



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**OZONIZAÇÃO NO CONTROLE DE *Sitophilus* sp. (Coleoptera
Curculionidae) EM GRÃOS DE MILHO ENSACADO**

RAFAEL ALVES DA SILVA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

BRASÍLIA/DF
Agosto/2022



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**OZONIZAÇÃO NO CONTROLE DE Sitophilus sp. (Coleoptera
Curculionidae) EM GRÃOS DE MILHO ENSACADO**

RAFAEL ALVES DA SILVA

ORIENTADOR: Dra. FABIANA CARMANINI RIBEIRO
CO-ORIENTADOR: Dr. ERNANDES RODRIGUES DE ALENCAR

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

PUBLICAÇÃO: N° ___/2022

BRASÍLIA-DF
Agosto/2022



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**OZONIZAÇÃO NO CONTROLE DE *Sitophilus* sp. (Coleoptera
Curculionidae) EM GRÃOS DE MILHO ENSACADO**

RAFAEL ALVES DA SILVA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM AGRONOMIA.

APROVADA POR:

FABIANA CARMANINI RIBEIRO, Dra. (ORIENTADORA)/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária — Universidade de Brasília/E-mail: facarmanini@unb.br

VALDINEY CAMBUY SIQUEIRA, Dr. / Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) / E-mail: valdineysiqueira@ufgd.edu.br / Examinador Externo

CRISTINA SCHETINO BASTOS, Dra. / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária — Universidade de Brasília / E-mail: cschetino@gmail.com / Examinador Interno

BRASÍLIA-DF, 18 de Agosto de 2022

FICHA CARTOGRÁFICA

Silva, Rafael Alves da

Ozonização no controle de *Sitophilus* sp. (Coleoptera Curculionidae) em grãos de milho ensacado / Rafael Alves da Silva; orientadora Fabiana Carmanini Ribeiro; coorientador Ernandes Rodrigues de Alencar. — Brasília, 2022.

71 p.

Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2022.

1. Ozônio. 2. Milho Ensacado. 3. Qualidade Fisiológica. 4. Pós-colheita. I. Ribeiro, Fabiana Carmanini, orient. II. Alencar, Ernandes Rodrigues de, coorient. III. Título.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

SILVA, R. A. **Ozonização no controle de *Sitophilus* sp. (Coleoptera Curculionidae) em grãos de milho ensacado.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2022, 71p. Dissertação de Mestrado.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: RAFAEL ALVES DA SILVA

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Ozonização no controle de *Sitophilus* sp. (Coleoptera Curculionidae) em grãos de milho ensacado.

GRAU: MESTRE

ANO: 2022

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta Dissertação de Mestrado para única e exclusivamente propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva para si os outros direitos autorais de publicação. Nenhuma parte desta Dissertação de Mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

Nome: Rafael Alves da Silva

E-mail: rafael-alves.silva@conab.gov.br

Dedico à minha família, especialmente aos meus pais (Adão e Maria das Graças), que tudo fizeram pela minha formação e educação. Dedico aos meus filhos (Davi, Clara e Luísa) e esposa (Ana Paula), pelo carinho e inspiração do dia a dia.

AGRADECIMENTO

Agradeço aos meus pais Adão e Maria das Graças por não medirem esforços quanto a minha educação.

Aos meus irmãos Daniery e Henrique que de alguma forma contribuíram com esta conquista.

Aos meus filhos Davi, Clara e Luísa pelo carinho.

À minha esposa, Ana Paula, por todo amor, carinho e apoio.

À Companhia Nacional de Abastecimento-Conab pela concessão de liberação do trabalho para frequentar as aulas das disciplinas de Mestrado.

Aos colegas de trabalho da Conab pelos conselhos.

À UnB pela oportunidade de atualização e qualificação profissional.

À professora Cristina pela disponibilidade em contribuir com o projeto de pesquisa e pelos ensinamentos.

Ao professor Márcio e aos colegas Wallas e Joyce agradeço pelo apoio durante as análises em laboratório.

Ao professor Ernandes pelo apoio, compartilhamento do seu conhecimento sobre a ozonização e dedicação a coorientação deste trabalho.

À professora Fabiana agradeço a compreensão, apoio, ensinamentos e dedicação à orientação deste trabalho.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE TABELAS.....	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. JUSTIFICATIVA.....	2
3. OBJETIVO.....	4
3.1 Objetivos específicos	4
3.2 Hipóteses.....	4
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
4.1 Importância da produção de milho no Brasil.....	5
4.2 Insetos do gênero <i>Sitophilus</i>	7
4.3 Tratamento fitossanitário convencional.....	9
4.4 Potencial do processo de ozonização em alimentos	12
4.5 Ozonização no controle de Insetos em grãos armazenados	13
4.6 Sacarias de polipropileno.....	19
5. MATERIAL E MÉTODOS	20
5.1 Obtenção do gás ozônio	20
5.2 Estrutura de ozonização	20
5.3 Quantificação da concentração de ozônio	21
5.4 Obtenção dos insetos e do milho	21
5.4.1 Ensaio preliminar para estimativa da mortalidade dos insetos.....	21
5.5 Obtenção do tempo letal de exposição ao ozônio em aplicação direta sobre os adultos de <i>Sitophilus</i> sp.	22
5.6 Obtenção do tempo letal de exposição ao ozônio de adultos de <i>Sitophilus</i> sp. infestando a massa de grãos de milho ensacado.....	22
5.7 Mortalidade dos insetos	23
5.8 Análise da qualidade física, química e fisiológica do milho ensacado	23
5.8.1 Teor de água	24
5.8.2 Teor de proteínas	24
5.8.3 Teor de lipídeos.....	24
5.8.4 Teor de cinzas	25
5.8.5 Teor de carboidratos	25

5.8.6	Massa específica aparente	25
5.8.7	Condutividade elétrica.....	25
5.8.8	Potencial de germinação do milho.....	26
5.9	Delineamento experimental	26
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
6.1	Ensaio Preliminar da ozonização na mortalidade dos insetos	27
6.2	Avaliação da Ozonização na Mortalidade direta dos adultos de <i>Sitophilus</i> sp. 28	
6.3	Avaliação da Ozonização na Mortalidade dos adultos de <i>Sitophilus</i> sp. na massa de grãos de milho ensacado.....	32
6.4	Avaliação da Qualidade Física, Química e Fisiológica de grãos de milho submetidos à ozonização	34
7.	CONCLUSÕES	37
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 — Estrutura de ozonização montada no Laboratório de Pré-Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas, UnB. Da esquerda para direita: (a) ozonizador; (b) câmara de ozonização; e (c) degradador de ozônio.21

Figura 2 — Mortalidade corrigida de *Sitophilus* sp. 1 dia após o processo de ozonização (a) e 2 dias após o processo de ozonização (b) na concentração de 1800 ppm e vazão de 4 L min⁻¹ em diferentes tempos de exposição.....27

Figura 3 — Mortalidade de *Sitophilus* sp. em função do tempo de exposição direta dos adultos ao ozônio na concentração de 1800 ppm após (a) 1 dia, (b) 2 dias, (c) 9 dias e (d) 15 dias.29

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 — Resultado de CT (concentração de ozônio em ppm x tempo de exposição ao ozônio em minutos) necessário para atingir mortalidade de 100% dos insetos do gênero <i>Sitophilus</i>	15
Tabela 2 — Tempo letal do ozônio para as populações de <i>Sitophilus</i> sp. em ensaio preliminar	28
Tabela 3 — Equações que descrevem a relação entre a mortalidade e o tempo de exposição de adultos de <i>Sitophilus</i> sp. quando submetidos à ozonização direta e avaliados aos 1, 2, 9 e 15 dias.....	30
Tabela 4 — Tempo letal para matar 50 (TL50), 90 (TL90) e 95% (TL95) da população de <i>Sitophilus</i> sp. expostos à ozonização direta na concentração de 1800 ppm por até 120 min, com tempo de avaliação em 1, 2, 9 e 15 dias	31
Tabela 5 — Composição centesimal de milho submetido à ozonização na concentração de 1800 ppm em diferentes tempos de exposição.....	34
Tabela 6 — Tabela de aspectos fisiológicos de milho submetido à ozonização na concentração de 1800 ppm em diferentes tempos de exposição.....	35

RESUMO

Devido aos prejuízos causados por *Sitophilus* sp. ao milho e a outros grãos armazenados, faz-se necessário a utilização constante de medidas de controle, como o uso de inseticidas protetores e fumigantes. No setor de armazenamento, a tecnologia de aplicação do ozônio tem sido destaque nos últimos anos, sendo apontada nos principais periódicos e congressos nacionais e internacionais da área como uma das principais alternativas para a proteção de grãos armazenados. O objetivo com o presente estudo foi avaliar o gás ozônio como nova tecnologia de tratamento fitossanitário de grãos de milho ensacados, verificando a sua eficiência, praticidade e tempo total de tratamento. Empregou-se o Delineamento Inteiramente Casualizado. Na primeira etapa avaliou-se os efeitos da ozonização diretamente sobre os adultos de *Sitophilus* sp. utilizando-se 8 tratamentos (0, 10, 20, 40, 50, 60, 80 e 120 min de exposição a concentração de entrada de ozônio de 1800 ppm com vazão de 4 L min⁻¹) e com três repetições. Na segunda etapa a avaliação dos efeitos da ozonização foi realizada com os adultos de *Sitophilus* sp. infestando a massa de grãos de milho ensacado, e na avaliação de possíveis alterações na qualidade física, química e fisiológica dos grãos de milho ensacado, para isso utilizou-se 10 tratamentos (0, 10, 20, 40, 50, 60, 80, 120, 180 e 240 min de exposição a concentração de entrada de ozônio de 1800 ppm com vazão de 4 L min⁻¹) e utilizando-se três repetições. Avaliou-se a mortalidade dos insetos em 4 diferentes tempos de avaliação (1, 2, 9 e 15 dias após cada tratamento). A ozonização direta foi capaz de aumentar a mortalidade de *Sitophilus* sp. em todos os dias de avaliação após o processo de ozonização dos insetos. Porém, essa mortalidade foi mais intensificada aos dias 9 e 15 após a ozonização, pois um tempo de ozonização de até 20 min foi capaz de proporcionar 100% de mortalidade dos insetos. Quando se avaliou a mortalidade dos adultos de *Sitophilus* sp. infestando a massa de grãos de milho ensacado submetidos a ozonização por até 240 min foram observados valores negativos, devido a mortalidade ter sido maior nos tratamentos controle, onde não houve tratamento com ozônio. Uma das hipóteses para isso ter acontecido é a de que o material ozonizado apresentava residual de inseticida que foi liberado na massa de grãos, uma vez que o gás ozônio possui o potencial de degradar macromoléculas como os residuais de agrotóxicos. Apesar do alto poder oxidativo do ozônio, os resultados do presente estudo mostram que o processo de ozonização dos grãos de milho não afeta significativamente sua composição centesimal, assim como não afetou os aspectos fisiológicos dos grãos. O ozônio foi capaz de controlar adultos de *Sitophilus* sp. em aplicação direta, porém não foi possível avaliar esse potencial no controle dos insetos infestando a massa de grãos de milho, sendo necessários novos estudos com maiores tempos de exposição.

PALAVRAS-CHAVE

Gorgulho-do-milho; ozonização; *Zea mays*; fumigação.

Gorgulho-do-milho; ozonização; *Zea mays*; fumigação.

ABSTRACT

Due to the damage caused by *Sitophilus* sp. corn and other stored grains, it is necessary to constantly use control measures, such as the use of protective and fumigant insecticides. In the storage sector, the ozone application technology has been highlighted in recent years, being pointed out in the main national and international journals and congresses in the area as one of the main alternatives for the protection of stored grains. The objective of the present study was to evaluate ozone gas as a new technology for phytosanitary treatment of bagged corn grains, verifying its efficiency, practicality, and total treatment time. The Entirely Randomized Design was used. In the first stage, the effects of ozonation were evaluated directly on the adults of *Sitophilus* sp. using 8 treatments (0, 10, 20, 40, 50, 60, 80 and 120 min of exposure to an ozone inlet concentration of 1800 ppm with a flow rate of 4 L min⁻¹) and with three replications. In the second stage, the evaluation of the effects of ozonation was carried out with the adults of *Sitophilus* sp. infesting the mass of bagged corn grains, and in the evaluation of possible changes in the physical, chemical and physiological quality of the bagged corn grains, 10 treatments were used (0, 10, 20, 40, 50, 60, 80, 120, 180 and 240 min of exposure to an ozone inlet concentration of 1800 ppm with a flow rate of 4 L min⁻¹) and using three replications. Insect mortality was evaluated at 4 different evaluation times (1, 2, 9 and 15 days after each treatment). Direct ozonation was able to increase the mortality of *Sitophilus* sp. on all evaluation days after the insect ozonation process. However, this mortality was more intensified at days 9 and 15 after ozonation, as an ozonation time of up to 20 min was able to provide 100% insect mortality. When the mortality of adults of *Sitophilus* sp. infesting the mass of bagged corn grains subjected to ozonation for up to 240 min, negative values were observed, due to the higher mortality in the control treatments, where there was no ozone treatment. One of the hypotheses for this to have happened is that the ozonized material had residual insecticide that was released in the grain mass, since ozone gas has the potential to degrade macromolecules such as pesticide residues. Despite the high oxidative power of ozone, the results of the present study show that the ozonation process of corn grains does not significantly affect its proximate composition, as well as it did not affect the physiological aspects of the grains. Ozone was able to control adults of *Sitophilus* sp. in direct application, but it was not possible to evaluate this potential in the control of insects infesting the mass of corn grains, requiring further studies with longer exposure times.

KEY WORDS

Maize weevil; ozonation; *Zea mays*; fumigation.

1. INTRODUÇÃO

O milho é um dos grãos que apresenta maior relevância no mundo, sendo essencial para diversas cadeias produtivas ligadas à alimentação humana. É utilizado principalmente na alimentação humana e nas atividades de bovinocultura, avicultura e suinocultura, as quais o milho pode ser consumido diretamente ou utilizado na fabricação de rações (MARCHI, 2008; CASTOR et al., 2014). Trata-se de um alimento energético já que, em sua constituição, o amido está fortemente presente e apresenta baixo teor proteico (LISCH, 2012).

O milho de 2º safra é responsável por 60% da produção brasileira, enquanto a primeira safra corresponde a 40%. Isso decorre do plantio de 2º safra acontecer logo após a colheita da soja e no mesmo local, permitindo assim um maior aproveitamento da fertilidade do solo, ocasionando numa maior produtividade da safrinha do milho (REIS et al., 2016; SOUZA et al., 2018b). Nacionalmente o maior volume produzido fica na região Centro-Oeste, seguido da região Sul e Sudeste. Nessas regiões os estados que mais se destacam na produção em volume são o Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás, Paraná e Rio Grande do sul, Bahia, Piauí e Maranhão, respondendo por mais de 75% da produção brasileira (CONAB, 2022).

Em contrapartida a alta produção brasileira, há um déficit de áreas de armazenamento e veículos de transporte, o que aumenta os custos logísticos e as perdas na produção. Conseqüentemente, o Brasil apresenta baixa eficiência no armazenamento e baixo investimento em tecnologias para melhorar a qualidade pós-colheita de grãos armazenados (PEREIRA et al., 2008b; REIS et al., 2016). Estes fatos contribuem para ocorrência de perdas qualitativas e quantitativas no armazenamento e transporte do milho.

Além desses fatores, junta-se que parte dessas perdas decorre do ataque de insetos, com destaque àqueles que infestam os grãos antes da colheita, como o caso mais expressivo o gorgulho do milho: *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) (FERNANDES e FAVERO, 2014; LORINI et al., 2015). Ressalta-se assim, a importância da armazenagem feita de maneira adequada e correta, pois os riscos da massa de grãos se tornarem um ambiente adequado para o desenvolvimento de insetos, que a utiliza para sua alimentação e oviposição, contaminando assim o produto, são grandes (SILVA et al., 2020).

Devido aos prejuízos causados por *Sitophilus* sp. e por outras pragas em milho e outros grãos armazenados, faz-se necessário a utilização constante de medidas de controle, como o uso de inseticidas protetores e fumigantes. Porém, o uso indiscriminado destes produtos têm gerado problemas, principalmente na seleção de populações de insetos resistentes, além de possíveis contaminações dos alimentos com resíduos de ingredientes ativos, em consequência de serem utilizados em altas concentrações para se estabelecer o controle desses insetos (ATHÉ e PAULA, 2002; LUCENA et al., 2012).

As primeiras investigações sobre a utilização do ozônio como inseticida foram realizadas empregando-se insetos domésticos (formigas, baratas, moscas e traças) e visando manter as condições de higiene de ambientes domésticos e, no caso dos insetos-pragas de produtos armazenados, a primeira pesquisa expressiva só foi publicada no início dos anos 1980, onde foram realizados estudos prévios sobre a toxicidade do ozônio (45 ppm) para larvas, pupas e adultos de *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) (FARONI e SOUSA, 2010). No setor de armazenamento, a tecnologia de aplicação do ozônio tem sido destaque nos últimos anos, sendo apontada nos principais periódicos e congressos nacionais e internacionais da área como uma das principais alternativas para a proteção de grãos armazenados, por ser uma tecnologia economicamente eficaz e ambientalmente correta (ALENCAR et al., 2012; ALENCAR et al., 2013; HELENO et al., 2014, PIMENTEL et al., 2016).

Outro fator importante, e o ozônio aparece como uma alternativa, é o fenômeno da resistência de insetos a fosfina, principal produto sintético usado para o controle de insetos infestando o ambiente de armazenamento, que é um fenômeno que está amplamente distribuído entre populações brasileiras de *T. castaneum*, *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) e *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae), sendo necessário urgentemente o uso de inseticidas alternativos que possam reduzir a dependência sobre o único fumigante disponível atualmente no mercado: a fosfina (PIMENTEL, 2006).

Portanto, o objetivo com o presente estudo foi avaliar o gás ozônio como alternativa no tratamento fitossanitário de grãos de milho ensacados, verificando a sua eficiência, praticidade e tempo total de tratamento.

2. JUSTIFICATIVA

De acordo com dados da FAO e do MAPA (LORINI et al., 2015), estima-se que as perdas médias quantitativas de grãos no Brasil, causadas por pragas, seja de aproximadamente 10% do total produzido. Isto, considerando-se somente as perdas quantitativas, pois além destas, existem as qualitativas, que são mais preocupantes, uma vez que podem comprometer totalmente o uso do grão produzido ou desclassificá-lo para outro uso de menor valor agregado. Considerando-se a safra de grãos da 2020/2021, divulgado no Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos realizado pela CONAB de agosto de 2022 (CONAB, 2022), é possível estimar que a perda de grãos por ação de pragas, somente de natureza quantitativa, pode chegar entorno de 30,8 milhões de toneladas, montante absolutamente significativo e que representa sérios prejuízos tanto no campo econômico quanto social.

Desta forma, a busca por novas tecnologias para o controle de pragas de grãos armazenados é de elevada importância para reduzir o quantitativo de perdas durante a armazenagem, manter a qualidade dos grãos e, conseqüentemente, garantir renda aos produtores rurais e demais elos da cadeia produtiva.

3. OBJETIVO

Avaliar o gás ozônio como nova tecnologia de tratamento fitossanitário de grãos de milho ensacados, verificando a sua eficiência, praticidade e tempo total de tratamento.

3.1 Objetivos específicos

- Avaliar se há redução no tempo do tratamento fitossanitário dos grãos armazenados;
- Avaliar se há controle eficiente do *Sitophilus sp.* com a ozonização.
- Avaliar se o processo de ozonização altera a qualidade fisiológica, química e física dos grãos de milho.

3.2 Hipóteses

- O processo de ozonização é eficiente no controle de insetos adultos do gênero *Sitophilus*.
- O processo de ozonização apresenta significativa redução no tempo de tratamento fitossanitário, se comparado ao tempo de tratamento convencional (expurgo).
- O processo de ozonização não altera a qualidade fisiológica, química e física dos grãos de milho.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Importância da produção de milho no Brasil

A produção de grãos no Brasil apresentou um crescimento, principalmente o milho e a soja, assim como a adoção e difusão de novas tecnologias na agricultura. A inovação tecnológica na agricultura possibilitou avanços significativos, principalmente na adaptação de cultivares aos fatores edafoclimáticos e na gestão dos recursos naturais (BORLACHENCO e GONÇALVES, 2017; ARTUZO et al., 2018).

O milho se tornou, no decorrer dos últimos anos, a maior cultura agrícola do mundo, ultrapassando culturas como o arroz e o trigo, com a marca de mais de 1 bilhão de toneladas produzidas anualmente. Além da importância em termos de produção, a cultura do milho se destaca pela ampla diversidade de uso, possuindo mais de 3.500 aplicações, segundo estimativas, tendo uma importante relevância no aspecto da segurança alimentar humana e animal, assim como uma ampla possibilidade de obtenção de outros produtos, que incluem combustíveis, bebidas, polímeros, entre outros (MIRANDA, 2018). Cultivado em todas as regiões do Brasil, o milho se tornou um dos produtos essenciais da agricultura brasileira, presente em mais de 2 milhões de estabelecimentos agropecuários. Porém, é uma cultura que passou por profundas mudanças, como por exemplo, a diversificação do seu papel como cultura de subsistência cultivada por pequenos produtores, refletido no aumento do papel da cultura na agricultura comercial eficiente, apresentando um deslocamento geográfico e temporal da produção (MIRANDA, 2018; ARTUZO et al., 2018).

Segundo dados do USDA (2022), na produção de 2016, os EUA lideraram o ranking mundial dos principais produtores de milho, com uma produção de 345 milhões de toneladas, seguido pela China com 260 milhões de toneladas e do Brasil, com 102 milhões de toneladas. Destaca-se essa alta produtividade do milho no Brasil nos últimos anos, devido ao crescente aumento da demanda mundial por este grão e da demanda produtiva dos EUA, destinando parte de sua produção para produção de etanol (SOUZA et al., 2018b; USDA, 2022).

A produção total de grãos no Brasil na safra 2018/2019 foi de 242.094,8 mil toneladas. Em termos percentuais, a produção de grãos do Brasil na safra 2018/2019 pode ser assim representada: soja (47,51%), milho (41,32%), arroz (4,33%), trigo (2,13%) e outros grãos (4,70%). Desta forma, o milho é a segunda cultura que mais produz grãos no Brasil, ficando atrás apenas da soja (CONAB, 2020). De acordo com

o levantamento de safras divulgado pela Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) em abril de 2022, estima-se que a produção de milho safra 2021/2022 no Brasil seja de 115,6 milhões de toneladas, o que é 32,7% maior do que o produzido na safra anterior (CONAB, 2022; USDA, 2022).

O milho é um dos grãos que apresenta maior relevância no mundo, sendo essencial para diversas cadeias produtivas ligadas a alimentação humana. É ingerido principalmente por humanos e pelas atividades de bovinocultura, avicultura e suinocultura, as quais o milho pode ser consumido diretamente ou utilizado na fabricação de rações e destinado ao consumo de animais (MARCHI, 2008; CASTOR et al., 2014).

No Brasil a produção do milho é realizada em duas épocas distintas e denominadas de milho de 1° safra e milho de 2° safra. A região que predomina o milho de 2° safra é a Centro Oeste, onde o plantio se inicia entre janeiro e março, com colheita entre junho e setembro; enquanto no milho de 1° safra o início do plantio vai de agosto a dezembro, com período de colheita de março a junho. O milho de 2° safra é responsável por 60% da produção brasileira, enquanto a primeira safra corresponde a 40%. Isso decorre do fato do plantio de 2° safra acontecer logo após a colheita da soja e no mesmo local, permitindo assim um maior aproveitamento da fertilidade do solo, ocasionando numa maior produtividade da safrinha do milho (REIS et al., 2016; SOUZA et al., 2018b). Nacionalmente o maior volume produzido é proveniente da região Centro-Oeste, seguida da região Sul e Sudeste. Nessas regiões os estados que mais se destacam na produção em volume são o Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás, Paraná e Rio Grande do sul, Bahia, Piauí e Maranhão, correspondendo a mais de 75% da produção brasileira. Parte desses estados também possuem as maiores médias de produtividade e de área plantada, apresentando produtividade variável entre 6 e 8 mil kg ha⁻¹ (CONAB, 2020).

Em contrapartida a alta produção brasileira, há um déficit de áreas de armazenamento e veículos de transporte, o que aumenta os custos logísticos e as perdas na produção. Conseqüentemente, o Brasil apresenta baixa eficiência no armazenamento e baixo investimento em tecnologias para melhorar a qualidade pós-colheita de grãos armazenados (PEREIRA et al., 2008a; REIS et al., 2016). Estes fatos contribuem para ocorrência de perdas qualitativas e quantitativas no armazenamento e durante o transporte do milho. Além desses fatores, parte dessas perdas decorre do ataque de insetos, com destaque àqueles que infestam os grãos antes da colheita, como é o do gorgulho do milho: *Sitophilus zeamais* (FERNANDES

e FAVERO, 2014; LORINI et al., 2015). Ressalta-se assim a importância da armazenagem feita de maneira adequada e correta, pois os riscos da massa de grãos se tornar um ambiente adequado para o desenvolvimento de insetos, utilizando para alimentação e oviposição, e resultando na contaminação do produto, são grandes (SILVA et al., 2020).

Há outro fator relevante no armazenamento de milho e que merece destaque e diz respeito ao milho ensacado e mantido em pequenos e médios estabelecimentos que, tem sido muito comercializado no país, enfocando, especialmente, a venda para pequenos produtores rurais. Muitas vezes por não possuírem estrutura ideal para realização de expurgos estes comércios acabam descumprindo a legislação e a bula do agrotóxico e/ou, até mesmo, vendendo o milho infestado de insetos (MARTINS et al., 2005; LORINI et al., 2015). A CONAB, assim como outras unidades comerciais no Brasil, também realiza operações de venda de milho ensacado, através do seu Programa de Vendas em Balcão, que tem por objetivo abastecer as regiões com déficit na produção de milho. A atividade de venda de milho ensacado pela CONAB nas regiões norte e nordeste tem ganhado grandes proporções e muitos elogios dos pequenos produtores. Entretanto, manter a qualidade de grandes quantidades de milho ensacado, tem sido um desafio para a área operacional das Unidades Armazenadoras da CONAB (CONAB, 2021).

Nos anos de 2018, 2019 e 2020 a CONAB vendeu aos pequenos produtores cerca de 220 mil toneladas, 115 mil toneladas e 122 mil toneladas de milho ensacado através do ProVB, respectivamente (CONAB, 2020).

Desta forma, a introdução de novos métodos de tratamento fitossanitário de grãos armazenados, que sejam eficientes e rápidos, é o crucial para o setor armazenador, para o comércio e também para o consumidor, uma vez que todos os envolvidos poderão ter à disposição em qualquer momento grãos isentos de insetos, com boa qualidade e sem residual de agrotóxicos advindos do expurgo.

4.2 Insetos do gênero *Sitophilus*

O gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) é uma das principais e mais destrutivas pragas de grãos armazenados (LORINI et al., 2015). O gênero *Sitophilus* apresenta os mais importantes agentes responsáveis pelas perdas pós-colheita de grãos armazenados, sendo as espécies *S. zeamais*, *S. oryzae* e *S. granarius* as mais destrutivas de cereais armazenados pelo fato de serem cosmopolitas, e também em razão dos intercâmbios comerciais cada vez mais frequentes. As espécies *S. zeamais* e *S. oryzae* são abundantes em regiões tropicais com temperaturas moderadas. No caso de regiões de frio moderado, como o nordeste da Europa, a espécie predominante é *S. granarius*, que também é encontrada em regiões tropicais muito frias (FARONI e SOUSA, 2006; FARONI e SOUZA, 2010).

Os *Sitophilus* sp. apresentam o aparelho bucal do tipo mastigador, garantindo-lhes força suficiente para romperem a camada mais rígida dos grãos. As larvas deste gênero apresentam coloração amarelo-clara, cabeça mais escura e pupas brancas. Os ovos são depositados no interior dos grãos e, após eclodirem as larvas, fazem perfurações nos grãos para se alimentarem. Uma característica importante é que esses insetos, na fase adulta ou larval, podem apresentar infestação cruzada, ou seja, atacam os grãos tanto no campo, quanto no armazenamento. Por apresentarem características semelhantes em sua morfologia, as espécies do gênero *Sitophilus* podem se distinguir por pontuações no pronoto ou pelo estudo da genitália com uso de microscópio (MARTINS, 2008; LORINI et al., 2015).

O gorgulho do milho (*S. zeamais*) possui um potencial biótico elevado, com alta capacidade de penetrar na massa de grãos e deixar um elevado número de descendentes em curto espaço de tempo. Devido a estas características, seu controle torna-se tarefa difícil, além de ocasionar grandes danos, principalmente nos grãos de milho, arroz e trigo, principais commodities para economia mundial (LORINI et al., 2015). Os insetos que se desenvolvem em produtos armazenados apresentam características de acordo com o ambiente em que se encontram os produtos. As espécies do gênero *Sitophilus* são pequenas e adaptadas aos ambientes muito secos e escuros. O período de incubação dos ovos varia entre 3 e 6 dias a 25°C. As fases jovens apresentam menor viabilidade em grãos com teor de água menor que 13%, sendo que abaixo de 10%, frequentemente os insetos param de ovipositar e o desenvolvimento é acelerado em grãos com teor de água entre 14 e 16% (FARONI e SOUSA, 2006; MARTINS, 2008).

Considera-se o gorgulho do milho como praga primária interna, sendo aquela que tem a capacidade de infestar os grãos intactos, deixando como sinal de infestação

orifícios na camada exterior destes, possibilitando então a entrada de outros agentes de deterioração, favorecendo o desenvolvimento de fungos de armazenamento (LORINI et al., 2015). Além de danificar os grãos armazenados e favorecer o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e contaminantes, apresenta-se como espécie de infestação cruzada, podendo infestar os grãos no campo e no armazenamento. O gorgulho do milho é uma das mais importantes pragas de armazenamento podendo gerar perdas de até 20% dos grãos armazenados. Essas perdas podem ser classificadas em: redução do teor da massa seca dos grãos, desvalorização do preço comercial, perdas nutricionais dos grãos, do poder germinativo das sementes, além da contaminação por microrganismos, o que afeta diretamente o percentual de defeitos em sua classificação comercial (BOTTON et al., 2005; LUCENA et al., 2012).

4.3 Tratamento fitossanitário convencional

Os métodos de controle de insetos em grãos armazenados podem ser divididos em: físicos, biológicos e químicos. Os físicos incluem a utilização de resfriamento artificial, temperatura, radiação, umidade, atmosfera modificada ou terra de diatomácea; os biológicos compreendem o uso de inimigos naturais; e, os métodos químicos, dizem respeito ao uso de inseticidas em caráter preventivo e/ou curativo. No Brasil os métodos de controle de insetos em grãos armazenados mais utilizados são através do expurgo ou da fumigação mediante emprego do fosfeto de alumínio e de magnésio, assim como o uso de inseticidas protetores, tais como piretroides e organofosforados (FARONI e SOUZA, 2010; LORINI et al., 2015; SILVA et al., 2020).

Os piretroides (ingrediente ativo: deltametrina) e organofosforados (ingrediente ativo: pirimifós metílico) agem como moduladores dos canais de sódio e inibidores da acetilcolinesterase, respectivamente (BRASIL, 2021). A utilização destes produtos permite a persistência dos compostos tóxicos por longos períodos em concentrações letais para as pragas (FARONI e SOUSA, 2010). Além destes grupos químicos, os produtos fumigantes (de ingrediente ativo: fosfeto de alumínio e fosfeto de magnésio, ambos precursores da fosfina e de ação curativa), agem bloqueando importantes sistemas enzimáticos dentro das células do organismo (FARONI e SOUSA, 2010; BRASIL, 2021). Todos esses compostos têm sido indicados e utilizados no controle de pragas de grãos armazenados, tanto em armazéns convencionais como nos silos e graneleiros.

Conforme as bulas dos produtos comerciais expurgantes de grãos armazenados, disponíveis no AGROFIT/MAPA, durante o tratamento fitossanitário de milho ensacado é necessário que os grãos submetidos ao expurgo (com gás fosfina) fiquem em câmara de expurgo com boa vedação pelo tempo mínimo de 120 horas (ou seja, 5 dias) (BRASIL, 2021). Para os produtos comerciais Phostoxin® e Phostek® (ambos à base de fosfeto de alumínio) recomenda-se 120 horas de tempo de exposição mínimo quando a temperatura do interior das câmaras de fumigação (milho ensacado) for superior a 25 °C. No caso do tratamento em silos verticais, graneleiros horizontais e porões de navios, o tempo de exposição mínimo passa a ser de 240 horas (BRASIL, 2021).

Para temperaturas entre 15 °C a 25 °C, é recomendado nas bulas o prolongamento do tempo de exposição acima em 20%. Caso a temperatura no interior câmara de expurgo seja inferior a 15 °C, não se recomenda a fumigação. Além do tempo de exposição mínimo, as bulas dos produtos acima definiram o intervalo de segurança para o milho expurgado de 4 dias. O intervalo de segurança é definido como o tempo que deverá transcorrer entre a aplicação e a colheita, uso ou consumo, a semeadura ou plantação, e a semeadura ou plantação do cultivo seguinte, conforme o caso (BRASIL, 1989). Para os casos de tratamento pós-colheita, o intervalo de segurança é o intervalo de tempo entre a última aplicação e a comercialização do produto (BRASIL, 1992).

Imaginando-se o expurgo em um armazém convencional ou em uma pequena casa agropecuária, o estabelecimento deveria ficar fechado e sem o trânsito de pessoas por um período mínimo de 5 a 9 dias. Desta forma, neste período, o produto tratado deveria permanecer sem comercialização e/ou consumo. Acredita-se que, quando necessário, os interessados não atendam o prazo estabelecido. Outro produto comercial Fertox® (fosfeto de alumínio) definiu em sua bula que o tempo de exposição mínimo para o milho deverá ser de 96 horas (4 dias) e o intervalo de segurança de 4 dias. Também foi recomendado na bula que, “após o período de exposição ou tempo de tratamento, há necessidade de aeração do ambiente onde os grãos ou produtos armazenados foram tratados, como também a aeração dos próprios grãos ou produtos” e “que os trabalhadores aguardem o período de aeração, que deverá ser de no mínimo de 3 a 4 dias, para reentrada no local fumigado”. Sendo assim, em caso de expurgo com este produto comercial, o milho ficaria impedido de ser manuseado e/ou comercializado por no mínimo 8 dias (LORINI et al., 2015).

Devido aos prejuízos causados por *Sitophilus* sp. ao milho e a outros grãos armazenados, faz-se necessário a utilização constante de medidas de controle, principalmente o controle químico, como relatado acima, mediante o uso de inseticidas protetores e fumigantes. Porém, o uso indiscriminado destes produtos tem gerado problemas, principalmente selecionando populações de insetos resistentes, além de possíveis contaminações dos alimentos com resíduos de ingredientes ativos, em consequência de serem utilizados em altas concentrações para se estabelecer o controle desses insetos (ATHÉ e PAULA, 2002; LUCENA et al., 2012).

A resistência pode ocorrer de maneiras diferentes, sendo que os principais mecanismos de resistência são agrupados em comportamentais, fisiológicos e bioquímicos (BRATTSTEN et al., 1986). Além disso, a resistência a inseticidas pode possibilitar diversas mudanças fisiológicas, comportamentais e na reprodução dos insetos (GUEDES et al., 2006). Atualmente a resistência a inseticidas é um dos maiores problemas no controle de pragas e está aumentando em todo mundo. Nos aspectos fisiológicos e bioquímicos, são três os principais mecanismos envolvidos na resistência de insetos a produtos químicos de controle, dos quais: 1) redução da penetração do inseticida pela cutícula do inseto; 2) detoxificação ou metabolização do inseticida por enzimas; 3) redução da sensibilidade no sítio de ação do inseticida no sistema nervoso (HEMINGWAY, 2000; LORINI et al., 2015).

O manejo da resistência de pragas de grãos armazenados aos inseticidas é uma prática recorrente e essencial, pois, ao longo do tempo e de várias aplicações, torna-se difícil controlar uma praga que apresente resistência aos principais inseticidas registrados para o seu controle. Procedimentos de manejo adequado podem reduzir o número de espécies resistentes ou, no mínimo, retardar o processo evolutivo da resistência. A resistência de pragas a produtos químicos é um exemplo dessa evolução das espécies, além de demonstrar como esses insetos podem sobreviver e mudar fisiologicamente sob pressão constante de aplicação de produtos químicos (LORINI et al., 1996; LORINI et al., 2015). Levando-se em consideração esses casos de resistência na população de *S. zeamais* à produtos químicos, ressalta-se que não existem relatos de resistência dessas populações ao gás ozônio na literatura, ou seja, há um grande potencial de uso para o controle e o manejo de resistência nessas populações de insetos em grãos armazenados (PIMENTEL et al., 2008; SOUZA et al., 2008).

4.4 Potencial do processo de ozonização em alimentos

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

Na agricultura, a utilização do ozônio ainda é restrita, embora venha sendo apontada como uma estratégia potencial para o controle de insetos-praga, especialmente em grãos-armazenados (KELLS et al., 2001; PEREIRA et al., 2007; SOUSA et al., 2008; MCDONOUGH et al., 2011; SOUSA et al., 2016). Na indústria, o ozônio é utilizado para a descontaminação da superfície de frutas e legumes, auxiliando em sua preservação durante o armazenamento (KIM et al., 1999; FERREIRA et al., 2017).

Já se comprovou a eficiência do gás ozônio na desinfecção de grãos de milho armazenados e no controle de fungos toxigênicos (PIMENTEL et al. 2016). O processo de ozonização de arroz na concentração de 10,13 mg L⁻¹, sob fluxo contínuo de 1,0 L min⁻¹ e 60 horas de exposição ao ozônio reduziu em 3,8 ciclos log (100%) a contagem de leveduras e em 100% o índice de ocorrência de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. (SANTOS et al., 2016).

A concentração de 13,5 mg L⁻¹ de ozônio (6.308 ppm), com fluxo contínuo de 1,0 L min⁻¹ e período de exposição de 24 horas reduziu o teor de fumonisinas B1 e B2 em 78,8 e 86,98%, respectivamente, para o híbrido de milho 30F53H; para o híbrido de milho AS1581 PRO a redução foi de 88,5% no teor de fumonisina B1 e mais de 82% o teor de fumonisina B2. Portanto, nas condições adotadas, os resultados indicaram que o ozônio se mostrou eficiente agente detoxificante de grãos de milho (PIMENTEL et al., 2018).

Ao ozonizar grãos de amendoim na concentração de 21 mg L⁻¹ e pelo período de exposição de 96 horas, Alencar et al. (2012) verificaram que o ozônio controlou os fungos potencialmente aflatoxigênicos, com redução superior a três ciclos log; reduziu o teor de aflatoxinas totais e aflatoxina B1 em aproximadamente 30 e 25%, respectivamente, e não afetou a qualidade dos grãos de amendoim e do óleo bruto extraído desses grãos.

A utilização do ozônio na degradação de resíduos de agrotóxicos foi comprovada em diversos produtos agrícolas, tais como tomate, alface, uva, maçã, morango, mostarda, limão, laranja, toranja, milho, trigo, lichia, cenoura entre outros

(FORNEY et al., 2007; WU et al., 2006; GABLER et al., 2010; ALENCAR et al., 2013; HELENO et al., 2014; HELENO et al., 2015; SAVI et al., 2016; SOUZA, 2017).

Al-Antary et al. (2015) verificaram que o tratamento com água ozonizada ($4 \mu\text{g L}^{-1}$) em tomates destinados à fabricação de suco foi capaz de remover 100% do resíduo de carbosulfano no produto final. Heleno et al. (2014), estudando o efeito do gás ozônio na remoção de resíduos de difenoconazol, constataram que além do uso do gás reduzir de 5 mg kg^{-1} para $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ a quantidade de resíduo em morangos, o ozônio foi capaz de impedir a redução de sólidos solúveis, açúcares totais e vitamina C nas frutas durante o armazenamento.

Souza (2017), verificou redução em mais de 80% dos resíduos de dois tipos de agrotóxicos em cenouras quando expostas ao ozônio durante o período de exposição de 120 minutos a concentração de 5 e 10 mg L^{-1} de ozônio. Cerca de 5 dias após o tratamento, foi observado um incremento significativo no percentual de resíduos do agrotóxico detectado.

Não existem registros de estudos anteriores que tenham utilizado o gás ozônio para tratamento de milho ensacado em câmaras de expurgo, ambiente comum de fumigação com gás fosfina.

4.5 Ozonização no controle de Insetos em grãos armazenados

O ozônio (O_3) é uma forma alotrópica do oxigênio e pode ser produzida sinteticamente pelo método de descarga por barreira dielétrica (DBD) utilizando ar atmosférico ou oxigênio como insumo (KIM et al., 1999). A sua molécula (O_3) possui o segundo maior potencial de oxidação dentre os elementos químicos, sendo inferior ao da molécula do flúor e capaz de oxidar quase todos os metais, com exceção do ouro e da platina (LUNIN et al., 1998). O ozônio é cerca de duas vezes mais denso que o ar, apresenta-se como um gás incolor e de odor pungente, tem massa molecular igual a 48 g mol^{-1} , massa específica de $2,4 \text{ kg m}^{-3}$, liquefaz-se a 112°C , apresenta ponto de congelamento de $-251,4^\circ\text{C}$ e decompõe-se rapidamente (KIM et al., 1999; KHADRE et al., 2001).

O ozônio é uma alternativa bastante atraente frente aos fumigantes convencionais, pois trata-se de um gás oxidante e excessivamente tóxico para organismos diversos, como fungos, bactérias, vírus, protozoários e insetos (KHADRE et al., 2001; AN et al., 2007; SOUSA et al., 2008). O gás atua sobre as membranas

celulares, danificando-as em virtude do estresse oxidativo (HOLLINGSWORTH & ARMSTRONG, 2005) ou desencadeando a morte celular em diversos organismos vivos (FARONI e SOUSA, 2010).

Em vários países, o ozônio tem sido usado para purificar a água potável, matar bactérias, higienizar alimentos, desodorizar, diminuir a contaminação de aflatoxina em alimentos, branquear a farinha de trigo, matar insetos, higienizar ambientes, degradar resíduos de agrotóxico nos produtos agrícolas (PRUDENTE e KING, 2002; SOPHER et al., 2002; INAN et al., 2007; TIWARI et al., 2010; WHITE et al., 2010; PAES et al., 2010; MCDONOUGH et al., 2011; SHARMA e HUDSON, 2008; SOUZA, 2017).

As primeiras investigações sobre a utilização do ozônio como inseticida foram realizadas utilizando-se insetos domésticos (formigas, baratas, moscas e traças) para manter as condições de higiene de ambientes domésticos e, no caso dos insetos-pragas de produtos armazenados, a primeira pesquisa expressiva só foi publicada no início dos anos 1980, onde foram realizados estudos prévios sobre a toxicidade do ozônio (45 ppm) para larvas, pupas e adultos de *T. castaneum* (FARONI e SOUSA, 2010).

O processo de fumigação de grãos com ozônio apresenta duas fases distintas, sendo: a primeira fase caracterizada pela ocorrência de uma rápida degradação do ozônio e pela movimentação lenta na massa de grãos e, na segunda fase, o ozônio flui pelo meio poroso com pouca degradação, pois neste momento os locais responsáveis pela sua degradação ficam saturados do gás, e a taxa de saturação depende da velocidade ou do fluxo de injeção do ozônio no meio (STRAIT, 1998; KELLS et al., 2001).

No setor de armazenamento, a tecnologia de aplicação do ozônio tem sido destaque nos últimos anos, sendo apontada nos principais periódicos e congressos nacionais e internacionais da área como uma das principais alternativas para a proteção de grãos armazenados, por ser uma tecnologia economicamente eficaz e ambientalmente correta (ALENCAR et al., 2012; ALENCAR et al., 2013; HELENO et al., 2014, PIMENTEL et al., 2016). Porém, segundo McDonough et al. (2011), a aplicação e uso bem-sucedido da tecnologia de ozônio para o controle de insetos em grãos armazenados requer concentração suficiente de ozônio e um período de tempo apropriado para se obter resultados satisfatórios.

A exemplo dos modelos de Clark et al. (2002), desenvolvidos para inativação de microrganismos de sistema de tratamento de água com ozônio, McDonough et al. (2011) propuseram modelos de CT (produtos das concentrações de ozônio

multiplicadas pela exposição tempos necessários para atingir um resultado desejado) para tratamento de insetos com ozônio, sendo estes valores de CT calculados para tratamentos de ozônio necessários para atingir 100% de mortalidade dos insetos. Com base no modelo proposto, compilou-se os resultados CT para 100% e demais mortalidades derivadas de resultados experimentais publicados anteriormente com os insetos do gênero *Sitophilus*, que usaram diferentes concentrações de ozônio e tempos de tratamento (Tabela 1).

Tabela 1 — Resultado de CT (concentração de ozônio em ppm x tempo de exposição ao ozônio em minutos) necessário para atingir mortalidade de 100% dos insetos do gênero *Sitophilus*

Insetos	Concentração de Ozônio		Período (h)	Mortalidade (%)	CT (ppm x min)	Referência
	ppm	(g.m ⁻³) ou mg/L				
<i>S. zeamais</i>	15	0,032	288	100,00	259.200	Zhanggui et al. (2003)
	25	0,054	120	99,90	180.000	Kells et al. (2001)
	50	0,107	72	100,00	216.000	Kells et al. (2001)
	50	0,107	24	95,00	72.000	Rozado et al. (2008)
	100	0,214	1	12,20	6.000	McDonough et al. (2011)
	120	0,257	28	100,00	201.600	Zhanggui et al. (2003)
	500	1,071	1	63,80	30.000	McDonough et al. (2011)
	1800	3,852	0,5	72,20	54.000	McDonough et al. (2011)
	1800	3,852	1	93,30	108.000	McDonough et al. (2011)
	1800	3,852	1,5	97,70	162.000	McDonough et al. (2011)
<i>S. oryzae</i>	1800	3,852	2	100,00	216.000	McDonough et al. (2011)
	1800	3,852	1	100,00	108.000	McDonough et al. (2011)

Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo McDonough et al. (2011), os insetos adultos de *S. oryzae* são mais sensíveis a altas concentrações de ozônio e seria mais fácil de fazer o controle deles do que de *S. zeamais*. Na mesma concentração de ozônio (1800 ppm), foi necessária 1 hora de exposição ao ozônio para obter 100% de mortalidade de *S. oryzae*, enquanto para o *S. zeamais* foram necessárias 2 horas (120 min). Kells et al. (2001) alcançaram 100% de mortalidade de adulto *S. zeamais* com um CT = 216.000 ppmxmin, sendo esse valor semelhante ao encontrado por McDonough et al. (2011). Sousa et al. (2006) observaram 100% mortalidade de *S. zeamais* com um tempo de tratamento de 48 h utilizando 50 ppm de ozônio, e Zhanggui et al. (2003) relataram resultados semelhantes com um tratamento de 28 horas utilizando uma concentração

de 120 ppm. O valor de CT para os resultados de Sousa et al. (2006) e Zhanggui et al. (2003) foi de 144.000 ppm×min e 201.600 ppm×min, respectivamente.

Rozado et al. (2008) avaliaram a suscetibilidade de adultos de *S. zeamais* e a qualidade fisiológica de grãos de milho submetidos ao tratamento com ozônio (na concentração de 50 ppm) em diferentes pontos ao longo da camada de grãos (similar ao modelo de armazenagem a granel) e observaram que a eficiência no controle é influenciada pelo período de exposição e pela distribuição do inseto na massa de grãos. Com objetivo semelhante, Hansen et al. (2013) ao testar a ação de controle do ozônio sobre três espécies de insetos do gênero *Sitophilus* observaram que, para obter o controle total de todos os estágios destes insetos, foi necessário ozonizar com 135 ppm durante 8 dias (CT= 1.555.200 ppm×min). Desta forma, os autores concluíram também que são necessárias doses mais elevadas e/ou tempo de tratamento mais longos para erradicar todas as fases destes insetos.

Uma maior eficácia foi observada em tratamentos em que os insetos adultos de *Sitophilus granarius* foram diretamente expostos ao ozônio, em comparação com os tratamentos onde os insetos foram ozonizados juntamente com os grãos (LEMIC et al., 2019). Hansen et al. (2012) relataram 100% de mortalidade de três espécies de insetos do gênero *Sitophilus* (adultos) expostos ao ozônio na concentração de 35 ppm e ao longo de 5 dias (CT= 252.000 ppm×min). No caso do tratamento dos insetos junto com a massa de milho, a taxa de mortalidade de 100% foi obtida quando a ozonização ocorreu na concentração de 135 ppm e o tempo de exposição foi de 8 dias (CT= 1.555.200 ppm×min).

Além da eficiência na mortalidade dos insetos de grãos armazenados, o gás ozônio interfere na caminhada e na velocidade de caminhar dos insetos na massa de grãos (SOUSA et al., 2012; LEMIC et al., 2019). Esses autores concluíram que há impactos do ozônio na resposta de caminhada e na velocidade dos insetos tratados. Lemic et al. (2019) observaram os seguintes efeitos aos adultos de *S. granarius* ozonizados: diminuição em atividade de caminhada dos insetos logo após a ozonização, aumento da atividade após alguns dias e diminuição na atividade de caminhada cerca de dez dias após a ozonização.

A capacidade da ozonização em reduzir a atividade de caminhada e a velocidade dos insetos tratados é uma característica positiva para o controle de pragas em ambiente de armazenamento, reduzindo assim a possibilidade dos insetos escaparem das câmaras de tratamento. Portanto, os fatores tempo de exposição ao ozônio, concentração do ozônio, tipo de ozonização (diretamente sobre os insetos ou

em insetos infestando os grãos), temperatura e período de avaliação dos insetos após a ozonização, interferem no resultado de letalidade do gás aos insetos (HANSEN et al., 2012; SOUSA et al., 2012; LEMIC et al., 2019).

A utilização do ozônio como fumigante apresenta várias vantagens, das quais: ausência de resistência cruzada com a fosfina, único fumigante utilizado pelo setor de armazenamento no Brasil, sendo este último fato de grande importância prática para a elaboração de estratégias para o manejo adequado dos insetos e da resistência à fosfina. Além disso, o uso alternado do ozônio com a fosfina ou em mosaico, como uma das principais estratégias do manejo de resistência, pode viabilizar a viabilidade de ambos a longo prazo. Outra vantagem da utilização do ozônio é decorrente de sua alta toxicidade aos insetos em temperatura comuns em regiões de clima tropical e, nessas condições de temperatura, o ozônio não altera a qualidade dos grãos (FARONI e SOUSA, 2010).

Mendez et al. (2003) verificaram que o tratamento fitossanitário com ozônio, pelo período de exposição de 30 dias, utilizando uma concentração de 50 ppm (CT = 2.160.000 ppm×min) não afetou as propriedades químicas dos grãos de milho e tão pouco suas características de processamento. O valor de CT obtido no tratamento foi bem acima ao da exposição mais alta (324.000 ppm×min) necessária para proporcionar 100% de mortalidade dos insetos, obtido por McDonough et al. (2011). Estes resultados indicam que os tratamentos de ozônio necessários para atingir 100% de mortalidade para todas as fases da vida dos insetos estão abaixo das concentrações e tempos de exposição que afetariam as propriedades dos grãos que são importantes para os consumidores finais e para indústria de processamento.

McDonough et al. (2011) destacam ainda que os resultados obtidos em seu trabalho indicam que o aumento da concentração de ozônio reduziu o tempo necessários para atingir 100% de mortalidade do inseto, porém, a geração desses níveis de ozônio em uma instalação de armazenamento apresenta-se como um grande desafio. De acordo com esses autores, usando ozônio em conjunto com atmosferas modificadas, pode-se ter um aumento eficaz do tratamento fitossanitário.

Outra vantagem do uso do ozônio é que ele se decompõe em oxigênio atmosférico, eliminando a necessidade para armazenar ou descartar produtos químicos perigosos (MCDONOUGH et al., 2011). Desta forma, o ozônio não deixa resíduo nos grãos, pois o seu produto de degradação é o oxigênio (O₂), componente natural da atmosfera. De acordo com Santos (2008), durante o processo de

ozonização de milho com teor de água de 12,8% e temperatura de 25°C, foi observado o tempo de meia vida do O₃ de 5,57 minutos.

O gás ozônio pode ser gerado no próprio local de uso, descartando gastos com transporte, manipulação e armazenamento de inseticidas. É aplicado em fluxo contínuo, o que garante a manutenção da concentração do gás durante todo o período de ozonização. Se comparado à fumigação com fosfina, pode ser um tratamento muito mais rápido. O gás ozônio possui alto potencial oxidativo e, por ser gerado no local de aplicação, reduz problemas com embalagens e contaminação de usuários (PIMENTEL et al., 2018).

Pereira et al. (2008) avaliaram a viabilidade econômica do ozônio na concentração de 50 ppm com tempo de exposição de 168 horas consecutivas à 35 °C como agente fumigante em grãos de milho, em que foi observado os indicadores de rentabilidade na aplicação do ozônio quando os grãos foram armazenados nos períodos de 90 e 135 dias após a realização desse processo de ozonização.

A tecnologia de utilização do ozônio nas Unidades Armazenadoras também apresenta limitações, sendo elas: necessidade de mão-de-obra treinada; adequação das unidades armazenadoras; custos iniciais para a instalação da tecnologia; o ozônio só poderá ser usado onde existir energia elétrica e, por ser o agente oxidante mais poderoso, também é potencialmente o mais perigoso (FARONI e SOUSA, 2010; LEMIC et al., 2019).

Durante a aplicação do ozônio deve-se ter especial cuidado quanto ao local em que o gás será injetado, pois o ozônio em altas concentrações é um gás tóxico ao homem e aos animais, sendo o sistema respiratório o primeiro alvo (HOOF, 1982; GÜZEL-SEYDIM et al., 2004).

A utilização de um sistema seguro é de fundamental importância na aplicação do ozônio na indústria de alimentos, assim como nos armazéns de grãos. Nestes ambientes, é necessário a instalação no local de ozonização de um detector com célula ajustada para medição da concentração do gás na faixa entre 0,01 e 100 ppm e de um sistema de ventilação (CHERNICHARO et al., 2001; KHADRE et al., 2001). Além disso, é importante que, ao final do sistema de ozonização, exista um destruidor térmico ou catalítico de ozônio que deve ser instalado com a finalidade de acelerar a decomposição do ozônio residual que ainda possa haver (DAMEZ et al., 1991; KHADRE et al., 2001).

Vale ressaltar que essa toxicidade do ozônio desaparece quando este se decompõe em oxigênio. No Brasil, a exposição ao gás ozônio segue a determinação

do Ministério do Trabalho e Emprego por meio da Norma Regulamentadora N° 15 (NR 15), aprovada pela Portaria n° 3.214/78, que disponibiliza os limites de tolerância ao ozônio, em atividades/operações que o trabalhador poderá ficar exposto. O limite do gás para trabalhos de até 48 horas semanais é de 0,08 ppm ou 0,16 mg/m³ (BRASIL, 1978).

4.6 Sacarias de polipropileno

No Brasil, os sacos trançados de polímeros termoplásticos e componentes, inclusive as sacarias de polipropileno, são classificados conforme Norma ABNT NBR 10197:2016 (ABNT, 2016).

O polipropileno é um dos mais recentes termoplásticos, desenvolvido por volta de 1954, através da polimerização do monômero de propileno ou propeno, à baixa pressão e temperatura. Ele é branco opaco, com cristalinidade em torno de 60 a 70%. Possui equilíbrio entre resistência ao impacto e à rigidez e resistência à distorção em altas temperaturas. Suas propriedades mecânicas dependem do peso molecular e da sua distribuição, da estereorregularidade da cadeia e das condições de processo. Possui excelente resistência ao ataque químico por ácidos, álcalis e sais. Mesmo em elevadas temperaturas reage com o cloro e o permanganato de potássio; sofre oxidação facilmente, se exposto ao ar e às altas temperaturas; não é solúvel em hidrocarbonetos simples e hidrocarbonetos clorados à temperatura ambiente, mas é bastante solúvel a temperaturas superiores à 80 °C; não é tóxico e é um sólido combustível, porém, gera gases irritantes na queima. Em termos ambientais, o material de polipropileno tem bastante aceitação, pois é reciclável (MILAGRES, 2004).

O setor de embalagens é um grande segmento no consumo de polipropileno; não é vulnerável aos períodos de recessão, mas é bastante influenciado pela legislação sobre reciclagem. Dependendo das propriedades necessárias para uma embalagem específica, o polipropileno pode competir com outros termoplásticos, como polietileno, PVC ou poliestireno (MILAGRES, 2004).

5. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Pré-Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas e no Laboratório de Análise de Alimentos, localizados na Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAV), da Universidade de Brasília (UnB), Brasília, Distrito Federal.

5.1 Obtenção do gás ozônio

O gás ozônio foi obtido por meio de um gerador de ozônio (Modelo O&L 5.0 RM) baseado no método de Descarga por Barreira Dielétrica (DBD) – efeito corona. Este tipo de descarga é produzido ao aplicar uma alta tensão entre dois eletrodos paralelos, tendo entre eles um dielétrico (vidro) e um espaço livre por onde flui o ar seco. Neste espaço livre, é produzida uma descarga em forma de filamentos, em que são gerados elétrons com energia suficiente para produzir a quebra das moléculas de oxigênio, formando o gás ozônio (O_3). No processo de geração do ozônio foi utilizado como insumo oxigênio (O_2) com grau de pureza de aproximadamente 90%, isento de umidade, obtido de concentrador de oxigênio acoplado ao gerador de ozônio.

A produção de ozônio foi regulada em função da frequência de oscilação da descarga elétrica e do fluxo de oxigênio, sendo ajustados por um potenciômetro e um rotâmetro, respectivamente, no próprio gerador de ozônio para gerar uma concentração de entrada de 1800 ppm e uma vazão de 4 L min^{-1} .

5.2 Estrutura de ozonização

A estrutura de ozonização em laboratório é composta pelo ozonizador (Modelo O&L 5.0 RM), câmara de ozonização (tambor de 50 litros com tampa em rosca, vedações e contendo adaptações permitindo a entrada e saída do gás de forma canalizada, reduzindo o risco de vazamento de gás e/ou contato com meio externo), degradador de ozônio e mangueiras para conectar todos os componentes do processo de ozonização, conforme Figura 1.

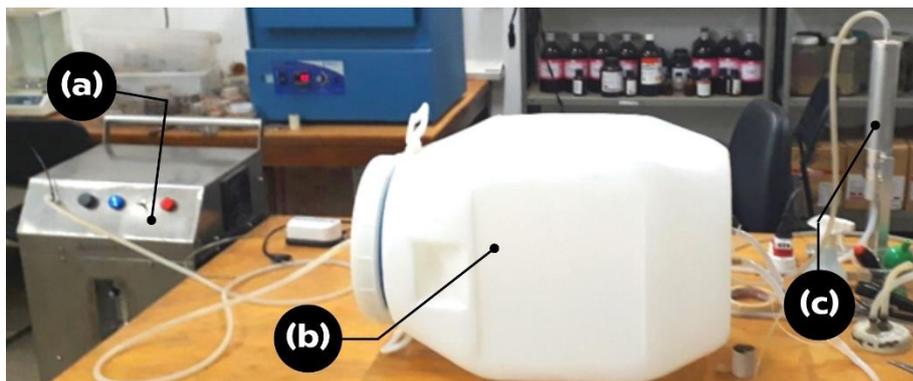


Figura 1 — Estrutura de ozonização montada no Laboratório de Pré-Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas, UnB. Da esquerda para direita: (a) ozonizador; (b) câmara de ozonização; e (c) degradador de ozônio.

Fonte: Acervo Pessoal.

5.3 Quantificação da concentração de ozônio

A concentração de ozônio foi quantificada por titulação indireta, por meio do método iodométrico, descrito por Clesceri et al. (2000), o qual consiste no borbulhamento do ozônio em 50 mL de solução de iodeto de potássio (KI) a 2% com produção de iodo (I_2), por cerca de 10 segundos. 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 ($Na_2S_2O_3$) 0,01 N e com uso de solução de amido 1% como indicador.

5.4 Obtenção dos insetos e do milho

Os insetos do gênero *Sitophilus* foram obtidos de criação própria em grãos de milho e mantidos dentro de potes de plástico de 6 litros e tampados com tecido de organza para evitar fugas. Para o experimento utilizou-se insetos adultos com idade máxima de 45 dias. Os grãos de milho comercial, classificados como Tipo 1, foram adquiridos no mercado local e armazenados em temperatura de 25 °C até a realização do experimento.

Em razão das semelhanças taxonômicas entre as espécies do gênero *Sitophilus* e, conseqüentemente, da necessidade do apoio de algum taxonomista para realizar a separação das espécies criadas em laboratório, optou-se por utilizar os insetos sem distinguir as espécies neste trabalho.

5.4.1 Ensaio preliminar para estimativa da mortalidade dos insetos

Características do experimento realizado com o propósito de determinar a mortalidade dos insetos, foi realizado um ensaio preliminar com 10 insetos do gênero *Sitophilus*, expondo-os à atmosfera modificada com gás ozônio, sem a presença da massa de grãos de milho. O ozonizador foi regulado conforme manual do fabricante, com uma concentração de 1800 ppm (4 mg L^{-1}) e com vazão de 4 L min^{-1} . A avaliação da mortalidade dos insetos foi feita 24 e 48 h após a exposição dos insetos à ozonização nos tempos de 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60 e 80 min. A mortalidade dos insetos foi corrigida conforme a descrição feita no item 5.6, para representação da mortalidade em porcentagem (%).

5.5 Obtenção do tempo letal de exposição ao ozônio em aplicação direta sobre os adultos de *Sitophilus* sp.

A influência do tempo de exposição (0, 10, 20, 40, 50, 60, 80, 120 min) na mortalidade dos insetos do gênero *Sitophilus* foi avaliada na concentração de 1800 ppm de ozônio aplicado em uma vazão de 4 L min^{-1} , com 3 repetições para cada tempo de exposição, sem a presença de grãos de milho. A avaliação da mortalidade de insetos foi realizada 1, 2, 9 e 15 dias após o final de cada tratamento.

Para obter dados da TL_{50} , TL_{90} e TL_{95} foram avaliados a mortalidade dos insetos adultos do gênero *Sitophilus* colocados em sacos de organza ($12,5 \times 16 \text{ cm}$) na quantidade de 30 insetos e expostos nas condições já descritas. Posteriormente, avaliou-se a mortalidade dos insetos. Os dados da curva tempo de exposição versus mortalidade após exposição ao ozônio foram submetidos à análise de Probit por meio do Programa estatístico R (R versão 4.2.1, 2022).

5.6 Obtenção do tempo letal de exposição ao ozônio de adultos de *Sitophilus* sp. infestando a massa de grãos de milho ensacado

A influência do tempo de exposição (0, 10, 20, 40, 50, 60, 80, 120, 180 e 240 min) na mortalidade dos insetos do gênero *Sitophilus* infestando a massa de grãos de milho ensacado foi avaliada na concentração de 1800 ppm de ozônio sob uma vazão de 4 L min^{-1} , com 3 repetições para cada tempo de exposição. A avaliação da mortalidade dos insetos foi realizada 1, 2, 9 e 15 dias após o final de cada tratamento.

Para obter dados da TL₅₀, TL₉₀ e TL₉₅ foram avaliados a mortalidade dos adultos dos insetos do gênero *Sitophilus* inseridos em sacos de organza (12,5 x 16 cm) na quantidade de 30 insetos e expostos nas condições já descritas. Posteriormente, avaliou-se a mortalidade dos insetos dentro da massa de grãos de milho ensacados.

Utilizou-se sacos de polipropileno contendo 5 kg de milho e 30 insetos adultos, os quais foram submetidos à mesma atmosfera modificada (ozônio na concentração 1800 ppm = 3,852 mg L⁻¹ e vazão de 4 L min⁻¹), tempos de exposição (0, 10, 20, 40, 50, 60, 80, 120, 180 e 240 min) e em 4 diferentes tempos de avaliação (1, 2, 9 e 15 dias após cada tratamento). Após obter o tempo letal a 50, 90 e 95% dos insetos para uma atmosfera modificada com ozônio, realizou-se novos testes com a massa de grãos ensacados, com intuito de avaliar possíveis alterações na qualidade físico-química e fisiológica dos grãos. Os dados da curva tempo de exposição x mortalidade após exposição ao ozônio foram submetidos à análise de Probit por meio do Programa estatístico R (R versão 4.2.1, 2022).

5.7 Mortalidade dos insetos

Os dados de mortalidade (avaliação em 1, 2, 9 e 15 dias após a ozonização) em função dos tempos de exposição (0, 10, 20, 40, 50, 60, 80, 120, 180 e 240 min) foram corrigidos para a mortalidade média ocorrida nas testemunhas através da fórmula de Schenneider-Orelli (PÜNTENER, 1981):

$$M_{\text{cor}} (\%) = \frac{(M_{\text{trat}} - M_{\text{test}})}{(100 - M_{\text{test}})} * 100$$

Em que:

M_{cor}: mortalidade no tratamento corrigida pelo controle (%); M_{trat}: mortalidade no tratamento (%); M_{test}: mortalidade na testemunha (%).

5.8 Análise da qualidade física, química e fisiológica do milho ensacado

As avaliações de qualidade do milho submetidos ou não ao gás ozônio foram realizadas no laboratório a partir de amostras do produto de cada tratamento.

Na determinação dos teores de carboidratos, cinzas, lipídeos, proteína e teor de água do milho, foram moídos 30 g de milho de cada tratamento, submetidos às análises citadas anteriormente, com exceção dos teores de água e de cinzas, uma vez que essas características foram analisadas a partir dos grãos inteiros.

5.8.1 Teor de água

O teor de água foi determinado pelo método-padrão de estufa, à temperatura $103 \pm 1^\circ\text{C}$, durante 72 horas, conforme recomendações da ASAE (2000), método S352.2, com 3 repetições. Foram utilizados por repetição 2,0 g de grãos inteiros previamente pesados e acondicionados em cadinhos de porcelana. O teor de água do milho foi expresso em base úmida. As pesagens foram realizadas em balança analítica com precisão de 0,01 g.

5.8.2 Teor de proteínas

Para a quantificação do teor de proteínas, foi utilizado o método de Kjeldahl, conforme a recomendação AOAC (2005), de método 991.22, com três repetições. Utilizou-se 0,3 g de grãos moídos acondicionados em tubos de vidro para destilação de nitrogênio. Adicionou-se 1,0 g de mistura catalítica composta por sulfato de potássio e dióxido de titânio e 3,5 mL de ácido sulfúrico. Procedeu-se a digestão da amostra por 4,0 h a 450°C . Posteriormente, efetuou-se a destilação em destilador de nitrogênio modelo TECNAL TE0363 e, em seguida, a titulação do destilado com HCl 0,1 N. Em função do volume de HCl gasto na titulação, calculou-se o teor de proteínas, adotando-se fator de proteínas igual a 6,25.

5.8.3 Teor de lipídeos

O teor de lipídeos foi estabelecido de acordo com o método Am 5-04 da AOCS (2005), usando-se o extrator de gordura Modelo ANKOM XT15 Extractor (Ankom Technology, Nova Iorque, Estados Unidos), sendo o éter de petróleo ($30-70^\circ\text{C}$, P.A.–A.C.S) o solvente, com três repetições. Para cada repetição, pesou-se 1,5 g de grãos moídos acondicionados em bolsa de filtro Modelo ANKOM XT4 para extração de lipídeos com porosidade de 2-3 μm . Em seguida, efetuou-se a desidratação das amostras em estufa com circulação forçada de ar a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ por 3 h. Decorrido esse

período, as amostras foram submetidas a extração de lipídeos por 1,0 h. Depois da extração de lipídeos, o solvente residual das amostras foi evaporado em estufa a 103 ± 2 °C por 3 h. Então, efetuou-se a pesagem das amostras.

5.8.4 Teor de cinzas

O método adotado para quantificar o teor de cinzas foi o 945.46 da AOAC (2005), a partir das amostras utilizadas na determinação do teor de água, com três repetições. A calcinação ocorreu em mufla a 600 °C por 4,0 h.

5.8.5 Teor de carboidratos

O teor de carboidratos totais presente nas amostras foi obtido por diferença, ao subtrair de 100 os valores obtidos para os teores de água, proteínas, lipídeos e cinzas, segundo o método 986.25 da AOAC (2005).

5.8.6 Massa específica aparente

A massa específica aparente do milho foi determinada em balança específica para determinação de peso hectolítrico, seguindo metodologia descrita pela Regra para Análise de Sementes (RAS), sendo os resultados expressos em kg m^{-3} , obtidos das médias de triplicatas (BRASIL, 2009).

5.8.7 Condutividade elétrica

A determinação da condutividade elétrica da solução contendo grãos de milho foi realizada utilizando-se o “sistema de copo”, conforme Vieira (1994). Para cada amostra, 50 grãos foram pesados em uma balança com resolução de 0,01 g e colocados em copos plásticos de 200 mL, aos quais foram adicionados 75 mL de água deionizada e acondicionados em câmara climática do tipo B.O.D., à temperatura de 25 °C, por 24 horas. Após este período, os copos foram retirados da câmara e as leituras realizadas em medidor de condutividade elétrica da marca Tecnopeon, modelo CA-150. O valor de condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$) fornecido pelo aparelho foi então dividido pela massa (g) dos 50 grãos, obtendo-se o valor de condutividade elétrica expresso em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$, com base na massa seca da amostra.

5.8.8 Potencial de germinação do milho

O potencial de germinação do milho foi determinado pelo teste-padrão de germinação, utilizando-se como substrato papel germitest umedecido com água deionizada. Os testes foram realizados em três repetições de 50 grãos e os rolos contendo os grãos acondicionados em germinador a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, sendo a primeira e segunda avaliação realizadas após 4 e 7 dias, respectivamente, segundo critérios descritos nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em percentagem de plântulas normais.

5.9 Delineamento experimental

O experimento foi realizado no Delineamento Inteiramente Casualizado, na primeira etapa avaliou-se os efeitos da ozonização diretamente nos adultos de *Sitophilus* sp. utilizando-se 8 tratamentos (0, 10, 20, 40, 50, 60, 80 e 120 min de exposição sob uma concentração de entrada de ozônio de 1800 ppm, vazão de 4 L min^{-1}) e com três repetições. Na segunda etapa a avaliação dos efeitos da ozonização foi realizada com os adultos de *Sitophilus* sp. na massa de grãos de milho ensacado, e na avaliação de possíveis alterações na qualidade física, química e fisiológica dos grãos de milho ensacado, para isso utilizou-se 10 tratamentos (0, 10, 20, 40, 50, 60, 80, 120, 180 e 240 min de exposição a concentração de entrada de ozônio de 1800 ppm com vazão de 4 L min^{-1}) e com três repetições.

A mortalidade dos insetos nas duas etapas foi avaliada após os tratamentos em 4 diferentes tempos (1, 2, 9 e 15 dias). Após avaliar os dados de mortalidade dos insetos, os dados da curva tempo de exposição versus mortalidade foram submetidos à análise regressão, por meio do software SigmaPlot v.10, e de Probit por meio do software R. Posteriormente, se determinou o Tempo Letal (TL) de 50% da população de insetos, o TL 90% e o TL 95% por meio do Programa estatístico R (R versão 4.2.1, 2022). Para avaliação de possíveis alterações na qualidade física, química e fisiológica dos grãos de milho ensacado submetidos à ozonização, foram realizados análise de variância a 5% de probabilidade, comparando-se as médias pelo teste de Tukey utilizando o Programa estatístico R (R versão 4.2.1, 2022).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Ensaio Preliminar da ozonização na mortalidade dos insetos

Na avaliação dos resultados preliminares obteve-se diferença significativa ($p < 0,05$) em decorrência da interação da aplicação do gás ozônio na concentração de 1800 ppm com diferentes tempos de exposição direta em adultos de *Sitophilus* sp. na avaliação de 1 e 2 dias após a ozonização. Encontra-se na Figura 4 e na Figura 5 a curva referente à mortalidade corrigida (%) dos insetos, assim como a equação de regressão ajustada e o coeficiente de determinação (R^2).

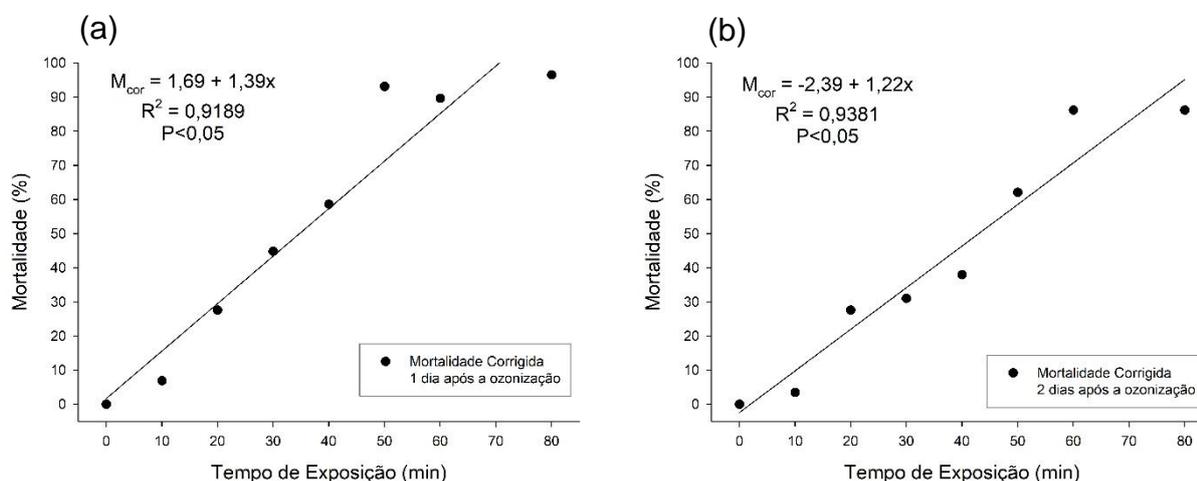


Figura 2 — Mortalidade corrigida de *Sitophilus* sp. 1 dia após o processo de ozonização (a) e 2 dias após o processo de ozonização (b) na concentração de 1800 ppm e vazão de 4 L min⁻¹ em diferentes tempos de exposição.

Nota-se na Figura 2 (a) e (b) a influência do tempo de exposição ao gás ozônio na suscetibilidade dos insetos. Ao expor os adultos de *Sitophilus* sp. de forma direta ao ozônio, observou-se uma maior taxa de mortalidade desses insetos em função do tempo de exposição, em que, ao aumentar o tempo de exposição ao ozônio aumentou-se a mortalidade dos insetos. Na avaliação de 1 dia após a ozonização, a M_{cor} chegou a 29,49% quando se utilizou um tempo de exposição de 20 min. Após 2 dias da ozonização o tempo de exposição de 20 min correspondeu a 22,01% de M_{cor} . No tempo de exposição de 60 min o valor de mortalidade encontrado foi de 85,09 e 70,81, para a avaliação de 1 e 2 dias após a ozonização, respectivamente. Para a concentração de ozônio de 1800 ppm com tempo de exposição de 80 min, obteve-se

uma mortalidade de 97% dos adultos de *Sitophilus* sp., após 1 dia (Figura 2a), e uma mortalidade de 86% 2 dias após a ozonização (Figura 2b).

Encontra-se na Tabela 2 o tempo letal do ozônio para as populações de *Sitophilus* sp. em milho em ensaio preliminar após 24 e 48 horas.

Tabela 2 — Tempo letal do ozônio para as populações de *Sitophilus* sp. em ensaio preliminar

Mortalidade Corrigida	TL ₅₀	TL ₉₀	TL ₉₅
Após 24 horas	29,4	62,64	81,01
Após 48 horas	38,36	96,8	132,62

Obteve-se um CT = 144.000 ppm×min (concentração do ozônio de 1800 x 80 min de exposição) para o controle de 97% dos insetos adultos de *Sitophilus* sp. após 1 dia, e de 86% após 48 h. Esses são resultados que corroboram com os dados encontrados por McDonough et al. (2011), onde o CT foi de 162.000 ppm×min (concentração de ozônio de 1800 ppm x 90 min de exposição) para 97,7% de mortalidade dos insetos adultos de *S. zeamais*. No mesmo trabalho, McDonough et al. (2011), utilizando também 1800 ppm e tempo de exposição de 30 min (CT = 54.000 ppm×min) obteve uma mortalidade de 72,2% dos insetos adultos de *S. zeamais*, e, nos resultados preliminares do presente estudo, uma CT = 54.000 ppm×min, foi responsável por 46,67% da mortalidade dos insetos adultos.

6.2 Avaliação da Ozonização na Mortalidade direta dos adultos de *Sitophilus* sp.

Observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) na mortalidade (%) dos adultos de *Sitophilus* sp. quando se utilizou o gás ozônio na concentração de 1800 ppm por até 120 min, 1, 2, 9 e 15 dias após a ozonização (Figura 3).

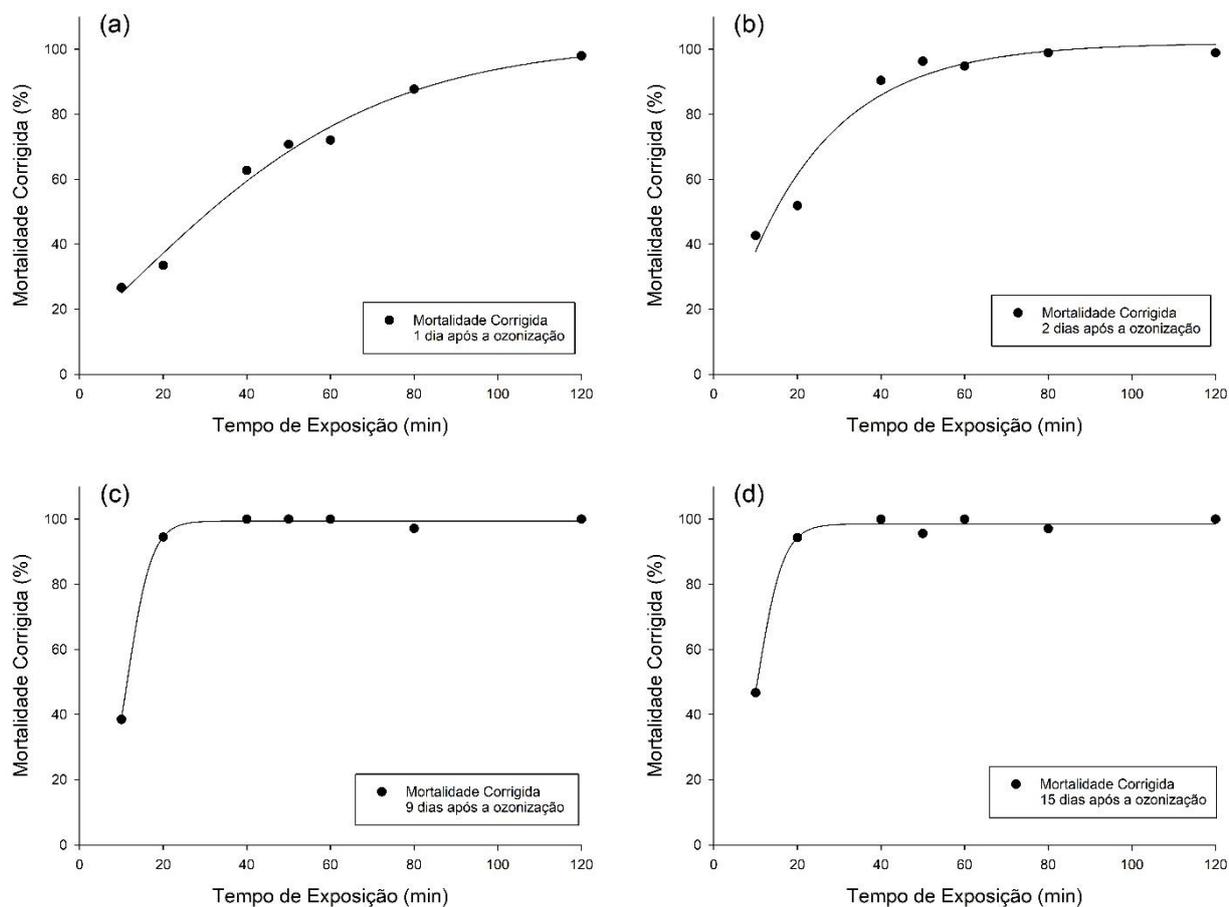


Figura 3 — Mortalidade de *Sitophilus sp.* em função do tempo de exposição direta dos adultos ao ozônio na concentração de 1800 ppm após (a) 1 dia, (b) 2 dias, (c) 9 dias e (d) 15 dias.

As equações das regressões ajustadas e os respectivos coeficientes de determinação referentes à mortalidade em função da ozonização direta dos adultos de *Sitophilus sp.* na concentração de 1800 ppm após 1, 2, 9 e 15 dias, encontram-se descritos na Tabela 3.

Tabela 3 — Equações que descrevem a relação entre a mortalidade e o tempo de exposição de adultos de *Sitophilus sp.* quando submetidos à ozonização direta e avaliados aos 1, 2, 9 e 15 dias

Tempo de avaliação da mortalidade de <i>Sitophilus sp.</i> submetido à ozonização (1800 ppm)	Equação de regressão ajustada	R ²	Valor de P
1 dia	$y = -55,12 + \frac{157,34}{1 + e^{-\left(\frac{x-8,86}{31,62}\right)}}$	0,9879	0,0022
2 dias	$y = 101,93 (1 - e^{0,05x})$	0,9527	0,0002
9 dias	$y = \frac{99,43}{1 + e^{-\left(\frac{x-11,34}{2,93}\right)}}$	0,9979	0,0001
15 dias	$y = \frac{98,53}{1 + e^{-\left(\frac{x-10,32}{3,11}\right)}}$	0,9924	0,0001

Em geral, a ozonização direta aumentou a mortalidade de *Sitophilus sp.* em todos os dias de avaliação após o processo de ozonização dos insetos. Porém, essa mortalidade foi mais intensificada aos 9 e 15 dias após a ozonização, pois um tempo de ozonização de até 20 min foi capaz de proporcionar 100% da mortalidade dos insetos. Na determinação da mortalidade 1 dia após a ozonização o valor máximo atingido foi de 97,98%, que foi alcançado somente quando se utilizou um tempo de exposição de 120 min (Figura 3a). No segundo dia de avaliação a mortalidade foi de 90,39% ao utilizar 40 min de exposição ao gás ozônio, sendo que a mortalidade aumentou para 96,31% ao se utilizar 50 min de exposição ao gás ozônio (Figura 3b). A mortalidade 9 e 15 após o processo de ozonização direta dos insetos, apresentou um efeito posterior prolongado da ozonização, sendo que um tempo de até 20 min alcançou 94,52 e 94,31 para os dias 9 e 15, respectivamente (Figura 3c e Figura 3d).

Os resultados do presente estudo permitem constatar que o processo de ozonização direta em *Sitophilus sp.* apresentou diferença significativa na mortalidade quando se utiliza ozônio na concentração de 1800 ppm por até 120 min. Sendo que, quanto maior o tempo de avaliação dessa mortalidade após o processo de ozonização, mais se intensifica a porcentagem de mortalidade, principalmente aos 9 e 15 dias após a ozonização. Segundo Twiari et al. (2010) e Hoback e Stanley (2001) a atividade inseticida mais provável do ozônio está envolvida com o sistema respiratório do inseto. Já segundo Cao et al. (2019) o ozônio possui ação deletéria

atribuída aos efeitos da hipoxia — quando o oxigênio está abaixo de 21% —, o que causa mudanças na produção de energia, e alteração nos níveis de enzimas envolvidas no metabolismo respiratório. Neste caso, um maior tempo de exposição apresenta maior efeito impactante na respiração dos insetos, resultando em uma maior mortalidade (ROZADO et al., 2008; MCDONOUGH et al., 2011; SOUZA et al., 2018a).

Vale ressaltar que diversos estudos apontam que insetos de produtos armazenados possuem potencial genético para desenvolver resistência a gases modificadores de atmosfera do ambiente armazenado, porém, ainda não existem estudos que relatam populações de *Sitophilus* sp. resistentes ao ozônio (SOUSA et al., 2016; CAO et al., 2019).

Ao analisar o Tempo Letal (TL) para 50% dos insetos, o TL 90% e o TL 95%, obteve-se diferença significativa ($p < 0,05$). Observa-se que um dia após a exposição que o TL₅₀, TL₉₀ e TL₉₅ foram superiores aos demais dias, sendo necessário 178,98 min para se obter 95% de mortalidade dos adultos de *Sitophilus* sp., ou seja, próximo ao tempo limite de 180 min com ozônio na concentração de 1800 ppm. Ressalta-se que em todos os dias de avaliação da mortalidade (1, 2, 9 e 15), após o processo de ozonização, o tempo de 180 min foi suficiente para atingir 100% de mortalidade dos adultos de *Sitophilus* sp. (Figura 3). O tempo letal necessário para controlar 95% da população de adultos de *Sitophilus* sp. diminuiu conforme se aumentou o intervalo de avaliação da mortalidade, sendo que no primeiro dia de avaliação o tempo foi próximo ao máximo realizado no experimento, com 178,98 min, diminuindo para 29,82 min no último dia de avaliação, aos 15 dias após a ozonização (Tabela 4). Portanto, a avaliação em períodos prolongados não necessitam de muito tempo de exposição, possivelmente, devido a algum efeito retardante do ozônio no organismo do inseto.

Tabela 4 — Tempo letal para matar 50 (TL50), 90 (TL90) e 95% (TL95) da população de *Sitophilus* sp. expostos à ozonização direta na concentração de 1800 ppm por até 120 min, com tempo de avaliação em 1, 2, 9 e 15 dias

Tempo de avaliação da mortalidade de <i>Sitophilus</i> sp. submetido à ozonização (1800 ppm)	TL ₅₀	TL ₉₀	TL ₉₅
Após 1 dia	26,12	109,8	178,98
Após 2 dias	14,03	41,47	59,94
Após 9 dias	10,92	20,15	24,81
Após 15 dias	9,73	22,44	29,82

Observa-se na literatura que existem diferenças quanto à sensibilidade ao ozônio a depender da espécie estudada. Por exemplo, McDonough et al. (2011)

utilizaram ozônio na concentração de 1800 ppm, conforme a do presente trabalho, e obtiveram 100% de mortalidade quando se utilizou essa concentração de ozônio por um período de 60 min para *S. oryzae* e *T. castaneum*, porém, nessas mesmas condições de ozonização o *S. zeamais* apresentou uma mortalidade de 93%, além de não ter apresentado uma mortalidade de 100% até 120 min de exposição, o que mostra que há diferenças entre espécies. Em um experimento com *T. castaneum*, Sousa et al. (2008), utilizaram o gás ozônio na concentração de 150 ppm para atingir 95% de mortalidade, sendo necessário tempos entre 23,35 h e 31,98 h. Esses valores podem mudar quando se adiciona material orgânico no meio tais como, grãos de milho, como no caso do experimento de Kells et al. (2001), onde foi necessário 3 dias de exposição ao gás ozônio na concentração de 50 ppm para que se obtivesse 92% de mortalidade dos adultos de *T. castaneum*. Isso decorre devido ao ozônio reagir com o material em que os insetos se encontram, aumentando assim sua taxa de decomposição, diminuindo sua eficiência no controle dos insetos, sendo necessário um tempo maior de exposição para se atingir uma taxa elevada de controle (PEREIRA et al., 2008a; SANTOS et al., 2016; SILVA et al., 2021).

6.3 Avaliação da Ozonização na Mortalidade dos adultos de *Sitophilus* sp. na massa de grãos de milho ensacado

Não houve diferença significativa na avaliação da ozonização dos insetos na massa de grãos de milho ($p > 0,05$), não sendo possível realizar a análise de regressão e análise Probit. Quando se avaliou a mortalidade dos adultos de *Sitophilus* sp. na massa de grãos de milho ensacado submetidos a ozonização por até 240 min foram observados valores negativos, devido a mortalidade ter sido maior nos tratamentos controle, onde não houve tratamento com ozônio.

A mortalidade nos tratamentos com ozônio em alguns casos apresentou valores negativos, em função da mortalidade do tratamento controle ter sido maior que a mortalidade do tratamento com ozônio. Ressalta-se que ao utilizar o gás ozônio na entrada da massa de grãos de milho ensacados, o ozônio pode ter reagido com a material orgânico do meio, os grãos de milho, não atuando diretamente sob os insetos, impossibilitando a observação dos efeitos diretos do ozônio sob os adultos de *Sitophilus* sp. infestando a massa de grãos.

A avaliação do efeito do gás ozônio no controle de *Sitophilus* sp. deveria ser realizada em maiores tempos de exposição, para se alcançar um tempo de saturação

no meio capaz de reagir e atuar diretamente na respiração desses insetos. Por exemplo, Silva et al. (2021), utilizou uma concentração de ozônio de 13 mg L⁻¹ (5850 ppm) em baixa pressão, concentração três vezes maior que a utilizada no presente trabalho, e, para alcançar a mortalidade de *S. zeamais* na massa de grãos de milho pipoca, foi necessário um tempo de 4,75 horas. Brito Júnior et al. (2018) em estudo com grãos de milho contaminados naturalmente no campo, utilizou o gás ozônio na concentração de 2,14 mg L⁻¹, com vazão de 5,8 L min⁻¹ e, para atingir uma redução na contagem de fungos totais, foi necessário um tempo de exposição de 50 h. Esses autores utilizaram uma concentração quase 2 vezes menor que a utilizada neste estudo, além de terem utilizado uma massa de grãos de 2 kg, e observaram que o tempo necessário para se chegar à saturação do gás ozônio foi de 138,56 min. Porém, o tempo necessário para o controle dos fungos na massa de grãos de milho foi muito superior, chegando a um tempo de exposição de 50 h. Esses são resultados que corroboram com a hipótese de que seria necessário tempos maiores de exposição para se alcançar uma maior porcentagem da mortalidade de adultos de *Sitophilus* sp. em grãos de milho ensacados.

Uma outra hipótese que pode ter interferido para uma rápida decomposição do gás ozônio foi o material utilizado como embalagem dos grãos de milho e contendo adultos de *Sitophilus* sp.: sacos de polipropileno (PP), os quais também foram submetidos à ozonização no decorrer do processo. Há estudos que mostram que esse material pode reagir com ozônio, como o de Mural et al. (2017), onde se mostrou que a exposição prolongada de polipropileno (PP) e polietileno (PE) ao ozônio pode resultar em radicais hidroperóxidos, os quais sofrem rearranjo, podendo formar aldeídos, cetonas e ácidos.

Outro fator importante e de interesse para esse tipo de experimento é em relação à pressão de seleção provocada por agentes químicos. Souza et al. (2016) observou que não houve alterações significativas na suscetibilidade de populações de *S. zeamais* submetidas à pressão de seleção com ozônio, mostrando que o risco de resistência a esse gás é baixa e que a variabilidade genética na resposta à toxicidade do ozônio estava ausente. Esses resultados reforçam as observações de baixa variabilidade na suscetibilidade do ozônio em outras populações de insetos pragas de produtos armazenados, principalmente insetos do gênero *Sitophilus* em grãos de milho (ZHANGGUI et al., 2003; SOUZA et al., 2008; SILVA et al., 2021).

6.4 Avaliação da Qualidade Física, Química e Fisiológica de grãos de milho submetidos à ozonização

Ao avaliar a composição centesimal de milho submetido à ozonização na concentração de 1800 ppm em diferentes tempos de exposição, observou-se uma diferença significativa ($p < 0,05$) somente para o teor de cinzas, conforme a Tabela 5. Não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) para o teor de água, carboidratos, lipídios e proteína. O teor de água (b.u) apresentou uma média de 11,8%, o de carboidratos 80,12%, o de lipídios 1,65% e o de proteínas 5,59. Não obstante a diferença significativa para o percentual de cinzas, observou-se um menor valor, de 0,84%, no tratamento controle (0 min de tempo de ozonização), diferindo somente do tratamento de 20 min de exposição, que obteve 1,30%, e também não diferindo dos demais tratamentos.

Tabela 5 — Composição centesimal de milho submetido à ozonização na concentração de 1800 ppm em diferentes tempos de exposição

Tempo de ozonização (min)	Percentual (%)				
	Teor de água (b.u)	Cinzas	Carboidratos	Lipídios	Proteína
0	11,88 ± 0,11 a	0,84 ± 0,03 b	79,80 ± 0,17 a	1,88 ± 0,66 a	5,60 ± 1,26 a
10	11,61 ± 0,25 a	0,95 ± 0,16 ab	79,90 ± 0,31 a	1,50 ± 0,78 a	6,05 ± 0,39 a
20	11,50 ± 0,04 a	1,30 ± 0,28 a	79,90 ± 0,90 a	1,79 ± 0,62 a	5,51 ± 0,52 a
40	11,42 ± 0,09 a	1,10 ± 0,10 ab	79,71 ± 0,78 a	1,83 ± 0,51 a	5,95 ± 1,25 a
50	11,06 ± 0,09 a	1,03 ± 0,11 ab	80,06 ± 0,27 a	1,60 ± 0,34 a	5,66 ± 0,60 a
60	11,55 ± 0,24 a	1,04 ± 0,03 ab	79,89 ± 0,46 a	2,02 ± 0,50 a	5,50 ± 0,80 a
80	11,56 ± 0,26 a	1,05 ± 0,01 ab	80,39 ± 0,74 a	1,07 ± 0,39 a	5,92 ± 0,54 a
120	11,73 ± 0,19 a	1,08 ± 0,08 ab	79,77 ± 1,04 a	1,55 ± 1,01 a	5,87 ± 0,60 a
180	11,45 ± 0,19 a	1,15 ± 0,03 ab	80,58 ± 0,49 a	1,65 ± 0,69 a	5,17 ± 0,52 a
240	11,40 ± 0,33 a	1,16 ± 0,09 ab	81,20 ± 1,37 a	1,58 ± 0,82 a	4,67 ± 1,22 a
Teste F	0,49 ^{ns}	0,07*	0,75 ^{ns}	0,95 ^{ns}	0,86 ^{ns}
C.V (%)	2,26	13,65	1,27	49,19	18,29

Médias seguidas por mesma letra na coluna, para diferentes tempos de exposição ao gás ozônio, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. *: significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Em que: CV: Coeficiente de Variação.

Apesar do alto poder oxidativo do ozônio, os resultados do presente estudo mostram que o processo de ozonização dos grãos de milho não afeta significativamente suas características físico-químicas. Estudos como o de Singh et al. (2018) que utilizaram altas concentrações de ozônio por longos períodos de tempo em plantas de milho observaram que o teor de carboidratos, aminoácidos essenciais e ácidos graxos saturados apresentaram uma redução, porém o teor de açúcares totais e redutores aumentaram.

Na avaliação de aspectos fisiológicos do milho submetido à ozonização na concentração de 1800 ppm em diferentes tempos de exposição não foram encontrados diferença significativa ($p > 0,05$), conforme apresentado na Tabela 6. No teste de germinação do milho, foi encontrado um valor médio de 82,82%. Na condutividade elétrica do milho, o valor médio encontrado foi de $27,21 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$. Ao analisar a massa específica aparente o valor médio encontrado foi de $745,17 \text{kg m}^{-3}$. Mesmo apresentando alto poder oxidativo, o gás ozônio não interferiu nos aspectos fisiológicos do milho analisado, demonstrando que seu uso na concentração de 1800 ppm por até 240 min não interfere diretamente nesses aspectos.

Tabela 6 — Tabela de aspectos fisiológicos de milho submetido à ozonização na concentração de 1800 ppm em diferentes tempos de exposição

Tempo de ozonização (min)	Teste Padrão de Germinação (%)	Condutividade Elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$)	Massa Específica Aparente (kg m^{-3})
0	83,67 ± 2,76 a	27,66 ± 1,91 a	742,55 ± 3,92 a
10	82,67 ± 1,96 a	26,05 ± 1,53 a	745,57 ± 1,09 a
20	81,67 ± 2,49 a	27,77 ± 1,41 a	743,15 ± 2,61 a
40	77,33 ± 1,25 a	25,98 ± 0,50 a	745,52 ± 3,65 a
50	87,33 ± 2,49 a	27,61 ± 0,37 a	741,33 ± 1,84 a
60	81,44 ± 3,98 a	25,80 ± 0,82 a	749,43 ± 3,67 a
80	86,89 ± 3,94 a	27,82 ± 1,77 a	743,64 ± 3,24 a
120	85,67 ± 4,12 a	26,61 ± 1,89 a	747,79 ± 1,89 a

180	78,11 ± 2,53 a	28,91 ± 1,94 a	744,95 ± 5,32 a
240	83,44 ± 2,45 a	27,93 ± 1,30 a	747,73 ± 2,66 a
Teste F	0,03 ^{ns}	0,46 ^{ns}	0,30 ^{ns}
C.V (%)	4,34	6,55	0,53

Médias seguidas por mesma letra na coluna, para diferentes tempos de exposição ao gás ozônio, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. *: significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Em que: CV: Coeficiente de Variação.

Apesar de não ter sido observado diferença estatística para o teste padrão de germinação no presente estudo, o ozônio tem sido utilizado como sanitizante em sementes de milho, como descrito por Rifna et al. (2019). Violleau et al. (2008) realizaram um experimento e demonstraram que a cinética de germinação de sementes de milho foi maior em tratamentos com ozônio em relação ao controle, após 3, 4 e 5 dias de teste de germinação, encontrando valores médios máximos de 80,6%, valores próximos ao encontrado neste estudo. De maneira similar, Sudhakar et al. (2008) ao utilizar ozônio como tratamento em sementes de tomate, verificou que a germinação aumentou 95% em relação ao controle, possivelmente devido à redução, provocado pela oxidação com ozônio, do ácido abscísico, um hormônio vegetal presente nas sementes de tomate.

No atual trabalho o valor de germinação do tratamento controle foi de 83,67 ± 2,76 %, valor próximo aos tratamentos com ozônio, e, por isso, não demonstrando diferença significativa. Em contradição a esses resultados de germinação, Wu et al. (2006) realizaram um experimento em que revelaram que a taxa de germinação em sementes de trigo foi significativamente reduzida após longos períodos de exposição ao ozônio, sendo necessário mais estudos para avaliar esses aspectos. Monteiro et al. (2021) utilizaram o hidrocondicionamento de sementes de milho como método de pré-condicionamento fisiológico, por meio da água ozonizada, onde observaram um favorecimento da qualidade fisiológica das sementes, com destaque para o incremento da taxa de germinação e, conseqüentemente, da produtividade.

7. CONCLUSÕES

Conforme os resultados do presente trabalho, pode-se concluir que:

- i) Em geral, ao utilizar ozônio na concentração de 1800 ppm com vazão de 4 L min⁻¹ diretamente sobre adultos de *Sitophilus* sp. por até 120 min, obteve-se uma maior mortalidade desses insetos 9 e 15 dias após o processo de ozonização, sendo necessário um tempo mínimo de 20 min de exposição.
- ii) Não foi possível determinar a eficiência da ozonização na concentração de 1800 ppm com vazão de 4 L min⁻¹ com tempo de exposição de até 240 min sob adultos de *Sitophilus* sp. infestando a massa de grãos de milho.
- iii) O ozônio na concentração de 1800 ppm com vazão de 4 L min⁻¹ com tempo de exposição de até 240 min não afetou significativamente a qualidade físico-química e fisiológica dos grãos de milho.
- iv) Para avaliar a eficiência da ozonização no controle de *Sitophilus* sp. na massa de grãos de milho são necessários mais estudos, avaliando-se tempos maiores de exposição ao gás ozônio, análise de residual de agrotóxicos dos grãos, análise do material da sacaria utilizada e de novas análises físico-químicas e fisiológicas dos grãos de milho.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT — ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. “**Saco trançado de polímeros termoplásticos e componentes - Classificação**” – NBR 10197, 2016.

ALENCAR, E.R.; FARONI, L.R.A.; SILVA-PINTO, M.; COSTA, A.R.; SILVA, T.A. Postharvest quality of ozonized “nanicão” cv. bananas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 1, p. 107-114, 2013.

ALENCAR, E.R.; FARONI, L.R.A.; SOARES, N.F.F.; SILVA, W.Z.; 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, p.899-905, 2012.

AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY (AOCS). **Official Procedures of the American Oil Chemists Society, Approved Procedure Am 5-04, Rapid determination of oil/fat utilizing high temperature solvent extraction**. Urbana: The Society Urbana, 2005. 3p.

AMERICAN SOCIETY OF AGRICULTURAL ENGINEERS (ASAE). **Moisture measurement – unground grain and seeds**. In: Standards. St. Joseph: ASAE, 2000. 563p.

AN, J.; ZHANG, M.; LU, Q. Changes in some quality indexes in fresh-cut green asparagus treated with aqueous ozone and subsequent modified atmosphere packaging. **Journal of Food Engineering**, v.78, p.340-344, 2007.

ARTUZO, F.D.; FOGUESATTO, C.R.; SOUZA, A.R.L.; SILVA, L.X. Gestão de custos na produção de milho e soja. **Revista Brasileira de Gestão de Negócios**, v.20, n.2, p.273-294, 2018.

ATHÉ, I; PAULA, D.C. **Insetos de grãos armazenados: aspecto biológico e identificação**. São Paulo: livraria varela, 2002. p.244.

BORÉM, A. Melhoramento de espécies cultivadas. Viçosa-MG: UFV, 2013. 523 p.

BORLACHENCO, N.G.C.; GONÇALVES, A.B. Expansão agrícola: Elaboração de indicadores de sustentabilidade nas cadeias produtivas de Mato Grosso do Sul. **Interações**, v.18, n.1, p.119-128, 2017.

BRASIL. **Instrução Normativa N° 60 de 22 de dezembro de 2011. Estabelecer o Regulamento Técnico do Milho.** Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, Sec. 1:35. 2011. Disponível em: <<https://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=1739574738>>. Acesso em: 02/05/2022.

BRASIL. **Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regras para análise de sementes.** Brasília: Secretaria nacional de Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Defesa Vegetal. Coordenação de Laboratório Vegetal, p.395, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários – AGROFIT.** Brasília: MAPA. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 03 março de 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes.** Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 2009. 399 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 03, de 16 de janeiro de 1992. "Diretrizes e orientações referentes à autorização de registros, renovação de registro e extensão de uso de produtos agrotóxicos e afins - nº 1, de 9 de dezembro de 1991", publicadas no D.O.U. em 13 – 12 -91. 1992.

BRASIL. **Ministério do Trabalho e Emprego. Norma Regulamentadora N° 15 - Atividades e Operações Insalubres,** Portaria GM nº3.214, de 08 de junho de 1978, publicada no Diário Oficial da União de 06.07.1978. Brasília, DF. 15° edição atualizada. Editora Saraiva, 2015.

BRASIL. **Presidência da República.** Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989.

BRATTSTEN, L.B.; HOLYOKE, J.R.; LEEPER, J.R.; RAFFIA, K.F. Insecticide resistance: challenge to pest management and basic research. **Science**, v.231, p.1255-1260, 1986.

BRITO-JUNIOR, J.G.; FARONI, L.R.D.A.; CECON, P.P.; BENEVENUTO, W.C.A.N.; BENEVENUTO-JR, A.A.; HELENO, F.F. Efficacy of ozone in the microbiological disinfection of maize grains. **Brazilian Journal Food Technology**, v.21, p.1-8, 2018.

CAO, Y.; XU, K.; ZHU, X.Z.; BAI, Y.; YANG, W.; LI, C. Role of modified atmosphere in pest control and mechanism of its effect on insects. **Frontiers in Physiology**, v.10, p.206, 2019.

CASTOR, J.M.R; MAR, J.L.G; RAMIREZ, A.H.; GARZAGONZALEZ, M.T.; REYES, L.H. Arsenic accumulation in maize crop (*Zea mays*). **Science of The Total Environment**, v.488, p.176–187, 2014.

CHERNICHARO, C.A.L; DANIEL, L.A.; SENS, M.; CORAUCCI FILHO, B. **Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios por sistemas de desinfecção**. In___: CHERNICHARO, C.A.L. Coord. Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios. Belo Horizonte, p.377-453, 2001.

CLARK, R.M.; SIVAGENESAN, M.; RICE, E.W.; CHEN, J. Development of a Ct equation for the inactivation of *Cryptosporidium* oocysts with ozone. **Water Research**, v.36, p.3141-3149, 2002.

CLESCERI, L.S; GREENBERG, A.E.; EATON, A.D. **Standard methods for the examination water and wastewater**. Denver: American Water Works Associations, 1220p., 2000.

CONAB — Companhia Nacional de Abastecimento. **Portal de Informações Agropecuárias — Venda em Balcão**. Disponível em: < <https://portaldeinformacoes.conab.gov.br/vendas-em-balcao.html>>. Acesso em: 01/03/2021.

CONAB — Companhia Nacional de Abastecimento. **Produção Nacional de Grãos**. Dados divulgados em 07/04/2022. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/4579-producao-nacional-de-graos-e-estimada-em-269-3-milhoes-de-toneladas-na-safra-2021-22>>. Acesso em: 02/05/2022.

CONAB — Companhia Nacional de Abastecimento. **Safra brasileira de grãos**. Dados divulgados em 11/08/2020. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/grãos>>. Acesso em: 26/08/2020.

DAMEZ, F.; LANGLAIS, B.; RAKNESS, K.L.; ROBSON, C.M. **Operating an ozonation facility**. In__: LANGLAIS, G.; RECKHOW, D.A.; BRINK, D.R. (Ed.). Ozone in water treatment: Application and engineering. Lewis Publishers, p.469-490, 1991.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A.D.B. **Métodos e técnicas de tratamento de água**. São Carlos: RiMa, v.2, 2005, 1565p.

FARONI, L.R.D.; 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. (Ed.). Tecnologia de Armazenagem de Sementes. Campina Grande: UFCG, 2006. p.371-402.

FARONI, L.R.D.; SOUZA, A. H. **Os problemas com pragas de armazenamento e as tendências para seu controle na pós-colheita de grãos**. In__: Conferência brasileira de pós-colheita, 05, 2010, Foz do Iguaçu. Anais. Londrina: ABRAPÓS, 2010. p. 68-83.

FERNANDES, E.T.; FAVERO, S. Óleo essencial de *Schinus molle* L. para o controle de *Sitophilus zeamais* Most.1855 (Coleoptera:Curculionidae) em milho. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.9, n.1, p.225-231, 2014.

FERREIRA, W.F.S.; ALENCAR, E.R.; ALVES, H.; RIBEIRO, J.L.; SILVA, C.R. Influence of pH on the efficacy of ozonated water to control microorganisms and its effect on the quality of stored strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). **Ciência e Agrotecnologia**, v.41, n.6, p.692-700, 2017.

GABLER, F.M.; SMILANICK, J.L.; MANSOUR, M.F.; KARACA, H. Influence of fumigation with high concentrations of ozone gas on postharvest gray mold and fungicide residues on table grapes. **Postharvest Biology and Technology**, v.55, n.2, p.85-90, 2010.

GONÇALVES, A.A. Ozone – an emerging technology for the seafood industry. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.52, n.6, p.1527-1539, 2009.

GUEDES, R.N.C.; OLIVEIRA, E.E.; GUEDES, N.M.P.; RIBEIRO, B.; SERRÃO, J.E. Cost and mitigation of insecticide resistance in the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Physiological Entomology**, v.31, n.1, p.30-38, 2006.

GÜZEL-SEYDIM, Z.; GREENE, A.K.; SEYDIM, A.C. Use of ozone in the food industry. **LWT — Food Science and Technology**, v.37, p.453-460, 2004.

HANSEN, L.S.; HANSEN, P.; JENSEN, K.M.V. Effect of gaseous ozone for control of stored product pests at low and high temperature. **Journal of Stored Products Research**, v.54, p.59-63, 2013.

HANSEN, L.S.; HANSEN, P.; JENSEN, K.V. Lethal doses of ozone for control of all stages of internal and external feeders in stored products. **Pest Management Science**, v.68, p.1311–1316, 2012.

HELENO, F.F.; QUEIROZ, M.E.LR.; NEVES, A.A.; FREITAS, R.S.; FARONI, L.R.A.; OLIVEIRA, A.F. Effects of ozone fumigation treatment on the removal of residual difenoconazole from strawberries and on their quality. **Journal of Environmental Science and Health**, Part b, v. 49, n.2, p.94-101, 2014.

HEMINGWAY, J. The molecular basis of two contrasting metabolic mechanisms of insecticide resistance. *Insect Biochem. Molecular Biology*, v. 30, p.1009-1015, 2000.

HOBACK, W.W.; STANLEY, D.W. Insects in hypoxia. **Journal of Insect Physiology**, v.46, p.533-542, 2001.

HOOFF, F.V. **Professional risks associated with ozone**. In___: MASSCHELEIN, W. J. (Ed.). Ozonation manual for water and wastewater treatment, p.200-201, 1982.

KELLS, S.A.; MASON, L.J.; MAIER, D.E.; WOLOSOSHUK, C.O. 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. Sporicidal action of ozone and hydrogen peroxide: a comparative study. **International Journal Food Microbiology**, v.71, n.1, p.131-138, 2001.

LEMIC, D.; JEMBREK, D.; BAŽOK, R.; ŽIVKOVIĆ, I. P. Ozone effectiveness on wheat weevil suppression: preliminary research. **Insects**, v.10, n.357, p.1-12, 2019.

LISCH, D. Regulation of transposable elements in maize. **Current opinion in plant biology**, v.15, p.511-516, 2012.

LORINI, I.; GALLEY, D.J. Changes in resistance status of *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae), a pest of stored grain in Brazil, with and without deltamethrin selection. **Resistant Pest Management Newsletter**, v.8, p.12-14, 1996.

LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA-NETO, J.B.; HENNING, A.A.; HENNING, F.A. **Manejo integrado de pragas de grãos e sementes armazenadas**. Brasília/DF: EMBRAPA, 2015. 84p.

LUCENA, A.L.M.; GIGLIOLLI, A.A.S.; LAPENTA, A.S. Análise das esterases durante as fases do desenvolvimento em *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) e sua relação com a resistência ao inseticida Malathion. **Revista Saúde e biologia**, v.7, n.3, p.36-44, 2012.

MARCHI, S. L. **Interação entre desfolha e população de plantas na cultura do milho na Região Oeste do Paraná**. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. 2008. p.26. Dissertação de Mestrado.

MARTINS, R.S.; REBECHI, D.; PRATI, C.A.; CONTE, H. Decisões Estratégicas na Logística do Agronegócio: Compensação de Custos Transporte-Armazenagem para a Soja no Estado do Paraná. **Revista de Administração Contemporânea**, v.9, p.53-78, 2005.

MARTINS, T. Z. Controle de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) no Milho Pipoca (*Zea mays* L.) Tratado com Terra de Diatomácea. **Campo Digital**, v.1, n.2, p.79-85, 2008.

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, p.306-310, 2011.

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 processing performance. **Journal of Stored Products Research**, v.39, p.33-44, 2003.

MILAGRES, E.G. **Compósitos de partículas de madeira de *Eucalyptus grandis*, polipropileno e polietileno de alta e baixa densidade**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2004. 73p. Dissertação de Mestrado.

MIRANDA, R.A. Uma história de sucesso da civilização. **A Granja**, v.74, n.829, p.24-27, 2018.

MONTEIRO, N.O.C.; ALENCAR, E.R.; SOUZA, N.O.S.; LEÃO, T.P. Ozonized Water in the Proconditioning of corn seeds: Physiological Quality and Field Performance. **Ozone: Science & Engineering**, v. 43, n. 5, p.436-450, 2021.

MURAL, P.K.S.; JAIN, S.; MADRAS, G.; BOSE, S. Antibacterial Membranes for Water Remediation with Controlled Leaching of Biocidal Silver Aided by Prior Grafting of Poly (ethylene imine) on to Ozone-Treated Polyethylene. **ChemistrySelect**, v.2, p.624-631, 2017.

PAES, J. L.; FARONI, L. R. D.A.; CARVALHO, M. C. S.; SILVA, T.A.; LUIZ, M. C. P. **Efeito do processo de ozonização no branqueamento da farinha de trigo**. In__: 5ª Conferência Brasileira de Pós-Colheita e Fórum Latino-Americano de Pós-Colheita, 2010, Foz do Iguaçu. Londrina: ABRAPÓS, 2010.

PEREIRA, A.M.; FARONI, L.R.D.; JÚNIOR, A.G.S.; SOUSA, A.H.; PAES, J.L. Viabilidade econômica do gás ozônio como fumigante em grãos de milho armazenados. **Revista Engenharia na Agricultura**, v.16, n.2, p.144-154, 2008a.

PEREIRA, A.M.; FARONI, L.R.D.; SOUSA, A.H.; URRUCHI, W.; PAES, J.L. Influência da temperatura da massa de grãos sobre a toxicidade do ozônio a *Tribolium castaneum*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, n.5, p.493–497, 2008b.

PIMENTEL, M. A. G. **Resistência a fosfina: magnitude, mecanismo e custo adaptativo**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 2006. 67p. Dissertação de Mestrado.

PIMENTEL, M.A.G.; FERNANDES, D.K.S.; SILVA, D.D.; COTA, L.V. **Eficiência do gás ozônio na detoxificação de micotoxinas em grãos de milho armazenados**. In__: XXXII Congresso Nacional de Milho e Sorgo. Lavras-MG, 2018.

PIMENTEL, M.A.G.; RIBEIRO, D.F.; FARONI, L.R.D.; RAMOS, G.C.P.; VASCONCELOS, C.H.C.; NASCIMENTO, R.L.S. **Eficiência do gás ozônio na desinfecção fúngica de grãos de milho armazenados**. In__: XXXI Congresso Nacional de Milho e Sorgo. Bento Gonçalves-RS, 2016.

PÜNTENER, W. **Manual for field trials in plant protection**. 2ed. Basle: Ciba-Geigy, 1981. 205p.

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Versão 4.2.1, 2022. Disponível em: <<https://www.R-project.org>>. Acesso em: 18 de julho de 2022.

REIS, J.G.M.; VENDRAMETTO, O.; NAAS, I.A.; COSTABILE, L.T.; MACHADO, S.T. Avaliação das Estratégias de Comercialização do Milho em MS Aplicando o Analytic Hierarchy Process (AHP). **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v.54, n.1, p.131-146, 2016.

RIFNA, E. J.; RAMANAN, K. R.; MAHENDRAN, R. Emerging technology applications for improving seed germination. **Trends in Food Science & Technology**, v.86, p.95-108, 2019.

ROZADO, A.F. et al. Aplicação de ozônio contra *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, p. 282-285, 2008.

SANTOS, J. E. **Difusão e cinética de decomposição do ozônio no processo de fumigação de grãos de milho (*Zea mays*)**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 2008. 54p. Tese de Doutorado.

SANTOS, R.R.; FARONI, L.R.D.; CECON, P.R.; FERREIRA, A.P.S.; PEREIRA, O.L. Ozônio como agente fungicida em grãos de arroz. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.20, n.3, p.230-235, 2016.

SHARMA, M.; HUDSON, J.B. Ozone gas is an effective and practical antibacterial agent. **American Journal of Infection Control**, v.36, n.8, p.559-563, 2008.

SILVA, L.E.B.; SILVA, J.C.S.; SOUZA, W.C.L.; LIMA, L.L.C.; SANTOS, R.L.V. Desenvolvimento da cultura do milho (*Zea mays* L.): revisão de literatura. **Diversitas Journal**, v.5, n.3, p.1636-1657, 2020.

SILVA, M.V.A.; FARONI, L.R.D.A.; ALENCAR, E.R.; SOUZA, A.H.; CECON, P.R.; NOGUEIRA, J.V.F.; MASON-FILHO, V. Ozone Injection at Low Pressure:

Decomposition Kinetics, Control of *Sitophilus zeamais*, and Popcorn Kernel Quality. **Ozone: Science & Engineering**, v.44, n.1, p.1-13, 2021.

SINGH, A.A.; AGRAWAL, S.B.; SHAHI, J.P.; AGRAWAL, M. Yield and kernel nutritional quality in normal maize and quality protein maize cultivars exposed to ozone. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.99, n.5, p.2205-2214, 2018.

SOUSA A.H. et al. Ozone toxicity to *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) populations under selection pressure from ozone. **Journal of Stored Products Research**, v.65, p.1-5, 2016.

SOUSA, A.H.; FARONI, L.R.D.; 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, p.379-385, 2008.

SOUSA, A.H.; FARONI, L.R.D.; PEREIRA, A.M.; CARODOSO, F.S.; HEBERLE, E. **Influence of grain mass temperature on ozone toxicity to *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae)**. In:___ LORINI et al. (Eds.), Proceedings of the 9th International Working Conference on Stored Product Protection. Brazilian Post-harvest Association e ABRAPOS, Passo Fundo, RS, Brazil, p. 706-710, 2006.

SOUSA, A.H.; FARONI, L.R.D.; SILVA, G.N.; GUEDES, R.N.C. Ozone toxicity and walking response of populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Economic Entomology**, v.105, p.2187–2195, 2012.

SOUZA, A.E.; REIS, J.G.M.; RAYMUNDO, J.C.; PINTO, R.S. Estudo da produção do milho no Brasil: Regiões produtoras, exportação e perspectivas. **South American Development Society Journal**, v.4, n.11, p.182-194, 2018b.

SOUZA, L.P. **Ozônio na degradação de resíduos de agrotóxicos e na conservação pós-colheita de cenouras**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 2017. 67p. Tese de Doutorado.

SOUZA, V.S.S.; ALENCAR, E.R.; JUNQUEIRA, A.M.R.; OLIVEIRA, G.P. Ozone saturation and decomposition kinetics in porous medium containing different hybrids of maize. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.22, n.4, p.286-291, 2018a.

SUDHAKAR, N.; NAGENDRA-PRASAD, D.; MOHAN, N.; MURUGESAN, K. A preliminary study on the effects of ozone exposure on growth of the tomato seedlings. **Australian Journal of Crop Science**, v.2, p.33–39, 2008.

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, p.248-255, 2010.

USDA. **Commodity Forecasts** — World Agricultural Supply and Demand Estimates. USDA, 2022. Disponível em: <<https://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/>>. Acesso em: 01 Maio 2022.

USDA. **United States Department of Agriculture**. Abastecimento Mundial de Grãos. SEAPAMG, 2017.

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.

VIOLLEAU, F.; HADJEBA, K.; ALBET, J.; CAZALIS, R.; SUREL, O. Effect of oxidative treatment on corn seed germination kinetics. **Ozone: Science & Engineering**, v.30, p.418–422, 2008.

WU, J.; DOAN, H.; CUENCA, M. A. Investigation of gaseous ozone as an anti-fungal fumigant for stored wheat. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology**, v.81, p.1288–1293, 2006.

ZHANGGUI, Q.; XIA, W.; GANG, D.; XIAOPING, Y.; XUECHAO, H.; H. DEKE, X.; XINGWEN, L. **Investigation of the use of ozone fumigation to control several species of stored grain insects**. In___: Advances in stored product protection: Proceedings of the 8th International Working Conference on Stored-Product Protection, York, UK, p.846-851, 2003.