

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia
de Sementes



Tese

**Método de estufa para determinação do grau de
umidade de sementes de arroz e soja**

Madelon Schimmelpfennig Lopes

Pelotas, 2008

Método de estufa para determinação do grau de umidade de sementes de arroz e soja

Madelon Schimmelpfennig Lopes

Engenheiro Agrônomo, Mestre em Ciências

Tese apresentada à Universidade Federal de Pelotas, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, sob orientação da Prof^a. Dr^a. Maria Ângela André Tillmann, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Pelotas, 2008

Dados Internacionais de Publicação (CIP)

L864m Lopes, Madelon Schimmelpfennig
 Método de estufa para determinação do grau de
 umidade de sementes de arroz e soja / Madelon
 Schimmelpfennig Lopes; Maria ângela André Tillmann,
 orientador; Francisco Amaral Villela e Leopoldo Mario
 Baudet, co-orientador. - Pelotas, 2008.
 36 f.: il.

 Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de
 Sementes), Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel,
 Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2008.

 1.Glycine max. 2.Oryza sativa. 3.teor de água.
 4.sementes inteiras. 5.sementes moídas. 6.estufa. I.
 Tillmann, Maria ângela André , orient. II. Baudet,
 Francisco Amaral Villela e Leopoldo Mario , co-orient.
 III. Título.

CDD: 631.531

Catálogo na Fonte: Gabriela Machado Lopes CRB:10/1842
Universidade Federal de Pelotas

Comitê de Orientação:

Orientadora: Prof^a. Maria Ângela André Tillmann

Co-Orientador (es): Prof. Francisco Amaral Villela

Prof. Leopoldo Mario Baudet

Banca Examinadora:

Prof^a. Maria Ângela André Tillmann (UFPel)

Prof. Dario Munt de Moraes (UFPel)

Pesq. Dr. Élbio Treicha Cardoso (Embrapa Transferência de Tecnologia)

Prof. Nilson Lemos de Menezes (UFSM)

Prof. Orlando Lucca Filho (UFPel)

Agradecimentos

A Deus pelo dom da vida.

À Universidade Federal de Pelotas, a todos os professores, em especial aos do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, pelos conhecimentos transmitidos.

A Prof^a. Dr^a. Maria Ângela André Tillmann pela orientação e pelos ensinamentos transmitidos que colaboraram muito para a minha formação.

Aos Professores Dr. Francisco Amaral Villela e Leopoldo Mario Baudet pela co-orientação.

Em especial, aos colegas Marivan da Silva Pinho e Geri Eduardo Meneghello pelo incansável auxílio na execução deste trabalho.

Aos familiares e amigos pelo incentivo e apoio, sempre presente em todos os momentos, e que deram mais sentido a esta caminhada.

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

Agradeço de coração!

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espíritos que nem gozam muito, nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta onde não conhecem nem vitória, nem derrota”.

Theodore Roosevelt

Resumo

LOPES, Madelon Schimmelpfennig. **Método de estufa para determinação do grau de umidade de sementes de arroz e soja.** 2008. 36. Tese (doutorado) - Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas.

O presente trabalho teve como objetivos: a) comparar o método oficial de determinação do grau de umidade de sementes de arroz e soja utilizados no Brasil (Estufa a 105°C/24 horas) com o método de referência Estufa a 103°C/17 horas, adotado pela ISTA, e b) verificar a possibilidade de determinação do grau de umidade das sementes de arroz e soja em tempo inferior a 24 horas. Estudo prévio foi realizado para verificar a influência da posição da amostra na estufa com a finalidade de reduzir a variação na determinação do grau de umidade das sementes analisadas. Foram utilizadas sementes de arroz e de soja, com graus de umidade obtidos pelo método de Estufa a 105°C/24 horas de 9,0%; 17,6% e 7,5%;16,8%, respectivamente. Foram determinados os graus de umidade das sementes inteiras de arroz e soja, em estufa do tipo mecânico de ar forçado, submetidas às temperaturas de 70, 103, 105 e 130°C por um período de 1, 3, 5, 7, 17, 24, 48, 72 e 96 horas, para cada uma das temperaturas utilizadas. Foram utilizadas sementes moídas, segundo critérios da ISTA, para a determinação do teor de água pelo método de referência (Estufa a 103°C/17 horas), e para a determinação do grau de umidade pelo método alternativo para sementes de arroz Estufa a 130°C por 2 horas. O método de Estufa a 105°C/24h subestima o teor de água das sementes de arroz e soja com grau de umidade inferior a 10% e superestima o teor de água das sementes quando for igual ou superior a 17,6%. É possível determinar o teor de água das sementes de soja em tempo inferior a 24 horas, utilizando sementes inteiras e temperatura de 130°C, dependendo do teor de água das sementes.

Palavras-chave: *Glycine max*; *Oryza sativa*; teor de água; sementes inteiras; sementes moídas; estufa.

Abstract

LOPES, Madelon Schimmelpfennig. **The oven drying method for determination of the moisture content of rice and soybean seeds.** 2008. 36. Tese (doutorado) - Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas.

The aim of this work was to a) compare the standard official methodology in Brazil for the determination of the moisture content of rice and soybean seeds (i.e. oven dried at 105°C for 24 hours) to the ISTA standard method (103°C for 17 hours), and b) test the possibility to determine whether the moisture content (MC) of rice and soybean seeds can be accurately estimated drying for a period shorter than 24h. Previously, a study was performed to establish the influence of the sample position within the oven, aimed to reduce the variation of the results on MC among different seed samples. The rice and soybean seeds tested in the experiment showed MC as determined by oven drying at 105°C/24h of 9.0%; 17.6% and 7.5%; 16.8%, respectively. The MC of whole rice and soybean seeds was estimated through oven drying at temperatures of 70, 103, 105 e 130°C for periods of 1, 3, 5, 7, 17, 24, 48, 72 and 96 hours for each level of temperature. Following ISTA standards, ground seeds were employed to determine their MC through the standard procedure (oven dried at 103°C/17h), whereas for the alternative procedure rice seeds were oven dried at 130°C for two hours. It was concluded that drying at 105°C/24h either underestimate the MC of rice and soybean seeds, when the MC was under 10% and overestimate when was equal or superior of 17,6%. It is possible to estimate its value in whole soybean seeds by drying them at 130°C for less than 24h depending of the seeds MC.

Keywords: *Glycine max*; *Oryza sativa*; moisture content; whole seeds; ground seeds; oven.

Lista de Figuras

- Figura 1- Croqui demonstrando a variação do grau de umidade de sementes de arroz na prateleira superior da estufa mecânica de ar forçado.....25
- Figura 2- Croqui demonstrando a variação do grau de umidade de sementes de arroz na prateleira inferior da estufa mecânica de ar forçado.....25
- Figura 3- Teores de água de sementes de arroz, obtidos em estufa nas temperaturas de 70, 103, 105 e 130°C e pelo método de referência (10,0%).....28
- Figura 4- Teores de água de sementes de arroz, obtidos em estufa nas temperaturas de 70, 103, 105 e 130°C e pelo método de referência (17,6%).....30
- Figura 5- Teores de água de sementes de soja, obtidos em estufa nas temperaturas de 70, 103, 105, 130°C e pelo método de referência (7,7%).....31
- Figura 6- Teores de água de sementes de soja, obtidos em estufa nas temperaturas de 70, 103, 105, 130°C e pelo método de referência (15,5%).....33

Sumário

1. Introdução	09
2. Revisão de Literatura	11
2.1. A água na semente	11
2.2. Métodos de Estufa	14
2.3. Comitê de Umidade de Sementes da ISTA	19
3. Material e Métodos	22
3.1. Estudo 1 - Influência da posição da amostra na estufa	22
3.2. Estudo 2 - Comparação entre métodos de Estufa para a determinação do grau de umidade de sementes de arroz e soja	22
4. Resultados e Discussão	26
4.1. Estudo 1 - Influência da posição da amostra na estufa	26
4.2. Estudo 2 - Comparação entre métodos de Estufa para a determinação do grau de umidade de sementes de arroz e soja	27
4.3. Considerações finais	34
5. Conclusões	37
6. Referências	38

1. INTRODUÇÃO

No processo de produção de sementes, a análise das sementes é realizada com dois objetivos: atender às exigências para a comercialização das sementes e o controle de qualidade da produção. Nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), elaboradas pelo Ministério da Agricultura, estão indicados os procedimentos padrões para a obtenção de amostras e para a execução dos testes de pureza física, verificação de espécies e cultivares, exame de sementes nocivas, germinação, tetrazólio, determinação do grau de umidade, sanidade de sementes e outros, além das tolerâncias.

A viabilidade das sementes e, conseqüentemente, sua maior ou menor longevidade, depende da interação de vários fatores, entre os quais, o teor de água ocupa lugar de indiscutível destaque. O grau de umidade influencia no comportamento da semente quando ela é submetida as mais diferentes situações que acompanham todas as etapas de produção, da colheita à comercialização. Portanto, determinações freqüentes do grau de umidade são necessárias para estabelecer e adotar procedimentos adequados para evitar ou, pelo menos, minimizar os danos que freqüentemente ocorrem nas sementes.

É em função do grau de umidade das sementes que se define o momento da colheita, a regulagem de máquinas, a necessidade de secagem, o tipo de embalagem, sendo que esta influencia de modo decisivo, também na manutenção da qualidade das sementes durante o beneficiamento, o armazenamento e a comercialização.

Em 1956, quando o método para determinação do grau de umidade foi introduzido no Brasil, os laboratórios não se encontravam convenientemente equipados para seguir os métodos adotados pelas Regras Internacionais, as metodologias foram estabelecidas de acordo com as condições e possibilidades dos laboratórios naquela ocasião, conforme esclarecimentos feitos pelo Dr. Bacchi no prefácio das RAS (Bacchi,1963).

O método oficial utilizado no Brasil para a determinação do teor de água das sementes é o de estufa à temperatura de $105\pm 3^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas, com sementes

inteiras, independentemente da espécie, enquanto nas RAS estabelecidas pela ISTA (International Seed Testing Association, 2008) está prevista a moagem da amostra, em função do tamanho da semente e permeabilidade do tegumento.

Outro aspecto importante, é que as RAS da ISTA adotam para a determinação do grau de umidade, o método da estufa à alta temperatura constante, 130-133°C, por um período de 4 horas para milho, 2 horas para outros cereais e 1 hora para outras espécies. Para as espécies de sementes que contém, além de água, outros constituintes voláteis a 130°C, é recomendado o método de estufa à baixa temperatura constante, 103±2°C por 17±1 hora. Os métodos de determinação de umidade indicados pela ISTA mudaram, consideravelmente, desde 1931, quando sementes de todas as espécies eram secas inteiras, por 5 horas a 103°C.

O método da estufa a 105°C não consta nas RAS da ISTA, entretanto, é oficial e padrão para a determinação de umidade de sementes nos laboratórios do Brasil e serve como referência para calibrar os equipamentos baseados nos métodos indiretos (Noomhorm e Verma, 1982 e Brasil, 1992).

Diferentes métodos de referência têm sido utilizados para a calibração dos métodos oficiais da estufa e alguns têm desempenhado importante papel no desenvolvimento destes procedimentos: secagem até peso constante, estufa à vácuo, método de destilação com tolueno, pentóxido de fósforo à vácuo e Karl Fischer.

Em 2007, o Comitê de Umidade de Sementes da ISTA propôs a substituição do método Karl Fischer, como método de referência para a determinação do grau de umidade de sementes por ser de difícil aplicação e apresentar problemas relacionados à exatidão, repetibilidade e reprodutibilidade (Grabe, 1992). Este comitê indicou como nova referência, o método da Estufa a 103°C por 17 horas, por atingir o balanço entre retenção de água na amostra, perda de voláteis e reações de decomposição (Grabe, 1984; Grabe, 1990)

As Regras para Análise de Sementes do Brasil estão sendo atualizadas pelo Ministério da Agricultura, portanto, é oportuno para a revisão do capítulo de “Determinação do grau de umidade das sementes” verificar a precisão do Método Oficial de Estufa a 105°C por 24 horas.

Diante do exposto, o presente trabalho foi conduzido com os seguintes objetivos: a) comparar o método oficial de determinação do grau de umidade de sementes de arroz e soja utilizados no Brasil (Estufa a 105°C por 24 horas) com o método de referência Estufa a 103°C por 17 horas, adotado pela ISTA e b) verificar a possibilidade de determinação do grau de umidade das sementes de arroz e soja em tempo inferior a 24 horas para o método de Estufa a 105°C.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A água na semente

A semente e o ambiente são dois sistemas que se encontram em permanente troca de água, com sentido de movimentação estabelecido pela diferença entre os potenciais hídricos de ambos, sendo o movimento da água do maior para o menor, até que seja estabelecido o equilíbrio energético da água entre a semente e o ar (Krzyzanowski, 2006).

As trocas de água dependem do gradiente de potencial hídrico do ambiente da semente. Quando há diferença entre essas pressões, estabelece-se um gradiente, gerando um fluxo de movimentação do vapor d'água, de modo que, para uma determinada umidade relativa do ar, sempre há um teor de água correspondente da semente. Quando a pressão de vapor da semente é menor que a do ar atmosférico, ela absorve água do ar (adsorção) e a semente cede água ao ar (dessorção) quando sua pressão de vapor supera a do ar (Krzyzanowski, 2006).

A água presente na semente pode estar ligada a substâncias, com graus de força variável, desde a água livre até a quimicamente presa. Durante a secagem, a água livre é removida rápida e facilmente pelo calor, enquanto a água adsorvida é tão fortemente retida que é removida somente com altas temperaturas, podendo causar a volatilização e decomposição de outras substâncias integrantes da semente.

Dentre os diferentes tipos de substâncias constituintes das sementes predominam os carboidratos, os lipídios e as proteínas, em quantidades variáveis com a espécie e a cultivar. As proteínas têm alta afinidade com a água e são consideradas hidrófilas. Nos lipídios, o número de pontos de ligação com a água é menor e a associação se efetua apenas por pontes de hidrogênio, fazendo com que sejam considerados hidrófobos (Krzyzanowski, 2006).

O potencial total de água permite verificar até que ponto um sistema está ou não em equilíbrio hídrico, como também determinar a orientação do deslocamento

do fluxo de água, em função de diferenças entre potenciais de água (Laboriau, 1983).

Uma abordagem geral envolvendo as relações semente/água estabelece que, de acordo com o princípio de superposição, a determinação do potencial de água deve considerar efeitos aditivos de vários potenciais, cada qual representando um tipo de interação entre as moléculas de água e outros constituintes.

O conceito de potencial de água é uma expressão do estado de energia da água; a difusão ocorre através de um gradiente de energia, do maior potencial (menos negativo) para o menor (mais negativo) (Costa, 2001).

A disponibilidade de água, ou seja, sua capacidade de trabalho e translocação são expressas como potencial hídrico (representado pela letra grega ψ - \emptyset) de um sistema aquoso, tendo por referência o potencial da água pura. Isso significa que, quanto mais negativo for o potencial hídrico do sistema considerado menor será também a disponibilidade de água nesse sistema, e quanto mais solutos são adicionados à água, mais energia será necessária para dissolvê-los, diminuindo assim o seu potencial (Larcher, 2000).

Outro aspecto importante da energia da água nas sementes, é que, sob uma mesma atmosfera, com umidade relativa do ar constante, sementes de diferentes espécies apresentam diferentes teores de água, mas o potencial hídrico normalmente é muito próximo (Villela & Marcos Filho, 1998). Portanto, é muito importante que sejam investigados os padrões e relações entre umidade e potencial hídrico em sementes de diferentes espécies, pois os diferentes níveis de secagem podem afetar os tecidos significativamente.

Uma das dificuldades encontradas na extração de toda água de uma semente, tem origem principalmente, no fato da água poder apresentar-se de diferentes formas: a) água absorvida ou água livre, associada ao sistema coloidal da semente por meio de forças capilares, ocupando espaços intercelulares e poros do material; b) água adsorvida, também considerada livre, mas “presa” ao sistema graças à atração molecular, sendo retida por adesão de suas moléculas ao material sólido; c) água de constituição, unida quimicamente à substância adsorvente, ou

fazendo parte integrante dessa substância, sendo removida apenas sob condições especiais (Tillmann, 1991).

Não há uma linha nítida de demarcação entre a água livre e a adsorvida, uma vez que toda água adsorvida é retida com força igual (Hart & Golumbic, 1963 e Leopold & Vertucci, 1989). A água de constituição não deve ser removida, caso contrário acarretará na quebra de estrutura química, dando um valor irreal nas determinações de umidade, como não existe um valor fixo para a separação da água livre da de constituição, os métodos de determinação de umidade são também um pouco arbitrários (Sasseron, 1978).

De acordo com Lasseran (1978) e Copeland & McDonald (1985), em função da natureza das ligações físico-químicas existentes entre os componentes da semente e as moléculas de água, a água na semente apresenta-se sob quatro formas diferentes: a) água em monocamada, constituída por uma camada monomolecular em torno das macromoléculas da matriz, ligada por meio de ligações iônicas aos grupos carboxila e amino; b) água em multicamada, formada por uma camada polimolecular, que se fixa sobre a camada monomolecular, anteriormente descrita, ligada através de pontes de hidrogênio, aos grupos hidroxila e amida; c) água osmótica, constituída de água líquida sob tensão osmótica, que retém diferentes substâncias dissolvidas nas células; d) água livre, retida mecanicamente pelas paredes celulares, ocupando os espaços intercelulares.

A água livre necessita, para sua evaporação, energia no nível do calor latente de vaporização, sendo, facilmente removida por ocasião da secagem. As formas de água osmótica, em multicamada e em monocamada, por sua vez, apresentam suas moléculas ligadas às estruturas sólidas das sementes através de ligações físico-químicas, cujos níveis energéticos crescem da água osmótica para a água em monocamada. Estas formas de água necessitam maior nível de energia para sua remoção, portanto, sua retirada é mais difícil durante a secagem (Lasseran, 1978).

Considerando-se o modelo de múltiplos sítios de sorção de água na proteína, Vertucci (1993) e Vertucci & Farrant (1995) descreveram cinco tipos de água na semente e os intervalos correspondentes de potenciais hídricos e os teores de água, de acordo com a mobilidade da molécula e as propriedades

termodinâmicas da água, são eles: a) água tipo 1, é a água remanescente em tecidos muito secos (grau de umidade inferior a 7,5% base úmida), praticamente não tem mobilidade. Essa água é fortemente associada à macromolécula, num processo de “quimiossorção” (presa quimicamente por ligações iônicas), sendo considerada como água estrutural, não apresentando propriedades de solvente; b) água tipo 2, essa água forma película delgada na superfície da matriz (teor de água entre 7,5% e 20%), apresentando interação com os sítios polares de macromoléculas tem um potencial hídrico de -11 a -150 MPa; c) água tipo 3, é retirada com tensões de -4 a -11 MPa; d) água tipo 4, corresponde às características de solução concentrada, ocupando espaços intercapilares entre as macromoléculas sem interagir com sua superfície. Corresponde a teores de água entre 33% e 41%, e está retida em tensões de -2 a -4 MPa. Esse tipo de água inclui graus de umidade favoráveis ao armazenamento de sementes recalcitrantes e ao desenvolvimento da semente durante grande parte do período de maturação; e) água tipo 5, corresponde às características de solução diluída. Sua ocorrência é observada sob graus de umidade superior a 41%, está retida com tensões inferiores a -1,5 MPa, não ocorre ligações às macromoléculas.

2.2. Métodos de Estufa

Os métodos de Estufa possuem popularidade mundial como métodos de determinação de umidade, mas não são reconhecidos como um verdadeiro método de referência como, por exemplo, o Karl Fisher, destilação por tolueno, ou métodos com utilização de substâncias dessecantes (ISTA, 2008). Baseiam-se na secagem de uma amostra de sementes de peso conhecido e no cálculo da quantidade de água, através da perda de peso da amostra, é considerado um método preciso, pois apresenta valores muito próximos do verdadeiro grau de umidade da amostra, apesar de poder eliminar compostos voláteis (Marcos Filho et al, 1987).

Durante a secagem, além da perda de água, podem ocorrer outros processos que podem influenciar o resultado. Exemplos desses processos incluem a perda de substâncias voláteis, bem como a oxidação de óleos e a desnaturação de amido (ISTA, 2008).

De acordo com as Regras para análise de sementes (RAS) da ISTA (2007) e padrões da “American Association of Cereal Chemists” (ASAE, 1992), as estufas utilizadas na determinação do grau de umidade de sementes podem ser dos tipos: convecção gravitacional ou mecânico de ar forçado.

Existe também a estufa úmida e a estufa a vácuo, a primeira é utilizada mais especificamente para o milho, e envolve a secagem de uma amostra de sementes inteiras por 96 horas a 99-100°C. É similar ao método de estufa a ar, com exceção de que a fonte de calor é a água fervente. A estufa a vácuo é baseada na secagem a 98-100°C de sementes finamente moídas, numa câmara submetida à pressão de 25mmHg ou menos; a amostra é aquecida até obtenção de peso constante, o que pode levar até 5 horas.

A uniformidade de temperatura no interior das estufas é extremamente importante para a determinação do grau de umidade (Tillmann & Cicero, 1998). Cada estufa deve ser avaliada quanto à estabilidade de temperatura, uniformidade de aquecimento, ventilação, taxa de fluxo de ar, tempo de recuperação da temperatura após a inserção das amostras e exatidão do termômetro (Hunt & Pixton, 1974).

De acordo com as RAS da ISTA, a capacidade de aquecimento deve ser tal que pré-aquecida à temperatura requerida, seguida de abertura para colocar os recipientes, a estufa deve retornar à temperatura exigida dentro de 30 minutos (ISTA, 2008).

Um pequeno aumento na temperatura ou pequena diferença no tempo de secagem na estufa pode registrar variações de 1 a 2% no grau de umidade das sementes (Sasseron, 1978 e Puzzi, 1986). Segundo Oxley & Pixton (1961) falsas diferenças nos valores do grau de umidade das amostras podem ser evitadas utilizando uma área limitada da estufa.

A influência da posição das amostras de sementes de feijão sobre o grau de umidade detectado em laboratório foi estudado por Angelini (1977). O autor observou que as sementes localizadas nas prateleiras, superior e inferior, apresentaram um teor de água semelhante entre si, mas significativamente inferior aos apresentados pelas que ficaram na prateleira central. Tillmann (1993) encontrou

variações nas leituras de temperaturas entre as prateleiras de uma estufa de 1,1 a 7,1°C no período de 17 horas. O grau de umidade das sementes de cebola obtido nas diferentes prateleiras diferiu estatisticamente, mas ficaram dentro da tolerância permitida pelas RAS (Brasil, 1992).

Em nível internacional, cada país tem seu método oficial, e dentro de cada país o binômio tempo x temperatura para o método de estufa, varia para determinadas culturas (Bowden, 1984; Stanwood & McDonald, 1989). Nos Estados Unidos da América, o método padrão é o recomendado pelo Departamento de Agricultura (USDA), o qual estabelece a interação tempo x temperatura na estufa em função da cultura, para o milho é de 103°C durante 72 horas (Hanan et al, 1985).

No Brasil, o método para determinação de umidade de sementes oficializado pelo Ministério da Agricultura para todas as espécies, é o da estufa sem ventilação forçada à temperatura de 105°C±3°C por 24 horas, é usado sementes inteiras, qualquer que seja a espécie, com no mínimo duas repetições. De acordo com a RAS (Brasil, 1992), a diferença entre os resultados de duas determinações não deve exceder 0,5%, e se esta for maior, a determinação deverá ser repetida com outras duas repetições, novamente coletadas para este fim.

A ISTA adotou para a determinação do grau de umidade o método de Estufa a alta temperatura constante, 130-133°C, por um período de 4 horas ± 12 minutos para milho, 2 horas ± 6 minutos para outros cereais e 1 hora ± 3 minutos para outras espécies. Para as espécies de sementes que contém, além de água, outros constituintes voláteis a 130°C, é recomendado o método de estufa a baixa temperatura constante 103±2°C por 17±1 hora, considerado um método básico de referência para introdução de novas espécies, e por ser considerado seguro para espécies que contenham substâncias voláteis pode ser usado para todas as espécies (ISTA, 2008).

O limite para utilização do método da alta temperatura constante foi estabelecido por Zeleny (1953) sementes com 25% de teor de óleo, ou que contenham índice de iodo superior a 150, pois geralmente, estas sementes não seriam satisfatoriamente moídas, e o óleo iria oxidar facilmente, causando ganho de peso e interferindo na precisão da determinação do grau de umidade. Este critério utilizado como separador entre a utilização dos métodos de Estufa, alta ou baixa

temperatura constante, tornou-se obsoleto, após estudos de vários autores sobre os teores de óleo de cada espécie, foi verificado uma grande variação, tanto na quantidade, como no tipo de óleo encontrado, sendo influenciado por vários fatores, dentre eles a cultivar e as condições climáticas.

Provavelmente, o conteúdo de óleo não seja o fator mais crítico para a determinação do grau de umidade e o mais importante seja a volatilidade dos constituintes das sementes (Grabe, 1990). Em 1963, Hart & Golumbic mencionaram problemas com a volatilidade em sementes de soja, linho, milho, beterraba, cenoura e ervilha; e Grabe (1987) também mencionou variações nos graus de umidade de sementes de cebola e rabanete devido à volatilidade das substâncias constituintes.

O tempo despendido na determinação pelo método de estufa depende da percentagem de substâncias voláteis e da umidade da semente testada (Grabe, 1984 e 1990). Ambos podem variar entre as espécies e entre amostras da mesma espécie. Como consequência deste fato, a temperatura e a duração da secagem na estufa devem ser tais que, um pouco de água permaneça na amostra para compensar voláteis que foram removidos. O tempo e a temperatura também deve ser tal que reações químicas de decomposição também sejam limitadas.

Dependendo do tamanho das sementes e do tegumento das mesmas, a determinação do grau de umidade pode ser realizada utilizando as sementes inteiras, cortadas ou moídas. Sementes grandes e com tegumento que impeçam a perda de água devem ser moídas antes da secagem, a menos que seu conteúdo de óleo torne difícil esta operação, especialmente em sementes do gênero *Linum* com óleo de alto índice de iodo, ou sujeitas a ganhar peso através da oxidação do material moído.

As sementes de arroz (*Oryza sativa*) devem ser moídas até obter textura fina, ou seja, pelo menos 50% das sementes moídas deverão passar por peneiras de arame com aberturas de 0,5mm e não mais do que 10% deverão permanecer na peneira com aberturas de 1mm, podendo ser utilizado como alternativa para determinação do grau de umidade, o método da alta temperatura constante por 2 horas, havendo necessidade de pré-secagem quando as sementes estiverem com grau de umidade de 13,0% ou mais. As sementes de soja (*Glycine max*), devem ser moídas até obter textura grossa, ou seja, quando pelo menos 50% das sementes

passarem por uma peneira com aberturas de 4mm e não mais do que 55% passarem pela peneira com abertura de 2mm, não é indicado o método da alta temperatura constante, e quando as sementes estiverem com grau de umidade de 10,0% ou mais deverá ser realizada a pré-secagem.

Quatro métodos para determinação de umidade de sementes de feijão, arroz e milho foram comparados por Luz et al (1993), entre eles: método oficial de estufa a 105°C por 24 horas, estufa a 103°C por 72 horas; "pipoqueiro" e o aparelho DUPEA. Foi observado que à medida que aumenta o teor de água há uma tendência de aumentar a diferença entre os métodos DUPEA e estufa 105°C por 24 horas. O método "pipoqueiro" demonstrou boa confiabilidade, pois foi o que menos variou em relação ao método oficial. O método de Estufa 72 horas teve um comportamento significativamente diferente da estufa 24 horas para feijão nível médio de umidade (13,8%), e para milho nos níveis alto (26,8%) e baixo (13,9%) de umidade. Provavelmente, este comportamento ocorreu pelo fato das sementes ficarem 48 horas a mais na estufa, permitindo que a água fosse retirada totalmente da semente, ou que tenha havido decomposição das proteínas, lipídeos e carboidratos e também perdas de substâncias voláteis (Benjamin & Grabe, 1988).

Campos & Tillmann (1996) trabalharam com comparação de métodos de estufa para determinação do grau de umidade de sementes de milho, trigo, arroz, soja e cebola, utilizando o método da Estufa a 105°C por 24 horas para todas as espécies, e ainda, 130°C por 4 horas com moagem para o milho; trigo e arroz 130°C por 2 horas com moagem; soja e cebola, 103°C por 17 horas, as sementes de cebola não foram moídas. Os níveis iniciais de umidade foram: 10,5 e 18,0% para soja; 12,0 e 18,0% para cebola; 11,0; 14,0 e 18,0% para milho; 13,0; 14,0 e 19% para trigo; 12,0; 14,5 e 18,0% para arroz. Para o arroz e trigo, o método 105°C por 24 horas apresentou menor teor de água para todos os níveis iniciais de umidade. Para soja e cebola ocorreram diferenças na determinação do grau de umidade entre os dois métodos apenas no nível de umidade de 18,0%, entretanto, para o milho, as diferenças foram observadas nos níveis de umidade de 11,0%. Sendo assim, concluíram que ocorreram diferenças na determinação do grau de umidade pelos métodos de estufa para todas as espécies. As diferenças nos resultados variaram de acordo com a espécie da semente e o teor de água inicial.

Métodos para determinação de umidade de estufa a $105\pm 3^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, $130\text{-}133^{\circ}\text{C}$ por 1 hora e 70°C até peso constante foram comparados por Dignart et al (2000), todos utilizando sementes inteiras de barbatimão e jatobá-do-cerrado. Os autores concluíram que os métodos de determinação do grau de umidade testados se comportaram diferentemente entre si para ambas as espécies; os métodos avaliados não atingiram a tolerância exigida pelas RAS, para a variação entre repetições; o método da estufa a 70°C não se mostrou prático para análises de rotina, por demandar um período de análise muito prolongado para as sementes analisadas.

O grau de umidade de sementes inteiras e moídas de soja e milho foi comparado pelos métodos de Estufa (a 105 e a 130°C) e de Karl Fischer, concluindo que a temperatura de 130°C é a mais indicada para sementes inteiras de milho, e que para as sementes de soja, além da temperatura de 105°C , a de 130°C também pode ser usada para determinação do grau de umidade de sementes de soja (Tillmann & Cícero, 1996). Os resultados obtidos demonstraram que um mesmo procedimento de estufa não pode ser usado com a mesma precisão para sementes de todas as espécies, confirmando os resultados obtidos por Hart et al (1959) e Grabe (1987 e 1989).

Dentre os fatores que podem influenciar a escolha de um método de determinação do teor de água em sementes, estão: tempo despendido; conveniência; facilidade de operação; simplicidade; composição química das sementes; estrutura e morfologia da semente; tamanho e necessidade de moagem das sementes. Além disso, um método deve ter precisão, reprodutibilidade e repetibilidade (ISTA, 2008).

2.3. Comitê de Umidade de Sementes da ISTA

A International Seed Testing Association (ISTA) foi fundada em 1924 durante o 4º Congresso Internacional Seed Testing, realizado em Cambridge, Reino Unido. Atualmente é constituída por 74 países ao redor do mundo.

A ISTA está empenhada em desenvolver, aprovar e publicar os procedimentos de rotina para a amostragem e análise das sementes, e promover a aplicação uniforme destes procedimentos na avaliação de sementes no comércio internacional. É composta por comitês técnicos (amostragem; sementes de flores, árvores e arbustos; germinação; umidade; nomenclatura; pureza; sanidade; estatística; armazenamento; tetrazólio; vigor; cultivares; regras) e uma força tarefa sobre OGM que são responsáveis pelo desenvolvimento de novas metodologias em ensaios com sementes.

O trabalho do Comitê de Umidade de Sementes envolve vários aspectos, dentre eles, melhorar o capítulo de umidade nas RAS da ISTA, ampliando o número de espécies descritas, e a metodologia para sementes ortodoxas e não-ortodoxas (www.seedtest.org/em/home/html).

O Comitê de Umidade de Sementes da ISTA, em 1980-1983, recomendou que um método padrão de referência fosse adotado para avaliar a precisão dos testes da estufa, pois sem um adequado método de referência, seria extremamente difícil esclarecer os problemas que estavam sendo estudados: diferenças na porcentagem de água quando testes eram conduzidos com diferentes tempos e temperaturas; diferenças nos resultados com sementes moídas e inteiras; quando laboratórios obtêm diferentes resultados em testes de referência. Para adicionar novas espécies nas RAS, como escolher o método mais preciso? Este grupo definiu que só poderia garantir a precisão destes resultados com o estabelecimento de um método padrão de referência (Grabe, 1984).

Os métodos da ISTA para cereais seguem os métodos da ISO (International Standardization Organization) e ICC (International Association for Cereal Chemistry), que são baseados no método do Pentóxido de Fósforo em estufa a vácuo. Um dos métodos de referência usados foi a secagem de sementes até peso constante na estufa (Grabe, 1984), através de várias pesagens até chegar a um ponto onde duas pesagens sucessivas apresentam o mesmo peso ou diferença de no máximo 0,05% (Puzzi, 1986). A base dos métodos prescritos para as outras sementes não são claras, mas parecem ter sido estabelecidos empiricamente, sem comparação com outros métodos básicos de referência. Para essas espécies, há repetibilidade dos resultados, mas sua exatidão não é conhecida. O conteúdo de umidade de sete

espécies representativas determinadas pelos métodos de estufa da ISTA variou de 1,9% mais baixo para 1,1% mais alto que aqueles obtidos pelo método de Karl Fischer (Grabe, 1984).

Este Comitê, em 1983-1986, adotou o método de Karl Fischer como o de referência para avaliar a exatidão dos testes de estufa, e recomendou modificar os períodos de secagem quando necessário para obter resultados equivalentes a este método (Grabe, 1987).

Segundo Benjamin e Grabe (1988), para gramíneas forrageiras, o método de Estufa a 100-105°C por 24 horas quando comparado ao método Karl Fischer, subestimou o conteúdo de umidade em torno de 1%, e a 130°C houve uma tendência a superestimar a umidade, aparentemente devido a perda de substâncias voláteis e a decomposição das proteínas, lipídeos e carboidratos, entre outros.

Não é possível selecionar um período de secagem na estufa que seja igualmente preciso para todos os níveis de umidade de uma espécie, constituindo-se uma falha, que precisa ser aceita, pois é inerente dos métodos da estufa (Grabe 1987).

Por esta razão, em 1989-1992, o Comitê de Umidade de Sementes da ISTA, estabeleceu o método de Karl Fisher, como método básico de referência, para calibração dos métodos da estufa para determinação do grau de umidade de sementes nos níveis normalmente encontrados no comércio. Estabeleceu os seguintes procedimentos: a) utilizar a Estufa a 103 ou 130°C, conforme indicado para a espécie, empregando vários períodos de exposição; b) os períodos de secagem devem ser menores que 24 horas, usar sementes inteiras, quando puder ser convenientemente secas neste período; c) traçar curvas de secagem e indicar a linha representativa do conteúdo de água pelo método de referência Karl Fischer. O ponto onde a curva de secagem interceptar a linha de referência, determina o período correto de secagem (Grabe, 1992).

O Comitê de Umidade da ISTA, em 1995, começou uma série de investigações para ver a possibilidade de utilizar métodos aceitos pela ISO e ICC (ISO 711-1985 e ISO 109-1976), que envolve secagem sob vácuo parcial, com a presença de pentóxido de fósforo como um poderoso agente desidratante, a 50°C;

Entretanto, os equipamentos necessários para esta metodologia não se encontravam disponíveis na maioria dos laboratórios da ISTA, descartando-se esta alternativa.

No encontro extraordinário da ISTA, em 2003, foram determinados os rumos dos futuros trabalhos do Comitê de Umidade, entre eles: validar metodologias para determinar o grau de umidade para novas espécies de sementes, como ornamentais, condimentares e medicinais, e a adoção de outro método como referência, pois o método de Karl Fisher apresentou como desvantagens, alto custo e dificuldade na leitura dos resultados (Nijënstein, 2003). Ainda, segundo Multon & Martin (1988) os métodos químicos (Karl Fischer) ou aqueles que envolvem destilação azeotrópica foram superados devido à sua complexidade, custo elevado e precisão insuficiente. Estes autores descreveram três tipos de erros: a) reações químicas que ocorrem durante o armazenamento da amostra que será realizada a determinação do grau de umidade; b) ganho ou perda de água durante o armazenamento e preparo da amostra; c) escolha do método errado (ex: reações químicas durante a determinação de umidade, perdas de substâncias voláteis).

Em 2007, a ISTA adotou o método de Estufa a 103°C por 17 horas como método de referência, por ser considerado um método seguro para as espécies contendo substâncias voláteis, com isso haveria um equilíbrio entre a retenção de água na amostra, a perda de substâncias voláteis e reações químicas de decomposição (Grabe, 1989). Este método estava sendo utilizado como referência para medidores de umidade, desde 2002 (NN ISTA, 2006), por conseguinte, utilizá-lo como um método de referência para todos os testes de umidade da ISTA seria uma extensão lógica dos princípios envolvidos.

3. Material e Métodos

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes “Flávio Farias Rocha” do Departamento de Fitotecnia, da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, da Universidade Federal de Pelotas, no período de julho de 2005 a novembro de 2007.

3.1. Estudo 1 - Influência da posição da amostra na estufa

Este estudo teve por objetivo verificar a influência da posição do recipiente contendo a amostra durante a determinação do teor de água das sementes, utilizando estufa do tipo mecânica de ar forçado, modelo 5250 AB da marca Biopar.

Foram verificadas as possíveis variações no grau de umidade em diferentes pontos da estufa (nas diferentes alturas de prateleiras e nas partes anterior e posterior).

Para a determinação do grau de umidade das sementes de arroz, foi utilizado o método da estufa à temperatura de $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$, durante 24 horas (Brasil, 1992). Foram pesadas cinco gramas de sementes de arroz em cada cápsula de alumínio, com peso previamente conhecido. Estas amostras foram levadas à estufa, após a secagem e resfriamento das cápsulas, foi realizada a pesagem e através da diferença de peso, foi determinado o grau de umidade das sementes de arroz.

Quarenta cápsulas de alumínio foram distribuídas nas prateleiras, superior e inferior, e dispostas em cinco linhas e oito colunas.

3.2. Estudo 2 - Comparação entre métodos de estufa para a determinação do grau de umidade de sementes de arroz e soja.

Este estudo foi realizado com duas espécies, arroz (*Oryza sativa*) da cultivar El Paso 144 com teor de óleo de 1,6% e soja (*Glycine max*), da cultivar 8000, com teor de óleo de 21,9%. Estes teores de óleo foram determinados no Laboratório de

Grãos do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, através do método de Soxhlet, conforme estabelecido pelas Regras da AOAC (Association of Official Agricultural Chemists, 1965). Foram pesadas três amostras de quinze gramas de sementes moídas de arroz e de soja, colocadas em papel de filtro quantitativo e colocadas no extrator tipo Soxhlet para retirada do óleo. Foi utilizado como solvente, o éter. O conjunto de extração de Soxhlet foi aquecido durante aproximadamente 6 horas, após a extração, o material contido no balão foi transferido para banho-maria até secar, e o teor de óleo obtido por diferença de peso.

Os teores de água utilizados para cada espécie foram de 9,0% e 17,6%, para o arroz e 7,5% e 16,8%, para soja. Estas determinações foram realizadas pelo método de Estufa a 105°C. O nível de umidade alto foi obtido em laboratório através do umedecimento da amostra de trabalho.

Para a determinação do grau de umidade, foi realizada a pesagem em balança analítica, com precisão de três casas decimais, de cinco gramas de sementes de arroz (*Oryza sativa*) e de soja (*Glycine max*). As amostras foram levadas à estufa, por diferentes tempos e temperaturas, pós o período de exposição ao calor, foram retiradas da estufa e colocadas em dessecador por um período de 15 a 30 minutos. Após o resfriamento das amostras, procedeu-se novamente à pesagem e através da diferença de peso, foram determinados os graus de umidade das sementes de arroz e soja.

Foram determinados os graus de umidade das sementes inteiras de arroz e soja, em estufa do tipo mecânico de ar forçado, submetidas às temperaturas de 70°C, 103°C, 105°C e 130°C por períodos de: 1, 3, 5, 7, 17, 24, 48, 72 e 96 horas. Estes períodos foram contabilizados quando houve estabilização da temperatura da estufa, após a colocação das amostras em seu interior.

Para a determinação do teor de água pelo método de referência (Estufa a 103°C por 17 horas) foram utilizadas sementes moídas de arroz e soja. Também foram utilizadas sementes moídas para a determinação do grau de umidade pelo método alternativo recomendado pela ISTA (2007) para sementes de arroz, estufa a 130°C por 2 horas. As sementes foram moídas de acordo com as especificações descritas nas RAS da ISTA (2007), ou seja, pelo menos 50% do material moído devem passar na peneira de 0,5mm e no máximo 10% ficar retidas na peneira de 1mm. Para as sementes de soja, a recomendação é que pelo menos 50% do material moído deve passar pela peneira de 4mm, e até 55% pela peneira de 2mm.

Antes de proceder à moagem, as sementes de arroz e soja com teores de água de 17,6% (arroz) e 16,8% (soja) foram pesadas, levadas à estufa a 103°C por um período de aproximadamente 10 minutos, resfriadas e pesadas novamente, estes valores foram anotados para posteriormente calcular o teor de água. Este procedimento visa diminuir o grau de umidade, facilitando o processo de moagem (pré-secagem).

Foram traçadas curvas de secagem para cada uma das espécies, nos dois níveis de umidade e nas quatro temperaturas utilizadas, determinando o ponto de intersecção com a linha obtida pelo método de referência, Estufa a 103°C por 17 horas.

O experimento foi delineado em blocos completamente casualizados com três repetições de cada tratamento (temperaturas de 70, 103, 105 e 130°C), no qual cada repetição foi representada por 27 cápsulas distribuídas uniformemente na parte central das prateleiras. Através do software SigmaPlot 9.0 foi realizado o ajustamento das curvas, obtendo-se uma hipérbole do tipo: $Y = ax / (b+x)$ que melhor representou o comportamento das sementes de arroz e soja durante a determinação do teor de água.

4. Resultados e Discussão

4.1. Estudo 1 - Influência da posição da amostra na estufa

Foram demonstradas nas figuras 1 e 2, as variações ocorridas nas linhas e colunas das prateleiras superior e inferior, da estufa mecânica de ar forçado em relação a média do grau de umidade das sementes de arroz.

Apesar das variações estarem dentro do limite de tolerância (Brasil, 1992), ou seja, a diferença entre os resultados de duas determinações não excederam 0,5%, foi observado que nos recipientes distribuídos nas linhas 4 e 5 (parte anterior da estufa), de ambas prateleiras, a variação do grau de umidade foi maior do que nas linhas 1, 2 e 3.

L1	0,0	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	POSTERIOR
L2	0,1	0,0	0,0	0,1	0,2	0,0	0,2	0,1	
L3	0,0	0,0	0,0	0,0	-0,1	0,0	-0,1	-0,1	
L4	-0,3	-0,3	-0,1	-0,1	-0,2	-0,1	-0,2	-0,1	
L5	-0,5	-0,2	-0,3	-0,1	-0,1	-0,1	-0,2	-0,2	ANTERIOR

Figura 1. Croqui demonstrando a variação do grau de umidade de sementes de arroz na prateleira superior da estufa mecânica de ar forçado.

L1	-0,2	-0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-0,2	0,0	POSTERIOR
L2	-0,2	-0,2	0,0	0,1	0,0	0,1	0,1	-0,1	
L3	-0,2	-0,2	0,0	0,1	0,0	0,0	-0,1	0,1	
L4	-0,3	-0,4	-0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	
L5	-0,5	-0,2	-0,2	0,2	0,2	0,1	-0,1	-0,1	ANTERIOR

Figura 2. Croqui demonstrando a variação do grau de umidade de sementes de arroz na prateleira inferior da estufa mecânica de ar forçado.

Outros autores como, Oxley e Pixton (1961), Matthews (1962), Warner & Browne (1963), Hunt & Neustadt (1966), Angelini (1977), Benedini Jr. et al (1984), e Tillmann (1993), já haviam detectado diferenças nos teores de água, dentro e entre prateleiras, sendo sempre decrescente da parte anterior para a posterior da estufa, possivelmente devido às oscilações da temperatura no interior da estufa.

De acordo com as RAS (Brasil, 1992; ISTA, 2007 e padrões da ASAE (1992), a capacidade de aquecimento das estufas deve ser tal que pré-aquecida à temperatura requerida, seguida de abertura para colocar os recipientes, a estufa deve retornar a temperatura exigida dentro de aproximadamente 30 minutos.

De acordo com Tillmann & Cícero (1998) a estufa mecânica de ar forçado é mais adequada para determinar o grau de umidade das sementes, apesar de não ser indicada nas RAS (Brasil, 1992).

Foi observado que os recipientes na parte anterior (mais próximos da porta) da estufa mecânica de ar forçado, modelo Biopar 5250AB apresentaram maiores variações no grau de umidade das amostras, embora dentro do limite de tolerância das RAS (Brasil, 1992). Por esta razão, a distribuição das amostras dentro da estufa, na execução do estudo 2, foram nas prateleiras superior e inferior, da parte central para a posterior.

4.2. Estudo 2 - Comparação entre métodos de estufa para a determinação do grau de umidade de sementes de arroz e soja.

As curvas de secagem foram desenvolvidas para sementes inteiras de arroz e soja para determinar os efeitos das temperaturas (70, 103, 105 e 130°C) e dos tempos de secagem (1, 3, 5, 7, 17, 24, 48, 72 e 96 horas) na percentagem de água obtida pelo método da estufa. Os teores de água determinados pelo método de referência (estufa a 103°C por 17 horas, com sementes moídas) estão indicados por uma linha reta nas figuras.

O tempo de secagem na estufa requerido para o teor de água coincidir com o resultado obtido pelo método de referência, pode ser observado nas figuras de 3 a

6, pelo ponto de intersecção da curva de secagem com a linha correspondente ao valor obtido pelo método de referência, conforme procedimento estabelecido pelo Comitê de Umidade de Sementes da ISTA (Grabe, 1992).

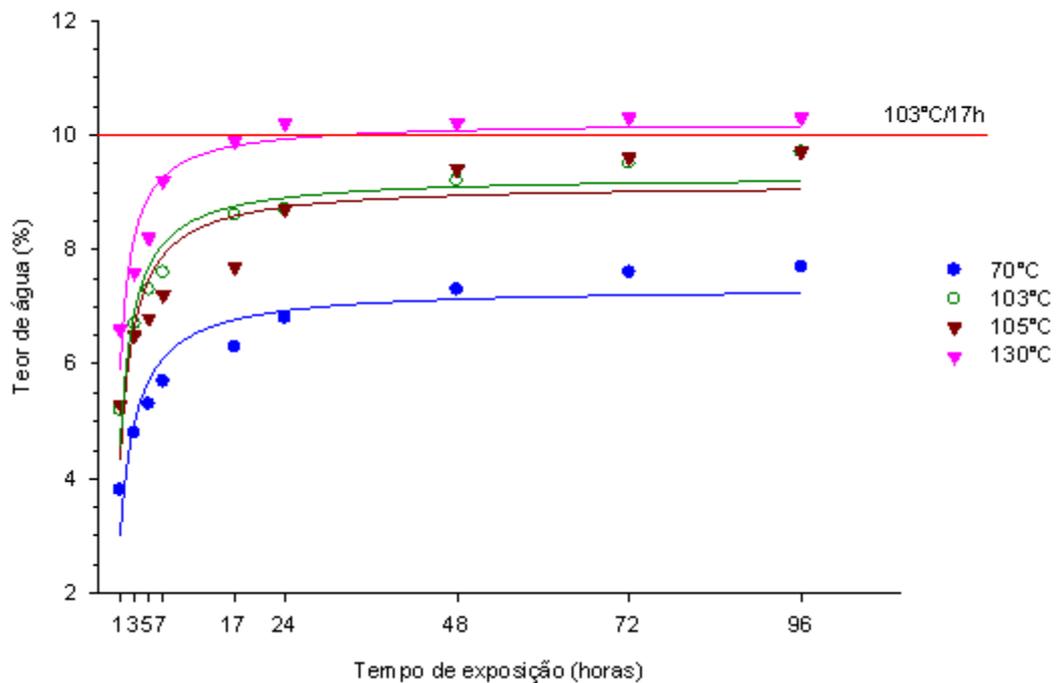
Os valores mais altos da curva de secagem em relação ao método de referência são aparentemente devidos à liberação de substâncias voláteis (Benjamin & Grabe, 1988). De acordo com Grabe (1989), a perda de peso durante a secagem é devida à perda de água e outros compostos voláteis, adição de água por decomposição química e redução da matéria seca por decomposição. De acordo com este autor os períodos de secagem em métodos oficiais precisam ser escolhidos deixando certa quantidade de água na semente para compensar o peso dos componentes voláteis liberados.

O teor de água das sementes de arroz obtido pelo método de referência foi 10,0% e correspondeu no método da estufa a 105°C por 24 horas ao valor de 8,9%, apresentando um valor inferior de 1,1 pontos percentuais. Resultados semelhantes, para determinação do grau de umidade de sementes de arroz, foram obtidos por Campos e Tillmann (1996) na comparação dos métodos de estufa a 105°C por 24 horas com o método a 130°C por 2 horas com moagem das sementes, utilizando três níveis de umidade: 12,0; 14,5 e 18,0%. Os autores observaram que o método a 105°C por 24 horas apresentou menor teor de água para todos os níveis de umidade.

Observa-se na Figura 3 que para sementes inteiras de arroz o período de exposição na estufa por 96 horas, à temperatura de 70, 103 e 105°C, não foi suficiente para as sementes atingirem o teor de água do valor de referência, ou seja, 10,0%. Na temperatura de 130°C foram necessárias 31 horas e 50 minutos. No método de Estufa a 105°C, utilizando sementes inteiras de milho, com grau de umidade de 11,2%, valores coincidentes com o método de Karl Fischer foram obtidos em 240 horas (Tillmann & Cicero, 1996).

.O método da estufa a 70°C, também não se mostrou prático para a determinação do grau de umidade de sementes inteiras de barbatimão e jatobá-do-cerrado, por necessitar um período de tempo muito prolongado para as sementes analisadas (Dignart et al, 2000).

Utilizando a metodologia indicada pela ISTA (2008) como alternativa para a determinação do grau de umidade de sementes de arroz, Estufa a 130°C por 2 horas com sementes moídas, foi obtido o mesmo teor de água do método de referência (10,0%) que também exige a moagem para as sementes de arroz. A vantagem destas metodologias é que a moagem das sementes diminuiu o tempo requerido para a secagem, entretanto, apresenta a possibilidade da introdução de erros na determinação, porque pode ocorrer rápido ganho ou perda de água quando as sementes são expostas ao ar (Benjamin & Grabe, 1988).



$$Y_{70^{\circ}\text{C}} = 7,3430x / (1,4271 + x) \quad R^2 = 0,89$$

$$Y_{103^{\circ}\text{C}} = 9,1471x / (1,1146 + x) \quad R^2 = 0,81$$

$$Y_{105^{\circ}\text{C}} = 9,2858x / (1,0299 + x) \quad R^2 = 0,93$$

$$Y_{130^{\circ}\text{C}} = 10,2296x / (0,7310 + x) \quad R^2 = 0,90$$

Figura 3. Teores de água de sementes de arroz, obtidos em estufa nas temperaturas de 70, 103, 105 e 130°C e pelo método de referência (10,0%).

Na Figura 4 observa-se, na linha reta da figura, o valor de 17,6% correspondente ao teor de água das sementes de arroz obtido pelo método de referência. No método da estufa

a 105°C por 24 horas, com sementes inteiras, o teor de água foi de 18,5%, apresentando 0,9 pontos percentuais a mais. O teor de água de 17,6% no método de estufa a 105°C foi atingido em 4 horas e 52 minutos.

As sementes inteiras de arroz atingiram o teor de água obtido pelo método de referência (17,6%) nos seguintes tempos: 15 horas e 15 minutos (70°C), 9 horas e 18 minutos (103°C) e 1 hora e 28 minutos para a temperatura de 130°C.

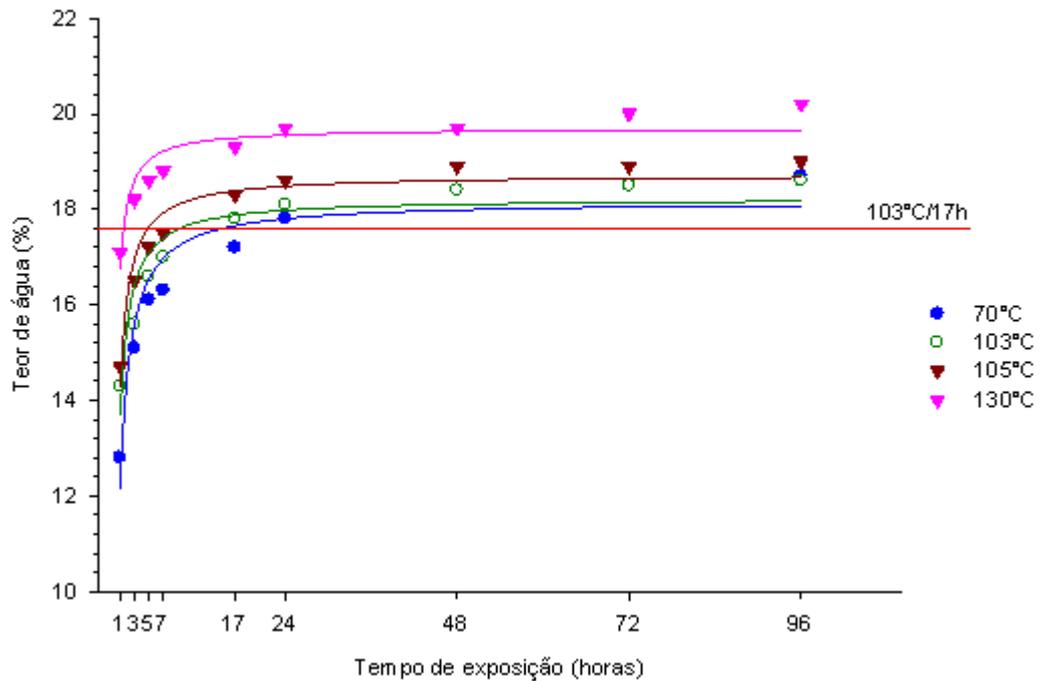
O tempo de exposição das sementes ao calor, para determinação do grau de umidade, variou com o teor de água. No método da estufa a 105°C, para sementes de arroz, seriam necessárias mais de 96 horas para atingir o teor de água de 10,0% e 4 horas e 52 minutos para atingir 17,6%. Estes resultados concordaram com os obtidos por Benjamin & Grabe (1988) que também constataram que a água foi removida mais rapidamente das sementes com alta umidade nas temperaturas de 90, 100, 105 e 130°C. De acordo com estes autores, a água é retida nas sementes com uma energia que aumenta com a redução da umidade; e sob a mesma temperatura de secagem a água é removida mais rapidamente das sementes com alta umidade por estar presa mais frouxamente que em sementes secas. Tillmann & Cícero (1996) também observaram que o tempo de permanência das sementes na estufa, para a determinação do grau de umidade, foi reduzido com a elevação do teor de água das sementes. Segundo os autores, o fato ocorreu em função da manutenção dos maiores fluxos de perda da água, presentes no início da secagem nas sementes mais úmidas e durante todo o processo.

O método da ISTA indicado como alternativa para a determinação do grau de umidade de sementes de arroz Estufa a 130°C por 2 horas, com exigência de moagem, obteve o mesmo valor encontrado no método de referência (17,6%).

As temperaturas de 70, 103 e 105°C não foram adequadas para a determinação do teor de água de sementes de arroz, utilizando sementes inteiras, por exigirem um período de exposição ao calor superior a 96 horas, para o teor de água de 10,0%. Na temperatura de 130°C também foi necessário um tempo excessivo, ou seja, 31 horas e 50 minutos. Métodos que utilizam sementes inteiras devem ser avaliados como opcionais quando o tempo não é um fator limitante (Grabe,1990).

A alternativa para o uso destas temperaturas seria a indicação de moagem das sementes visando reduzir o tempo para a informação dos resultados, tendo em vista que a moagem permite maior penetração do calor e liberação mais fácil de água (Marcos Filho et al, 1987). Entretanto, a moagem é uma das maiores fontes de erro e pode causar uma variação de 1,0% no grau de umidade (Henderson,1991) e os resultados ainda podem

variar de acordo com o tamanho das partículas (Henderson & Wilkin, 1985). Para sementes de arroz, o baixo teor de óleo (1,6%), não dificultaria o processo de moagem das sementes.



$$Y_{70^{\circ}\text{C}} = 18,1698x / (0,4935 + x) \quad R^2 = 0,92$$

$$Y_{103^{\circ}\text{C}} = 18,2276x / (0,3314 + x) \quad R^2 = 0,89$$

$$Y_{105^{\circ}\text{C}} = 18,7252x / (0,3115 + x) \quad R^2 = 0,94$$

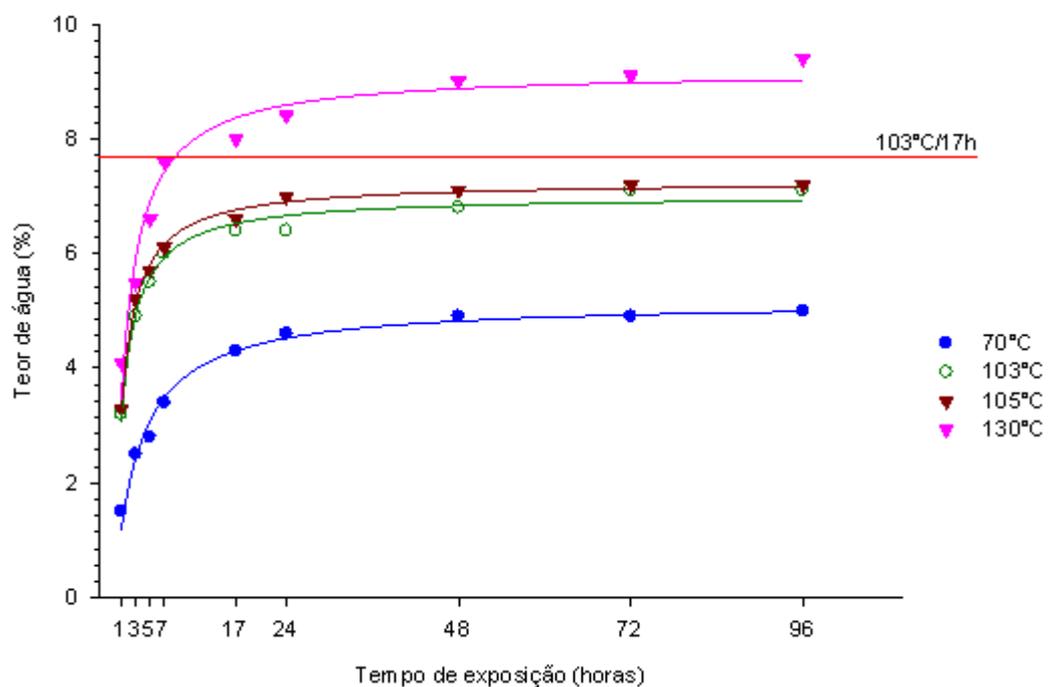
$$Y_{130^{\circ}\text{C}} = 19,6981x / (0,1758 + x) \quad R^2 = 0,86$$

Figura 4. Teores de água de sementes de arroz, obtidos em estufa nas temperaturas de 70, 103, 105 e 130°C e pelo método de referência (17,6%).

O teor de água das sementes de soja obtido pelo método de referência foi de 7,7% e correspondeu no método de Estufa a 105°C por 24 horas ao valor de 6,9%, apresentando um valor inferior de 0,8 pontos percentuais (Figura 5). Campos & Tillmann (1996) comparando métodos oficiais de Estufa para determinação do grau de umidade de sementes de soja, com teor de água de 18,0%, constataram uma diferença de 0,9 pontos percentuais a menos no método de Estufa a 103°C por 17 horas em relação à Estufa a 105°C por 24 horas. O teor de água de 10,7% obtidos em sementes de soja pelo método de Estufa a 105°C correspondeu a 10,6% pelo método de Karl Fischer. Os teores de água

obtidos em concordância com Karl Fisher pelo método de Estufa a 105°C necessitaram de 14 horas e 40 minutos para sementes inteiras, e as sementes moídas não conseguiram ser determinadas na Estufa à 103°C por um período de exposição de 26 horas (Tillmann & Cícero, 1996).

Para determinar o teor de água de sementes inteiras de soja, com temperaturas de Estufa de 70, 103 e 105°C, o período de 96 horas de exposição das amostras ao calor não foram suficientes para atingir o teor de água obtido pelo método de referência (7,7%). Utilizando a temperatura de 130°C este valor foi atingido em 8 horas e 37 minutos (Figura 5). Sementes inteiras de soja, com teor de água de 10,6%, obtiveram na temperatura de estufa de 130°C valores em concordância com os resultados do método de Karl Fischer, em 2 horas (Tillmann & Cícero, 1996).



$$Y_{70^{\circ}\text{C}} = 5,1622x / (3,3782 + x) \quad R^2 = 0,98$$

$$Y_{103^{\circ}\text{C}} = 7,0125x / (1,2703 + x) \quad R^2 = 0,99$$

$$Y_{105^{\circ}\text{C}} = 7,2571x / (1,2420 + x) \quad R^2 = 0,99$$

$$Y_{130^{\circ}\text{C}} = 9,1803x / (1,6560 + x) \quad R^2 = 0,96$$

Figura 5. Teores de água de sementes de soja, obtidos em estufa nas temperaturas de 70, 103, 105, 130°C e pelo método de referência (7,7%).

O teor de água das sementes de soja obtido pelo método de referência foi de 15,5% e correspondeu no método de Estufa a 105°C por 24 horas ao valor de 17,6%, apresentando um valor superior de 2,1 pontos percentuais (Figura 6), sugerindo uma perda de água no processo de moagem das sementes. O alto conteúdo de óleo (21,9%) associado à alta umidade pode causar aquecimento da amostra, conseqüentemente há evaporação de parte da água presente na semente, além de possíveis reações de oxidação. Resultados semelhantes foram obtidos por Campos & Tillmann (1996) na determinação do teor de água das sementes de soja com 18,0% de umidade, o método de Estufa a 103°C apresentou valor inferior a 0,9 pontos percentuais em relação ao método de Estufa a 105°C.

Utilizando as temperaturas de 103 e 105°C para sementes inteiras de soja seriam necessárias 4 horas e 30 minutos para os valores coincidirem com o método de referência (15,5%).

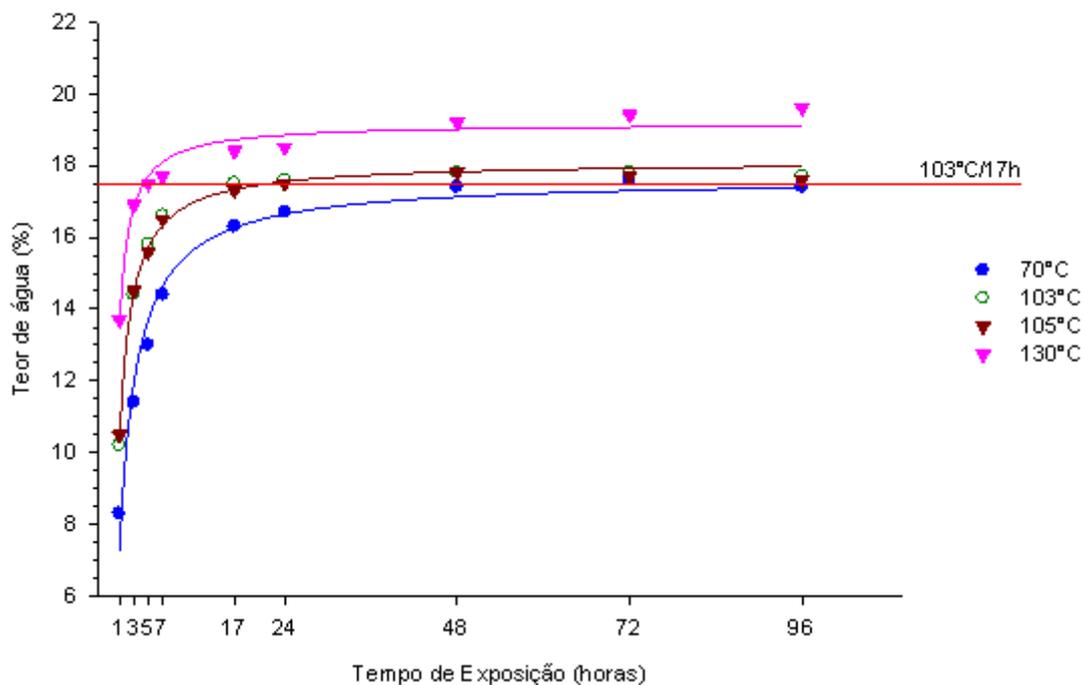
Para a obtenção do teor de água de 15,5%, em sementes inteiras de soja, foram necessários os seguintes tempos de exposição das sementes na estufa: 10 horas e 24 minutos (70°C) e 1 hora e 46 minutos para a temperatura de 130°C (Figura 6).

No método de Estufa a 105°C, para sementes inteiras de soja, no período de 96 horas não foi possível atingir o teor de água de 7,7%, enquanto o teor de água de 15,5% foi alcançado em 4 horas e 30 minutos. Tillmann (1991) obteve concordância com o método Karl Fischer para sementes de soja com grau de umidade determinado em Estufa a 105°C em 8 horas e 40 minutos para o teor de água de 17,4% e em 26 horas e 40 minutos para o de 9,6%.

Estes resultados estão em consonância com os obtidos nesta pesquisa para sementes de arroz, ou seja, o teor de água foi removido mais rapidamente das sementes com alto grau de umidade. A água livre necessita, para a sua evaporação, energia ao nível do calor latente de vaporização, sendo, facilmente removida por ocasião da secagem. As formas de água osmótica, em multicamada e em monocamada, por sua vez, apresentam suas moléculas ligadas às estruturas sólidas das sementes através de ligações físico-químicas, cujos níveis energéticos crescem da água osmótica para a água em monocamada. Estas formas de água necessitam maior nível de energia para sua remoção, portanto, sua retirada é mais difícil durante a secagem (Lasseran, 1978).

O tempo de exposição das sementes ao calor, para determinação do grau de umidade, variou com o teor de água. Entretanto, seria inadequado estabelecer mais de um período de secagem para cada espécie, uma vez que seria necessário o conhecimento

prévio do grau de umidade. Segundo Grabe (1987), não é possível selecionar um período de secagem na estufa que seja igualmente preciso para todos os níveis de umidade de uma espécie e que isto é uma falha inerente do método da Estufa e que precisa ser aceita. O melhor que pode ser feito é selecionar um período de secagem em comum que seja adequado para a maioria das amostras de sementes (Benjamin & Grabe, 1988). O Comitê de Umidade de Sementes da ISTA (1989-1992), estabeleceu para a calibração dos métodos da estufa para determinação do grau de umidade com o Karl Fischer a faixa de umidade normalmente encontrada no comércio de sementes.



$$Y_{70^{\circ}\text{C}} = 17,6353x / (1,4323 + x) \quad R^2 = 0,97$$

$$Y_{103^{\circ}\text{C}} = 18,1041x / (0,7562 + x) \quad R^2 = 0,99$$

$$Y_{105^{\circ}\text{C}} = 18,1041x / (0,7562 + x) \quad R^2 = 1,00$$

$$Y_{130^{\circ}\text{C}} = 19,1751x / (0,4173 + x) \quad R^2 = 0,97$$

Figura 6. Teores de água de sementes de soja, obtidos em estufa nas temperaturas de 70, 103, 105, 130°C e pelo método de referência (15,5%).

4.3. Considerações Finais

O método de Estufa a 105°C/24h apresentou variações no teor de água, em relação ao método de referência (Estufa a 103°C/17 horas), que podem subestimar o teor de água

das sementes de soja e arroz com grau de umidade inferior a 10%, e superestimar o teor de água, quando o grau de umidade das sementes for igual ou superior a 17,6%. As diferenças na comparação dos resultados variaram de acordo com a espécie e o teor de água.

Sementes inteiras de arroz e soja, com teor de água $\leq 10,0\%$, necessitam de períodos de exposição superior a 96 horas em temperaturas de 70, 103 e 105°C para obter os mesmos valores do método de referência. Para teores de água mais altos ($\geq 15,5\%$) o tempo necessário foi inferior a 16 horas. O tempo para a determinação variou com o teor de água, sementes mais úmidas atingiram o valor de referência em menos tempo comparativamente as sementes mais secas. Entretanto, seria impossível estabelecer diferentes períodos de exposição das sementes na estufa em função do teor de água.

As sementes inteiras de arroz quando submetidas à temperatura de 130°C necessitaram de aproximadamente 32 horas para alcançarem o teor de água de referência de 10,0% e 1 hora e 30 minutos para o valor de referência de 17,6%. As sementes inteiras de soja atingiram os valores de referência em 8 horas e 30 minutos para o teor de 7,7% e menos de 2 horas para o teor de 15,5%.

Para a determinação do grau de umidade de sementes de arroz, em tempo inferior a 24 horas, a alternativa seria a indicação de moagem das sementes para todas as temperaturas estudadas, embora, segundo a literatura, a moagem seja considerada como uma das maiores fontes de erro na determinação do grau de umidade. Para as sementes de soja foi possível determinar o teor de água em tempo inferior a 24 horas, utilizando sementes inteiras e temperatura de 130°C.

Revisando a bibliografia que aborda o tema grau de umidade, pode se observar a escassez de trabalhos recentes relacionados à determinação do grau de umidade de sementes, mesmo nas últimas publicações da ISTA, onde a maioria das referências é antiga, e muitas vezes repetem-se. Considerando a relevância do tema, há a necessidade de estimular a atividade do comitê de Análises de Sementes da Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes - ABRATES e o desenvolvimento de trabalhos que tratem especificamente sobre métodos de determinação de umidade de sementes. Isto se faz imperioso no atual momento, onde o Ministério da Agricultura está revisando suas Regras para Análises de Sementes (RAS), trazendo uma contribuição muito importante para as discussões do comitê que está trabalhando com o capítulo de umidade.

5. Conclusões

O método de Estufa a 105°C/24h subestima o teor de água das sementes de arroz e soja com grau de umidade inferior a 10% e superestima o teor de água das sementes quando estas forem iguais ou superiores a 17,6%.

É possível determinar o teor de água das sementes de soja em tempo inferior a 24 horas, utilizando sementes inteiras e temperatura de 130°C, dependendo do teor de água das sementes.

6. Referências

- AMERICAN SOCIETY OF AGRICULTURAL ENGINEERS. Moisture measurement unground grain and seeds. In: **ASAE standards 1992; standards, engineering practices and data**. 39. ed., St. Joseph, p.404. 1992 (ASAE Standard: ASAE, S 352.2).
- ANGELINI, A. C. **Influência da posição da amostra de sementes de feijão na estufa sobre o teor de umidade determinado em laboratório**. Campinas: CATI, 4p. 1977.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists**. Washington, D.C., 10 ed., 957p. 1965.
- BACCHI, O. **Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo**, SP. 53p. 1963.
- BENEDINI JUNIOR, N. **Variação do teor de umidade de amostras de soja pelo método de estufa**. Jaboticabal: UNESP/Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, 25p. 1984.
- BENJAMIN, E.; GRABE, D. F. Development of oven and Karl Fisher Techniques for Moisture Testing of Grass Seeds. **Journal of Seed Technology**. v.12, n.1, p.76-89. 1988.
- BOWDEN, P. J. Comparison of three routine oven methods for grain moisture content determination. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, s.l, v.20, n.2, p.97-106. 1984.
- Brasil. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária**. Regras para análise de Sementes. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 365 p. 1992.
- CAMPOS, V. C.; TILLMANN, M. A. A. Comparação entre os métodos oficiais de estufa para determinação do grau de umidade de sementes, **Revista Brasileira de Sementes**, v.18, n.1, p.134-137. 1996.
- COPELAND, L. O.; MCDONALD, M. B. **Principles of seed science and technology**. Minneapolis. Burgess. 321p. 1985.
- COSTA, A. R. [novembro de 2001] **As relações hídricas das plantas vasculares**. Disponível em: <<http://home.uevora.pt/~arc/ARC/apontamentos.html>>
- DIGNART, S.; CAMARGO, I. P. de; FERRONATO, A. Comparação entre os métodos para determinar o grau de umidade em sementes de jatobá-do-cerrado (*hymenaea stigonocarpa* (hayne) mart.) e de barbatimão (*stryphnodendron adstringens* (mart.) Cov.). Comunicação Técnica: **Revista Brasileira de Sementes**, v.22, n.2, p.300-303. 2000.
- GRABE, D.F. Report of the Seed Moisture Committee 1980-1983. **Seed Science and Technology**. V.12, p. 219-226, 1984.

GRABE, D. F. Report of the seed moisture committee 1983-1986. **Seed Science and Technology**. Zürich. v.15, n.2, p.451-462. 1987.

GRABE, D. F. Measurement of seed moisture. In: STANWOOD, P. C.; McDONALD, M. B. **Seed Moisture**. Madison: CSSA, p.69-92. 1989.

GRABE, D. F. Report of the Seed Moisture Committee 1986-1989. **Seed Science and Technology**. v.18, n.1, p.87-93. 1990.

GRABE, D. F. Report of the ISTA Seed Moisture 1989-1992. **Seed Science and Technology supplement**. 20 95-102. 1992

HANAN, R; PURCHWITE, M.; ROSENTERER, E. **ASAE Standards**. ASAE, St. Joseph, 553p. 1985.

HART, J. R.; FEINSTEIN, L.; GOLUMBIC, C. **Oven methods for precise measurement of moisture content of seeds**. Washington, USDA/Agricultural Marketing Service, 1959. 16p. (USDA. Marketing Research Report, 304).

HART, J. R.; GOLUMBIC, C. Methods of moisture determination in seeds. **Proceedings of the International Seed Testing Association**. Wageningen, v.28, n.4, p.911-933. 1963.

HENDERSON, S. Sources of variation in the determination of moisture content of cereal grains and oilseeds by oven-drying methods. **Phostharvest News and Information**. Wallingford, v.2, n.5, p.335-339. 1991.

HENDERSON, S.; WILKIN, R. Measuring moisture content of wheat. **Agritrade**. London, v.60, n.14, p.11-12. 1985.

HUNT, W. H.; NEUSTADT, M. H. Factors affecting the precision of moisture measurement in grain and related crops. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**. Washington. v.49, n.4, p.757-63. 1966.

HUNT, W. H.; PIXTON, S. W. Moisture, its significance, behavior, and measurement. In: CHRISTENSEN, C. M. (ed.) Storage of cereal grains and their products. **American Association of Cereal Chemists**. St. Paul. p.1-55. 1974.

International Organization for Standardization ISO Standard 711. NN. ISO 711

Cereals and cereal products - determination of moisture content - Basic reference method. 1985.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **ISTA Handbook on Moisture Determination**, 1ª Edition. Switzerland, 2007.

International Seed Testing Association. Disponível em: <www.seedtest.org/em/home/html>. Acesso em: 02 de janeiro de 2008.

KRZYZANOWSKI, F. C. **Relações água-semente**. 2006. Disponível em: <www.inmetro.gov.br/painelsetorial/palestras/palestrasemente.pdf>. Acesso em 02 de janeiro de 2008.

LABORIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington: OEA, 174p. 1983.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. Ed. Rima. São Carlos, p. 531. 2000.

LASSERAN, J. C. Princípios gerais de secagem. **Revista Brasileira de Armazenamento**. Viçosa, MG. v. 3, n. 3, p.17- 45. 1978.

LUZ, C. da; BAUDET, L.; TROGER, F. Comparação de métodos diretos para determinação do teor de água de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v.15, n.2, p.157-163. 1993.

MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S. M.; SILVA, W. R. **Avaliação da qualidade das Sementes**. Piracicaba; FEALQ, 230p.1987

MATTHEWS, J. The accuracy of measurement of known changes in moisture content of cereals by typical oven methods. **Journal of Agricultural Engineering Research**, London. v.7, p.185-191. 1962.

MULTON, J. L.; MARTIN, G. Standard methods and moisture content of grains and seeds. In: MULTON, J. L.; REIMBERT, A. M.; MARSH D.; EYDT, A.J. (eds) **Preservation and storage of grains, seeds and their by-products**. p.454-465. 1988.

NIJËNSTEIN, H. Activity Report of the Moisture Committee 2002/2003. **ISTA Extraordinary Meeting 2003**. Internal Items/M/D (2003) 17.

NN. ICC 109/1. **Determination of the moisture content of cereals and cereal products (Basic reference method)**. 1976.

NN. ISO 711-1985 **Cereals and cereal products - determination of moisture content - Basic reference method**. 1985

NN ISTA. **ISTA method validation for seed testing**. The International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland. 2006.

NOOMHORM, A.; VERMA, L. R. **A comparison of microwave, air oven and moisture meters with the standard method for rough rice moisture determination**. Transactions of the ASAE. p.1464-1470. 1982.

OXLEY, T. A.; PIXTON, S. W. **Sources of variations in moisture content results by oven methods**. I. Observed day to day variations. Milling, London. v.37, p.218-219. 1961.

PUZZI, D. **Abastecimento e armazenamento de grãos**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 603p.1986.

SASSERON, J. L. **Umidade e temperatura dos grãos armazenados**. Viçosa: Centro Nacional de Treinamento em Armazenagem, 80p. 1978.

STANWOOD, P. C.; McDONALD, M. B. **Seed moisture**. CSSA, Madison, 126p. (CSSA Special Publication, 14), 1989.

TILLMANN, M. A. A. **Reflexões sobre a metodologia de determinação do grau de umidade em sementes no Brasil**. Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP, 39p. 1991.

TILLMANN, M. A. A. **Comparação entre os métodos da estufa e de Karl Fischer na determinação do grau de umidade de sementes de milho e soja.** 1993. 104f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP.

TILLMANN, M. A. A.; CÍCERO, S. M. Comparison between the oven and the Karl Fisher methods for the determination of the moisture content of maize (*Zea mays* L.) and soya (*Glycine max* (L.) Merrill) seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.53, n.1 Jan/apr 1996.

TILLMANN, M. A. A.; CÍCERO, S. M. Avaliação de estufas do tipo convecção gravitacional e mecânico de ar forçado na precisão da determinação do grau de umidade de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v.20, n.1, p.153-159. 1998.

VERTUCCI, C. W. **Towards a unified hypothesis of seed aging.** Proc. IV International Workshop on Seeds: Basic and Applied Aspects of Seed Biology. Angers, França. 1993.

VERTUCCI, C. W.; FARRANT, J. M. Aquisition and loss of desiccation tolerance. *In: Kigel*, 1995.

VILLELA, F. A.; MARCOS FILHO, J. Estados energéticos e tipos de água na semente. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.2, p.317-321. 1998.

WARNER, M. G. R.; BROWNE, D. A. Investigations into oven methods of moisture content measurement for grain. **Journal of Agricultural Engineering Research**. London, v.8, n.4, p.289-305. 1963.

ZELNY, L. Determination of moisture content of seeds. **Proceedings International Seed Testing Association**, v.18, p.130-138. 1953.