

GUTIERRES NELSON SILVA

**EFICÁCIA DO OZÔNIO EM GRÃOS DE TRIGO INFESTADOS  
COM *Rhyzopertha dominica***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS-BRASIL  
2013

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

S586e  
2013  
Silva, Gutierres Nelson, 1985-  
Eficácia do ozônio em grãos de trigo infestados com  
*Rhyzopertha dominica* / Gutierres Nelson Silva. – Viçosa, MG,  
2013.  
xi,60f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Lêda Rita D'Antonino Faroni.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Referências bibliográficas: f.47-60.

1. Milho - Armazenamento. 2. Ozônio. 3. Pragas - Controle.  
4. Besourinho. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento  
de Engenharia Agrícola. Programa de Pós-Graduação em  
Engenharia Agrícola. II. Título.

CDD 22 ed. 633.1568

GUTIERRES NELSON SILVA

**EFICÁCIA DO OZÔNIO EM GRÃOS DE TRIGO  
INFESTADOS COM *Rhizopertha dominica***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 17 de julho de 2013.

---

Marco Aurélio Guerra Pimentel

---

José Antonio Saraiva Grossi

---

Lêda Rita D'Antonino Faroni  
(Orientadora)

*"Seja você quem for, seja qual for a posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá".*

*Ayrton Senna*

***À minha querida e estimada mãe Nelinha,  
meu exemplo de vida.***

***Dedico***

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, por me conceder saúde e sabedoria, disposição e alegria de viver e por ter me dado mais uma conquista na vida.

À Nossa Senhora de Fátima e Nossa Senhora da Conceição Aparecida por intercederem junto a Jesus Cristo para iluminar meus caminhos.

Aos meus pais, Juca e Nelinha e irmãos Tiago e Denise, por todo amor, carinho, confiança e apoio incondicionais. Melhor família do mundo!!!

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Departamento de Engenharia Agrícola (DEA), pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

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

À Professora Lêda Rita D'Antonino Faroni pela orientação, confiança, ensinamentos e oportunidades concedidas.

Ao Professor Paulo Roberto Cecon pelas valiosas contribuições no desenvolvimento deste trabalho.

À Marcela Silva Carvalho pela confiança, paciência e, principalmente pela força em todos os experimentos. Seu companheirismo foi fundamental para levar adiante esta jornada.

Ao amigo Romenique da Silva Freitas pela ajuda na execução dos experimentos e grandes momentos compartilhados.

Aos estagiários Alisson, Marcela, Luane, Marcus Vinicius, Paula, Daniel e Vanessa, sempre muito dedicados e bem humorados, fazendo com que o trabalho se tornasse menos árduo. A vocês, sou muito grato pela colaboração

Aos amigos e colegas de laboratório Luis, Juliane, Luz Paola, Raquel, Fernanda, Patrícia, Rita Cristina, Mariane e Marta pelo apoio, incentivo e momentos de descontração.

Aos grandes amigos Alisson, Bruno, Gilson, Lucas, João Paulo, Junior Caiafa e Tiago pelo apoio, incentivo e amizade ao longo dos últimos anos de convivência. A vocês o meu eterno carinho e gratidão.

Aos funcionários do Setor de Armazenamento do Departamento de Engenharia Agrícola da UFV pelo apoio, incentivo e disponibilidade em ajudar.

A todos que de um modo geral, direta ou indiretamente, contribuíram para realização deste trabalho e para minha formação acadêmica, Muito Obrigado!

## **BIOGRAFIA**

Gutierrez Nelson Silva, filho de José Nelson da Silva e Cornélia Rosa do Carmo Silva, nasceu em Viçosa, Minas Gerais, em 05 de agosto de 1985.

Em março de 2007 iniciou o curso de Agronomia na Universidade Federal de Viçosa e graduou-se Engenheiro Agrônomo em janeiro de 2012. Em fevereiro do mesmo ano ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, na Área de Pré-Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas, na Universidade Federal de Viçosa, sob orientação da Professora Lêda Rita D'Antonino Faroni, submetendo-se à defesa de tese em Julho de 2013.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>x</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>4</b>
2.1. Trigo .....	4
2.2. <i>Rhyzopertha dominica</i> .....	5
2.3. Ozônio.....	8
2.3.1. Características físico-químicas do ozônio .....	8
2.3.2. Métodos para quantificação de ozônio .....	11
2.3.3. Ozônio como fumigante .....	11
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>13</b>
3.1. Caracterização dos grãos de trigo antes do tratamento com o gás ozônio .....	13
3.2. Insetos .....	13
3.3. Toxicidade do ozônio para <i>Rhyzopertha dominica</i> .....	14
3.4. Obtenção do ozônio e funcionamento do sistema de aplicação .....	17
3.5. Taxa de instantânea de crescimento populacional ( $r_i$ ).....	18
3.6. Avaliação das características físicas, fisiológicas e físico-químicas dos grãos de trigo .....	19
3.6.1. Teor de água .....	19
3.6.2. Peso hectolítrico.....	20
3.6.3. Condutividade elétrica.....	20
3.6.4. Determinação do potencial de germinação .....	21
3.6.5. Teor de cinzas.....	21
3.6.6. Teor de proteína .....	21
3.7. Delineamento experimental e análise estatística .....	22
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>23</b>



4.1. Toxicidade do ozônio.....	23
4.2. Avaliação da taxa instantânea de crescimento populacional ( $r_i$ ) e das características físicas, fisiológicas e físico-químicas dos grãos de trigo .....	25
4.2.1. Taxa instântanea de crescimento populacional ( $r_i$ ).....	26
4.2.2. Características físicas dos grãos de trigo.....	31
4.2.2.1. Teor de água.....	31
4.2.2.2. Peso hectolítrico .....	31
4.2.3. Características fisiológicas dos grãos de trigo .....	35
4.2.3.1. Condutividade elétrica .....	35
4.2.3.2. Percentual de germinação.....	36
4.2.4. Características físico-químicas.....	38
4.2.4.1. Teor de cinzas .....	38
4.2.4.2. Teor de proteína.....	38
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>40</b>
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>46</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>47</b>

## RESUMO

SILVA, Gutierrez Nelson, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2013.  
**Eficácia do ozônio em grãos de trigo infestados com *Rhyzopertha dominica*.**  
Orientadora: Lêda Rita D'Antonino Faroni.

Existe a necessidade de encontrar novas alternativas para o controle de insetos-praga em unidades armazenadoras e processadoras de grãos, que possibilitem a manutenção da qualidade dos produtos e que ocasione menor impacto ambiental. Uma alternativa consiste no uso do gás ozônio, um poderoso agente oxidante. Embora os efeitos tóxicos do ozônio já sejam conhecidos para os insetos-praga de produtos armazenados, são escassas as informações sobre os seus efeitos no interior de uma massa de grãos. Este trabalho teve por objetivo avaliar a toxicidade do ozônio sobre *Rhyzopertha dominica* em grãos de trigo, bem como avaliar a taxa instantânea de crescimento populacional ( $r_i$ ) destes insetos expostos a tempos-letais. Aliado a isto, objetivou-se avaliar o efeito da  $r_i$  nas características físicas, fisiológicas e físico-químicas dos grãos de trigo. A toxicidade do ozônio foi avaliada através de estimativas dos tempos-letais para 50 e 95% ( $TL_{50}$  e  $TL_{95}$ ) dos insetos adultos. O ozônio foi aplicado na concentração de  $1,61 \text{ mg L}^{-1}$  e fluxo de  $2,0 \text{ L min}^{-1}$ . Os grãos foram ozonizados no interior de recipientes cilíndricos de PVC com 20 cm de diâmetro e 100 cm de altura, os quais continham em seu interior os insetos acondicionados em gaiolas plásticas, contendo 400 g de grãos de trigo. As gaiolas foram distribuídas no interior da massa de grãos em três pontos distintos: sobre o *plenum*, parte mediana e parte superior. Foram utilizadas três repetições com 20 insetos, variando o período de exposição ao gás. Nas tampas inferior e superior dos cilindros foram instaladas conexões para injeção e exaustão do gás, respectivamente. Para a estimativa da taxa instantânea de crescimento ( $r_i$ ) e testes de qualidade foram utilizados apenas os grãos provenientes das gaiolas com os insetos, distribuídas na parte superior. A taxa instantânea de crescimento ( $r_i$ ) foi determinada utilizando os

tempos-letais (TL<sub>10</sub>, TL<sub>30</sub>, TL<sub>50</sub>, TL<sub>70</sub> e TL<sub>90</sub>), obtidos no bioensaio de toxicidade. Foram utilizados 50 insetos adultos, não-sexados. Após a exposição ao ozônio, a massa de grãos de trigo contendo os insetos foi retirada das gaiolas e transferida para frascos de vidro de 0,8 L e, após 60 dias, a progênie adulta foi contabilizada. Para avaliar o efeito da taxa instantânea de crescimento na qualidade do trigo, foram realizados testes de condutividade elétrica, percentual de germinação, teor de água, peso hectolítrico e teor de cinzas e proteínas. Os resultados de toxicidade indicaram que os períodos de exposição ao ozônio, necessários para ocasionar a mortalidade de 50% (TL<sub>50</sub>) e 95% (TL<sub>95</sub>) dos adultos de *R. dominica*, aumentou à medida que se distanciou as gaiolas contendo os insetos do ponto de injeção do gás ozônio. Com o incremento do período de exposição ao gás ozônio, foi observado que a taxa instantânea de crescimento de *R. dominica* reduziu, após 60 dias de armazenamento. Observou-se, correlação significativa entre a taxa instantânea de crescimento e as características físicas e fisiológicas dos grãos de trigo. A presença de *R. dominica* na massa de grãos de trigo, provenientes da taxa instantânea de crescimento, possivelmente, afetou os parâmetros físicos e fisiológicos dos grãos de trigo.

## ABSTRACT

SILVA, Gutierrez Nelson, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2013. **Ozone of efficacy in wheat infested with *Rhyzopertha dominica***. Advisor: Lêda Rita D'Antonino Faroni.

There is a need to find new methods to control insect pests in storage facilities and grain processing, to ensure the product quality and causes less environmental impact. A alternative is the use of ozone gas, a powerful oxidizing agent. Although the ozone toxic effects are already known for stored-grain pests, there is lack information about their effects within a grain mass. This study aimed to evaluate the ozone toxicity on *Rhyzopertha dominica* in wheat grains, as well as evaluating the instantaneous rate of population growth ( $r_i$ ) of these insects exposed to lethal times. Allied to this, aimed to assess, we evaluated the effect of  $r_i$  on the physical, physiological and physico-chemical properties of wheat grains. The ozone toxicity was evaluated through estimating the lethal time for 50% and 95% ( $LT_{50}$  and  $LT_{95}$ ) of adult insects. The ozone was applied at a concentration of  $1.61 \text{ mg L}^{-1}$  and flow of  $2.0 \text{ L min}^{-1}$ . The grains were ozonized inside cylindrical containers made by PVC with 20 cm diameter and 100 cm in height, which contained inside the insects housed in plastic cages with 400 g of wheat grains. The cages were distributed within the grain mass at three different points: on the *plenum*, the upper and middle part. It was used three replicates with 20 insects, varying the period of exposure to the gas. In the upper and lower cylinders lids were installed connections for gas injection and exhaust, respectively. For the realization of the instantaneous growth rate ( $r_i$ ) and quality testing, it was used only the grain from cages distributed across the top. The instantaneous growth rate ( $r_i$ ) was determined using the lethal-time ( $LT_{10}$ ,  $LT_{30}$ ,  $LT_{50}$ ,  $LT_{70}$  and  $LT_{90}$ ), obtained in the bioassay toxicity. It was used of 50 adult insects, not sexed. After ozone exposure, the wheat grains mass containing insects were removed from the cages and transferred to glass bottles of 0.8 L and, 60 days after, the

adult progeny was recorded. To evaluate the effect of instantaneous growth rate in wheat quality some tests were performed, such as, electrical conductivity, germination potential, water content, test weight and protein and ash content. The results indicated that the toxicity periods of ozone exposure required to cause 50% mortality ( $LT_{50}$ ) and 95% ( $LT_{95}$ ) of adult *R. dominica*, increased as caged insects and ozone gas injection point was distanced. Withal increase of the ozone gas, exposure period was observed that the instantaneous growth rate of *R. dominica* reduced after 60 days of storage. It was observed a significant correlation between the instantaneous growth rate and the physical and physiological properties of wheat grains. The presence of *R. dominica* in the grain mass wheat grain, from instantaneous growth rate possibly, affected the physical and physiological parameters of grain wheat.

## 1. INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é uma cultura de grande importância no cenário mundial, ocupando o terceiro lugar em produção de grãos, precedido do arroz e do milho (FAO, 2013a). Sendo um grão com grande importância no aspecto econômico e nutricional na alimentação da população mundial, este cereal e seus subprodutos são amplamente utilizados na indústria de alimentos (FERREIRA, 2003; GUTKOSKI et al., 2008).

A produção brasileira de trigo estimada para a safra 2012/2013 é de 4,3 milhões de toneladas, o que corresponde a menos de 1% da produção mundial, sendo a região sul do Brasil a maior produtora, com 94% da produção nacional (CONAB, 2013). Por não atender a demanda interna, grande parte do trigo consumido no país é importado da Argentina (BRUM e MULLER, 2008; ABITRIGO, 2012), sendo necessário manter os grãos estocados nas unidades armazenadoras por grandes períodos.

Durante o armazenamento dos grãos são observadas consideráveis perdas, tanto de natureza quantitativa como qualitativa. Tais perdas são ocasionadas por fatores bióticos e abióticos (MATHEW, 2010). Dentre os fatores bióticos, destacam-se os insetos-praga, os quais são responsáveis por grandes perdas econômicas em grãos armazenados (SILVA et al., 2012). Os danos ocasionados pelos insetos tem importante relevância no setor de armazenamento, uma vez que, é cada vez maior a exigência da indústria moageira e panificadora por grãos de trigo com qualidade elevada para a produção de farinha e seus derivados.

No armazenamento de grãos, uma das pragas mais destrutivas é *Rhyzopertha dominica* (Fabr.) (Coleoptera: Bostrichidae) conhecida como o menor broqueador dos grãos. Este inseto ataca principalmente grãos de trigo e de arroz em casca, ou beneficiado, mas ocorre também em sorgo, milho, cevada e outros cereais (FARONI e SOUSA, 2006).

Tanto os adultos quanto as larvas causam danos aos grãos, penetrando nestes através de perfurações no tegumento, gerando assim grande quantidade de resíduos na forma de pó (TOEWS et al., 2006). A farinha de trigo obtida a partir do produto infestado por *R. dominica* apresenta mudanças na capacidade de absorver água, na estabilidade da massa, no tempo de desenvolvimento e na estabilidade de mistura e, consequentemente, afeta negativamente o produto final. Além disso, tanto os adultos quanto as larvas de *R. dominica* causam danos, como a produção de um forte odor (feromônio) e de fezes, o que reduz severamente a qualidade dos grãos de trigo (OPPERT et al., 2013).

Como forma de assegurar a qualidade do trigo armazenado e, consequentemente, de seus subprodutos, tem se intensificado cada vez mais o controle dos insetos-praga no setor de armazenamento. Por ser efetivo, de baixo custo e fácil manejo, o controle químico tem sido a forma mais utilizada para o controle de pragas de produtos armazenados. Os principais inseticidas utilizados para o controle destes insetos tem sido os inseticidas protetores (piretróides e organofosforados) e o fumigante fosfina (GUEDES, 1990/1991; WHITE e LEESCH, 1996; SOUSA et al., 2008). Porém, o uso contínuo e indiscriminado destes inseticidas ao longo do tempo tem favorecido o desenvolvimento de populações de insetos resistentes a estes produtos (GUEDES et al., 1994; PIMENTEL et al., 2009), além de oferecerem riscos à saúde humana e ao meio ambiente (WAKIL et al., 2013).

Deste modo, torna-se necessário o desenvolvimento de pesquisas visando à obtenção de métodos alternativos para o controle de pragas de produtos armazenados (SOUSA et al., 2008; ISIKBER e ÖZTEKIN, 2009; LU et al., 2009). Dentre as tecnologias com potencial para uso no controle destas pragas, o uso de atmosfera modificada pelo gás ozônio (O<sub>3</sub>) pode tornar-se uma alternativa ecologicamente correta

e economicamente viável, capaz de manter a qualidade dos grãos (ROZADO et al., 2008; TIWARI et al., 2010).

Por ser um poderoso agente oxidante, este gás é altamente tóxico para fungos, bactérias, vírus, protozoários e insetos (KELLS et al., 2001; MENDEZ et al., 2003; SOUSA et al., 2012). O ozônio atua nos organismos vivos promovendo danos às membranas celulares ou desencadeando a morte celular, mediante estresse oxidativo (HOLLINGSWORTH e ARMSTRONG, 2005). A utilização do ozônio no controle de insetos em grãos armazenados vem se tornando atrativa, pelo fato de poder ser gerado no próprio local de uso e assim descartar a necessidade de manipulação, armazenamento ou eliminação dos recipientes de produtos químicos; por possuir uma meia vida curta e seu produto de degradação ser o oxigênio; pelos recentes avanços nos sistemas de geração de ozônio que têm diminuído a energia requerida para sua produção, tendo como consequência, uma considerável redução nos custos envolvidos para sua aplicação; e dispensa alterações estruturais nas unidades armazenadoras (FREIRE et al., 2000; KELLS et al., 2001; MENDEZ et al., 2003; TIWARI et al., 2010).

Um estudo feito em nível de campo relata que a ozonização de uma massa de grãos de milho de 8,9 t foi eficiente no controle de *Plodia interpunctella* (Lepdoptera: Pyralidae), *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) e *T. castaneum* (KELLS et al., 2001). Alguns autores demonstraram que o ozônio não altera a qualidade dos grãos (MENDEZ et al., 2003; PEREIRA et al., 2007; ALENCAR et al., 2012) ou da farinha obtida de grãos de trigo ozonizados (SILVA, 2011). Além disto, o ozônio não apresenta resistência cruzada com a fosfina, único fumigante permitido no setor de armazenamento no Brasil (SOUSA et al., 2008).

Embora se conheça o potencial do ozônio como inseticida fumigante no controle de insetos-praga de produtos armazenados, os trabalhos encontrados na literatura enfatizam quase sempre o seu efeito sobre os insetos na ausência de grãos. São escassas



as informações a respeito do uso do ozônio no controle de insetos no interior de uma massa de grãos. Em face do exposto, o presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a toxicidade do ozônio sobre *R. dominica* no interior de uma massa de grãos de trigo, bem como a determinação da taxa instantânea de crescimento populacional ( $r_i$ ) destes insetos expostos a tempos-letais ao ozônio e avaliar o efeito da  $r_i$  nas características físicas, fisiológicas e físico-químicas dos grãos de trigo.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Trigo**

O trigo é um dos cereais mais produzidos no mundo. Sua grande importância na alimentação humana e na economia é evidente, devido às inúmeras aplicações da farinha oriunda deste cereal na indústria de alimentos (FERREIRA, 2003; COSTA et al., 2008; GUTKOSKI et al., 2008). O trigo é matéria-prima para a elaboração de pães, biscoitos, bolos e massas, alimentos os quais fazem parte da base da pirâmide alimentar, devido ao teor energético desses produtos (SCHEUER et al., 2011). Além disso, é usado também na fabricação de cerveja, álcool, vodka e biocombustível (MATHEW, 2010). A produção mundial de trigo na safra 2013/2014 foi estimada em 702 milhões de toneladas (FAO, 2013b) e os maiores produtores são: China (20,63%), Índia (14,47%), Estados Unidos da América (10,76%), Rússia (7,43%) e França (7,30%).

A produção brasileira de trigo não é suficiente para atender a demanda interna e corresponde a menos de 1% da produção mundial. Por outro lado, o consumo é em torno de 2%, o que torna o país um grande importador de trigo (LAFIS, 2008; ABITRIGO, 2012). Destaca-se que cerca de 98% do trigo importado para o Brasil em 2012 foi proveniente do Paraguai, Uruguai e Argentina (ABITRIGO, 2012).

A atual situação da triticultura brasileira é decorrente de uma série de fatores, dentre os quais se destacam: decisões políticas do governo, como o fortalecimento do

Mercosul; desarticulação da cadeia produtiva e falácias do tipo “o trigo brasileiro é de má qualidade”. Aliado a isto, a produção brasileira de trigo concentra-se na região Sul, e em curto período, o que dificulta a logística de distribuição e armazenamento, constituindo um dos maiores entraves na cadeia produtiva do trigo, já que o consumo deste cereal se dá em todo o território nacional e ao longo do ano (BRAGAGNOLO et al., 2007; CONAB, 2013). Diante de tal situação, ações que visem à autossuficiência, como o aumento na produtividade e da área cultivada, bem como melhoria da qualidade do trigo nacional devem ser priorizadas (OLIVEIRA et al., 2011).

As características qualitativas dos grãos representam um aspecto fundamental, uma vez que o mercado consumidor tem demonstrado crescente exigência a este respeito. Em condições inadequadas de armazenamento dos grãos de trigo, ocorrem alterações em suas propriedades físicas, químicas e reológicas, levando assim à redução do valor comercial. Dentre os fatores que modificam os parâmetros de qualidade da farinha de trigo, os insetos são um dos principais responsáveis.

Segundo Sánchez-Marinez et al. (1997) e Mohammad et al. (2012), pão elaborado com farinha de trigo infestada de insetos apresentou odor e gosto desagradável e as características de volume foram afetadas negativamente. Além disso, produtos elaborados a partir de farinha de trigo infestada por insetos apresentaram mudanças negativas na textura e cozimento (MOHAMMAD et al., 2012).

## **2.2. *Rhyzopertha dominica***

Pertencente à família Bostrichidae, *R. dominica* é uma praga originária da Índia, onde foi identificada alimentando-se de madeira em decomposição. Tornou-se uma praga importante porque se adaptou, alimentando-se do germe e do endosperma de grãos e sementes de trigo armazenado (CAMPBELL e SINHA, 1976). Este inseto ocorre principalmente nas regiões tropicais e subtropicais, porém desenvolve-se também

em zonas temperadas nos períodos quentes. O adulto mede de 2,5 a 3 mm de comprimento, apresenta coloração castanha a marrom-escura, corpo cilíndrico e a cabeça protegida pelo protórax (Figura 1). É uma praga primária e possui elevado potencial de danificação de grãos de trigo, chegando a destruir de 5 a 6 vezes o seu próprio peso em uma semana. *R. dominica* alimenta-se de arroz (JILANI et al, 1989; ARTHUR et al, 2007), sorgo (JOOD e KAPOOR, 1992; JOOD et al., 1993, 1996) e milho (DEMIANYK e SINHA, 1987; JOOD e KAPOOR, 1993), bem como mandioca (KUMAR et al., 1996).



**Figura 1.** *Rhyzopertha dominica* – fase adulta.

As fêmeas chegam a ovipositar até 400 ovos na superfície dos grãos ou entre eles. Os ovos são depositados em cachos sobre os grãos ou isoladamente entre o excremento produzido pelo inseto (EDDE, 2012). O ovo é opaco, de cor esbranquiçada com uma aparência cerosa quando recém colocado, mas depois de certo tempo assume uma cor rosada (KUCEROVÁ e STEJSKAL, 2008). A duração da incubação varia de 5 a 21 dias, em função da temperatura. As larvas da *R. dominica* possuem patas, sendo esta uma característica da família Bostrichidae (RESS, 1996). Ao emergirem, as larvas abrem caminho até o interior dos grãos com os quais se alimentam.

As larvas são muito ativas e podem penetrar nos grãos por aberturas feitas por elas próprias ou pelos adultos. Este inseto desenvolve-se entre 18 e 35 °C, e à medida que há um decréscimo na temperatura, o potencial de multiplicação diminui, progressivamente, em razão do aumento do tempo necessário para o desenvolvimento das fases jovens e da redução da fertilidade das fêmeas. Pode atingir até sete gerações no ano, quando se alimentam de trigo a uma temperatura entre 30 e 35 °C (FARONI e SOUSA, 2006). O ciclo completo varia de 30 a 100 dias, conforme as condições do meio. Este inseto pode mover-se para dentro da massa de grãos até uma profundidade de 12 m, o que é mais profundo do que as observações para outros insetos-praga de grãos armazenados (FLYNN et al., 2010). Por ter uma capacidade de mover-se profundamente dentro da massa de grãos e também por passar grande parte do ciclo de vida dentro dos grãos, a detecção precoce desse inseto torna-se difícil (EDDE, 2012).

A farinha de trigo obtida a partir do produto infestado por *R. dominica* apresenta alterações na capacidade de absorção de água, na estabilidade e no tempo de desenvolvimento da massa, o que, conseqüentemente, afeta negativamente o produto final. Além disto, infestação por *R. dominica* na massa de grãos pode acarretar aumento do teor de água dos grãos, redução no peso hectolítrico e pode afetar negativamente o percentual de cinzas e proteínas dos grãos de trigo (SANCHEZ-MARINEZ et al., 1997; SILVA et al., 2003; ÖZKAYA et al., 2009; FREITAS et al., 2011).

Diante dos prejuízos causados pela *R. dominica*, tem se intensificado cada vez mais o controle dessa praga no setor de armazenamento de grãos. Os inseticidas, registrados para o controle de pragas em grãos armazenados, estão divididos em dois grupos: os protetores, que apresentam efeito preventivo e atividade residual, e o fumigante fosfina, que possui efeito curativo e não exibe atividade residual (GUEDES 1990/1991; WHITE e LEESCH 1996).

Fumigante fosfina é o principal inseticida utilizado no controle de insetos-praga de grãos armazenados no mundo (DAGLISH, 2004; PIMENTEL et al., 2009; PAES et al., 2012). Este fumigante é amplamente utilizado devido ao seu baixo custo, rápida difusão no ar e ausência de níveis detectáveis de resíduos nos grãos (CHAUDHRY, 2000). No entanto, o uso contínuo e indiscriminado de um único fumigante, aumenta também o risco de surgimento de populações de insetos-praga resistentes (CHAMP e DYTE 1976; CHAUDHRY, 2000; BENGSTON et al, 1999; COLLINS et al, 2002; DAGLISH, 2004; PIMENTEL et al. 2007, 2009). Estudos recentes relataram altos níveis de resistência a fosfina em populações brasileiras de *R. dominica* (PIMENTEL et al. 2010).

### **2.3. Ozônio**

A palavra ozônio vem do grego “ozein” que quer dizer mau cheiro. O significado do nome reflete uma de suas principais características, ou seja, o forte odor que exala, quando exposto em alta concentração. Esta característica foi observada pela primeira vez em 1785, pelo químico holandês Martinus Van Maurun, próximo a uma descarga elétrica. No entanto, o ozônio foi descoberto em 1839, por Schonbein que estudava a decomposição eletrolítica da água (LAPOLLI et al., 2003).

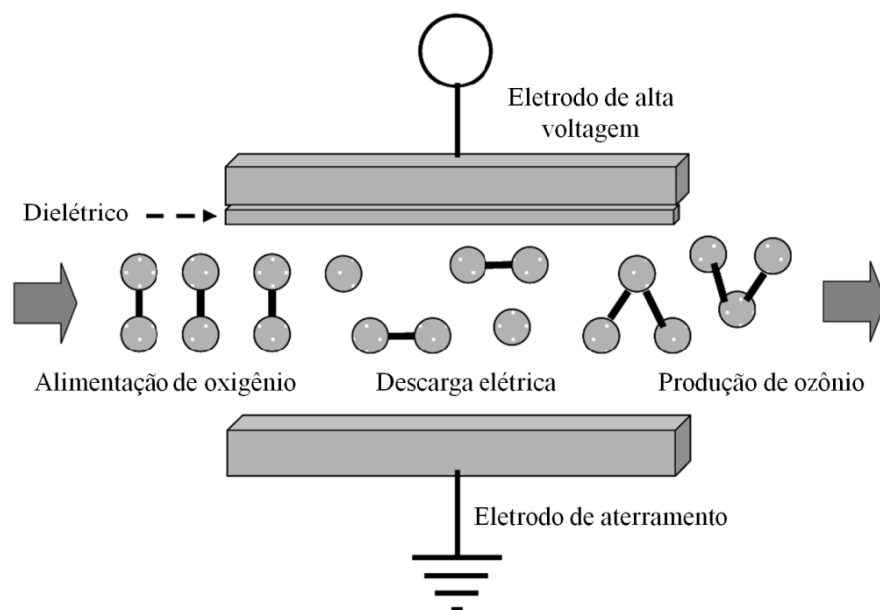
#### **2.3.1. Características físico-químicas do ozônio**

O ozônio é um gás resultante do rearranjo de átomos de oxigênio, podendo ser produzido por descargas elétricas ou pela incidência de radiação eletromagnética de alta energia (luz ultravioleta) no ar. À temperatura ambiente, o ozônio encontra-se no estado gasoso, apresentando coloração azul pálida e odor característico. O gás ozônio, é um composto instável que decai rapidamente a oxigênio biatômico. Este gás é parcialmente solúvel em água, incolor, muito reativo e tóxico. O ozônio é facilmente detectável em

concentrações muito baixas, na faixa de 0,01 a 0,05 mg L<sup>-1</sup> (HILL e RICE, 1982). O gás ozônio destaca-se pelo elevado potencial de oxidação (2,07 mV); é o segundo oxidante mais poderoso, excedido em seu potencial de oxidação somente pelo flúor (3,06 mV). Condensa-se a -112,4 °C, formando um líquido de cor azul, e congela a -193 °C, formando um sólido de cor violeta escuro.

Em relação ao tempo de meia vida do ozônio, este pode variar, dependendo da qualidade do meio. Em água destilada a 20 °C, o tempo de meia vida do ozônio dissolvido varia entre 20 e 30 min (KHADRE et al., 2001), entretanto na forma gasosa apresenta tempo de meia vida menor que 20 min a 20 °C (NOVAK e YUAN, 2007). Alencar et al. (2011) trabalhando com grão de amendoim, obtiveram tempo de meia vida de 7,7 min para os grãos ozonizados na forma gasosa a 25 °C e teor de água 7,1% (b.u.).

O gás ozônio pode ser produzido naturalmente como resultado de relâmpagos ou radiação ultravioleta (KIM et al., 1999). Sinteticamente, o O<sub>3</sub> pode ser gerado pelo método de descarga por efeito corona (Figura 2), que ocorre da seguinte forma: o gás é gerado pela passagem de ar atmosférico ou oxigênio puro entre dois eletrodos submetidos a uma elevada diferença de potencial (aproximadamente 1000 V); quando os elétrons possuem energia suficiente para dissociar a molécula de oxigênio, começam a ocorrer colisões, que causam a dissociação do oxigênio, sendo a formação do ozônio consequência da recombinação de radicais livres de oxigênio, com moléculas de oxigênio presentes no sistema (KHADRE et al., 2001; GUZEL-SEYDIM et al., 2004).



**Figura 2.** Geração de ozônio pelo método de descarga corona (Adaptada de RICE et al., 1981).

A toxicidade do gás ozônio é um importante critério para sua aprovação no ambiente de processamento de alimentos. Em seres humanos, o alvo do  $O_3$  é o sistema respiratório e os sintomas são dor de cabeça, tontura, sensação de queimação na região dos olhos, irritação da garganta e tosse (CHIATTONE et al., 2008).

As regulamentações governamentais dos níveis aceitáveis do gás ozônio variam. Nos Estados Unidos da América, um indivíduo pode ficar exposto à concentração de 0,1 ppm por até 8 h por dia (CFR, 1997). Já na Europa, o limite estabelecido para exposição de indivíduos ao  $O_3$  é de 0,06 ppm por até 8 h (WHO, 2000). No Brasil, a legislação, por meio da Norma Regulamentadora N° 15, Portaria N° 3.214/78 da ANVISA, estabelece limite de exposição de trabalhadores ao gás ozônio de 0,08 ppm, para jornada semanal de trabalho de até 48 h (BRASIL, 1978).

Em 2001, o gás ozônio foi classificado pela FDA (U.S. Food and Drug Administration), como sanitizante seguro para aplicação em alimentos, já que o seu produto de degradação é o oxigênio molecular e não deixa resíduos tóxicos (GABLER et al., 2010).

### *2.3.2. Métodos para quantificação de ozônio*

Uma série de métodos analíticos foram propostos para quantificar o gás ozônio (KIM, 1998). Esses métodos podem ser classificados em físicos, físico-químicos e químicos. Os métodos físicos medem a capacidade de adsorção de radiações no espectro visível, ultravioleta ou infravermelho (KHADRE et al., 2001); os métodos físico-químicos medem o efeito físico da reação do ozônio com substâncias quimioluminescentes, onde se mede a luz produzida por oxidação química, o que confere maior sensibilidade ao método (KHADRE et al., 2001); já os métodos químicos medem a quantidade dos produtos da reação decorrentes do ozônio com uma determinada substância ou da redução na massa molecular de um polímero. Os métodos utilizados para medida de ozônio dissolvido são o colorimétrico ou índigo azul, o iodométrico e os eletroquímicos (STANLEY e JOHNSON, 1982). O mais utilizado é o método iodométrico, que é aceito pela Associação Internacional de Ozônio (IOA) na Europa.

### *2.3.3. Ozônio como fumigante*

Embora o ozônio seja utilizado em diversas áreas devido ao seu grande potencial oxidante, sua utilização no âmbito agrícola ainda é restrito. Na agricultura, o gás ozônio está sendo estudado na preservação de legumes e frutas (SHARPE et al., 2009; BARBONI et al., 2010); controle de insetos-praga de grãos armazenados (ERDMAN, 1980; KELLS et al., 2001; SOUSA et al., 2008; 2012); desinfecção de equipamentos em geral, tratamento de águas residuárias e degradação de resíduos de pesticidas (CHELME-AYALA et al., 2010; QIANG et al., 2010; FREITAS, 2013).

Uma série de vantagens são atribuídas ao ozônio no âmbito agrícola pelo fato de poder ser gerado no próprio local de uso (PALOU et al., 2001), o que descarta a necessidade de manipulação, armazenamento e transporte de ozônio (KIM et al., 1999);



pode ser usado de forma contínua ou intermitente, aplicado sob a forma gasosa, durante o período de armazenamento, ou dissolvido na água, para evitar a deterioração de produtos alimentícios em geral. Os recentes avanços nos sistemas de geração de ozônio têm diminuído a energia requerida para sua produção, tendo como consequência, uma considerável redução nos custos envolvidos para sua aplicação, o que torna a utilização deste processo bastante atrativa; por possuir uma meia vida curta e seu produto de degradação ser o oxigênio, é esperado que nenhum efeito negativo venha se refletir no meio ambiente.

As primeiras investigações a respeito da utilização do gás ozônio como inseticida foram realizadas com insetos domésticos (formigas, baratas, moscas e traças), com intuito de manter as condições de higiene em ambientes domésticos. No armazenamento de grãos, este gás vem sendo estudado como fumigante, no controle de insetos-praga (ERDMAN, 1980; KELLS et al., 2001; ROZADO et al., 2008; ISIKBER e OZTEKIN, 2009; LU et al., 2009; McDONOUGH et al., 2011; SOUSA et al., 2012). O gás ozônio pode substituir os fumigantes existentes, tais como o brometo de metila e a fosfina ( $\text{PH}_3$ ) no controle de pragas em produtos armazenados (ROZADO et al., 2008; TIWARI et al., 2010; SOUSA et al., 2008; 2012).

Segundo Strait (1998) e Kells et al. (2001), o processo de fumigação com ozônio apresenta duas fases distintas: na primeira, ocorre rápida degradação do ozônio e movimentação lenta pela massa de grãos; na segunda, o ozônio flui livremente pelo grão com pouca degradação, pois neste momento, os locais em que ocorrem sua degradação ficam saturados. Entre os fatores que afetam o processo de fumigação, destacam-se a quantidade de ozônio aplicada, a temperatura e o teor de água dos grãos (TIWARI et al., 2010); bem como o tempo de exposição e a altura da coluna da massa do produto (RAILA et al., 2006; ROZADO et al., 2008).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Os grãos de trigo (*Triticum* spp.) foram adquiridos da Cooperativa Agropecuária do Alto Paranaíba (COOPADAP) situada em São Gotardo, M.G. Os bioensaios de toxicidade e taxa instantânea de crescimento, bem como as análises de qualidade dos grãos de trigo foram realizadas no Laboratório de Pré-Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas do Departamento de Engenharia Agrícola (DEA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), campus Viçosa-M.G.

#### 3.1. Caracterização dos grãos de trigo antes do tratamento com o gás ozônio

Os resultados referentes à caracterização dos grãos antes do tratamento com o gás ozônio e ao ar atmosférico estão apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Resultados das análises dos grãos de trigo antes do tratamento com o gás ozônio e ao ar atmosférico (controle).

Análises	Valor
Teor de água (% b.u.)	11,1
Peso hectolítrico (kg hL <sup>-1</sup> )	76,6
Germinação (%)	91,5
Condutividade elétrica (μS cm <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> )	21,4
Teor de cinzas (%)	1,00
Teor de proteína (%)	10,9

#### 3.2. Insetos

Foram utilizados, nos bioensaios, insetos adultos da espécie *Rhyzopertha dominica* obtidos de criação de laboratório. Os insetos foram multiplicados a partir de

criações mantidas no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas de Grãos (MIP-Grãos) da UFV. As criações foram mantidas em recipientes de vidro de 1,5 L, em câmaras climáticas do tipo B.O.D., sob condições constantes de temperatura ( $30\pm 2$  °C), umidade relativa ( $70\pm 5\%$ ) e escotofase de 24 h. Como substrato alimentar, foram utilizados grãos de trigo com teor de água de 12,0% b.u., isento de pragas e inseticidas.

### **3.3. Toxicidade do ozônio para *Rhyzopertha dominica***

A toxicidade do ozônio para *R. dominica* foi determinada por meio de estimativas dos tempos de exposição letais para 50 e 95% dos insetos adultos ( $TL_{50}$  e  $TL_{95}$ ). As curvas de tempo-resposta foram estabelecidas mediante bioensaios com períodos crescentes de exposição ao gás ozônio. O ozônio foi aplicado na concentração de  $1,61 \text{ mg L}^{-1}$  e fluxo contínuo de  $2 \text{ L min}^{-1}$ , conforme a metodologia desenvolvida por Silva (2011), concentração esta que não altera a qualidade dos grãos de trigo.

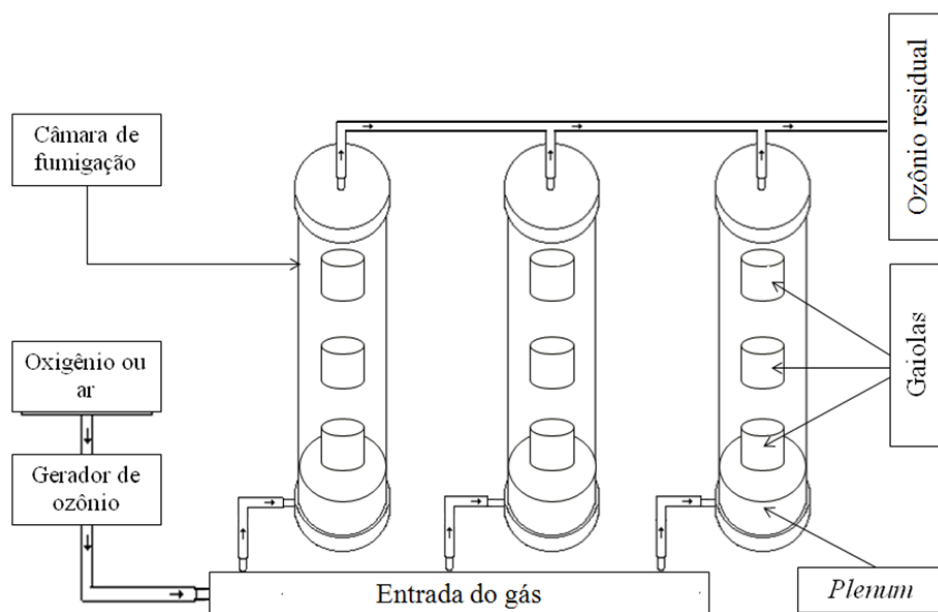
Os grãos foram ozonizados no interior de recipientes cilíndricos de PVC com 20 cm de diâmetro e 100 cm de altura (Figura 3). No interior de cada recipiente cilíndrico foi utilizada uma massa de 7,0 kg de grãos de trigo. A 10 cm do fundo de cada recipiente, colocou-se uma tela metálica para sustentação dos grãos e formação de um *plenum*, para melhor distribuição do gás. Nas tampas inferior e superior dos cilindros, foram instaladas conexões para injeção e exaustão do gás, respectivamente.

Os insetos, 20 adultos, não-sexados, com idade variando de uma a quatro semanas, foram acondicionados em gaiolas plásticas com 10,5 cm de diâmetro e 9,0 cm de altura, contendo 400 g de grãos de trigo inteiros. As gaiolas foram distribuídas no interior da massa de grãos em três pontos distintos, sendo uma na parte basal (sobre o *plenum*), uma na parte mediana e outra na parte superior (Figura 4). Tal procedimento foi feito em três repetições, para cada período de exposição ao gás ozônio e ao ar atmosférico (controle). As gaiolas tiveram o fundo e a tampa confeccionada em tecido

do tipo organza, para permitir a livre passagem do ozônio ou do ar atmosférico através da massa de grãos. A mortalidade dos insetos foi avaliada 48 h após cada período de exposição.



**Figura 3.** Câmaras de fumigação utilizadas para os tratamentos com o gás ozônio e ar atmosférico.



**Figura 4.** Esquema de distribuição das gaiolas nos cilindros e injeção do gás ozônio (Adaptada de ROZADO, 2005).

### 3.4. Obtenção do gás ozônio e funcionamento do sistema de aplicação

O gás ozônio foi produzido pelo gerador de ozônio modelo O&L 10.0RM (Ozone & Life, São José dos Campos, SP, Brasil) (Figura 5). No processo de geração do gás, foi utilizado como insumo o oxigênio, isento de umidade, obtido pelo concentrador do próprio gerador de ozônio. O oxigênio, ao passar pelo reator refrigerado, onde recebe uma descarga por barreira dielétrica (DBD); a DBD é produzida ao aplicar uma alta voltagem entre dois eletrodos paralelos, tendo entre eles um dielétrico (vidro) e um espaço livre por onde fluiu o  $O_2$ . Neste espaço livre, é produzida uma descarga em forma de filamentos, onde são gerados elétrons com energia suficiente para produzir a quebra das moléculas de oxigênio, formando o ozônio.

O gerador de ozônio O&LM possui duas saídas, uma por onde sai o ozônio gerado e outra por onde sai o ar atmosférico obtido por um compressor de ar acoplado ao equipamento. O ozônio e o ar atmosférico (controle) foram distribuídos uniformemente para os recipientes cilíndricos onde foram acondicionados os grãos e as gaiolas contendo grãos e insetos (Figura 3). O ozônio residual e o ar atmosférico da exaustão foram conectados a um dispositivo confeccionado com PVC (8,0 cm de largura x 38 cm de altura), com coluna de 12,0 cm de água, antes de serem lançados na atmosfera, de modo a garantir a distribuição uniforme do gás no interior das câmaras.

A concentração do ozônio foi quantificada utilizando-se o método iodométrico, por titulação indireta, conforme recomendado pela International Ozone Association (IOA). Este método, descrito por Clescerl et al. (2000), consiste no borbulhamento do ozônio em 50 mL de solução de iodeto de potássio (KI) 1 N, com produção de Iodo ( $I_2$ ). Para garantir o deslocamento da reação para a produção de  $I_2$ , foi necessário acidificar o meio com 2,5 mL de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) 1 N. A solução foi então titulada com tiosulfato de sódio ( $Na_2S_2O_3$ ) 0,005 N, com uso de solução de amido 1% como indicador.



**Figura 5.** Gerador de ozônio modelo O&L 10.0RM

### **3.5. Taxa de instantânea de crescimento populacional ( $r_i$ )**

Para determinar a taxa instantânea de crescimento ( $r_i$ ), utilizou-se 50 insetos adultos, não-sexados, com idade variando de uma a quatro semanas, os quais foram mantidos em gaiolas plásticas, contendo 400 g de grãos de trigo. As gaiolas foram distribuídas no interior da massa de grãos em três pontos distintos (sobre o *plenum*, parte mediana e parte superior). Os grãos e os insetos foram expostos ao gás ozônio e ao ar atmosférico (controle) nos períodos de exposição correspondentes aos tempos-letais obtidos no bioensaio de toxicidade: ( $TL_{10}=10,11$ ;  $TL_{30}=11,76$ ;  $TL_{50}=13,05$ ;  $TL_{70}=14,49$  e  $TL_{90}=16,85$  h). Foram utilizadas três repetições para cada tratamento e período de exposição. Após a exposição ao ozônio e ao ar atmosférico, a massa de grãos de trigo contendo os insetos foi retirada das gaiolas e transferida para frascos de vidro de 0,8 L.

Os frascos foram acondicionados em câmaras climáticas do tipo B.O.D., sob condições constantes de temperatura ( $30\pm 2$  °C), umidade relativa ( $70\pm 5\%$ ) e escotofase de 24 h. A progênie adulta foi contabilizada após 60 dias de armazenamento. A taxa de

crescimento ( $r_i$ ) foi calculada por meio da equação proposta por Walthall e Stark (1997) (Equação 1).

$$r_i = \frac{\left[ \ln \left( \frac{N_f}{N_0} \right) \right]}{\Delta t} \quad (1)$$

Em que:

$r_i$  = Taxa de crescimento

$N_f$  = Número final de insetos;

$N_0$  = Número inicial de insetos;

$\Delta t$  = Número de dias em que o ensaio foi executado.

### **3.6. Avaliação das características físicas, fisiológicas e físico-químicas dos grãos de trigo**

A avaliação das características qualitativas foi feita em grãos de trigo utilizados nos bioensaios de taxa instantânea de crescimento, após 60 dias de armazenamento. Para as características físico-químicas, os grãos de trigo foram triturados em moinho de facas (Fritsch Pulverisette 14, Oberstein, Alemanha) até a obtenção de um produto com consistência de farinha. Em seguida, tanto os grãos inteiros quanto os triturados foram homogeneizados e realizadas as análises.

#### **3.6.1. Teor água**

Foi determinado pelo método-padrão da estufa, conforme as normas da ASAE (2000), que sugerem a utilização de estufa com circulação forçada de ar a  $130 \pm 1$  °C durante 19 h, em amostras de 10 g de grãos de trigo. As pesagens foram feitas em balança com resolução de 0,01 g e as análises foram realizadas em triplicata.



### **3.6.2. Peso hectolítrico**

A determinação do peso hectolítrico (PH) foi feita em balança para peso específico, modelo Determinador de PH (DPH), fabricante Dalle molle, (Balanças Dalle Molle Ltda), de acordo com a metodologia descrita pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) em triplicata, e os resultados, expressos em kg hL<sup>-1</sup>.

### **3.6.3. Condutividade elétrica**

Os testes foram realizados em três repetições de 50 grãos para todas as amostras. Os grãos foram pesados em uma balança com precisão de 0,01 g e colocados em copos plásticos de 200 mL, aos quais foram adicionados 75 mL de água deionizada. Em seguida, os copos foram colocados em câmara climática do tipo B.O.D., à temperatura de 25 °C, por um período de 24 h. Imediatamente após este período, os copos foram retirados da câmara para a realização das medições da condutividade elétrica da solução contendo os grãos.

As leituras foram feitas em medidor de condutividade elétrica da marca Tecnopon, modelo CA-150, com ajuste para compensação da temperatura e eletrodo com constante da célula de 1  $\mu\text{S cm}^{-1}$ . Antes de realizar as leituras, o aparelho foi calibrado com uma solução padrão de cloreto de sódio, de condutividade elétrica conhecida, à temperatura de 25 °C. O valor de condutividade ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ ) fornecido pelo aparelho foi então dividido pela massa em gramas dos 50 grãos, obtendo-se então o valor de condutividade elétrica expresso com base na massa seca da amostra, em  $\mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$ . A condutividade elétrica da solução contendo os grãos de trigo foi medida utilizando-se o “Sistema de Copo” ou “Condutividade de Massa” (VIEIRA e CARVALHO, 1994).

#### **3.6.4. Determinação do potencial de germinação**

Foi determinado pelo teste de germinação (BRASIL, 2009), utilizando-se quatro repetições de 50 grãos por tratamento. O substrato utilizado foi o papel-germitest, umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel. Os grãos de trigo foram dispostas sobre duas folhas do papel de germinação e posteriormente cobertas por mais uma folha do mesmo papel, sendo então embrulhadas, formando rolos. Os rolos foram colocados em posição vertical dentro de um germinador e mantidos a uma temperatura de  $25 \pm 1$  °C. A contagem final foi feita após oito dias, considerando-se as plântulas normais, e os dados foram expressos em porcentagem média de germinação.

#### **3.6.5. Teor de cinzas**

Foi determinado segundo o método nº 923.03 da AOAC (1995). Amostras de 3,0 g de trigo com foram pesadas em cadinho de porcelana, previamente padronizado em mufla a 550 °C. Após a padronização, os cadinhos foram novamente colocados em mufla por, aproximadamente, 7 h a 550 °C. Após a exposição os cadinhos foram retirados da mufla e transferidos para o dessecador até atingirem a temperatura ambiente e, em seguida, pesados. As análises foram feitas em triplicata.

#### **3.6.6. Teor de proteína**

Foi determinado empregando-se a técnica Kjeldahl, pela determinação do nitrogênio total, de acordo com o método nº 920.87 da AOAC (1995), utilizando o fator 5,75 para a conversão em proteína bruta. A análise foi feita em duplicata.

### **3.7. Delineamento experimental e análise estatística**

O experimento de taxa instantânea de crescimento e análise de qualidade dos grãos de trigo foi realizado em esquema de parcelas subdivididas, tendo nas parcelas os tratamentos (ar atmosférico e ozônio) e nas subparcelas os períodos de exposição (10,11; 11,76; 13,05; 14,49 e 16,85 h), no delineamento inteiramente casualizado com três repetições.

Os dados foram analisados por meio de análise de variância e de regressão. Para o fator qualitativo, as médias foram comparadas, utilizando o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para o fator quantitativo, os modelos foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão, utilizando-se o teste “t” a 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e no fenômeno biológico. Independentemente de interação de maior grau ser ou não significativa, optou-se pelo desdobramento da mesma, devido ao interesse de estudo. Na análise de variância, utilizou-se o Software SAS (SAS Institute, 2002). Para a obtenção das equações de regressão e plotagem dos gráficos, utilizou-se o Software SigmaPlot (SPSS, 2001).

Estimou-se o coeficiente de correlação linear de Pearson entre a taxa instantânea de crescimento populacional e o teor de água, peso hectolítrico, percentual de germinação e condutividade elétrica dos grãos de trigo e testou-se a correlação entre essas variáveis utilizando o teste “t” ao nível de 1 % de probabilidade, pelo Software SAEG (SAEG, 2005). Os dados de toxicidade foram submetidos à análise de probit, utilizando-se o procedimento PROBIT do software SAS (SAS Institute, 2002), gerando assim as curvas de tempo-mortalidade.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Toxicidade do ozônio

Os resultados dos bioensaios de tempo-mortalidade para as três camadas da massa de grãos de trigo onde os insetos foram distribuídas mostraram baixos valores de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) ( $<9,00$ ) e valores elevados de  $P$  ( $>0,05$ ), indicando adequação dos dados ao modelo probit para a estimativa das curvas de tempo-mortalidade (Tabela 2). Isto possibilitou as estimativas dos tempos-letais para as três camadas da massa de grãos de trigo onde os insetos foram distribuídos (sobre o *plenum*, camada mediana e camada superficial).

Observou-se que os períodos de exposição ao ozônio, necessários para ocasionar a mortalidade de 50% (TL<sub>50</sub>) e 95% (TL<sub>95</sub>) dos adultos de *R. dominica*, elevaram-se à medida que se aumentou a distância entre as gaiolas contendo os insetos e o ponto de injeção do ozônio. Não foi observada sobreposição nos intervalos fiduciais dos TL<sub>50</sub> entre as três camadas onde os insetos foram distribuídos. Já para o TL<sub>95</sub> foi observada sobreposição dos intervalos fiduciais entre a camada mediana e a camada superficial. As inclinações das curvas de tempo-mortalidade variaram entre as camadas, sendo menor ( $8,75 \pm 1,25$ ) para a camada mediana e maior ( $14,56 \pm 1,28$ ) para a camada basal.

**Tabela 2.** Toxicidade relativa do ozônio para *Rhyzopertha dominica*.

Posição	Inclinação ( $\pm$ EPM)	TL <sub>50</sub> (95% IF)	TL <sub>95</sub> (95% IF)	$\chi^2$	P
Base	14,56 $\pm$ 1,28	8,69 (8,46 – 8,93)	11,28 (10,83 – 11,92)	1,8	0,77
Mediana	8,75 $\pm$ 1,25	10,75 (9,76 – 11,71)	16,57 (14,48 – 22,04)	8,85	0,65
Superfície	11,56 $\pm$ 1,03	13,08 (12,57 – 13,51)	18,11 (17,18 – 19,43)	3,13	0,54

EPM = Erro padrão da média; TL = Tempo letal; IC 95% = Intervalo fiducial a 95% de probabilidade;  $\chi^2$  = Qui-quadrado; P = Probabilidade.

#### **4.2. Avaliação da taxa instantânea de crescimento populacional ( $r_i$ ) e das características físicas, fisiológicas e físico-químicas dos grãos de trigo**

A taxa instantânea de crescimento de *R. dominica*, após 60 dias de armazenamento, não apresentou variação significativa ( $P>0,05$ ) entre as camadas da massa de grãos de trigo onde os insetos foram distribuídos, independentemente do período de exposição, tanto para os grãos de trigo expostos ao gás ozônio como para os grãos de trigo expostos ao ar atmosférico (controle) (Tabela 3). Diante do exposto, optou-se por expressar as curvas de regressão que descrevem o comportamento de taxa de crescimento de *R. dominica* e as características de qualidade apenas dos grãos de trigo provenientes da camada superficial.

**Tabela 3.** Valores médios referentes à taxa instantânea de crescimento de *Rhyzopertha dominica*, distribuídos sobre o *plenum* e nas camadas mediana e superficial da massa de grãos de trigo expostos ao gás ozônio e ao ar atmosférico (controle), na concentração de 1,61 mg L<sup>-1</sup>, nos diferentes períodos de exposição (PE), após 60 dias de armazenamento.

Tratamento	PE (h)	Taxa instantânea de crescimento		
		Sobre o <i>plenum</i>	Camada mediana	Camada superficial
Ozônio	10,11	0,018a	0,017a	0,020a
	11,76	0,013a	0,012a	0,012a
	13,05	0,003a	0,004a	0,004a
	14,49	0,001a	0,003a	0,002a
	16,85	0,000a	0,000a	0,000a
Controle	10,11	0,021a	0,022a	0,021a
	11,76	0,021a	0,022a	0,020a
	13,05	0,022a	0,020a	0,020a
	14,49	0,022a	0,021a	0,021a
	16,85	0,021a	0,021a	0,020a

\* Médias seguidas com a mesma letra, na linha para cada período de exposição, não diferem entre si pelo teste Tukey ( $P < 0,05$ ).

#### 4.2.1. Taxa instantânea de crescimento populacional ( $r_i$ )

A taxa instantânea de crescimento de *R. dominica* foi influenciada significativamente ( $P < 0,05$ ) pelos tratamentos com o ar atmosférico e com o gás ozônio, para todos os períodos de exposição, exceto para o período de 10,11 h (Tabela 4). Verifica-se redução na  $r_i$  de *R. dominica* de 0,020 (10,11 h) para 0,000 (16,85 h), no tratamento com o gás ozônio, após 60 dias de armazenamento. Os

períodos de exposição ao ozônio de 10,11 e 11,76 h apresentaram valores médios de taxa instantânea de crescimento de *R. dominica* maiores em relação aos demais (0,020 e 0,014, respectivamente).

Na Figura 6, são apresentados os valores de taxa instantânea de crescimento de *R. dominica* expostas aos tratamentos com ozônio e ao ar atmosférico em diferentes períodos de exposição. A taxa instantânea de crescimento de *R. dominica* decresceu à medida que se elevou o período de exposição dos grãos de trigo ao gás ozônio. Por outro lado, não verificou-se influência do ar atmosférico (controle) na  $r_i$  de *R. dominica*, em todos os períodos de exposição ao ar atmosférico, após 60 dias de armazenamento. Os modelos ajustados para representar estas variações encontram-se disposto na Tabela 5.



**Tabela 4.** Valores médios referentes à taxa instantânea de crescimento e avaliação dos parâmetros de qualidade dos grãos de trigo expostos ao ar atmosférico (controle) e ao gás ozônio, na concentração de 1,61 mg L<sup>-1</sup>, nos diferentes períodos de exposição (PE), após 60 dias de armazenamento.

PE (h)	Taxa instantânea de crescimento	
	Controle	Ozônio
10,11	0,021 a	0,020 a
11,76	0,021 a	0,014 b
13,05	0,020 a	0,003 b
14,49	0,021 a	0,002 b
16,85	0,020 a	0,000 b

PE (h)	Teor de água (% b.u.)	
	Controle	Ozônio
10,11	12,80 a	12,80 a
11,76	12,95 a	11,68 b
13,05	12,92 a	11,20 b
14,49	12,95 a	11,25 b
16,85	13,01 a	11,03 b

PE (h)	Peso hectolítrico (kg hL <sup>-1</sup> )	
	Controle	Ozônio
10,11	75,25 a	75,24 a
11,76	75,37 b	75,94 a
13,05	75,44 b	76,56 a
14,49	75,35 b	76,65 a
16,85	75,35 b	76,77 a

PE (h)	Germinação (%)	
	Controle	Ozônio
10,11	88,33 a	88,50 a
11,76	88,50 b	90,08 a
13,05	87,17 b	91,42 a
14,49	87,00 b	91,67 a
16,85	87,17 b	91,50 a

PE (h)	Condutividade elétrica (μS cm <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> )	
	Controle	Ozônio
10,11	25,16 a	25,33 a
11,76	25,20 a	22,06 b
13,05	25,68 a	21,99 b
14,49	25,52 a	21,45 b
16,85	25,39 a	21,54 b

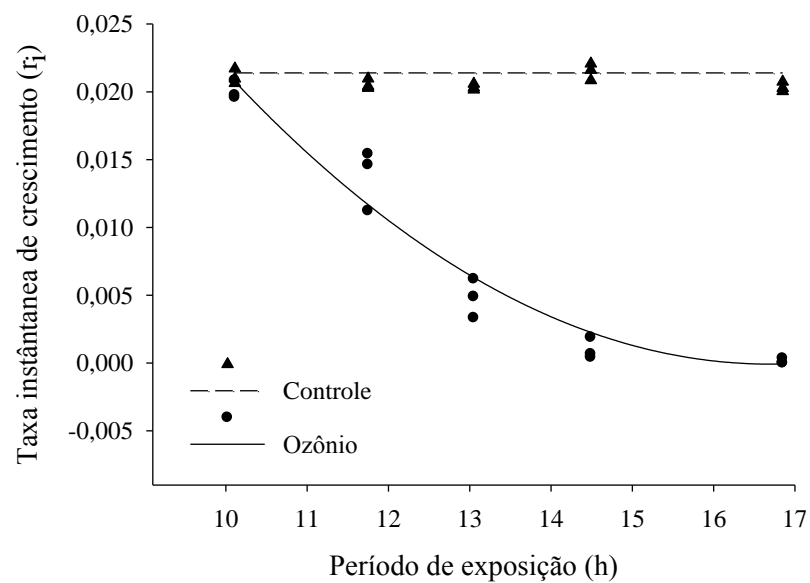
  

PE (h)	Teor de cinzas (%)	
	Controle	Ozônio
10,11	1,00 a	1,00 a
11,76	1,00 a	1,00 a
13,05	1,00 a	1,00 a
14,49	1,00 a	1,00 a
16,85	1,00 a	1,00 a

PE (h)	Teor de proteína (%)	
	Controle	Ozônio
10,11	10,89 a	10,95 a
11,76	10,92 a	10,90 a
13,05	10,90 a	10,85 a
14,49	10,88 a	10,83 a
16,85	10,93 a	10,82 a

\* Médias seguidas com a mesma letra, na linha para cada variável, não diferem entre si pelo teste Tukey ( $P < 0,05$ ).



**Figura 6.** Taxa instantânea de crescimento de *Rhyzopertha dominica* expostos ao tratamento com o gás ozônio e ar atmosférico (controle) em função dos períodos de exposição, na concentração de  $1,61 \text{ mg L}^{-1}$ , após 60 dias de armazenamento.

**Tabela 5.** Sumário das equações ajustadas para a curva de taxa instantânea de crescimento de *Rhizopertha dominica* e para as curvas das características físicas, fisiológicas e físico-químicas em grãos de trigo ozonizados em diferentes períodos de exposição ao gás, após 60 dias de armazenamento.

Variável	Tratamento	Modelo	Coeficientes			g.l.erro	F	P	R <sup>2</sup>
			a	b	c				
Taxa instantânea de crescimento	Controle	$\hat{y} = 0,0214$	—	—	—	—	—	—	—
	Ozônio	$y = a + bx + cx^2$	0,1422±0,0172	-0,0173±0,0026	0,0005±0,0001	12	129,4799	<0,0001	0,96
Teor de água	Controle	$\hat{y} = 12,9651$	—	—	—	—	—	—	—
	Ozônio	$y = a + bx + cx^2$	21,6064±1,9814	-1,2944±0,2991	0,0391±0,0110	12	56,3265	<0,0001	0,90
Peso hectolítrico	Controle	$\hat{y} = 75,3500$	—	—	—	—	—	—	—
	Ozônio	$y = a + bx + cx^2$	66,7645±2,0759	1,1959±0,3134	-0,0354±0,0116	12	51,1319	<0,0001	0,90
Germinação	Controle	$\hat{y} = 87,9000$	—	—	—	—	—	—	—
	Ozônio	$y = a + bx + cx^2$	66,5795±6,1907	3,1457±0,9345	-0,0967±0,0345	12	29,7236	<0,0001	0,83
Condutividade elétrica	Controle	$\hat{y} = 25,1910$	—	—	—	—	—	—	—
	Ozônio	$y = a + bx + cx^2$	52,1415±6,8443	-3,9006±1,0332	0,1214±0,0381	12	33,6624	<0,0001	0,85
Teor de cinzas	Controle	$\hat{y} = 1,0005$	—	—	—	—	—	—	—
	Ozônio	$y = a + bx + cx^2$	1,0118±0,0017	-0,0016±0,0003	5,5x10 <sup>-5</sup> ±9,7x10 <sup>-6</sup>	12	36,2874	<0,0001	0,86
Teor de proteína	Controle	$\hat{y} = 10,8918$	—	—	—	—	—	—	—
	Ozônio	$y = a + bx + cx^2$	11,7233±0,2453	-0,1096±0,0370	0,0033±0,0014	12	25,7732	<0,0001	0,81

g.l. erro = Grau de liberdade do erro; F = Teste F; P = Probabilidade; R<sup>2</sup> = Coeficiente de determinação.

## 4.2.2. Características físicas dos grãos de trigo

### 4.2.2.1. Teor de água

O teor de água dos grãos de trigo, após 60 dias de armazenamento, apresentou variação significativa ( $P<0,05$ ) entre os tratamentos com o ar atmosférico e com o gás ozônio em todos os períodos de exposição, exceto no período de 10,11 h (Tabela 4). Observou-se ainda que, grãos de trigo ozonizados no período de exposição de 10,11 h, apresentaram o maior valor médio de teor de água (12,80 % b.u), em relação aos demais períodos de exposição ao ozônio, após 60 dias de armazenamento.

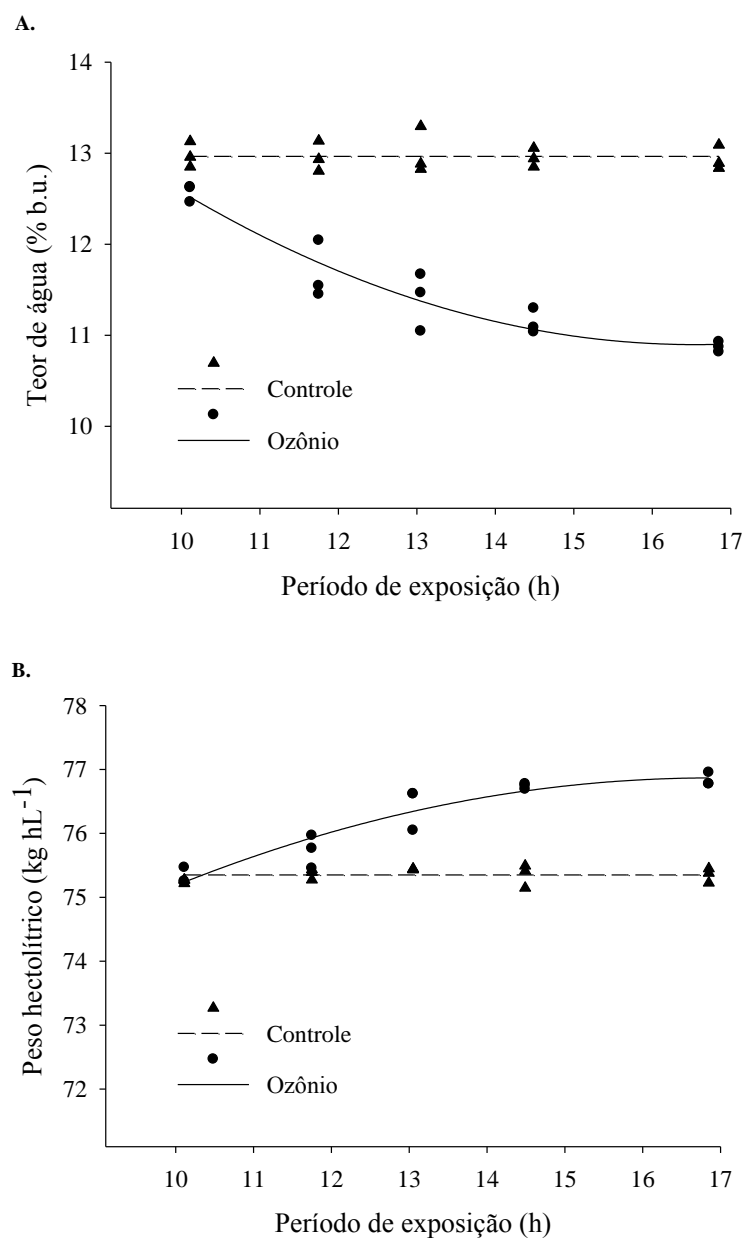
Apresentam-se, na Figura 7, as curvas de regressão que descrevem o comportamento de teor de água dos grãos de trigo nos diferentes períodos de exposição ao ozônio e ao ar atmosférico (controle), após 60 dias de armazenamento. Verifica-se redução do teor de água dos grãos de trigo à medida que se elevou o período de exposição ao gás ozônio. No entanto, não observa-se influência do ar atmosférico (controle) no teor de água dos grãos de trigo, em todos os períodos de exposição. Os modelos ajustados para representar esta variação encontram-se disposto na Tabela 5. Adicionalmente, observou-se correlação significativa e positiva entre a taxa instantânea de crescimento  $\times$  teor de água dos grãos de trigo expostos ao gás ozônio, ou seja, verifica-se elevação no teor de água dos grãos de trigo com o aumento da taxa instantânea de crescimento de *R. dominica* (Tabela 6). Entretanto, não houve correlação significativa entre taxa instantânea de crescimento  $\times$  teor de água dos grãos de trigo expostos ao ar atmosférico (controle).

### 4.2.2.2. Peso hectolítrico

No que se refere à variável peso hectolítrico dos grãos de trigo, nota-se que os valores médios obtidos nos grãos expostos ao ar atmosférico (controle) foram significativamente menores ( $P<0,05$ ) em relação ao de grãos expostos ao gás ozônio,

exceto para os grãos expostos no período de exposição de 10,11 h (Tabela 4). Verifica-se que, houve incremento no peso hectolítrico dos grãos de trigo ozonizados de 75,24 kg hL<sup>-1</sup> (10,11 h) para 76,77 kg hL<sup>-1</sup> (16,85 h), após 60 dias de armazenamento.

As curvas de regressão que descrevem o comportamento do peso hectolítrico dos grãos de trigo nos diferentes períodos de exposição ao ozônio e ao ar atmosférico, após 60 dias de armazenamento, são apresentadas na Figura 7. Observa-se incremento no peso hectolítrico dos grãos de trigo ozonizados com aumento do período de exposição ao gás. Por outro lado, o peso hectolítrico dos grãos de trigo expostos ao ar atmosférico (controle), não foi influenciado, independentemente do período de exposição ao ar atmosférico, após 60 dias de armazenamento. Na Tabela 5, encontram-se os modelos ajustados para representarem estas variações. A correlação entre o peso hectolítrico dos grãos de trigo ozonizados e a  $r_i$  de *R. dominica* foi significativa e negativa, indicando redução no peso hectolítrico dos grãos de trigo com o aumento da infestação por insetos (Tabela 6). Em relação ao tratamento controle (ar atmosférico), não foi observado correlação significativa entre peso hectolítrico dos grãos de trigo  $\times$  taxa instantânea de crescimento.



**Figura 7.** Teor de água % b.u. (A) e peso hectolítrico kg hL<sup>-1</sup> (B) dos grãos de trigo expostos ao ar atmosférico (controle) e ao gás ozônio, na concentração de 1,61mg L<sup>-1</sup>, em diferentes períodos de exposição, após 60 dias de armazenamento.

**Tabela 6.** Estimativa dos coeficientes de correlação linear de Pearson entre a taxa instantânea de crescimento de *Rhizopertha dominica* e o teor de água, peso hectolítico, percentual de germinação e condutividade elétrica dos grãos de trigo expostos aos tratamentos com gás ozônio ou ar atmosférico (controle).

Correlações	Controle		Ozônio	
	n	r	n	r
Taxa instantânea de crescimento x Teor de água	15	0,0488	15	0,9168**
Taxa instantânea de crescimento x Peso hectolítico	15	-0,3094	15	-0,9451**
Taxa instantânea de crescimento x Percentual de germinação	15	0,1140	15	-0,8836**
Taxa instantânea de crescimento x Condutividade elétrica	15	-0,3310	15	0,8607**

n = Número de amostra; r = Coeficiente de correlação; \*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

### 4.2.3. Características fisiológicas dos grãos de trigo

#### 4.2.3.1. Condutividade elétrica

A condutividade elétrica da solução que continha os grãos de trigo expostos ao ar atmosférico (controle), apresentou valores médios significativamente maiores ( $P < 0,05$ ), em relação aos grãos de trigo expostos ao gás ozônio, em todos os períodos de exposição, após 60 dias de armazenamento (Tabela 4). Exceção foi verificada apenas no período de exposição de 10,11 h, onde não foi observada diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos (ar atmosférico e ozônio). A condutividade elétrica da solução que continha os grãos de trigo ozonizados reduziu de  $25,33 \mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$  (10,11 h) para  $21,54 \mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$  (16,85 h).

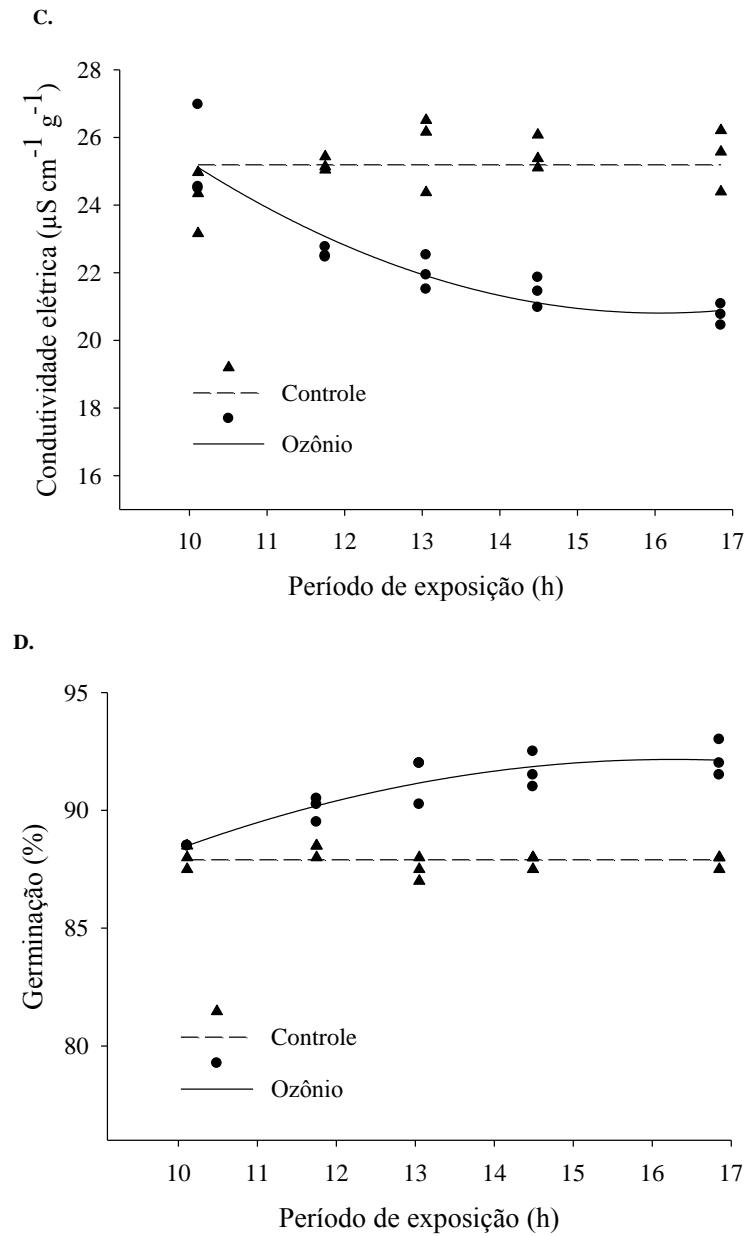
As curvas de regressão que descrevem o comportamento de condutividade elétrica da solução que continha os grãos de trigo exposto ao ozônio e ao ar atmosférico, nos diferentes períodos de exposição, após 60 dias de armazenamento, são apresentadas na Figura 8. Nota-se que, não houve influência do ar atmosférico (controle) na condutividade elétrica da solução que continha grãos de trigo, em todos os períodos de exposição ao ar atmosférico (controle), após 60 dias de armazenamento. Por outro lado, verifica-se decréscimo na condutividade elétrica da solução que continha os grãos de trigo ozonizados à medida que se aumentou o período de exposição ao gás ozônio. Os modelos ajustados para representar esta variação encontram-se dispostos na Tabela 5. Foi detectado correlação positiva e significativa entre a condutividade elétrica que continha os grãos de trigo exposto ao gás ozônio e a taxa instantânea de crescimento populacional de *R. dominica* (Tabela 6). Já para o tratamento controle (ar atmosférico), a correlação entre a condutividade elétrica da solução que continha os grãos de trigo e a taxa instantânea de crescimento não foi significativa.



#### 4.2.3.2. Percentual de germinação

O percentual de germinação dos grãos de trigo apresentou valores médios significativamente menores ( $P < 0,05$ ) quando exposto ao ar atmosférico (controle), em relação aos grãos expostos ao ozônio, nos diferentes períodos de exposição, exceto para o período de 10,11 h, após 60 dias de armazenamento (Tabela 4). Observou-se aumento no percentual de germinação dos grãos de trigo ozonizados de 88,50% (10,11 h) para 91,50 (16,85 h), após 60 dias de armazenamento.

Apresentam-se, na Figura 8, as curvas de regressão que descrevem o comportamento do percentual de germinação dos grãos de trigo nos diferentes períodos de exposição ao ozônio e ao ar atmosférico (controle), após 60 dias de armazenamento. Nota-se elevação no percentual de germinação dos grãos de trigo com o incremento do período de exposição ao gás ozônio. No entanto, não observa-se influência no percentual de germinação dos grãos de trigo, exposto ao ar atmosférico (controle), em todos os períodos de exposição, após 60 dias de armazenamento. Na Tabela 5, encontram-se os modelos ajustados para representarem estas variações. A correlação entre o percentual de germinação dos grãos de trigo exposto ao ozônio e a  $r_i$  de *R. dominica* foi significativa e negativa, indicando redução no percentual de germinação dos grãos de trigo com o aumento da infestação por *R. dominica* (Tabela 6). Já para o tratamento controle, não foi verificado correlação significativa entre o percentual de germinação de grãos de trigo exposto ao ar atmosférico e a taxa instantânea de crescimento.



**Figura 8.** Condutividade elétrica  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$  (C) e percentual de germinação % (D) dos grãos de trigo expostos ao ar atmosférico (controle) e ao gás ozônio na concentração de  $1,61 \text{mg L}^{-1}$ , em diferentes períodos de exposição, após 60 dias de armazenamento.

#### **4.2.4. Características físico-químicas**

##### *4.2.4.1. Teor de cinzas*

No que se refere à variável teor de cinzas dos grãos de trigo, verifica-se que, não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ), entre os tratamentos (ar atmosférico e ozônio), para todos os períodos de exposição, após 60 dias de armazenamento (Tabela 4). Vale ressaltar que, o valor médio do teor de cinzas nos grãos de trigo foi de 1,0 %, independentemente do período de exposição ao ar atmosférico e ao gás ozônio, após 60 dias de armazenamento.

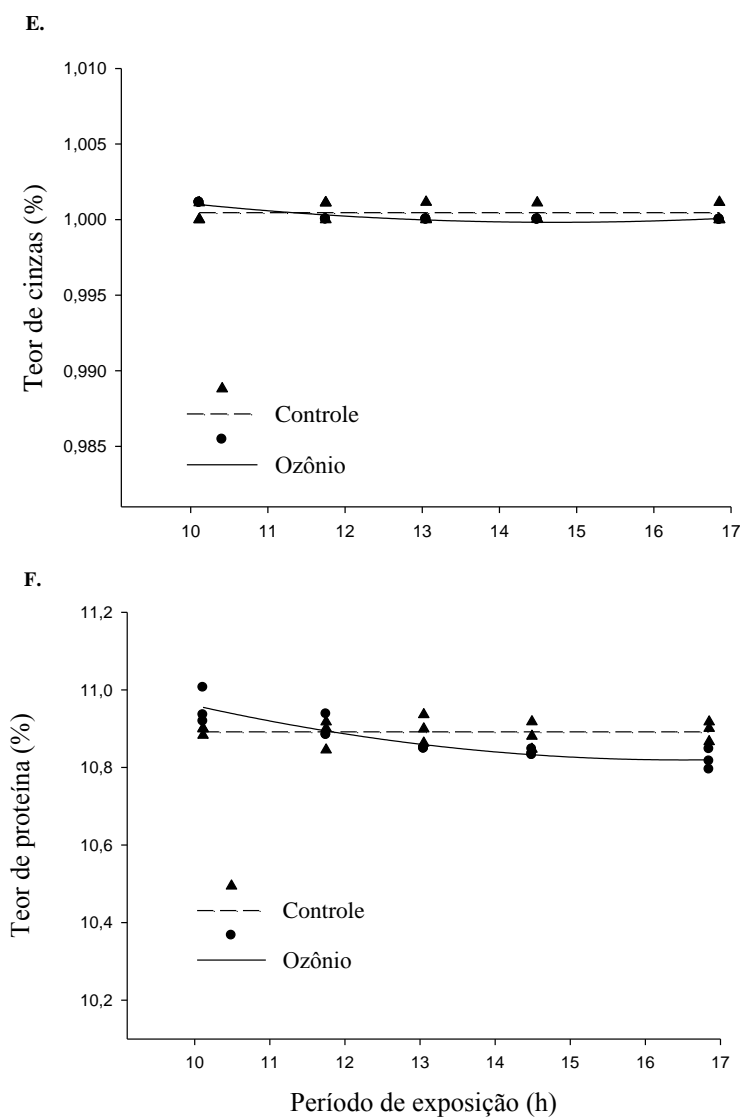
Apresentam-se, na Figura 9, as curvas de regressão que descrevem o comportamento do teor de cinzas dos grãos de trigo nos diferentes períodos de exposição ao ozônio e ao ar atmosférico (controle), após 60 dias de armazenamento. Observa-se que, ambas as curvas (ozônio e controle) apresentam praticamente o mesmo comportamento, para todos os períodos de exposição, após 60 dias de armazenamento. Os modelos ajustados para representarem esta variação encontram-se dispostos na Tabela 5.

##### *4.2.4.2. Teor de proteína*

Os valores médios de teor de proteína dos grãos de trigo ozonizados não diferiram significativamente ( $P>0,05$ ) dos valores médios dos grãos de trigo expostos ao ar atmosférico (controle), para todos os períodos de exposição, após 60 dias de armazenamento (Tabela 4). Vale ressaltar que, o teor de proteína nos grãos de trigo permaneceu na faixa entre 10,8 e 10,9%, independentemente do período de exposição ao ar atmosférico e ao gás ozônio.

As curvas de regressão que descrevem o comportamento do teor de proteína dos grãos de trigo nos diferentes períodos de exposição ao ozônio e ao ar atmosférico (controle), após 60 dias, são apresentadas na Figura 9. Observa-se redução no teor de

proteína dos grãos de trigo ozonizados com o aumento do período de exposição, após 60 dias de armazenamento. Por outro lado, grãos de trigo expostos ao ar atmosférico, mantiveram-se teor de proteína semelhante em todos os períodos de exposição, após 60 dias de armazenamento. Na Tabela 5, encontram-se os modelos ajustados para representarem estas variações.



**Figura 9.** Teor de cinzas % (E) e teor de proteína % (F) dos grãos de trigo expostos ao ar atmosférico (controle) e ao gás ozônio na concentração de  $1,61\text{mg L}^{-1}$ , em diferentes períodos de exposição, após 60 dias de armazenamento.

## 5. DISCUSSÃO

Os TL<sub>50</sub> e TL<sub>95</sub> foram maiores à medida que as gaiolas contendo os insetos e os grãos de trigo foram distanciados do ponto de injeção do gás ozônio, uma vez que a concentração do gás ao longo da massa de grãos de trigo reduz devido às barreiras encontradas pelo gás. Tal fato é explicado por Strait (1998) e Kells et al. (2001), os quais observaram que o processo de aplicação do ozônio na massa de grãos apresenta duas fases distintas: na primeira, os transportes convectivo e difusivo ocorrem acompanhados de rápida degradação do ozônio e movimentação lenta do gás pela massa de grãos; na segunda fase, o gás flui livremente pela massa de grãos com pouca degradação, já que neste momento os locais nos quais ocorrem sua degradação ficam saturados.

A adsorção do ozônio na camada de grãos depende de uma série de fatores: concentração do ozônio, período de exposição, taxa de fluxo do gás, temperatura, características do grão, presença de matéria orgânica e outros, como insetos e estado microbiano da superfície dos grãos (ROZADO et al., 2008; TIWARI et al., 2010). Quanto maior a altura da camada de grãos, menor é a concentração de estabilização do gás ozônio (STEPONAVICIUS et al., 2012).

Quanto mais próximo do ponto de injeção do ozônio (*plenum*) mais rápida será a estabilização deste gás no meio poroso, logo serão menores os tempos-letais deste gás aos insetos presentes, próximo ao ponto de injeção do gás. Tal fato foi observado também por Rozado et al. (2008), que, estudando a eficácia do ozônio em uma concentração de 50 mg kg<sup>-1</sup> (equivalente a 0,11 mg L<sup>-1</sup>) no controle de adultos de *S. zeamais* e *T. castaneum*, encontraram valores de tempo-resposta superiores à medida que os insetos foram afastados do ponto de injeção. Esses autores obtiveram TL<sub>95</sub> de 23,76 e 64,19 h, quando os insetos foram distribuídos sobre o *plenum*, 118,61 e

140,83 h na camada mediana e 240,75 e 390,18 h na superfície para *S. zeamais* e *T. castaneum*, respectivamente.

O estudo da eficácia de um possível inseticida na mortalidade de pragas constitui a etapa inicial para identificar o potencial inseticida deste produto. Dentro deste contexto, parâmetros populacionais são bons indicadores de efeitos sub-letais, tais como a queda de fecundidade e a alteração na velocidade de desenvolvimento (SILVA et al., 2013). A taxa instantânea de crescimento populacional ( $r_i$ ) é um modelo prático, do ponto de vista experimental, pois apresenta um rápido resultado, utilizando números iniciais e finais da população de insetos, em um determinado período de exposição (WALTHALL e STARK, 1997).

À medida que se elevou o período de exposição dos insetos ao gás ozônio, observou-se decréscimo na taxa instantânea de crescimento populacional de *R. dominica*. Comportamento semelhante foi observado por Athanassiou et al. (2010) que estudando o efeito da aplicação de 1 ppm de Spinosad sobre *R. dominica* em grãos de trigo por diferentes períodos de exposição (0, 2, 4, 8, 16 e 40 h) observaram que à medida que se aumentou o período de exposição houve uma redução na densidade demográfica deste inseto no trigo tratado, comparado ao controle (sem Spinosad), após 65 dias de armazenamento. Segundo esses mesmos autores, nenhuma emergência de insetos adultos foi observada nos grãos de trigo tratados com Spinosad por um período de 16 e 40 h.

Durante a degradação do ozônio para o oxigênio diatômico, podem ser formados radicais livres de espécies reativas de oxigênio que, assim como o  $O_3$ , podem causar a peroxidação dos ácidos graxos polinsaturados, tendo como consequência a destruição de moléculas vitais, tais como DNA e proteínas (HOLMSTRUP et al., 2011). Diante disto, provavelmente estes efeitos, atuando de forma isolada ou em conjunto, acarretam em lesões celulares, podendo assim, causar a morte dos insetos expostos ao gás ozônio

(HOLMSTRUP et al., 2011) e, consequentemente, reduzir a taxa instantânea de crescimento.

Uma das principais causas de redução da qualidade dos grãos durante o armazenamento é o alto teor de água (PEREIRA et al., 2007; FARONI e SILVA, 2008), o qual pode estar associado ao elevado metabolismo dos insetos presentes na massa de grãos (SANCHES-MARINES et al., 1997; FREITAS et al., 2011; BODROZA-SOLAROV et al., 2012). Desse modo, sugere-se que o elevado teor de água observado nos grãos de trigo não ozonizados (controle) e no período de exposição ao ozônio de 10,11 h, pode ser justificado pela presença de *R. dominica*. Silva et al. (2003) também observaram aumento do teor de água dos grãos de trigo conforme as populações de *R. dominica* e *S. zeamais* aumentaram. Tal comportamento também foi observado por Pinto et al. (2002) onde relataram que a densidade populacional de *S. zeamais*, proporcionou acréscimo no teor de água nos grãos de trigo (1,5 kg), após 60 dias de armazenamento.

Os resultados do peso hectolítrico (PH) ou massa específica aparente do trigo mostraram relação com a taxa instantânea de crescimento de *R. dominica*. Observa-se que, com a elevação da taxa instantânea de crescimento de *R. dominica* nos grãos de trigo, menor foi a massa específica aparente dos grãos provenientes do tratamento controle e também do tratamento com ozônio, no período de exposição de 10,11 h. De acordo com Faroni e Silva (2008), *R. dominica* alimenta-se do endosperma do trigo, resultando em uma diminuição da matéria seca e, consequentemente, da massa e/ou volume dos grãos. Santos et al. (2002) relataram comportamento semelhante; esses autores verificaram decréscimo da massa específica aparente dos grãos de trigo à medida que ocorriam maiores níveis de infestação por *S. zeamais*, durante 90 dias. Segundo Silva et al. (2003), o ataque de *R. dominica* pode alterar a classificação do

trigo do tipo 1 (78 kg hL<sup>-1</sup>) para o tipo 2 (75 kg hL<sup>-1</sup>), quando esta infestação é de aproximadamente 935 insetos kg<sup>-1</sup>.

Resultados obtidos do peso hectolítrico dos grãos de trigo ozonizados e não ozonizados (controle) situaram-se dentro do padrão de identidade e qualidade estabelecido pela Instrução Normativa nº 38 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA (BRASIL, 2010). Segundo essa instrução normativa, os grãos de trigo são enquadrados no tipo 2 (valor mínimo de 75 kg hL<sup>-1</sup>) em ambos os tratamentos (ar atmosférico e gás ozônio), independentemente do período de exposição, após 60 dias de armazenamento.

A condutividade elétrica da solução que continha os grãos de trigo, também mostrou relação com o grau de infestação de *R. dominica*, uma vez que, independentemente do período de exposição ao ar atmosférico e quando exposto ao ozônio, no período de exposição de 10,11 h, foi observado elevada condutividade elétrica e elevada taxa instantânea de crescimento de *R. dominica*, após 60 dias de armazenamento. O aumento da condutividade elétrica das soluções está relacionado à deterioração dos grãos, que tem como uma das principais causas o ataque de insetos (LOECK, 2002). O comportamento observado para a condutividade elétrica da solução que continha os grãos de trigo, está de acordo com Pereira et al. (2007), que avaliando os efeitos da fumigação com o gás ozônio 50 ppm (0,11 mg L<sup>-1</sup>) e sem o gás (controle) durante 168 h na qualidade de grãos de milho armazenado, verificaram que o aumento da condutividade elétrica das soluções que continham grãos de milho foi mais expressivo em tratamentos que apresentavam alto índice de infestação por insetos.

No armazenamento é muito comum a redução no percentual de germinação dos grãos, entretanto esse fato pode ser acentuado pela ação de fatores bióticos (fungos, insetos e ácaros) e fatores abióticos (elevados teores de água e temperatura da massa de grãos) (LOCHER e BUCHELI, 1998; CHEN, 2000). Os resultados encontrados para o



percentual de germinação dos grãos de trigo também mostraram correlação negativa com a taxa instantânea de crescimento de *R. dominica*. Nota-se que, com a elevação da taxa instantânea de crescimento de *R. dominica*, menor foi o percentual de germinação dos grãos de trigo provenientes do tratamento controle, independentemente do período de exposição ao ar atmosférico e quando exposto ao ozônio, no período de exposição de 10,11 h. Os insetos alimentam-se do embrião dos grãos, e conseqüentemente, acarreta em redução no percentual de germinação (ROCHA JÚNIOR e USBERTI, 2007).

Os resultados apresentados nesse estudo corroboram com Rocha Júnior e Usberti (2007), que estudando a qualidade física e fisiológica de sementes de trigo expurgadas com fosfina durante o armazenamento, observaram que, com o decorrer do armazenamento, a porcentagem de germinação nos tratamentos controle decresceu devido ao intenso ataque das pragas.

Não foi observado aumento no teor de cinzas dos grãos de trigo ozonizados ou não ozonizados, em todos os períodos de exposição, após 60 dias de armazenamento, independentemente da taxa instantânea de crescimento de *R. dominica* nesses grãos. Corroboram com esses resultados, estudos feitos por Özkaya et al. (2009) onde observaram que duas variedades de trigo comumente cultivadas na Turquia (trigo SW e HW) infestado por *R. dominica*, não apresentaram aumento no teor de cinzas, após 60 dias de infestação. Segundo esses mesmo autores a elevação no teor de cinzas só foi observada a partir de quatro meses após a infestação na farinha de trigo SW (aumento de 0,15%) e na farinha de trigo HW (elevação de 0,16%) após cinco meses. Este aumento pode ser o resultado de uma quantidade elevada de contaminação pelos insetos, devido à presença de constituintes nitrogenados nas excreções e fragmentos oriundos do corpo destes (ÖZKAYA, et al., 2009).

Em relação ao teor de proteínas, não foi observada variações entre os grãos de trigo expostos ao ozônio e ao ar atmosférico em todos os períodos de exposição,

independentemente da infestação de *R. dominica*. Os resultados obtidos corroboram com os observados por Antunes et al. (2011), que estudando as características físico-químicas de grãos de milho atacados por *S. zeamais*, observaram que o teor de proteína dos grãos infestados não apresentou diferença significativa em relação aos não infestados, após 60 dias de armazenamento.

Apesar de não ter ocorrido variações no teor de proteína nos grãos de trigo, em decorrência da presença de inseto, encontram-se na literatura trabalhos que relacionam esse parâmetro com infestação por insetos-praga. Bodroža-Solarov et al. (2012) estudando o efeito da infestação de *Sitophilus oryzae* em grãos de trigo tratados com terra de diatomáceas e zeólita, observaram que o teor de proteína nos grãos aumentou com incremento do nível de infestação de insetos, após 49 dias de armazenamento. Segundo esses mesmo autores, isto pode ser resultado de uma redução do endosperma causados pela praga que reduziu o teor de amido no núcleo e, conseqüentemente, aumentam a percentagem relativa de proteínas. Pinto et al. (2002) observaram que, quanto maior a densidade inicial de *S. zeamais*, maior foi o teor de proteínas, após 60 dias de armazenamento de trigo destinado à panificação.

Os resultados obtidos neste estudo, aliados às informações disponíveis na literatura, confirmam que o uso do gás ozônio em uma concentração elevada, pode reduzir o tempo de exposição letal para insetos-praga de produtos armazenados (McDONOUGH et al., 2011). É importante salientar que, uma das prerrogativas para que sejam mantidos os padrões de susceptibilidade das populações de insetos ao ozônio é a adoção de medidas integradas de manejo, incluindo o uso da concentração correta e aplicação do ozônio de forma alternada ou intercalada com outros inseticidas. É válido destacar também que a aplicação prática do ozônio requer uma série de cuidados, entre os quais destacam-se: respeitar o tempo máximo de exposição humana ao gás,

estabelecido pelas leis trabalhistas e tomar os devidos cuidados com o resíduo liberado para o ambiente.

## 6. CONCLUSÕES

Os maiores tempos de exposição ao ozônio, necessários para ocasionar a mortalidade de 50 e 95% dos insetos adultos de *R. dominica* foram de 13,08 e 18,11 h, respectivamente, quando os insetos foram distribuídos na camada superior da massa de grãos de trigo. Já os menores tempos-letais ao gás ozônio para controlar 50 e 95% dos insetos foram de 8,69 e 11,28 h, respectivamente, quando distribuídos sobre o *plenum*. Constatou-se que o maior valor de taxa instantânea de crescimento de *R. dominica*, após 60 dias de armazenamento, foi observado no período de exposição ao ozônio de 10,11 h, já no período de exposição ao gás ozônio de 16,85 h não foi observado crescimento populacional de *R. dominica*. Em geral, não foi verificada redução da qualidade física, fisiológica e físico-química dos grãos de trigo expostos ao gás ozônio, após 60 dias de armazenamento.

Assim sendo, é importante a realização de trabalhos futuros a fim de identificar concentrações eficientes do gás ozônio, com intuito de reduzir os tempos-letais no controle de insetos-praga de grãos armazenados. Aliado a isto, é importante o estudo da viabilidade de aplicação do ozônio em unidades armazenadoras e processadoras de grãos e subprodutos armazenados.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABITRIGO, Associação Brasileira da Indústria do Trigo. **Boletim Informativo**, **Novembro de 2012**. Disponível em: <<http://www.abitrigo.com.br>>. Acesso em: 18 jun. 2013.
- ALENCAR, E. R.; FARONI, L. R. A.; MARTINS, M. A.; COSTA, A. R.; CECON, P. R. Decomposition kinetics of gaseous ozone in peanuts. **Engenharia Agrícola**, v. 31, n. 5, p. 930-939, 2011.
- ALENCAR, E. R.; FARONI, L. R. A.; SOARES, N. F. F.; SILVA, W. A.; CARVALHO, M. C. S. Efficacy of ozone as a fungicidal and detoxifying agent of aflatoxins in peanuts. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 4, p. 899-905, 2012.
- ANTUNES, L. E. G.; VIEBRANTZ, P. C.; GOTTARDI, R.; DIONELLO, R. G. Características físico-químicas de grãos de milho atacados por *Sitophilus zeamais* durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 6, p. 615–620, 2011.
- AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis**. 16 ed. Washington, DC.: AOAC, 1995.
- ARTHUR, F. H.; BAUTISTA, R. C.; SIEBENMORGEN, T. J. Influence of growing location and cultivar on *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) infestation of rough rice. **Insect Science**, v. 14, n.3, p. 231–239, 2007.
- ASAE. Moisture measurement – unground grain and seeds. Page 563 in: **Standards**, 2000. St. Joseph: American Society of Agricultural Engineers.
- ATHANASSIOU, C. G.; ARTHUR, F. H.; THRONE, J. E. Effects of Short Exposures to Spinosad-Treated Wheat or Maize on Four Stored-Grain Insects. **Journal of Economic Entomology**, v. 103, n. 1, p. 197-202, 2010.

- BARBONI, T.; CANNAC, M.; CHIARAMONTI, N. Effect of cold storage and ozone treatment on physicochemical parameters, soluble sugars and organic acids in *Actinidia deliciosa*. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 946–951, 2010.
- BENGSTON, M.; COLLINS, P. J.; DAGLISH, G. J.; HALLMAN, V. L.; KOPITTKER, R.; PAVIC, H. Inheritance of phosphine resistance in *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 92, n. 1, p. 17–20. 1999.
- BODROŽA-SOLAROVA, M.; KLJAJIĆ, P.; ANDRIĆ, G.; FILIPČEVA, B.; DOKIĆ, L. Quality parameters of wheat grain and flour as influenced by treatments with natural zeolite and diatomaceous earth formulations, grain infestation status and endosperm vitreousness. **Journal of Stored Products Research**, v. 51, n. 5, p. 61–68, 2012.
- BRAGAGNOLO, C.; SBRISSIA, G. F.; MAFIOLETTI, R. L. Triticultura brasileira - desafios e perspectivas. In: \_\_\_\_AGRIANUAL – **Anuário da Agricultura Brasileira**. São Paulo: Agra FNP – Instituto FNP, 2007.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa N° 38, de 30 de novembro de 2010**, publicada no Diário Oficial da União de 01.12.2010, Brasília, DF.
- BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego. **Norma Regulamentadora N° 15 – Atividades e Operações Insalubres, Portaria GM nº. 3,214, de 08 de junho de 1978**, publicada no Diário Oficial da União de 06.07.1978, Brasília, DF.
- BRASIL. **Regras para Análise de Sementes**. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Brasília, 2009. 399p.
- BRUM, A. L.; MULLER, P. K. A realidade da cadeia do trigo no Brasil: o elo produtores/cooperativas. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 46, n. 1, p. 145-169, 2008.

- CAMPBELL, A.; SINHA, R. N. Damage of wheat by feeding of some stored product beetles. **Journal of Economic Entomology**, v. 69, n. 1, p. 11–13, 1976.
- CFR Code of Federal Regulations. **Air contaminants**. Title 13, part 1910. Washington, D.C.: Office of Federal Register, 1997.
- CHAMP, B. R.; DYTE, C. E. **FAO global survey of pesticide susceptibility of stored grain pests**. Rome: FAO/UN, 1976. 297 p.
- CHAUDHRY, M. Q. Phosphine resistance. **Pesticide Outlook**, p. 88-91, 2000.
- CHELME-AYALA, P.; GAMAL EL-DIN, M.; SMITH, D. W. Kinetics and mechanism of the degradation of two pesticides in aqueous solutions by ozonation. **Chemosphere**, v. 78, n. 5, p. 557-562, 2010.
- CHEN, C. Factors that affect equilibrium relative humidity of agricultural products. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v. 43, n. 3, p. 673-683, 2000.
- CHIATTONE, P. V.; TORRES, L. M.; ZAMBIAZI, R. C. Aplicação do ozônio na indústria de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v.19, n.3, p. 341-349, 2008.
- CLESCERL, L. S.; GREENBERG, A. E.; EATON, A. D. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Denver: American Water Works Association, 2000. 1220p.
- COLLINS, P. J.; DAGLISH, G. J.; BENGSTON, M.; LAMBKIN, T. M.; PAVIC, H. Genetics of resistance in *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 95, n. 4, p. 862-869. 2002.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira – Nono Levantamento, Junho de 2013**. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13\\_06\\_06\\_09\\_09\\_27\\_boletim\\_graos\\_-\\_junho\\_2013.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_06_06_09_09_27_boletim_graos_-_junho_2013.pdf)>. Acesso em: 7 jun. 2013.

- COSTA, M. G.; SOUZA, E. L.; STANFORD, T. L. M.; ANDRADE, S. A. C. Qualidade tecnológica de grãos e farinhas de trigo nacionais e importados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 1, p. 220-225, 2008.
- DAGLISH, G. J. Effect of exposure period on degree of dominance of phosphine resistance in adults of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera : Curculionidae). **Pest Management Science**, v. 60, n. 8, p. 822-826, 2004.
- DEMIANYK, C. J.; SINHA, R. N. Effects of infestation by the larger grain borer, *Prostephanus truncatus* (Horn), and the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae), on stored corn. **Environmental Entomology**, v. 16, n. 3, p. 618–624, 1987.
- EDDE, P. A. A review of the biology and control of *Rhyzopertha dominica* (F.) the lesser grain borer. **Journal of Stored Products Research**, v. 48, p. 1-18, 2012.
- ERDMAN, H. E. Ozone toxicity during ontogeny of two species of flour beetles, *Tribolium confusum* and *T. castaneum*. **Environmental Entomology**, v. 9, n. 1, p. 16-17, 1980.
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAO Cereal Supply and Demand Brief - June 2013**. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 18 jun. 2013b.
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAO Statistical Yearbooks 2013 - World food and agriculture**. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 18 jun. 2013a.
- FARONI, L. R. A.; SILVA, J. S. Manejo de pragas no ecossistema de grãos armazenados. In: SILVA, J.S. (ed.). **Secagem e armazenagem de produtos agrícolas**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2008. Cap. 15, p. 371-406.

- FARONI, L. R. A.; SOUSA, A. H. Aspectos biológicos e taxonômicos dos principais insetos-praga de produtos armazenados. In: ALMEIDA, F. A. C.; DUARTE, M. E. M.; MATA, M.E.R.M.C. **Tecnologia de Armazenagem em sementes**. Campina Grande: UFCG, 2006. p. 371-402.
- FERREIRA, R. A. Trigo: o alimento mais produzido no mundo. **Nutrição Brasil**, v. 2, n. 1, p. 45-52, 2003.
- FLINN, P. W.; HAGSTRUM, D. W.; REED, C.; PHILLIPS, T. W. Insect population dynamics in commercial grain elevators. **Journal of Stored Products Research**, v. 46, p. 43-47, 2010.
- FREIRE, R. S.; KUNZ, A.; DURAN, N. Alguns aspectos químicos e toxicológicos sobre fábrica de papel, tratamento de efluentes com ozônio. **Environmental Technology**, p. 717-721, 2000.
- FREITAS, R. S.; FARONI, L. R. A.; SOUSA, A. H.; CECON, P. R.; CARVALHO, M. S. Quality of beans stored under hermetic conditions. **Engenharia Agrícola, Jaboticabal**, v. 31, n. 6, p. 1136-1149, 2011.
- FREITAS, R. S. **Ozônio na degradação de resíduos de inseticidas em grãos de milho**. 2013. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2013.
- GABLER, F. M.; SMILANICK, J. L.; MANSOUR, M. F.; KARACA, H. Influence of fumigation with high concentrations of ozone gas on post-harvest gray mold and fungicide residues on table grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 55, n. 2, p. 85-90, 2010.
- GUEDES, R. N. C. Manejo integrado para a proteção de grãos armazenados contra insetos. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 15/16, n. 1/2, p. 3-48, 1990/1991.



- GUEDES, R. N. C.; LIMA, J. O. G.; SANTOS, J. P.; CRUZ, C. D. Inheritance of deltamethrin resistance in a Brazilian strain of maize weevil *Sitophilus zeamais* Mots. **International Journal of Pest Management**, v. 40, n. 1, p.103-106, 1994.
- GUTKOSKI, L. C.; DURIGON, A.; MAZZUTTI, S.; SILVA, A. C. T.; ELIAS, M. C. C. Efeito período de maturação de grãos nas propriedades físicas e reológicas de trigo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 888-894, 2008.
- GUZEL-SEYDIM, Z. B., GREENE, A. K., SEYDIM, A. C. Use of ozone in the food industry. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technoloy**, v. 37, p. 453-460, 2004.
- HILL, A. G.; RICE, R. G. **Handbook of Ozone Technology and Applications**, RICE, R. G.; NETZER, A., eds.; Ann Arbor Science: Michigan, 1982, v. 1, p. 1.
- HOLLINGSWORTH, R. G.; ARMSTRONG, J. W. Potential of temperature, controlled atmospheres and ozone fumigation to control thrips and mealybugs on ornamental plants for export. **Journal of Economic Entomology**, v. 98, n. 2, p. 289-298, 2005.
- HOLMSTRUP, M.; SORENSEN, J. G.; HECKMANN, L.; SLOTSBO, S.; HANSEN, P.; HANSEN, L. S. Effects of ozone on gene expression and lipid peroxidation in adults and larvae of the red flour beetle (*Tribolium castaneum*). **Journal of Stored Products Research**, v. 47, n. 4, p. 378-384, 2011.
- ISIKBER, A. A.; ÖZTEKIN, S. Comparison of susceptibility of two stored-product insects, *Ephestia kuehniella* Zeller and *Tribolium confusum* du Val to gaseous ozone. **Journal of Stored Products Research**, v. 45, n. 3, p. 159-164, 2009.
- JILANI, G.; SAXENA, R. C.; KHAN, A. A. Ethylene production as an indicator of germination and vigor loss in stored rice seed infested by *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 25, p. 175–178, 1989.
- JOOD, S.; KAPOOR, A. C. Effect of storage and insect infestation on protein and starch digestibility of cereal grains. **Food Chemistry**, v. 44, p. 209–212, 1992.

- JOOD, S.; KAPOOR, A . C. Protein and uric acid contents of cereal grains as affected by insect infestation. **Food Chemistry**, v. 46, p. 143–146, 1993.
- JOOD, S.; KAPOOR, A. C.; SINGH, R. Available carbohydrates of cereal grains as affected by storage and insect infestation. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 43, p. 45–54, 1993.
- JOOD, S.; KAPOOR, A. C.; SINGH, R. Effects of insect infestation and storage on lipids of cereal grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 1502–1506, 1996.
- KELLS, S. A.; MASON, L. J.; MAIER, D. E.; WOLOSOSHUK, C. P. Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. **Journal of Stored Products Research**, v. 37, n. 4, p. 371-383, 2001.
- KHADRE, M. A.; YOUSEF, A. E.; KIM, J. G. Microbiological aspects of ozone applications in food: A review. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 9, p. 1242-1252, 2001.
- KIM, J. G. **Ozone as an antimicrobial agent in minimally processed**. Columbus, OH: The Ohio State University, 1998. Ph. D. Thesis.
- KIM, J. G.; YOUSEF, A. E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 62, n. 9, p. 1071-1087, 1999.
- KUCEROVÁ, Z.; STEJSKAL, V. Differences in egg morphology of the stored-grain pests *Rhyzopertha dominica* and *Prostephanus truncatus* (Coleoptera: Bostrichidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 44, n. 1, p. 103–105, 2008.
- KUMAR, T. P.; MOORTHY, S. N.; BALAGOPALAN, C.; JAYAPRAKAS, C. A.; RAJAMMA, P. Quality changes in market cassava chips infested by insects. **Journal of Stored Products Research**, v. 32, n. 4, p. 183–186, 1996.

- LAFIS Consultoria, Análises Setoriais e de Empresas. **Moinhos de trigo**. São Paulo: 2008. 58 p.
- LAPOLLI, F. R.; SANTOS, L. F.; HÁSSEMER, M. E. N.; AISSE, M. M.; PIVELI, R. P. Desinfecção de efluentes sanitários por meio da ozonização. In: GONÇALVES, R. F. (Coord.). **Desinfecção de efluentes sanitários, remoção de organismos patogênicos e substâncias nocivas: aplicação para fins produtivos como agricultura, aquicultura e hidropônica**. Vitória: PROSAB, 2003. p. 169-208.
- LOCHER, R.; BUCHELI, P. Comparison of soluble sugar degradation in soybean seed under simulated tropical storage conditions. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 5, p. 1229-1235, 1998.
- LOECK, A. E. Principais pragas que atacam produtos armazenados. In: LOECK, A. E. **Pragas de produtos armazenados**. Pelotas: EGUFPEL, 2002. p. 35-59.
- LU, B.; REN, Y.; DU, Y.; FU, Y.; GU, JIE. Effect of ozone on respiration of adult *Sitophilus oryzae* (L.), *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Rhyzopertha dominica* (F.). **Journal of Insect Physiology**, v. 55, n. 10, p. 885-889, 2009.
- MATHEW, S. A Review on the wheat grain quality under post harvest storage. **International Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences**, v. 1, n. 2, p. 38-42, 2010.
- McDONOUGH, M. X.; MASON, L. J.; WOLOSHUK, C. P. Susceptibility of stored product insects to high concentrations of ozone at different exposure intervals. **Journal of Stored Products Research**, v. 47, n. 4, p. 306-310, 2011.
- MENDEZ, F.; MAIER, D. E.; MASON, L. J.; WOLOSHUCK, C. P. Penetration of ozone into columns of stored grains and effects on chemical composition and processing performance. **Journal of Stored Products Research**, v. 39, n. 1, p. 33-44, 2003.

- MOHAMMAD, O. S.; ALI, W. K.; AL-HULITAN, A. T. The Effect of Infestation by the Confused Flour Beetle (*Tribolium Confusum* Duv.) on Specifications of Wheat Flour. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 12, n. 5, p. 696-701, 2012.
- NOVAK, J. S.; YUAN, J. T. C. The ozonation concept: advantages of ozone treatment and commercia developments. In: TEWARI, G.; JUNEJA, V. K. (Eds.) **Advances in Thermal and Non-Thermal Food Preservation**. Ames: Blackwell Publishing, p. 185-193, 2007.
- OLIVEIRA, D. M.; SOUZA, M. A.; ROCHA, V. S.; ASSIS, J. C. Desempenho de genitores e populações segregantes de trigo sob estresse de calor. **Bragantia**, Campinas, v. 70, n. 1, p. 25-32, 2011.
- OPPERT, B.; MORGAN, T. D.; REED, C.; PHILLIPS, T. W. Improved high-throughput bioassay for *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 52, n. 1, p. 68-73, 2013.
- ÖZKAYA, H.; ÖZKAYA, B.; COLAKOGLU, A. S. Technological properties of a variety of soft and hard bread wheat infested by *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Tribolium confusum* du Val. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 7, p. 166-172, 2009.
- PAES, J. L.; FARONI, L. R. A.; DHINGRA, O.D.; CECON, P. R.; SILVA, T. A. Insecticidal fumigant action of mustard essential oil against *Sitophilus zeamais* in maize grains. **Crop Protection**, v. 34, p. 56-58, 2012.
- PALOU, L.; SMILANICK, J. L.; CRISOSTO, C. H.; MANSOUR, M. Effect of gaseous ozone exposure on the development of green and blue molds on cold stored citrus fruit. **Plant Disease**, v. 85, n. 6, p. 632-638, 2001.

- PEREIRA, A. M.; FARONI, L. R. A.; SOUZA, A. H.; URRUCHI, W. I.; ROMA, R. C. C. Efeito imediato e latente de fumigação com ozônio na qualidade dos grãos de milho. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 32, n. 2, p. 100-110, 2007.
- PIMENTEL, M. A. G.; FARONI, L. R. A.; GUEDES, R.N.C.; SOUSA, A. H.; TÓTOLA, M. R. Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschusky (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 45, n. 1, p. 71-74, 2009.
- PIMENTEL, M. A. G.; FARONI, L. R. A.; SILVA, F. H.; BATISTA, M. D.; GUEDES, R.N.C. Spread of phosphine resistance among brazilian populations of three species of stored product insects. **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 1, p. 101-107, 2010.
- PIMENTEL, M. A. G.; FARONI, L. R. A.; TÓTOLA, M. R.; GUEDES, R. N. C. Phosphine resistance, respiration rate and fitness consequences in stored product insects. **Pest Management Science**, v. 63, p. 876–881, 2007.
- PINTO, U. M.; FARONI, L. R. A.; ALVES, W. M.; SILVA, A. A. L. Influência da densidade populacional de *Sitophilus zeamais* (Motsch.) sobre a qualidade do trigo destinado à panificação. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1407-1412, 2002.
- QIANG, Z.; LIU, C.; DONG, B.; ZHANG, Y. Degradation mechanism of alachlor during direct ozonation and O<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> advanced oxidation process. **Chemosphere**, v. 78, n. 5, p. 517-526, 2010.
- RAILA, A.; LUGAUSKAS, A.; STEPONAVICIUS, D.; RAILIENE, M.; STEPONAVICIENE, A.; ZVICEVICIUS, E. Application of ozone for reduction of mycological infection in wheat grain. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 13, n. 2, p. 287-294, 2006.

- REES, D. P. Coleoptera. In: SUBRAMANYAM, B.; HAGSTRUM, D.W. **Integrated Management of Insects in Stored Products**, New York: Marcel Dekker, 1996. p.1-39.
- RICE, R. G.; ROBSON, C. M.; MILLER, G. W.; HILL, A. G. Uses of ozone in drinking water treatment. **Journal of the American Water Works Association**, v. 73, p. 44-57, 1981.
- ROCHA JÚNIOR, L. S. e USBERTI, R. Qualidade física e fisiológica de sementes de trigo expurgadas com fosfina durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 45-51, 2007.
- ROZADO, A. F.; FARONI, L. R. A.; URRUCHI, W. M. I.; GUEDES, R. N. C.; PAES, J. L. Aplicação de ozônio contra *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 12, n. 3, p. 282-285, 2008.
- ROZADO, A. F. **Ozônio como fumigante na proteção de milho armazenado**. 2005. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2005.
- SAEG. **Sistema para Análises Estatísticas**, versão 9.0. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, 2005.
- SÁNCHEZ-MARIÑEZ, R. I.; CORTEZ-ROCHA, M. O.; ORTEGA-DORAME, F.; MORALES-VALDES, M.; SILVEIRA, M. I. End-Use Quality of Flour from *Rhyzopertha dominica* Infested Wheat. **Cereal Chemistry**, v. 74, n. 4, p. 481–483, 1997.
- SANTOS, A. K.; FARONI, L. R. A.; GUEDES, R. N. C.; SANTOS, J. P.; ROZADO, A. F. Nível de dano econômico de *Sitophilus zeamais* (M.) em trigo armazenado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 6, n. 2, p. 273-279, 2002.

- SAS Institute. **SAS/STAT User`s Guide**, version 8.0. Cary: SAS Institute Inc., 2002.
- SCHEUER, P. M.; FRANCISCO, A.; MIRANDA, M. Z.; LIMBERGER, V. M. Trigo: características e utilização na panificação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 13, n. 2, p. 211-222, 2011.
- SHARPE, D.; FAN, L.; McRAE, K.; WALKER, B.; McKAY, R.; DOUCETTE C. Effects of Ozone Treatment on *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum* in relation to Horticultural Product Quality. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 6, p. 250-257, 2009.
- SILVA, A. A. L.; FARONI, L. R. A.; GUEDES, R. N. C.; MARTINS, J. H.; PIMENTEL, M. A. G. Modelagem das perdas causadas por *Sitophilus zeamais* e *Rhyzopertha dominica* em trigo armazenado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 7, n. 2, p. 292-296, 2003.
- SILVA, G. N.; FARONI, L. R. A.; SOUSA, A. H.; FREITAS, R. S. Bioactivity of *Jatropha curcas* L. to insect pests of stored products. **Journal of Stored Products Research**, v. 48, n. 1, p. 111-113, 2012.
- SILVA, L. B.; SILVA, L. S.; MANCIN, A. C.; CARVALHO, G. S.; SILVA, J. C.; ANDRADE, L. H. Comportamento do gorgulho-do-milho frente às doses de permetrina. **Comunicata Scientiae**, v. 4, n. 1, p. 26-34, 2013.
- SILVA, T. A. **Processo de ozonização dos grãos de trigo: cinética de reação e efeito na qualidade destes e da farinha**. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2011.
- SOUSA, A. H.; FARONI, L. R. A.; SILVA, G. N.; GUEDES, R. N. C. Ozone toxicity and walking response of populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 6, n. 105, p. 2187-2195, 2012.

- SOUSA, A. H.; FARONI, L. R. A.; GUEDES, R. N. C.; TÓTOLA, M. R.; URRUCHI, W. I. Ozone as a management alternative against phosphine-resistant insect-pests of stored products. **Journal of Stored Products Research**, v. 44, n. 4, p. 379-385, 2008.
- SPSS Inc. **Sigma Plot user's guide version 7.0** (Revised Edition). SPSS Inc., Chicago, USA. 2001.
- STANLEY, J.; JOHNSON, J. D. Handbook of ozone technology and applications. RICE, R. G.; NETZER, A. (Eds.). **Ann Arbor Science**. Michigan, 1982. v. 1.
- STEPONAVICIUS, D.; STEPONAVICIENĖ, A.; RAILA, A.; ZVICEVICIUS, E.; KEMZURAITĖ, A. Investigation on ozone penetration along grain mound height. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 10, n. 1, p. 742-747, 2012.
- STRAIT, C. A. **Efficacy of ozone to control insects and fungi in stored grain**. Purdue University, West Lafayette, IN, 59 p. (M.S. thesis). 1998.
- TIWARI, B. K.; BRENNAN, C. S.; CURRAN, T.; GALLAGHER, E.; CULLEN, P. J.; O'DONNELL, C.P. Application of ozone in grain processing. **Journal of Cereal Science**, v. 51, n. 3, p. 248-255, 2010.
- TOEWS, M. D.; CAMPBELL, J. F.; ARTHUR, F. H.; RAMASWAMY, S. B. Outdoor flight activity and immigration of *Rhyzopertha dominica* into seed wheat warehouses. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 121, p. 73-85, 2006.
- VIEIRA, R. D, CARVALHO, N. M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 1994. p. 103-132.
- WAKIL, W.; RIASAT, T.; LORDC, J. C. Effects of combined thiamethoxam and diatomaceous earth on mortality and progeny production of four Pakistani populations of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) on wheat, rice and maize. **Journal of Stored Products Research**, v. 52, n. 1, p. 28-35, 2013.



- WALTHALL, W. K.; STARK, J. D. Comparasion of two population level ecotoxicological endpoints: The intrinsic ( $r_m$ ) and instantaneous ( $r_i$ ) rates of increase. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 16, p. 1068-1073, 1997.
- WHITE, N. D. G.; LEESCH, J. G. Chemical Control. In: SUBRAMANYAM, B.; HAGSTRUM, D. W. (Eds.). **Integrated Management of Insects in Stored Products**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996. p. 287-330.
- WHO - World Health Organization. **Air Quality Guidelines for Europe**. WHO Regional Publications, European Series, N° 91, Second Edition, 2000. 273p
- 91, Second Edition, 2000. 273p.