

ADRIANO FERREIRA ROZADO

OZÔNIO COMO FUMIGANTE NA PROTEÇÃO DE MILHO ARMAZENADO

Tese 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
2005**

ADRIANO FERREIRA ROZADO

OZÔNIO COMO FUMIGANTE NA PROTEÇÃO DE MILHO ARMAZENADO

Tese 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: 18 de fevereiro de 2005.

Prof. Wilfredo Milquiades Irrazabal Urruchi
(Conselheiro)

Prof. Raul Narciso Carvalho Guedes
(Conselheiro)

Prof. Pedro Amorim Berbert

Prof. Edilberto Pozo Velásquez

Prof^a Lêda Rita D'Antonino Faroni
(Orientadora)

A Deus.

Aos meus queridos pais, Antônio e Creuza.

À minha esposa Maria Aparecida.

À minha irmã, avós e familiares.

Especialmente à minha filha Gabriella.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me dá sabedoria para enfrentar os desafios com serenidade.

À minha família, que sempre me incentivou a seguir na caminhada, especialmente meus pais e minha esposa.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Engenharia Agrícola, pela oportunidade oferecida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Laboratório de Plasmas do Instituto Tecnológico de Aeronáutica e à Empresa Multivácuo por ceder o gerador e o medidor de ozônio.

À professora Lêda Rita D'Antonino Faroni, pela orientação e sugestões na elaboração da tese, pelo companheirismo, pela amizade e confiança.

Aos professores Wilfredo Milquides Irrazabal Urruchi, Raul Narciso Carvalho Guedes e Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz, pelos conselhos em todas as etapas do trabalho e, principalmente, pela amizade.

Aos professores Pedro Amorim Berbert e Edilberto Pozo Velásquez, pela participação na banca examinadora.

Ao professor José Helvécio Martins, por ter disponibilizado o sistema de monitoramento da temperatura da massa de grãos e, principalmente, pela amizade.

Aos funcionários Zé Eustáquio, Inhame, Edson, Catitu, Zé baixinho e todos os outros do Setor de Armazenamento e do Departamento de Engenharia Agrícola.

Aos amigos e colegas de curso, Wederson, Romero, Fátima, Faos, Flávio, Marco Aurélio, Marcel, Marco Antônio, Ernandes, Alexandre, José Roberto, Ana, Rafaela, Juliana, Silvia, Flávia, Ramon, entre outros, pelo convívio alegre e saudável.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, eu agradeço e dedico minha sincera amizade.

BIOGRAFIA

ADRIANO FERREIRA ROZADO, filho de Antônio Emílio Rozado e Creuza Ferreira Rozado, nasceu em Belford Roxo, Estado do Rio de Janeiro, no dia 19 de outubro de 1975.

Realizou os estudos de segundo grau na Escola Técnica de Belford Roxo, concluindo o curso Técnico em Processamento de Dados.

Em março de 2003, graduou-se em Engenharia Agrícola pela Universidade Federal de Viçosa – UFV.

Ingressou no Curso de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, em nível de Mestrado, na área de Armazenamento e Pré-Processamento de Produtos Agrícolas, na Universidade Federal de Viçosa, em 17 de março de 2003.

CONTEÚDO

RESUMO	viii
ABSTRACT.....	x
1.INTRODUÇÃO.....	1
2.REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Insetos-praga de grãos armazenados	4
2.1.1. <i>Sitophilus zeamais</i>	4
2.1.2. <i>Tribolium castaneum</i>	6
2.2. Controle de insetos-praga	8
2.2.1. Atmosfera modificada	8
2.2.2. Ozônio	9
2.2.2.1. Características gerais do ozônio	9
2.2.2.2. Ozônio como fumigante	11
2.2.3. Temperatura	12
2.2.4. Avaliação da mortalidade	13
2.3. Qualidade fisiológica dos grãos	13
2.3.1. Condutividade elétrica	14
3. MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1 Criação dos insetos	17
3.2 Recipientes cilíndricos para contenção dos grãos e dos insetos	17
3.3. Obtenção do gás ozônio	18

3.4. Procedimento experimental	21
3.5. Avaliação da eficácia do ozônio como fumigante	23
3.6. Avaliação qualitativa dos grãos de milho	24
3.6.1. Determinação do potencial de germinação	24
3.6.2. Condutividade elétrica	24
3.6.3. Teor de umidade	25
3.7. Delineamento experimental	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1. Classificação dos grãos de milho	26
4.2. Avaliação da mortalidade	27
4.3. Avaliação da qualidade fisiológica dos grãos	32
5. RESUMO E CONCLUSÕES	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

RESUMO

ROZADO, Adriano Ferreira, M.S., Universidade Federal de Viçosa, Fevereiro de 2005. **Ozônio como fumigante na proteção de milho armazenado.** Orientadora: Lêda Rita D'Antonino Faroni. Conselheiros: Wilfredo Milquiades Irrazabal Urruchi, Raul Narciso Carvalho Guedes e Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz.

O presente trabalho teve por meta avaliar a suscetibilidade dos adultos de *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae) e *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae), submetidos ao tratamento com ozônio em diferentes camadas da massa de grãos, estimando-se, assim, os tempos letais (TL) para 50% e 95% da população de cada espécie e, ainda, avaliar a qualidade fisiológica dos grãos de milho submetidos aos tratamentos com ozônio. Grãos de milho com teor de umidade em torno de 13% (b.u.) foram distribuídos em recipientes cilíndricos, construídos em PVC, com 20 cm de diâmetro, 100 cm de altura e conexões para injeção e exaustão de gás. A 10 cm da base do recipiente, colocou-se uma tela metálica para sustentação dos grãos e formação de um *plenum* para melhor distribuição do gás. Para avaliar a eficácia do ozônio como fumigante, grãos de milho infestados com adultos de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*, obtidos de criação contínua em câmara climática do tipo B.O.D., foram distribuídos em gaiolas de 3,0 cm de altura e 15,0 cm de diâmetro, também em PVC, sendo o fundo e a tampa confeccionados em tecido do tipo organza. Estas gaiolas foram dispostas em diferentes camadas da massa

de grãos (sobre o *plenum*, mediana e superior) e submetidas a uma atmosfera modificada com 50 ppm de ozônio em diferentes períodos de exposição. O ozônio foi injetado em fluxo contínuo de $8,0 \text{ L min}^{-1}$, em conexão localizada na base (*plenum*) do recipiente. Para avaliar o efeito da fumigação com o ozônio na qualidade do milho, foram realizados testes de condutividade elétrica, potencial de germinação e teor de umidade. Em todo o experimento, a temperatura da massa de grãos foi mantida próxima de $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Para tanto, construiu-se uma câmara com controle de temperatura onde foram acondicionados os recipientes cilíndricos, sendo esta monitorada por meio de um sistema de aquisição e armazenamento de dados denominado *1-wire*. Em todos os ensaios foram utilizados seis recipientes cilíndricos, sendo que em três destes injetou-se ozônio e nos outros foi injetado ar atmosférico (testemunha). Concluiu-se que, em geral, o aumento do período de exposição resultou no aumento da eficácia dos tratamentos com 50 ppm de ozônio para os adultos de *S. zeamais* e *T. castaneum*. A espécie que se mostrou mais susceptível foi *S. zeamais*. O maior período de exposição para o controle de 95% dos insetos foi de 240,75 h para o *S. zeamais* e de 390,18 h para o *T. castaneum*. O maior período de exposição para o controle de 50% dos insetos adultos foi de 124,20 h para o *S. zeamais* e de 234,75 h para o *T. castaneum*. Em geral, os tratamentos com atmosfera modificada com 50 ppm de ozônio e com ar atmosférico, não afetaram a qualidade fisiológica dos grãos de milho.

ABSTRACT

ROZADO, Adriano Ferreira, M.S., Universidade Federal de Viçosa, February, 2005. **Ozone as fumigant for stored maize protection.** Adviser: Lêda Rita D'Antonino Faroni. Committee Members: Wilfredo Milquiades Irrazabal Urruchi, Raul Narciso Carvalho Guedes and Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz.

The current work aimed to assess the susceptibility of adults of *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae), subjected to ozone treatment at different depths in the grain mass, thus estimating the lethal time for 50% and 95% of each species population, and also assess the physiological quality of the maize grains subjected to the ozone treatment. Maize grains with moisture level around 13% (wb) were distributed in cylindrical PVC containers with 20 cm diameter, 100 cm high and connections for gas injection and exhaustion. At 10 cm from the base of the container, a metallic net was placed to sustain the grain and to form a plenum for better gas distribution. Maize grains infested with adults of *Sitophilus zeamais* and *Tribolium castaneum*, obtained from laboratory colonies from climatic chamber of the B.O.D. type, were placed in cages of 3.0 cm high and 15.0 cm diameter with top and bottom of voil to evaluate the efficiency of ozone as fumigant. These cages were placed at different grain mass depths (over the plenum, middle and top of grain column) and subjected to a modified atmosphere of 50 ppm ozone under different exposure periods. The ozone was injected in a

continuous flow of 8.0 L min^{-1} in connection located at the base (plenum) of the container. Tests of electrical conductivity, germination potential and humidity level were carried out in the maize grains to assess the ozone effect on them. The grain mass temperature was maintained around $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ throughout the experiment. To do that, a temperature-controlled chamber was built where the containers were placed. The temperature was monitored through a data acquisition and store system called f-wire. Six cylindrical containers were used in all of the assays and in three of these ozone was injected, while the remaining ones were injected with atmospheric air (control). It was concluded that in general the increase in exposure period increased the efficiency of the treatments with 50 ppm ozone for adults *S. zeamais* and *T. castaneum*. The species *S. zeamais* was more susceptible. The highest exposure period to control 95% of the insects was of 240.75 h for *S. zeamais* and 390.18 h for *T. castaneum*. The greatest exposure period to control 50% of the adult insects was 124.20 h for *S. zeamais* and 234.75 h for *T. castaneum*. In general, the treatments with modified atmosphere containing 50 ppm ozone and atmospheric air did not affect the physiological quality of the maize grains.

1 . INTRODUÇÃO

De acordo com levantamentos realizados pela Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2005), estima-se que a produção brasileira de grãos, cereais e oleaginosas atinja o volume récorde de 132 milhões de toneladas na safra 2004/2005. Deste montante, estima-se que a produção total de milho seja da ordem de 43 milhões de toneladas.

O armazenamento de grãos é parte integrante do sistema de pré-processamento de produtos agrícolas. A importância da armazenagem reside no fato de que, quando conduzida adequadamente, evitam-se ou minimizam-se as perdas, preservando-se a qualidade do produto.

A massa de grãos é constantemente submetida a fatores externos que compõem o ambiente de armazenamento. Esses fatores podem ser físicos, como temperatura e umidade; químicos, como fornecimento de oxigênio; e biológicos, como bactérias, fungos, insetos e roedores (BROOKER et al., 1992).

Os grãos de cereais e seus subprodutos estão sujeitos ao ataque de pragas que causam perdas qualitativas e quantitativas (PEDERSEN, 1992). As perdas podem atingir até 30% em alguns casos, sendo 10% delas causadas diretamente pelo ataque de insetos-praga durante o armazenamento (SINHA, 1995; SCHÖLLER et al.,1997). Diante desta realidade, um moderno manejo de pragas em unidades armazenadoras e processadoras de grãos deve ser composto por medidas de controle que sejam eficazes, de baixo custo e com um

mínimo de impacto ambiental, induzindo, desta forma, geração de novas tecnologias e melhor manejo daquelas já existentes (SARTORI, 2000).

Uma alternativa para o controle de insetos de grãos armazenados consiste na adoção de métodos físicos, dentre os quais se destaca a modificação do ar atmosférico existente na massa de grãos (ANNIS, 1990; WHITE e LEESCH, 1996). Sendo assim, dentre as novas tecnologias no controle de pragas, o ozônio pode se tornar uma alternativa ecologicamente correta e economicamente viável no âmbito da manutenção e preservação da qualidade dos produtos de origem vegetal.

A utilização do ozônio tem sido incrementada de maneira considerável, sendo aplicado no combate a microrganismos e vírus, na remoção de cor e contaminantes ambientais em aplicações industriais, no controle de fungos e na redução de contaminação por micotoxinas (KIM et al., 1999). Novos segmentos de aplicações de ozônio têm sido desenvolvidos, principalmente nas áreas de processamento de alimentos e agricultura, tendo sido obtida a aprovação da FDA (Food and Drug Administration) dos Estados Unidos, para esta finalidade (RICE e GRAHAM, 2002). Dentre as aplicações agrícolas do ozônio, podem-se incluir o armazenamento e a preservação de legumes e frutas, a desinfecção da superfície de alimentos perecíveis, de equipamento industrial, de água e de embalagens (GRAHAM, 1997).

O ozônio (O₃) é um poderoso agente oxidante, que pode ser gerado no local através de uma descarga elétrica (KIM et al., 1999). Desta forma, a sua utilização torna-se atraente no controle de insetos e fungos em grãos armazenados, pelo fato de descartar a necessidade de manipulação, armazenamento ou eliminação dos recipientes de produtos químicos e, ainda, pelo fato de possuir uma meia vida curta e de seu produto de degradação ser o oxigênio (KELLS et al., 2001; MENDEZ et al., 2003).

Além do controle de insetos que o ozônio pode promover, outro parâmetro importante a ser observado quanto à sua utilização, é a qualidade do produto armazenado. Segundo MENDEZ et al. (2003), além da eliminação dos insetos, nenhum efeito negativo na qualidade e nas características nutricionais do trigo, milho e arroz foi constatado, quando submetidos a um tratamento de 50 ppm de ozônio por um período de 30 dias.

Os insetos assumem particular importância como pragas de produtos armazenados pelo fato de a massa de grãos constituir-se em ambiente ideal para seu desenvolvimento. Sendo assim, torna-se necessário o estudo sobre a viabilidade da utilização do ozônio como fumigante alternativo para regiões de clima tropical, pois, além de poucos, os estudos realizados referem-se, somente, às regiões de clima temperado.

Diante do exposto, este trabalho teve por meta avaliar a suscetibilidade dos adultos de *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) e *Tribolium castaneum* (Herbst), submetidos ao tratamento com ozônio em diferentes camadas na massa de grãos, estimando-se assim os tempos letais (TL) para 50% e 95% da população de cada espécie e, ainda, avaliar a qualidade fisiológica dos grãos submetidos aos tratamentos com ozônio.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Insetos-praga de grãos armazenados

Entre os insetos comumente encontrados em grãos e subprodutos armazenados, os pertencentes às ordens Coleoptera e Lepidoptera compreendem as espécies de maior importância como pragas. A ordem Psocoptera possui espécies de menor importância, porém, bastante freqüentes, sendo comumente referidas como insetos associados.

Em geral, a ordem Coleoptera agrupa o maior número de espécies e, dentre elas, algumas das mais importantes pragas dos grãos e subprodutos armazenados, merecendo destaque as do gênero *Sitophilus* e *Tribolium*.

2.1.1. *Sitophilus zeamais*

Pertencentes à família Curculionidae, *S. granarius* (L.), *S. oryzae* (L.) e *S. zeamais* (Motsch.) (Figura 1), destacam-se dentro do setor de armazenamento. Os insetos adultos desta família são caracterizados pela presença de uma projeção da cabeça em forma de tromba, conhecida como rostro, em cujo final se encontram as peças bucais (MOUND, 1989). Medem de 2,5 a 4,0 mm de comprimento e a cor varia de castanho escuro a negro. São bons voadores, podendo infestar os grãos ainda no campo, com exceção de *S. granarius*, que é

incapaz de voar e normalmente não infesta a cultura no campo (OKELANA e OSUJI, 1985).

Os adultos do gênero *Sitophilus* são considerados pragas primárias pelo fato de causarem danos aos grãos sadios. Todas as fases primárias (ovo, larva e pupa) ocorrem no interior do grão. Em condições ótimas, o ciclo vital, de ovo a adulto, se completa em quatro semanas, com os adultos podendo viver de quatro a cinco meses. Frequentemente causam destruição quase que completa dos grãos em armazéns, navios ou outros lugares onde as condições sejam favoráveis ao seu desenvolvimento.

As fêmeas chegam a depositar 150 ovos ao longo de sua vida. Os ovos são inseridos individualmente dentro de pequenas cavidades abertas no grão pela fêmea; a cavidade é então coberta com uma secreção gelatinosa, selando o ovo no grão. A eclosão dos ovos ocorre em aproximadamente seis dias, a 25 °C; as larvas se desenvolvem dentro do grão, escavando-o à medida que crescem. As larvas apresentam canibalismo sobre os indivíduos fracos ou pequenos; como resultado, raramente emerge mais que um indivíduo adulto de um simples grão de trigo ou de arroz, enquanto dois ou três podem emergir de um único grão de milho (EVANS, 1981).

O intervalo de temperatura para o desenvolvimento de *S. oryzae* e *S. zeamais* está compreendido entre 15 e 34 °C, estando o valor ótimo próximo de 29 °C (RYOO e CHO, 1987).

As espécies *S. zeamais* e *S. oryzae* assemelham-se muito na aparência, sendo indistinguíveis pelas características externas, necessitando de dessecação e exame da genitália para diferenciá-las.



Fonte: <http://www.fao.org/inpho/vlibrary/x0030s/X0030S05.jpg>

Figura 1 – *Sitophilus* sp. – fase adulta.

2.1.2. *Tribolium castaneum*

Existem diversas espécies do gênero *Tribolium* que causam danos aos produtos armazenados. Este gênero pertence à família Tenebrionidae, da ordem Coleoptera. *Tribolium castaneum* (Figura 2) e *T. confusum* (Jacquelin Du Val) são as espécies mais encontradas em armazéns. São cosmopolitas, contudo *T. castaneum* tem sido mais comum nos trópicos e subtropicais, enquanto *T. confusum* mais comum em regiões de clima temperado, porém ambas possuem capacidade de se dispersarem à procura de novas fontes de alimentos (REES, 1996). Os adultos são de coloração avermelhada uniforme, achatados, medindo de 3,0 a 3,8 mm de comprimento. *Tribolium castaneum* voa intensamente, o que lhe confere boa capacidade de infestação (DOBIE et al., 1984).

As espécies *T. castaneum* e *T. confusum* podem ser diferenciadas com base nas antenas e na distância entre os olhos. Os artículos da antena de *T. castaneum* aumentam abruptamente na porção distal, enquanto em *T. confusum*, os artículos aumentam gradualmente de tamanho, da base para a ponta. Já a distância entre os olhos de *T. castaneum* é igual ao diâmetro destes; em *T. confusum*, os olhos são menores e estão separados por uma distância equivalente a três vezes o diâmetro deles (GUEDES, 1991).



Fonte: http://www.blackwellpublishing.com/ridley/a-z/Group_selection_.asp

Figura 2 – *Tribolium castaneum* – fase adulta.

Por serem incapazes de romper o tegumento dos grãos, são classificados como praga secundária; contudo, são pragas-chave especialmente em unidades armazenadoras e processadoras de grãos, geralmente associadas às pragas primárias. *Tribolium castaneum* é a principal praga secundária de produtos armazenados, alimentando-se de cereais danificados, atacando principalmente a região do embrião.

Os ovos de *T. castaneum* possuem forma oblonga, apresentam coloração esbranquiçada, quase transparente, e são cobertos por fluido pegajoso, que acumula farinha e partículas dos produtos armazenados, sendo de difícil visualização. As fêmeas colocam os ovos nas sacarias ou nos detritos dos alimentos que infestam e, em condições favoráveis, podem colocar de 400 a mais de 1.000 ovos, com uma freqüência de 6 a 12 ovos por dia, durante vários meses (SOKOLOFF, 1974).

Adultos de *T. castaneum* podem viver por muitos meses, ou até anos, em condições ideais de temperatura. O ciclo de vida pode ser completado em torno de 21 dias, em condições ótimas (30 a 35 °C e 75% de umidade relativa). Seu desenvolvimento é possível na faixa de 22 a 40 °C, embora temperaturas elevadas reduzam sua longevidade. Em condições ótimas, a população de *T. castaneum* pode aumentar a uma taxa de 70 a 100 vezes ao mês, apresentando, assim, maior incremento populacional que outras pragas de grãos armazenados (REES, 1996). Segundo SATTIGI et al. (1989), os adultos de *T. castaneum*

alimentados com trigo apresentam maior período de sobrevivência quando comparados com aqueles que se alimentam de outra fonte.

O canibalismo e a predação desempenham papel importante na nutrição de *T. castaneum*. Os ovos e as pupas são freqüentemente atacados pelos adultos e larvas, limitando, em muitos casos, o crescimento da população. Essa espécie, nas fases adulta e larval, pode também atacar as fases de desenvolvimento de *Plodia interpunctella* (H.) (Lepidoptera: Pyralidae), *Ephestia cautela* (W.) (Lepidoptera: Pyralidae) e *Corcyra cephalonica* (S.) (Lepidoptera: Pyralidae) e também ovos, larvas e pupas de *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) (DOBIE et al., 1984).

2.2. Controle de insetos-praga

Uma das alternativas para o controle de insetos-praga em grãos armazenados é a adoção de métodos físicos. Um destes métodos consiste na modificação da atmosfera no interior da estrutura armazenadora.

2.2.1. Atmosfera modificada

O controle de insetos-praga utilizando atmosfera modificada envolve a alteração dos principais gases presentes na atmosfera normal, como dióxido de carbono (CO₂), oxigênio (O₂) e nitrogênio (N₂). O processo de modificação da atmosfera pode ser obtido de diversos modos: por adição de CO₂, redução do nível de oxigênio e através do armazenamento hermético (BANKS e FIELDS, 1995).

Além da composição dos gases, a eficiência da atmosfera modificada depende da umidade relativa do ar, da temperatura, do período de exposição e da pressão dos gases (fatores abióticos) e de fatores bióticos, como espécie de inseto, estágio de desenvolvimento e distribuição da infestação (JAYAS e JEYAMKONDAN, 2002).

Geralmente, em atmosferas modificadas, a concentração de oxigênio é reduzida e/ou a concentração de dióxido de carbono é aumentada. A redução substancial de oxigênio possui potencial para matar animais (insetos, ácaros e roedores), reduzir incidência de fungos e respiração dos grãos, além de reduzir a

degradação oxidativa. Embora aptos para reduzirem a infestação por insetos a longo prazo, é pouco provável que estes gases possuam qualquer outro efeito direto na preservação da qualidade (BOND e MILLER, 1988; BANKS, 1984); porém, altos níveis de CO₂ podem afetar a qualidade de cozimento da farinha (WHITE e JAYAS, 1991).

O potencial letal das atmosferas modificadas aumenta com a elevação da temperatura ou do período de exposição (STOREY, 1973). No que se refere aos danos causados ao meio ambiente, encontram-se em posição diferente em relação aos fumigantes tradicionais pelo fato de serem vistas como compostos que ocorrem naturalmente (WHITE e LEESCH, 1996).

2.2.2. Ozônio

Nos últimos anos a utilização do ozônio tem se expandido de forma considerável tanto nacional quanto internacionalmente em diferentes áreas de aplicação, como no tratamento de água potável, efluentes domésticos e industriais, processos de branqueamento de celulose, processamento de alimentos, entre outros.

2.2.2.1. Características gerais do ozônio

O ozônio, forma triatômica do oxigênio, é um gás instável e tóxico, sendo mais solúvel em água que o oxigênio, principalmente em baixas temperaturas. Possui ainda alta solubilidade em solventes orgânicos, tais como ácido acético e tetracloreto de carbono (LIEBERGOTT et al., 1992). Em fase aquosa, o ozônio decompõe-se rapidamente a oxigênio. Condensa-se a -112,4 °C, formando um líquido de cor azul e, quando congela (-193 °C), forma um sólido de cor violeta escuro. O ozônio em estado líquido pode explodir facilmente, por motivos de choques, faísca elétrica ou mudanças bruscas na temperatura e pressão (Masten e Davies, 1994, citados por KUNZ et al., 1999).

No processo de aplicação do ozônio deve-se ter especial atenção quanto ao local em que o gás será injetado, pois, dependendo deste, sua concentração

no meio poderá sofrer variações, sendo necessário, portanto, o conhecimento de algumas de suas propriedades (Quadro 1).

Quadro 1 – Propriedades e fatores de conversão para utilização do ozônio.

<p style="text-align: center;">Propriedades físicas</p> <p>Densidade do ozônio: $2,14 \text{ kg m}^{-3}$ Densidade do oxigênio: $1,43 \text{ kg m}^{-3}$ Densidade do ar $1,29 \text{ kg m}^{-3}$ Densidade da água: 1000 kg m^{-3}</p> <p style="text-align: center;">Concentração de ozônio em água (massa)</p> <p style="text-align: center;">$1 \text{ mg L}^{-1} = 1 \text{ ppm O}_3 = 1 \text{ g O}_3 \text{ m}^{-3}$</p> <p style="text-align: center;">Concentração de ozônio em ar (volume)</p> <p style="text-align: center;">$1 \text{ g O}_3 \text{ m}^{-3} = 467 \text{ ppm O}_3$ $1 \text{ ppm O}_3 = 2,14 \text{ mg O}_3 \text{ m}^{-3}$</p> <p style="text-align: center;">Concentração de ozônio em ar (massa)</p> <p style="text-align: center;">$100 \text{ g O}_3 \text{ m}^{-3} = 7,8\% \text{ O}_3$ $1\% \text{ O}_3 = 12,8 \text{ g O}_3 \text{ m}^{-3}$</p> <p style="text-align: center;">Concentração de ozônio em oxigênio (massa)</p> <p style="text-align: center;">$100 \text{ g O}_3 \text{ m}^{-3} = 6,99\% \text{ O}_3$ $1\% \text{ O}_3 = 14,3 \text{ g O}_3 \text{ m}^{-3}$</p>
--

Fonte: http://www.ozoneapplications.com/info/ozone_conversions.htm

Em razão do seu alto potencial de oxidação (-2,07 elétron-volt), o ozônio pode reagir com vários compostos, sendo usado comercialmente como algicida e bactericida na purificação do ar e da água, e como alvejante de fibras têxteis, ceras e amidos (LIEBERGOTT et al., 1992). Tem sido considerado um microbicida eficaz, agindo sobre vírus, fungos e bactérias. Supõe-se, ainda, que a ação primária do ozônio se dê sobre a parede celular da bactéria e, depois, ao penetrar no interior da célula, este agente promova a oxidação dos aminoácidos e ácidos nucléicos. A lise celular depende da extensão destas reações (GURLEY, 1985).

Devido à instabilidade do ozônio, o que impede sua armazenagem, tornam-se necessárias sua geração local e utilização em sistema de fluxo contínuo. Dentre os diferentes processos utilizados para a geração de ozônio, o mais

difundido é o método de descarga por efeito corona, sendo atualmente utilizado em praticamente todos os ozonizadores disponíveis comercialmente. Neste método, o ozônio é gerado pela passagem de ar ou oxigênio puro entre dois eletrodos submetidos a uma elevada diferença de potencial (aproximadamente 10.000 V). Isto causa a dissociação do oxigênio, sendo a formação do ozônio consequência da recombinação de espécies radicalares de oxigênio, com moléculas de oxigênio presentes no sistema (METCALF e EDDY, 1991).

Com relação à toxicidade do ozônio aos seres humanos, segundo a Segurança e Administração de Saúde Profissional (OSHA) dos Estados Unidos, o limite máximo permissível de exposição ao ozônio deve ser de 0,1 ppm por um período de oito horas.

2.2.2.2. Ozônio como fumigante

No âmbito agrícola, alguns estudos estão sendo desenvolvidos com o intuito de preservar a qualidade dos grãos e subprodutos armazenados.

Estudando a eficácia do ozônio como fumigante para desinfestação de milho armazenado, STRAIT (1998) e KELLS et al. (2001) constataram que o processo de fumigação com ozônio apresenta duas fases distintas: na primeira, ocorre rápida degradação do ozônio e movimentação lenta pela massa de grãos e na segunda, o ozônio flui livremente pelo grão com pouca degradação, pois neste momento os locais responsáveis pela sua degradação ficam saturados. Segundo os mesmos autores, a taxa de saturação depende da velocidade ou do fluxo de injeção do ozônio no meio. Verificaram ainda, que na primeira fase, 85% do ozônio atravessou uma coluna de grãos de 2,7 m em, aproximadamente, 19 h, a uma velocidade de $0,03 \text{ m s}^{-1}$, chegando a uma taxa de degradação de 1 ppm a cada 0,3 m em cinco dias. Na segunda fase, 90% do ozônio transpôs 2,7 m de coluna de grãos em menos de 12 h numa velocidade de $0,02 \text{ m s}^{-1}$. Este movimento inicial do ozônio pela massa de grãos é impedido por um fenômeno descrito como demanda de ozônio do meio, que neste caso é o milho (KIM et al., 1999).

Neste contexto, KELLS et al. (2001) verificaram que o tratamento de grãos de milho com 50 ppm de ozônio por três dias resultou numa faixa de mortalidade

entre 92% e 100% dos insetos adultos de *T. castaneum*, *S. zeamais* e larva de *Plodia interpunctella* (Hubner), tendo reduzido em 63%, o nível de contaminação pelo fungo *Aspergillus parasiticus*. Segundo MASON et al. (1997), citados por KELLS et al. (2001), uma concentração de 5 ppm de ozônio inibe a produção de micotoxinas em culturas de *Aspergillus flavus* e *Fusarium moniliforme*.

Ainda neste segmento, QIN-ZHANGUI et al. (2003) realizaram estudos para avaliar o efeito do uso do ozônio na mortalidade de *S. zeamais*, *T. castaneum* e *Rhyzopertha dominica* (F.). Verificaram que todos os insetos na sua fase adulta morreram, quando submetidos aos seguintes tratamentos: dois dias à concentração de 120 ppm, de quatro a seis dias à de 100 ppm, entre seis e sete dias à de 70 ppm e 12 dias, com a concentração variando entre 15 e 20 ppm. Estes tratamentos foram realizados sob condições de laboratório com grãos de milho, trigo e arroz. Segundo os mesmos autores, resultados semelhantes foram obtidos em uma experiência realizada em armazéns de milho e arroz numa província de Sichuan na China.

2.2.3. Temperatura

Altas e baixas temperaturas há muito têm sido usadas tanto para desinfestar grãos quanto para protegê-los de infestações. Sob temperaturas extremamente altas ou baixas, os insetos-praga de grãos armazenados morrem. Temperaturas moderadamente elevadas e baixas são menos letais e podem prevenir o crescimento da população de insetos em grãos armazenados (BURKS et al., 2000).

A diminuição da temperatura de 20 °C para 14 °C reduz o crescimento populacional da maioria dos insetos-praga de produtos armazenados. Temperaturas inferiores a 14 °C causam morte, especialmente dos insetos imaturos, diminuindo o tempo de mortalidade com o decréscimo da temperatura. Temperaturas elevadas (40 a 65 °C) também podem ser letais para os insetos-praga de produtos armazenados (BANKS e FIELDS, 1995).

O tempo necessário para obter a mortalidade dos insetos submetidos à atmosfera modificada é dependente da temperatura da massa de grãos. O

período de exposição diminui com o aumento da temperatura (FIELDS e WHITE, 2002).

2.2.4. Avaliação da mortalidade

Em ensaios com pesticidas, os pontos ao longo de uma linha de regressão são aqueles que, para dada concentração no eixo das abscissas (eixo-x), há uma probabilidade de resposta correspondente no eixo das ordenadas (eixo-y). A dose ou concentração que corresponde à probabilidade de resposta é a DL (dose letal) ou CL (concentração letal). Por exemplo, a DL_{50} (ou CL_{50}) é a dose letal (ou concentração letal) que irá causar 50% de mortalidade de uma população. Termos análogos na literatura são DE (dose efetiva), DI_x (dose inibitória ou dose necessária para causar x% de inibição) e TL_x (tempo letal necessário para x% de mortalidade). Para a análise de qualquer bioensaio, a terminologia correta seria “estimativa da dose letal” e os termos “mensuração” e “determinação” não devem ser utilizados neste contexto (ROBERTSON et al., 1984; ROBERTSON e PREISLER, 1991).

2.3. Qualidade fisiológica dos grãos

A qualidade fisiológica dos grãos é influenciada diretamente pelo genótipo, sendo máxima por ocasião da maturidade fisiológica. Nesta fase, o peso de matéria seca, a germinação e o vigor geralmente atingem os maiores valores. A partir deste instante, alterações degenerativas começam a acontecer, de tal maneira que a qualidade fisiológica possa ser mantida ou decrescer, dependendo das condições ambientais antes do período da colheita, das condições do processo de colheita, secagem e beneficiamento e das condições de armazenagem (DELOUCHE e BASKIN, 1973, McDONALD Jr, 1975). Segundo BROOKER et al. (1992), as principais características que determinam a qualidade fisiológica dos grãos são: teor de umidade baixo e uniforme; alta massa específica; baixo percentual de material estranho; baixo percentual de descoloração e de danos causados pelo calor (trincas internas); baixa susceptibilidade à quebra; alta qualidade de moagem; alta concentração de óleos

e proteínas; alto valor nutritivo; alta viabilidade das sementes; baixo índice de danos causados por insetos e baixo desenvolvimento de fungos. Alguns fatores podem afetar estas características, como por exemplo, as condições ambientais durante o desenvolvimento dos grãos ainda na planta, época e sistemas de colheita desses grãos, sistemas de secagem, práticas de armazenagem, transporte e características da espécie e da variedade.

2.3.1. Condutividade elétrica

O teste de condutividade elétrica é um dos mais utilizados para se avaliar a qualidade fisiológica de lotes de sementes. O valor da condutividade é função da quantidade de lixiviados na solução de embebição das sementes, estando diretamente relacionada com a integridade das membranas celulares (VIEIRA e CARVALHO, 1994). Assim, baixos valores de condutividade (baixa lixiviação) indicam que as sementes apresentam alta qualidade, enquanto valores elevados estão relacionados a sementes de qualidade inferior (WOODSTOCK, 1973).

As membranas celulares são constituídas por uma camada dupla de lipídios, a qual contém proteínas localizadas intrínseca e extrinsecamente. Essa camada lipídica atua como barreira à difusão de material, em geral, para o interior e exterior celular. O teor de umidade das sementes apresenta uma relação inversa com a condutividade elétrica (HAMPTON et al., 1992). Ao passar pelo processo de secagem, as membranas se desorganizam em maior grau, quanto menor a umidade. Ao embeber as sementes secas em água, há uma lixiviação de eletrólitos do interior das células para o meio (VIEIRA e CARVALHO, 1994). Sendo a deterioração das camadas lipídicas, um dos primeiros sinais de perda de qualidade nos grãos, a avaliação de perda de lixiviados é uma indicação rápida da deterioração dessas camadas. A lixiviação compreende a perda de compostos orgânicos, tais como açúcares, ácidos graxos, aminoácidos, ácidos orgânicos e íons metálicos. Estes solutos, com propriedades eletrolíticas, apresentam carga elétrica, podendo então ser detectados por aparelhos próprios (condutivímetros), constituindo um importante método para avaliação da qualidade fisiológica das sementes (PAIVA AGUERO, 1995).

O teste de condutividade tem se mostrado promissor para espécies de sementes graúdas como ervilha, feijão e soja, sendo utilizado em várias partes do mundo. Pesquisas realizadas com diferentes espécies têm mostrado decréscimo na germinação e no vigor em função do aumento da lixiviação de solutos, indicando que a condutividade elétrica é um método eficiente para a avaliação do vigor (HEPBURN, 1984).

Trabalhando com soja, Tao (1978) identificou alguns fatores que causavam variações nos resultados, sugerindo a utilização de sementes intactas e com teores iniciais de umidade superiores a 13% (b.u.). Posteriormente, trabalhando com milho, este autor concluiu que o teste de condutividade elétrica está suficientemente padronizado, sendo adequado para sementes de milho.

Para evitar que o tamanho das sementes venha a afetar os resultados do teste de condutividade elétrica, estes resultados devem ser expressos por unidade de massa das sementes, contribuindo, assim, para a padronização e comparação entre aqueles resultados obtidos em diferentes laboratórios (HEPBURN et al.,1984).

3 . MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no setor de Pré-Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas do Departamento de Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Viçosa.

Grãos de milho do tipo 1, classificados conforme as Normas de Classificação do Ministério da Agricultura, na temperatura de 25 °C, contendo amostras infestadas com insetos adultos das espécies *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*, foram submetidos à exposição ao gás ozônio, em diferentes períodos. Para a comparação dos resultados, os grãos também foram submetidos ao tratamento com ar atmosférico (78% de N₂, 0,03% de CO₂ e 21% de O₂), em todos os períodos de exposição avaliados, em três repetições.

Para o controle da temperatura da massa de grãos, construiu-se uma câmara climática com controle da temperatura do ar, monitorada por meio de um sistema de aquisição e armazenamento de dados denominado *1-wire*TM. Este sistema é constituído de uma rede de transmissão de dados onde, através de um programa, um único cabo condutor permite a comunicação entre o computador e os sensores de temperatura (MARTINS et al., 2004).

3.1. Criação dos insetos

Para a obtenção das espécies de *S. zeamais* e *T. castaneum* em número suficiente para o experimento, realizou-se uma criação contínua em câmara climática do tipo B.O.D. Para iniciar a criação, foram obtidos insetos adultos de criações de laboratório. Os insetos foram distribuídos em frascos de vidro de 1,5 L, contendo 500 g de grãos de milho, triturados ou não, para as espécies de *T. castaneum* e *S. zeamais*, respectivamente, com teor de umidade em torno de 13% (b.u.).

Conhecendo-se o ciclo biológico das espécies em estudo e as condições ótimas para o seu desenvolvimento (temperatura de 30 °C e 70±5% de umidade relativa), foram obtidos da criação, adultos com idade conhecida.

3.2. Recipientes cilíndricos para contenção dos grãos e dos insetos

Para a contenção dos grãos de milho foram construídos seis recipientes cilíndricos em PVC com 20 cm de diâmetro e 100 cm de altura. A 10 cm do fundo do 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 e, no corpo do cilindro, foi inserido um sensor para o monitoramento da temperatura da massa de grãos (Figura 3).



Figura 3 – Recipientes cilíndricos: A) Entrada de ozônio, B) Ponto de inserção dos sensores de monitoramento da temperatura da massa de grãos e C) Saída de ozônio.

Os insetos, 20 de cada espécie em estudo, foram distribuídos em 400 g de grãos de milho contidos em armadilhas do tipo gaiola com 3,0 cm de altura e 15,0 cm de diâmetro. Para garantir a presença de apenas 20 insetos de cada espécie, os grãos foram acondicionados no freezer à temperatura de $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, por um período de dez dias. Depois de retirados do freezer, foram colocados em câmara climática do tipo B.O.D. até atingirem a temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

As gaiolas foram construídas também em PVC com o fundo e a tampa confeccionados em tecido do tipo organza, de tal forma que permitissem a passagem do ozônio ou do ar atmosférico e, conseqüentemente, impedissem a fuga dos insetos. As gaiolas eram distribuídas imediatamente após o *plenum*, na parte mediana do cilindro ou na camada superior da massa de grãos.

3.3. Obtenção do gás ozônio

O gás ozônio foi obtido de um gerador de ozônio (Figura 4) desenvolvido no Departamento de Física do Instituto Tecnológico de Aeronáutica (ITA). No processo de geração do gás ozônio, utilizou-se como insumo ar ambiente seco

(ponto de orvalho menor que $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$), passando através de um reator refrigerado, onde ocorreu a Descarga por Barreira Dielétrica (DBD). Este tipo de descarga foi produzida ao aplicar uma alta voltagem entre dois eletrodos paralelos, tendo entre eles um dielétrico (vidro) e um espaço livre por onde fluiu o ar seco. Neste espaço livre foi produzida uma descarga em forma de filamentos, onde foram gerados elétrons com energia suficiente para produzir a quebra das moléculas de oxigênio, formando o ozônio (O_3). A Figura 5 mostra o princípio do funcionamento do gerador de ozônio utilizado.

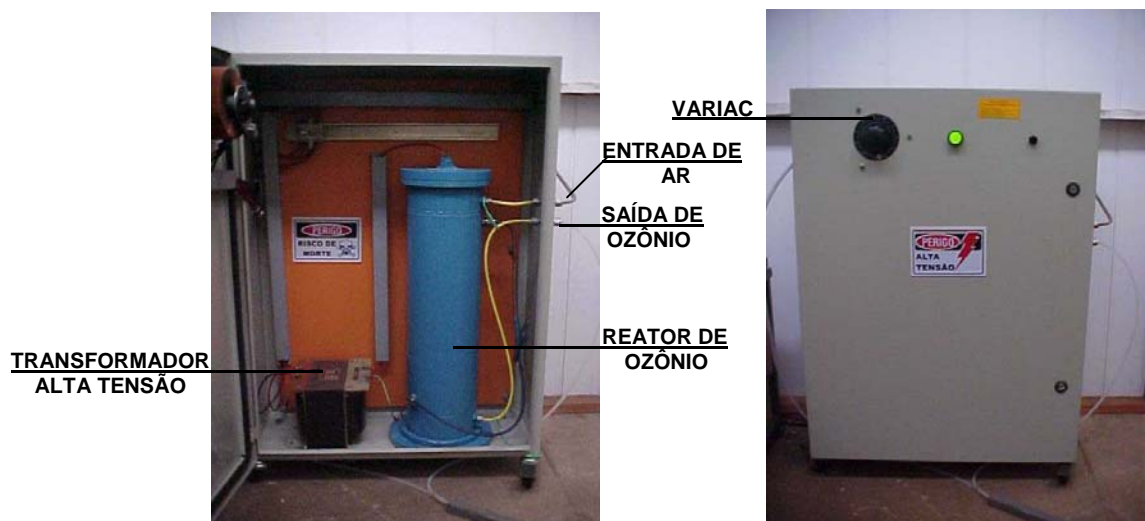


Figura 4 – Vista interna e externa do Gerador de ozônio.

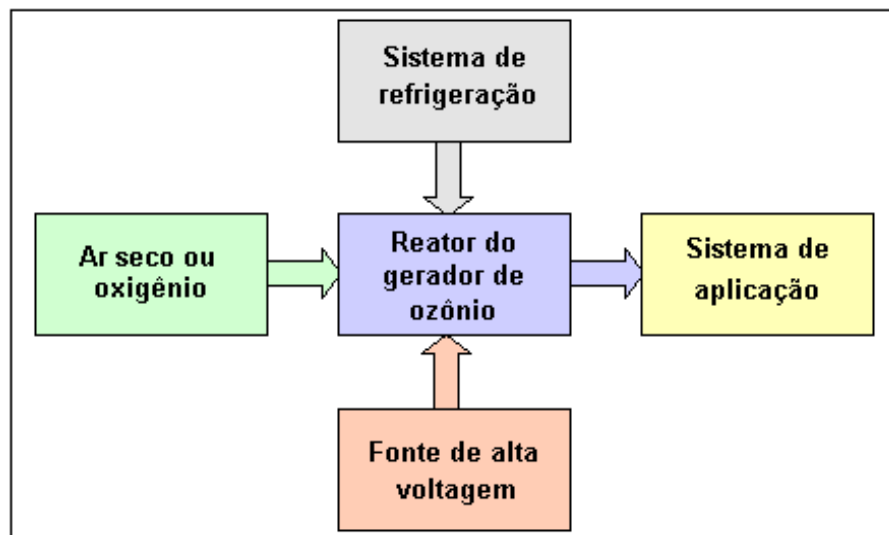


Figura 5 – Princípio de funcionamento do gerador de ozônio.

O ar seco utilizado como insumo foi obtido a partir de um compressor de ar instalado juntamente com um filtro de alumina (Figura 6). Na saída do filtro, foi instalada, ainda, uma conexão com duas saídas: uma passando pelo gerador de ozônio e a outra indo diretamente para o sistema que utilizou ar ambiente (testemunha).



Figura 6 – Compressor de ar e filtro de Alumina.

A produção de ozônio foi regulada em função da tensão aplicada, ajustada no variac do gerador, e do fluxo de ar seco monitorado com auxílio de um medidor de fluxo de ar.

A concentração de ozônio utilizada nos ensaios foi medida por meio de um espectrofotômetro da marca Anseros, modelo OZOMAT GM – OEM, com precisão de $0,1 \text{ g O}_3 \text{ m}^{-3}$. Com o intuito de aumentar a precisão nas leituras de concentração, um multímetro foi conectado ao espectrofotômetro para que fosse possível estabelecer uma relação entre os valores lidos no espectrofotômetro ($\text{g O}_3 \text{ m}^{-3}$) e a corrente elétrica (mA), conforme mostra a Figura 7.

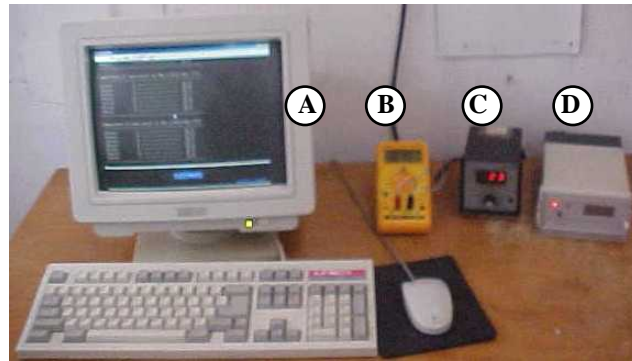


Figura 7 – Sistema de controle: A) Monitoramento da temperatura da massa de grãos, B) Multímetro, C) Controlador de temperatura da câmara climática e D) Espectrofotômetro.

3.4. Procedimento experimental

Pela abertura superior de acesso dos cilindros, foram colocados os grãos de milho e as gaiolas contendo os grãos mais 20 insetos adultos de *S. zeamais* e de *T. castaneum*, com idade variando entre um e três meses, na altura previamente fixada: imediatamente sobre o *plenum*, na camada mediana ou superior da massa de grãos. Após o fechamento da abertura superior, os recipientes cilíndricos foram acondicionados na câmara climática, quando, então, iniciou-se o processo de injeção e exaustão do gás ozônio e do ar atmosférico, a um fluxo contínuo de $8,0 \text{ L min}^{-1}$, e o monitoramento da temperatura dos grãos. A composição do gás ozônio de 50 ppm, obtida pela variação da tensão no variac do gerador, foi baseada no trabalho realizado por KELLS et al. (2001), que se mostrou eficaz no controle de insetos-praga em grãos armazenados. Ainda, segundo os autores, a interação entre a concentração, o período de exposição e a temperatura da massa de grãos é um fator que pode influenciar na eficácia do tratamento com ozônio. Diante do exposto, o sistema funcionou continuamente até que fossem alcançados TL_{50} e TL_{95} para as espécies de *S. zeamais* e de *T. castaneum*. Para tanto, foram utilizados os períodos de 6, 12, 24, 36, 48 e 72 h, quando as gaiolas contendo os grãos infestados foram colocadas no *plenum*, ou seja, logo depois da injeção do gás. Os períodos de 24, 48, 72, 96, 120 e 168 h foram utilizados quando as gaiolas se encontravam na parte mediana dos

cilindros e 24, 48, 72, 120, 168, 216, 264 e 360 h de exposição ao gás, quando as gaiolas foram distribuídas na camada superior dos grãos de milho.

O ozônio residual e o ar atmosférico da exaustão passavam por um dispositivo construído em PVC, com coluna de 8,0 cm de água, antes de serem lançados na atmosfera, de modo a garantir a neutralidade do “efeito parede” (Figura 8).



Figura 8 – Dispositivo utilizado para neutralidade do efeito parede.

A Figura 9 mostra o diagrama esquemático completo do sistema de utilização do ozônio como fumigante no controle dos insetos-praga de milho armazenado.

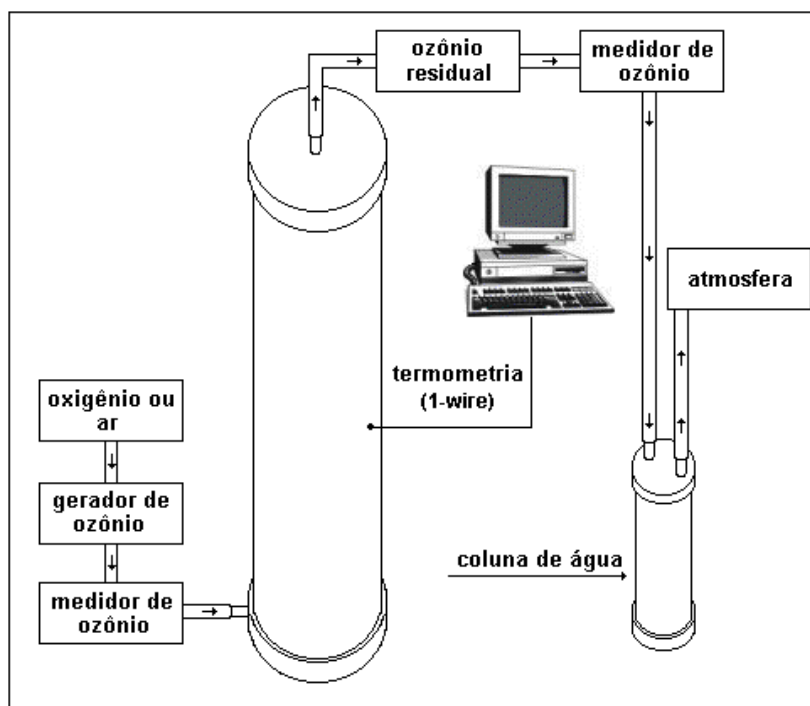


Figura 9 – Modelo do sistema utilizado para aplicação do ozônio.

Ressalte-se que, para cada período de exposição avaliado, os grãos de milho utilizados nos recipientes cilíndricos, tratados com ozônio ou com ar atmosférico, foram descartados.

3.5. Avaliação da eficácia do ozônio como fumigante

Para avaliação do efeito do gás ozônio como fumigante, após o término de cada tratamento, as gaiolas foram retiradas dos recipientes cilíndricos e os grãos, distribuídos em frascos de plástico, foram mantidos em câmara climática sob condições ótimas de desenvolvimento das espécies em estudo (30 °C e 70±5% de umidade relativa). Depois de 48 h, efetuou-se a contagem do número de insetos mortos.

Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de Probite, utilizando-se o programa “SAS® for Windows™”, versão 6.12, para avaliação do efeito dos diferentes períodos de exposição, gerando, assim, as curvas de mortalidade. Esse procedimento visa a identificação das condições ideais de controle da população dos insetos com a modificação da atmosfera.

3.6. Avaliação qualitativa dos grãos de milho

Para avaliar o efeito da fumigação com o gás ozônio na qualidade do milho, tanto os grãos submetidos ao tratamento com ozônio quanto aqueles tratados com ar atmosférico foram submetidos aos testes de germinação, condutividade elétrica e teor de umidade. Desta forma, por meio de comparação entre os tratamentos, avaliou-se o efeito da fumigação com o ozônio na qualidade dos grãos de milho.

3.6.1. Determinação do potencial de germinação

O potencial de germinação foi determinado pelo teste-padrão de germinação (BRASIL, 1992), com 50 grãos por tratamento, utilizando-se quatro determinações. O substrato utilizado foi o papel-toalha (papel-germitest), umedecido com água deionizada (volume de água igual a 2,5 vezes o peso do papel). As sementes de milho foram dispostas sobre duas folhas do papel toalha 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 ± 1 °C, por um período de sete dias. A primeira contagem foi efetuada no quarto dia e a última, no sétimo dia.

As plântulas foram avaliadas de acordo com os procedimentos descritos pela Regra para Análise de Sementes (BRASIL, 1992).

3.6.2. Condutividade elétrica

A condutividade elétrica da solução contendo os grãos de milho foi medida utilizando-se o “Sistema de copo” ou “Condutividade de massa” (VIEIRA, 1994). 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 horas. 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 $1 \mu\text{Scm}^{-1}$. Antes de realizar as leituras, o aparelho foi calibrado com uma solução padrão de cloreto de sódio, de condutividade elétrica conhecida, à temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C}$. O valor de condutividade (μScm^{-1}) fornecido pelo aparelho foi então dividido pela massa (g) dos 50 grãos, obtendo-se então o valor de condutividade elétrica expresso com base na massa seca da amostra, em $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$.

3.6.3. Teor de umidade

O teor de umidade foi determinado pelo método-padrão de estufa, à temperatura $103\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, durante 72 h, conforme recomendações da ASAE (2000), método S352.2. As pesagens foram realizadas em balança com precisão de 0,01 g.

3.7. Delineamento experimental

Utilizou-se combinação de tratamentos com ozônio e ar atmosférico, ou seja, injeção de ozônio (50 ppm) e injeção de ar atmosférico (testemunha) em seis períodos de exposição (6, 12, 24, 36, 48 e 72 h) para o ponto imediatamente acima do *plenum*; injeção de ozônio (50 ppm) e injeção de ar em seis períodos de exposição (24, 48, 72, 96, 120, e 168 h) para a altura mediana, e injeção de ozônio (50 ppm) e injeção de ar atmosférico em oito períodos de exposição (24, 48, 72, 120, 168, 216, 264 e 360 h) para a camada superior da massa de grãos. Desta forma, obtiveram-se 40 tratamentos, com três repetições.

A análise da eficácia do ozônio como fumigante foi realizada conforme descrito no item 3.5. Para avaliação da qualidade fisiológica dos grãos de milho, os dados foram submetidos a modelos de regressão. As análises foram realizadas para cada nível da massa de grãos.

4 . RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Classificação dos grãos de milho

Os grãos de milho utilizados neste trabalho foram classificados conforme as Normas de Classificação do Ministério da Agricultura, Portaria nº 11 de 12 de abril de 1996. De acordo com o laudo de classificação apresentado no Quadro 2, o produto se enquadra no grupo semiduro, classe amarelo e tipo 1. A importância desta caracterização dos grãos se dá devido à possibilidade de comparação dos resultados de trabalhos futuros, podendo-se com isto verificar as possíveis diferenças existentes entre os dados.

Quadro 2 – Laudo de classificação dos grãos de milho

Caracterização da amostra	%	Tipo
Fragmentos, matérias estranhas e impurezas	0,08	1
Total de avariados	2,88	1
Máximo de ardidos, brotados e mofados	0,28	1
Tipo final		1

4.2. Avaliação da mortalidade

Os resultados obtidos pela análise de Próbite, apresentados no Quadro 3, evidenciam que os tempos letais para 50% e 95% dos insetos adultos de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*, submetidos à atmosfera modificada com 50 ppm de ozônio, variaram em função da distribuição dos insetos na massa de grãos. O maior período de exposição para controlar 50% dos insetos adultos de *S. zeamais* e *T. castaneum* foi de 124,20 e 234,75 h, respectivamente, quando os insetos foram distribuídos na camada superior da massa de grãos, ou seja, a 1,0 m da injeção do gás ozônio. O menor período de exposição para controlar 50% das espécies foi observado quando os insetos se encontravam próximos à injeção do gás.

Verifica-se ainda, pelo Quadro 3, que o tempo necessário para que ocorra mortalidade da espécie de *Tribolium* é praticamente o dobro daquele encontrado para o *Sitophilus*, independente da distribuição na massa de grãos. O maior período de exposição para controlar 95% dos insetos foi de 390,18 h para o *T. castaneum* e de 240,75 h para o *S. zeamais*.

Quadro 3 – Toxicidade relativa de ozônio para adultos de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*, em função da distribuição dos insetos na massa de grãos.

Insetos	Distribuição dos insetos na massa de grãos	Inclinação \pm erro padrão	TL ₅₀ (IC)	TL ₉₅ (IC)	χ^2	Prob.
<i>Sitophilus zeamais</i>	Sobre o <i>plenum</i>	0,95 \pm 0,09	12,62 (11,41 – 13,90)	23,76 (20,73 - 28,83)	1,27	0,86
	Mediana	1,30 \pm 0,09	63,86 (58,60 – 68,67)	118,61 (106,64 - 137,99)	6,24	0,18
	Superfície	1,04 \pm 0,10	124,20 (114,45 – 133,67)	240,75 (217,01 - 276,05)	6,73	0,35
<i>Tribolium castaneum</i>	Sobre o <i>plenum</i>	0,87 \pm 0,16	43,52 (41,20 – 46,01)	64,19 (58,84 - 72,94)	6,55	0,16
	Mediana	1,05 \pm 0,23	117,76 (114,13 – 122,13)	140,83 (133,04 - 156,70)	6,73	0,15
	Superfície	1,98 \pm 0,32	234,75 (222,02 – 248,61)	390,18 (352,16 - 452,42)	5,93	0,12

TL = tempo letal (horas), IC = intervalo de confiança a 95% de probabilidade, χ^2 = qui-quadrado e Prob. = probabilidade.

As Figuras 10, 11 e 12, mostram as curvas tempo-resposta para adultos de *S. zeamais* e de *T. castaneum*, submetidos a 50 ppm de ozônio, distribuídos sobre o plenum, na parte mediana e superior da massa de grãos .

A eficácia do controle dos insetos-praga *S. zeamais* e *T. castaneum* foi influenciada pelo período de exposição e pela distribuição dos insetos na massa de grãos. À medida que se aumentou o período de exposição, obteve-se uma elevação da mortalidade como seria de se esperar para um fumigante (Figuras 10, 11 e 12). O período de exposição foi maior à medida que os insetos foram afastados do ponto de injeção do gás. Comportamento semelhante foi observado por STRAIT (1998) e KELLS et al. (2001). Os autores constataram que o processo de fumigação com ozônio apresenta duas fases distintas: na primeira, ocorre uma rápida degradação do ozônio e movimentação lenta pela massa de grãos e na segunda, o ozônio flui livremente pelo grão com pouca degradação, pois, neste momento, os locais responsáveis pela degradação do ozônio ficam saturados. De acordo com esses autores, a taxa de saturação depende da velocidade ou do fluxo de injeção do ozônio no meio. Segundo KIM et al. (1999), este movimento inicial do ozônio pela massa de grãos é impedido por um fenômeno descrito como demanda de ozônio do meio, que neste caso é o milho.

O tempo letal para os adultos de *S. zeamais* (Figuras 10, 11 e 12) foi menor que o obtido para *T. castaneum* em todas as distribuições dos insetos na massa de grãos. Este resultado é confirmado por KELLS et al. (2001), que, estudando a eficácia do ozônio como fumigante, na concentração de 50 ppm, no controle de *T. castaneum* e de *S. zeamais*, obtiveram eficácia de 92% e 100%, respectivamente, em três dias, numa aplicação localizada, ou seja, próxima ao ponto de injeção do ozônio. Os autores verificaram ainda 100% de eficácia para larvas de *Plodia interpunctella* (Hübner) e uma redução em 63% do nível de contaminação do fungo *Aspergillus parasiticus*. Segundo MASON et al. (1997), citados por KELLS et al. (2001), uma concentração de 5 ppm de ozônio inibe a produção de micotoxinas em culturas de *Aspergillus flavus* e *Fusarium moniliforme*. Ainda neste contexto, QIN-ZHANGUI et al. (2003) realizaram estudos para avaliar o efeito do uso do ozônio na mortalidade de *S. zeamais*, *T. castaneum* e *Rhyzopertha dominica* (F.), tendo verificado que todos os insetos na sua fase adulta morreram quando submetidos aos seguintes tratamentos: dois

dias à concentração de 120 ppm, de quatro a seis dias à de 100 ppm, entre seis e sete dias à de 70 ppm e 12 dias com a concentração variando entre 15 e 20 ppm. Estes tratamentos foram realizados sob condições de laboratório com grãos de milho, trigo e arroz. Segundo os mesmos autores, resultados semelhantes foram obtidos em uma experiência conduzida em armazéns de milho e arroz numa província de Sichuan na China.

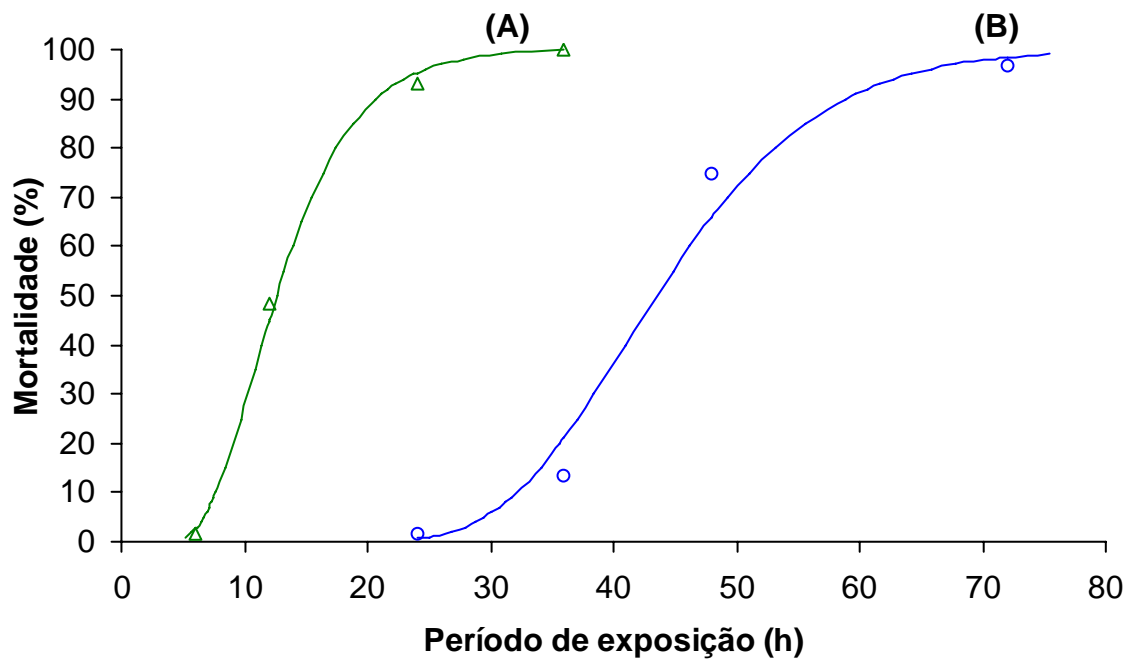


Figura 10 – Tempo necessário para controlar insetos adultos de *Sitophilus zeamais* (A) e de *Tribolium castaneum* (B), distribuídos sobre o *plenum*, submetidos à atmosfera modificada com 50 ppm de ozônio.

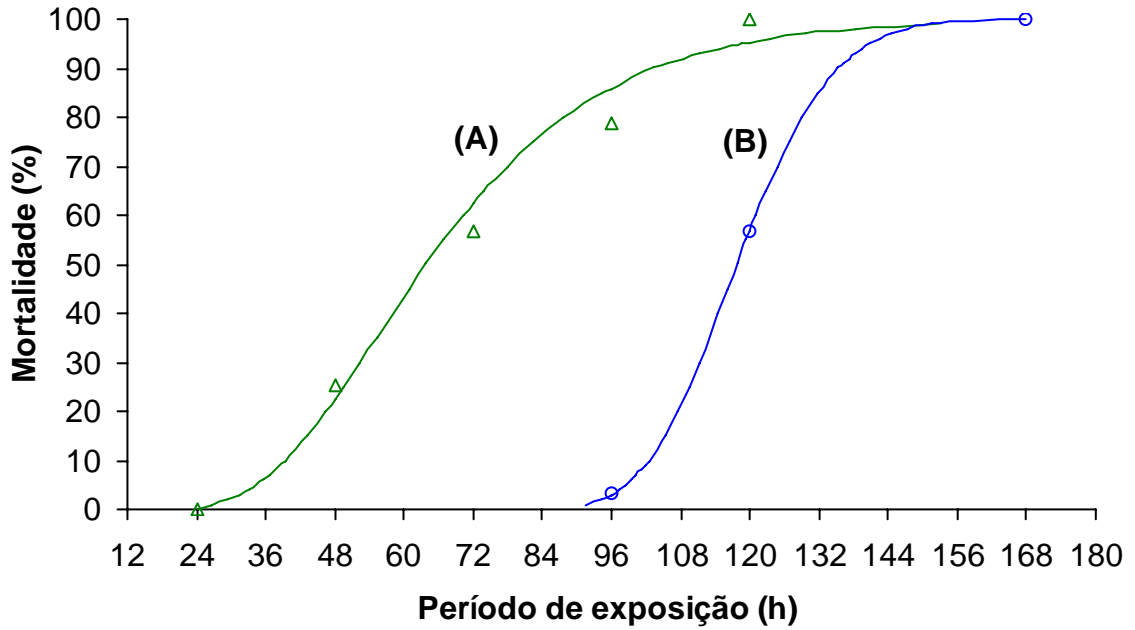


Figura 11 – Tempo necessário para controlar insetos adultos de *Sitophilus zeamais* (A) e de *Tribolium castaneum* (B), distribuídos na altura mediana da massa de grãos, submetidos à atmosfera modificada com 50 ppm de ozônio.

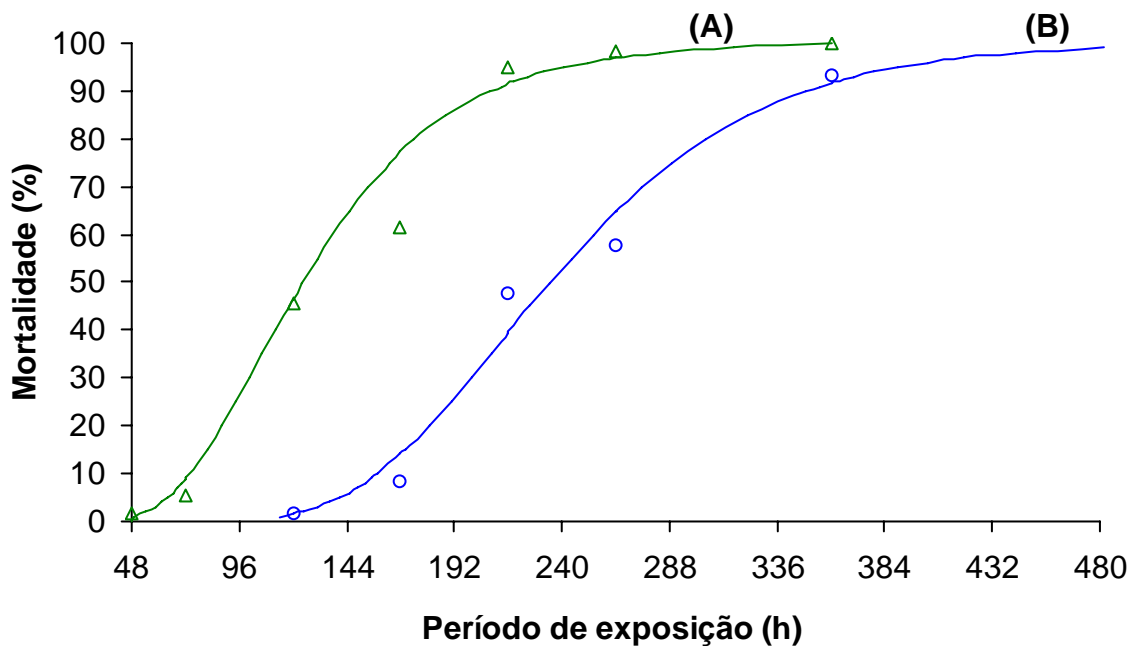


Figura 12 – Tempo necessário para controlar insetos adultos de *Sitophilus zeamais* (A) e de *Tribolium castaneum* (B), distribuídos na camada superior da massa de grãos, submetidos à atmosfera modificada com 50 ppm de ozônio.

Uma das principais vantagens que se espera obter com a utilização do ozônio como fumigante consiste na possibilidade do controle de insetos-praga em grãos armazenados, sem preocupação com a hermeticidade do sistema, pois o ozônio é aplicado sob fluxo contínuo na massa de grãos. Com relação ao impacto ambiental, o esperado é que nenhum efeito negativo venha se refletir no meio ambiente, pelo fato de o produto da degradação do ozônio liberado ao meio ser o oxigênio e devido à meia vida curta que este gás possui. Concomitantemente a todos esses fatores está a possível viabilidade econômica do sistema, se comparado a outras formas de controle.

4.3. Avaliação da qualidade fisiológica dos grãos

O valor comercial do grão, tanto para processamento quanto para consumo, está diretamente relacionado com a sua qualidade. Todavia, alterações qualitativas poderão ocorrer devido a interações dos procedimentos no pré-processamento e armazenamento dos grãos. Portanto, foi avaliada a qualidade dos grãos de milho submetidos à atmosfera modificada com 50 ppm de ozônio em comparação aos grãos submetidos apenas ao ar atmosférico, a um mesmo fluxo de ar de $8,0 \text{ L min}^{-1}$.

Para avaliar se os grãos submetidos ao tratamento com 50 ppm de ozônio apresentariam diferenças significativas em relação àqueles tratados com ar atmosférico, os dados obtidos nos testes de qualidade dos grãos foram submetidos à análise de regressão até o modelo de terceiro grau. No entanto, não constatou-se diferença significativa entre os tratamentos, com exceção somente da condutividade elétrica da solução contendo os grãos distribuídos na camada superior da coluna.

No Quadro 4, são apresentados os valores médios do teor de umidade, da condutividade elétrica e do potencial de germinação dos grãos submetidos aos tratamentos com 50 ppm de ozônio e com ar atmosférico, distribuídos ao longo da coluna.

Quadro 4 – Médias das características fisiológicas avaliadas para os tratamentos com ozônio em relação aos tratamentos com ar atmosférico, distribuídos sobre o *plenum* e nas camadas mediana e superficial da massa de grãos.

Análises	Sobre o <i>plenum</i>		Mediana		Superfície	
	Ar	Ozônio	Ar	Ozônio	Ar	Ozônio
Teor de umidade (% b.u.)	12,8±0,2	12,7±0,2	12,6±0,3	12,6±0,2	12,5±0,1	12,5±0,1
Condutividade elétrica ($\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$)	22,3±1,4	22,9±1,2	22,3±1,1	21,8±1,6	*	*
Germinação (%)	68,4±2,9	62,4±8,4	67,7±3,5	66,6±4,4	70,5±5,1	67,5±8,6

* Houve diferença significativa, assim, está representado na Figura 13.

O teor de umidade é um dos fatores que afetam a qualidade dos grãos armazenados. No Quadro 4, observa-se que, independentemente da distribuição ao longo da coluna, não houve diferença entre as médias para os grãos submetidos aos tratamentos com 50 ppm de ozônio e com ar atmosférico, ou seja, para as condições estabelecidas, o uso do gás ozônio como fumigante não causou alterações representativas no teor de umidade dos grãos de milho.

O teste de condutividade elétrica mede a quantidade de íons lixiviados na solução que contém os grãos e está diretamente relacionado ao grau de deterioração dos mesmos. No Quadro 4, observa-se que para os grãos distribuídos sobre o *plenum* e na camada mediana, não houve diferença entre os valores de condutividade elétrica da solução contendo os grãos submetidos ao tratamento com ozônio e com ar atmosférico. No entanto, para os grãos distribuídos na camada superior da coluna, verificou-se diferença entre os tratamentos.

A Figura 13 mostra os efeitos da atmosfera modificada com 50 ppm de ozônio e com ar atmosférico sobre a condutividade elétrica da solução que contém os grãos de milho distribuídos na camada superior da coluna, em diferentes períodos de exposição. Verifica-se que à medida que se aumentou o tempo de exposição do tratamento com atmosfera modificada com ozônio, a solução que continha os grãos de milho distribuídos na camada superior da coluna apresentou uma elevação da condutividade elétrica, a partir de 264 h. De acordo com COELHO et al. (2001) e ARÊDES et al. (2002), o manejo no pré-processamento e as condições de armazenamento afetam a condutividade elétrica da solução que contém os grãos. A tendência, segundo os autores, seria de os grãos apresentarem aumento nos valores de condutividade elétrica da solução. Para HAMPTON et al. (1992), o teor de umidade das sementes e a condutividade elétrica da solução que as contém apresentam uma relação inversa.

Levando-se em consideração que a elevação da condutividade elétrica significa a liberação de mais íons para a solução aquosa pela lixiviação de eletrólitos dos tecidos dos grãos (VIEIRA, 1994) e que tal fato está relacionado à deterioração dos mesmos, pode-se inferir que grãos submetidos aos tratamentos

com atmosfera modificada com 50 ppm de ozônio em períodos superiores a 11 dias consecutivos, poderão ter uma redução moderada no seu valor qualitativo.

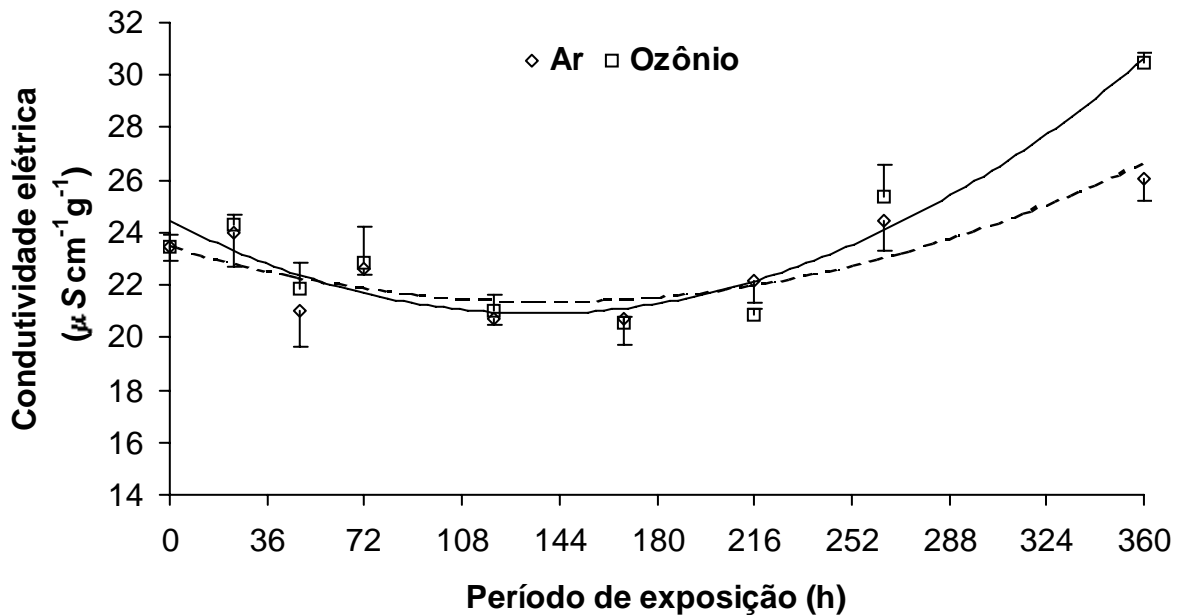


Figura 13 – Condutividade elétrica da solução ($\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$ de matéria seca) que contem os grãos de milho, distribuídos na camada superior e submetidos aos tratamentos com ar atmosférico e com ozônio, em diferentes períodos de exposição.

No Quadro 5 está apresentado o resumo das análises de regressão dos testes de condutividade elétrica para os grãos submetidos aos tratamentos com 50 ppm de ozônio e ar atmosférico, distribuídos na camada superior da coluna de grãos.

Quadro 5 – Resumo das análises de regressão das curvas de condutividade elétrica da solução contendo os grãos distribuídos na camada superior da massa de grãos.

Distribuição dos grãos	Tratamento	Modelo	Coeficientes			<i>F</i>	<i>P</i>	<i>R</i> ²
			<i>y</i> ₀	<i>a</i>	<i>b</i>			
Superfície	Ar	$y = y_0 + ax + bx^2$	23,53±0,75	-0,031±0,011	0,0001±0,0000	8,79	0,0164	0,75
	Ozônio		24,44±0,76	-0,052±0,011	0,0002±0,0000	29,07	0,0008	0,91

O potencial de germinação é, também, um parâmetro de avaliação qualitativa dos grãos, juntamente com outras informações, segundo BROOKER et al. (1992). Os valores médios do potencial de germinação dos grãos submetidos ao tratamento com 50 ppm de ozônio e com ar atmosférico, quando distribuídos sobre o *plenum* e nas camadas mediana e superior da coluna são também apresentados no Quadro 4. Observa-se que, em todas as camadas avaliadas, o potencial de germinação apresentou valores ligeiramente menores para os grãos submetidos aos tratamentos com 50 ppm de ozônio quando comparados àqueles tratados com ar atmosférico, sendo um pouco mais evidente para os grãos distribuídos logo após a injeção do gás. Porém esta diferença não é significativa. Estudo realizado por STRAIT (1998), também constatou variação do percentual de germinação. Esta variação pode estar relacionada às diferenças qualitativas dos grãos e, segundo o autor, não ter efeito prejudicial sobre os grãos, possibilitando o uso do ozônio como fumigante em grãos de milho.

5 . RESUMO E CONCLUSÕES

O presente trabalho foi realizado no setor de Pré-Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas do Departamento de Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Viçosa.

As metas deste trabalho foram avaliar a suscetibilidade dos adultos de *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) e *Tribolium castaneum* (Herbst), submetidos ao tratamento com ozônio em diferentes camadas da massa de grãos, estimando-se os tempos letais (TL) para 50% e 95% da população de cada espécie e ainda avaliar a qualidade fisiológica dos grãos de milho submetidos aos tratamentos com ozônio.

Para a contenção dos grãos de milho foram construídos seis recipientes cilíndricos em PVC com 20 cm de diâmetro e 100 cm de altura. A 10 cm do fundo do 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 e, no corpo do cilindro, foi inserido um sensor para o monitoramento da temperatura da massa de grãos, utilizando-se para isto, um sistema de aquisição e armazenamento de dados denominado *1-wire*. Foram construídas, também, armadilhas do tipo gaiola, em PVC, com 3,0 cm de altura e 15,0 cm de diâmetro, sendo o fundo e a tampa confeccionados em tecido do tipo organza. Dentro de cada gaiola foram colocados 400 g de grãos de milho e mais 20 insetos adultos

de cada espécie em estudo, obtidos de criação contínua em câmara climática do tipo B.O.D.

As gaiolas foram colocadas dentro dos recipientes cilíndricos e estes foram acondicionados em câmara climática, de modo a manter a temperatura da massa de grãos próxima de 25 °C. Posteriormente, iniciou-se o processo de injeção e exaustão do gás ozônio e do ar atmosférico e o monitoramento da temperatura dos grãos. O ozônio residual e o ar atmosférico da exaustão passaram por um dispositivo construído em PVC, com coluna de 8,0 cm de água, antes de serem lançados na atmosfera, de modo a garantir a neutralidade do “efeito parede”.

O ozônio, obtido de um gerador desenvolvido no Instituto Tecnológico de Aeronáutica, numa concentração de 50 ppm, e o ar atmosférico foram injetados a um fluxo contínuo de 8,0 Lmin⁻¹, em conexão localizada na base (*plenum*) do recipiente cilíndrico até que fossem alcançados os TL₅₀ e TL₉₅.

Para avaliação do efeito do gás ozônio como fumigante, após o término de cada tratamento, as gaiolas foram retiradas dos cilindros e os grãos, distribuídos em frascos de plástico, foram mantidos em câmara climática sob condições ótimas de desenvolvimento das espécies em estudo (30 °C e 70±5% de umidade relativa). Depois de 48 horas, após a avaliação de mortalidade em cada tratamento, realizou-se análise de próbite dos dados, a fim de determinar os tempos letais (TL) para controlar 50 e 95% da população de *S. zeamais* e *T. castaneum*.

O efeito da utilização do ozônio na qualidade fisiológica dos grãos de milho, em cada tratamento, foi avaliado por meio de testes de condutividade elétrica, teor de umidade e potencial de germinação.

As análises dos dados e a interpretação dos resultados obtidos permitiram chegar às seguintes conclusões:

- A eficácia no controle dos insetos-praga *S. zeamais* e *T. castaneum* é influenciada pelo período de exposição e pela distribuição dos insetos na massa de grãos, quando submetidos à atmosfera modificada com 50 ppm de ozônio.
- Em geral, o aumento do período de exposição resultou no aumento da eficácia dos tratamentos com 50 ppm de ozônio para os adultos de *S. zeamais* e *T. castaneum*.

- A eficácia no controle de *S. zeamais* e *T. castaneum* diminuiu, à medida em que os insetos foram afastados do ponto de injeção do ozônio.
- Em todos os tratamentos, a espécie que se mostrou mais susceptível foi *S. zeamais*, independentemente da sua distribuição na massa de grãos.
- O maior período de exposição para o controle de 95% dos insetos adultos foi de 240,75 h para o *S. zeamais* e de 390,18 h para o *T. castaneum*, quando distribuídos na camada superior da massa de grãos.
- O menor período de exposição para controlar 95% dos adultos de *S. zeamais* e *T. castanum* foi de 23,76 e 64,19 h, respectivamente, quando distribuídos sobre o *plenum*, próximos à injeção do gás ozônio.
- O maior período de exposição para o controle de 50% dos insetos adultos foi de 124,20 h para o *S. zeamais* e de 234,75 h para o *T. castaneum*, quando distribuídos na camada superior da massa de grãos.
- O menor período de exposição para controlar 50% dos adultos de *S. zeamais* e *T. castanum* foi de 12,62 e 43,52 h, respectivamente, quando distribuídos sobre o *plenum*, próximos à injeção do gás ozônio.
- Em geral, os tratamentos com atmosfera modificada com 50 ppm de ozônio e com ar atmosférico não afetaram a qualidade fisiológica dos grãos de milho.

Como considerações finais, vale ressaltar que o que foi apresentado e discutido nesta tese foi o primeiro passo para o início de uma linha de pesquisa que futuramente pode se tornar, efetivamente, um método alternativo no controle de insetos-praga de grãos armazenados. Sendo assim, novos estudos devem ser realizados, tais como a relação entre diferentes temperaturas da massa de grãos, formas de distribuição do ozônio ao longo da massa de grãos, variação na concentração, viabilidade econômica, entre outros.

A motivação para o desenvolvimento deste trabalho veio da necessidade de abrir novos caminhos para um controle de insetos-praga em unidades armazenadoras e processadoras de grãos, que seja eficaz e com o mínimo de impacto ambiental, aliada à necessidade de desenvolvimento de todo o universo técnico-científico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANNIS, P.C. Requirements for fumigations and controlled atmospheres as options for pest and quality control in stored grain. In: CHAMP, B.R., HIGHEY, E., BANKS, H.J. (Eds) **Fumigation and controlled atmosphere storage of grain**. Singapore: ACIAR, 1990. p.20-28. (Proceedings, 25)

ARÊDES, E. M., FARONI, L.R A., CORRÊA, P. C., QUEIROZ, M. E. L. R., CECON, P. R., GONELI, A. L. D. Avaliação das perdas de matéria seca e de qualidade do café (*Coffea arabica* L.) beneficiado e armazenado em importantes municípios produtores da zona da mata mineira e em Alegre-ES. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, v. especial café, n.5, p.44-54. 2002.

ASAE. Moisture measurement - unground grain and seeds. Page 563 in: **Standards**, 2000. St. Joseph: American Society of Agricultural Engineers.

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministério da Agricultura, 1992. 365p.

BANKS, H.J. Current methods and potential systems for production of controlled atmospheres for grain storage. In: RIPP, B.E., BANKS, H.J., BOND, E.J., CALVERLEY, D.J., JAY, E.G., NAVARRO, S. (Eds.) **Controlled atmosphere and fumigation in grain storages**. Perth: ACIAR, 1984. p.523-542.

BANKS, J.; FIELDS, P. Physical methods for insect control in stored-grain ecosystems. In: JAYAS, D., WHITE, N.D.G., MUIR, W.E. **Stored grain ecosystems**. New York, Marcel Decker, 1995. p.353-409.

BOND, E.J.; MILLER, D.M. A new technique for measuring the combustibility of gases at reduced pressures and its application to the fumigant phosphine. **Journal of Stored Products Research**, v.24, p.225-228, 1988.

BROOKER, D. B., BAKKER-ARKEMA, F. W., HALL, C. W. **Drying and storage of grains and oilseeds**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992. 450p.

BURKS, C.S., JOHNSON, J.A., MAIER, D.E., HEAPS, J.W. Temperature. In: SUBRAMANYAM, B., HAGSTRUM, D.W. (Eds.). **Alternatives to pesticides in stored-product IPM**. Massachusetts: Kluwer Academic, 2000. p.73-104.

COELHO, K. F., PEREIRA, R. G. F. A., VILELA, E. R. Qualidade do café beneficiado em função do tempo de armazenamento e de diferentes tipos de embalagens. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, v.especial café, n.2, p.22-27, 2001.

CONAB – **Companhia Nacional de Abastecimento**. Acompanhamento da safra 2004/2005 – 2º levantamento Dez/2004. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/>. Acesso em: 13 de Janeiro de 2005.

DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.1, n.2. p.427-52, 1973.

DOBIE, P.; HAINES, C. P., HODGES, R. J., PREVETT, P. F. **Insect and arachnidsof of tropical stored products, their biology and identification: a training manual**. UK, Tropical Development and Research Institute, 1984, 273 p.

EVANS, D. E. The biology of stored products Coleoptera. In: **Proceedings Australian Development Assistance Course on Preservation of Stored Cereals**, 1981, p.149-185.

FIELDS, P.G.; WHITE, D.G. Alternative to methyl bromide treatments for stored-product and quarantine insects. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.47, p.331-359, 2002.

GRAHAM, D.M. Use of ozone for food processing. **Food Technology**, v.51, p.72–75, 1997.

GUEDES, R.N.C. Manejo integrado para a proteção de grãos armazenados contra insetos. **Revista Brasileira de Armazenamento**. Viçosa, v.15, n.1, p.1-48, 1991.

GURLEY, B. Ozone: pharmaceutical sterilant of the future? **Journal of Parenteral Science and Technology**, v.39, p.256-261, 1985.

HAMPTON, J.G.; JOHNSTONE, K.A.; EUA-UMPON, V. Bulk conductivity test variables for munbean, soybean and French bean seed lots. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.20, n.3. p.677-686, 1992.

HEPBURN, H.A.; POWELL, A.A.; MATTHEWS, S. Problems associated with the routine application of electrical conductivity measurements of individual seeds in the germination testing of peas and soybeans. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.12, n.2, p.403 - 413, 1984.

JAYAS, E.G.; JEYAMKONDAN, S. Modified atmosphere storage of grains meats fruits a vegetables. **Biosystems Engineering**, Winnipeg, v.82, n.3, p.235-251, 2002.

KELLS, S. A.; MASON, L. J.; MAIER, D. E.; WOLOSHUK, C. P. Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. **Journal of Stored Products Research**, v.37, p.371-383, 2001.

KIM, J.G.; YOUSEF, A.E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of Food Protection**. v.62, p.1071–1087, 1999.

KUNZ, A.; FREIRE, R. S.; ROEHWEDDER, J. J. R.; DURA, N. Construção e otimização de um sistema para produção e aplicação de ozônio em escala de laboratório. **Química Nova**. p.425-428. Mar/1999.

LIEBERGOTT, N.; LIEROP, B.V.; SKOTHOS, A. A survey of the use of ozone in bleaching pulps, part 1. **Tappi Journal**, v.75, n.1, p.145-152, 1992.

MARTINS, J.H.; MONTEIRO, P.M.B.; MOTA, A.M.N.; FONSECA, J.A.G. The *1-wireTM* System – An Application for Agricultural Processes. In: Portuguese Conference on Automatic Control. 6th, 2004, Faro, Portugal. **Proceedings...** [Faro, Portugal]: Control, 2004. v.2, p.602-607.

McDONALD Jr., M.B. A review and evaluation of seed vigor tests. **Proceedings of Association of Official Seed Analysts**, Lansing, n.65, p.109-139, 1975.

MENDEZ, F.; MAIER, D. E.; MASON, L. J.; WOLOSHUK, C. P. Penetration of ozone into columns of stored grains and effects on chemical composition and performance. **Journal of Stored Products Research**, v.39, p.33-44, 2002.

METCALF & EDDY. **Wastewater Engineering**. Treatment, Disposal, Reuse. McGraw-Hill international Editions. Third Edition, 1991, 349p.

MOUND, L. (ed.) **Common Insect Pests os Stored Food Products. A guide to their identification**. British Museum (Natural History), 1989. 68p.

OKELANA, F. A.; OSUJI, F. N. C. Influence of relative humidity at 30°C on the oviposition, development and mortality of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) in maize kernels. **Journal of Stored Products Research**, v.21, p.13-19, 1985.

PAIVA AGUERO, J.A. **Correlação de condutividade elétrica e outros testes de vigor com emergência de plântulas de soja em campo**. Jaboticabal: UNESP, 1995. 92p. (Dissertação – Mestrado em Agronomia).

PEDERSEN, J.R. Insects: identification, damage and detection. In: Sauer, D.B. (ed.). **Storage of cereal grains and their products**. 4.ed. St. Paul: American Association of Cereal Chemists, 1992. p.435-489.

QIN, ZHANGGUI; WU, XIA; DENG, GANG; YAN, XIAOPING; HE, XUECHAO; XI, DEKE; LIAO, XINGWEN. Investigation of the use of ozone fumigation to control several species of stored grain insects. “**Advances in stored product protection**: Proceedings of the 8th International Working Conference on Stored-Product Protection, York, UK, p.846-851, 2003.

REES, D. P. Coleoptera. In. SUBRAMANYAN, B.; HAGSTRUM, D.W. **Integrated management of insects in stored products**. New York: Marcel Dekker, 1996, p.1-39.

RICE, R. G.; GRAHAM, D. M. “ **Recent developments in Food and Agricultural Uses of Ozone**”, Annual Conference – Ozone Applications in a Changing Regulatory Environment – IOA- Raleigh, North Caroline, p.1-12, May/2002.

ROBERTSON, J.L.; PREISLER, H.K. **Pesticide bioassays with arthropods**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1991, p.17-34.

ROBERTSON, J.L.; SMITH, K.C.; SAVIN, N.E.; LAVIGNE, R.J. Effects of dose selection and sample size on the precision of lethal dose estimates in dose-mortality regression. **Journal of Economic Entomology**, v. 77, n. 4, p. 833-837, 1984.

RYOO, M.I.; CHO, K. A model for the temperature-dependent developmental rate of *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) on rice. **Journal of Stored Products Research**, v.24, p.79-82, 1987.

SARTORI, M.R. Controle integrado de pragas de grãos armazenados. In: SCUSSEL, V.M. (Ed.) **Atualidades em Micotoxinas e Armazenagem de Grãos**. Florianópolis: 2000. p.345-354.

SATTIGI, H.N.; KULKARNI, K.A.; LINGAPPA, S. Studies on the biology of red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst on wheat and dead insect specimens. **Journal of Agricultural Sciences**, Mysore, v.2, n.4, p.291-293, 1989.

SCHÖLLER, M.; PROSELL, S.; AL-KIRSHI, A.G.; REICHMUTH, C.H. Towards biological control as a major component of integrated pest management in stored product protection. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v.33, n.1, p.81-97, 1997.

SINHA, R.N. **The stored-grain ecosystem**. In: Jayas, D.S.; White, N.D.G.; Muir, W.E. (eds.). *Stored-grain ecosystems*. New York: M. Dekker, 1995, p.1-33.

SOKOLOFF, A. **The biology of Tribolium**. Oxford, v.2, 1974, 610p.

STOREY, C.L. Exothermic inert-atmosphere generators for control of insects in stored wheat. **Journal of Economic Entomology**, v.66, p.511-514, 1973

STRAIT, C.A. **Efficacy of ozone to control insects and fungi in stored grain**. Purdue University, West Lafayette, IN, 1998, 59 p.(M.S. thesis).

TAO, K.L.J. Factors causing variations in the conductivity test for soybean seeds. **Journal of Seed Technology**, Springfield, v.3, n.1, p.10-18, 1978.

VIEIRA, R.D. Teste de condutividade elétrica. In: VIEIRA, R.D., CARVALHO, N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 1994, p.103-132.

WHITE, N.D.G.; JAYAS, D.S. Control of insects and mites with carbon dioxide in wheat stored at cool temperatures in nonairtight bins. **Journal of Economic Entomology**, v.84, p.1933-1942, 1991.

WHITE, N.D.G.;LEESCH, J.G. Chemical control. In: SUBRAMANYAM, B., HAGSTRUM, D. **Integrated management of insects in stored products**. New York: Marcel Dekkes, 1996. p.287-330.

WOODSTOCK, L.M. Physiological and biochemical tests for seed vigor. **Seed Science and Technology**, Norway, v.1, n.1, p.127-157, 1973.