



Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos  
Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA)

**Marcelo De Carli**

(Engenheiro Químico / Fundação Universidade de Caxias do Sul - FUCS)

**ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO DE INFESTAÇÕES DE *Sitophilus* spp.  
EM MILHO ORGÂNICO EMBALADO EM ATMOSFERA MODIFICADA (AM)**

Porto Alegre  
Janeiro 2007

Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos  
Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA)

**Marcelo De Carli**

(Engenheiro Químico / Fundação Universidade de Caxias do Sul - FUCS)

**ANÁLISE DO DESENVOLVIMENTO DE INFESTAÇÕES DE *Sitophilus spp.*  
EM MILHO ORGÂNICO EMBALADO EM ATMOSFERA MODIFICADA (AM)**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos como um dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Dr. Caciano P. Zapata Noreña  
Co-orientador: Dr. Irineu Lorini

Porto Alegre  
Janeiro 2007

Marcelo De Carli  
(Engenheiro Químico / Fundação Universidade de Caxias do Sul - FUCS)

## DISSERTAÇÃO

Submetida como parte dos requisitos para obtenção do Grau de

### **MESTRE EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS.**

Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA)  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre, RS, Brasil.

Aprovada em: 28/02/2007  
Pela Banca Examinadora:

Homologada em:

Por:

Prof. Dr. Caciano P. Zapata Norenã  
Orientador – PPGCTA/UFRGS

Profª Drª Erna Vogt de Jong  
Coordenador do Programa de Pós  
Graduação em Ciência e Tecnologia de  
Alimentos (PPGCTA)

Prof. Dr. Adriano Brandelli  
Banca – PPGCTA/UFRGS

Profª Drª. Maria Lúcia Masson  
Banca – PPGCTA – UFPR / PR

Prof. Dr. Adriano Divino Lima Afonso  
Banca – Eng. Agrícola - UNIOESTE / PR

Prof. Dr. Adriano Brandelli  
Diretor do Instituto de Ciência e  
Tecnologia de Alimentos. ICTA/UFRGS

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho á pessoa mais importante de minha vida que ao longo de sua imensa sabedoria, me ensinou o que segue:

Estávamos na praia, verão de 2006, fomos atrás de uma pipa que a horas estava aparecendo no céu, pois queríamos ver se era daquelas com controle.....

Tomamos a decisão de segui-la, mas ela se afastava cada vez mais e rapidamente;

Eu já sem fôlego de correr, perguntei, vamos parar?

E imediatamente escutei que:

**“ o Power Ranger diz... NUNCA DESISTA “**

Meu filho Arthur Pacheco De Carli, na época, 6 anos de sabedoria.

Te amo.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me proporcionado esta oportunidade, ter me dado saúde que me garantiu condições de efetuar esta pesquisa.

Agradeço a minha mãe que nunca me permitiu pensar em desistir.

Agradeço da mesma forma a todos que me suportaram das mais diversas formas sempre acreditando que eu seria capaz.

Agradeço imensamente a meus amigos que até a última hora me ajudaram, em especial a Prof. Erna .

Agradeço a todos os parceiros abaixo por suas contribuições imprescindíveis.

O projeto teve a parceria das seguintes empresas:

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Sealed Air Indústria de Embalagens - CRYOVAC, com o fornecimento de embalagens barreiras T7325B.

Videplast Indústria de Embalagens , para analisar a TPO2 das embalagens.

White Martins Gases Industriais Ltda, com o fornecimento das misturas gasosas, analisador de gases, máquina seladora Selovac 200 .

Coperfamiliar – Cooperativa da agricultura familiar de Tenente Portela, com o fornecimento das amostras de milho.

## ÍNDICE

<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>VIII</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>IX</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>XI</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>XIII</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
1.1 OBJETIVOS .....	16
1.1.1 Objetivo Geral .....	16
1.1.2 Objetivos Específicos .....	17
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>18</b>
2.1 OS GRÃOS E SUAS CARACTERÍSTICAS.....	19
2.2 MILHO ( <i>Zea mays</i> L.) .....	21
2.3 INSETOS.....	22
2.3.1 Caracterização do <i>Sitophilus</i> spp (CARUNCHOS DOS CEREAIS). .....	24
2.4 CONTROLE DE INSETOS .....	27
2.4.1 Eliminação de Insetos com Fumigantes .....	27
2.4.2 Eliminação de Insetos com CO <sub>2</sub> .....	29
2.4.2.1 Efeito do CO <sub>2</sub> sobre os grãos e sementes.....	29
2.4.2.2 Efeito do CO <sub>2</sub> sobre os microorganismos.....	30
2.4.2.3 Efeito do CO <sub>2</sub> sobre os insetos.....	31
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>35</b>
3.1 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....	35
3.1.1 Preparação da Matéria Prima (Milho Orgânico) .....	35
3.1.2 Criação de Insetos .....	35
3.1.3 Preparação da Amostras.....	37
3.1.4 Efeito da AM sobre a Progenie.....	40
3.2 ANÁLISES.....	41
3.2.1 Contagem de Insetos .....	41
3.2.2 Atmosfera Gasosa (%CO <sub>2</sub> ) .....	41
3.2.3 Volume de Gases na Embalagem (Método recomendado por SARANTÓPUOLOS et al., 1998). .....	41
3.2.4 Análise de Qualidade da Solda (Método recomendado por SARANTÓPUOLOS et al., 1998). .....	42

3.2.5 Permeabilidade de Embalagens (Método recomendado por ASTM, 2005).	42
3.2.6 Análises de Umidade, Acidez e pH. ....	43
3.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	43
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>45</b>
4.1 MATÉRIA PRIMA .....	45
4.2 EFEITO DA ATMOSFERA MODIFICADA (AM) .....	45
4.2.1 Efeito da AM nos Grãos .....	45
4.2.1.1 Umidade dos Grãos.....	45
4.2.1.2 Acidez e pH dos Grãos.....	47
4.2.2 Comportamento da Atmosfera Interna .....	50
4.2.3 Efeito da AM nos Insetos.....	53
4.2.3.1 Efeito sobre os insetos adultos.....	53
4.2.3.2 Efeito na Progênie (Caracterização como expurgo).....	56
4.2.3.3 Efeito da etapa do vácuo sobre os insetos.....	58
<b>5 CONCLUSÕES .....</b>	<b>60</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>61</b>
<b>APÊNDICE.....</b>	<b>68</b>

## LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1 - Comparativo entre espécies / parâmetros ideais para seu desenvolvimento e reprodução / <i>Sitophilus zeamais</i> Motschulsky, <i>Sitophilus oryzae</i> (L.) e <i>Sitophilus granarius</i> (L.) .....	27
Tabela 2 - Análise de variância ANOVA para a umidade (%), levando-se em conta os 7 níveis do Fator A (atmosfera) e 2 níveis do Fator B (tempo de exposição).....	46
Tabela 3 - Análise de variância ANOVA, para a acidez (ml de NaOH 1N), , levando-se em conta os 7 níveis do Fator A (atmosfera) e 2 níveis do Fator B (tempo de exposição).....	48
Tabela 4 - Resultados da análise de médias para acidez, para o fator A (atmosfera).....	48
Tabela 5 - Análise de variância ANOVA, para o pH, levando-se em conta os 7 níveis do Fator A (atmosfera) e 2 níveis do Fator B (tempo de exposição). ....	49
Tabela 6 - Resultados da análise de médias para pH, para o fator A (atmosfera). .	49
Tabela 7 - Análise de variância ANOVA para as respostas (%CO <sub>2</sub> ), levando-se em conta os 6 níveis do Fator A (atmosfera - sem o branco) e 7 níveis do Fator B (exposição).....	52
Tabela 8 - Resultados da análise de médias para %CO <sub>2</sub> , para o fator A (atmosfera – sem o branco).....	52
Tabela 9 - Resultados da análise de médias para %CO <sub>2</sub> , para o fator B (dias).....	52
Tabela 10 - Análise de variância ANOVA para os insetos sobreviventes (após 7 dias), levando-se em conta os 4 níveis do Fator A (atmosfera 20, 40, 60 e 80% de CO <sub>2</sub> ) e 7 níveis do Fator B (tempo de exposição).....	55
Tabela 11 - Resultados da análise de médias, para o fator B (tempo de exposição)	56
Tabela 12 - Análise de variância ANOVA para os insetos sobreviventes após 45 dias, levando-se em conta os 4 níveis do Fator A (20, 40, 60 e 80% de CO <sub>2</sub> ) e 7 níveis do Fator B (tempo de exposição), .....	57
Tabela 13 - Resultados da análise de médias, para o fator B (tempo de exposição)	57
Tabela 14 - Análise de variância ANOVA para os insetos sobreviventes (após 7 dias), levando-se em conta os 2 níveis do Fator A (atmosfera natural e artificial) e 7 níveis do Fator B (Tempo de exposição).....	59

## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1- <i>Sitophilus</i> spp. (acima) e <i>Rizopherta</i> spp (abaixo), cedidos pela EMBRAPA – Trigo, RS (microscopia ampliação 20 vezes).....	20
Figura 2 - Destruição interna do grão feita por larvas de <i>Sitophilus</i> spp (microscopia aumento 20 vezes).....	23
Figura 3 - Caruncho do milho e arroz ou dos cereais, Inseto adulto – <i>Sitophilus</i> spp. ....	24
Figura 4 - <i>Sitophilus</i> spp. em vista superior, no detalhe cabeça e boca. (microscopia ampliação 20 vezes) .....	25
Figura 5 - <i>Sitophilus</i> spp. em vista inferior, no detalhe cabeça e boca. (microscopia ampliação 50 vezes) .....	25
Figura 6 - <i>Sitophilus</i> spp. adulto, saindo do interior do grão (microscopia aumento 20 vezes) .....	26
Figura 7 - <i>Sitophilus</i> spp. (microscopia, ampliação 10 vezes) .....	36
Figura 8 - Câmara climatizada para criação de insetos (26°C, 55 % de umidade relativa e luz de 12/12 horas) .....	37
Figura 9 - Pesagem das amostras (250 g de milho) para posterior infestação com insetos (50).....	38
Figura 10 - Armazenamento do milho infestado em câmara climatizada a 26°C, 55% UR e ciclo de luz 12/12 horas .....	39
Figura 11 - Resultado da padronização de volume e teste de selagem das embalagens. Fonte: Foto feita nos laboratórios do ICTA – UFRGS.....	42
Figura 12 - Gráfico de interação dos fatores A (atmosferas) e B (tempo de exposição) tendo como resposta a umidade expressa em %. .....	46
Figura 13 - Gráfico de interação dos fatores A (atmosferas) e B (tempo de exposição) tendo como resposta o nível de acidez expresso em ml de NaOH 1N.....	49
Figura 14 - Gráfico de interação dos fatores A (atmosferas) e B (tempo de exposição) tendo como resposta o pH .....	50
Figura 15 - Evolução da concentração de CO <sub>2</sub> dentro da embalagem em diferentes condições de AM .....	52

Figura 16 - Número de insetos adultos sobreviventes após exposição em AM contados após 7 dias .....	55
Figura 17 - Número de insetos sobreviventes (progênie) após 45 dias .....	57
Figura 18 - Número de insetos sobreviventes após procedimento de embalagem com etapa de vácuo (ar sintético) e sem etapa de vácuo (atmosfera natural).....	59

## RESUMO

O milho (*Zea mays* L.) é um dos grãos de maior importância econômica no mundo, requerendo grandes áreas para sua estocagem. Uma das etapas importantes no armazenamento é o expurgo, empregado para controle de pragas de insetos das espécies *Sitophilus* spp. Atualmente, a cultura de milho orgânico está em constante aumento devido à crescente exigência do mercado por produtos livres de resíduos químicos. Para produtos orgânicos, o emprego do dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) como agente de controle de insetos, é uma alternativa interessante, pois este tem como principal vantagem a de não deixar resíduos após aplicação. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o controle de insetos *Sitophilus* spp no milho orgânico embalado mediante o uso de CO<sub>2</sub> (atmosfera modificada). Para esse fim, foram criados insetos e colocados em milho (previamente limpo e selecionado) contidos em potes plásticos com tampa com tela. Após 45 dias, as amostras contendo os insetos foram colocadas em embalagens barreira e fechadas em embaladora a vácuo compensado em diferentes níveis de CO<sub>2</sub>: 0 (ar sintético), 20, 40, 60 e 80% e tempos de exposição de: 1, 2, 3, 4, 5, 15 e 30 dias. Após aplicação dos tratamentos foi realizada a contagem dos insetos vivos de acordo com metodologia proposta pela FAO. Durante os períodos de aplicação dos tratamentos, foram analisados o teor de umidade, acidez e pH no milho e a concentração de CO<sub>2</sub>, dentro da embalagem. Também foi avaliado o efeito dos tratamentos sobre a capacidade dos insetos de gerarem descendência (efeito progênie). Foi constatado que as maiores taxas de mortalidade de insetos adultos foram nos primeiros cinco dias de exposição à AM em todos os níveis de concentração de CO<sub>2</sub> estudados. Para períodos de exposição de 15 e 30 dias, foi observado que foram eliminados todos os insetos adultos nas concentrações de 20, 40, 60 e 80% de CO<sub>2</sub>. Durante os experimentos verificou-se que as concentrações de CO<sub>2</sub> no interior das embalagens, em atmosfera modificada, se mantiveram estáveis até o quinto dia de exposição e a partir do qual começaram a diminuir, comportamento este observado em todas as concentrações de atmosfera estudadas. Para o teor de umidade e a acidez houve interação entre o tempo de exposição e a composição atmosférica, enquanto para o pH existiram diferenças significativas e com médias muito próximas para as atmosferas testadas, porém sem variação de pH significativa em 30 dias. A aplicação de AM com tempos menores

que cinco dias não afetou a progênie dos insetos, no entanto, a partir do décimo quinto dia, qualquer concentração de CO<sub>2</sub> estudada foi efetiva na eliminação de todas as fases de desenvolvimento dos insetos. Dos resultados pode-se concluir que o emprego de concentrações não menores que 20% de CO<sub>2</sub> com tempo de aplicação mínimo de 15 dias é recomendado para a eliminação de insetos adultos, ovos, larva e pupa. Também foi verificado que o vácuo não teve efeito sobre a morte dos insetos.

## ABSTRACT

### **Development of *Sitophilus* spp. Infestation on Organic Corn Grain Wrapped in Modified Atmosphere (MAP)**

Maize grain (*Zea mays* L.) is one of the grains of largest economical importance in the world, requesting great areas for this storage. One of the most important stages in the storage is its purge, for control of insects of the species *Sitophilus* spp. Nowadays, the culture of organic corn is in constant increase due to growing demand of the market for products free of chemical residues. For this kind of product the use of carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) as agent for insect control is an interesting alternative, because the main advantage of not leaving residues after application. The objective of this investigation was to evaluate the control of insects *Sitophilus* spp in organic maize in packing using CO<sub>2</sub> (modified atmosphere). Insects were created and placed in maize (previously cleaned and selected) contained in plastic flasks with screen cover. After 45 days, the samples containing insects were placed in packings barrier and closed in packer machine which vacuum compensated in different levels of CO<sub>2</sub>: 0 (synthetic air), 20, 40, 60 and 80% and times of exposition of: 1, 2, 3, 4, 5, 15 and 30 days. These treatments the number of alive insects were counted in according to the methodology proposed by FAO. During the period of application of the treatments, the moisture contend, acidity and pH were analyzed in the corn, and the concentrations of CO<sub>2</sub> inside of the packing was measured. The effect of the treatments on the capacity of the insects to create descendants (progeny effect), was also evaluated. It was verified that the largest rates of mortality of adult insects were in the first five days of exposition to AM to all levels of CO<sub>2</sub> concentration studied. For periods of exposition of 15 and 30 days, it was observed that all the adult insects were eliminated in the concentrations of 20, 40, 60 and 80% of CO<sub>2</sub>. During the experiment it was verified that the CO<sub>2</sub> concentrations inside the packings, in modified atmosphere, remained stable until the fifth day of exposition and after this time CO<sub>2</sub> concentrations started to decrease. This behavior was observed in all atmosphere concentrations studied. For the moisture and acidity was verified that there was significant interaction between the time of exposition and the atmospheric composition, while, for the pH differences were significant with very next averages, for any atmospheric condition during the storage, however without variation of

significant pH in 30 days. The application of AM in times smaller than five days no affect the progeny of the insects, however, starting from the fifteenth day, for any CO<sub>2</sub> concentration studied they were effective in the elimination of all the phases of development of the insects. From the results it can be concluded that the use of concentrations from 20% of CO<sub>2</sub>, with time of application minimum of 15 days are recommended for the elimination of adult insects, eggs, larva and pupa. It was also verified that the vacuum have no effect on the death of the insects.

## 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, por facilidades técnicas, econômicas ou, por ser a atmosfera modificada um campo pouco estudado para diversas culturas, os inseticidas, misturados diretamente aos grãos, constituem o meio mais utilizado para o combate de insetos-pragas durante o armazenamento. Entretanto, estes mesmos grãos, sem insetos, mas provavelmente contendo algum resíduo do pesticida que os eliminou, serão utilizados mais tarde como alimento para o homem e os animais (FARONI et al., 2002). De qualquer forma é inconveniente a presença de insetos que destroem os alimentos quantitativa e qualitativamente, inclusive predispondo os grãos à contaminação por fungos capazes de produzir micotoxinas (SANTOS et al., 2002).

Existe também a crescente preocupação dos órgãos governamentais e entidades ambientalistas pelo uso indiscriminado de agrotóxicos, trazendo como consequência o aumento da resistência dos insetos a estes.

Por isto busca-se o emprego de tecnologias de combate às infestações sem a utilização de agentes tóxicos, visando o consumo de produtos sem a presença de resíduos.

Como alternativa aos produtos químicos tem-se o CO<sub>2</sub> que afeta o crescimento dos microrganismos e pragas em geral, sem deixar resíduos nos alimentos após sua aplicação.

Assim, torna-se viável o uso de atmosferas de gás carbônico, denominada comercialmente, atmosfera modificada (AM), como agente protetor em grãos estocados. Durante a estocagem, o efeito do CO<sub>2</sub> é de evitar o desenvolvimento de infestações de insetos no decorrer da vida de prateleira dos produtos embalados, baseado na baixa aceitabilidade e resistência dos insetos ao meio enriquecido com este gás (FARONI et al., 2002; AFONSO, 2001). Uma vantagem na utilização desta atmosfera para proteção de grãos é a possibilidade de que alcance os objetivos de inativar biologicamente insetos em todas as suas etapas evolutivas (ovo, larva, pupa e adulto) (SARANTÓPOULUS et al., 1998).

A utilização de AM para comercialização de grãos orgânicos é de extrema importância baseada no fato de que este processo agrega imensa facilidade de operação e tranquilidade na comercialização do produto embalado. As principais vantagens são que os gases utilizados, CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>, não são inflamáveis, corrosivos ou

mesmo poluentes além de não depreciar o valor comercial do produto fumigado (GONÇALVES, 1998).

A escolha do tema relacionando-o ao milho deve-se ao fato de que esta cultura é sem dúvida uma das mais importantes para a nutrição humana e animal, com alta produção também direcionada à exportação. Na safra de 2005, foram produzidos, no mundo, aproximadamente 700 milhões de toneladas de milho (PAES, 2006). Somente pelo porto de Paranaguá, no Paraná, exportou-se 1,8 milhões de toneladas em 2002 e 2,3 milhões de toneladas em 2003 e em torno de 1,5 milhões de toneladas é esperado para 2007 (PARANA, 2007; BRASIL, 2003). Segundo Brasil (2006) espera-se para 2007, apesar da redução de áreas plantadas, substituídas na sua maioria por trigo e soja, aumento de produtividade de no mínimo 4,6%.

Neste trabalho estudou-se o controle por AM de infestações do milho, produzido organicamente, por insetos tipo gorgulhos, ordem Coleóptera (*Sitophilus* spp.), por ser esta considerada, segundo Gallo et al. (1978) e Athié e Paula (2002), como uma das espécies mais importantes como praga no Brasil e possuírem ocorrência marcante no milho.

Todo o trabalho desenvolveu-se com a finalidade de buscar conhecimento específico da aplicação de atmosfera modificada relacionando o comportamento dos insetos com diferentes atmosferas e tempos de exposição do produto. Esta é uma pesquisa aplicada, em função do crescente interesse dos consumidores por produtos orgânicos livres de inseticidas e da indústria agrícola e de gases como alternativa aos métodos tradicionais de controle de infestação de insetos.

## **1.1 OBJETIVOS**

### **1.1.1 Objetivo Geral**

- Estudar a influência do tratamento com atmosfera modificada (AM) a base de CO<sub>2</sub>, como método de controle da infestação de insetos *Sitophilus* spp em milho orgânico embalado.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o número de insetos adultos sobreviventes, contidos em milho orgânico *Zea mays*, L., após serem submetidos às concentrações de 0, 20, 40, 60, e 80% de CO<sub>2</sub> e tempos de exposição de 1, 2, 3, 4, 5, 15 e 30 dias.

- Avaliar o efeito das diferentes condições de atmosfera modificada na capacidade dos insetos de gerarem descendentes (efeito progênie).

- Estudar o efeito do vácuo, realizado durante o processo de embalagem, sobre a resistência dos insetos adultos.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

A conservação dos grãos alimentícios tem sido e continuará sendo, motivo de preocupação do homem pelo seu significado na dieta humana e pela necessidade de resguardá-los contra o perigo que significa seu aproveitamento por seus demais competidores (PAES, 2006; GENEL, 1976).

Uma característica positiva dos grãos é a possibilidade de serem armazenados por longo período de tempo sem perderem a qualidade, permitindo a manutenção de estoques estratégicos e reguladores (ALENCAR et al., 2002). Entretanto, a armazenagem prolongada só pode ser realizada quando se adotam alguns princípios básicos, como: grãos íntegros e sem impurezas, livre de pragas e controle de microrganismos (LORINI, 2005).

Considerando que os produtos orgânicos possuem alto valor comercial, tem-se observado o desenvolvimento de pesquisas aplicadas, principalmente visando a não utilização de fumigantes químicos. Com este objetivo tem-se estudos da utilização de extrato de mostarda no controle de *Sitophilus* spp. em grãos de milho (CAMPOS et al., 2004); e para o mesmo fim a utilização de ozônio (O<sub>3</sub>) em grãos (CARDOSO et al., 2005); de misturas de CO<sub>2</sub> com fosfina no controle do gorgulho do milho (CASELLA, et al., 2000; FARONI, 2004; JORGE e SANTOS, 2001; COELHO et al., 2000), o uso de terras diatomáceas em semente de milho (CERRUTI e LAZZARI, 2006), o uso de congelamento para controle de insetos pragas em grãos armazenados (GARCIA et al., 2004), inibidores de amilase em híbridos de milho (MARSARO et al., 2005) e altos teores de CO<sub>2</sub> (SANTOS e VILELA, 1998; SANTOS, 1995), entre outros.

A atmosfera modificada (AM), uma área de pesquisa bem desenvolvida, consiste basicamente na aplicação de gases inertes na estocagem em embalagens plásticas, com barreiras aos gases (GOULD, 1996). Nestas ocorre a ação individual dos gases onde, atuando sobre a fisiologia de insetos e fungos e dificultando seu desenvolvimento, isto resulta na proteção dos grãos (COELHO et al., 2000; CRUZ e SOARES, 2002). Esta atmosfera, uma vez condicionada no interior da embalagem, passa a se alterar de acordo com o comportamento do produto, permeabilidade da

embalagem aos gases e alterações no meio onde está inserido, daí a denominação de atmosfera modificada (SARANTÓPOULUS et al., 1998).

## 2.1 OS GRÃOS E SUAS CARACTERÍSTICAS

Todos os organismos vivos estão sujeitos à influência de fatores físicos, químicos e biológicos do meio ambiente que os rodeia. No caso dos grãos e das sementes, os fatores físicos possuem influência definitiva sobre sua conservação. Fatores físicos como a temperatura e a umidade do ar são de grande importância do ponto de vista do armazenamento, manejo e conservação dos grãos e sementes, pela forma direta com que exercem influência sobre estes produtos vegetais (GENEL, 1976; ALENCAR et al., 2002).

É importante reconhecer que o grão, um vegetal, é um ser vivo, portanto respira, elimina gás carbônico, água e calor. Tem a capacidade de reagir às doenças, aos ataques dos insetos e microrganismos e, em caso de “doença”, aumentar a sua temperatura, através da atividade respiratória mais intensa, liberando mais calor (CANEPPELE et al., 2003; SANTOS e FOSTER, 1983). Vários fatores influenciam nestas variações de temperaturas. Fatores físicos como a integridade e condutividade térmica dos grãos, fatores bioquímicos como respiração, atividade metabólica, fermentação de carboidratos, perda de proteínas, rancificação de gorduras e biológicos como infestação de insetos, microrganismos, respiração e metabolismo acelerado de grãos “doentes” (WEBER, 1995).

De acordo com Lindley (1998), após a degradação microbiológica, a oxidação de compostos que provoca rancidez constitui a segunda maior causa de deterioração dos alimentos. A rancidez é percebida mediante a produção de compostos indesejáveis causados pelas reações de oxidação e hidrólise de certos componentes que tornam o produto inaceitável para o consumo (TAWFIK e HUYGHEBAERT, 1997).

Os grãos têm a sua qualidade comprometida pelo ataque dos insetos e fungos, que, em uma massa com excesso de umidade e calor, encontram ambientes ideais para a proliferação e conseqüente deterioração quantitativa e qualitativa da massa armazenada (WEBER, 1995).

A qualidade dos grãos é especificada por sua aparência, uniformidade, condição sanitária, características nutricionais e industriais. Os danos causados por

insetos, mofos e fungos reduzem a qualidade e quantidade de grãos durante a estocagem (MARTINS et al.,1985). Estes danos consistem normalmente de quebra e contaminação com insetos mortos, dejetos e fragmentos, reduzindo seu valor comercial tendo em vista que as indústrias adotam regras rígidas para compra de grãos (CANEPPELE et al., 2003; SANTOS e FOSTER, 1983).

Dos fatores deteriorantes dos grãos armazenados os que causam maior prejuízo econômico aos produtores são as pragas dos produtos armazenados, grãos ardidos por fungos e danos físicos no processamento e transporte (PINTO, 2005).

Algumas espécies de grãos são infestadas no campo, em um determinado período que antecede a colheita, através de insetos que voam nas áreas próximas às culturas, como por exemplo, algumas espécies de *Sitophilus* spp e *Rizopherta* spp (Figura 1).

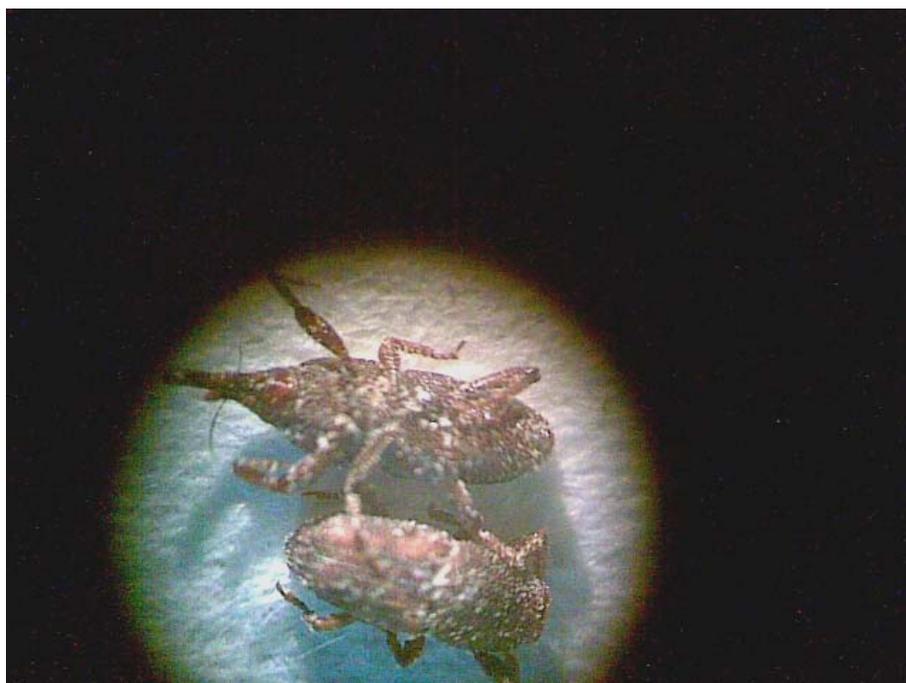


Figura 1- *Sitophilus* spp. (acima) e *Rizopherta* spp (abaixo), cedidos pela EMBRAPA – Trigo, RS (microscopia ampliação 20 vezes)

A despeito das infestações iniciais se apresentarem em níveis baixos, elas possuem grande importância por constituir o início de grandes prejuízos no período de armazenamento, quando surgem as novas gerações de insetos (PUZZI,1977; BECKEL et al., 2004).

## 2.2 MILHO (*Zea mays* L.)

O milho *Zea mays* L., é um vegetal amplamente empregado pela indústria de processamento de farinha e óleos bem como para a alimentação animal. No Brasil a industrialização caracteriza-se por várias empresas que produzem desde produtos mais simples como farinhas, fubá, farelo, creme de milho; até produtos mais elaborados como óleo e amido (PAES, 2006).

O milho é uma das mais eficientes plantas armazenadoras de energia existentes na natureza. De uma semente que pesa pouco mais de 0,3 g irá surgir uma planta geralmente com mais de 2,0 m de altura, isto dentro do espaço de tempo de cerca de nove semanas. Nos meses seguintes, essa planta produz ao redor de 600 a 1000 sementes similares àquela da qual de originou (MAGALHÃES, 2002).

O milho, alimento energético para as dietas humanas e animal, tem esta característica baseada em sua composição predominantemente de carboidratos (amido) e lipídeos (óleo). Sua proteína possui qualidade inferior a de outras fontes animais e vegetais, exceto a proteína do milho especial de alta qualidade protéica ou QMP (quality protein maize), oriunda de melhoramento genético, neste caso comparada a caseína do leite (PAES, 2006).

O óleo de milho possui uma composição de ácidos graxos que define sua importância em dietas, principalmente para a prevenção de doenças cardiovasculares e o combate ao colesterol sérico elevado. Possui ainda em seus lipídeos tocoferóis (vitamina E) e carotenóides. Os tocoferóis fazem parte da estrutura de hormônios e também atuam como oxidantes, enquanto os carotenóides, principalmente zeaxantina e luteína, possuem ação anticâncer, devido a sua propriedade antioxidante. Zeaxantina e luteína fazem parte da região macular da retina dos olhos, sendo importantes na integridade da mácula, garantindo a manutenção da visão e a prevenção da degeneração macular, doença que aflige especialmente os idosos e pode levar a cegueira. Já os carotenos (alfa e beta) podem ser convertidos a retinol, uma substância pró-vitamina A (PAES, 2006).

A demanda do óleo de milho tem sido muito incentivada por campanhas publicitárias e o amido desta semente é o produto com maior capacidade de absorção pelo mercado consumidor devido à sua múltipla utilização intermediária. A

composição média do milho é de 13% de água, 10% de matérias protéicas, 5% de matérias graxas, 68,5% de carboidratos, 2% de fibras e 1,5% de cinzas. Parte bastante considerável de sua produção é consumida para alimento animal (PUZZI,1977; EMBRAPA MILHO E SORGO, 2006).

O gérmen representa 11% do grão de milho e concentra quase a totalidade dos lipídeos (óleo e vitamina E) (83%) e dos minerais (78%) do grão, além de conter quantidades importantes de proteínas (26%) e açúcares (70%). Essa fração é a única viva do grão e onde estão presentes as proteínas do tipo albuminas, globulinas e glutelinas, proteínas com maior qualidade nutricional e melhores propriedades tecnológicas do que o amido (PAES, 2006).

Os grãos de milho por possuírem em torno de 5% de matérias graxas (PAES, 2006), são susceptíveis, durante o armazenamento, à oxidação dos lipídios provocando importantes modificações em seu sabor e odor e conseqüente perda de qualidade do produto (ZAMBIASI, 1999).

Para o milho moído o padrão de identidade e qualidade estabelece como níveis mínimos para componentes nutricionais principais o que segue: umidade máxima 15%, acidez máxima 5 ml de NaOH 1 N, carboidratos 72%, proteínas 7% e gorduras totais 1% (BRASIL, 1978).

## **2.3 INSETOS**

Desde que os primeiros colonizadores vieram às Américas, trouxeram vários tipos de grãos, muitos de grande importância econômica nos dias de hoje. É possível que estes grãos trouxeram suas infestações características que foram ambientadas aos nossos cultivos. Posteriormente outros fatores como o comércio nacional e internacional, a grande capacidade de deslocamento das infestações (capacidade de voar), a utilização de armazéns infestados de um ano para outro, transporte por meios infestados, máquinas infestadas e estocagem próxima a armazéns infestados facilitaram a proliferação (GENEL,1976).

Os insetos são artrópodes, animais cujo corpo é segmentado e coberto por um tegumento chamado exoesqueleto que serve de apoio aos músculos e órgãos internos. Apresentam o corpo dividido em três regiões cabeça, com aparelho bucal e os órgãos dos sentidos, tórax, com seis pernas e asas, e abdome onde se acham os órgãos digestivos e reprodutores (PUZZI, 1977).

Todos os insetos que atacam os grãos armazenados possuem grande capacidade de se reproduzir. Possuem respiração traqueal, tubos membranosos e ramificados que se comunicam com o exterior por estigmas. Durante seu ciclo de vida passam por um processo de metamorfose. Apresentam metamorfose completa, com quatro estágios bem distintos: ovo, que é depositado dentro ou na superfície dos grãos; a larva, que se alimenta intensivamente e se desenvolve; a pupa, que permanece em estado de repouso e se transforma na forma adulta, e finalmente, a fase do inseto adulto, (besouro ou mariposa), cuja principal função é a da reprodução e disseminação da espécie. A larva é o único estágio do inseto que se desenvolve, consumindo durante seu crescimento quantidade de alimento muitas vezes maior ao seu próprio peso (Figura 2). Estes insetos são classificados como primários, por terem capacidade de atacar os grãos inteiros e sadios rompendo o tegumento externo e atingindo o endosperma, do qual se alimentam, constituem o grupo de pragas com maior importância econômica (PUZZI,1977).



Figura 2 - Destruição interna do grão feita por larvas de *Sitophilus* spp ( microscopia aumento 20 vezes).

A experiência tem demonstrado que a fase de ovo é mais difícil de combater, nos trabalhos de controle de pragas, as larvas são as mais destrutivas e responsáveis pela maior parte dos danos que ocasionam os insetos (GENEL,1976).

A identificação das pragas é indispensável para a escolha da melhor tecnologia de combate. Em estudo apresentado por Genel (1976) constata-se como inseto de maior importância para o milho, os da espécie *Sitophilus* sp., tanto do ponto de vista econômico como do ponto de vista de causadores de infestações no campo (SANTOS et al., 2002)

### 2.3.1 Caracterização do *Sitophilus* spp (CARUNCHOS DOS CEREAIS).

Os insetos da espécie *Sitophilus* spp, de acordo com o hábito alimentar, são classificados como pragas primárias internas. As pragas primárias são capazes de atacar os grãos íntegros e saudáveis e completam seu ciclo evolutivo no interior de apenas um grão, os adultos rompem a película protetora dos grãos com as mandíbulas e depositam o ovo no seu interior (LIMA et al., 1979; GALLO et al., 1988).

As espécies *Sitophilus oryzae* e *Sitophilus zeamais* são, praticamente idênticas e não podem ser identificadas pela parte externa do inseto (LORINI, 2005).

Embora as duas espécies possam ser encontradas com frequência, atacando o mesmo produto, tem sido observado que o *S. zeamais* é o principal responsável pelas infestações que antecedem as colheitas, em face de maior tendência da espécie para o vôo. Estes, além do milho e arroz, alimentam-se de farinha, trigo, cevada, aveia, videiras (BOTTON et al.,2005) etc. Adultos ainda se alimentam de substâncias secas como pêssegos e ameixas . Reconhece-se o inseto adulto por ser um besouro (Figura 1), medindo de 3 a 5 mm de comprimento de forma alongada; coloração castanha com quatro manchas claras nas costas (élitros)(Figura 3) (LORINI, 2005).

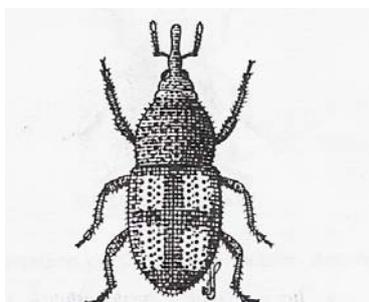


Figura 3 - Caruncho do milho e arroz ou dos cereais, Inseto adulto – *Sitophilus* spp.  
Fonte: LORINI, 2005.

Sua cabeça é prolongada para frente, com a projeção do aparelho bucal recurvada para baixo onde estão as peças bucais (Figuras 4 e 5).



Figura 4 - *Sitophilus* spp. em vista superior, no detalhe cabeça e boca. (microscopia ampliação 20 vezes).

Fonte: Foto em microscópio feita nos laboratórios da EMBRAPA - Trigo



Figura 5 - *Sitophilus* spp. em vista inferior, no detalhe cabeça e boca. (microscopia ampliação 50 vezes).

Fonte: Foto em microscópio feita nos laboratórios da EMBRAPA - Trigo

Esta espécie possui asas posteriores bem desenvolvidas, podendo voar muito rápido e infestar os grãos maduros ainda no campo. Em seu ciclo evolutivo a fêmea,

com suas peças bucais, perfura o grão onde insere um ovo e fecha o orifício com uma espécie de gelatina que produz. As larvas provenientes destes ovos são cor creme com cabeça castanha, eclodem, se desenvolvem e, somente, deixam o grão após atingir a fase adulta (GALLO et al., 1988). Esta se transforma em pupa que por sua vez se transforma em inseto adulto saindo do grão (Figura 6). Cada fêmea coloca até 150 ovos com ciclo evolutivo em torno de 4 a 5 semanas em condições ótimas de 28°C e 70% de umidade relativa. (PUZZI,1977 e GALLO et al., 1978).



Figura 6 - *Sitophilus* spp. adulto, saindo do interior do grão (microscopia aumento 20 vezes).  
Fonte: Foto em microscópio feita nos laboratórios da EMBRAPA - Trigo.

Esta espécie pode ser encontrada em todas as regiões quentes e tropicais do mundo. É praga primária de milho, trigo, arroz e sorgo, mostrando preferência marcante para desovar em milho e depois em trigo, arroz e sorgo. Pode também se desenvolver em produtos de cereais processados, como macarrão, e em mandioca desidratada (DOBIE et al., 1984). Podem ainda infestar os grãos no campo antes do armazenamento (EVANS, 1981, apud ATHIÉ e PAULA, 2002; GALLO et al., 1988).

Particularmente o *Sitophilus granarius* (L.), com ocorrência característica no Chile e Nova Zelândia, tem sido encontrado infestando grão-de-bico e mandioca (VELASQUEZ e TRIVELLI, 1983), também castanha de caju e algodão armazenado, sendo os adultos encontrados, danificando uvas, maçãs e pêras (CHARLES, 1998).

O adulto pode voar e é atraído pela luz. Quando molestado, recolhe as pernas

junto ao corpo aparentando muitas vezes estar morto (KOEHLER, 1994; LYON, 2000).

As principais características das espécies estão comparadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Comparativo entre espécies / parâmetros ideais para seu desenvolvimento e reprodução / *Sitophilus zeamais* Motschulsky, *Sitophilus oryzae* (L.) e *Sitophilus granarius* (L.)

<b>Características</b>	<b><i>S. zeamais</i></b>	<b><i>S. oryzae</i></b>	<b><i>S. granarius</i></b>
Umidade Relativa Mínima (%)	12,5 (a)	10,5 (b)	-
Voadores	Sim (a)	Sim (a)	Não (c)
Características ideais, do milho, para desenvolvimento de insetos	28°C 70% UR (a)	29°C (27 a 31) 70% UR (a)	30°C (26 a 30) 70% UR (a)
Surge Inseto Adulto em:	34 dias (d)	25 dias (b)	26 dias (e)
Ovos por fêmea	282 (d)	300 a 400 (e)	36 a 254 (e)
Vida adulta	4 a 5 meses	7 a 8 meses (f)	7 a 8 meses(e)
Vida Larva	-	3 dias (b)	3 dias (e)
Vida Pupa	-	6 dias (b)	6 dias (e)
Ocorrência no Brasil	Sim (g)	Sim (g)	Não (g)

Fonte:Tabela adaptada de: (a) ATHIÉ e PAULA, 2002, (b) KOEHLER, 1994, (c) DOBIE et al.,1984, (d) ROSSETO, 1972, (e) LYON, 2000, (f) CHARLES, 1998, (g) LORINI, 2005.

## 2.4 CONTROLE DE INSETOS

### 2.4.1 Eliminação de Insetos com Fumigantes

Fumigantes são produtos que exercem ação tóxica sobre os insetos na forma de gás. Os principais fumigantes, Brometo de Metila (CH<sub>3</sub>Br) e Fosfina (PH<sub>3</sub>), difundem-se na forma de moléculas isoladas, o que permite sua penetração nos reduzidos espaços intergranulares (AFONSO, 2001).

Os fumigantes agem penetrando no sistema respiratório dos insetos atuando sobre as enzimas das células ou diretamente sobre o sistema nervoso, resultando em sua morte. Quanto maior os ritmos respiratórios, mais rápidos é absorvido a dose letal, assim, com temperaturas mais elevadas o processo é otimizado seja por maior

respiração ou por maior atividade do gás, devido a sua maior expansividade (AFONSO, 2001).

Existem diferenças de susceptibilidade entre as espécies e entre as fases da própria espécie, além de desenvolverem resistência aos diferentes inseticidas usados para seu controle, sejam fumigantes ou inseticidas de contato (LORINI, 2005). De acordo com Soderlund e Bloomquist (1990) citados por Lorini (2005), a resistência aos inseticidas se desenvolve por três mecanismos; redução da penetração do inseticida pela cutícula do inseto, detoxificação ou metabolização do inseticida por enzimas e redução da sensibilidade no sítio de ação do inseticida no sistema nervoso.

Este efeito indesejado de ação por contato, o surgimento de resistência nos insetos, tem provocado a necessidade de constantes aumentos de doses de inseticidas e, conseqüentemente, aumento do acúmulo de resíduos nos grãos, bem como aumento dos riscos de intoxicação dos trabalhadores que manuseiam os grãos e os inseticidas (PUZZI, 1986; COELHO et al., 2000).

No Brasil, ainda são poucas as informações disponíveis, sobre a resistência de insetos aos inseticidas, principalmente à fosfina. Trabalhos realizados por Pacheco et al. (1990) e Sartori et al. (1990) ambos citados por Martinazzo et al. (2000), constataram a resistência à fosfina em populações de *Sitophilus orizae* proveniente de diversos estados brasileiros. Price e Mills (1988), também citados por Martinazzo et al. (2000), observaram que, tanto para os grupos resistentes como para os suscetíveis, o tempo de exposição à fosfina é um fator mais crítico que a dosagem. Contudo para o controle de populações resistentes, é necessário expor os insetos a dosagens elevadas por grandes períodos (MARTINAZZO et al., 2000).

O brometo de metila está sendo proibido para uso em grãos devido a sua alta toxicidade, efeito residual e ausência de odor (BELL, 2000). Com a assinatura do Protocolo de Montreal no ano de 2005, ficou proibido sua importação e produção em países desenvolvidos, por ser um agressor da camada de ozônio e terá sua utilização totalmente proibida em 2015 (PAES, 2006).

No caso de sementes, o emprego de fumigantes a base de fosfina, tem a vantagem de não alterar seu poder germinativo (PUZZI, 1986; SCHNEIDER e LORINI, 1993).

Assim, o emprego de pastilhas de fosfeto de alumínio, que liberam a fosfina, cresceu devido a sua notável eficiência (grande poder inseticida que age sobre

todas as fases de desenvolvimento do inseto) e facilidade de aplicação (PUZZI, 1986).

Porém, a fosfina deve ser manipulada com precauções, possui cheiro semelhante ao carbureto, deve-se ter a mão máscara de proteção para emergências, não fumar, beber e ou comer durante a aplicação e após deve-se lavar as áreas de contato com água e sabão, conforme citado nas orientações de manuseio técnico deste produto (PUZZI, 1986).

A fosfina, como fumigante, apresenta algumas desvantagens adicionais como reagir com os metais não ferrosos, principalmente o cobre, acentuando sua corrosão, demanda de longo tempo de aeração, inflamabilidade em altas concentrações e toxicidade aguda podendo provocar também depreciação comercial do produto fumigado (GONÇALVES, 2000). A tolerância para os níveis residuais de fosfina nos grãos é de 0,1 ppm (PUZZI, 1986).

#### 2.4.2 Eliminação de Insetos com CO<sub>2</sub>

##### 2.4.2.1 Efeito do CO<sub>2</sub> sobre os grãos e sementes

Em relação a ação do CO<sub>2</sub>, sobre os grãos, Bond e Miller (1988) e Banks (1984), citados por Afonso (2001), comentaram que a redução substancial da concentração de oxigênio possui o potencial para matar as pragas comumente encontradas nos produtos armazenados, além de reduzir outras atividades biológicas, como a respiração dos grãos e a sua degradação oxidativa, conferindo assim a capacidade de se manterem íntegros e sem variações nutricionais significativas por muitos meses. Contudo, atmosferas que possuem significativos conteúdos de oxigênio e altas concentrações de dióxido de carbono agem apenas como gases tóxicos. Esses autores observaram ainda que é pouco provável que esses gases possuam qualquer outro efeito direto na preservação da qualidade do produto, embora em longo prazo, reduzam a infestação por insetos.

No estudo de sementes tem-se que o chamado “vigor” é o reflexo de um conjunto de fatores que determina o potencial fisiológico das sementes, sendo que a deterioração, processo que o influencia diretamente, têm início imediatamente após a maturidade fisiológica e prossegue enquanto as sementes permanecem no campo, durante a colheita, beneficiamento e armazenamento (CERUTI e LÁZZARI, 2006). A desestruturação dos sistemas de membranas em nível celular tem sido relatada

como a conseqüência inicial da deterioração. Na presença de oxigênio, tem-se a aceleração das reações oxidativas apontadas como co-responsáveis pela deterioração das sementes (HASENHUETTL e WAN, 1992), tendo como exemplo a oxidação dos ácidos graxos (ALVES et al., 2004).

Quando se trata do uso de altas concentrações de CO<sub>2</sub> em sementes existe a difusão deste gás através das membranas celulares, acidificação da umidade interna ao grão com a formação de ácido carbônico e destruição da membrana celular liberando, ao meio externo, eletrólitos essenciais à germinação, principalmente íons inorgânicos, diminuindo desta forma o vigor da semente (ALVES et al., 2004).

A integridade das membranas celulares é indicador para avaliação do vigor em sementes, sendo o teste mais usual para medir esta integridade a medida de condutividade elétrica que cresce diretamente proporcional a deterioração do grão, devido à crescente concentração de íons orgânicos em solução (FESSEL et al., 2006; CERUTI e LÁZZARI, 2006).

#### 2.4.2.2 Efeito do CO<sub>2</sub> sobre os microorganismos.

O CO<sub>2</sub> é comumente adicionado a misturas gasosas em processos de atmosfera modificada ou controlada, principalmente devido ao seu efeito bacteriostático e fungistático sobre muitos tipos de microorganismos, agindo como um conservante de alimentos (CRUZ e SOARES, 2002).

Segundo Sarantópoulos et al. (1998) o CO<sub>2</sub> tem efeito inibitório sobre o metabolismo aeróbio e anaeróbio. Sua ação sobre a flora microbiana tem sido atribuída a vários fatores:

- alterações das funções da membrana celular, incluindo efeitos de captura e absorção de nutrientes;
- inibição direta das enzimas ou diminuição da velocidade das reações enzimáticas;
- penetração na membrana bacteriana e conseqüente alteração do pH intracelular;
- alteração nas propriedades físico-químicas das proteínas.

Embora não tenham sido bem elucidados os mecanismos da inibição bacteriana pelo CO<sub>2</sub>, o resultado de sua ação é o prolongamento da fase de adaptação e o aumento do tempo de geração de microorganismos, o que resulta em

menor velocidade de crescimento da flora microbiana (SARANTÓPOULUS et al., 1998)

Também em relação aos microrganismos fungos e leveduras, Christensen (1978) citado por Afonso (2001), enumerou algumas vantagens do armazenamento em atmosfera controlada a base de CO<sub>2</sub>, como a inibição de produção de fungos aeróbios, a prevenção de produção de micotoxinas e a conservação dos fatores desejáveis à qualidade do produto.

#### 2.4.2.3 Efeito do CO<sub>2</sub> sobre os insetos.

Segundo Santos et al., 2002, uma alternativa para a solução definitiva no controle de insetos é a modificação da atmosfera no interior da estrutura armazenadora, isto exige apenas possibilidade de vedação dos silos e ou sistemas de armazenagem. O controle de níveis de gás carbônico e oxigênio no interior do espaço intergranular é onde se baseia esta tecnologia (FARONI et al., 2002). Como exemplo da necessidade crescente de entender esta tecnologia foi desenvolvida por Mann et al. (1999) um procedimento para prever a mortalidade de adultos de *Cryptolestes ferrugineus*, exposto a condições de concentração de CO<sub>2</sub> variáveis, tendo como resultado da utilização da equação de regressão a determinação de um índice de letalidade cumulativo para esta espécie.

A população de insetos comporta-se diferentemente se está em silos, armazenado a granel ou em armazéns, onde os grãos são embalados em sacas para estocagem, pois formam ambientes distintos. O desenvolvimento de uma população de insetos altera a composição do ar reduzindo teores de oxigênio e aumentando de CO<sub>2</sub> devido à respiração de insetos e grãos (PUZZI, 1977; SILVA et al., 1999).

No armazenamento em silos herméticos ou em atmosfera controlada ou até mesmo em atmosfera modificada, verificam-se baixas concentrações de oxigênio e elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> e esta condição impede o desenvolvimento da praga, causando, em pouco tempo, a morte de toda a população de inseto nas diversas fases evolutivas (FARONI et al., 2002; PUZZI, 1977).

Visando ilustrar esta necessidade de O<sub>2</sub>, Conyers e Bell (2007), testaram atmosfera modificada a base de CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> para cinco espécies de besouros, entre eles *Sitophilus granarius* e *Sitophilus oryzae*. Seus resultados demonstraram que os níveis de O<sub>2</sub> necessários para a eliminação total da fase mais suscetível dos insetos

variou com espécies e temperatura, em sua conclusão citam níveis de 4% de O<sub>2</sub> a 25°C, para a eliminação de *Sitophilus granarius* e *Sitophilus oryzae*, e 3% de O<sub>2</sub> a 20°C para a eliminação de todas as espécies. Quando o CO<sub>2</sub> foi aumentado, no mesmo experimento, à níveis de 10 a 20%, níveis de 5% de O<sub>2</sub> já foram suficientes para a eliminação dos insetos à 20°C, mas não a 25°C. A mesma linha de pesquisa foi desenvolvida por Krishnamurthy et al. (1986), que iniciando com misturas com baixo oxigênio (0,5 a 2,6%), gás carbônico em torno de 10% e balanço em nitrogênio, constataram a eliminação total dos insetos estudados em sete dias, quando utilizou-se oxigênio entre 1 e 1,6% associados a uma presença de CO<sub>2</sub> em torno de 10%. Estes ainda identificaram a espécie *S. granarium* como sendo a mais resistente sendo necessário a exposição entre 8 e 10 dias.

Annis e Morton (1997), trabalharam com o desenvolvimento de um modelo matemático a fim de definir o nível de mortalidade do *Sitophilus oryzae*, em vários estágios de seu desenvolvimento quando comparadas às concentrações de CO<sub>2</sub>. Seus resultados mostraram que para altas concentrações de CO<sub>2</sub>, as pupas são as mais tolerantes (99% de letalidade em 6,9 dias e 65% de CO<sub>2</sub>), e os adultos são os mais suscetíveis (99% de letalidade em 1,5 dias e 65% de CO<sub>2</sub>). O mesmo trabalho mostrou que em baixas concentrações os ovos foram mais suscetíveis (99% de letalidade em 8,5 dias e 20% de CO<sub>2</sub>), enquanto as outras fases mostraram, para uma letalidade de 99%, períodos maiores do que 45 dias.

Características do CO<sub>2</sub>, como a facilidade de dissolução em umidade e gorduras, difusão em membranas celulares e facilidade de reação ácida com moléculas de água, são certamente responsáveis pela eficácia do processo de atmosfera modificada ou controlada no controle de proliferação de pragas de insetos em grãos. Como é comum em todos os organismos aeróbios, o inseto necessita obter oxigênio do ambiente e eliminar gás carbônico. Esse fenômeno de troca gasosa ocorre por meio de um sistema traqueal interno que se ramifica através do corpo do inseto. As ramificações estão em contato com todos os órgãos internos e tecidos e são particularmente numerosas em tecidos com alta demanda de oxigênio (AFONSO, 2001).

De acordo com Chapman (1998), citado por Afonso, (2001), as traquéias são extensões que levam o ar às células. Essa rede de tubos se abre para o meio externo através de espiráculos, os quais são constituídos tipicamente por uma câmara ou átrio, provido por válvulas com mecanismos de abertura e fechamento.

Considera-se que a função dos espiráculos seja a de controlar a difusão dos gases nos insetos. Quando os espiráculos estão fechados, qualquer órgão ativo ou tecido pode retirar o  $O_2$  de qualquer parte do sistema, e os níveis de  $O_2$  são restabelecidos pela abertura de um simples par de espiráculos. Normalmente os espiráculos são mantidos fechados e somente são abertos o tempo suficiente para o inseto ser suprido de  $O_2$ . Se a taxa de metabolismo do inseto for aumentada devido a elevadas temperaturas ou em circunstâncias como no auge da digestão e na produção de ovos pela fêmea, outros espiráculos são ativados e abertos mais freqüentemente por maior período de tempo, o que resulta no aumento da taxa de perda de água (AFONSO, 2001). A maior parte da perda de água nos insetos acontece por evaporação nos espiráculos. Segundo Semple et al. (1992), citados por Afonso (2001), o movimento dos espiráculos é regulado pelo sistema nervoso central, sendo estimulado pela taxa de  $CO_2$  presente no meio e temperatura.

Efeitos da temperatura na letalidade dos insetos foram notados por Donahaye et al. (1996), quando relacionaram a letalidade à níveis de oxigênio considerando variações de temperatura onde sua principal observação foi que o efeito do aumento da temperatura em taxas de mortalidade foi significativo em todos os níveis de  $O_2$  estudados para todos os insetos.

Ainda verificando o comportamento das espécies em diferentes temperaturas Locatelli e Daolio (1993) estabeleceram que a sobrevivência de qualquer fase de das espécies estudadas (*Rhyzopertha dominica*, *Sitophilus oryzae*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Plodia interpunctella*) pode ser prevenida através do tratamento de 54 h a 20°C, 30 h a 25°C, 24h a 30°C, 18h a 35°C ou 12 h a 40°C, seguindo a mesma linha de raciocínio de utilização de atmosfera modificada em vácuo.

Quando as exigências de  $O_2$  são grandes, movimentos de bombeamento visando ventilação são iniciados e o ritmo de abertura e fechamento dos espiráculos é modificado de tal forma que um fluxo dirigido de ar é forçado pelo sistema (AFONSO, 2001). O centro respiratório secundário, localizado em um dos segmentos torácicos, tem a função de controlar os movimentos de trocas gasosas do inseto como um todo, podendo ser estimulado por tensões de 0,2 a 3,6% de  $CO_2$ , enquanto os centros primários (segmentos isolados do abdome) podem ser ativados na presença de 12 a 15% de  $CO_2$ . O movimento de bombeamento visando ventilação nos insetos pode ocorrer na presença de 10% de  $CO_2$ , mesmo quando o inseto está em repouso. É provável que alguns processos químicos ajam nos casos

de trocas gasosas, como o aumento da acidez no sistema nervoso central, devido ao excesso de  $\text{CO}_2$  (SEMPLE et al., 1992 apud AFONSO, 2001).

Desta forma, como consequência dos altos teores de  $\text{CO}_2$  no ambiente, nos insetos é gerada grande frequência de movimentos de espiráculos visando o bombeamento de  $\text{O}_2$  aos órgãos internos, porém como resultado tem-se a desidratação do inseto resultando em sua morte (SANTOS e VILELA, 1998).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nos laboratórios da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA – Trigo), Passo Fundo, RS e no Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA), da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

#### 3.1 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

##### 3.1.1 Preparação da Matéria Prima (Milho Orgânico)

O milho orgânico da variedade FUNDACEP – 35, foi adquirido da Cooperativa da Agricultura Familiar de Tenente Portela (COPERFAMILIA), localizada no município de Tenente Portela, Estado do Rio Grande do Sul, na quantidade de 50 kg, previamente limpos, selecionados e classificados na origem.

Este material foi embalado em porções de 2 kg, em sacos de polietileno LD. Após esse acondicionamento, os grãos foram estocados à -18°C, por quarenta dias, com o intuito de garantir a eliminação das diversas fases viáveis do inseto que pudessem existir provenientes de uma contaminação na lavoura, silos de armazenagem ou transporte (GARCIA et al., 2004; AFONSO, 2001).

Cada vez que se precisava material para os experimentos, procedia-se o descongelamento lento (8°C durante 24 horas), em pacote fechado visando não aumentar a umidade do grão.

##### 3.1.2 Criação de Insetos

Os insetos *Sitophilus* spp foram fornecidos pela EMBRAPA – Trigo, Passo Fundo, RS (Figura 7). Estes foram divididos em quatro grupos de 550 insetos adultos, com idades desconhecidas e não sexados.



Figura 7 - *Sitophilus* spp. (microscopia, ampliação 10 vezes)  
Fonte: Foto em microscópio feita nos laboratórios da EMBRAPA - Trigo

Cada grupo de insetos foi colocado em recipiente plástico de dois litros de capacidade, que continha 1 kg de milho (previamente descongelado) e selados com tampas teladas e os mesmos foram estocados durante 15 dias numa câmara de criação de insetos (desenvolvida pela EMBRAPA – Trigo), com temperatura, umidade e períodos de luz controlados, de 26°C, 55% de umidade relativa e ciclos de luz de 12/12 horas respectivamente (Figura 8). Este tempo empregado foi superior ao período médio de pré-postura (cópula e ovoposição) que é de 6 dias segundo Rosseto, (1972), Coelho et al., (2000) e Casella et al. (1998).

Após este período peneirou-se o total da amostra em peneira malha nº 13 (malhas por polegada) com a finalidade de retirar todos os insetos adultos os quais não foram empregados nos experimentos. Posteriormente, o material peneirado foi novamente colocado em potes com tampas teladas e armazenado em câmara climatizada à 26°C, 55% UR por 56 dias. A partir do trigésimo dia foram obtidos os primeiros insetos adultos nos recipientes, sendo considerados como a idade da primeira geração de *Sitophilus* spp. entre 1 e 30 dias.



Figura 8 - Câmara climatizada para criação de insetos (26°C, 55 % de umidade relativa e luz de 12/12 horas)

Fonte: Foto feita nos laboratórios da EMBRAPA - Trigo

O tempo de criação de 56 dias foi superior ao total de desenvolvimento do inseto adulto que compreende a eclosão da larva, 3 dias, alimentação da larva, 18 dias, duração da pupa, 6 dias e permanência do inseto adulto no grão durante 4 dias (KOEHLER, 1994). A seguir, novamente peneirou-se o material para a separação dos insetos adultos e não sexados.

Nesta população de insetos estavam os indivíduos que foram empregados para a infestação das amostras de milho, que foram submetidas e avaliadas em diferentes condições de atmosfera modificada durante o experimento.

### 3.1.3 Preparação da Amostras

Amostras de 250 gramas de milho (previamente descongelada) foram acondicionadas em recipientes plásticos com tampas teladas (Figura 9) e infestadas com 50 insetos adultos e não sexados procedentes da criação. Para a totalidade do experimento foram necessários 147 potes plásticos (LORINI, 2004).

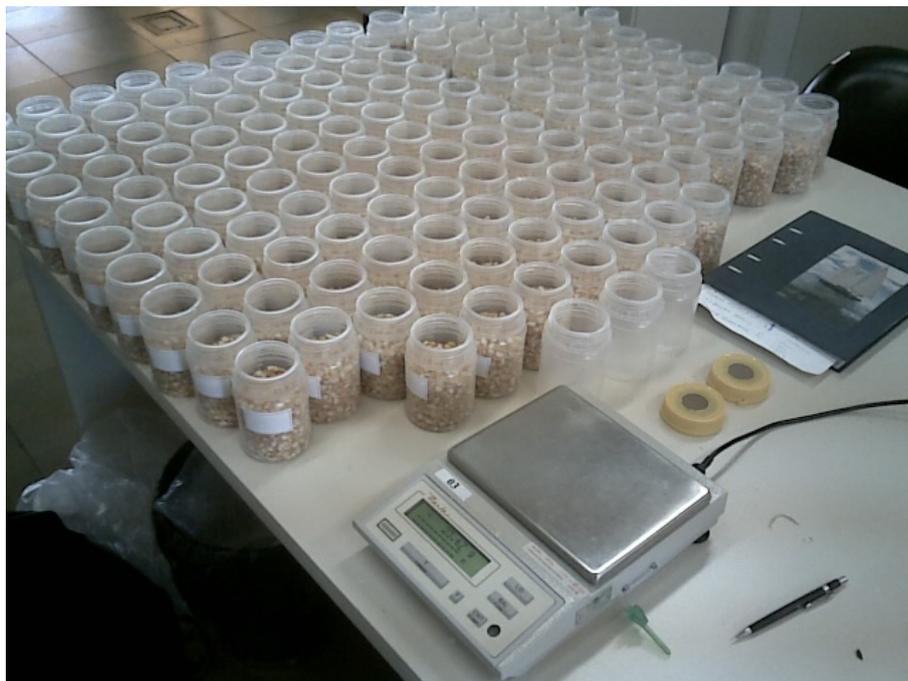


Figura 9 - Pesagem das amostras (250 g de milho) para posterior infestação com insetos (50).

Fonte: Foto feita nos laboratórios da EMBRAPA - Trigo

Estas amostras ficaram em câmara climatizada (26°C, 55% UR e ciclo de luz 12/12 horas) por 45 dias, visando permitir a cópula, postura de novos ovos, eclosão, desenvolvimento das larvas e pupas (Figura 10). Após este período cada amostra foi identificada e transferida em sua totalidade (250 g de milho e 50 insetos adultos oriundos da infestação inicial), para as embalagens barreira nas quais se realizaram os tratamentos de atmosfera modificada (AM) (LORINI, 2004).

As embalagens barreira utilizadas no experimento foram de especificação T7325B, da empresa SEALED AIR – CRYOVAC, cujas taxas de permeabilidade ao oxigênio (TPO<sub>2</sub>) e ao vapor de água (TPVA) determinadas pelos fabricantes são de 5 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>/dia à 23°C (método ASTM D – 3985) e 14 g/m<sup>2</sup>/dia à 38°C e 90% de umidade relativa (método ASTM F – 1249) respectivamente. Estas embalagens são formadas por estruturas coextrusadas de nylon (poliamida - PA) para conferir resistência mecânica, polietileno (PE) como selante e copolímeros de etileno e álcool vinílico (EVOH) como barreira, e possuem uma espessura de 63 µm de parede.



Figura 10 - Armazenamento do milho infestado em câmara climatizada a 26°C, 55% UR e ciclo de luz 12 / 12 horas.

Fonte: Foto feita nos laboratórios da EMBRAPA - Trigo

Para a modificação da atmosfera e posterior selagem das embalagens contendo as amostras, foi empregada a seladora a vácuo compensado, marca SELOVAC, modelo 200 B. O procedimento de acondicionamento de atmosferas iniciou-se com a execução de vácuo máximo de 750 mm Hg na câmara da seladora, seguindo com a injeção de misturas gasosas de concentrações predefinidas, de CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> (no caso do ar sintético), todas com balanço em nitrogênio, até atingir um vácuo final de 200 mm Hg (quando finda a injeção gasosa). Com estes parâmetros de operação conseguiu-se padronizar o volume de 550 ml de atmosfera gasosa em cada embalagem. A seguir, se procedeu a selagem e abertura da máquina retornando a embalagem à pressão atmosférica (SARANTÓPOULOS et al., 1998).

As diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> com balanço em nitrogênio foram 0%(ar sintético), 20%, 40%, 60%, 80%, estas foram definidas em proporções que representem concentrações de CO<sub>2</sub> baixas, médias e altas.

Foram também acondicionadas em embalagem barreira amostras com atmosfera natural - estas simplesmente seladas manualmente em seladora de marca Barbi. Estas amostras por não terem sido embaladas com o processo de vácuo compensado, não passaram pela etapa de alto vácuo (750 mm Hg). Adicionalmente

foram armazenadas amostras de grãos em recipientes plásticos telados, para servirem de branco ou testemunhas, os quais não foram submetidos a nenhum tratamento, com a finalidade de verificar o desenvolvimento de insetos em condições atmosféricas normais (GONÇALVES, 1998, 2000 e MARTINAZZO et al., 2000).

Nos produtos embalados com AM, após períodos de estocagem de: 1, 2, 3, 4, 5, 15 e 30 dias, foram medidas as concentrações de dióxido de carbono no interior das embalagens. Após esta medição as embalagens foram abertas e cada amostra foi novamente colocada em recipiente plástico de 500 ml com tampa telada, onde permaneceram estocadas em câmara climatizada à 26°C, 55% de umidade relativa e ciclos de luz controladas de 12/12 horas, por 7 dias. Após este período, as amostras foram peneiradas e os insetos adultos vivos e mortos foram contados e descartados.

Este descanso de sete dias visou proporcionar aos insetos adultos a reabilitação da condição de extremo choque gerado pela estocagem em atmosfera modificada, descartando assim possibilidade de erro na avaliação de insetos vivos ou mortos (LORINI, 2004; BECKEL et al., 2004). Ainda em relação ao descanso de 7 dias, salienta-se que este não afeta a segurança das análises em 45 dias com o surgimento de novos insetos adultos, baseado nos estudos de Koehler (1994). Koehler (1994) mostra em seus experimentos que este prazo de infestação não é suficiente para o surgimento de novos insetos adultos somente surgindo neste período; ovos, larvas e pupas.

#### 3.1.4 Efeito da AM sobre a Progenie

Com o intuito de avaliar o efeito dos tratamentos, sobre a progênie (capacidade de gerar descendentes) e a eficiência destes como método de expurgo (eliminação de todas as fases do inseto), as amostras, de onde foram retirados os insetos anteriormente (após contagem), retornaram aos potes telados onde permaneceram por mais 38 dias em câmara climatizada à 26°C, 55% de umidade relativa e ciclos de luz controlados de 12/12 horas.

Após este período, os potes foram abertos, as amostras peneiradas e os adultos, contados. Este prazo de 45 dias após a liberação do tratamento é um período suficiente para observar a geração de novos adultos oriundos das outras fases do inseto como ovo, larva e pupa, que não tenham sido afetadas pelos tratamentos (GONÇALVES, 1998, 2000 e MARTINAZZO et al., 2000).

## 3.2 ANÁLISES

### 3.2.1 Contagem de Insetos

A contagem de insetos mortos e vivos foi realizada de acordo com a metodologia proposta pela FAO (1970,1974) que consiste no peneiramento dos grãos para separação dos insetos adultos. Foram considerados mortos os insetos que, após um minuto não conseguiram desvirar-se quando colocados de costas ou caminhar quando incentivados.

### 3.2.2 Atmosfera Gasosa (%CO<sub>2</sub>)

Para a análise das concentrações de CO<sub>2</sub> foi empregado analisador de gases, marca MOCON, modelo Pac Check 650. Neste analisador se realiza o deslocamento dos gases, provenientes da atmosfera coletada do interior da embalagem, para uma célula eletrolítica nas quais são medidas as concentrações de CO<sub>2</sub> (%).

### 3.2.3 Volume de Gases na Embalagem (Método recomendado por SARANTÓPUOLOS et al., 1998).

Esta análise é importante para garantir o volume constante de atmosfera durante os experimentos, tendo em vista que as variações do volume de gases utilizados alteram significativamente os resultados de experimentos em AM (SARANTÓPOULUS et al., 1998).

Devido ao volume de gases dentro da embalagem permanecer constante, a partir de uma regulagem fixa da seladora e de um volume constante de grãos, foram realizados, após a definição dos parâmetros (tempos) de operação e aparência da embalagem (vácuo de 200 mm Hg na abertura da seladora), medidas de volume de gases por imersão em água, perfuração da embalagem e coleta da atmosfera em becker graduado imerso.

O volume definido de 550 ml de atmosfera gasosa no interior das embalagens foi alcançado fixando-se os parâmetros de regulagem do processo de embalagem na seladora, em escalas adimensionais:

- Vácuo – 6
- Gás – 5,5
- Solda – 4

Fixou-se também no equipamento de injeção dos gases, visando alcançar esta padronização, a pressão de entrada das misturas gasosas (pressão dinâmica na reguladora de pressão ) em 517,15 mm Hg .

### 3.2.4 Análise de Qualidade da Solda (Método recomendado por SARANTÓPUOLOS et al., 1998).

Realizada mediante pintura das soldas com corante rodamina B (solução de 3% deste corante em álcool etílico), para a identificação visual de furos ou micro orifícios na superfície soldada (cordão de solda). Foram testadas 100% das soldas e as embalagens que ficaram com defeitos na solda, foram substituídas (Figura 11).



Figura 11 - Resultado da padronização de volume e teste de selagem das embalagens.  
Fonte: Foto feita nos laboratórios do ICTA – UFRGS

### 3.2.5 Permeabilidade de Embalagens (Método recomendado por ASTM, 2005).

As medidas de taxa de permeabilidade ao O<sub>2</sub> e ao vapor de água foram realizadas pelos fabricantes de embalagens CRYOVAC e VIDEPLAST, utilizando

analisadores de permeabilidade, marca PBI Dansensor, conforme metodologias específicas ASTM F-1249 e D-3985 (ASTM INTERNACIONAL, 2005), TPVA e TPO2 respectivamente. Estas consistem basicamente em medir o volume destes gases que cruzam determinada área de amostra da embalagem durante determinado período de tempo, em câmara interna do analisador onde são controlados pressão e temperatura.

### 3.2.6 Análises de Umidade, Acidez e pH.

Foram feitas, conforme metodologias propostas pela AOAC, citada por Lane (2000), Person (1986) e Instituto Adolfo Lutz (1985), análise de umidade, acidez e pH.

Umidade: Por perda de água em secagem em estufa a 105°C, até atingir peso constante.

Acidez Total: Mediante a titulação com Hidróxido de Sódio, do milho finamente moído e dissolvido em água destilada.

pH: Por medição direta em pHmetro digital, do milho previamente moído e dissolvido em água destilada.

Estas análises foram realizadas para caracterização inicial do milho no primeiro e no trigésimo dia de exposição aos tratamentos em atmosfera natural, 0, 20, 40, 60 e 80% de CO<sub>2</sub> e branco.

## 3.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

O planejamento experimental utilizado foi o de um experimento fatorial completo com 2 fatores principais: A (concentração de CO<sub>2</sub>) e B (dias de exposição), conduzidos por desenho completo e aleatório. Os níveis de cada fator dependeram da resposta estudada, assim temos:

A) Umidade, acidez e pH das amostras de grãos moídos.

Fator A: 0, 20, 40, 60, 80% de CO<sub>2</sub>, atmosfera natural e o branco (o qual não tinha sido submetido a nenhum tratamento)

Fator B: 1 e 30 dias

Respostas: em Umidade (%), Acidez Total (ml de NaOH 1N) e pH.

B) Atmosfera Interna no interior da embalagem

Fator A: 0, 20, 40, 60, 80% de CO<sub>2</sub>, e atmosfera natural.

Fator B: 1, 2, 3, 4, 5, 15 e 30 dias

Respostas: Concentração de CO<sub>2</sub>(%) no interior das embalagens.

C) Para insetos adultos e Progênie (número de sobreviventes)

Fator A: 20, 40, 60, 80% de CO<sub>2</sub>

Fator B: 1, 2, 3, 4, 5, 15 e 30 dias

Respostas: Número de insetos adultos sobreviventes.

D) Para a influência do ciclo de alto vácuo no momento da embalagem

Fator A: 0 % de CO<sub>2</sub> e atmosfera natural

Fator B: 1, 2, 3, 4, 5, 15 e 30 dias

Respostas em números totais de insetos sobreviventes.

Em todas as observações a análise estatística adotada foi:

ANOVA (Análise de Variância), adequada para identificar significância nos fatores principais A e B, bem como em sua interação (A x B). Nos casos onde ocorreram resultados de diferenças significativos na ANOVA, para fator A, fator B ou Interação A x B, foi utilizado o Teste de Comparações Múltiplas de médias de Duncan, indicado para identificar entre quais tratamentos existem diferenças significativas.

Utilizou-se a planilha eletrônica Excel versão 2002 e o software estatístico Statgraphics Plus versão 5.0 para análise estatística dos dados coletados no experimento.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 MATÉRIA PRIMA

Os grãos que foram utilizados no experimento apresentaram teor de umidade inicial médio de 10,43% (base úmida), acidez de 1,76 ml de NaOH 1N e pH de 6,25. Estes resultados estão dentro dos valores exigidos pelos padrões de identidade e qualidade (PIQ) do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento do Brasil. Segundo o PIQ para este produto são exigidos umidade máxima de 15% e acidez máxima de 5 ml de NaOH 1N (BRASIL, 1978).

### 4.2 EFEITO DA ATMOSFERA MODIFICADA (AM)

#### 4.2.1 Efeito da AM nos Grãos

##### 4.2.1.1 Umidade dos Grãos

Na Figura 12, são apresentadas as mudanças de umidade em função do tempo de exposição dos grãos a diferentes atmosferas. Observou-se que no primeiro dia as umidades nas amostras não tiveram alterações significativas, com respeito à umidade inicial, e no trigésimo dia, exceto no branco, a umidade aumentou. Porém, quando comparados somente entre os dias de exposição, em todos eles, o teor de umidade dos grãos aumentou.

A análise de variância (Tabela 2) para umidade mostrou significâncias para o fator principal B (tempo de exposição) e a interação deste com o fator A (atmosferas) ( $\alpha < 0,05$ ), como se verifica na Figura 12. Para o primeiro dia de exposição, a análise de variância indicou que não existiam diferenças entre as médias das diferentes composições atmosféricas. No entanto, o mesmo teste indicou que os resultados obtidos foram diferentes estatisticamente entre o primeiro e trigésimo dia ( $\alpha < 0,05$ ), entre todas as concentrações. Essas diferenças se devem às variadas taxas de respiração que possuem os grãos em função das diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> que interfere na atividade metabólica do produto. Como consequência de sua atividade metabólica comprometida tem-se que a atividade respiratória é menor com conseqüente menor geração de umidade. A permeabilidade ao vapor de água da embalagem (14 g/m<sup>2</sup>/dia à 38°C e 90%), também contribui com estas diferenças,

pois por ser um material semipermeável, os mecanismos de difusão da água promovem o equilíbrio constante desse vapor entre o interior da embalagem e o ambiente na qual está inserido.

Tabela 2 - Análise de variância ANOVA para a umidade (%), levando-se em conta os 7 níveis do Fator A (atmosferas) e 2 níveis do Fator B (tempo de exposição).

Fonte da Variação	SQ	GI	MQ	valor-P	F crítico	
<b>Fator A</b>	1,36	6	0,226	0,1798	1,53	N.S.
<b>Fator B</b>	8,62	1	8,62	0,0000	58,36	*
<b>Interações A x B</b>	2,73	6	0,456	0,0097	3,09	*
<b>Erro</b>	10,34	70	0,147			
<b>Total</b>	23,05	83				

\* Resultados apresentam diferença estatística significativa ( $\alpha < 0,05$ ),

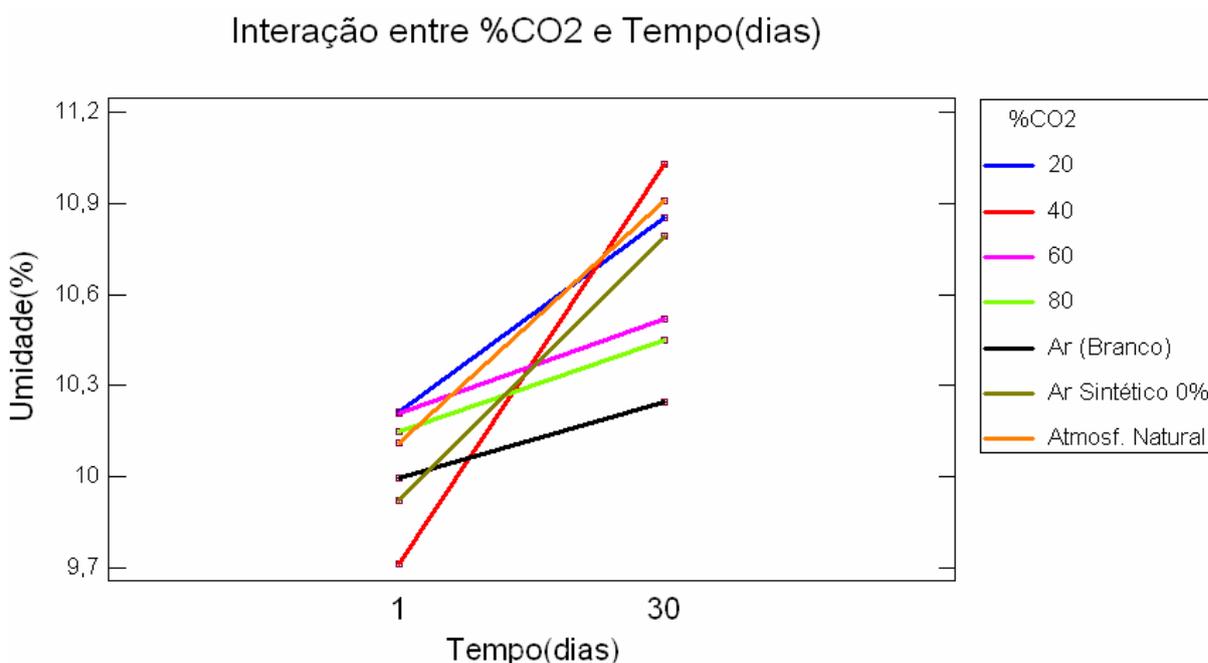


Figura 12 - Gráfico de interação dos fatores A (atmosferas) e B (tempo de exposição) tendo como resposta a umidade expressa em %.

Salienta-se que não foi necessário realizar o teste de comparação múltipla de médias para o fator B tendo em vista este se apresentar apenas com um grau de liberdade.

As tabelas de comparação de médias das observações bem como a planilha de coleta de dados, estão contidas nos anexos 1 e 3 respectivamente.

#### 4.2.1.2 Acidez e pH dos Grãos

Durante o armazenamento, nos ambientes onde houve modificação da atmosfera, os níveis de acidez foram menores quando comparados com o teor inicial (Figura 13). O não aumento da acidez durante a estocagem em AM pode ser devido a que o sistema se encontra com pouca pressão parcial de oxigênio (em médias após o quinto dia de 0,1 a 0,4% de O<sub>2</sub>), sendo que, a taxa de oxidação nos lipídios é uma função direta e contínua da pressão parcial de oxigênio presente. De acordo com Tawfik e Huyghebaert (1997), a presença do oxigênio no interior das embalagens é um dos fatores responsáveis pela oxidação dos lipídios, causando aumento no índice de acidez. Outro fator responsável pelo aumento de acidez identificado em altos níveis de CO<sub>2</sub> é explicado por Hasenhuettl e Wan (1992) e Alves et al. (2004), quando citam o rompimento da membrana celular pelo CO<sub>2</sub> expondo ácidos graxos à hidrólise, liberando-os ao meio acidificando este.

Ainda na Figura 13 observa-se que, no primeiro dia de estocagem os grãos que permaneceram em atmosferas de 0, 20 %CO<sub>2</sub>, ar natural e no branco (21% de O<sub>2</sub>) os valores do índice de acidez mostraram-se maiores que nas outras condições. No entanto, após trinta dias de estocagem somente as atmosferas a 40, 60 e 80% de CO<sub>2</sub> apresentaram um pequeno aumento nos índices de acidez, podendo ser devido à diminuição na atividade da lipase e redução de oxidação de lipídios pela falta do O<sub>2</sub> e na acidificação oriunda da associação do CO<sub>2</sub> com a umidade gerando ácido carbônico (TAWFIK e HUYGHEBAERT, 1997).

A análise de variância (Tabela 3) mostrou significância estatística ( $\alpha < 0,05$ ) nos fatores principais A (atmosferas) e B (tempo de exposição) e na interação entre eles (Figura 13). Ainda na Figura 13 se observa o aumento da acidez do primeiro para o trigésimo dia de armazenamento nas atmosferas de 40, 60 e 80% de CO<sub>2</sub>, como foi mencionado anteriormente. Os resultados do teste de comparação de médias por Duncan (Tabela 4) indicaram que existiam diferenças entre as médias das diferentes composições atmosféricas, tendo-se resultados diferentes de acidez em dois grandes grupos, com baixo CO<sub>2</sub> e grupos com alto CO<sub>2</sub>.

Tabela 3 - Análise de variância ANOVA, para a acidez (ml de NaOH 1N), , levando-se em conta os 7 níveis do Fator A (atmosfera) e 2 níveis do Fator B (tempo de exposição).

Fonte da Variação	SQ	GI	MQ	Valor-P	F crítico	
<b>Fator A</b>	0,77	6	0,12	0,0001	1,53	*
<b>Fator B</b>	0,11	1	0,11	0,0381	58,36	*
<b>Interações A x B</b>	0,79	6	0,13	0,0001	3,09	*
<b>Erro</b>	1,69	70	0,02			
<b>Total</b>	3,36	83				

\* Resultados apresentam diferença estatística significativa ( $\alpha < 0,05$ ),

Tabela 4 - Resultados da análise de médias para acidez, para o fator A (atmosfera).

Fator A	Acidez Médias de Observações*
<b>60% CO<sub>2</sub></b>	1,415 <sup>a</sup>
<b>40% CO<sub>2</sub></b>	1,422 <sup>b</sup>
<b>80% CO<sub>2</sub></b>	1,427 <sup>b</sup>
<b>AR (BRANCO)</b>	1,553 <sup>c</sup>
<b>Atm. Natural</b>	1,567 <sup>d</sup>
<b>20% CO<sub>2</sub></b>	1,593 <sup>d</sup>
<b>Ar Sintético</b>	1,682 <sup>d</sup>

\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo método de Duncan a 5% de probabilidade

Salienta-se que não foi necessário realizar o teste de comparação múltipla de médias para o fator B tendo em vista este se apresentar apenas com um grau de liberdade.

Com respeito ao pH, segundo a análise de variância se observam que foram significativas as diferenças somente para o fator principal A (atmosfera), e sua interação com o fator B (Tabela 5). Os resultados do teste de comparação de médias por Duncan para o Fator A (Tabela 6) indicaram que existiram diferenças entre as médias das diferentes composições atmosféricas, tendo-se resultados estatisticamente diferentes de pH devido às diferentes concentrações de CO<sub>2</sub>. Salienta-se que não foram significativas as respostas para o fator B mantendo-se assim valores de pH em 30 dias muito próximos à média inicial.

Tabela 5 - Análise de variância ANOVA, para o pH, levando-se em conta os 7 níveis do Fator A (atmosfera) e 2 níveis do Fator B (tempo de exposição).

Fonte da Variação	SQ	GI	MQ	Valor-P	F crítico	
<b>Fator A</b>	0,16	6	0,03	0,0002	5,05	*
<b>Fator B</b>	0,02	1	0,02	0,0612	3,62	N.S.
<b>Interações A x B</b>	0,12	6	0,02	0,0034	3,63	*
<b>Erro</b>	0,38	70	0,005			
<b>Total</b>	0,68	83				

\* Resultados apresentam diferença estatística significativa ( $\alpha < 0,05$ ),

Tabela 6 - Resultados da análise de médias para pH, para o fator A (atmosfera).

Fator A	Médias de Observações*	pH
<b>Ar Sintético</b>	6,478 <sup>a</sup>	
<b>Atm. Natural</b>	6,508 <sup>b</sup>	
<b>20% CO<sub>2</sub></b>	6,530 <sup>c</sup>	
<b>AR (BRANCO)</b>	6,543 <sup>d</sup>	
<b>80% CO<sub>2</sub></b>	6,571 <sup>e</sup>	
<b>40% CO<sub>2</sub></b>	6,577 <sup>f</sup>	
<b>60% CO<sub>2</sub></b>	6,621 <sup>g</sup>	

\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo método de Duncan a 5% de probabilidade

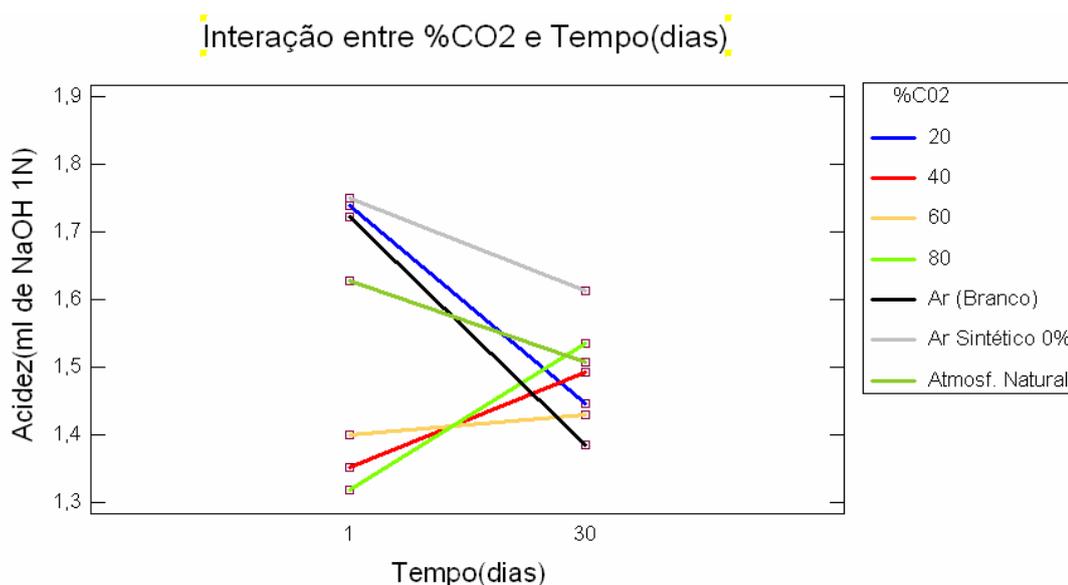


Figura 13 - Gráfico de interação dos fatores A (atmosfera) e B (tempo de exposição) tendo como resposta o nível de acidez expresso em ml de NaOH 1N.

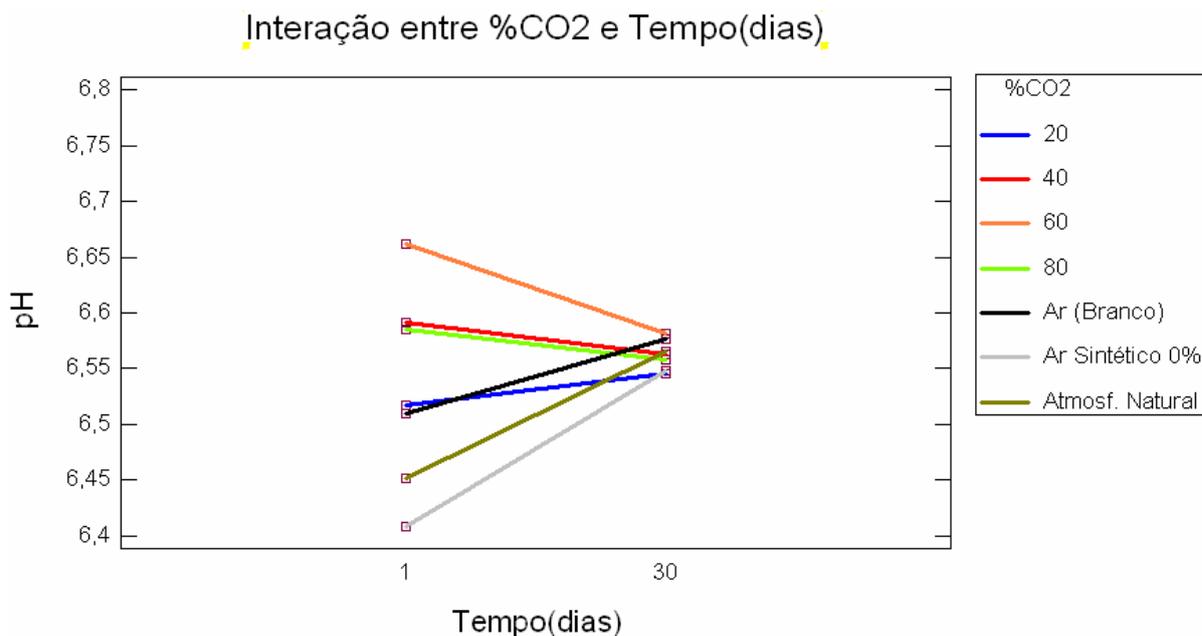


Figura 14 - Gráfico de interação dos fatores A (atmosferas) e B (tempo de exposição) tendo como resposta o pH .

As tabelas de comparação de médias das observações bem como a planilha de coleta de dados, estão contidas nos Anexos 1 e 3 respectivamente.

#### 4.2.2 Comportamento da Atmosfera Interna

A atmosfera interna em uma embalagem impermeável se comporta de forma diferente durante o tempo, isto se baseia no fato de que as proporções gasosas vão se modificando seja pela fisiologia dos grãos (respiração e absorção) ou taxas de permeabilidade do filme plástico diferenciada aos gases (SARANTÓPOULUS et al., 1998).

A Figura 15 se reporta ao comportamento do CO<sub>2</sub>, de forma geral, no interior das embalagens nas diferentes condições atmosféricas, onde são observados os aumentos dos níveis de CO<sub>2</sub> com o tempo até o quinto dia, seguido por uma queda de %CO<sub>2</sub> constante.

Este aumento, até o quinto dia deve-se a respiração própria dos insetos, fungos, grãos e bactérias aeróbicas (ALVES et al.,2004,2006; MORENO-MARTINEZ et al.,2000; PINTO,2005) . Esta respiração ocasiona a elevação dos níveis de CO<sub>2</sub> no interior da embalagem, que tem sua taxa de produção reduzida com a morte dos insetos a partir do quinto dia, a partir daí a produção ocorre em taxas menores do

que a taxa de permeabilidade da embalagem a este gás, tendendo ao declínio de concentrações no interior da embalagem (SARANTÓPOULUS et al., 1998).

Nas condições iniciais de altos teores de CO<sub>2</sub>, notou-se um %CO<sub>2</sub> constante até o quinto dia seguindo-se uma queda nas concentrações deste gás. Essa queda da concentração, que ocorre em todos os tratamentos, pode ser devido à redução da atividade fisiológica dos grãos (MUSSI, 2005) e ainda devido à morte de insetos adultos a partir do quinto dia. Mussi (2005) menciona que uma das conseqüências da redução na atividade fisiológica é a redução do vigor destes grãos na germinação impossibilitando seu uso posterior como semente. Dessa forma, a diminuição no consumo de O<sub>2</sub> e a taxa constante de ingresso deste gás pela embalagem, propiciam a diluição do CO<sub>2</sub> interno (SARANTÓPOULUS et al., 1998)

Nas condições atmosféricas de ar sintético e natural, observa-se na Figura 15, o aumento pequeno, porém gradual, da concentração do CO<sub>2</sub>, até o quinto dia, conseqüência do mecanismo de respiração dos grãos, fungos, bactérias aeróbicas e insetos presentes na embalagem (CANTWELL, 2001). A partir do quinto dia também se verifica pequeno declínio em relação ao %CO<sub>2</sub> no comportamento da atmosfera. Isto pode ocorrer pela aceleração do processo respiratório dos grãos e fungos juntamente com os insetos e após o quinto dia, com a morte dos insetos, a produção interna de CO<sub>2</sub> diminui, sendo menor que a permeabilidade da embalagem.

Moreno-Martínez et al., (2000) no estudo do armazenamento hermético de milho mencionam que os insetos *Sitophilus zeamais*, quando comparados a fungos e grãos, são os maiores consumidores de oxigênio, seguido pelos fungos e finalmente pelos grãos. Singh et al., (1976), citados por Moreno-Martínez et al., (2000) encontraram que os insetos adultos de *Sitophilus oryzae* (L.) tem consumo de oxigênio de 100 ml/adulto/dia. Assim o consumo contínuo deste gás pelos insetos adultos e fungos criaria uma atmosfera desfavorável para eles mesmo, pois o processo de respiração consome O<sub>2</sub> e produz CO<sub>2</sub>.

Os resultados obtidos da análise de variância para a %CO<sub>2</sub> demonstraram significância estatística ( $\alpha < 0,05$ ) dos fatores principais A (atmosferas) e B (tempo de exposição) e de sua interação A x B (Tabela 7). Segundo o método de comparações múltiplas de médias por Duncan observa-se na Tabela 8 e 9, médias diferentes para todas as atmosferas e todos os tempos de exposição.

Tabela 7 - Análise de variância ANOVA para as respostas (%CO<sub>2</sub>), levando-se em conta os 6 níveis do Fator A (atmosfera - sem o branco) e 7 níveis do Fator B (exposição).

Fonte da variação	SQ	GI	MQ	F	valor-P	F crítico	
<b>Fator A</b>	55783,02	5	11156,60	6815,34	6E-108	2,32	*
<b>Fator B</b>	753,70	6	125,62	76,74	5,6E-32	2,21	*
<b>Interações AxB</b>	602,16	30	20,07	12,26	7,2E-20	1,59	*
<b>Erro</b>	137,51	84	1,64				
<b>Total</b>	57276,38	125					

\*Resultados apresentam diferença estatística significativa ( $\alpha < 0,05$ ),

Tabela 8 - Resultados da análise de médias para %CO<sub>2</sub>, para o fator A (atmosfera - sem o branco).

Fator A	Médias de Observações*	%CO <sub>2</sub>
<b>Ar Sintético</b>	15,14 <sup>a</sup>	
<b>Atm. Natural</b>	16,69 <sup>b</sup>	
<b>20% CO<sub>2</sub></b>	17,99 <sup>c</sup>	
<b>40% CO<sub>2</sub></b>	34,58 <sup>d</sup>	
<b>60% CO<sub>2</sub></b>	52,23 <sup>e</sup>	
<b>80% CO<sub>2</sub></b>	71,62 <sup>f</sup>	

\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo método de Duncan a 5% de probabilidade

Tabela 9 - Resultados da análise de médias para %CO<sub>2</sub>, para o fator B (dias).

Fator B	Médias de Observações*	%CO <sub>2</sub>
<b>30</b>	25,72 <sup>a</sup>	
<b>15</b>	27,41 <sup>b</sup>	
<b>1</b>	30,50 <sup>c</sup>	
<b>2</b>	30,64 <sup>d</sup>	
<b>4</b>	31,10 <sup>e</sup>	
<b>5</b>	31,40 <sup>f</sup>	
<b>3</b>	31,49 <sup>g</sup>	

\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo método de Duncan a 5% de probabilidade

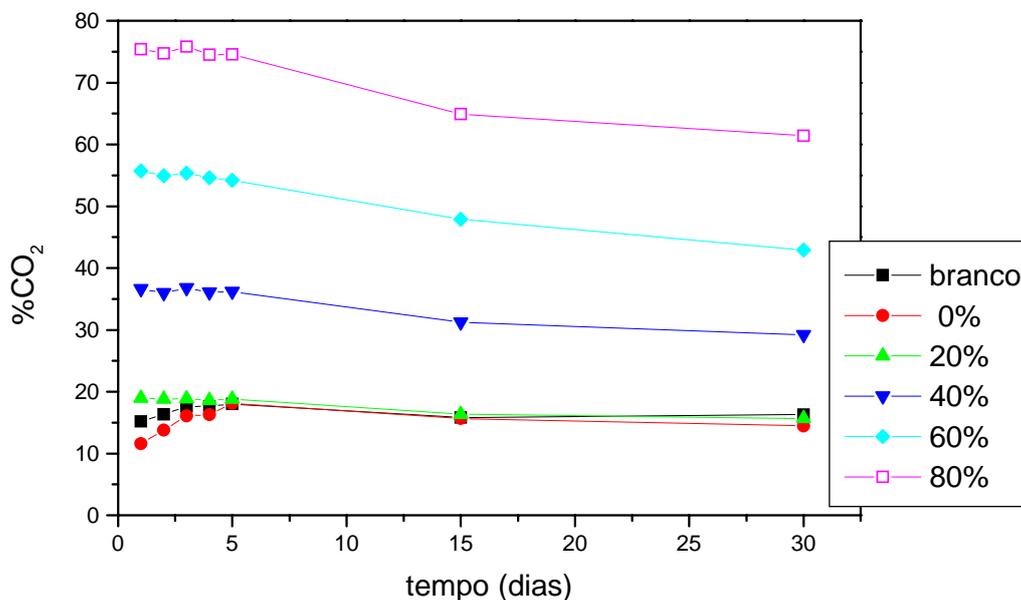


Figura 15 - Evolução da concentração de CO<sub>2</sub> dentro da embalagem em diferentes AM

As Tabelas de comparação de médias das observações bem como a planilha de coleta de dados, estão contidas nos Anexos 1 e 3 respectivamente.

#### 4.2.3 Efeito da AM nos Insetos

##### 4.2.3.1 Efeito sobre os insetos adultos.

A efetividade deste tratamento baseia-se no fato de que baixas concentrações de O<sub>2</sub> e altos níveis de CO<sub>2</sub> causam alterações no balanço metabólico que determinam a morte dos artrópodes após períodos prolongados de exposição (Fleurat-Lessard (1990), citado por Del Valle e Palma (1997)). A principal responsável pela morte dos insetos em atmosfera controlada (AC) é a falta de oxigênio. A temperatura de aplicação é também importante, pois a menor temperatura implica em menor taxa metabólica e, pelo fato de o ambiente estar com baixas concentrações deste gás, o efeito não é tão drástico como sob altas temperaturas. Por este motivo, tempos de exposição devem ser os maiores possíveis para se ter sucesso na sua aplicação a baixas temperaturas. A taxa respiratória também é importante, pois, o efeito letal da anoxia, associada ao alto %CO<sub>2</sub>, tem relação com a abertura dos espiráculos (traquéias que se abrem, com a finalidade de captar O<sub>2</sub>, por orifícios diversos na cutícula, apresentando um sistema

de fechamento que é controlado pelo sistema nervoso central do inseto). Todo este mecanismo de respiração possui o tempo de abertura controlado com a finalidade principal de manter a cavidade interna do inseto o menor tempo possível em contato com a atmosfera externa, pois este contato resulta na perda de umidade ao meio ambiente. Ambiente com alto nível de  $\text{CO}_2$  propicia aceleração no ritmo de abertura dos espiráculos resultando em maior perda de água e conseqüente morte do inseto por desidratação (AFONSO, 2001; DEL VALLE e PALMA,1997).

O emprego de altas pressões parciais de  $\text{CO}_2$  produz uma reação mais aguda nos insetos de que as baixas pressões de  $\text{O}_2$ , provavelmente devido à diferença na permeabilidade dos tecidos a estes gases (são 36 vezes mais permeáveis ao  $\text{CO}_2$  do que ao  $\text{O}_2$ ) e aos mecanismos de controle da respiração muito dependentes dos receptores, que são mais sensíveis à concentração de  $\text{CO}_2$  que da falta de  $\text{O}_2$  (DEL VALLE e PALMA,1997).

Na Figura 16 observa-se o número de sobreviventes, sobre os cinquenta insetos inseridos nas amostras inicialmente, após a aplicação da AM. Verifica-se que nos primeiros 5 dias a taxa de mortalidade é a mais alta do período avaliado e constante para quaisquer concentração de  $\text{CO}_2$  empregada.

Os resultados obtidos através da análise de variância (Tabela 9) indicam a significância do fator principal B (tempo de exposição), resultado que nos indica que durante o armazenamento em AM o tempo de exposição teve um efeito significativo na morte dos insetos adultos a qualquer concentração de dióxido de carbono estudada. Utilizou-se para esta análise somente atmosferas formadas por misturas de  $\text{N}_2$  e  $\text{CO}_2$  pois os resultados pretendidos visavam a otimização da utilização destes gases.

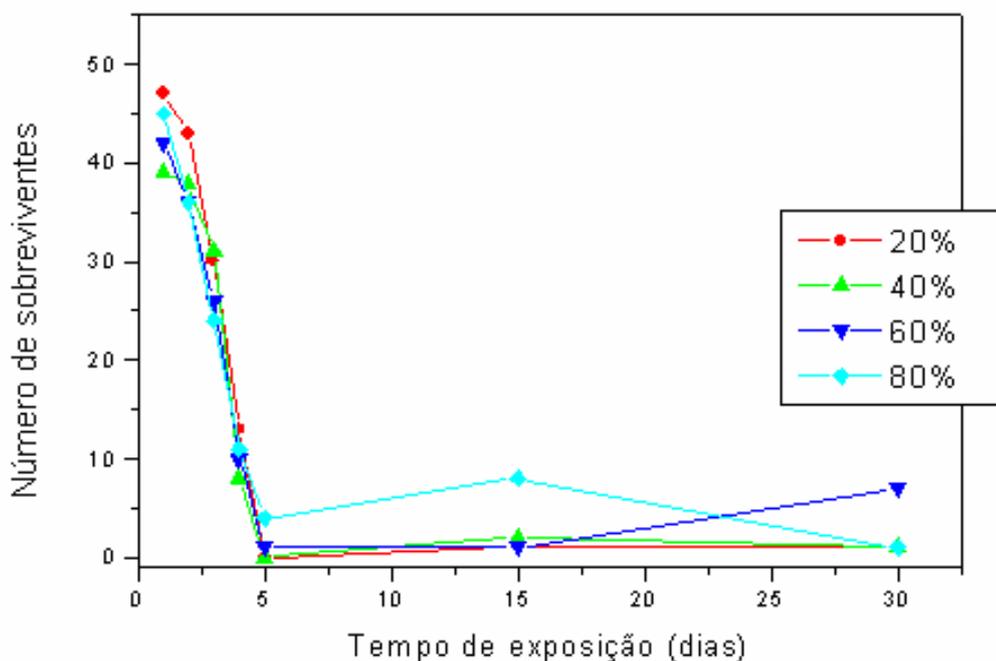


Figura 16 - Número de insetos adultos sobreviventes após exposição em AM contados após 7 dias

Tabela 10 - Análise de variância ANOVA para os insetos sobreviventes (após 7 dias), levando-se em conta os 4 níveis do Fator A (atmosferas 20, 40, 60 e 80% de CO<sub>2</sub>) e 7 níveis do Fator B (tempo de exposição).

Fonte da variação	SQ	GI	MQ	F	valor-P	
<b>Fator A</b>	60,321	3	20,107	0,860	0,465	N.S.
<b>Fator B</b>	23339,900	6	3889,980	167,230	0,000	*
<b>Interações AxB</b>	490,095	18	27,277	1,170	0,316	N.S.
<b>Erro</b>	11634,667	56	23,261			
<b>Total</b>	29742,143	83				

\* Resultados apresentam diferença estatística significativa ( $\alpha < 0,05$ ),

No quinto dia as maiores mortalidades foram obtidas nas concentrações de 20, 40, 60 e 80% de CO<sub>2</sub> e, segundo o teste de Duncan (Tabela 10), não existem diferenças entre elas. Estas observações são importantes no que se refere ao emprego de AM na eliminação de insetos adultos definindo que, tempos de exposição de 5, 15 e 30 dias com concentrações de CO<sub>2</sub> superiores a 20%, seriam suficientes para o controle de insetos adultos (Figura 17).

Tabela 11 - Resultados da análise de médias, para o fator B (tempo de exposição)

<b>Fator B</b>	<b>Sobreviventes após 7 dias Médias de Observações*</b>
1	43,0833 <sup>a</sup>
2	38,3333 <sup>b</sup>
3	27,6667 <sup>c</sup>
4	10,4167 <sup>d</sup>
15	3 <sup>e</sup>
30	2,5 <sup>e</sup>
5	1,0833 <sup>e</sup>

\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo método de Duncan a 5% de probabilidade

As tabelas de comparação de médias das observações bem como a planilha de coleta de dados, estão contidas nos anexos 1 e 3 respectivamente.

#### 4.2.3.2 Efeito na Progênie (Caracterização como expurgo)

Na Figura 17 são apresentados os valores de médias obtidos nas contagens de insetos sobreviventes após 45 dias, passado o período de exposição aos tratamentos. Neles pode ser observado, do ponto de vista de AM, que com tempos de exposição menores que cinco dias todos os tratamentos com CO<sub>2</sub> não foram efetivos, pois houve o nascimento de novos indivíduos. Assim, estas condições não foram capazes de garantir a eliminação das todas as fases do inseto, possivelmente ovo, larva ou pupa. No entanto, no décimo quinto dia a contagem indicou a presença menor que um indivíduo e no trigésimo dia a ausência total de insetos em todos os níveis de CO<sub>2</sub> empregados.

Os resultados obtidos através da análise de variância para insetos vivos após 45 dias demonstraram significância estatística ( $\alpha < 0,05$ ) do fator principal B (tempo de exposição) e de sua interação com o fator A (atmosferas) (Tabela 12), sendo que, a partir da análise de comparação de médias de Duncan, não houve diferenças significativas entre as aplicações do CO<sub>2</sub> entre os dias 15 e 30 (Tabela 13).

Tabela 12 - Análise de variância ANOVA para os insetos sobreviventes após 45 dias, levando-se em conta os 4 níveis do Fator A (20, 40, 60 e 80% de CO<sub>2</sub>) e 7 níveis do Fator B (tempo de exposição),

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico	
<b>Fator A</b>	1597,95	3	532,65	2,564	0,0638	2,769	N.S.
<b>Fator B</b>	8835,81	6	1472,63	7,088	1E-05	2,266	*
<b>Interações AxB</b>	7673,71	18	426,32	2,052	0,0211	1,791	*
<b>Erro</b>	11634,67	56	207,76				
<b>Total</b>	29742,14	83					

\* Resultados apresentam diferença estatística significativa ( $\alpha < 0,05$ ),

Tabela 13 - Resultados da análise de médias, para o fator B (tempo de exposição)

Fator B	Sobreviventes após 45 dias Médias de Observações*
30	0,0 <sup>a</sup>
15	0,41667 <sup>a</sup>
5	5,0 <sup>b</sup>
3	5,41667 <sup>b</sup>
4	9,91667 <sup>b</sup>
2	16,3333 <sup>c</sup>
1	31,4167 <sup>d</sup>

\*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo método de Duncan a 5% de probabilidade

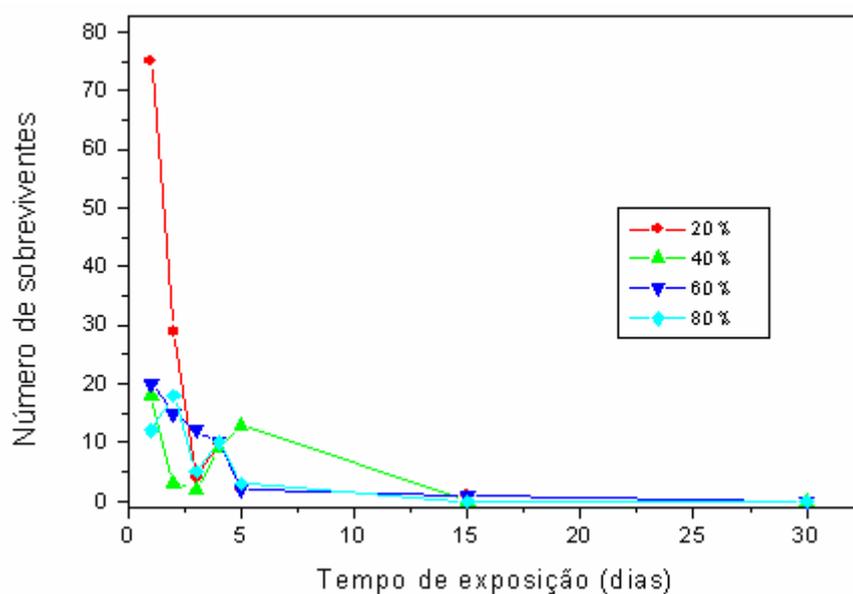


Figura 17 - Número de insetos sobreviventes (progênie) após 45 dias

Os resultados obtidos do efeito da concentração de CO<sub>2</sub> e o tempo de exposição sobre os insetos adultos e a progênie indicam que devem ser empregadas concentrações maiores do que 20% de CO<sub>2</sub>, com tempo de aplicação mínimo de 15 dias visando eliminação total de todas as fases do inseto (expurgo).

As tabelas de comparação de médias das observações bem como a planilha de coleta de dados, estão contidas nos Anexos 1 e 3 respectivamente.

#### 4.2.3.3 Efeito da etapa do vácuo sobre os insetos

Salienta-se que a etapa do alto vácuo é essencial ao procedimento de acondicionamento de produtos em AM por vácuo compensado e devido a esta realidade necessitou-se esclarecer se o alto vácuo aplicado seria letal ou não aos insetos adultos. Na Figura 18 pode-se observar que, com ou sem aplicação de vácuo, com o passar do tempo, o número de insetos sobreviventes diminui tendo maior taxa de mortalidade nos primeiros três dias. Isto é consequência do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> e redução do O<sub>2</sub> devido a respiração dos insetos, dos microrganismos aeróbicos e dos grãos (MORENO-MARTINEZ et al., 2000).

Os resultados obtidos da análise de variância mostraram somente significância estatística para o fator principal B (tempo de exposição) (Tabela 14). Tendo em vista que a análise de variância considerou não significativas ( $\alpha > 0,05$ ) as diferenças em relação ao fator A (atmosfera) e tendo em vista que a única etapa que diferencia as duas atmosferas testadas é a etapa de vácuo, conclui-se que o vácuo prévio realizado no sistema, antes da injeção dos gases não ocasiona morte de insetos adultos (Figura 18). Isto possibilita o uso do método de vácuo compensado para a realização de experimentos com insetos, pois não mascara os resultados de insetos sobreviventes.

Tabela 14 - Análise de variância ANOVA para os insetos sobreviventes (após 7 dias), levando-se em conta os 2 níveis do Fator A (atmosfera natural e ar sintético) e 7 níveis do Fator B (Tempo de exposição).

Fonte da variação	SQ	GI	MQ	F	valor-P	F crítico	
<b>Fator A</b>	257,52	1	257,52	2,98	0,0955568	4,20	N.S.
<b>Fator B</b>	13380	6	2230	25,77	3,502E-10	2,45	*
<b>Interações AxB</b>	266,81	6	44,468	0,51	0,7927411	2,45	N.S.
<b>Erro</b>	2423,3	28	86,548				
<b>Total</b>	16328	41					

\* Resultados apresentam diferença estatística significativa ( $\alpha < 0,05$ ),

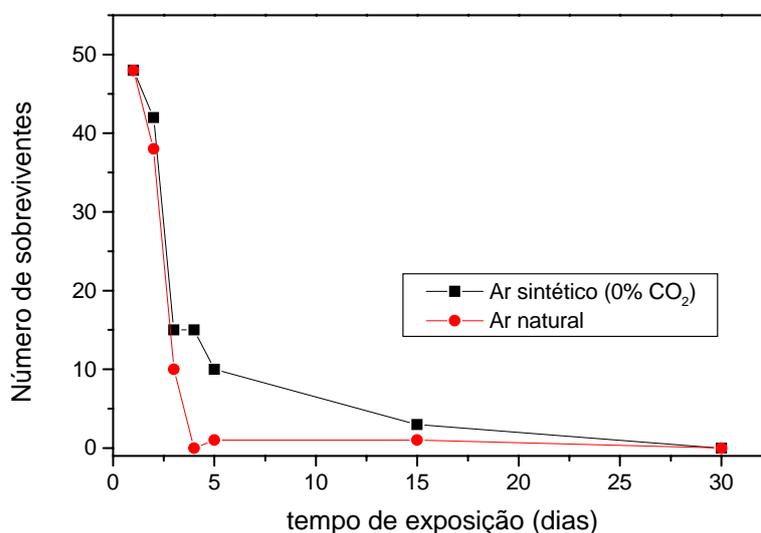


Figura 18 - Número de insetos sobreviventes após procedimento de embalagem com etapa de vácuo (ar sintético) e sem etapa de vácuo (atmosfera natural).

As tabelas de comparação de médias das observações bem como a planilha de coleta de dados, estão contidas nos anexos 1 e 3 respectivamente.

## 5 CONCLUSÕES

Para o teor de umidade e a acidez houve interação entre o tempo de exposição e a composição atmosférica, enquanto para o pH existiram diferenças significativas, mas com médias muito próximas para as atmosferas testadas, porém sem variação de pH significativa em 30 dias.

Foi constatado que as concentrações de CO<sub>2</sub> no interior das embalagens em atmosfera modificada se mantiveram estáveis até o quinto dia de exposição, a partir do qual começaram a diminuir, comportamento este observado em todas as concentrações de atmosfera estudadas.

As maiores taxas de mortalidade de insetos adultos foram observadas nos primeiros cinco dias de exposição à AM em todos os níveis de concentração de CO<sub>2</sub> estudados.

Para os períodos de exposição de 15 e 30 dias foi observado a eliminação de todos os insetos adultos nas concentrações de 20, 40, 60 e 80% de CO<sub>2</sub>.

A aplicação de AM com tempos menores que cinco dias não afetaram a progênie dos insetos, no entanto, a partir do décimo quinto dia, os tratamentos em todas as concentrações estudadas, foram efetivos na eliminação de todas as fases de desenvolvimento dos insetos.

É recomendável o emprego de concentrações maiores do que 20% de CO<sub>2</sub> com tempo de aplicação mínimo de 15 dias para a morte de insetos adultos e eliminação de ovos, larvas e pupas (novas gerações).

Foi verificado que o efeito do vácuo, etapa anterior à embalagem, não teve efeito sobre a morte dos insetos.

## REFERÊNCIAS

- AFONSO, A.D.L. **Desenvolvimento e avaliação de um gerador de dióxido de carbono para o armazenamento de grãos**. 2001. 121f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, BR-MG, 2001.
- ALENCAR, E.R.; FARONI, L.R.A. ; CARDOSO, F.S. Avaliação qualitativa do milho (*Zea mays* L.) infestado por *Sitophilus zeamais* durante o armazenamento. In: SIMPÓSIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 12., 2002, Viçosa. **Anais....** Viçosa: Editora da UFV, 2002. v. 1, p. 5-6.
- ALVES, E. et al. Efeitos dos períodos de envelhecimento na lixiviação de íons e de proteínas solúveis em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 26, n. 2, p. 119-125, 2004.
- ALVES, W.M. et al . Taxa respiratória e perda de matéria seca no armazenamento de milho sob diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, v. 31, p. 59-64, 2006.
- ALVES, W.M. et al. Taxa respiratória dos grãos de milho em diferentes condições de armazenamento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 33., 2004, São Pedro. **Anais...** Jaboticabal : Sociedade Brasileira de Engenharia Agrícola, 2004. p. 1, 1 CD-ROM
- ANNIS, P.C.; MORTON, R.; The acute mortality effects of carbon dioxide on various life stages of *Sitophilus oryzae*. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, GB, v. 33, p. 115 - 124, 1997.
- ATHIÉ, I.; PAULA , D.C. **Insetos de grãos armazenados: aspectos biológicos e identificação**. 2.ed. São Paulo: Varela, 2002. 344p.
- ASTM INTERNATIONAL. **D3985-05 Standard test method for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a coulometric sensor**. 5 ed. New York, 2005. 7p. Disponível em: <<http://www.astm.org>>. Acesso em: 06 fev. 2007.
- ASTM INTERNATIONAL. **F1249-06 standard test method for water vapor transmission rate through plastic film and sheeting using a modulated infrared sensor**. 5 ed., New York, 2005. 7 p.
- BECKEL, H. ; LORINI, I. ; LAZZARI, S.M.N. Comportamento de adultos de diferentes raças de *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (Coleoptera, Bostrichidae) em superfície tratada com deltamethrin. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 48, n. 1, p. 115-118, 2004.
- BELL, C.H. Fumigation in the 21st. century. **Crop Protection**, Guildford, GB, v. 19, p. 563-569, 2000.

BOTTON, M.; LORINI, I. ; AFONSO, A.P.S . Ocorrência de *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae) danificando a cultura da videira no Rio Grande do Sul. **Neotropical Entomology**, Londrina, PR, v. 34, n. 2, p. 355-356, 2005.

BRASIL. Departamento Nacional de Infraestrutura e Transportes. Assessoria de Comunicação Social. Portos do Paraná comemoram recorde com 30 milhões de toneladas. **Revista Grãos Brasil da Semente ao Consumo**, Maringá, ano II n. 12, p.10, nov. 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. CONAB. Portaria nº 8, de 26 de outubro de 2006. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 21 de novembro de 2006. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>> Acesso em: 07 fev. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - CNNPA n. 12 de 1978. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, 24 de julho de 1978. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\\_78\\_farinhas.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_78_farinhas.htm)> Acesso em: 07 set. 2005.

CAMPOS, S.C. et al. Eficácia do extrato de mostarda (*Brassica alba* L.) no controle de *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) em grãos de milho. In: SIMPÓSIO DE ENTOMOLOGIA DA UFV, 1., 2004, Viçosa. **Anais...** Viçosa, 2004. v. 1. p. 256-260.

CANEPPELE, M.A.B. et al. Correlation between the infestation level of *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera, Curculionidae) and the quality factors of stored corn, *Zea mays* L. (Poaceae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 47, n. 4, p. 625-630, 2003.

CANEPPELE, C.; CANEPPELE, M.A.B.; LAZZARI, S.M.N. . Resistência de híbridos de milho, *Zea mays* (L.) ao ataque de *Sitophilus zeamais* (Mots.). **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, v. 28, n. 1, p. 51-58, 2003.

CANTWELL, M. **Properties and recommended conditions for long-term storage of fresh fruits and vegetables**. Davis: University of Califórnia, 2001 Disponível em: <<http://www.ucdavis.edu>> Acesso em: 12 dez. 2006.

CARDOSO, F.S. et al. Eficácia do ozônio no controle de *Sitophilus zeamais* em grãos tratados em diferentes temperaturas. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE ARMAZENAGEM, 4., 2005, Uberlândia. **Resumos**. Viçosa: Centro Nacional de Treinamento em Armazenagem, 2005. 1 CD-ROM, v. 1, p. 1-4.

CASELLA, T.L.C. et al. Dióxido de carbono associado a fosfina no controle do gorgulho – do – milho (*Sitophilus zeamais*). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v. 2, n. 2, p. 179-185, 2000.

CERUTI, F.C.; LAZZARI, S.M.N. Efeito da infestação de *Sitophilus zeamais* na qualidade da semente do milho e seu controle com terra diatomácea em diferentes temperaturas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, 26., 2006, Londrina,

PR. **Resumos**. Curitiba, PR: Sociedade Brasileira de Zoologia, 2006. v. 1, p. 670-670.

CHARLES, J.G. Rice and grain weevils life cycle. **HortFact**, Auchkland, 1998. Disponível em: <<http://www.hortnet.co.nz/publications/hortfacts/hf401018.htm>> Acesso em: 10 dez. 2003.

COELHO, E.M. et al. Eficácia da mistura de dióxido de carbono – fosfina no controle de *Sitophilus zeamais* em função do período de exposição. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v. 4 n. 2, p. 227-234, 2000.

COELHO, E.M.; FARONI, L.R.A.; ALVES, W.M. TL99 para *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* sob diferentes períodos de exposição e concentrações de dióxido de carbono e fosfina. **Revista Engenharia na Agricultura**, Viçosa, MG, v. 8, n. 3, p. 129-140, 2000.

CONYERS, S.T.; BELL, C.H.; A novel use of modified atmospheres: Storage insect population control. **Journal of Stored Products Research**, In Press, Corrected Proff. Available on line 20 February 2007.

CRUZ, R.S.; SOARES, N.F.F. Efeito da adição de CO<sub>2</sub> sobre o crescimento microbiano em macarrão tipo massa fresca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 2, p. 147-150, 2002.

DEL VALLE, J.M.; PALMA, M.T. Preservación II. atmosferas controladas y modificadas In: AGUILERA, J.M. (Ed.). **Temas en Tecnologia de Alimentos**. México, D.F.: CYTED/Instituto Politécnico Nacional, 1997. v. 1, cap. 3, p. 89-130.

DOBIE, P. et al. **Insects and arachnids of tropical stored products, their biology and identification: a training manual**. London: Tropical Development and Research Institute, 1984. 273p.

DONAHAYE, E.J.; NAVARRO, S.; RINDNER, M.; AZRIELI, A.; The combined influence of temperature and modified atmospheres on *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Stored Products Research**, Oxford, GB, v. 32, p. 225 - 232, 1996.

EMBRAPA MILHO E SORGO. **Cultura do milho**. Sete Lagoas, MG, 2006. Disponível em: <<http://www.cnpms.embrapa.br/milho.index.html>> Acesso em: 09 set. 2006.

FARONI, L.R.A. A mistura de dióxido de carbono e fosfina - nova alternativa no controle de insetos-praga de grãos armazenados. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 20., 2004, Gramado. **Anais...** Londrina: Sociedade Brasileira de Entomologia, 2004. v. 1. p. 134-134.

FARONI, L.R. A. et al. Qualidade da farinha obtida de grãos de trigo fumigados com dióxido de carbono e fosfina. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v. 6, n. 2, p. 354-357, 2002.

FARONI, L.R. A. et al. Atmosfera modificada no controle das pragas dos grãos armazenados. In: LORINI, L.H.M.; SCUSSEL, V.M. (Org.). **Armazenagem de grãos**. Campinas: Instituto Bio Genesis, 2002. v. 1, p. 463-491.

FAO. Métodos Recomendados para la d  
Detección y Medición de la Resistencia de Plagas Agrícolas a los Plaguicidas: Método provisional para adultos del gorgojo de la harina y del afrecho *Tribolium castaneum* (Herbst.) - Método num. 6. de la FAO **Boletín Fitosanitario FAO**, Roma, v. 18, p. 107-113, 1970.

FAO. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pest to pesticides: tentative method for adults of some major beetle pest of stored cereals with malathion or lindane - FAO Method num. 15. **FAO Plant Protection Bulletin**, Roma, v. 22, p. 127-137, 1974.

FESSEL, S.A. et al. Electrical conductivity testing of corn seeds as influenced by temperature and period of storage. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 10, p. 1551-1559, 2006.

GALLO, D. et al. **Manual de entomologia agrícola**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1978.

GALLO, D. et al. **Manual de entomologia agrícola**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1988.

GARCIA, F.M. et al. Utilização do congelamento para o controle de insetos-praga de grãos armazenados. In: SIMPÓSIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFV, 14., 2004, Viçosa. **Anais...** Viçosa : Editora da UFV, 2004. v. 1., p. 86-86.

GENEL, M.R. **Almacenamiento y conservacion de granos e semillas**. México: Continental, 1976.

GONÇALVES, R.A. Controle de *Rhizopertha Dominica* pela atmosfera controlada com CO<sub>2</sub>, em trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 1, p. 1-9, 2000.

GONCALVES, R.A. Preservação das qualidades tecnológicas do trigo (*Triticum Aestivum*) armazenado em atmosfera controlada por Co<sub>2</sub> e Ne. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 3, p. 24-35, 1998.

GOULD, G.W. Methods for preservation and extension of shelf life. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 33, p. 51-64, 1996.

HASENHUETTL, G.L.; WAN, P.J. Temperature effects on the determination of oxidative stability with the metrohm rancimat. **Journal of The American Oil Chemists Society**, Chicago, v. 69, n. 6, p. 525-527, 1992.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3.ed. São Paulo, 1985. v.1.

JORGE, J.T.; SANTOS, D.S. Eficiência de misturas gasosas de fosfina e dióxido de carbono no controle de todas as fases de vida do *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleopte). **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 35, n.2/4, p. 26-34, 2001.

KOEHLER, P.G. **Rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae)**. Gainesville, FL, US: University of Florida, Institute of Food and Agricultural Sciences (UF/IFAS), 1994. Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu/IG120>>. Acesso em: 11 nov. 2003.

KRISHNAMURTHY, T.S.; SPRATT, E.C.; BELL, C.H.; The toxicity of carbon dioxide to adult beetles in low oxygen atmospheres. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, GB, v. 22, p. 145 - 151, 1986.

LANE, R.H. Cereal foods. In: HORWITZ, W. (Ed.). **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 17.ed. Gaithersburg: AOAC International, 2000. v.2., p. 1-58.

LIMA, J.O.G.; VILELA, E.F.; ZANUNCIO, J.C. **Controle de pragas de produtos armazenados**. Viçosa: CENTREINAR - CIBRAZEN, 1979. (Apostila).

LINDLEY, M.G. The impact of food processing on antioxidants in vegetable oils, fruits and vegetables. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, GB, v. 9, p.336-340, 1998.

LOCATELLI, D.P.; DAOLIO, E.; Effectiveness of carbon dioxide under reduce pressure against some insects infesting packaged rice. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, GB, v. 29, p. 81 - 87, 1993.

LORINI, I. Integrated pest management strategies used in stored grain in Brazil to manage phosphine resistance. In: CAF2004: THE INTERNATIONAL CONFERENCE ON CONTROLLED ATMOSPHERE AND FUMIGATION IN STORED PRODUCTS, 2004, Gold Coast. **Conference handbook**. Gold Coast, AU: CSIRO/Queensland Department of Primary Industries, 2004. v. 1. p. 42-42.

LORINI, I. **Manual Técnico para o manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados**. Passo Fundo : Embrapa Trigo, 2005. 80 p

LYON, W.F. **Granary and rice weevils**. Columbus, US: Ohio State University Extension, 2000. (Fact Sheet Series). Disponível em: <<http://www.ohioline.osu.edu/hyg-fact/2000/2088.html>>. Acesso em: 12 out.2003.

MAGALHÃES, P.C. Fisiologia do milho. **EMBRAPA – Circular Técnica**, Sete Lagoas, v. 22 , p.1-22, dez. 2002.

MANN, D.D.; JAYAS,D.S.; WHITE, N.D.G.; MUIR, W.E.; Mortality of adult *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) exposed to changing CO<sub>2</sub> concentrations. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, GB, v. 35, p. 385 - 395, 1999.

MARSARO Jr., A.L. et al. Inibidores de amilase em híbridos de milho como fator de resistência a *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical Entomology**, São Paulo, ano 34, v. 3, p. 443-450, 2005.

MARTINAZZO, A.P. et al. Utilização da Fosfina em Combinação com o Dióxido de Carbono no Controle do *Rhyzopertha Dominica*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 6, p. 1063-1069, 2000.

MARTINS, D.S. et al. Avaliação das perdas antes da colheita e no armazenamento do milho, pelo gorgulho *Sitophilus* sp. e pela traça *Sitotroga Cerealella* na microregião de Viçosa. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. 10, p. 6-8, 1985.

MORENO-MARTINEZ, E.; JIMÉNEZ, S.; VÁZQUEZ, M.E. Effect of *Sitophilus zeamais* and *Aspergillus chevalieri* on the oxygen level in maize stored hermetically. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, GB, v. 36, p. 25-36, 2000.

MUSSI, M.M. Germinação e vigor de sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.) submetidas a diferentes concentrações de CO<sub>2</sub>, períodos de exposição e embalagens. Curitiba: UFPR, 2005. 73 f. Dissertação (Mestrado) - Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005, BR-PR.

PAES, M.C.D. Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho. **EMBRAPA – Circular Técnica**, Sete Lagoas, v. 75, p.1-6, jul. 2006.

PARANÁ. Agência Estadual de Notícias. **Soja deve liderar o ranking de grãos**. Maringá, 2007. Disponível em : <<http://www.aenoticias.pr.gov.br>>. Acesso em: 06 fev. 2007.

PERSON, D. **Técnicas de laboratório para el análisis de alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1986. 331p.

PINTO, N.F.J.A. Grãos ardidos em milho. **EMBRAPA – Circular Técnica**, Sete Lagoas, v. 66, p.1-6, dez. 2005.

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

PUZZI, D. **Manual de armazenamento de grãos: armazéns e silos**. São Paulo, Agronômica Ceres, 1977.

ROSSETO, C.J. **Resistência de milho à praga da espiga, *Helicoverpa zea* (Boddie), *Sitophilus zeamais* Motschulsky e *Sitotroga cerealella* (Olivier)**. 1972. 144 f. Tese (Doutorado) – Curso de Agronomia, Escola Superior de Agricultura Luis de Queirós, Piracicaba, 1972, BR, SP.

SANTOS, A.K. et al. Nível de dano econômico de *Sitophilus zeamais* (M.) em trigo armazenado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v. 6, n. 2, p. 273-279, 2002.

SANTOS, D.S. **Viabilização da atmosfera modificada pelo CO<sub>2</sub> na manutenção das qualidades do milho (*Zea mays* L.) durante o armazenamento.** 1995. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1995, BR-MG.

SANTOS, J.P. **Atmosfera controlada por CO<sub>2</sub> no combate a pragas de grãos armazenados.** Lavras: UFLA, 2002.

SANTOS, J.P.; FOSTER, J. Mecanismo de resistência do grão de milho ao gorgulho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 10, p. 1059-1063, 1983.

SANTOS, J.P. ; VILELA, E.R. Altos teores de CO<sub>2</sub> no controle de *Sitophilus Zeamais* em milho. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. 22, n. 3, p. 24-28, 1998.

SARANTÓPOULUS, C.I.G.L. et al. **Embalagens com atmosfera modificada.** 2. ed. Campinas: CETEA/ITAL, 1998. 114p.

SCHNEIDER, S.; LORINI, I. Avaliação da eficiência de inseticidas no controle de *Sitophilus* spp. em grãos de milho armazenado. In: SIMPÓSIO DE PROTEÇÃO DE GRÃOS ARMAZENADOS, 1993, Passo Fundo, RS. **Anais.** .. Passo Fundo, RS: Embrapa Trigo, 1993. v. 1, p. 144-144.

SILVA, A.A.L. et al. Modelagem do crescimento populacional de *Sitophilus Zeamais*. In: CONFERÊNCIA BRASILEIRA DE PÓS-COLHEITA, 1., 1999, Porto Alegre. **Anais...** Passo Fundo: ABRAPÓS/CESA/Embrapa Trigo, 1999. v. 1, p. 220-225.

TAWFIK, M.S.; HUYGHEBAERT, A. Interaction of packaging materials and vegetable oils: oil stability. **Food Chemistry**, London, v. 64, p. 451-459, 1997.

VELASQUEZ, C.A.; TRIVELLI, H.D. **Distribucion y importância de los insectos que dañan granos y productos almacenados en Chile.** Santiago, CH, Instituto de Investigaciones Agropecuárias (FAO), 1983. 67p.

WEBER, E.A. **Armazenagem agrícola.** Porto Alegre: Kepler Weber Industrial, 1995.

ZAMBIAZI, C. Oxidation reactions of vegetable oils and fats. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 33, n. 1, p. 1-7, 1999.

## **APÊNDICE**

**Apêndice 1 – Quadros de médias das observações experimentais**

**Apêndice 2 – Artigo a ser submetido à Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos.**

**Apêndice 3 – Dados coletados no experimento.**

## Apêndice 1 – Quadros de médias das observações experimentais

Tabela 15 - Valores médios de Umidade após 1 e 30 dias de exposição em diferentes atmosferas

FATOR A	FATOR B (DIAS)	
	1	30
40 % CO <sub>2</sub>	9,71 <sup>ai</sup>	11,03 <sup>a</sup>
Atmosf. Natural	10,11 <sup>ai</sup>	10,91 <sup>a</sup>
Ar Sintet. 0% CO <sub>2</sub>	9,92 <sup>ai</sup>	10,79 <sup>a</sup>
20 % CO <sub>2</sub>	10,21 <sup>ai</sup>	10,85 <sup>a</sup>
60 % CO <sub>2</sub>	10,21 <sup>bi</sup>	10,52 <sup>b</sup>
80 % CO <sub>2</sub>	10,15 <sup>bi</sup>	10,45 <sup>b</sup>
AR (BRANCO)	10,00 <sup>ci</sup>	10,25 <sup>c</sup>

Letras iguais na mesma coluna indica que não houveram diferenças significativas entre as médias em relação ao fator A ( $\alpha < 0,05$ ) e Índice (i) indica diferenças significativas entre as médias em relação ao fator B ( $\alpha < 0,05$ ), segundo Duncan.

Tabela 16 - Valores médios de Acidez no milho após 1 e 30 (trinta) dias de exposição em diferentes atmosferas.

FATOR A \ B (DIAS)	Acidez	
	1	30
60% CO <sub>2</sub>	1,40 <sup>ai</sup>	1,43 <sup>a</sup>
40% CO <sub>2</sub>	1,35 <sup>bi</sup>	1,49 <sup>b</sup>
80% CO <sub>2</sub>	1,32 <sup>bi</sup>	1,54 <sup>b</sup>
AR (BRANCO)	1,72 <sup>ci</sup>	1,39 <sup>c</sup>
Atmosf. Natural	1,75 <sup>di</sup>	1,61 <sup>d</sup>
20% CO <sub>2</sub>	1,74 <sup>di</sup>	1,45 <sup>d</sup>
Ar Sintet. 0% CO <sub>2</sub>	1,63 <sup>di</sup>	1,51 <sup>d</sup>

Letras iguais na mesma coluna indica que não houveram diferenças significativas entre as médias em relação ao fator A ( $\alpha < 0,05$ ) e Índice (i) indica diferenças significativas entre as médias em relação ao fator B ( $\alpha < 0,05$ ), segundo Duncan.

Tabela 17 - Valores médios de pH no milho após 1 e 30 (trinta) dias de exposição em diferentes atmosferas.

FATOR A \ B (DIAS)	pH	
	1	30
Ar Sintet. 0% CO <sub>2</sub>	6,45 <sup>a</sup>	6,57 <sup>a</sup>
Atmosf. Natural	6,41 <sup>b</sup>	6,55 <sup>b</sup>
20% CO <sub>2</sub>	6,52 <sup>c</sup>	6,55 <sup>c</sup>
AR (BRANCO)	6,51 <sup>d</sup>	6,58 <sup>d</sup>
80% CO <sub>2</sub>	6,59 <sup>e</sup>	6,56 <sup>e</sup>
40% CO <sub>2</sub>	6,59 <sup>f</sup>	6,56 <sup>f</sup>
60% CO <sub>2</sub>	6,66 <sup>g</sup>	6,58 <sup>g</sup>

Letras iguais na mesma coluna indica que não houveram diferenças significativas entre as médias em relação ao fator A ( $\alpha < 0,05$ ) e Índice (') indica diferenças significativas entre as médias em relação ao fator B ( $\alpha < 0,05$ ), segundo Duncan.

Tabela 18 - Valores de médias obtidas nas análises de % CO<sub>2</sub> no interior das embalagens após o período de exposição ao tratamento.

FATOR A	FATOR B (Dias)						
	1	2	3	4	5	15	30
Ar Sintet. 0% CO <sub>2</sub>	11,57 <sup>avi</sup>	13,80 <sup>av</sup>	16,10 <sup>aiv</sup>	16,27 <sup>aiii</sup>	18,13 <sup>aii</sup>	15,67 <sup>ai</sup>	14,47 <sup>a</sup>
Atmosf. Natural	15,17 <sup>bvi</sup>	16,33 <sup>bv</sup>	17,60 <sup>biv</sup>	17,63 <sup>biii</sup>	18,00 <sup>bii</sup>	15,83 <sup>bi</sup>	16,30 <sup>b</sup>
20% CO <sub>2</sub>	18,93 <sup>cvi</sup>	18,80 <sup>cv</sup>	18,83 <sup>civ</sup>	18,60 <sup>ciii</sup>	18,80 <sup>cii</sup>	16,33 <sup>ci</sup>	15,67 <sup>c</sup>
40% CO <sub>2</sub>	36,63 <sup>dvi</sup>	35,97 <sup>dv</sup>	36,77 <sup>dvi</sup>	36,10 <sup>diii</sup>	36,17 <sup>dii</sup>	31,23 <sup>di</sup>	29,20 <sup>d</sup>
60% CO <sub>2</sub>	55,70 <sup>evi</sup>	54,93 <sup>ev</sup>	55,33 <sup>eiv</sup>	54,63 <sup>eiii</sup>	54,20 <sup>eii</sup>	47,90 <sup>ei</sup>	42,90 <sup>e</sup>
80% CO <sub>2</sub>	75,40 <sup>fvi</sup>	74,70 <sup>fv</sup>	75,83 <sup>fiv</sup>	74,50 <sup>fiii</sup>	74,57 <sup>fii</sup>	64,93 <sup>fi</sup>	61,43 <sup>f</sup>

Letras iguais na mesma coluna indica que não houveram diferenças significativas entre as médias em relação ao fator A ( $\alpha < 0,05$ ) e Índice (i) indica diferenças significativas entre as médias em relação ao fator B ( $\alpha < 0,05$ ), segundo Duncan.

Tabela 19 - Valores de médias obtidas nas contagens de insetos vivos após 7 dias, passado o período de exposição aos tratamentos.

FATOR A	FATOR B (DIAS)						
	1	2	3	4	5	15	30
20% CO <sub>2</sub>	47 <sup>a</sup>	43 <sup>b</sup>	30 <sup>c</sup>	13 <sup>d</sup>	<1 <sup>e</sup>	1 <sup>e</sup>	<1 <sup>e</sup>
40% CO <sub>2</sub>	39 <sup>a</sup>	38 <sup>b</sup>	31 <sup>c</sup>	8 <sup>d</sup>	<1 <sup>e</sup>	2 <sup>e</sup>	1 <sup>e</sup>
60% CO <sub>2</sub>	42 <sup>a</sup>	36 <sup>b</sup>	26 <sup>c</sup>	10 <sup>d</sup>	<1 <sup>e</sup>	1 <sup>e</sup>	7 <sup>e</sup>
80% CO <sub>2</sub>	45 <sup>a</sup>	36 <sup>b</sup>	24 <sup>c</sup>	11 <sup>d</sup>	4 <sup>e</sup>	8 <sup>e</sup>	1 <sup>e</sup>

Letras iguais na mesma coluna indica que não houveram diferenças significativas entre as médias em relação ao fator A ( $\alpha < 0,05$ ) e Letras iguais na mesma linha indica que não houveram diferenças significativas entre as médias em relação ao fator B ( $\alpha < 0,05$ ), segundo Duncan.

Tabela 20 - Valores de médias obtidas nas contagens de insetos vivos após 45 dias, passado o período de exposição aos tratamentos.

FATOR A	FATOR B (DIAS)						
	1	2	3	4	5	15	30
20% CO <sub>2</sub>	75 <sup>d</sup>	29 <sup>c</sup>	4 <sup>b</sup>	10 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>	<1 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
40% CO <sub>2</sub>	18 <sup>d</sup>	3 <sup>c</sup>	2 <sup>b</sup>	9 <sup>b</sup>	13 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
60% CO <sub>2</sub>	20 <sup>d</sup>	15 <sup>c</sup>	12 <sup>b</sup>	10 <sup>b</sup>	2 <sup>b</sup>	<1 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
80% CO <sub>2</sub>	12 <sup>d</sup>	18 <sup>c</sup>	5 <sup>b</sup>	10 <sup>b</sup>	3 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>

Letras iguais na mesma coluna indica que não houveram diferenças significativas entre as médias em relação ao fator A ( $\alpha < 0,05$ ) e Letras iguais na mesma linha indica que não houveram diferenças significativas entre as médias em relação ao fator B ( $\alpha < 0,05$ ), segundo Duncan.

Tabela 21 - Valores de médias obtidas nas contagens de insetos sobreviventes após 7 (sete) dias, passado o período de exposição aos tratamentos .

FATOR A	FATOR B (Dias)						
	1	2	3	4	5	15	30
Atmosfera Natural	48 <sup>a</sup>	38 <sup>a</sup>	10 <sup>b</sup>	0 <sup>c</sup>	1 <sup>c</sup>	1 <sup>c</sup>	0 <sup>d</sup>
Ar Sintetico 0% CO <sub>2</sub>	48 <sup>a</sup>	42 <sup>a</sup>	15 <sup>b</sup>	15 <sup>c</sup>	10 <sup>c</sup>	3 <sup>c</sup>	0 <sup>d</sup>

Letras iguais na mesma coluna indica que não houveram diferenças significativas entre as médias em relação ao fator A ( $\alpha < 0,05$ ) e Letras iguais na mesma linha indica que não houveram diferenças significativas entre as médias em relação ao fator B ( $\alpha < 0,05$ ), segundo Duncan.

## Apêndice 2 - Artigo a ser submetido à Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos.

### Análise do desenvolvimento de infestações de *Sitophilus* spp. em milho orgânico embalado em atmosfera modificada (AM).

Marcelo De Carli<sup>1</sup>, Bruna Bresolin<sup>2</sup>, Caciano P. Z. Noreña<sup>3</sup>, Irineu Lorini<sup>4</sup>

#### RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o controle de insetos *Sitophilus* spp no milho orgânico embalado mediante o uso de CO<sub>2</sub> (atmosfera modificada). Para esse fim, foram criados insetos não sexados e colocados em milho (previamente limpo e selecionado) contidos em potes plásticos com tampa telada. Após 45 dias, as amostras contendo os insetos foram colocadas em embalagens de barreira e fechadas em embaladora a vácuo compensado em diferentes níveis de CO<sub>2</sub>: 0 (ar sintético), 20, 40, 60 e 80% e tempos de exposição de: 1, 2, 3, 4, 5, 15 e 30 dias. Após aplicação dos tratamentos realizou-se a contagem dos insetos vivos de acordo com metodologia proposta pela FAO [8]. Durante os períodos de aplicação dos tratamentos, foram analisados o teor de umidade, acidez e pH no milho e a concentração de CO<sub>2</sub>, dentro da embalagem. Também foi avaliado o efeito dos tratamentos sobre a capacidade dos insetos criarem descendência (efeito progênie). Foi constatado que as maiores taxas de mortalidade de insetos adultos foram nos primeiros cinco dias de exposição à AM em todos os níveis de concentração de CO<sub>2</sub> estudados. Para períodos de exposição de 15 e 30 dias, foi observado que foram eliminados todos os insetos adultos nas concentrações de 20, 40, 60 e 80% de CO<sub>2</sub>. Durante os experimentos verificou-se que as concentrações de CO<sub>2</sub> no interior das embalagens, em atmosfera modificada, se mantiveram estáveis até o quinto dia de exposição e a partir do qual começaram a diminuir, comportamento este observado em todas as concentrações de atmosfera estudadas. Para o teor de umidade e a acidez houve interação entre o tempo de exposição e a composição atmosférica, enquanto para o pH existiram diferenças significativas, mas com médias muito próximas para as atmosferas testadas porém sem variação de pH significativa em 30 dias. A aplicação de AM com tempos menores que cinco dias não afetaram a progênie dos insetos, no entanto, a partir do décimo quinto dia, para

---

1. Mestrando em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFRGS, ICTA. E-mail: [marcelodecarli@terra.com.br](mailto:marcelodecarli@terra.com.br)

2. Graduanda do curso de Engenharia de Alimentos, UFRGS, ICTA. E-mail: [brunabre@gmail.com](mailto:brunabre@gmail.com)

3. Professor do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, ICTA-UFRGS. E-mail: [czapatan@ufrgs.br](mailto:czapatan@ufrgs.br)

4. Pesquisador EMBRAPA-Trigo. E-mail: [ilorini@cnpt.embrapa.br](mailto:ilorini@cnpt.embrapa.br)

qualquer concentração de CO<sub>2</sub> estudada foram efetivas na eliminação de todas as fases de desenvolvimento dos insetos. Também foi verificado que o vácuo não teve efeito sobre a morte dos insetos.

**Palavras-chave:** insetos, milho, dióxido de carbono, atmosfera modificada, *Sitophilus* sp.

**Analysis of the Development of infestation of *Sitophilus* spp. in Organic Corn Wrapped in Modified Atmosphere (MAP)**

**ABSTRACT**

The objective of this investigation was to evaluate the control of insects *Sitophilus* spp in organic maize grain maize in packing using CO<sub>2</sub> (modified atmosphere). Insects were created and placed in maize (previously cleaned and selected) contained in plastics flasks with screen cover. After 45 days, the samples containing insects were placed in barrier packings and closed in packer machine with vacuum compensated in different levels of CO<sub>2</sub>: 0 (synthetic air), 20, 40, 60 and 80% and times of exposition of: 1, 2, 3, 4, 5, 15 and 30 days. After treatments the number of alive insects were counted in according to methodology proposed by FAO [8]. During the period of application of the treatments, the moisture contend, acidity and pH were analyzed in the corn, and the concentrations of CO<sub>2</sub> inside of the packing was measured. The effect of the treatments on the capacity of the insects to create descendants (progeny effect) was also evaluated. It was verified that the largest rates of mortality of adult insects were in the first five days of exposition to AM in all levels of CO<sub>2</sub> concentration studied. For 15 and 30 days, all the adult insects were eliminated in the concentrations of 20, 40, 60 and 80% of CO<sub>2</sub>. During the experiment it was verified that the CO<sub>2</sub> concentrations inside the packings, in modified atmosphere, remained stable until the fifth day of exposition and after this time CO<sub>2</sub> concentrations started to decrease. This behavior was observed in all atmosphere concentrations studied. For the moisture and acidity was verified that there was significant interaction between the time of exposition and the atmospheric composition, while, for the pH differences were significant with very next averages, for any atmospheric condition during the storage, however without variation of significant pH in 30 days. The application of AM in times smaller than five days no affect the progeny of the insects, however, starting from the fifteenth day, for any CO<sub>2</sub> concentration studied they were effective in the

elimination of all the phases of development of the insects. It was also verified that the vacuum have no effect on the death of the insects.

**Keywords.** Insect control, pest control methods, grain, carbon dioxide, *Sitophilus* sp.

## 1. INTRODUÇÃO

No Brasil, atualmente, por facilidades técnicas, econômicas ou ainda por ser a atmosfera modificada um campo pouco estudado para diversas culturas, os inseticidas, misturados diretamente aos grãos, constituem o meio mais utilizado para o combate de insetos-pragas durante o armazenamento. De qualquer forma é muito inconveniente a presença de insetos que destroem os alimentos, quantitativa e qualitativamente, inclusive predispondo os grãos à contaminação por fungos capazes de produzirem micotoxinas [18].

Existe também a crescente preocupação dos órgãos governamentais e entidades ambientalistas pelo uso indiscriminado de agrotóxicos, trazendo como consequência o aumento da resistência dos insetos a estes.

Assim, busca-se o emprego de tecnologias de combate às infestações sem a utilização de agentes tóxicos, visando o consumo de produtos sem a presença destes resíduos [6].

Como alternativa a estes produtos químicos temos o CO<sub>2</sub> que afeta o crescimento dos microorganismos e pragas em geral, sem deixar resíduos nos alimentos após sua aplicação [19].

Assim, torna-se viável o uso de atmosferas inertes de gás carbônico, denominada comercialmente como atmosfera modificada (AM), como agente protetor em grãos estocados. Durante a estocagem, o efeito do CO<sub>2</sub> é a de evitar o desenvolvimento de infestações de insetos no decorrer da vida de prateleira dos produtos embalados, baseado na baixa aceitabilidade e resistência dos insetos ao meio enriquecido com este gás [7; 1]. Outra vantagem na utilização desta atmosfera para proteção de grãos é a possibilidade de que alcance os objetivos de inativar biologicamente insetos em todas as suas etapas evolutivas (ovo, larva, pupa e adulto)[20].

A utilização de Atmosfera Modificada (AM) para comercialização de grãos orgânicos, é de extrema importância baseada no fato de que este processo agrega imensa facilidade de operação e tranquilidade na comercialização do produto embalado. As principais vantagens são que os gases utilizados, CO<sub>2</sub> e N<sub>2</sub>, não são inflamáveis, corrosivos ou mesmo poluentes além de não depreciar o valor comercial do produto fumigado [11].

Neste trabalho estudou-se o controle por AM de infestações do milho, produzido organicamente, por insetos tipo gorgulhos, ordem Coleóptera (*Sitophilus* spp.), por ser esta considerada como uma das espécies mais importantes como praga no Brasil e possuírem ocorrência marcante no milho [9; 2].

Os objetivos deste trabalho foram avaliar a influência do tratamento com atmosfera modificada (AM) a base de CO<sub>2</sub>, como método de controle da infestação de insetos *Sitophilus* spp em milho orgânico embalado, após serem submetidos às concentrações de 0, 20, 40, 60 e 80% de CO<sub>2</sub> e tempos de exposição de 1, 2, 3, 4, 5, 15 e 30 dias e o efeito do vácuo, realizado durante o processo de embalagem, sobre a resistência dos insetos adultos.

## **2. MATERIAS E MÉTODOS**

Os experimentos foram realizados nos laboratórios da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA – Trigo), Passo Fundo, RS e no Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA), da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

### **2.1 Procedimento experimental**

O milho orgânico da variedade FUNDACEP – 35, foi adquirido da Cooperativa da Agricultura Familiar de Tenente Portela (COPERFAMILIA), localizada no município de Tenente Portela, estado do Rio Grande do Sul, na quantidade de 50 kg. Este material foi embalado em porções de 2 kg, em sacos de polietileno (LD). Após esse acondicionamento, os grãos foram estocados à -18°C com o intuito de garantir a eliminação das diversas fases viáveis do inseto que pudessem existir provenientes de uma contaminação na lavoura, silos de armazenagem ou transporte [10; 1]. Cada vez que se precisava material para os experimentos, procedia-se o descongelamento lento (8°C durante 24horas), em pacote fechado visando não aumentar a umidade do grão.

Os insetos *Sitophilus* spp foram fornecidos pela EMBRAPA – Trigo, Passo Fundo, RS. Estes foram divididos em quatro grupos de 550 insetos adultos, com idades desconhecidas e não sexados. Cada grupo de insetos foi colocado em recipiente plástico de dois litros de capacidade, que continha 1 kg de milho (previamente descongelado) e selados com tampas teladas e os potes foram estocados durante 15 dias numa câmara de criação de insetos (desenvolvida pela EMBRAPA – Trigo), com temperatura, umidade e períodos de luz controlados, de 26°C, 55% de umidade relativa e ciclos de luz de 12/12 horas respectivamente. Após este período peneirou-se o total da amostra em peneira malha n° 13 com a finalidade de retirar todos os insetos adultos os quais não serão empregados nos

experimentos. Posteriormente, o material peneirado foi novamente colocado em potes com tampas teladas e armazenado em câmara climatizada à 26°C, 55% UR por 56 dias. A seguir, novamente peneirou-se o material para a separação dos insetos adultos e não sexados.

Amostras de 250 gramas de milho (previamente descongeladas) foram acondicionadas em recipientes plásticos com tampas teladas e infestadas com 50 insetos adultos e não sexados. Estas amostras ficaram em câmara climatizada (26°C, 55% UR e ciclo de luz 12/12 horas) por 45 dias, visando permitir a cópula, posturas de novos ovos, eclosão, desenvolvimento das larvas e pupas. Após este período cada amostra foi identificada e transferida, em sua totalidade, para as embalagens barreira nas quais se procederam a realizar os tratamentos de atmosfera modificada.

As embalagens barreira utilizadas no experimento foram de especificação T7325B, da empresa SEALED AIR – CRYOVAC, cujas taxas de permeabilidade ao oxigênio e ao vapor de água (TPVA) foram de 5 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>/dia à 23°C e 14 g/m<sup>2</sup>/dia respectivamente. Estas embalagens são formadas por estruturas coextrusadas de nylon, polietileno e copolímeros de etileno e álcool vinílico com espessura de 63 micra de parede.

Para a modificação da atmosfera e posterior selagem das embalagens contendo as amostras, foi empregada a seladora à vácuo compensado, marca SELOVAC, modelo 200 B. As diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> com balanço em nitrogênio foram 0%(ar sintético), 20%, 40%, 60%, 80%.

Foram também acondicionadas em embalagem barreira amostras com atmosfera natural - estas simplesmente seladas manualmente em seladora de marca Barbi. Estas amostras por não terem sido embaladas com o processo de vácuo compensado, não passaram pela etapa de alto vácuo (750 mm Hg). Adicionalmente foram armazenadas amostras de grãos em recipientes plásticos telados, para servirem de branco ou testemunhas, os quais não foram submetidos a nenhum tratamento, com a finalidade de verificar o desenvolvimento de insetos em condições atmosféricas normais [11; 15].

Nos produtos embalados com AM, após períodos de estocagem de: 1, 2, 3, 4, 5, 15 e 30 dias, foram medidas as concentrações de dióxido de carbono no interior das embalagens. Após esta medição as embalagens foram abertas e cada amostra foi novamente colocada em recipiente plástico de 500 ml com tampa telada, onde permaneceram estocadas em câmara climatizada à 26°C, 55% de umidade relativa e ciclos de luz controladas de 12/12 horas, por 7 dias. Após este período, as amostras foram peneiradas e contou-se os insetos adultos vivos e mortos e descartou-os. Este descanso de sete dias visou proporcionar aos insetos adultos a

reabilitação da condição de extremo choque gerado pela estocagem em atmosfera modificada, descartando assim possibilidade de erro na avaliação de insetos vivos ou mortos [14].

Com o intuito de avaliar o efeito dos tratamentos, sobre a progênie (capacidade de gerar descendentes) e a eficiência destes como método de expurgo (eliminação de todas as fases do inseto), as amostras, de onde foram retirados os insetos anteriormente (após contagem), retornaram aos potes telados onde permaneceram por mais 38 dias em câmara climatizada á 26°C, 55% de umidade relativa e ciclos de luz controladas de 12 / 12 horas.

Após este período, os potes foram abertos, as amostras peneiradas e os adultos, caso existissem, foram contados. Neste prazo teríamos 45 dias após a liberação do tratamento, período este suficiente para observar a geração de novos adultos oriundos das outras fases do inseto como ovo, larva e pupa, que não tenham sido afetadas pelos tratamentos [11; 15].

Cabe ressaltar que foi realizado, em períodos previamente estabelecidos, o controle sobre a qualidade da selagem, mediante pintura sobre o cordão das soldas com corante Rodamina B e o volume dos gases certificando desta forma a vedação realizada.

## **2.2 Métodos de análises**

### **Contagem de Insetos**

A contagem de insetos mortos e vivos, foi realizada de acordo com a metodologia proposta pela FAO [8] que consiste no peneiramento dos grãos para separação dos insetos adultos. Foram considerados mortos os insetos que, após um minuto não conseguiram desvirar-se quando colocados de costas ou caminhar quando incentivados.

### **Medição da concentração de dióxido de carbono e oxigênio**

Para a análise das concentrações de CO<sub>2</sub> foi empregado analisador de gases, marca MOCON, modelo Pac Check 650. Neste analisador se realiza o deslocamento dos gases, provenientes da atmosfera coletada do interior da embalagem, para uma célula eletrolítica na qual foram medidas as concentrações de CO<sub>2</sub> (%).

### **Análises de umidade, acidez e pH.**

Essas análises foram feitas conforme metodologias propostas pela AOAC citado por Lane [13] e Instituto Adolfo Lutz [12] que consistem em a determinação da umidade por perda de água em secagem em estufa a 105°C, até atingir peso constante, da acidez total mediante a titulação com Hidróxido de Sódio, do milho finamente moído e dissolvido em água destilada e do pH, por medição direta em pHmetro digital do milho previamente moído e dissolvido em água destilada.

### Análises estatísticas

O planejamento experimental utilizado foi o de um experimento fatorial completo com 2 fatores: concentração de CO<sub>2</sub> e dias de exposição, conduzidos por desenho completo e aleatório.

Utilizou-se o software estatístico Statgraphics Plus versão 5.0 para análise estatística dos dados coletados no experimento.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os grãos que foram utilizados nos experimentos apresentaram teores médios de umidade de 10,43% (base úmida), um acidez de 1,76 ml de NaOH, 1N e pH de 6,25. Estes resultados estão dentro dos valores exigidos pelos padrões de identidade e qualidade (PIQ) do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento do Brasil. Segundo o PIQ para este produto são exigidos umidade máxima de 15% e acidez máxima de 5 ml de NaOH 1N [3].

### 3.1 Efeito da atmosfera modificada na umidade, acidez e pH nos grãos

Na Tabela 1 são apresentadas as mudanças de umidade em função do tempo de exposição dos grãos a diferentes atmosferas. Nela se observa que no primeiro dia a umidade das amostras diminuiu em todos os casos, com respeito a umidade inicial, e no trigésimo dia, exceto no branco, a umidade aumentou. Porém, quando comparados entre os dias de exposição em todos eles o teor de umidade dos grãos aumentou.

Tabela 15 - Valores médios de Umidade após 1 e 30 dias de exposição em diferentes atmosferas

FATOR A	FATOR B (DIAS)	
	1	30
40 % CO <sub>2</sub>	9,71 <sup>ai</sup>	11,03 <sup>a</sup>
Atmosf. Natural	10,11 <sup>ai</sup>	10,91 <sup>a</sup>
Ar Sintet. 0% CO <sub>2</sub>	9,92 <sup>ai</sup>	10,79 <sup>a</sup>
20 % CO <sub>2</sub>	10,21 <sup>ai</sup>	10,85 <sup>a</sup>
60 % CO <sub>2</sub>	10,21 <sup>bi</sup>	10,52 <sup>b</sup>
80 % CO <sub>2</sub>	10,15 <sup>bi</sup>	10,45 <sup>b</sup>
AR (BRANCO)	10,00 <sup>ci</sup>	10,25 <sup>c</sup>

Letras iguais na mesma coluna indica que não houveram diferenças significativas entre as médias em relação ao fator A ( $\alpha < 0,05$ ) e Índice (i) indica diferenças significativas entre as médias em relação ao fator B ( $\alpha < 0,05$ ), segundo Duncan.

A análise de variância (Tabela 2), mostrou significâncias para o fator tempo de exposição e a interação deste com a composição da atmosfera ( $\alpha < 0,05$ ), como se verifica na Figura 1. Para o primeiro dia de exposição, a análise de variância indicou que não existiam diferenças entre as médias das diferentes composições atmosféricas. No entanto o mesmo teste indicou que os resultados foram diferentes entre o 1º e 30º dia, em todas as concentrações estudadas.

Isto se deve às diferentes taxas de respiração que possuem os grãos como consequência de sua atividade metabólica ver-se comprometida pela modificação da atmosfera pelo CO<sub>2</sub> que trazem como consequência que a atividade respiratória seja menor com conseqüente menor geração de umidade. A permeabilidade ao vapor de água da embalagem (14 g/m<sup>2</sup>/dia à 38°C e 90%), também contribui com estas diferenças, pois por ser um material semipermeável, os mecanismos de difusão da água promovem o equilíbrio constante desse vapor entre o interior da embalagem e o ambiente na qual está inserido.

Tabela 2 - Análise de variância para a umidade do milho em diferentes condições de atmosfera e de tempo

Fonte da Variação	SQ	GI	MQ	valor-P	F crítico	
<b>Composição da atmosfera</b>	1,36	6	0,226	0,1798	1,53	N.S.
<b>Tempo de exposição</b>	8,62	1	8,62	0,0000	58,36	*
<b>Interação</b>	2,73	6	0,456	0,0097	3,09	*
<b>Erro</b>	10,34	70	0,147			
<b>Total</b>	23,05	83				

\* Resultados apresentam diferença estatística significativa ( $\alpha < 0,05$ ),

Interação entre %CO<sub>2</sub> e Tempo(dias)

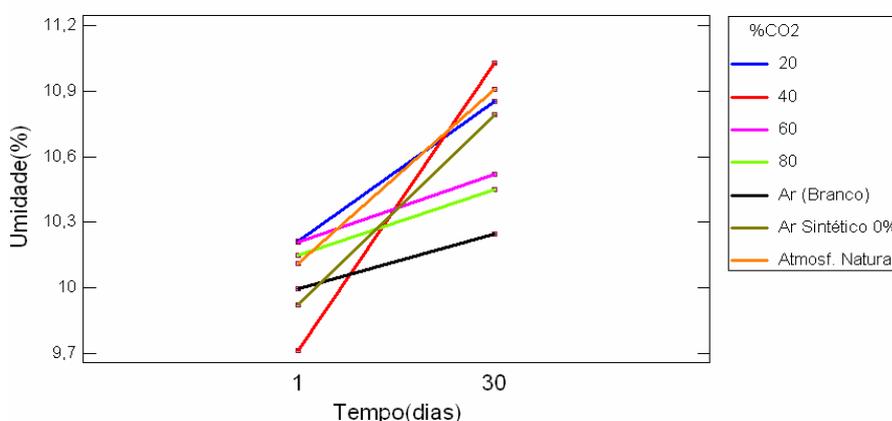


Figura 1- Interação dos fatores composição da atmosfera e tempo de exposição para a umidade %.

Na Tabela 3 se apresentam as mudanças de acidez e de pH no milho durante a sua exposição em diferentes atmosferas. Nela se observa que durante o armazenamento, nos ambientes onde houve modificação da atmosfera, os níveis de acidez foram menores quando comparados com o teor inicial. O não aumento da acidez durante a estocagem em AM, quando comparados com o teor inicial, pode ser devido a que o sistema se encontra com pouca pressão parcial de oxigênio (em médias após o quinto dia de 0,1 a 0,4% de O<sub>2</sub>), sendo que, a taxa de oxidação nos lipídios é uma função direta e contínua da pressão parcial de oxigênio presente. De acordo com Tawfik e Huyghebaert [21], a presença do oxigênio no interior das embalagens é uma das responsáveis pela oxidação dos lipídios, causando aumento no índice de acidez. Outro fator responsável pelo aumento de acidez identificado em altos níveis de CO<sub>2</sub> é explicado por Hasenhuettl e Wan (1992) e Alves et al. (2004), quando citam a quebra da membrana celular pelo CO<sub>2</sub> expondo ácidos graxos à hidrólise, liberando-os ao meio acidificando este.

Na mesma tabela se observa que, no primeiro dia de estocagem os grãos que permaneceram em atmosferas de 0, 20 %CO<sub>2</sub>, ar natural e no branco (21% de O<sub>2</sub>) os valores do índice de acidez mostraram-se maiores que nas outras condições. No entanto, após trinta dias de estocagem somente as atmosferas a 40, 60 e 80% de CO<sub>2</sub> apresentaram um pequeno aumento nos índices de acidez, o que leva a crer na diminuição na atividade da lipase e redução de oxidação de lipídios pela falta do O<sub>2</sub> e na acidificação oriunda da associação do CO<sub>2</sub> com a umidade gerando ácido carbônico [21].

Tabela 3 - Valores médios de Acidez e pH no milho após 1 e 30 (trinta) dias de exposição em diferentes atmosferas.

Fator A / Fator B (dias)	Acidez		pH	
	1	30	1	30
<b>60% CO<sub>2</sub></b>	1,40 <sup>ai</sup>	1,43 <sup>a</sup>	6,66 <sup>g</sup>	6,58 <sup>g</sup>
<b>40% CO<sub>2</sub></b>	1,35 <sup>bi</sup>	1,49 <sup>b</sup>	6,59 <sup>f</sup>	6,56 <sup>f</sup>
<b>80% CO<sub>2</sub></b>	1,32 <sup>bi</sup>	1,54 <sup>b</sup>	6,59 <sup>e</sup>	6,56 <sup>e</sup>
<b>AR (BRANCO)</b>	1,72 <sup>ci</sup>	1,39 <sup>c</sup>	6,51 <sup>d</sup>	6,58 <sup>d</sup>
<b>Atmosf. Natural</b>	1,75 <sup>di</sup>	1,61 <sup>d</sup>	6,41 <sup>b</sup>	6,55 <sup>b</sup>
<b>20% CO<sub>2</sub></b>	1,74 <sup>di</sup>	1,45 <sup>d</sup>	6,52 <sup>c</sup>	6,55 <sup>c</sup>
<b>Ar Sintet. 0% CO<sub>2</sub></b>	1,63 <sup>di</sup>	1,51 <sup>d</sup>	6,45 <sup>a</sup>	6,57 <sup>a</sup>

Letras iguais na mesma coluna indica que não houveram diferenças significativas entre as médias em relação ao fator A ( $\alpha < 0,05$ ) e Índice (') indica diferenças significativas entre as médias em relação ao fator B ( $\alpha < 0,05$ ), segundo Duncan.

A análise de variância (Tabela 4) mostrou significância estatística nos fatores principais concentrações de CO<sub>2</sub> e tempo de exposição e na interação entre eles (Figura 2). Nessa figura se observa o aumento da acidez do primeiro para o trigésimo dia de armazenamento nas atmosferas de 40, 60 e 80% de CO<sub>2</sub>, como foi mencionado anteriormente.

Tabela 4 - Resultados da análise de variância Anova, para a acidez.

Fonte da Variação	SQ	GI	MQ	Valor-P	F crítico	
<b>Composição da atmosfera</b>	0,77	6	0,12	0,0001	1,53	*
<b>Tempo de exposição</b>	0,11	1	0,11	0,0381	58,36	*
<b>Interação</b>	0,79	6	0,13	0,0001	3,09	*
<b>Erro</b>	1,69	70	0,02			
<b>Total</b>	3,36	83				

\* Resultados apresentam diferença estatística significativa ( $\alpha < 0,05$ ),

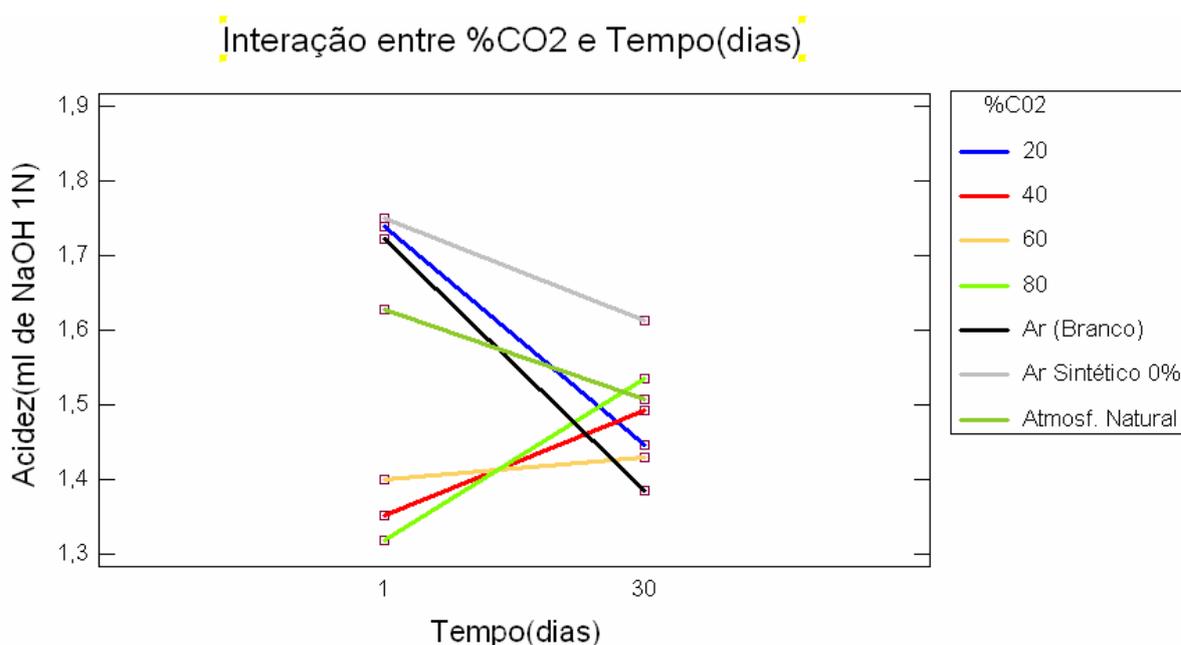


Figura 2 - Interação dos fatores de composição atmosférica e tempos de exposição para Acidez em (ml de NaOH 1N).

Com respeito ao pH, segundo a análise de variância se observam que foram significativas as diferenças somente para o fator principal A (atmosferas), e sua interação com o fator B (Tabela 5). Os resultados do teste de comparação de médias por Duncan para o Fator A indicaram que existiram diferenças entre as médias das diferentes composições atmosféricas, tendo-se resultados estatisticamente diferentes de pH devido às diferentes

concentrações de CO<sub>2</sub>. Salienta-se que não foram significativas as respostas para o fator B mantendo-se assim valores de pH em 30 dias muito próximos à média inicial (Figura 3).

Tabela 15 - Análise de variância ANOVA, para o pH, levando-se em conta os 7 níveis do Fator A (atmosfera) e 2 níveis do Fator B (tempo de exposição).

Fonte da Variação	SQ	Gl	MQ	Valor-P	F crítico	
<b>Fator A</b>	0,16	6	0,03	0,0002	5,05	*
<b>Fator B</b>	0,02	1	0,02	0,0612	3,62	N.S.
<b>Interações A x B</b>	0,12	6	0,02	0,0034	3,63	*
<b>Erro</b>	0,38	70	0,005			
<b>Total</b>	0,68	83				

\* Resultados apresentam diferença estatística significativa ( $\alpha < 0,05$ ),

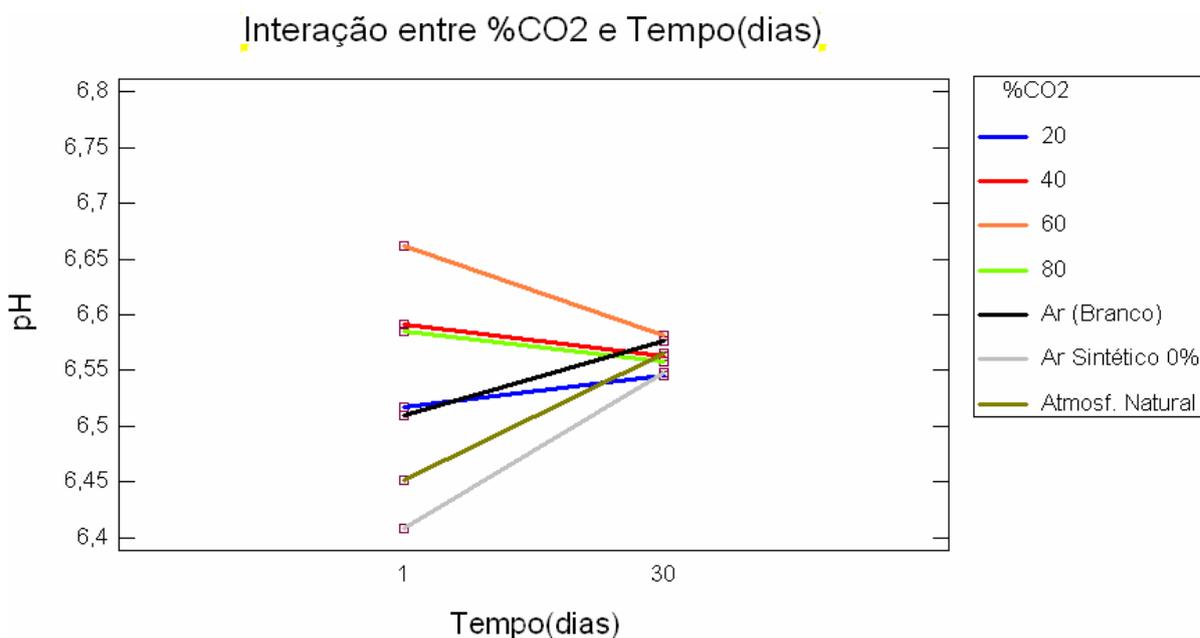


Figura 3 - Interação dos fatores de composição atmosférica e tempos de exposição para pH.

### 3.2 Comportamento da Atmosfera Interna

A atmosfera interna em uma embalagem impermeável se comporta de forma diferente durante o tempo, isto se baseia no fato de que as proporções gasosas vão se modificando seja pela fisiologia dos grãos (respiração e absorção) ou taxas de permeabilidade do filme plástico diferenciada aos gases [20].

A Figura 4 se reporta ao comportamento do CO<sub>2</sub>, de forma geral, no interior das embalagens nas diferentes condições atmosféricas, onde são observados os aumentos dos níveis de CO<sub>2</sub> com o tempo até o quinto dia, seguido por uma queda de %CO<sub>2</sub> constante.

Nas condições iniciais de altos teores de CO<sub>2</sub>, notou-se um %CO<sub>2</sub> constante até o quinto dia seguindo-se uma queda nas concentrações deste gás. Essa queda da concentração, que ocorre em todos os tratamentos, pode ser devido à redução da atividade fisiológica dos grãos [17] e ainda devido a morte de insetos adultos a partir do quinto dia. Mussi [17] menciona que uma das conseqüências da redução na atividade fisiológica é a redução do vigor destes grãos na germinação impossibilitando seu uso posterior como semente. Dessa forma, a diminuição no consumo de O<sub>2</sub> e a taxa constante de ingresso deste gás pela embalagem, propiciam a diluição do CO<sub>2</sub> interno [20]

Nas condições atmosféricas de ar sintético e natural, observa-se na Figura 4, o aumento pequeno, porém gradual, da concentração do CO<sub>2</sub>, até o quinto dia, conseqüência do mecanismo de respiração dos grãos, fungos, bactérias aeróbicas e insetos presentes na embalagem [4]. A partir do quinto dia também se verifica um pequeno declínio em relação ao %CO<sub>2</sub> no comportamento da atmosfera. Isto pode ocorrer pela aceleração do processo respiratório dos grãos e fungos juntamente com os insetos e após o quinto dia, com a morte dos insetos, a produção interna de CO<sub>2</sub> diminui, sendo menor que a permeabilidade da embalagem.

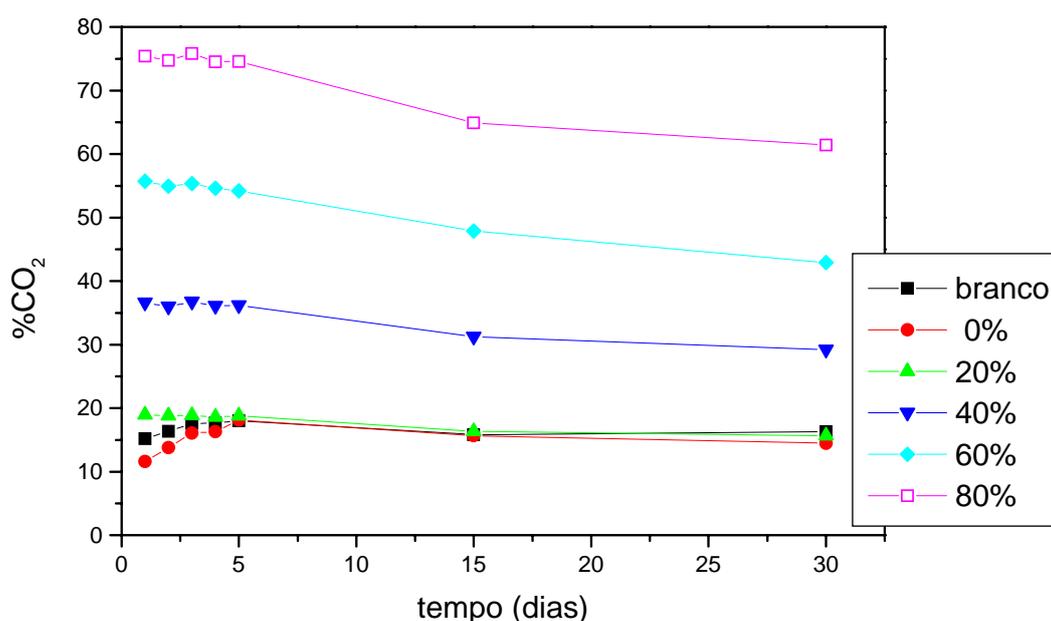


Figura 4 - Evolução da concentração de CO<sub>2</sub> dentro da embalagem em diferentes condições de AM

Os resultados obtidos da análise de variância para a %CO<sub>2</sub> demonstraram significância estatística dos fatores principais e sua interação (Tabela 6). Nas condições atmosféricas de ar sintético e natural, observa-se na mesma figura, o aumento pequeno, porém gradual, da concentração do CO<sub>2</sub>, até o quinto dia, consequência do mecanismo de respiração dos grãos e insetos presentes na embalagem [4]. A partir do quinto dia também se verifica um pequeno declínio em relação ao %CO<sub>2</sub> no comportamento da atmosfera.

Tabela 6 - Resultados da análise de variância para as respostas (%CO<sub>2</sub>),

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico	
<b>Composição da atmosfera</b>	55783,02	5	11156,60	6815,34	6E-108	2,32	*
<b>Tempo de exposição</b>	753,70	6	125,62	76,74	5,6E-32	2,21	*
<b>Interação</b>	602,16	30	20,07	12,26	7,2E-20	1,59	*
<b>Dentro</b>	137,51	84	1,64				
<b>Total</b>	57276,38	125					

\* Resultados apresentam diferença estatística significativa ( $\alpha < 0,05$ ),

Moreno-Martínez et al., [16] no estudo do armazenamento hermético de milho mencionam que os insetos *Sitophilus zeamais*, quando comparados a fungos e grãos, são os maiores consumidores de oxigênio, seguido pelos fungos e finalmente pelos grãos. Singh et al., (1976), citados por Moreno-Martínez et al., [16] encontraram que os insetos adultos de *Sitophilus oryzae* (L.) tem um consumo de oxigênio de 100 ml/adulto/dia. Assim o consumo contínuo deste gás pelos insetos adultos e fungos criaria uma atmosfera desfavorável para eles mesmo, pois o processo de respiração consome O<sub>2</sub> e produz CO<sub>2</sub>.

### 3.3 Efeito da AM nos insetos adultos e progênie

Na Figura 5 se observa o número de sobreviventes, sobre os 50 insetos inseridos nas amostras inicialmente, após a aplicação da AM. Verifica-se que nos primeiros 5 dias a taxa de mortalidade é a mais alta do período avaliado e constante para quaisquer concentração de CO<sub>2</sub> empregada.

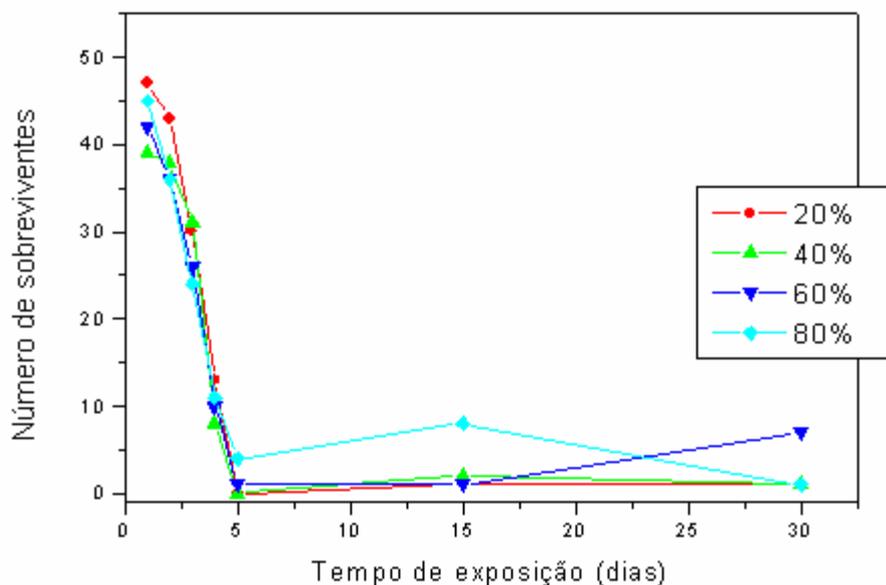


Figura 5 - Número de insetos adultos sobreviventes após exposição em AM

A efetividade destes tratamentos baseia-se no fato de que baixas concentrações de  $O_2$  e altos níveis de  $CO_2$  causam alterações no balanço metabólico que determinam a morte dos artrópodes após períodos prolongados de exposição Fleurat-Lessard (1990), citado por Del Valle e Palma [5]. A principal responsável pela morte dos insetos em atmosfera controlada AC é a falta de oxigênio. Ambientes com alto nível de  $CO_2$  propicia uma aceleração no ritmo de abertura dos espiráculos resultando numa maior perda de água e conseqüente morte do inseto por desidratação [1; 5].

O emprego de altas pressões parciais de  $CO_2$  produz uma reação mais aguda nos insetos de que as baixas pressões de  $O_2$ , provavelmente à diferença na permeabilidade dos tecidos a estes gases (são 36 vezes mais permeáveis ao  $CO_2$  do que ao  $O_2$ ) e os mecanismos de regulação respiratória muito dependentes dos receptores, os quais são mais sensíveis à concentração de  $CO_2$  que da falta de  $O_2$  [5].

Os resultados obtidos através da análise de variância (Tabela 7) indicam a significância do tempo de exposição, resultado que nos indica que durante o armazenamento em AM o tempo de exposição teve um efeito significativo na morte dos insetos adultos a qualquer concentração de dióxido de carbono estudada. Utilizou-se para esta análise somente atmosferas formadas por misturas de  $N_2$  e  $CO_2$  pois os resultados pretendidos visavam a otimização da utilização destes gases.

Tabela 7- Resultados da análise de variância da sobrevivência de insetos em diferentes condições de atmosfera

<b>Fonte da variação</b>	<b><i>SQ</i></b>	<b><i>Gl</i></b>	<b><i>MQ</i></b>	<b><i>F</i></b>	<b><i>valor-P</i></b>	
<b>Composição da atmosfera</b>	60,321	3	20,107	0,860	0,465	N.S.
<b>Tempo de exposição</b>	23339,900	6	3889,980	167,230	0,000	*
<b>Interação</b>	490,095	18	27,277	1,170	0,316	N.S.
<b>Dentro</b>	11634,667	56	23,261			
<b>Total</b>	29742,143	83				

\* Resultados apresentam diferença estatística significativa ( $\alpha < 0,05$ ),

No quinto dia as maiores mortalidades foram obtidas nas concentrações de 20, 40, 60 e 80% de CO<sub>2</sub> e, segundo o teste de Duncan, não existem diferenças entre elas ( $\alpha < 0,05$ ).

Na Figura 6 são apresentados os valores de médias obtidas nas contagens de insetos sobreviventes após 45 dias, passado o período de exposição aos tratamentos. Neles pode ser observado, do ponto de vista de AM, que com tempos de exposição menores que cinco dias todos os tratamentos com CO<sub>2</sub> não foram efetivos, pois houve o nascimento de novos indivíduos. Assim, estas condições não foram capazes de garantir a eliminação das todas as fases do inseto, possivelmente ovo, larva ou pupa. No entanto, no décimo quinto dia a contagem indicou a presença menor que um indivíduo e no trigésimo dia a ausência total de insetos em todos os níveis de CO<sub>2</sub> empregados.

Os resultados obtidos do efeito da concentração de CO<sub>2</sub> e o tempo de exposição sobre os insetos adultos e a progênie indicam que devem ser empregadas concentrações maiores do que 20% de CO<sub>2</sub>, com tempo de aplicação mínimo de 15 dias visando eliminação total de todas as fases do inseto (expurgo).

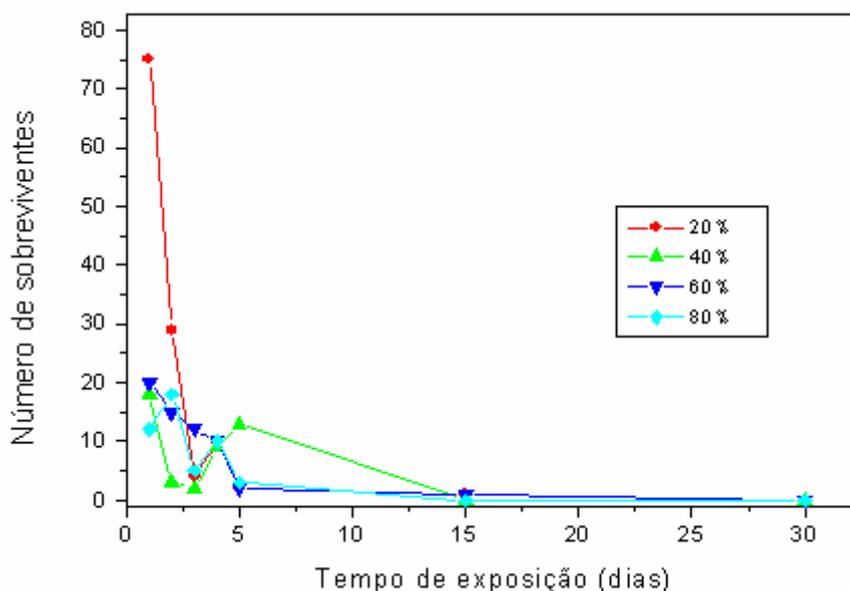


Figura 6- Número de insetos sobreviventes (progênie)

Os resultados obtidos através da análise de variância para insetos vivos após 45 dias demonstraram significância estatística ( $\alpha < 0,05$ ) do fator principal tempo de exposição e de sua interação com o fator composição de atmosferas (Tabela 8), sendo que, a partir da análise de comparação de médias de Duncan, não houve diferenças significativas entre as aplicações do  $\text{CO}_2$  entre os dias 15 e 30.

Tabela 8 - Análise de variância para os insetos sobreviventes após 45 dias

Fonte da variação	SQ	GI	MQ	F	valor-P	F crítico	
<b>Composição da atmosfera</b>	1597,95	3	532,65	2,564	0,0638	2,769	N.S.
<b>Tempo de exposição</b>	8835,81	6	1472,63	7,088	1E-05	2,266	*
<b>Interação</b>	7673,71	18	426,32	2,052	0,0211	1,791	*
<b>Dentro</b>	11634,67	56	207,76				
<b>Total</b>	29742,14	83					

\* Resultados apresentam diferença estatística significativa ( $\alpha < 0,05$ ).

Os resultados obtidos do efeito da concentração de  $\text{CO}_2$  e o tempo de exposição sobre os insetos adultos e a progênie indicam que devem ser empregadas concentrações maiores do que 20% de  $\text{CO}_2$ , com tempo de aplicação mínimo de 15 dias visando eliminação total de todas as fases do inseto (expurgo).

### 3.4 Efeito do vácuo sobre os insetos

Salienta-se que a etapa do alto vácuo é essencial ao procedimento de acondicionamento de produtos em AM por vácuo compensado e devido a esta realidade necessitou-se esclarecer se o alto vácuo aplicado seria letal ou não aos insetos adultos.

Na Figura 7 pode-se observar que, com ou sem aplicação de vácuo, com o passar do tempo, o número de insetos sobreviventes diminui tendo maior taxa de mortalidade nos primeiros três dias. Isto é consequência do aumento da concentração de  $\text{CO}_2$  e redução do  $\text{O}_2$  devido a respiração dos insetos, dos microorganismos aeróbicos e dos grãos [16].

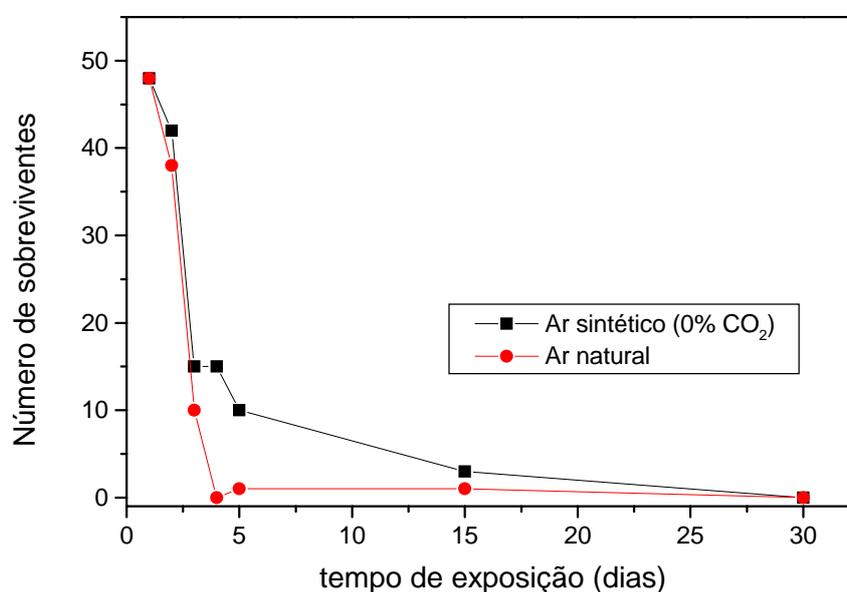


Figura 7 - Número de insetos sobreviventes após procedimento de embalagem com etapa de vácuo (ar sintético) e sem etapa de vácuo (atmosfera natural).

Os resultados obtidos da análise de variância mostraram somente significância estatística para o fator principal tempo de exposição (Tabela 9). Tendo em vista que a análise de variância considerou não significativas ( $\alpha > 0,05$ ) as diferenças em relação ao fator composição de atmosferas e tendo em vista que a única etapa que diferencia as duas atmosferas testadas é a etapa de vácuo, conclui-se que o vácuo prévio realizado no sistema, antes da injeção dos gases não ocasiona morte de insetos adultos. Isto possibilita o uso do método de vácuo compensado para a realização de experimentos com insetos, pois não mascara os resultados de insetos sobreviventes.

Tabela 9- Análise de variância para os insetos sobreviventes.

Fonte da variação	SQ	Gl	MQ	F	valor-P	F crítico	
<b>Pressão da atmosfera</b>	257,52	1	257,52	2,98	0,0955568	4,20	N.S.
<b>Tempo de exposição</b>	13380	6	2230	25,77	3,502E-10	2,45	*
<b>Interação</b>	266,81	6	44,468	0,51	0,7927411	2,45	N.S.
<b>Dentro</b>	2423,3	28	86,548				
<b>Total</b>	16328	41					

\* Resultados apresentam diferença estatística significativa ( $\alpha < 0,05$ ),

#### 4 CONCLUSÕES

Foi constatado que as maiores taxas de mortalidade de insetos adultos foram nos primeiros cinco dias de exposição à AM em todos os níveis de concentração de CO<sub>2</sub> estudados. Para períodos de exposição de 5, 15 e 30 dias, foi observado que foram eliminados todos os insetos adultos nas concentrações de 20, 40, 60 e 80% de CO<sub>2</sub>. Durante os experimentos verificou-se que as concentrações de CO<sub>2</sub> no interior das embalagens, em atmosfera modificada, se mantiveram estáveis até o quinto dia de exposição e a partir do qual começaram a diminuir, comportamento este observado em todas as concentrações de atmosfera estudadas. A aplicação de AM com tempos menores que cinco dias não afetaram a progênie dos insetos, no entanto, a partir do décimo quinto dia, para qualquer concentração de CO<sub>2</sub> estudada foram efetivas na eliminação de todas as fases de desenvolvimento dos insetos. Sendo que, o emprego de concentrações não menores que 20% de CO<sub>2</sub> com tempo de aplicação mínimo de 15 dias é recomendado para a eliminação de insetos adultos, ovos, larvas e pupas. Também foi verificado que o vácuo não teve efeito sobre a letalidade dos insetos. Para o teor de umidade e a acidez houve interação entre o tempo de exposição e a composição atmosférica, enquanto para o pH existiram diferenças significativas, mas com médias muito próximas para as atmosferas testadas porém sem variação de pH significativa em 30 dias.

#### 5. BIBLIOGRAFIA

[1] AFONSO, A.D.L. **Desenvolvimento e avaliação de um gerador de dióxido de carbono para o armazenamento de grãos**. 2001. 121f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, BR-MG, 2001.

[2] ATHIÉ, I.; PAULA, D.C. **Insetos de grãos armazenados: aspectos biológicos e identificação**. 2.ed. São Paulo: Varela, 2002. 344p.

[3] BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - CNNPA n. 12 de 1978. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, 24 de julho de 1978. Disponível em:

<[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\\_78\\_farinhas.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_78_farinhas.htm)> Acesso em: 07 set. 2005.

[4] CANTWELL, M. **Properties and recommended conditions for long-term storage of fresh fruits and vegetables**. Davis: University of Califórnia, 2001 Disponível em:

<<http://www.ucdavis.edu>> Acesso em: 12 dez. 2006.

[5] DEL VALLE, J.M.; PALMA, M.T. Preservación II. atmosferas controladas y modificadas In: AGUILERA, J.M. (Ed.). **Temas en Tecnología de Alimentos**. México, D.F.: CYTED/Instituto Politécnico Nacional, 1997. v. 1, cap. 3, p. 89-130.

[6] FARONI, L.R. A. et al. Qualidade da farinha obtida de grãos de trigo fumigados com dióxido de carbono e fosfina. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, PB, v. 6, n. 2, p. 354-357, 2002.

[7] FARONI, L.R. A. et al. Atmosfera modificada no controle das pragas dos grãos armazenados. In: LORINI, L.H.M.; SCUSSEL, V.M. (Org.). **Armazenagem de grãos**. Campinas: Instituto Bio Genesis, 2002. v. 1, p. 463-491.

[8] FAO. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pest to pesticides: tentative method for adults of some major beetle pest of stored cereals with malathion or lindane - FAO Method num. 15. **FAO Plant Protection Bulletin**, Roma, v. 22, p. 127-137, 1974.

[9] GALLO, D. et al. **Manual de entomologia agrícola**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1988.

[10] GARCIA, F.M. et al. Utilização do congelamento para o controle de insetos-praga de grãos armazenados. In: SIMPÓSIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFV, 14., 2004, Viçosa. **Anais...** Viçosa : Editora da UFV, 2004. v. 1., p. 86-86.

[11] GONÇALVES, R.A. Controle de *Rhyzopertha Dominica* pela atmosfera controlada com CO<sub>2</sub>, em trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 1, p. 1-9, 2000.

[12] INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos.** 3.ed. São Paulo, 1985. v.1.

[13] LANE, R.H. Cereal foods. In: HORWITZ, W. (Ed.). **Official Methods of Analysis of AOAC International.** 17.ed. Gaithersburg: AOAC International, 2000. v.2., p. 1-58.

[14] LORINI, I. Integrated pest management strategies used in stored grain in Brazil to manage phosphine resistance. In: CAF2004: THE INTERNATIONAL CONFERENCE ON CONTROLLED ATMOSPHERE AND FUMIGATION IN STORED PRODUCTS, 2004, Gold Coast. **Conference handbook.** Gold Coast, AU: CSIRO/Queensland Department of Primary Industries, 2004. v. 1. p. 42-42.

[15] MARTINAZZO, A.P. et al. Utilização da Fosfina em Combinação com o Dióxido de Carbono no Controle do *Rhyzopertha Dominica*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira,** Brasília, v. 35, n. 6, p. 1063-1069, 2000.

[16] MORENO-MARTINEZ, E.; JIMÉNEZ, S.; VÁZQUEZ, M.E. Effect of *Sitophilus zeamais* and *Aspergillus chevalieri* on the oxygen level in maize stored hermetically. **Journal of Stored Products Research,** Oxford, GB, v. 36, p. 25-36, 2000.

[17] MUSSI, M.M. **Germinação e vigor de sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.) submetidas a diferentes concentrações de CO<sub>2</sub>, períodos de exposição e embalagens.** Curitiba: UFPR, 2005. 73 f. Dissertação (Mestrado) - Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005, BR-PR.

[18] SANTOS, A.K. et al. Nível de dano econômico de *Sitophilus zeamais* (M.) em trigo armazenado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental,** Campina Grande, PB, v. 6, n. 2, p. 273-279, 2002.

[19] SANTOS, J.P. **Atmosfera controlada por CO<sub>2</sub> no combate a pragas de grãos armazenados.** Lavras: UFLA, 2002.

[20] SARANTÓPOULUS, C.I.G.L. et al. **Embalagens com atmosfera modificada.** 2. ed. Campinas: CETEA/ITAL, 1998. 114p.

[21] TAWFIK, M.S.; HUYGHEBAERT, A. Interaction of packaging materials and vegetable oils: oil stability. **Food Chemistry,** London, v. 64, p. 451-459, 1997.

## EDITOR DE TEXTOS

Utilizou-se para a confecção deste artigo o editor de textos Microsoft Office Word 2003

### Apêndice 3 - Instrumento de Coleta de Dados

INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS  
nsetos com idade entre 1 (um) e 30 (trinta) dias

Linha	FAT. A %CO2	FAT. B t (d)	REPETIÇÃO	Fator Mortos 7	Fator Vivos 45	Fator %CO2
1	Ar Sintet. 0% CO2 ***	1	i	2	10	9,5
2	Ar Sintet. 0% CO2 ***	1	ii	2	12	12,1
3	Ar Sintet. 0% CO2 ***	1	iii	1	7	13,1
4	Ar Sintet. 0% CO2 ***	2	i	3	3	15
5	Ar Sintet. 0% CO2 ***	2	ii	4	7	8,9
6	Ar Sintet. 0% CO2 ***	2	iii	18	59	17,5
7	Ar Sintet. 0% CO2 ***	3	i	49	16	17,9
8	Ar Sintet. 0% CO2 ***	3	ii	48	5	17,6
9	Ar Sintet. 0% CO2 ***	3	iii	8	1	12,8
10	Ar Sintet. 0% CO2 ***	4	i	12	3	14,5
11	Ar Sintet. 0% CO2 ***	4	ii	41	3	16,5
12	Ar Sintet. 0% CO2 ***	4	iii	51	5	17,8
13	Ar Sintet. 0% CO2 ***	5	i	40	6	18,3
14	Ar Sintet. 0% CO2 ***	5	ii	38	5	18,1
15	Ar Sintet. 0% CO2 ***	5	iii	41	1	18
16	Ar Sintet. 0% CO2 ***	15	i	45	0	15,6
17	Ar Sintet. 0% CO2 ***	15	ii	48	0	15,6
18	Ar Sintet. 0% CO2 ***	15	iii	47	0	15,8
19	Ar Sintet. 0% CO2 ***	30	i	49	0	14,4
20	Ar Sintet. 0% CO2 ***	30	ii	51	0	14,7
21	Ar Sintet. 0% CO2 ***	30	iii	51	0	14,3
22	Atmosf. Natural **	1	i	2	97	16,4
23	Atmosf. Natural **	1	ii	2	73	15,5
24	Atmosf. Natural **	1	iii	3	5	13,6
25	Atmosf. Natural **	2	i	3	0	15,4
26	Atmosf. Natural **	2	ii	12	14	16,1
27	Atmosf. Natural **	2	iii	20	59	17,5
28	Atmosf. Natural **	3	i	38	6	17,3
29	Atmosf. Natural **	3	ii	31	3	17,4
30	Atmosf. Natural **	3	iii	50	5	18,1
31	Atmosf. Natural **	4	i	50	6	17,4
32	Atmosf. Natural **	4	ii	50	8	17,9
33	Atmosf. Natural **	4	iii	49	11	17,6
34	Atmosf. Natural **	5	i	49	11	17,9
35	Atmosf. Natural **	5	ii	50	11	18
36	Atmosf. Natural **	5	iii	48	2	18,1
37	Atmosf. Natural **	15	i	45	0	15,8
38	Atmosf. Natural **	15	ii	51	0	15,8
39	Atmosf. Natural **	15	iii	50	1	15,9
40	Atmosf. Natural **	30	i	50	0	15,1
41	Atmosf. Natural **	30	ii	51	0	15
42	Atmosf. Natural **	30	iii	49	0	18,8

INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS  
Insetos com idade entre 1 (um) e 30 (trinta) dias

Linha	FAT. A %CO2	FAT. B t (d)	REPETIÇÃO	Fator Mortos 7	Fator Vivos 45	Fator %CO2
43	AR (BRANCO) *	1	i	5	11	0,1
44	AR (BRANCO) *	1	ii	2	15	0,1
45	AR (BRANCO) *	1	iii	3	67	0,1
46	AR (BRANCO) *	2	i	1	67	0
47	AR (BRANCO) *	2	ii	2	46	0
48	AR (BRANCO) *	2	iii	2	10	0
49	AR (BRANCO) *	3	i	2	3	0
50	AR (BRANCO) *	3	ii	4	5	0
51	AR (BRANCO) *	3	iii	0	37	0
52	AR (BRANCO) *	4	i	5	4	0
53	AR (BRANCO) *	4	ii	3	40	0
54	AR (BRANCO) *	4	iii	1	14	0
55	AR (BRANCO) *	5	i	2	9	0
56	AR (BRANCO) *	5	ii	2	18	0
57	AR (BRANCO) *	5	iii	0	21	0
58	AR (BRANCO) *	15	i	3	44	0
59	AR (BRANCO) *	15	ii	4	12	0
60	AR (BRANCO) *	15	iii	0	10	0
61	AR (BRANCO) *	30	i	2	2	0,2
62	AR (BRANCO) *	30	ii	6	3	0
63	AR (BRANCO) *	30	iii	5	16	0
64	20	1	i	3	132	19
65	20	1	ii	2	7	19
66	20	1	iii	5	87	18,8
67	20	2	i	12	52	18,6
68	20	2	ii	4	33	18,9
69	20	2	iii	6	2	18,9
70	20	3	i	22	3	18,7
71	20	3	ii	18	4	19
72	20	3	iii	20	4	18,8
73	20	4	i	33	15	18,5
74	20	4	ii	42	10	18,4
75	20	4	iii	37	5	18,9
76	20	5	i	49	2	18,9
77	20	5	ii	51	3	18,7
78	20	5	iii	49	1	18,8
79	20	15	i	50	0	16,3
80	20	15	ii	46	1	16,3
81	20	15	iii	51	1	16,4
82	20	30	i	51	0	15,8
83	20	30	ii	48	0	16
84	20	30	iii	49	0	15,2

INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS  
Insetos com idade entre 1 (um) e 30 (trinta) dias

Linha	FAT. A %CO2	FAT. B t (d)	REPETIÇÃO	Fator Mortos 7	Fator Vivos 45	Fator %CO2
85	40	1	i	6	16	36,7
86	40	1	ii	19	19	36,6
87	40	1	iii	8	20	36,6
88	40	2	i	12	6	35,9
89	40	2	ii	12	1	35,8
90	40	2	iii	11	2	36,2
91	40	3	i	18	2	36,5
92	40	3	ii	20	1	37,2
93	40	3	iii	20	2	36,6
94	40	4	i	43	6	35,9
95	40	4	ii	41	11	36,1
96	40	4	iii	42	11	36,3
97	40	5	i	50	5	35,5
98	40	5	ii	51	15	36,5
99	40	5	iii	51	19	36,5
100	40	15	i	49	0	30,6
101	40	15	ii	47	0	31,5
102	40	15	iii	48	0	31,6
103	40	30	i	48	0	29,9
104	40	30	ii	49	0	28
105	40	30	iii	50	0	29,7
106	60	1	i	7	27	55,3
107	60	1	ii	7	4	55,9
108	60	1	iii	10	28	55,9
109	60	2	i	15	7	54,5
110	60	2	ii	11	3	54,9
111	60	2	iii	16	35	55,4
112	60	3	i	19	5	55,4
113	60	3	ii	22	27	55,1
114	60	3	iii	30	3	55,5
115	60	4	i	38	7	55,1
116	60	4	ii	43	12	54,3
117	60	4	iii	40	12	54,5
118	60	5	i	49	2	54,9
119	60	5	ii	48	2	53,9
120	60	5	iii	51	1	53,8
121	60	15	i	48	2	47,6
122	60	15	ii	49	0	47,4
123	60	15	iii	50	0	48,7
124	60	30	i	48	0	39,7
125	60	30	ii	48	0	43,6
126	60	30	iii	32	0	45,4

INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS  
Insetos com idade entre 1 (um) e 30 (trinta) dias

Linha	FAT. A %CO2	FAT. B t (d)	REPETIÇÃO	Fator Mortos 7	Fator Vivos 45	Fator %CO2
127	80	1	i	1	5	75,1
128	80	1	ii	5	26	75,6
129	80	1	iii	10	6	75,5
130	80	2	i	20	29	74,8
131	80	2	ii	19	4	74,8
132	80	2	iii	2	22	74,5
133	80	3	i	22	2	75,8
134	80	3	ii	31	0	76,3
135	80	3	iii	26	12	75,4
136	80	4	i	34	10	73,6
137	80	4	ii	40	14	74,9
138	80	4	iii	42	6	75
139	80	5	i	50	10	74,1
140	80	5	ii	38	0	74,6
141	80	5	iii	50	0	75
142	80	15	i	52	0	65,4
143	80	15	ii	48	1	65,5
144	80	15	iii	26	0	63,9
145	80	30	i	50	0	58,2
146	80	30	ii	49	0	60,9
147	80	30	iii	48	0	65,2

INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS  
Insetos com idade entre 1 (um) e 30 (trinta) dias

	FAT. A %CO2	FAT. B t (d)	REPETIÇÃO	Fator umidade	Fator acidez	Fator pH
Caracterização Inicial		0	i	10,402	2,193	6,56
Caracterização Inicial		0	ii	10,5	1,494	6,42
Caracterização Inicial		0	iii	10,396	1,595	5,78
Ar Sintet. 0% CO2		1	i	10,76	1,76	6,39
Ar Sintet. 0% CO2		1	1i	10,7	1,67	6,38
Ar Sintet. 0% CO2		1	ii	9,7	1,68	6,34
Ar Sintet. 0% CO2		1	1ii	9,86	1,96	6,47
Ar Sintet. 0% CO2		1	iii	9,32	1,76	6,42
Ar Sintet. 0% CO2		1	1iii	9,19	1,67	6,45
Ar Sintet. 0% CO2		30	i	10,81	1,49	6,59
Ar Sintet. 0% CO2		30	1i	10,97	1,77	6,59
Ar Sintet. 0% CO2		30	ii	10,81	1,68	6,59
Ar Sintet. 0% CO2		30	1ii	10,99	1,3	6,6
Ar Sintet. 0% CO2		30	iii	10,85	1,86	6,33
Ar Sintet. 0% CO2		30	1iii	10,32	1,58	6,59

INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS  
Insetos com idade entre 1 (um) e 30 (trinta) dias

FAT. A %CO2	FAT. B t (d)	REPETIÇÃO	Fator umidade	Fator acidez	Fator pH
Atmosf. Natural	1	i	10,01	1,77	6,44
Atmosf. Natural	1	1i	9,77	1,86	6,68
Atmosf. Natural	1	ii	10,02	1,3	6,12
Atmosf. Natural	1	1ii	9,75	1,68	6,5
Atmosf. Natural	1	iii	10,29	1,58	6,51
Atmosf. Natural	1	1iii	10,81	1,58	6,46
Atmosf. Natural	30	i	10,99	1,68	6,53
Atmosf. Natural	30	1i	10,92	1,3	6,55
Atmosf. Natural	30	ii	10,83	1,4	6,55
Atmosf. Natural	30	1ii	11,06	1,68	6,57
Atmosf. Natural	30	iii	10,93	1,49	6,64
Atmosf. Natural	30	1iii	10,71	1,49	6,55
AR (BRANCO)	1	i	10,38	1,86	6,48
AR (BRANCO)	1	1i	10,54	1,77	6,49
AR (BRANCO)	1	ii	9,61	1,96	6,5
AR (BRANCO)	1	1ii	9,75	1,58	6,51
AR (BRANCO)	1	iii	9,76	1,49	6,54
AR (BRANCO)	1	1iii	9,93	1,67	6,54
AR (BRANCO)	30	i	10,42	1,31	6,6
AR (BRANCO)	30	1i	10,61	1,4	6,57
AR (BRANCO)	30	ii	10	1,31	6,58
AR (BRANCO)	30	1ii	9,93	1,31	6,59
AR (BRANCO)	30	iii	10,25	1,49	6,58
AR (BRANCO)	30	1iii	10,26	1,49	6,54
20	1	i	10,23	1,76	6,47
20	1	1i	10,42	1,68	6,51
20	1	ii	10,01	1,96	6,56
20	1	1ii	9,95	1,68	6,6
20	1	iii	10,16	1,68	6,48
20	1	1iii	10,51	1,68	6,48
20	30	i	10,7	1,31	6,58
20	30	1i	10,9	1,4	6,42
20	30	ii	10,77	1,31	6,61
20	30	1ii	10,98	1,58	6,54
20	30	iii	10,89	1,77	6,57
20	30	1iii	10,88	1,31	6,55

INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

Insetos com idade entre 1 (um) e 30 (trinta) dias

FAT. A %CO2	FAT. B t (d)	REPETIÇÃO	Fator umidade	Fator acidez	Fator pH
40	1	i	9,62	1,21	6,66
40	1	1i	9,42	1,31	6,6
40	1	ii	10,13	1,49	6,58
40	1	1ii	10,48	1,49	6,56
40	1	iii	9,26	1,21	6,58
40	1	1iii	9,37	1,4	6,57
40	30	i	10,77	1,49	6,59
40	30	1i	11,02	1,31	6,55
40	30	ii	11,01	1,68	6,55
40	30	1ii	10,79	1,31	6,58
40	30	iii	11,36	1,58	6,55
40	30	1iii	11,23	1,58	6,56
60	1	i	10,3	1,49	6,6
60	1	1i	10,45	1,31	6,87
60	1	ii	10,35	1,4	6,69
60	1	1ii	10,36	1,31	6,62
60	1	iii	9,95	1,49	6,6
60	1	1iii	9,85	1,4	6,59
60	30	i	10,12	1,4	6,57
60	30	1i	10,6	1,58	6,55
60	30	ii	10,23	1,4	6,56
60	30	1ii	10,8	1,68	6,6
60	30	iii	10,69	1,4	6,6
60	30	1iii	10,67	1,12	6,61
80	1	i	10,63	1,68	6,62
80	1	1i	11,09	1,21	6,62
80	1	ii	9,21	1,3	6,6
80	1	1ii	9,31	1,3	6,61
80	1	iii	10,16	1,4	6,6
80	1	1iii	10,48	1,02	6,46
80	30	i	10,98	1,58	6,6
80	30	1i	10,75	1,58	6,54
80	30	ii	10,14	1,49	6,54
80	30	1ii	10,23	1,58	6,54
80	30	iii	10,1	1,58	6,56
80	30	1iii	10,49	1,4	6,57