIAS, M.; Manejo tecnológico da secagem e do armazenamento de grãos. Pelotas: Ed. Santa Cruz, 2008.

ELIAS, M; et al.; Eficiência na aeração de grãos durante a armazenagem. **Conferência:** 5º Conferência Brasileira de Pós- Colheita. 19 a 21 de outubro de 2010. Foz do Iguaçu, 2010.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. Milho: história e arte. **Jornal Eletrônico da EMBRAPA MILHO E SORGO**. Maio de 2008.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. **Circular Técnica, 75**. Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho. Dezembro, 2006.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. **Circular Técnica, 66**. Grãos ardidos em milho. Dezembro, 2010.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. **Circular Técnica, 55**. Armazenagem de milho a granel na fazenda. Dezembro, 2004.

FARIAS, A. X. et.al; Contaminação Endógena por *Aspergillus spp.* em Milho Pós-Colheita no Estado do Paraná. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.35, n.3, p.617-621, mar. 2000.

FERRARI FILHO, E. Métodos e temperaturas de secagem sobre a qualidade físico-química e microbiológica de grãos de milho no armazenamento. **Dissertação (mestrado)** - Programa de Pós graduação em Fitotecnia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2011.

FREIRE, F.; et al. Micotoxinas: importância na alimentação e na saúde humana e animal – Fortaleza: **Embrapa** Agroindústria Tropical, 2007.48p.

FREITAS, F.; Estudo genético-evolutivo de amostras modernas e arqueológicas de milho (*Zea mays, L.*) e feijão (*Phaseolus vulgaris, L.*). 2001. **Tese Doutorado** (agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, Brasil.

FOOD INGREDIENTES BRASIL. Micotoxinas. **Rev. Fib.** ed. 2, n 7, p. 32-40, 2009.

FORNEL, P.; Armazenagem de Grãos. **Revista: Grãos Brasil** pg24. Brasil, 2010.

GASPERINI, A.; **BIOCONTROLE DE *Fusarium verticillioides* EM MILHO.** Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, 2011.

GONÇALVES, R.A.; SANTOS, J.P.; TOMÉ, P.H.F.; PEREIRA, R.G.F.A.; ASCHERI, J.L.R.; ABREU, C.M.P. Rendimento e composição química de cultivares de milho em moagem a seco e produção de grits. **Ciência e agrotecnologia**, v.27, 2003.

GONZALEZ, R.J.; TORRES, R.; DE GREEF, D.; BONALDO, A.; RO BUTTI, J.; BORRAS, F. Efecto de La dureza de endosperma Del maíz sobre las propiedades de hidratación y cocción. Archivos Latinoamericanos de nutrición, Caracas, 2005.

GUTKOSKI, L.C.; Avaliação da Composição Química de Milho Seco e Armazenado em Silo Tipo Alambrado com Ar Natural Forçado. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** vol.29 no.4 Campinas Dec. 2009.

HEUERT, K.; Determinação de Umidade. Revista: **Grãos Brasil** pg 15. Brasil, 2011.

JAY, J.; et al. **Microbiologia de alimentos.** Trad. Tondo. 6 ed.- Porto Alegre: Artmed, 2005, p. 633.

JULIATTI, F.C.; ZUZA, J.L.M.F.; SOUZA, P.P de.; Anely Castilho POLIZEL, A.C. efeito do genótipo de milho e da aplicação foliar de Fungicidas na incidência de grãos ardidos. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 23, n. 2, p. 34-41, Apr./June 2007.

KEPLER WEBER. **Catálogos técnicos**. Panambi-RS: Kepler Weber Industrial S/A. Disponível em: <http://www.kepler.com.br/view/pt/default.aspx>, acesso em 07 de novembro de 2013.

LEAL, P.; et al. Micotoxinas do Fusarium e seu Potencial Carcinogênico. **Revista: Newslab** – pg. 70, 2005.

LENZ,G.; et al. Determinação da Umidade do Milho Utilizando o Método de Estufa. **Encontro: III ENDICT** – Encontro de Divulgação Científica e Tecnológica. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Toledo, 2011.

LINO,C.; SILVA, L.; PENA, A.; Fumonisin: presença em alimentos, implicações na saúde e aspectos legislativos. **Revista: Portuguesa de Ciências Veterinárias**. Coimbra, Portugal, 2004.

LUCCHIN, M.;BARCACCIA,G.;PARRINIP.C.; Characterization of aflint maize (zea mays L.convar. mays)Italian landrace: I. morpho-phenological and agronomic traits. *Genetic Resources and cron evolution*, v. 50, 2003.

LUTZ, A. INSTITUTO ADOLFO LUTZ, IAL. **Métodos Físico Químicos para Análise de alimentos**. Ed 4; 1ª edição digital, p. 98-125, 2008.

MARQUES.O.J, VIDIGAL.F.; DALPASQUALE, S.;; Pricinotto LF, Machinski M. Incidência fúngica e contaminações por micotoxinas em grãos de híbridos comerciais de milho em função da umidade de colheita. *Act Scient Agro*. 2009;31(4):667- 75.

MATTOS,D.A.; Qualidade dos Grãos de Milho Utilizados em uma Industria Alimenticia de Campina Grande – PB no Período de 2004 – 2005. **Revista Brasileira de Toxicologia** 22, n.1-2 (2009) 34-41

MAZIERO, M.; BERSOT, L.; Micotoxinas em Alimentos Produzidos no Brasil. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.12, n.1, p.89-99, 2010.

MONTEIRO, M.C.P.; Identificação de fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* em solos preservados no cerrado. **Dissertação: Universidade Federal de Lavras - UFLA**, 2012.

MULLER, E.; Aspectos Gerais e Morfológicos de *Aspergillus Níger*. 2010.

MUSSOLINI, C. R. Caracterização Físico-Química e Rendimento da Moagem Úmida de Quatro Híbridos de Milho. **Dissertação de Mestrado**. 2009. São José do Rio Preto – SP. 58 f.

MUIR, W.R. Temperature and moisture in grain storages. In: SINHA, R.N. & MUIR, W.E. Grain storage part of a system. Washigton, AVI Publishing, 1973.

NASCIMENTO, V.R.G.; QUEIROZ, M.; **Estratégias de Aeração de Milho Armazenado: Temperatura e Teor de Água** Eng. Agríc., Jaboticabal, v.31, n.4, p.745-759, jul./ago. 2011.

OLIVEIRA, C.; GERMANO, P.; Aflatoxinas: conceitos sobre mecanismos de toxicidade e seu envolvimento na etiologia do câncer hepático celular. **Revista: Saúde Pública**, 31 (4): 417-24, 1997.

ONO, E.Y.S.; et al. **Princípios básicos para análise de micotoxinas**. 1 ed. Londrina – PR: Universidade Estadual de Londrina, 2007. V.1. 72p.

PAES, D.C.M. Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho. Revista: **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)**. Nº. 75, p. 1-5, 2006.

PARK, K.J.; et al. Conceitos de processo e equipamentos de secagem. **Manual**. Disponível em: http://www.feagri.unicamp.br/ctea/manuais/concproceqsec_07.pdf, acesso em 05 de novembro de 2013. Campinas, 2007.

PEIXOTO, C.; O milho: o rei dos cereais – da sua descoberta há 8.000 anos até as plantas transgênicas, 2002.

PEREIRA, M.M.G. et.al. Crescimento e Produção de Aflatoxinas por *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus* **B.CEPPA**, Curitiba, v. 20, n. 1, p. 141-156, jan./jun. 2002

PICANÇO, M.; Manejo Integrado de Pragas. Universidade Federal de Viçosa, 2010.

PINTO, A. T. B. Caracterização de variedades de milho crioulo cultivadas na região dos campos gerais para utilização agroindustrial. 2009.80f. **Dissertação (Mestrado)**-Programa de Pós graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, 2009.

PINTO,N.; Qualidade Sanitárias de grãos. **EMBRAPA milho e sorgo**, 2005. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho/dsanitaria.htm>>, acesso em 20 de janeiro de 2013.

PRADO,G.; et al. Ocorrência de micotoxinas em milho pós colheita e armazenado do Estado de Minas Gerais, safra 1991. Revista: **Higiene Alimentar**, v.9, n.35, p24-27, 1995.

QUIRINO, J.R.; Aeração de grãos e controle de temperatura na massa de grãos. **Conferência: 5º Conferência Brasileira de Pós- Colheita**. 19 a 21 de outubro de 2010. Foz do Iguaçu, 2010.

RAMOS,C.R.B.A.; et.al. Contaminação por Aflatoxinas em Híbridos de Milho Cultivados em Três Regiões do Estado de Goiás. Pesquisa Agropecuária Tropical, v. 38, n. 2, p. 95-102, jun. 2008.

RIBEIRO, S.A.L. et.al; Fungos Filamentosos Isolados de Produtos Derivados do Milho Comercializado em Recife, Pernambuco. **Rev. bras. Bot.** vol.26 no.2 São Paulo June 2003

RODRIGUES, A.; GESTÃO ESTRATÉGICA DA ARMAZENAGEM. 2 ed.rev. e ampl. São Paulo, Aduaneiras 2007.

RUPOLLO,G.;et.al. Sistemas de Armazenamentos Hermético e Convencional na Conservabilidade de Grãos de Aveia. **Ciência Rural**, v.34, n.6, nov-dez, 2004.

SALINAS,Y.M.;ARELANNO,J.L.;MARTINEZ,F.B. Propiedades físicas, químicas y correlacione de maices hidridos precoces para valles altos, Archivos Latinoamericanos de Nutrition, Caracas,1992.

SALUNKE,D.K.;CHAVAN,J.K.;KADAN,S.S.;Maize. In :Postharvest brotchnology of cereals. Boca Raton, CRC,1985.

SANTURIO, J.M. Micotoxinas e Micotoxicoses na Avicultura. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. vol. 2 n.1 Campinas Jan./Apr. 2000.

SANTIN, J.A.; et al Efeito do Retardamento da Colheita de Milho na Incidência de Grãos Ardidos e de Fungos Patogênicos. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.3, n.2, p.182-192, 2004.

SANTOS, J.P. Controle de pragas durante o armazenamento de milho. Sete Lagoas: **Embrapa milho e sorgo**, 2006.

SANTIN, J.A.; Fungos de Pré e Pós Colheita e a Qualidade de Grãos de Milho. **Tese Doutorado**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2001.

SCHMITT, C.; FISS, L.; Micotoxina Fumonisin na Avicultura Comercial. **Seminário: Interinstitucional de ensino, pesquisa e extensão – UNICRUZ**, Cruz Alta, 2011.

SEAB/DERAL – Secretária de Estado da Agricultura e do Abastecimento/Departamento de Economia Rural. Milho – **Análise da Conjuntura Agropecuária, 2012**.

SENAR – Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. **Cartilha: Trabalhador na classificação de grãos**. Curitiba, 2004 28p.

SILVA, J.; FILHO, A.; DEVILLA, I.; Aeração de Grãos Armazenados, 2009.

SILVA, L.C.; **Fungos e Micotoxinas em Grãos Armazenados**. Universidade Federal do Espírito Santo. Disponível em: <http://www.agais.com/fungos.htm>, acesso em 09 de setembro de 2013.

SILVA, et al. Contagem de Bolores e Leveduras. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. v. 03, Nº. 157, p. 99-103, 2007.

SIMEPAR – Instituto Tecnológico **Simepar**. Dados de Umidade Relativa – UR e Temperatura da Estação Meteorológica de Francisco Beltrão – PR, 2013.

TINOCO, M.L.P. Silenciamento trans-específico in vivo de fumo e o fungo fitopatogênico *Fusarium verticillioides*. **Tese doutorado em biologia molecular**-Universidade de Brasília, 2010.

TISSOT, et al. Características Física, Química, Microbiológicas e sensorial. Curitiba. v.19.n.1.2011.

URU, P.; **Do Milho à Pamonha**. Brasília, 2007. Monografia (especialização em Tecnologia em Alimentos) – Universidade de Brasília.

VECCHIATO, M. H.; KOHARA, E. Y. ; MENTEN, J. O. M. Efeito do armazenamento em sementes de feijão t r a t a d a s com fungicidas. **Fitopatologia Brasileira**, v. 1, n. 2, p. 204-208, jun.1994.

VIANA, G. Milho: novos sistemas de produção e busca por maiores produtividades provocam aumento da severidade das doenças. **Jornal Eletrônico da Embrapa Milho e Sorgo**. Ano 03 - Edição 19 - Novembro de 2009. Sete Lagoas-MG.

YANAKA, E.; et al. **Avaliação da presença de micotoxinas em milho (*Zea mays* linné) e em rações destinadas à avicultura comercial de postura nas regiões norte e noroeste do estado do Paraná**. Universidade Estadual de Londrina, 2007.

ZULEN, A.; ALMEIDA, M.; LIRA, E.; **Manual de Controle Integrado de Pragas**. Prefeitura Municipal de Campinas, 2007.

WEBER, E. **Excelência em beneficiamento e armazenamento de grãos**. 5. ed., Panambi: Agropecuária, 2005.