



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Emanuelle Iaçana Berté Parisotto

**ANÁLISE EXPERIMENTAL E MODELAGEM MATEMÁTICA DA CINÉTICA DE
MORTE TÉRMICA DE *Sitophilus zeamais* E DA DESINFESTAÇÃO DE GRÃOS DE
MILHO POR MICRO-ONDAS**

Florianópolis
2020

Emanuelle Iaçana Berté Parisotto

ANÁLISE EXPERIMENTAL E MODELAGEM MATEMÁTICA DA CINÉTICA DE MORTE TÉRMICA DE *Sitophilus zeamais* E DA DESINFESTAÇÃO DE GRÃOS DE MILHO POR MICRO-ONDAS

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Augusto Mattar Carciofi.

Coorientadores: Prof. Dr. João Borges Laurindo

Prof. Dr. Edilson Caron.

Florianópolis

2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Parisotto, Emanuelle Iaçana Berté
ANÁLISE EXPERIMENTAL E MODELAGEM MATEMÁTICA DA CINÉTICA
DE MORTE TÉRMICA DE *Sitophilus zeamais* E DA DESINFESTAÇÃO
DE GRÃOS DE MILHO POR MICRO-ONDAS / Emanuelle Iaçana Berté
Parisotto ; orientador, Bruno Augusto Mattar Carciofi,
coorientador, João Borges Laurindo, coorientador, Edilson
Caron, 2020.
133 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em
Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2020.

Inclui referências.

1. Engenharia de Alimentos. 2. Tratamento térmico. 3.
Cinética de morte. 4. Insetos-praga. 5. Modelo preditivo.
I. Carciofi, Bruno Augusto Mattar. II. Laurindo, João
Borges. III. Caron, Edilson IV. Universidade Federal de
Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de
Alimentos. V. Título.

Emanuelle Iaçana Berté Parisotto

**ANÁLISE EXPERIMENTAL E MODELAGEM MATEMÁTICA DA CINÉTICA
DE MORTE TÉRMICA DE *Sitophilus zeamais* E DA DESINFESTAÇÃO DE GRÃOS
DE MILHO POR MICRO-ONDAS**

O presente trabalho em nível de doutorado foi avaliado e aprovado por banca
examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Bruno Augusto Mattar Carciofi - Presidente - UFSC

Prof. Dr. Daniel Angelo Longhi - Membro externo - UFPR

Prof. Dr. Carlos Peres Silva - Membro externo - UFSC

Profa. Dra. Jaciane Lutz Ienczak - Membro interno - UFSC

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi
julgado adequado para obtenção do título de doutora em Engenharia de Alimentos.

Profa. Dra. Sandra Regina Salvador Ferreira, Dra.
Coordenadora do Programa

Prof. Dr. Bruno Augusto Mattar Carciofi
Orientador(a)

Florianópolis, 2020.

Dedico este trabalho à minha mãe Ivete
e ao meu pai Carlos.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Carlos e Ivete, pela educação, amor e apoio em todos os momentos da minha vida. Ao meu irmão Iaçanã pelo carinho e apoio. À toda minha família.

Ao Joel pelo apoio, paciência, carinho e companheirismo.

Ao meu orientador professor Bruno Carciofi pela confiança e oportunidade, pelos inúmeros ensinamentos, amizade e por toda contribuição e dedicação ao trabalho. Aos meus coorientadores, professores João Borges Laurindo e Edilson Caron, pela confiança, oportunidade, apoio e contribuição para o desenvolvimento desta tese.

Ao professor Carlos Peres por me receber e discutir o projeto com tanto entusiasmo. Suas contribuições foram muito importantes. Aos seus alunos, Cristina e Theo, pela disponibilidade e auxílio na realização das análises.

Aos professores membros da banca de qualificação e defesa, Daniel Longhi, Carlos Peres e Jaciane Ienczak pela disponibilidade, tempo dedicado ao trabalho e pelas contribuições.

Às alunas de Iniciação Científica Bruna Navarro e Carolina Xavier pela dedicação ao projeto e contribuição para o trabalho. À Amanda Galvão por embarcar neste projeto, pela ajuda e apoio.

Ao Laboratório de Propriedades Físicas de Alimentos (PROFI) que fez parte de todo meu processo de formação e crescimento profissional. Aos colegas e amigos deste laboratório, por todas as conversas, contribuições e pelos momentos de descontração e alegria. Em especial ao Jhony, Ricardo, Denise, Jaque, Betina, Laura, Gustavo, Glaucia, Fer, Aline, Ana e Paula.

Ao LAPCOL e Laboratório de Artrópodes (UFPR - Setor Palotina) e seus integrantes, pelo acolhimento, suporte e auxílio. Aos professores Edilson Caron e Fernando Leivas por me receberem tão bem, me incentivarem e confiarem em meu trabalho. Ao professor Fábio Rosado, pela disponibilidade e contribuição para o fechamento deste trabalho.

À UFSC e ao PPGEAL pela oportunidade. Ao CNPq e à CAPES pelo apoio financeiro. Aos professores do PPGEAL pelos ensinamentos. Ao Fernando pela disponibilidade e por me direcionar ao prof. Carlos. Aos demais laboratórios e funcionários da UFSC pela disponibilidade e suporte técnico.

Aos amigos da graduação sempre presentes: Thay, Mariane, Marielle, Fer, Carina, Lê, Fabrício e Lucas. Às amigas Mari, Carol, Dessa, Ana, Rapha e Nanda, pela amizade e apoio sempre. Aos amigos de Palotina: Mireille, Maurício, Burin e Glau, pela parceria, apoio e pelos momentos de alegria.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

À Deus pelo dom da vida.

RESUMO

A deterioração de grãos secos devido à presença de insetos-praga gera grandes desperdícios de alimentos e perdas econômicas. O gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera, Curculionidae), é um dos principais insetos-praga de grãos armazenados. Os métodos tradicionais de desinfestação são realizados pela aspersão de substâncias químicas, porém há grande interesse na redução e extinção destes processos. O tratamento térmico de grãos é uma alternativa para a desinfestação de grãos e o aquecimento seletivo gerado por micro-ondas é uma técnica promissora na área. A literatura apresenta a morte térmica de alguns insetos-praga, mas carece de modelos matemáticos cinéticos para descrever o comportamento de morte do inseto sob diferentes temperaturas. Assim, o presente estudo tem como objetivo principal propor modelos cinéticos de predição da morte térmica de insetos de *S. zeamais* e avaliar seu comportamento de morte diante da desinfestação de grãos de milho em aquecimento por micro-ondas. A morte térmica de insetos em condições isotérmicas foi avaliada nas temperaturas de 46, 50, 54, 58 e 62 °C. A avaliação da desinfestação de *S. zeamais* em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas foi realizada nas densidades de potência de 1,2 W g⁻¹, 3,0 W g⁻¹ e 6,0 W g⁻¹. Comportamento sigmoide foi observado tanto nas cinéticas em condições isotérmicas quanto na desinfestação em micro-ondas. O estudo das cinéticas de morte em condições isotérmicas foi baseado nos modelos preditivos de crescimento e inativação de microrganismos. O modelo sigmoide de Fermi foi utilizado para descrever esta cinética, e foram obtidos os parâmetros de velocidade máxima de morte térmica (k_{max}) e tempo necessário para a morte de metade da população inicial (t_L). O modelo preditivo proposto foi validado experimentalmente e resultou em boas predições na faixa de temperatura de 46 °C a 62 °C. Os modelos utilizados para avaliação da desinfestação em micro-ondas basearam-se em modelos logísticos de probabilidade de sobrevivência dos insetos em função do tempo de processo e da temperatura dos grãos, visto que a temperatura durante o processo era variável. A mortalidade de *S. zeamais* durante a desinfestação é diretamente dependente da temperatura dos grãos. As larvas de 3° e 4° instares são mais suscetíveis ao tratamento em micro-ondas que a fase adulta. Quando a temperatura dos grãos atingiu 60 °C, a eliminação da fase adulta foi superior a 96%. Para similar mortalidade das larvas, foram requeridas temperaturas em torno de 55 °C. A umidade dos grãos e dos insetos adultos não diferiram significativamente antes e após os tratamentos de desinfestação em micro-ondas. Os insetos adultos apresentaram variação no perfil de proteínas quando expostos à desinfestação em micro-ondas. Proteínas de maior massa molar tiveram sua expressão reduzida, enquanto proteínas de menor massa molar apareceram ao longo do tempo de processo de desinfestação em micro-ondas. Além disso, observou-se possível expressão de proteínas de choque térmico nestes insetos. Com base nos resultados obtidos neste estudo, é possível confirmar a eficácia e rapidez do processo de desinfestação de grãos por aquecimento em micro-ondas e a dependência da eliminação dos insetos diretamente associada à temperatura dos grãos. O presente estudo desenvolveu modelos matemáticos que descrevem bem o comportamento de morte de *S. zeamais* com a temperatura em que se encontram, sendo muito úteis para compreensão e melhorias nos processos de desinfestação de grãos por aquecimento.

Palavras-chave: Aquecimento. Cinética de morte. Insetos-praga. Modelo preditivo. Tratamento térmico.

ABSTRACT

The deterioration of dried grains due to the presence of pest insects generates food waste and economic losses. The maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera, Curculionidae), is one of the main pests of stored grains. Traditional disinfestation methods are carried out by spraying chemical substances, but there is an increased interest in reducing and eliminating these processes. Heat treatment of grains is an alternative to grain disinfestation and the selective heating generated by microwaves is a promising technology. The literature presents the thermal death of some pest insects, but there is a lack of kinetic models to describe the insect's death behavior under different temperatures. Thus, the present study aims to propose kinetic models for predicting the thermal death of *S. zeamais* and to evaluate its death behavior when disinfesting maize grains under microwave heating. The thermal death in isothermal conditions was evaluated at temperatures of 46, 50, 54, 58, and 62 °C. The evaluation of *S. zeamais* disinfestation in maize grains by microwave heating was performed at power densities of 1.2 W g⁻¹, 3.0 W g⁻¹, and 6.0 W g⁻¹. Sigmoidal behavior was observed in kinetics under isothermal conditions and in microwave disinfestation. The evaluation of death kinetics in isothermal conditions was based on predictive models of growth and inactivation of microorganisms. Fermi's sigmoid model was used to describe these kinetics and the parameters of the maximum rate of thermal death (k_{max}), and also the time required to halve the initial population (t_L) were obtained. The proposed predictive model was experimentally validated and resulted in good predictions in the temperature range of 46 °C to 62 °C. Since the temperature during the process was variable, the models used to evaluate the microwave disinfestation were based on logistical models of insect survival probability as a function of the processing time and grain temperature. The mortality of *S. zeamais* during disinfestation is directly dependent on the grain temperature. Insect larvae (3th and 4th instar) are more susceptible to microwave treatment than the adult stage. When the grain temperature reached 60 °C, the adult elimination was almost complete (> 96%). For similar larvae mortality, temperatures around 55 °C were required. The moisture content of grains and adult insects were not significantly different after microwave disinfestation treatments. Adult insects showed a variation in the total protein when exposed to microwave disinfestation. The expression of high molar mass proteins was reduced, while low molar mass proteins appeared over the microwave disinfestation processing time. Besides, possible expression of heat shock proteins was observed in these insects. Based on these results, it is possible to confirm the effectiveness and speed of grain disinfestation process by microwave heating and the dependence on the insect elimination directly associated with the grain temperature. Finally, the present study developed mathematical models with a good description of the death behavior of *S. zeamais* with the temperature, being extremely useful for understanding and improving the grain's disinfestation processes by heating.

Keywords: Heating. Death kinetics. Pest insects. Predictive model. Heat treatment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Influência da temperatura no desenvolvimento de insetos.	38
Figura 2: Imagens de espécime da espécie <i>S. zeamais</i> nos estágios de vida: (a) adulto (b) pupa e (c) larva.	42
Figura 3: Microscopia de grãos de milho com representação da destruição interna do grão formadas por larvas de <i>Sitophilus</i> spp. com aumento de 20 vezes.	43
Figura 4: Comportamento e temperatura do corpo e fluido corporal dos insetos com a redução da temperatura.	53
Figura 5: Imagens da (a) espermateca, (b) espícula da genitália feminina e (c) ápice do tergito 8 do macho, de espécimes dissecados que comprovam ser a espécie <i>S. zeamais</i> (Coleoptera: Curculionidae).	66
Figura 6: Dados experimentais médios e desvio padrão das curvas de morte térmica de <i>S. zeamais</i> nas temperaturas de referência iguais a (■) 46 °C, (○) 50 °C, (◆) 54 °C, (▲) 58 °C e (●) 62 °C.	67
Figura 7: Tempo de processo observado para mortalidade total da população de insetos adultos de <i>S. zeamais</i> submetidos a diferentes condições isotérmicas.	68
Figura 8: (a) Ajustes dos modelos sigmoides GOM_{aj} (----) e FER (—) aos dados experimentais (▲) e (b) resíduos dos ajustes dos modelos GOM_{aj} (■) e FER (●) na temperatura de referência de 58 °C.	71
Figura 9: Ajustes do modelo FER (linhas) aos dados experimentais (símbolos) de morte térmica de <i>S. zeamais</i> nas temperaturas de referência de 46 °C (---, ■), 50 °C (—, ○), 54 °C (----, ◆), 58 °C (—, ▲) e 62 °C (....., ●).	72
Figura 10: Influência da temperatura sobre os parâmetros (a) tL e (b) $kmax$. A linha contínua representa o ajuste e os pontos são os valores dos parâmetros obtidos pelo modelo FER.	75
Figura 11: Curvas cinéticas de morte térmica de <i>S. zeamais</i> previstas (linhas) pelos modelos FER e secundários, e validadas com dados experimentais (pontos) nas temperaturas de referência de 48 °C (▲, —) e 52 °C (●, ---).	76
Figura 12: Ilustração esquemática do sistema de aquecimento de micro-ondas.	81
Figura 13: Fluxograma das etapas desenvolvidas para a avaliação da desinfestação de <i>S. zeamais</i> em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas.	82
Figura 14: Esquema representativo das etapas realizadas no tratamento de desinfestação de grãos de milho infestados com larvas tardias (L3 e L4) de <i>S. zeamais</i> por aquecimento em micro-ondas.	84

Figura 15: Curva cinética de desinfestação de insetos (a) adultos e (b) larvas de <i>S. zeamais</i> em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas nas densidades de potência nominais de (●) 1,2 W g ⁻¹ , (■) 3,0 W g ⁻¹ e (◆) 6,0 W g ⁻¹	87
Figura 16: Evolução temporal da temperatura superficial dos grãos de milho durante o processo de desinfestação de <i>S. zeamais</i> nas fases adulta (a) e larval (b) por aquecimento em micro-ondas a (●) 1,2 W g ⁻¹ , (■) 3,0 W g ⁻¹ e (◆) 6,0 W g ⁻¹	89
Figura 17: Curva de desinfestação de insetos (a) adultos e (b) larvas de <i>S. zeamais</i> em grãos de milho em função da temperatura superficial dos grãos durante o aquecimento por micro-ondas nas densidades de potência de (●) 1,2 W g ⁻¹ , (■) 3,0 W g ⁻¹ e (◆) 6,0 W g ⁻¹	90
Figura 18: Energia específica do processo para a desinfestação de (a) insetos adultos e (b) larvas durante aquecimento por micro-ondas em densidades de potência de 1,2 W g ⁻¹ (●), 3,0 W g ⁻¹ (■) e 6,0 W g ⁻¹ (◆).....	92
Figura 19: Umidade (bs) do grão avaliada antes e após o processo de desinfestação total de indivíduos adultos de <i>S. zeamais</i> em aquecimento por micro-ondas.	93
Figura 20: Ajuste do modelo logístico aos dados experimentais da desinfestação das fases de desenvolvimento (a) adulta e (b) larval de <i>S. zeamais</i> em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas nas densidades de potência de 1,2 W g ⁻¹ (●, —), 3,0 W g ⁻¹ (■, —) e 6,0 W g ⁻¹ (◆,).	94
Figura 21: Comparação entre os dados experimentais e ajustados para a desinfestação da fase adulta (a, b, c) e larval (d, e, f) de <i>S. zeamais</i> em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas a 1,2 W g ⁻¹ (●), 3,0 W g ⁻¹ (■) e 6,0 W g ⁻¹ (◆).	96
Figura 22: Dados experimentais (símbolos) e ajustes do modelo logístico (linhas) para a relação entre a razão de sobreviventes de larvas (▲, —) e adultos (●, —) de <i>S. zeamais</i> e a temperatura dos grãos durante a desinfestação por aquecimento em micro-ondas em todas as condições de densidade de potência avaliadas.	97
Figura 23: Comparação entre os dados experimentais e ajustados para a desinfestação das fases (a) adulta e (b) larval de <i>S. zeamais</i> em grãos de milho em função da temperatura dos grãos por aquecimento em micro-ondas.....	100
Figura 24: Cinética de desinfestação de insetos adultos de <i>S. zeamais</i> em micro-ondas na densidade de potência de 3,0 W g ⁻¹ . Nos pontos experimentais em destaque (●) foi realizada a dosagem de proteínas totais dos espécimes adultos.	102
Figura 25: Evolução da massa do inseto adulto de <i>S. zeamais</i> (—, —) e derivada primeira da curva TGA (DTG) (-----,) em relação à temperatura. (a) Inseto não submetido à desinfestação e (b) inseto submetido à desinfestação em micro-ondas por 60 s a 3 W g ⁻¹	104

Figura 26: Concentração de proteínas totais por inseto durante a desinfestação de grãos de milho em micro-ondas na densidade de potência de $3,0 \text{ W g}^{-1}$ 105

Figura 27: Gel de eletroforese para os insetos adultos submetidos a desinfestação em micro-ondas a $3,0 \text{ W g}^{-1}$ durante 30 s (A30), 40 s (A40), 50 s (A50), 60 s (A60) e controle (AC).. 107

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Principais insetos-praga de grãos armazenados e sua temperatura ótima de desenvolvimento.....	36
Tabela 2: Temperaturas de referência e intervalo de tempo entre os pontos experimentais dos tratamentos térmicos de indivíduos adultos de <i>S. zeamais</i> em condições isotérmicas.....	61
Tabela 3: Modelos secundários avaliados para descrever a influência da temperatura nos parâmetros do modelo cinético de morte térmica de adultos de <i>S. zeamais</i>	64
Tabela 4: Índices estatísticos utilizados para comparação e validação dos modelos cinéticos e secundários.	65
Tabela 5: Valores experimentais das temperaturas e umidades relativas do ar quente durante o tratamento térmico de <i>S. zeamais</i> correspondentes às temperaturas de referência.	66
Tabela 6: Valores dos índices estatísticos utilizados para comparação dos modelos de Weibull (WBL), Fermi (FER) e Gompertz ajustado (GOM _{aj}) ajustados aos dados experimentais de cinética de morte térmica de indivíduos adultos de <i>S. zeamais</i> em cada condição de temperatura.	70
Tabela 7: Valores dos parâmetros α (fator de forma), β (tempo característico), k (velocidade de morte), tM (tempo em que k é máxima), $kmax$ (velocidade máxima de morte), tL (tempo em que a população inicial foi reduzida à metade), obtidos pelo ajuste dos modelos WBL, GOM _{aj} e FER aos dados experimentais de morte térmica de <i>S. zeamais</i> em condições isotérmicas.	73
Tabela 8: Coeficientes do modelo secundário para <i>S. zeamais</i> baseados no modelo FER.	74
Tabela 9: Índices estatísticos da predição de morte de indivíduos adultos de <i>S. zeamais</i> por ar quente nas temperaturas de referência de 48 e 52 °C.....	76
Tabela 10: Intervalo de tempo entre os pontos experimentais da desinfestação de insetos adultos de <i>S. zeamais</i> em aquecimento por micro-ondas.	83
Tabela 11: Intervalo de tempo entre os pontos experimentais da desinfestação de larvas de <i>S. zeamais</i> por aquecimento em micro-ondas em cada condição de densidade de potência.	85
Tabela 12: Tempo de processo necessário para desinfestação completa de insetos <i>S. zeamais</i> em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas.	88
Tabela 13: Parâmetros e valores dos índices estatísticos do modelo logístico ajustado aos dados experimentais de desinfestação de <i>S. zeamais</i> em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas.	95

Tabela 14: Parâmetros e valores dos índices estatísticos do modelo logístico ajustado aos dados experimentais de desinfestação de <i>S. zeamais</i> em função da temperatura dos grãos de milho, por aquecimento em micro-ondas.....	99
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

bs – Base seca

BSA – Albumina de soro bovino

bu – Base úmida

DTG – termogravimetria derivada

EUA – Estados Unidos da América

FER – Fermi

GOM_{aj} – Gompertz ajustado

HSP – Proteína de choque térmico

IV – Infravermelho

LAPCOL – Laboratório de Pesquisas em Coleoptera

PROFI – Laboratório de Propriedades Físicas dos Alimentos

RMSE – Raiz do erro quadrático médio

TGA – Termogravimetria

UFPR – Universidade Federal do Paraná

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

UR – Umidade relativa do ambiente

WBL – Weibull

LISTA DE SÍMBOLOS

A	Suscetibilidade do inseto
a	Parâmetro do modelo (min^{-1})
B	Velocidade de morte (min^{-1})
b	Parâmetro do modelo
C	Diferença entre a assíntota superior e a inferior
c	Parâmetro de interesse
c_p	Calor específico ($Jg^{-1}^{\circ}C^{-1}$)
D	Tempo necessário para uma redução logarítmica (min)
E	Valor da assíntota superior
j	Ordem da cinética da reação
K	Constante térmica ($^{\circ}C dia^{-1}$)
k	velocidade de morte térmica (min^{-1})
m	Massa (g)
N	Número de indivíduos vivos
n	Número de pontos experimentais
P	Potência (W)
P_i	Probabilidade do resultado de interesse
p	Número de parâmetros do modelo
R^2	Coefficiente de determinação
t	Tempo (min)
t_L	Tempo para redução da metade da população (min)
t_M	Tempo em que k é máximo (min)
T	Temperatura ($^{\circ}C$)
T_l	Temperatura limiar de desenvolvimento do inseto ($^{\circ}C$)
V	Volume (m^3)
X	Umidade ($g g^{-1}$)
x	variável independente
Y	Taxa de desenvolvimento ($(\% desenvolvimento) dia^{-1}$)
Z	Função representativa de variáveis explicativas
y_{obs}	Valor observado
\bar{y}_{obs}	Valor médio observado

y_{pred}	Valor predito
c_p	Calor específico ($J g^{-1} °C^{-1}$)
α	Fator de forma
β	Tempo característico (min^{-1})
ε	Energia específica do processo ($kW h g^{-1}$)
ρ	Massa específica ($kg m^{-3}$)

Subscritos

0	Inicial
a_j	Ajustado
amb	Ambiente
ap	Aparente
bs	Base seca
bu	Base úmida
f	Final
g	Grãos
max	Máximo(a)
min	Mínimo(a)
obs	Observado
$pred$	Predito
r	Recipiente
ss	Sólidos secos
w	Água

SUMÁRIO

	DIAGRAMA CONCEITUAL	29
1	INTRODUÇÃO	31
1.1	OBJETIVOS	33
1.1.1	Objetivo geral.....	33
1.1.2	Objetivos específicos.....	33
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	35
2.1	PRAGAS EM GRÃOS ARMAZENADOS	35
2.1.1	Fatores ambientais que influenciam o desenvolvimento de pragas	36
2.1.1.1	Temperatura.....	37
2.1.1.2	Umidade relativa (UR)	39
2.1.1.3	Umidade do grão.....	39
2.1.2	Danos no armazenamento de grãos secos.....	40
2.1.3	Principal inseto-praga de grãos de milho armazenados	41
2.2	MÉTODOS PARA ELIMINAÇÃO DE INSETOS-PRAGA EM GRÃOS ARMAZENADOS	44
2.2.1	Tratamentos biológicos	44
2.2.2	Tratamentos químicos	45
2.2.2.1	Fumigação.....	45
2.2.2.2	Inseticidas de contato.....	47
2.2.3	Tratamentos físicos.....	48
2.2.3.1	Aeração	49
2.2.3.2	Armazenamento em atmosfera modificada	49
2.2.3.3	Aplicação de pós inertes	51
2.2.3.4	Tratamentos térmicos.....	51
2.2.3.4.1	<i>Refrigeração</i>	<i>52</i>
2.2.3.4.2	<i>Aquecimento</i>	<i>54</i>

2.2.4	Modelos de morte térmica de insetos-praga de grãos armazenados.....	56
3	DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA	59
3.1	ESTUDO 1 – DETERMINAÇÃO EXPERIMENTAL E MODELAGEM MATEMÁTICA DA MORTE DE <i>Sitophilus zeamais</i> ADULTOS EM CONDIÇÕES ISOTÉRMICAS	59
3.1.1	Introdução – Estudo 1	59
3.1.2	Material e Métodos – Estudo 1	60
3.1.2.1	Obtenção, identificação e condição de criação dos insetos	60
3.1.2.2	Tratamento isotérmico em <i>S. zeamais</i>	61
3.1.2.3	Modelagem matemática das curvas de morte térmica de <i>S. zeamais</i>	62
3.1.2.3.1	<i>Modelos cinéticos de morte térmica de S. zeamais</i>	62
3.1.2.3.2	<i>Modelos secundários</i>	64
3.1.2.3.3	<i>Análises estatísticas</i>	64
3.1.3	Resultados e Discussão – Estudo 1	65
3.1.3.1	Identificação da espécie do inseto-praga	65
3.1.3.2	Temperatura do tratamento isotérmico	66
3.1.3.3	Comportamento da sobrevivência de indivíduos adultos de <i>S. zeamais</i> ao tratamento por ar quente	67
3.1.3.4	Modelagem matemática da morte térmica de insetos adultos de <i>S. zeamais</i> submetidos ao aquecimento por ar quente em diferentes temperaturas	69
3.1.3.4.1	<i>Modelos cinéticos de morte térmica da população de S. zeamais submetidos a diferentes condições isotérmicas</i>	69
3.1.3.4.2	<i>Modelos secundários</i>	74
3.1.3.4.3	<i>Validação do Modelo</i>	75
3.1.4	Conclusão – Estudo 1	77
3.2	ESTUDO 2 - ESTUDO DA DESINFESTAÇÃO DE GRÃOS DE MILHO POR AQUECIMENTO EM MICRO-ONDAS – ANÁLISE EXPERIMENTAL E MODELAGEM MATEMÁTICA	79
3.2.1	Introdução – Estudo 2	79

3.2.2	Material e Métodos – Estudo 2	80
3.2.2.1	Aparato experimental.....	80
3.2.2.2	Preparação das amostras e condições de desinfestação por micro-ondas.....	81
3.2.2.3	Desinfestação de insetos adultos de <i>S. zeamais</i> em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas	83
3.2.2.4	Desinfestação de larvas de <i>S. zeamais</i> em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas	83
3.2.2.5	Determinação da umidade dos grãos	85
3.2.2.6	Modelagem matemática da desinfestação de <i>S. zeamais</i> em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas.....	85
3.2.3	Resultados e Discussão – Estudo 2	87
3.2.3.1	Desinfestação de <i>S. zeamais</i> nas fases larval e adulta em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas.....	87
3.2.3.2	Umidade dos grãos	92
3.2.3.3	Modelagem matemática da desinfestação de grãos de milho infestados com <i>S. zeamais</i> por aquecimento em micro-ondas.....	93
3.2.3.3.1	<i>Modelagem matemática da cinética de desinfestação de grãos de milho em aquecimento por micro-ondas</i>	94
3.2.3.3.2	<i>Curva de desinfestação de grãos de milho infestados com larvas e adultos de <i>S. zeamais</i> em relação a temperatura dos grãos</i>	97
3.2.4	Conclusão – Estudo 2	100
3.3	Estudo 3 – AVALIAÇÃO DAS MUDANÇAS BIOQUÍMICAS DOS INSETOS ADULTOS DE <i>S. zeamais</i> DURANTE A DESINFESTAÇÃO POR AQUECIMENTO EM MICRO-ONDAS.....	101
3.3.1	Introdução - Estudo 3	101
3.3.2	Material e Métodos – Estudo 3	101
3.3.2.1	Método de Bradford para quantificação de proteínas totais nos insetos <i>S. zeamais</i> submetidos à desinfestação de grãos de milho por aquecimento em micro-ondas	101

3.3.2.2	Eletroforese unidimensional (SDS-PAGE) das proteínas dos insetos <i>S. zeamais</i> submetidos à desinfestação por aquecimento em micro-ondas	103
3.3.2.3	Termogravimetria dos insetos de <i>S. zeamais</i> submetidos ao tratamento de desinfestação em micro-ondas.....	103
3.3.3	Resultados e Discussão – Estudo 3	104
3.3.3.1	Perda de água do inseto adulto de <i>S. zeamais</i> pelo aquecimento	104
3.3.3.2	Concentração de proteínas totais do inseto adulto de <i>S. zeamais</i>	105
3.3.3.2.1	<i>Quantificação das proteínas</i>	105
3.3.3.2.2	<i>Eletroforese</i>	106
3.3.4	Conclusão – Estudo 3	108
4	CONCLUSÕES GERAIS E SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS	109
4.1	CONCLUSÕES	109
4.2	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	110
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	111
	APÊNDICE A – IDENTIFICAÇÃO DA ESPÉCIE <i>Sitophilus zeamais</i>.....	121
	APÊNDICE B – DADOS EXPERIMENTAIS DA TEMPERATURA DO AR QUENTE	123
	APÊNDICE C – DADOS EXPERIMENTAIS DAS TRIPLICATAS DE MORTE TÉRMICA DE <i>S. zeamais</i> POR AR QUENTE.....	125
	APÊNDICE D – AJUSTES E RESÍDUOS DOS AJUSTES DOS MODELOS GOM_{AJ} E FER PARA A CINÉTICA DE MORTE TÉRMICA DE <i>S. zeamais</i> EM CONDIÇÕES ISOTÉRMICAS	127
	APÊNDICE E – RESÍDUOS DOS AJUSTES DO MODELO LOGÍSTICO PARA A CINÉTICA DE DESINFETAÇÃO DE <i>S. zeamais</i> EM MICRO-ONDAS	129
	APÊNDICE F – RESÍDUOS DOS AJUSTES DO MODELOS LOGÍSTICO PARA A DESINFETAÇÃO DE <i>S. zeamais</i> EM MICRO-ONDAS EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA	131

APÊNDICE G – GEL DE ELETROFORESE DOS INSETOS ADULTOS DE <i>S. zeamais</i> SUBMETIDOS À DESINFESTAÇÃO EM MICRO-ONDAS (3 W g⁻¹)	133
---	------------

DIAGRAMA CONCEITUAL

O quê?

Estudo da morte térmica do inseto-praga de grão de milho, *Sitophilus zeamais*, adulto sob aquecimento em temperatura controlada e estudo da desinfestação de grãos de milho contendo *S. zeamais*, nos estágios de desenvolvimento larval e adulto, utilizando micro-ondas como fonte de aquecimento.

Por quê?

A fim de obter um método de desinfestação livre de resíduos químicos, pois estes têm sido cada vez mais restritos devido ao aumento da resistência dos insetos, a toxicidade dos compostos usados, o impacto ambiental (poluição) e a presença de resíduos nos grãos. O tratamento por micro-ondas pode ser um processo apropriado, rápido e eficaz na morte dos insetos e na manutenção da qualidade dos grãos, com impactos negativos menores no ambiente e na saúde humana.

O que já foi feito?

- Diversos estudos avaliaram a cinética de morte térmica de insetos-praga sob aquecimento elétrico em blocos metálicos;
- Não há modelos preditivos que descrevam a morte térmica de insetos-praga em função da temperatura;
- Trabalhos avaliaram a mortalidade total de insetos-praga submetidos a aquecimento por imersão em água ou aplicação de micro-ondas e radiofrequência;
- Poucos estudos avaliaram a cinética de morte de insetos-praga em processos de desinfestação de grãos;
- Há diversos estudos que avaliam a germinação de sementes após desinfestação por tratamento térmico;
- Raros estudos avaliaram alterações nos insetos submetidos a processos de desinfestação de grãos.

Hipóteses da pesquisa

É possível: I) gerar modelos preditivos de morte térmica de insetos-praga; II) utilizar energia de micro-ondas para desinfestação com mínimo impacto na qualidade dos grãos; III) avaliar a suscetibilidade das fases larval e adulta dos insetos quando submetidos à desinfestação por micro-ondas; IV) identificar bioquimicamente o efeito do aquecimento em insetos adultos de *S. zeamais* durante a desinfestação em micro-ondas baseado na alteração de umidade e proteínas.

Metodologia científica

- Obtenção da cinética de morte térmica de indivíduos adultos de *S. zeamais* submetidos a aquecimento isotérmico em condições controladas;
- Utilização de modelos matemáticos para descrever a morte dos insetos em condições isotérmicas;
- Ajuste de modelos secundários para descrever a dependência dos parâmetros do modelo cinético com a temperatura do ambiente no qual os adultos foram condicionados;
- Constituição de modelos preditivos da morte dos insetos em função da temperatura do ambiente;
- Estudo experimental da desinfestação de grãos de milho contendo *S. zeamais* nas fases larval e adulta pelo aquecimento por micro-ondas;
- Ajuste de modelo cinético dependente da temperatura para descrever a desinfestação dos grãos de milho submetidos ao campo de micro-ondas;
- Estudo de alterações bioquímicas dos insetos adultos submetidos a desinfestação em micro-ondas.

Resultados obtidos

- Descrição matemática da morte térmica de adultos de *S. zeamais* em condições isotérmicas;
- Modelo matemático para predição da morte térmica de adultos de *S. zeamais* na faixa de temperatura estudada;
- Descrição matemática da cinética de morte térmica de *S. zeamais*, nas fases adulto e larval, submetidos à desinfestação em micro-ondas;
- Descrição matemática da morte térmica de *S. zeamais* em função da temperatura dos grãos na desinfestação em micro-ondas;
- Efeito dos parâmetros de processo na desinfestação de grãos utilizando micro-ondas;
- Determinação de alterações nas proteínas dos insetos após desinfestação em micro-ondas.

1 INTRODUÇÃO

A população mundial pode chegar a 9,8 bilhões de pessoas em 2050 (FAOSTAT, 2017) e este crescimento deve estar aliado à segurança alimentar. Grãos, cereais, frutas e vegetais desempenham um grande papel no fornecimento de proteínas, nutrientes e calorias para o ser humano, e um dos grandes desafios é a expansão da produção destes alimentos (CHAKRAVERTY et al., 2003). A dependência de cereais e oleaginosas não será apenas para a alimentação humana, pois a demanda destas *commodities* para produção de energias alternativas renováveis, como etanol e biodiesel, está cada vez maior. Além disso, o crescimento do comércio internacional fez com que as *commodities* agrícolas se tornassem uma parte importante da economia global, impulsionando a produção de grãos (TANG et al., 2007).

O milho é um cereal utilizado mundialmente para alimentação humana e animal e na produção de biocombustíveis. O milho é amplamente produzido e comercializado entre os países, seu cultivo e produção corresponde a aproximadamente 40% do total da produção mundial de cereais (FAOSTAT, 2017). O Brasil é o 3º maior produtor e exportador deste grão no mundo (FAOSTAT, 2017). Sabe-se que as *commodities* comercializadas entre os países podem ser uma grande porta de entrada para pragas agrícolas, que causam severos danos aos grãos, como redução da massa e perdas de nutrientes.

O controle e a desinfestação de insetos-praga em grãos armazenados são realizados pelo uso de pesticidas químicos durante o armazenamento ou transporte. Um tratamento de fumigação química eficaz pode durar até 30 dias, dependendo das condições ambientais e do grão (CHAKRAVERTY et al., 2003). O uso destes pesticidas cresce de maneira linear no Brasil, mas em países desenvolvidos sua utilização já está sendo reduzida ao longo dos últimos anos. O Brasil é o terceiro país que mais utiliza pesticidas na cadeia de produção agrícola. Em 2016, 380 mil toneladas de componentes ativos pesticidas foram utilizadas no cultivo e produção agrícola no país (FAOSTAT, 2017). As substâncias mais utilizadas na desinfestação de grãos armazenados são o brometo de metila e a fosfina, ambos os produtos são tóxicos aos seres humanos e devem ser manipulados por profissionais capacitados. A fosfina inibe a respiração do inseto na presença de oxigênio e sua toxicidade aumenta com a presença de dióxido de carbono. Além da fosfina possuir capacidade explosiva, os insetos desenvolvem resistência a este composto e a concentração necessária para um processo eficiente é cada vez maior, agregando mais resíduos químicos aos grãos. O brometo de metila é uma substância que degrada a camada de ozônio e o seu uso está sendo extinto (CHAKRAVERTY et al., 2003;

HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012). O Protocolo de Montreal exigiu que países desenvolvidos eliminassem o uso de brometo de metila até o ano de 2005 e que até 2015 os países em desenvolvimento não o utilizassem mais, porém algumas exceções foram criadas para o uso de Brometo de Metila no pré-embarque, transporte ou em quarentena, devido à falta de tratamentos alternativos eficientes para a eliminação de insetos-praga em grãos (HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012; UNEP, 2002). A procura por alimentos livres de produtos químicos é uma tendência mundial crescente, portanto faz-se necessário o estudo e desenvolvimento de um tratamento eficaz e livre de resíduos químicos para a eliminação de insetos-praga de grãos.

Tratamentos térmicos e armazenamento em atmosfera modificada são os processos vistos como alternativas propícias para a substituição do uso de produtos químicos na desinfestação de grãos. A utilização de atmosfera modificada consiste na redução da concentração de oxigênio do ambiente, levando os insetos à morte. O tratamento por atmosfera modificada é dependente de instalações herméticas e a duração do processo pode levar mais de um mês (CHAKRAVERTY et al., 2003; LORINI et al., 2015).

O tratamento térmico de grãos é uma alternativa promissora para a desinfestação de grãos, pois a temperatura de letalidade dos insetos geralmente é baixa (55 °C) e o período de tratamento é rápido em comparação a outros métodos. Tratamentos com água quente foram estudados para mortalidade de diversas pragas de grãos e frutas, nestes casos o tratamento foi eficiente em menos de uma hora utilizando temperaturas em torno de 50 °C (JONES; WADDELL, 1997; LAY-YEE et al., 1997; VERGHESE; NAGARAJU; SREEDEVI, 2011). O tratamento com água pode acarretar aumento da umidade e atividade de água dos grãos e cereais e facilitar o desenvolvimento de fungos na massa de grãos. Além disso, nestes estudos a causa da morte dos insetos não foi totalmente elucidada, não se sabe se ocorreu por afogamento dos insetos ou devido ao aquecimento (TANG et al., 2000). Além do mais, tratamento de grãos por aquecimento em água não é uma alternativa adequada, visto que os grãos estão secos e o aumento de sua umidade potencializaria a degradação e possibilitaria o desenvolvimento de fungos e bactérias.

Aquecimentos por radiação e micro-ondas são os tratamentos mais propícios para substituição do tratamento químico. Alguns estudos apresentam bons resultados na morte de insetos-praga de grãos (*Callosobruchus chinensis*, *Rhyzoperta dominica*, *Tribolium castaneum*, *Sitophilus zeamais*, *Sitophilus granarius*, *Plodia interpunctella*) por aquecimento em micro-ondas e radiofrequência. A morte de todas as fases de desenvolvimento do inseto-praga, ocorre

em poucos minutos (AHMADY; MOUSA; ZAITOUN, 2016; DAS; KUMAR; SHAH, 2013; HALVERSON et al., 1996; LING; CHENG; WANG, 2019; PEI et al., 2018a; VADIVAMBAL; JAYAS; WHITE, 2008; YANG et al., 2018; ZHAO et al., 2007a; ZHOU; WANG, 2019). O aquecimento seletivo provocado por micro-ondas ou por radiofrequência é uma ótima alternativa para a preservação da qualidade dos grãos, já que o teor de água presente nos insetos (~80% em base úmida - bu) é maior que dos grãos secos (~12% em bu), gerando maior aquecimento nas pragas e mantendo a temperatura dos grãos mais baixa (HUANG; CHEN; WANG, 2015).

A elucidação do comportamento da morte de insetos-praga submetidos a tratamentos térmicos e a causa de sua morte é fundamental para o desenvolvimento de processos e equipamentos para desinfestação. Modelos que se ajustem às cinéticas de morte e que possam prever o comportamento dos insetos com a temperatura são úteis na simulação e desenvolvimento de técnicas alternativas para o tratamento térmico de grãos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

O objetivo desta tese foi elucidar e modelar matematicamente a cinética de morte do inseto-praga *Sitophilus zeamais* em função da temperatura a qual foi submetido e avaliar a desinfestação de grãos de milho contendo insetos nas fases larval e adulta pelo aquecimento por micro-ondas como uma alternativa rápida, energeticamente eficiente, livre de resíduos químicos e que não afeta a qualidade dos grãos.

1.1.2 Objetivos específicos

- Determinar experimentalmente curvas de morte térmica do inseto adulto de *S. zeamais* por ar quente circulante em condições isotérmicas entre 46 °C e 62 °C;
- Propor modelos matemáticos que descrevem a cinética da morte térmica do inseto adulto de *S. zeamais* em condições isotérmicas;
- Estabelecer modelos matemáticos que descrevam a influência da temperatura nos parâmetros do modelo cinético de morte térmica;

- Promover a desinfestação de grãos de milho infestados com larvas e adultos de *S. zeamais* pelo aquecimento não-isotérmico em micro-ondas e avaliar o impacto da razão massa de grãos e potência das micro-ondas ($1,2 \text{ W g}^{-1}$, 3 W g^{-1} e 6 W g^{-1});³
- Propor modelos matemáticos que descrevem a cinética da morte térmica das larvas e dos insetos adultos de *S. zeamais* em aquecimento não-isotérmicas com micro-ondas;
- Determinar as alterações bioquímicas quanto às proteínas e quantidade de água presente nos insetos adultos submetidos a tratamento eficaz de desinfestação por aquecimento em micro-ondas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 PRAGAS EM GRÃOS ARMAZENADOS

Insetos, microrganismos e roedores são as maiores pragas de grãos armazenados, entretanto os insetos são os primeiros a iniciar a depredação, ameaçando a manutenção da qualidade dos grãos (CHAKRAVERTY et al., 2003; HUI, 2006). Os insetos são os responsáveis pela maior perda de grãos armazenados, podendo chegar a 30% ou até a valores superiores, quando as condições de armazenamento são precárias, características de países em desenvolvimento. A atividade dos insetos provoca aquecimento local na massa de grãos, estes pontos aquecidos geram gradientes de umidade e temperatura da massa de grãos. Estas mudanças favorecem o desenvolvimento de fungos e bactérias, e são facilitadores do ataque de pragas secundárias, levando à rejeição ou até mesmo à perda dos grãos. O nível de infestação de insetos em grãos é um dos critérios para a avaliação da qualidade durante a sua comercialização. Assim, o gerenciamento adequado é importante para reduzir as perdas. (CHAKRAVERTY et al., 2003; HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012; HUI, 2006; TEFERA et al., 2010).

As pragas de grãos podem ser classificadas como primárias ou secundárias. Pragas primárias atacam grãos sadios e íntegros e as secundárias restringem sua invasão a grãos já danificados por pragas primárias ou por algum processo mecânico ou físico (GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002; LORINI et al., 2015).

As pragas primárias podem ser divididas em internas ou externas. As primárias internas perfuram o grão, alimentam-se de seu interior e completam seu desenvolvimento internamente. As principais pragas deste grupo são besouros da espécie *Rhyzopertha dominica*, *Sitophilus oryzae* e *Sitophilus zeamais* e a traça *Sitotroga cerealella*. As primárias externas destroem a parte exterior do grão e alimentam-se do seu interior, sem desenvolverem-se no mesmo, sendo a traça *Plodia interpunctella* a mais conhecida (GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002; LORINI et al., 2015).

As pragas secundárias atacam apenas grãos já danificados, por pragas primárias ou por processos como moagem, secagem e trituração. As espécies de besouros *Tribolium castaneum*, *Oryzaephilus surinamensis* e *Cryptolestes ferrugineus* são exemplos destas pragas. Diferentemente das pragas primárias, as secundárias atacam quase exclusivamente produtos

armazenados. Além disso, seus estágios larvais movem-se livremente no produto armazenado (GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002; LORINI et al., 2015).

Os principais insetos-praga de grãos armazenados possuem suas temperaturas ótimas de desenvolvimento em torno de 30 °C (Tabela 1). De maneira geral, estes insetos desenvolvem-se mais lentamente em temperaturas inferiores a 16 °C ou superiores a 42 °C. Além da temperatura existem outros fatores ambientais que influenciam o desenvolvimento dos insetos como a umidade, luz, radiação solar, vento, disponibilidade de alimento, assim como a combinação destes fatores e o tempo de exposição aos mesmos. Apesar da influência do ambiente, as pragas agrícolas adaptam-se bem a ambientes secos ($UR < 50\%$) e quentes ($T > 30\text{ °C}$) geralmente encontrados em estocagem de grãos (CHAKRAVERTY et al., 2003; GALLO, 2002; HUI, 2006)

Tabela 1: Principais insetos-praga de grãos armazenados e sua temperatura ótima de desenvolvimento.

Nome científico	Principal grão alvo	Temperatura ótima de desenvolvimento	Temperatura mínima de desenvolvimento
<i>Sitophilus oryzae</i>	Arroz e trigo	27 °C a 31 °C	17 °C
<i>S. zeamais</i>	Milho	28 °C	17 °C
<i>S. granarius</i>	Trigo	26 °C a 30 °C	15 °C
<i>S. cerealella</i>	Arroz com casca	26 °C a 30 °C	16 °C
<i>Plodia interpunctella</i>	Trigo	28 °C a 30 °C	-
<i>Ephestia cautella</i>	Trigo e arroz	25 °C	10 °C
<i>Corcyra cephalonica</i>	Arroz e amendoim	28 °C a 30 °C	10 °C
<i>Rhyzoperta dominica</i>	Trigo e arroz com casca	32 °C a 35 °C	23 °C
<i>Tribolium castaneum</i>	Arroz	32 °C a 35 °C	22 °C
<i>T. confusum</i>	Arroz	30 °C a 33 °C	21 °C

Fonte: Adaptado de CHAKRAVERTY et al., 2003 e HUI, 2006.

2.1.1 Fatores ambientais que influenciam o desenvolvimento de pragas

A temperatura, a umidade relativa do ambiente (UR) e a umidade do grão são os principais fatores ambientais que auxiliam ou impedem o desenvolvimento de pragas em produtos agrícolas armazenados.

2.1.1.1 Temperatura

A temperatura é um fator muito importante no desenvolvimento dos insetos-praga. Apesar de existirem insetos desenvolvendo-se em temperaturas extremas, normalmente pode-se identificar diferentes faixas de temperatura que influenciam em seu ciclo de vida, conforme apresentado na Figura 1. A faixa de temperatura ótima para o desenvolvimento de insetos-praga em grãos armazenados ocorre entre 24 °C e 32 °C. De maneira geral, o acondicionamento em temperaturas mais elevadas (29 °C – 32 °C) resultam em menor tempo de desenvolvimento das fases iniciais, ou seja, o inseto atinge a fase adulta mais rapidamente (GALLO, 2002; HALLMAN; DENLINGER, 1998; LORINI et al., 2015; PANIZZI; PARRA, 2012).

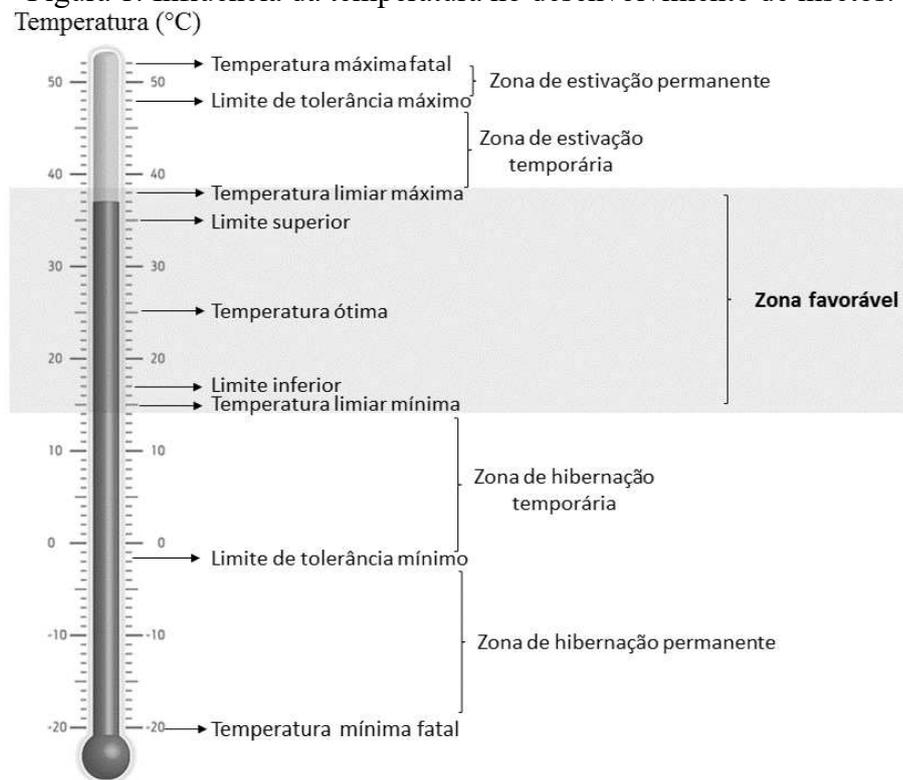
Extrapolando os limites de temperatura máxima e mínima de desenvolvimento, os insetos atingem um estado de dormência temporário ou irreversível. Acima de 52 °C ou abaixo de -20 °C ocorre a morte dos insetos em poucos minutos (Figura 1). Além da temperatura desfavorável, a combinação de diferentes fatores do ambiente é que resulta na sua morte, por exemplo o histórico de condições ambientais (T, UR, radiação) a que inseto foi submetido e principalmente o binômio temperatura e tempo de exposição. De acordo com a espécie, e até mesmo com as populações, os insetos podem apresentar diferentes níveis de tolerância a temperaturas extremas (GALLO, 2002). Para casos extremos de temperaturas, os insetos possuem um sistema de defesa no qual entram em estado de dormência para garantir sua sobrevivência, chamados de diapausa, para baixas temperaturas, e estivação para altas temperaturas. Após o período de condição extrema e retorno a temperaturas favoráveis, o inseto restitui suas atividades vitais (HALLMAN; DENLINGER, 1998; LÜ; ZHANG, 2016; MANSOOR-UL-HASAN et al., 2017).

A Equação (1) foi proposta por Réaumur em 1735 para correlacionar a temperatura com o tempo de desenvolvimento de insetos.

$$K(T) = t(T - T_l) \tag{1}$$

onde K (graus-dia) é a constante térmica, t (dias) é o período de desenvolvimento, T ($^{\circ}\text{C}$) é a temperatura ambiente e T_l ($^{\circ}\text{C}$) é a temperatura limiar do desenvolvimento do inseto (GALLO, 2002; OMAR et al., 2014). A temperatura limiar é a temperatura mínima ambiente para que o desenvolvimento do indivíduo ocorra. Omar et al. (2014) determinaram as temperaturas limiares do besouro *Sitophilus granarius*, praga encontrada no trigo, como sendo $9,8^{\circ}\text{C}$ para o desenvolvimento do ovo, $7,3^{\circ}\text{C}$ para a larva, $14,1^{\circ}\text{C}$ para a pupa e 10°C para o desenvolvimento do estágio de ovo até adulto.

Figura 1: Influência da temperatura no desenvolvimento de insetos.



Fonte: Adaptada de Domingos Gallo (2002).

Além de coibir o desenvolvimento em condições extremas, a temperatura de acondicionamento tem grande influência no tempo de desenvolvimento das pragas. Por exemplo, o *S. granarius* tem seu ciclo de vida reduzido em cerca de 45% do tempo quando a temperatura ambiente aumenta de 15°C para 20°C (OMAR et al., 2014). O estágio mais influenciado pela variação da temperatura segundo os autores é a fase de pupa na qual o período de desenvolvimento reduziu mais de 80% com o mesmo aumento de temperatura (5°C). O gorgulho do arroz (*S. oryzae*) acondicionado em umidade relativa (UR) constante apresentou um aumento maior que 55% na emergência de larvas em 10 dias após a oviposição quando a

temperatura ambiente variou de 25 °C para 35 °C. Além disso, o número de adultos emergidos após 9 dias da pupação dobrou, com o mesmo aumento de temperatura (MANSOOR-UL-HASAN et al., 2017).

Os insetos são vulneráveis a temperaturas elevadas, mas possuem mecanismos comportamentais e fisiológicos, como aclimação a longo prazo e adaptação genética, que podem minimizar estas injúrias. De forma geral, insetos de armazenamento já estão adaptados a viver em condições de baixa umidade relativa e em faixas de temperatura acima das propícias para seu desenvolvimento (HALLMAN; DENLINGER, 1998; PANIZZI; PARRA, 2012).

2.1.1.2 Umidade relativa (UR)

A maioria dos animais possui cerca de 70 a 90% de água em sua composição corporal, porém os insetos que vivem em produtos secos podem chegar até 50% de água em seu corpo, mesmo assim suas proporções devem manter-se constantes. Da mesma forma que a temperatura, a variação da umidade do ambiente é dividida em favorável e não favorável ao desenvolvimento de insetos. Alguns insetos são capazes de tolerar altas umidades e desenvolverem-se normalmente, mas grande parte não tolera baixas UR, devido à perda de água e consequente morte (GALLO, 2002). Por outro lado, os insetos-praga de grãos estão adaptados para viver em condições de baixa umidade, apesar de seu desenvolvimento ser beneficiado quando a umidade está acima da encontrada em locais de armazenamento. A faixa umidade relativa (UR) ótima para o desenvolvimento de pragas em grãos armazenados está entre 40% e 80%. Abaixo do valor mínimo de UR, a longevidade e a sobrevivência dos insetos são reduzidas. Desta forma, o emprego de uma UR baixa controlada (< 40%), juntamente com um ou mais fatores que dificultem o desenvolvimento de pragas, auxilia no controle das mesmas (GALLO, 2002; LORINI et al., 2015; PANIZZI; PARRA, 2012).

2.1.1.3 Umidade do grão

Os grãos armazenados passam pela secagem antes do armazenamento, para evitar a deterioração, diminuir a possibilidade de crescimento de fungos e bactérias, aumentar a vida útil e como tentativa de redução do ataque de pragas. A umidade destes produtos é dependente do tipo e da finalidade do grão, temperatura do ambiente e umidade relativa de equilíbrio. Trigo e farinha de trigo integral possuem umidade de equilíbrio entre 12% e 18% para UR entre 40%

e 80%. Grãos de milho seco são geralmente armazenados com umidade entre 12% e 14% em UR de 75% e 25 °C por períodos de 6 meses a mais de um ano (PANIZZI; PARRA, 2012).

Insetos de produtos armazenados obtêm água do alimento ingerido, do seu metabolismo e por absorção do ar através da difusão. Desta maneira, necessitam de uma UR e umidade do produto mínimas para seu desenvolvimento. Cada espécie de inseto necessita de uma demanda de água diária e específica de cada uma destas fontes para sua sobrevivência. Ajustes no conteúdo de água proveniente do alimento e do ambiente através de adaptações fisiológicas e comportamentais favorecem o crescimento populacional dos insetos. O teor de umidade favorável ao desenvolvimento de gorgulho de milho é de 12% a 14% nos grãos e ambiente com temperatura entre 27 °C a 29 °C e UR entre 60% e 70% (PANIZZI; PARRA, 2012; TEFERA et al., 2010).

2.1.2 Danos no armazenamento de grãos secos

Diferentes formas de deterioração ocorrem em grãos durante o armazenamento, como alterações químicas (disponibilidade de oxigênio intergranular), físicas (temperatura, UR, umidade do grão, propriedades térmicas e físicas do grão, porosidade), bioquímicas (respiração, maturidade, germinação) e microbiológicas (crescimento de fungos e bactérias). Estas mudanças estão diretamente relacionadas ao tipo de armazenamento, condição inicial do grão ou semente, condições ambientais e fatores bióticos. Desta forma, é importante garantir a máxima manutenção da qualidade do grão durante o armazenamento controlando estes fatores (CHAKRAVERTY et al., 2003; ELIAS; OLIVEIRA; VANIER, 2017; FARONI; SILVA, 2008; PANIZZI; PARRA, 2012).

Perdas qualitativas e quantitativas ocorrem durante o armazenamento de grãos. As perdas qualitativas estão associadas às reações químicas, presença de impurezas e resíduos metabólicos, e resultam em perdas do valor nutricional do grão, podendo até gerar substâncias tóxicas no mesmo. As quantitativas são originadas do metabolismo dos grãos, microrganismos e pragas, e resultam em redução da matéria seca. A combinação dos efeitos da atividade de todas as pragas nos grãos tem um efeito cumulativo sobre a qualidade do mesmo (CHAKRAVERTY et al., 2003; ELIAS; OLIVEIRA; VANIER, 2017; SÁNCHEZ-MARIÑEZ et al., 1997).

Mudanças na composição do grão, como redução dos teores de carboidratos, proteínas, lipídios e vitaminas são geradas durante a armazenagem como consequência das interações de

fatores biológicos e físicos do ambiente. Estas alterações também geram reduções da massa específica dos grãos e perda de material orgânico, diminuindo a qualidade e o valor de mercado (CHAKRAVERTY et al., 2003; ELIAS; OLIVEIRA; VANIER, 2017).

As proteínas sofrem hidrólise e os carboidratos são consumidos pelo próprio metabolismo da massa e pela ação de microrganismos, reduzindo a quantidade de açúcares totais e não redutores. A fração lipídica é a mais suscetível, pois é atacada pelas lipases dos próprios grãos e pelas produzidas pela microbiota. Além disso, ácaros e insetos colaboram no rompimento das ligações ésteres, elevando o teor de ácidos graxos livres. A redução do extrato etéreo e o aumento do teor de ácidos graxos livres estão relacionados com a velocidade e intensidade da degradação dos grãos no armazenamento, e podem ser usados como indicadores de deterioração (CHAKRAVERTY et al., 2003; ELIAS; OLIVEIRA; VANIER, 2017).

A infestação pode causar alterações na composição química do grão, levar ao aumento da umidade, dos níveis de ácidos graxos livres, do teor de nitrogênio não proteico e à redução do pH e do teor de proteína. Em função disso, o nível de infestação por insetos é um dos critérios de avaliação da qualidade do grão (CHAKRAVERTY et al., 2003; GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002; SÁNCHEZ-MARÍÑEZ et al., 1997).

As perdas geradas estritamente por insetos são difíceis de serem mensuradas, já que seu ataque permite o acesso de diversas outras pragas. Porém, estima-se que seus danos são em média de 5 a 10%, podendo chegar até a 30% do volume de grãos armazenados. Portanto, o seu controle é essencial para a preservação da qualidade dos grãos (ELIAS; OLIVEIRA; VANIER, 2017; PANIZZI; PARRA, 2012).

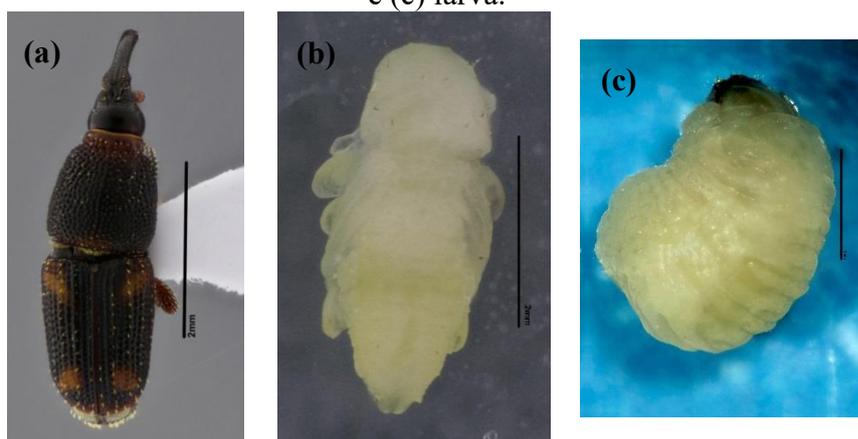
Os insetos são a principal causa de perda de grãos armazenados. Existem centenas de espécies que infestam os grãos, os de maior importância são besouros e traças (Ordens Coleoptera e Lepidoptera, respectivamente). De forma geral, nas traças apenas a fase imatura (larvas) depreda o grão, pois a fase adulta não se alimenta dos grãos e possui um curto período de vida. Já nos besouros, todas as fases do ciclo de vida causam danos aos grãos, os adultos costumam viver por longos períodos (até 6 meses), aumentando o poder de depredação destas espécies. De forma geral, as infestações por besouros permanecem ocultas até os adultos emergirem dos grãos, já que o desenvolvimento das fases iniciais geralmente ocorre no seu interior (CHAKRAVERTY et al., 2003; GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002; HUI, 2006).

2.1.3 Principal inseto-praga de grãos de milho armazenados

Na família Curculionidae (ordem Coleoptera) estão presentes as maiores pragas de grãos armazenados (PEREIRA; SALVADORI, 2006). O besouro *S. zeamais* é o principal inseto-praga encontrado em grãos armazenados e seu principal alvo é o milho, mas também ataca arroz, trigo, sorgo, mandioca desidratada e alimentos processados derivados de cereais. Os indivíduos adultos frequentemente atacam os grãos tanto no cultivo quanto no armazenamento, e podem ser identificados apenas por amostras de grãos danificados (GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002; LORINI et al., 2015; TEFERA et al., 2010). O Brasil é o terceiro maior produtor e terceiro maior exportador de grãos de milho, possuindo milhares de instalações de armazenamento de grãos sofrendo com o ataque destes insetos (FAOSTAT, 2017). Desta forma, esta espécie foi elencada como o inseto-praga objeto de estudo para o desenvolvimento deste trabalho.

As pragas do milho e do arroz (*S. zeamais* e *S. oryzae*, respectivamente), por muitas vezes são confundidas, pois suas semelhanças são inúmeras, desde o ciclo de vida, características físicas e comportamentais semelhantes e possuem a capacidade de atacar os mesmos grãos (DEVI et al., 2017). De forma concreta, apenas podem diferenciar-se por características de suas partes internas (genitália), necessitando da dissecação do indivíduo para esta confirmação (DEVI et al., 2017).

Figura 2: Imagens de espécime da espécie *S. zeamais* nos estágios de vida: (a) adulto (b) pupa e (c) larva.



*As escalas apresentadas possuem (a) e (b) 2 mm e (c) 1 mm.

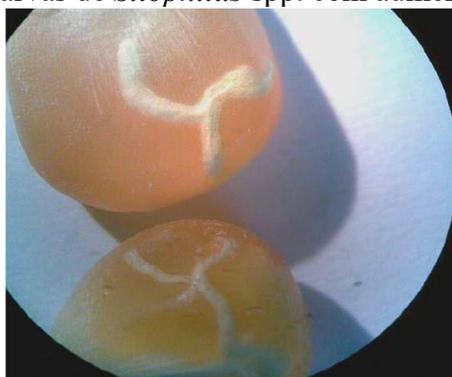
Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Os indivíduos adultos medem cerca de 2,5 mm a 4,5 mm de comprimento, possuem cabeça projetada em um rostró (prolongamento da cabeça), coloração de castanho a preto com quatro manchas claras e ovais próximas aos ângulos dos élitros (asas anteriores dos besouros)

(Figura 2a) (DEVI et al., 2017; HILL, 2002; TEFERA et al., 2010). O comprimento do rostro distingue machos e fêmeas, apresentando-se mais curto e grosso nos machos. As pupas e as larvas são de cor branca a amarelo claro, sendo as larvas ápodas e com peças bucais esclerotizadas (Figura 2 c) (GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002).

As fêmeas utilizam sua mandíbula alongada para perfurar o grão formando um orifício raso onde depositam os ovos, posteriormente fecham a cavidade com uma secreção gelatinosa, cerca de 150 a 300 ovos são colocados por cada fêmea durante sua vida (HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012; PEREIRA; SALVADORI, 2006; THRONE, 1994). Nessa espécie, todo o desenvolvimento de ovo a adulto ocorre no interior do grão. A postura das fêmeas inicia após cerca de 4 dias depois de entrar na fase adulta, em ambientes com temperatura entre 24 °C e 30 °C e UR entre 70% e 80%. Os ovos com tamanho médio de 0,76 mm x 0,27 mm dificilmente são visíveis no grão. O período de incubação é de aproximadamente 7 dias, após isso a larva (Figura 2c) eclode para dentro do grão, alimentando-se de sua parte interna, formando túneis (Figura 3), passando por 4 instares larvais (L1 - L4), com duração total de cerca de 30 dias e empupamento de 7 dias (DEVI et al., 2017). Após o empupamento (Figura 2b), cerca de 40 dias após a oviposição (em condições ambientais de 26 °C e 70% de UR), ocorre a emergência do indivíduo adulto, que sai pela janela pupal, orifício circular previamente erodido no tegumento do grão pela larva de 4º instar (L4), na superfície do grão. Um indivíduo adulto sobrevive em média de 4 a 6 meses e é fértil durante todo esse período, mas no caso das fêmeas o período de colocação eficaz de ovos é de 50% nas primeiras 5 semanas de vida adulta (GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002; HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012; PEREIRA; SALVADORI, 2006; TEFERA et al., 2010; THRONE, 1994).

Figura 3: Microscopia de grãos de milho com representação da destruição interna do grão formadas por larvas de *Sitophilus* spp. com aumento de 20 vezes.



Fonte: Marcelo de Carli (2007).

Todas as fases da vida do *S. zeamais* causam danos aos grãos, mas a fase larval é a mais destrutiva. Apesar disso, uma infestação é determinada com base no número de insetos vivos da amostra, sendo que os critérios para a alimentação humana são muito mais rigorosos que para a alimentação animal, não permitindo a presença de insetos vivos nos grãos. O mesmo ocorre na comercialização de grãos entre países, quando há a presença de insetos, os grãos podem ser submetidos a tratamentos eficazes para garantir sua morte e controle (FARONI; SILVA, 2008; MAPA, 2011).

A eliminação destas pragas se faz necessária para evitar perdas econômicas e da qualidade do alimento. No item a seguir, destacam-se os métodos mais utilizados para a eliminação de pragas em grãos armazenados.

2.2 MÉTODOS PARA ELIMINAÇÃO DE INSETOS-PRAGA EM GRÃOS ARMAZENADOS

Os tratamentos de controle e eliminação de insetos-praga em grãos podem ser químicos, biológicos ou físicos. O tratamento químico através da fumigação é o mais empregado para este fim e é realizado durante o transporte ou o armazenamento dos grãos.

2.2.1 Tratamentos biológicos

O controle biológico de pragas é eficiente no campo, mas não muito apropriado para utilização no armazenamento, podendo ser usado como uma forma de prevenção ou integrado com outras estratégias. Porém, o uso concomitante de tratamento biológico e químico é totalmente ineficaz, visto que os inseticidas geralmente possuem ação mais severa contra os predadores e parasitoides do que contra as próprias pragas (FARONI; SILVA, 2008; LORINI et al., 2015).

A grande vantagem da utilização de predadores naturais é que esta ação não deixa resíduos químicos, mas os predadores devem ser eliminados da massa de grãos para comercialização e consumo do produto. Geralmente os predadores são insetos muito pequenos, e podem ser removidos por peneiramento (CHAKRAVERTY et al., 2003; HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012).

A utilização deste método requer grande conhecimento, cuidado e monitoramento. A forma como os controladores biológicos podem ser usados são diversas, por exemplo, bactérias

podem ser usadas para controlar fungos e insetos-praga podem ser controlados por fungos e outros insetos (GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002). Vale ressaltar que se a praga estiver bem desenvolvida e em grande quantidade nos grãos, o controle biológico dificilmente será eficaz (GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002; LORINI et al., 2015).

O controle biológico de pragas tem ação específica em uma espécie, por exemplo, o besouro *Teretriosa nigrescens* é um importante predador do besouro praga *P. truncatus* e pode reduzir populações de outros dois besouros pragas, *Dinoderus minutus* e de *R. dominica* (REES, 1991). A mini vespa *Theocolax elegans* é um parasitóide dos estágios imaturos de *Sitophilus* spp., mas não é eficiente para reduzir a sua população, não podendo ser utilizado como um controle biológico para esta praga. Outras vespas importantes como parasitoides são *Bracon hebetor* sobre a traça *E. cautela*, *Trichogramma evanescences* sobre *E. kuehnielle* e *Choetospila elegans* em *R. dominica* (CHAKRAVERTY et al., 2003; LORINI et al., 2015).

Apesar de existirem agentes biológicos capazes de serem predadores de pragas agrícolas, sabe-se que o controle biológico é lento e dificilmente elimina totalmente as pragas ou evita seus danos (GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002).

2.2.2 Tratamentos químicos

O método mais utilizado mundialmente para a desinfestação de grãos armazenados é através de compostos químicos. Este tratamento divide-se em duas formas principais de realização: a aplicação de inseticidas por contato, utilizada principalmente como uma forma preventiva; e a fumigação, utilizada para prevenção e correção em grandes estoques de grãos. A fumigação química é o método prevalecente de desinfestação, pois é mais eficaz na morte de todos os estágios das pragas em grãos armazenados.

2.2.2.1 Fumigação

A fumigação consiste na inserção de um produto químico tóxico, em estado sólido, líquido ou gasoso, em um espaço fechado contendo a massa de grãos, que se dispersa rapidamente e age sobre os insetos na forma gasosa. Sua eficácia é dependente de vários fatores como estágio de vida, espécie e resistência do inseto, concentração utilizada, temperatura e umidade do ambiente, instalações e vedação do local de armazenamento (CHAKRAVERTY et al., 2003; HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012; LORINI et al., 2015). Um tratamento

eficaz leva de 1 a 20 dias para ser completado, dependendo das condições ambientais. Impurezas presentes no ambiente absorvem o produto químico, diminuindo sua concentração e impedindo a distribuição dos gases. Assim, torna-se importante o monitoramento da concentração do gás durante a fumigação para prever a eficácia e suplementar a dosagem ou prolongar o período de exposição, se necessário (HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012; LORINI et al., 2015). Recomenda-se a realização da fumigação em ambientes com temperatura acima de 20 °C, pois em baixas temperaturas a eficácia é reduzida consideravelmente e a sorção do fumigante pelos grãos aumenta. A taxa de sorção depende das características do grão, do fumigante e das condições ambientais (T e UR). A sorção pode ser reversível, quando ocorre dessorção do químico, ou irreversível, quando o químico reage com os compostos do grão gerando resíduos fixos (CHAKRAVERTY et al., 2003). Os fumigantes são tóxicos aos seres humanos e sua aplicação deve ser realizada por pessoas especializadas e devidamente equipadas para a função (GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002; HUI, 2006). Apesar de amplamente utilizada, a fumigação exerce seu efeito apenas durante o tempo em que o gás está presente em ambiente hermeticamente fechado, podendo ocorrer reinfestação se os grãos não estiverem devidamente protegidos.

Os fumigantes mais utilizados na desinfestação de grãos armazenados possuem em sua composição os princípios ativos Brometo de Metila (CH_3Br) e fosfina (PH_3). O brometo de metila é incolor e inodoro e desempenha o mesmo papel que a fosfina no tratamento de grãos armazenados. É eleito para uso quando os insetos alvo possuem resistência à fosfina, porém sua sorção pelos grãos é maior e o composto gera resíduos de brometos inorgânicos, que podem afetar o cozimento dos grãos. Sua utilização não é adequada para uso em sementes e malte, pois inibe a germinação em alguns casos. Geralmente o composto é aplicado na superfície da massa de grãos e sua distribuição ocorre pela gravidade. O grande impacto de sua utilização é o seu poder de destruição da camada de ozônio, por este motivo foi realizado um programa para extinção de seu uso no Protocolo de Montreal. Segundo o planejamento, países desenvolvidos deveriam extinguir sua utilização até o ano de 2005, e países em desenvolvimento, reduzir gradativamente sua utilização até 2015 (UNEP, 2002). Porém, devido à falta de tratamentos alternativos eficientes foram abertas exceções para utilização do brometo de metila em estocagem de quarentena, pré-embarque e em casos emergenciais. Com as exceções permitidas, é difícil quantificar ou estimar o uso do brometo de metila atualmente, tornando ainda mais preocupante o caso (CHAKRAVERTY et al., 2003; HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012; KUMAR et al., 2017; UNEP, 2002).

A fosfina geralmente é utilizada em pastilhas sólidas ou sachês, composta com ativos de fosfina, que liberam o gás fosfina quando em contato com a umidade do ambiente, e sua liberação é dependente das condições de temperatura e umidade relativa das instalações. A fumigação com fosfina em temperaturas inferiores a 15 °C não é recomendada, pois é menos eficaz, assim, a fosfina é principalmente utilizada em países de clima temperado (CHAKRAVERTY et al., 2003; GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002; HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012; HILL, 2002; OPIT et al., 2012). Concentrações de gás fosfina superiores a 18000 ppm podem entrar em combustão espontânea e explodir em condições atmosféricas normais, portanto uma rápida dispersão no ambiente é fundamental durante a operação (GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002; HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012). Além disso, a fosfina possui grande poder de corrosão de metais, como ouro, prata e cobre e sua utilização muitas vezes é evitada em instalações equipadas com aparelhos eletrônicos, fiação ou climatização, devido ao alto poder de danos nestes sistemas (HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012; HILL, 2002). O grande impasse da utilização da fosfina é o aumento da resistência dos insetos a este químico, sendo necessário concentrações cada vez maiores para resultarem em um tratamento efetivo.

Opit et al. (2012) estudaram a resistência dos besouros *Tribolium castaneum* e da *Ryzopertha dominica* à fosfina, em diferentes locais de Oklahoma (EUA). Todas as populações avaliadas de *R. dominica* e 8 das 9 populações de *T. castaneum* possuíam resistência ao químico. Para morte de 99% dos insetos resistentes de *T. castaneum* e *R. dominica* foram necessárias concentrações 120 e 1500 vezes maiores para os insetos resistentes comparados aos não-resistentes, respectivamente. Estudos dos anos 80 afirmaram que havia baixas incidências de resistência à fosfina nestas espécies (OPIT et al., 2012). Nota-se que em cerca de duas décadas o aumento da quantidade de químicos utilizados para a desinfestação de grãos cresceu de maneira alarmante, aumentando também a concentração de resíduos químicos nos grãos e os danos ao meio ambiente. Desta forma, novos métodos para desinfestação de grãos armazenados vêm sendo pesquisados e devem ser desenvolvidos sem a presença de riscos à saúde humana e ao meio ambiente, e mantendo as características e propriedades destes grãos (CHAKRAVERTY et al., 2003; HILL, 2002; KUMAR et al., 2017; TANG et al., 2007).

2.2.2.2 Inseticidas de contato

Os inseticidas de contato são utilizados como forma de prevenção ao ataque de insetos. São sólidos ou líquidos e devem ser aplicados diretamente em todos os grãos da massa, geralmente o processo é realizado na esteira de carregamento do armazém ou durante o período de armazenamento. Se a aplicação não for realizada em todos os grãos é comum acontecer a reinfestação das pragas (CHAKRAVERTY et al., 2003; LORINI et al., 2015). Os inseticidas podem também ser aplicados nas instalações do armazenamento, como piso e paredes, antes do recebimento dos grãos.

A eficácia dos inseticidas de contato é dependente da temperatura e umidade relativa do ambiente, umidade do grão e tipo da superfície tratada (CHAKRAVERTY et al., 2003; LORINI et al., 2015). Ambientes com temperaturas acima de 30 °C e UR inferiores a 50% não são propícios para a utilização deste tratamento, pois os componentes são oxidados e volatilizados rapidamente, perdendo sua eficácia. Assim, sua utilização em países de clima tropical é ineficiente (CHAKRAVERTY et al., 2003; GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002; LORINI et al., 2015).

Os inseticidas de contato mais utilizados são *Pirimifos-methyl*, *Deltamethrin*, *Permethrin*, *Fenitrothion*, *Chlorpyrifos-methyl*, *Dichlorvos*, *Bromophos* e *Iodofenphos*. A escolha do químico depende das condições do ambiente e das restrições do órgão regulador. A *Deltamethrin* possui ação por longos períodos em superfícies tratadas contra a praga do trigo *R. dominica*, porém as pragas do arroz e do milho (*Sitophilus* spp.) são tolerantes a este químico.

Recomenda-se que sementes oleaginosas não sejam tratadas nem armazenadas em ambientes tratados por inseticidas de contato, visto que a maioria destes químicos são lipofílicos e são rapidamente absorvidos em altas concentrações nestes tipos de grãos. A regulamentação quanto ao uso de inseticidas de contato está cada vez mais restrita, e o aumento da resistência dos insetos e o resíduo que permanece nos grãos são grandes problemas de sua utilização (CHAKRAVERTY et al., 2003; FARONI; SILVA, 2008; GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002).

2.2.3 Tratamentos físicos

Os tratamentos físicos para desinfestação de grãos geralmente não deixam resíduos no produto e a qualidade dos grãos é preservada. Estes tratamentos, comparados aos métodos químicos, tendem a ser mais caros. Com o crescente interesse na substituição dos métodos tradicionais e na redução de resíduos químicos, os métodos físicos vêm ganhando visibilidade

e interesse da indústria. Os tratamentos de controle e morte de insetos em grãos armazenados podem ser realizados por aeração, manipulação da composição do ar ambiente (atmosfera modificada), aplicação de pós inertes e manipulação da temperatura de armazenamento.

2.2.3.1 Aeração

A aeração de uma massa de grãos ocorre através da circulação forçada de ar. Seus principais objetivos são uniformização da temperatura, remoção de odores e prevenção da migração de umidade ao longo da massa de grãos. Em alguns casos, a aeração também pode, de forma limitada, remover parte dos resíduos dos fumigantes e promover a secagem dos grãos (CHAKRAVERTY et al., 2003; HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012; SILVA et al., 2008).

A temperatura da massa de grãos nos estoques é um fator importante no desenvolvimento de insetos e microrganismos. Em baixas temperaturas, além da redução da taxa de desenvolvimento de insetos-praga, ácaros e fungos, ocorre a redução da atividade respiratória dos próprios grãos, reduzindo também a sua taxa de degradação, oxidação lipídica e perda da matéria seca. Portanto, o processo de aeração é realizado principalmente com o objetivo de redução da temperatura da massa de grãos (HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012; SILVA et al., 2008).

Em temperaturas inferiores a 16 °C, insetos-praga de grãos armazenados reduzem consideravelmente sua taxa de desenvolvimento (Figura 1) (GALLO, 2002; SILVA et al., 2008). Com o emprego da aeração e redução da temperatura dos grãos, retarda-se o desenvolvimento e crescimento da população destes insetos. Cabe ressaltar, que a utilização apenas do processo de aeração nos silos para o combate à infestação não é eficiente, visto que sua atuação não elimina os insetos presentes, apenas reduz a taxa de desenvolvimento de sua população (CHAKRAVERTY et al., 2003; GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002; SILVA et al., 2008).

2.2.3.2 Armazenamento em atmosfera modificada

A desinfestação por atmosfera modificada baseia-se na alteração da concentração dos gases do ambiente (CO₂, O₂ ou N₂), impossibilitando a respiração dos insetos e levando-os à morte. Este método baseia-se na inserção dos gases dióxido de carbono (CO₂), nitrogênio (N₂)

ou uma mistura de gases, com o objetivo de reduzir a concentração do oxigênio (O_2) no ambiente, impedindo a respiração de todas as fases de desenvolvimento de insetos-praga presentes no armazenamento (LIMA et al., 2008; LORINI et al., 2015). Sabe-se que uma concentração de oxigênio intergranular inferior a 2%, em volume, causa morte de grande parte dos insetos presentes na massa de grãos (LIMA et al., 2008).

As doses de aplicação dos gases possuem diferentes combinações e efeitos no armazenamento são dependentes da umidade do grão e da temperatura do ambiente. O principal objetivo deste tratamento é a redução do gás oxigênio que pode ser obtida com elevados níveis de nitrogênio ou serem aplicados ambientes com altas concentrações de CO_2 para desinfestação (LIMA et al., 2008; LORINI et al., 2015).

A atmosfera modificada deve ser mantida durante o tempo necessário para ocasionar a morte das pragas, ambientes com nível de oxigênio mantido em 1% levam cerca de 20 dias para morte dos insetos-praga. Entretanto, insetos adultos desenvolveram habilidades para resistir aos tratamentos com baixa concentração de oxigênio. Como forma de proteção, os indivíduos fecham os espiráculos garantindo um maior tempo de exposição nestes ambientes. Porém, estudos mostraram que ambientes com concentração de CO_2 superior a 10% fazem com que os espiráculos permaneçam constantemente abertos, enquanto atmosferas com concentração de CO_2 de 60% matam todos os estágios de desenvolvimento dos insetos em cerca 11 dias (HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012).

Além da modificação da composição dos gases do ambiente, o armazenamento hermético também pode ser utilizado como forma de proteção dos grãos. Ao longo do período deste armazenamento a composição dos gases do ambiente é alterada, devido à respiração dos grãos, insetos e microrganismos presentes. Assim, a concentração de CO_2 aumenta e a quantidade de O_2 é reduzida (CHAKRAVERTY et al., 2003).

A principal característica, e um dos grandes problemas da atmosfera modificada, é que as instalações do armazenamento devem ser herméticas, caso contrário, o tratamento será ineficiente ou muito custoso (CHAKRAVERTY et al., 2003; HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012; LORINI et al., 2015). Além disso, sabe-se que uma entrada de ar, por descuido, vazamento ou abertura das instalações quando não completado o tratamento, faz com que todo o procedimento tenha que ser repetido. Este é um processo livre de resíduos e com grande capacidade de aumento em sua utilização, principalmente em instalações de menor porte.

2.2.3.3 Aplicação de pós inertes

Pós inertes são utilizados como prevenção para o desenvolvimento de insetos-praga, como terra diatomácea, sílicas sintéticas, aerogéis de sílica, cal e cinzas em geral. Em contato com os insetos estes pós absorvem a água do corpo, dessecando-os e levando-os à morte, que ocorre após a perda de 60% da água corporal ou 30% do seu peso (FARONI; SILVA, 2008; MALIA et al., 2016). A eficiência do tratamento de grãos com pós inertes é dependente dos seguintes fatores: capacidade do inseto de reabsorver e obter água pelos alimentos, composição da cutícula do exoesqueleto do inseto, capacidade de mobilidade dos insetos, quantidade e distribuição de pelos da cutícula, tempo de exposição e umidade relativa do ambiente (FARONI; SILVA, 2008; LORINI et al., 2015).

Os aerogéis de sílica também absorvem a camada cerosa do exoesqueleto dos insetos, mas sua ação é lenta e leva mais de 20 dias para causar a morte dos adultos (CHAKRAVERTY et al., 2003). Os silicatos sintéticos e as terras de diatomáceas são ativos em taxas muito mais baixas de aplicação do que areia, cinzas e cal, porém possuem alto teor de dióxido de silício e são caros.

O tratamento com pós inertes é seguro, isento de resíduos químicos e protege o grão quando aplicado de forma eficiente, bem distribuído e com concentrações eficazes (CHAKRAVERTY et al., 2003; GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002). A concentração mínima necessária para um tratamento eficaz com pós inertes geralmente é superior a 5% em massa (CHAKRAVERTY et al., 2003). Os principais problemas com o uso de pós inertes é que sua utilização dificulta o escoamento da massa, há o aumento do ângulo de repouso e da densidade total da massa. Além disso, a aplicação dos pós inertes não é simples, podendo ocorrer tratamentos ineficientes (CHAKRAVERTY et al., 2003; FARONI; SILVA, 2008).

2.2.3.4 Tratamentos térmicos

Insetos são poiquilotérmicos, ou seja, não possuem capacidade de regular sua temperatura corporal, a não ser por meios comportamentais, o que os torna sensíveis a diferenças bruscas de temperaturas (CHAKRAVERTY et al., 2003). Tratamentos com temperaturas acima de 50 °C ou abaixo de 15 °C são métodos eficazes de controle e desinfestação de insetos-praga. São livres de resíduos químicos e não há populações de pragas resistentes ao uso de temperaturas extremas (HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012). A tolerância ao

tratamento térmico é dependente da espécie do inseto, estágio de vida, estado fisiológico e condições ambientais. Temperaturas acima ou abaixo da faixa ótima de desenvolvimento dos insetos geram retardamento no seu desenvolvimento, redução da reprodução e em alguns casos, morte. Sabe-se que a qualidade dos grãos é mais preservada em tratamentos de refrigeração, porém os insetos são mais tolerantes ao frio que ao calor. Estoques de grãos tratados termicamente, assim como os métodos mais utilizados (fumigação e inseticida), devem ser controlados após o processo (CHAKRAVERTY et al., 2003; GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002; HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012).

2.2.3.4.1 Refrigeração

A redução da temperatura pode ocorrer através da aeração, resfriamento por ar refrigerado ou congelamento. O resfriamento da massa de grãos, como visto anteriormente, em algumas condições pode reduzir a temperatura da massa, retardando o desenvolvimento e a taxa de aumento da população de insetos-praga, entretanto não é um método de eliminação destas pragas em sistemas de armazenamento.

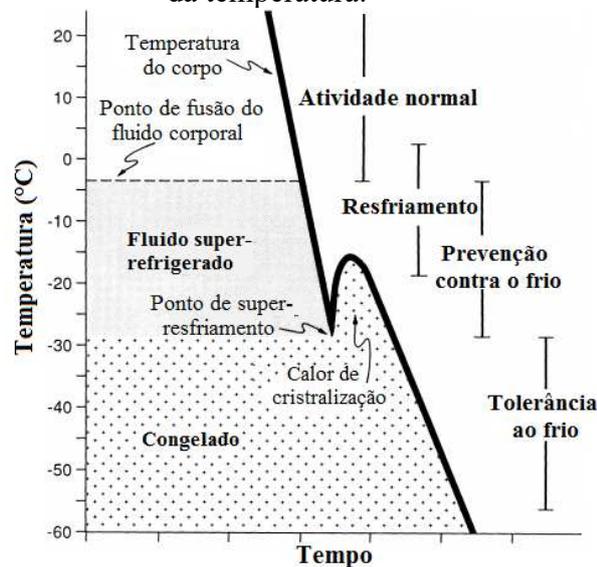
O resfriamento de grãos armazenados pode ser realizado por ar forçado refrigerado e tem como objetivo reduzir as atividades de microrganismos e insetos-pragas. É um tratamento caro, pois a refrigeração é realizada durante vários dias para se obter resultados significativos. Além disso, o resfriamento deve ser repetido ao longo do tempo de armazenamento, para manutenção da temperatura e garantia do tratamento. Dependendo das instalações do armazenamento, da granulometria da massa de grãos e do sistema de resfriamento, uma redução da temperatura para 15 °C pode levar de 2 a 21 dias para acontecer em toda extensão da massa de grãos (HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012). O uso de tratamentos de refrigeração juntamente com inseticidas químicos é vantajoso, visto que, a degradação do inseticida é menor em baixas temperaturas, assim sua concentração na massa de grãos pode ser reduzida.

Apesar de ser um método livre de resíduos químicos, a refrigeração é eficiente no retardamento da degradação dos grãos e da taxa de crescimento de populações de insetos-praga. De maneira geral, grãos mantidos em uma faixa de temperatura entre 13 °C e 15 °C retardam consideravelmente o desenvolvimento de grande parte dos insetos de produtos armazenados. Indivíduos adultos de *S. zeamais* acondicionados durante três meses em temperaturas inferiores a 15 °C diminuíram em três vezes o número de indivíduos da progênie (ILELEJI; MAIER; WOLOSHUK, 2007). No entanto, a refrigeração não provoca a morte dos insetos, mas o

retardamento do desenvolvimento, permitindo que quando os grãos forem retirados do estoque para transporte e comercialização, estes insetos retomem o crescimento de sua população normalmente, degradando o produto (CHAKRAVERTY et al., 2003; HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012; HALLMAN; DENLINGER, 1998).

O congelamento pode também ser utilizado como processo de desinfestação de grãos armazenados, e é mais efetivo que o resfriamento da massa, pois quando aplicado na temperatura e tempo efetivos leva a morte de todos os estágios de desenvolvimento de insetos-praga. Apesar de indivíduos adultos de pragas de grãos armazenados possuírem grandes quantidades de água em seu corpo (em média 70%) o seu congelamento não ocorre na temperatura de congelamento da água, mas sim na temperatura de fusão dos fluidos corporais do inseto, na faixa de $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Figura 4) (HALLMAN; DENLINGER, 1998; LEE JR., 1989). O congelamento deve ser realizado em grãos com baixo teor de umidade para evitar condensação da água quando a temperatura é restabelecida durante o transporte ou utilização dos grãos. Se a condensação ocorrer, o meio estará mais suscetível ao crescimento de fungos (HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012; HALLMAN; DENLINGER, 1998).

Figura 4: Comportamento e temperatura do corpo e fluido corporal dos insetos com a redução da temperatura.



Fonte: Adaptada de Lee Jr. (1989).

Os tratamentos de refrigeração devem garantir o resfriamento de toda a massa de grãos, principalmente nos pontos quentes, caso contrário, as pragas migrarão e se desenvolverão nestes locais. Além disso, os insetos são capazes, diferentemente de outros animais poiquilotérmicos de maior porte, de criar diferentes mecanismos fisiológicos para impedir danos ocasionados em

temperaturas extremamente baixas. A redução da temperatura ambiente causa diversos impactos nos insetos como redução da atividade enzimática, alteração em suas proteínas (em alguns casos, desnaturação), número de larvas viáveis, desenvolvimento das estruturas durante a formação do inseto e até a razão sexual desenvolvidas posteriormente ao tratamento. Estes efeitos podem ou não ser reversíveis, dependendo da temperatura atingida e do período de exposição. De maneira geral, o indivíduo adulto é o mais resistente e o ovo é a fase mais suscetível a baixas temperaturas. Ainda assim, são necessárias duas semanas para inviabilização do ovo em um ambiente à temperatura de 10 °C e cerca de 9 h a - 10 °C. Além das condições já citadas, o tempo de aclimação dos insetos é significativo no aumento da tolerância ao frio, insetos expostos a temperaturas baixas (0 °C a 8 °C) podem aumentar de 2 a 10 vezes a sua possibilidade de sobrevivência em temperaturas extremamente baixas (HALLMAN; DENLINGER, 1998)

2.2.3.4.2 Aquecimento

O tratamento a altas temperaturas também pode ser usado para desinfestar frutas secas, nozes e grãos. Temperaturas 5 °C a 10 °C acima da faixa ideal de desenvolvimento dos insetos-praga pode causar a morte ou afetar consideravelmente a reprodução e desenvolvimento dos mesmos (HALLMAN; DENLINGER, 1998). A principal diferença entre os tratamentos em temperaturas extremas é o tempo de exposição do produto.

Tratamentos em altas temperaturas geralmente necessitam de minutos a algumas horas de duração e temperaturas baixas precisam de alguns dias e até semanas para um tratamento eficaz (FIELDS, 1992). Porém, quando exposto a altas temperaturas por um período prolongado, a redução da qualidade do produto é maior. Sementes tratadas termicamente por longos períodos perdem seu poder de germinação, e o tratamento térmico de farinhas pode interferir na sua qualidade de panificação. Após o tratamento, a redução da temperatura deve ser realizada rapidamente para evitar estes efeitos e passar rapidamente por faixas de temperaturas propícias ao crescimento de fungos, garantindo a manutenção da qualidade do produto (CHAKRAVERTY et al., 2003; HALLMAN; DENLINGER, 1998)

Mangan et al. (1998) trataram com ar quente forçado diferentes frutas para analisar a mortalidade de larvas de (*Anastrepha ludens*) (mosca mexicana da fruta), confirmando que a larva deve permanecer na temperatura de 45 °C durante 100 min para garantir 100% de

mortalidade e estimaram tempos de tratamento de 210, 250 e 300 min, para tangerinas, laranjas e toranja, respectivamente.

Diferentes formas de tratamento em altas temperaturas podem ser aplicadas em grãos armazenados, como leitos fluidizados aquecidos, campo elétrico de alta frequência, micro-ondas e infravermelho. Temperaturas acima de 60 °C controlam infestações em poucos minutos. Assim, métodos de aquecimento capazes de elevar a temperatura dos insetos rapidamente podem ser mais vantajosos por reduzirem o tempo de exposição do produto a altas temperaturas (CHAKRAVERTY et al., 2003; HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012; HALLMAN; DENLINGER, 1998). De maneira geral, aquecimentos por micro-ondas e irradiação são capazes de gerar altas taxas de aquecimento e são livres de resíduos químicos, tornando-os uma alternativa muito interessante para este processo, e por isso vêm ganhando atenção em pesquisas da área (ABBAS et al., 2011; AHMADY; MOUSA; ZAITOUN, 2016; DAS; KUMAR; SHAH, 2013; JIAN et al., 2015; MANICKAVASAGAN et al., 2013; PUROHIT et al., 2013; SINGH; SINGH; KOTWALIWALE, 2012).

A radiação divide-se em ionizante e não-ionizante, ambas livres de resíduos químicos após o tratamento. A radiação ionizante, com raios gama, produz íons livres e torna as moléculas extremamente reativas (FARONI; SILVA, 2008; GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002; LORINI et al., 2015). Esta radiação é empregada industrialmente para inibição do brotamento em batatas e cebolas e de microrganismos em carnes e alimentos em geral. A dose permitida para utilização em alimentos é de 10 kGy, e é possível sua utilização no tratamento de grãos armazenados, a qual causa mortalidade e esterilidade dos insetos (LACROIX; MARCOTTE; RAMASWAMY, 2003). Porém, a sua utilização afeta a germinação das sementes, pode afetar os produtos oriundos de grãos tratados e reduzir teores de vitaminas A, B1, C, E e K, dependendo do alimento tratado e da dose utilizada (LORINI et al., 2015). Além disso, a população em geral não se sente segura em consumir produtos que passaram por tratamento radioativo.

A radiação não-ionizante engloba a radiação eletromagnética, como ondas de rádio, infravermelho (IV), luz visível e micro-ondas. As micro-ondas que são geradas convertem energia elétrica em um campo eletromagnético variável, com cargas positivas e negativas, que mudam de direção milhões de vezes por segundo. Com a alteração do campo magnético, as moléculas polares e não polares alternam entre si, acompanhando a variação do campo e interrompendo as ligações de hidrogênio entre as moléculas de água, gerando calor por atrito. Materiais com água em sua composição são altamente afetados pelas micro-ondas. No caso de

tratamento de grãos infestados, este processo têm grande perspectiva de utilização, visto que a composição corporal do inseto, e de suas fases iniciais, possuem grande quantidade de água, respondendo rapidamente ao aquecimento por micro-ondas (CHAKRAVERTY et al., 2003; GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002).

Os tratamentos mais promissores para desinfestação em grãos são a utilização de micro-ondas, infravermelho (IV) e radiofrequência (RF) (HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012). A diferença no teor de água entre os insetos (acima de 60% em bu) e os grãos secos (até 20% em bu) faz com que o aquecimento seletivo por micro-ondas aqueça mais rapidamente as pragas, elevando sua temperatura, enquanto os grãos permanecem em uma temperatura segura para manutenção de sua qualidade (HAGSTRUM; PHILLIPS; CUPERUS, 2012).

2.2.4 Modelos de morte térmica de insetos-praga de grãos armazenados

O entendimento e elucidação do comportamento de insetos-praga em temperaturas elevadas e sua tolerância a altas temperaturas é fundamental para o desenvolvimento de processos para tratamento térmico eficientes na desinfestação de pragas agrícolas, que são livres de resíduos químicos e podem substituir a fumigação. Alguns estudos já foram realizados na área, mas o poder de expansão do conhecimento nesta área ainda é grande.

Estudos cinéticos de morte de insetos requerem ambientes térmicos experimentais com temperaturas uniformes, onde todos os indivíduos sejam expostos às mesmas condições. Portanto, um tratamento térmico de insetos-praga inseridos em seu meio natural, massa de grãos infestada por exemplo, não é apropriado para este tipo de estudo, pois o meio possuirá gradientes de temperatura e os insetos não sofrerão a mesma injúria, gerando resultados dispersos e/ou duvidosos (TANG et al., 2007).

O comportamento da curva de morte térmica de insetos em uma temperatura definida pode apresentar diferentes formas e os modelos utilizados para descrevê-los são expressos pelo número de indivíduos sobreviventes (N) em função do tempo de tratamento (t). Um modelo muito utilizado para descrever a cinética de morte de insetos está apresentado na Equação (2) (TANG et al., 2007).

$$\frac{d(N(t)/N_0)}{dt} = -k \left(\frac{N(t)}{N_0} \right)^j \quad (2)$$

onde N/N_0 é a razão do número de sobreviventes (N) pelo número inicial de indivíduos (N_0), k é a taxa constante de morte térmica (min^{-1}) e j é ordem da cinética da reação. Gazit et al., (2004) estudaram a morte térmica de ovos e larvas da mosca *Ceratitidis capitata* e Wang et al. (2002a) de lagartas de *Cydia pomonella* no quinto estágio de desenvolvimento (5° ínstar), em aquecimento por blocos metálicos, nas temperaturas de 46, 48, 50 e 52 °C, ambos os autores descreveram seus dados de morte térmica conforme a Equação (2), com ordem de reação de 0,5. Dados de cinética de morte térmica de *S. zeamais* e *S. oryzae*, com aquecimento em blocos metálicos, na faixa de temperatura de 44 °C a 52 °C, foram estudados por Li et al. (2015a) e Yan et al. (2014), respectivamente. Os dois estudos constataram que o modelo (Equação (2)), com ordem de reação igual a zero ($j = 0$), e comportamento linear da morte dos insetos adultos ao longo do tratamento. Segundo os autores, o tratamento térmico em blocos metálicos com taxas de aquecimento superiores a 5 °C min^{-1} representam situações de tratamento com radiofrequência e micro-ondas, mas não há trabalhos que comprovem esta relação.

O modelo logarítmico (Equação (3)) obtido quando $j = 1$ e $k = 1/D$, originado das curvas de morte térmica de microrganismos (TDT), também é utilizado para avaliação de curvas de morte de insetos. Ben-Ialli et al. (2009) utilizaram o modelo para descrever a cinética de morte térmica de ovos de *Ephestia kuehniella* no tratamento por imersão em água, nas temperaturas de 46, 54, 60, 65, 70 e 75 °C, e o modelo não se ajustou apenas à cinética experimental a 46 °C.

$$\ln\left(\frac{N(t)}{N_0}\right) = -\frac{t}{D} \quad (3)$$

em que D (min) é um parâmetro da equação que caracteriza o tempo necessário para se obter uma redução logarítmica na população de insetos-praga.

Em estudos microbiológicos, a suscetibilidade de bactérias à variação da temperatura pode ser descrita pelo valor de z (Equação (4)), que representa o aumento de temperatura que resulta em uma redução logarítmica no valor de D . Esta teoria também é aplicada ao tratamento térmico de insetos (TANG et al., 2000, 2007).

$$z = \frac{T_2 - T_1}{\ln D_{T_1} - \ln D_{T_2}} \quad (4)$$

Onde D_{T_1} e D_{T_2} é o valor de D experimental determinado nas temperaturas T_1 e T_2 , respectivamente.

A morte térmica de insetos-praga de grãos, em função da temperatura da massa foi descrita por Zhao et al. (2007a) pelas Equações (5), (6) e (7). Os autores estudaram a morte de indivíduos adultos de *S. oryzae* em grãos de arroz em aquecimento por micro-ondas.

$$\frac{N(t)}{N_0} = 1 \quad (T \geq T_A) \quad (5)$$

$$\frac{N(t)}{N_0} = e^{-A \left(\frac{T_g - T_0}{T - T_0} \right)^a} \quad (T_0 < T < T_A) \quad (6)$$

$$\frac{N(t)}{N_0} = 0 \quad (T \leq T_0) \quad (7)$$

onde T_0 ($^{\circ}\text{C}$) é a temperatura do grão em que os indivíduos começam a morrer, T_A é a temperatura em que ocorre 100% da mortalidade, T_g ($^{\circ}\text{C}$) é a temperatura do grão em que todos os indivíduos foram mortos, A é o parâmetro que define a suscetibilidade do indivíduo ao tratamento e a é uma constante ajustada ao modelo.

Em entomologia, a transformação Log-Log Complementar (LLC) (Equação (8)) é muito utilizada na predição da mortalidade de insetos (TANG et al., 2007).

$$\ln \left[-\ln \left(\frac{N(t)}{N_0} \right) \right] = -at + b \quad (8)$$

na qual as constantes a e b são parâmetros do modelo. Jones e Waddell (1997) utilizaram este modelo para descrever a morte por imersão em água quente (43 a 49 $^{\circ}\text{C}$) de ovos e lagartas de *Cydia pomonella*.

3 DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA

3.1 ESTUDO 1 – DETERMINAÇÃO EXPERIMENTAL E MODELAGEM MATEMÁTICA DA MORTE DE *SITOPHILUS ZEAMAE* ADULTOS EM CONDIÇÕES ISOTÉRMICAS

3.1.1 Introdução – Estudo 1

O controle e desinfestação de insetos-praga em grãos armazenados são geralmente realizados com fumigação química, aplicados durante o transporte ou armazenamento (CHAKRAVERTY et al., 2003; GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002). As principais substâncias químicas utilizadas (fosfina e brometo de metila) poluem o meio ambiente, deixam resíduos no alimento e apresentam riscos aos trabalhadores. Além disso, os insetos vêm desenvolvendo resistência à alguns compostos químicos (AGRAFIOTI; ATHANASSIOU; NAYAK, 2019; COLLINS et al., 2005; NAYAK, 2012; SAGLAM; EDDE; PHILLIPS, 2015).

Métodos alternativos à fumigação são necessários para reduzir o ataque ao meio ambiente e a quantidade de resíduos químicos nos alimentos. Estudos prévios observaram a suscetibilidade de insetos submetidos a tratamentos físicos, como a utilização de temperaturas extremas (DUANGKHAMCHAN et al., 2017; HOU; JOHNSON; WANG, 2016; LAZZARI; RIBEIRO-COSTA, 2006; LI et al., 2015a; PAN et al., 2008; PEI et al., 2018b; SINGH; SINGH; KOTWALIWALE, 2012; VADIVAMBAL; JAYAS; WHITE, 2008; WALE; ASSEGIE, 2015; YAN et al., 2014; ZHOU; WANG, 2016).

Considerando o interesse no tratamento térmico de grãos, modelos capazes de prever a cinética de morte de insetos em diferentes temperaturas são úteis para desenvolver e avaliar técnicas alternativas de tratamento de grãos. Pesquisas têm avaliado alguns insetos-praga submetidos ao tratamento térmico. Alguns estudos avaliaram o comportamento de morte térmica de insetos-praga em blocos metálicos aquecidos (HBS) utilizando ajuste de modelos empíricos (BEN-IALLI et al., 2009; DUANGKHAMCHAN et al., 2017; WANG et al., 2002a, 2002b). Outros estudos desenvolvidos nesta área apresentam as curvas de morte térmica dos insetos realizadas em HBS e sugerem que baixas taxas de aquecimento ($\leq 1 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) representam aquecimentos por água e ar quentes e taxas de aquecimento mais altas ($\geq 5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) simulam aquecimentos por micro-ondas e radiofrequência, porém nenhum estudo de comparação entre eles foi realizado (LI et al., 2015a; WANG et al., 2002a; YAN et al., 2014).

A avaliação da tolerância e do comportamento de insetos-praga submetidos a diferentes tratamentos térmicos é essencial para o desenvolvimento de processos para o controle de pragas. Assim, avaliaram-se morte e sobrevivência dos insetos-pragas em função do binômio tempo e temperatura com o objetivo de estabelecer modelos matemáticos para a cinética de morte de insetos adultos de *S. zeamais* em função da temperatura do ar aquecido para o intervalo entre 46 °C e 62 °C.

3.1.2 Material e Métodos – Estudo 1

3.1.2.1 Obtenção, identificação e condição de criação dos insetos

Os insetos-praga de grãos de milho foram gentilmente doados pelo Laboratório de Sementes, Setor Palotina, da Universidade Federal do Paraná (UFPR). A identificação da espécie, realizada através da dissecação do inseto adulto, e o registro de imagens foram realizados no Laboratório de Pesquisas em Coleoptera (LAPCOL), também no Setor Palotina, UFPR.

A dissecação dos espécimes consistiu na imersão dos espécimes em solução de hidróxido de potássio (KOH) 10% fervente, em banho-maria, por 3 min, seguido por um banho em ácido acético glacial por 1 min e água para remover qualquer resíduo (CARON; MOUSSALLEM; BORTOLUZZI, 2019). As dissecações foram executadas com o auxílio de um microscópio estereoscópico (Leica, modelo – EZ4, Suíça) em glicerina líquida PA. A imagem da larva foi obtida com uma câmera de captura de imagem digital (Motic, modelo – Moticom5, Canadá) acoplada ao microscópio estereoscópico. As imagens das peças dissecadas do adulto foram realizadas com o auxílio de microscópio (Nikon, modelo – E200, Japão) acoplado à câmera de captura de imagem. As imagens da pupa e do adulto foram realizadas com um sistema de captura que consiste de uma câmera (Canon, modelo - EOS 80D, Japão), uma lente macro (Canon, modelo - MP-E 65mm f/2.8 1-5X, Japão), uma base vertical (Wemacro 2.0, China), um trilho automático de foco sequencial (WeMacro 100 mm, Japão) e um computador com *software* Helicon[®] de processamento de imagem. Após os estudos morfológicos, o material dissecado foi fixado em placa de acetato transparente e coberto com uma fina camada de bálsamo do Canadá e depositado na Coleção Entomológica do Departamento de Biodiversidade, Setor Palotina, UFPR.

As matrizes de criação dos insetos foram mantidas em recipientes de 5000 mL, no laboratório em condições de temperatura e umidade relativa ambiente (26 °C e 60%) durante o desenvolvimento do projeto. As matrizes foram constantemente aeradas por revolução da massa de grãos, e os grãos de milho foram trocados a cada 3 meses.

3.1.2.2 Tratamento isotérmico em *S. zeamais*

O tratamento térmico em insetos adultos de *S. zeamais* foi realizado com ar quente em estufa com circulação de ar (SOLAB, modelo SL - 102, Brasil), fornecendo a mesma condição de temperatura a todos os indivíduos. No total, 25 insetos adultos, com até 21 dias de vida (após a emergência) foram colocados em recipientes de polipropileno com capacidade de 350 mL (Zanella Plásticos, Brasil), com abertura circular (4 cm de diâmetro) na parte superior, coberto por tecido perfurado permitindo a troca gasosa. Estes, foram inseridos na estufa em temperatura e tempo pré-determinados por testes preliminares (Tabela 2). A temperatura interna da estufa foi registrada por mini *data loggers* (Testo, modelo - 174H, Alemanha) a cada 1 min. Após o tempo de permanência na estufa, os recipientes foram retirados e em seguida os insetos foram transferidos para recipientes de polipropileno à temperatura ambiente contendo grãos de milho (WANG et al., 2002b; YAN et al., 2014). Todos os pontos foram realizados em duplicata e os experimentos conduzidos em triplicata de forma destrutiva, ou seja, cada ponto experimental foi realizado individualmente e sequencialmente. Estes experimentos foram conduzidos no LAPCOL e no Laboratório de Zoologia da UFPR, Setor Palotina.

Tabela 2: Temperaturas de referência e intervalo de tempo entre os pontos experimentais dos tratamentos térmicos de indivíduos adultos de *S. zeamais* em condições isotérmicas.

Temperatura de referência	Intervalo de tempo	Tempo total
46 °C	10 min	80 min
50 °C	2 min	22 min
54 °C	2 min	16 min
58 °C	1 min	9 min
62 °C	1 min	8 min

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

A contagem dos indivíduos vivos foi realizada logo após o tratamento e posteriormente uma vez ao dia, durante 6 dias consecutivos, em conformidade com a metodologia utilizada por Yan et al. (2014). Amostra controle (em duplicata) foi realizada em todos os experimentos, na qual os insetos foram gerenciados e acondicionados da mesma maneira que as outras amostras,

porém não foram tratados termicamente. O número de insetos sobreviventes no controle foi considerado como o tempo “zero” ($t = 0$) nos dados experimentais.

3.1.2.3 Modelagem matemática das curvas de morte térmica de *S. zeamais*

Por analogia com a microbiologia preditiva, a curva de sobreviventes durante o tratamento térmico sob temperatura constante (população vs tempo) é denominada modelo primário ou modelo cinético (WHITING; BUCHANAN, 1993). Pode-se determinar um modelo primário para representar cada tratamento isotérmico e os parâmetros do modelo primário são dependentes da temperatura de cada tratamento. A equação que representa a dependência dos parâmetros do modelo primário com a temperatura é denominada modelo secundário. Portanto, a curva de sobrevivência de cada tratamento térmico é a base para desenvolver modelos cinéticos preditivos de morte térmica para qualquer temperatura na faixa investigada (46 °C a 62 °C). Experimentos a 48 °C e 52 °C foram usados para validar o modelo preditivo. O ajuste dos modelos primário e secundário aos dados experimentais foi realizada com o *software* Matlab® R2011b (versão 7.13, MathWorks, Natick, MA, EUA).

3.1.2.3.1 Modelos cinéticos de morte térmica de *S. zeamais*

Os modelos matemáticos ajustados aos dados experimentais de cinética de morte de *S. zeamais* foram os modelos sigmóides de Weibull, Fermi e Gompertz. Para todos os modelos $S(t)$ representa a razão de sobreviventes pela população inicial de insetos em função do tempo de processo (t).

O modelo de Weibull é representado pela Equação (9).

$$S(t) = \exp \left[- \left(\frac{t}{\beta} \right)^\alpha \right] \quad (9)$$

onde α (adimensional) é o fator de forma e β (*min*) é o tempo característico, também chamado de fator de escala (MCKELLAR; LU, 2004).

A distribuição de Fermi, Equação (10), descreve um comportamento sigmoide simétrico (MCKELLAR; LU, 2004; PELEG, 2006).

$$S(t) = \frac{1 + \exp(-k_{max} t_L)}{1 + \exp[k_{max}(t - t_L)]} \quad (10)$$

na qual k_{max} (min^{-1}) representa a velocidade máxima específica de morte e t_L (min) é aproximadamente o tempo em que a população inicial foi reduzida à metade.

O modelo de Gompertz, representado pela Equação (11), descreve uma curva sigmoide assimétrica (MCKELLAR; LU, 2004; NAKASHIMA; ANDRÉ; FRANCO, 2000).

$$S(t) = E + C \exp\{-\exp[-k(t - t_M)]\} \quad (11)$$

na qual E (adimensional) é o valor da assíntota superior, t_M (min) é o tempo em que a velocidade específica de morte (k (min^{-1})) é máxima e C (adimensional) representa a diferença entre a assíntota inferior e superior. No caso do presente estudo, C é a diferença entre a fração inicial e final de insetos vivos no tratamento (MCKELLAR; LU, 2004; NAKASHIMA; ANDRÉ; FRANCO, 2000).

Neste estudo a morte dos insetos foi analisada em condições isotérmicas e com os dados adimensionalizados ($S(t)$). Desta forma, os parâmetros E e C do modelo de Gompertz (Equação (11)) representam valores constantes, visto que a análise dos tratamentos térmicos deste estudo ocorre até a morte total da população de insetos avaliada. Assim, os valores da assíntota superior (E) são próximos a 1 ($S(0)$) e as diferenças entre as assíntotas superior e inferior (C) são próximas a - 1. Portanto, o modelo de Gompertz ajustado aos dados experimentais no presente estudo é representado pela Equação (12), o qual considera os parâmetros E e C da Equação (11) constantes e iguais a 1 e - 1, respectivamente.

$$S(t) = 1 - \exp\{-\exp[-k(t - t_M)]\} \quad (12)$$

A Equação (12) é denominada de modelo de Gompertz ajustado (GOM_{aj}) neste documento.

3.1.2.3.2 Modelos secundários

Após os ajustes e estimação dos parâmetros do modelo cinético, três modelos secundários (Tabela 3) foram avaliados para descrever o comportamento dos parâmetros dos modelos cinéticos obtidos nos processos isotérmicos em função da temperatura dos processos. Os valores das temperaturas médias experimentais foram utilizados para o ajuste dos modelos secundários.

Tabela 3: Modelos secundários avaliados para descrever a influência da temperatura nos parâmetros do modelo cinético de morte térmica de adultos de *S. zeamais*.

Modelo	Equação
Tipo	
Arrhenius	$c = a \exp\left(-\frac{b}{T}\right)$ (13)
Raiz quadrada	$\sqrt{c} = a(T - b)$ (14)
Racional	$\frac{1}{c} = aT + b$ (15)

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Na Tabela 3, c representa o parâmetro de interesse do modelo (k , k_{max} e t_M , por exemplo), T é a temperatura na qual o inseto foi submetido, e a e b são constantes do modelo secundário (MCKELLAR; LU, 2004; RATKOWSKY et al., 1983).

Experimentos a 48 °C e 52 °C foram realizados, conforme metodologia descrita no item 3.1.2.2, e utilizados para validar o modelo preditivo.

3.1.2.3.3 Análises estatísticas

Os índices estatísticos coeficiente de determinação ajustado (R_{aj}^2), raiz do erro quadrático médio ($RMSE$), fator bias e fator de exatidão foram utilizados para analisar os ajustes dos modelos cinético e secundário e a capacidade preditiva (validação) dos mesmos (MONTGOMERY, 2012; ROSS, 1996). As equações referentes aos índices estatísticos estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4: Índices estatísticos utilizados para comparação e validação dos modelos cinéticos e secundários.

Índice estatístico	Equação
R_{aj}^2	$R_{aj}^2 = 1 - \left(\frac{n-1}{n-p+1} \right) \left(1 - \frac{[\sum(y_{pred} - \bar{y}_{pred})(y_{obs} - \bar{y}_{obs})]^2}{\sum(y_{pred} - \bar{y}_{pred})^2 \sum(y_{obs} - \bar{y}_{obs})^2} \right) \quad (16)$
RMSE	$RMSE = \sqrt{\frac{\sum(y_{obs} - y_{pred})^2}{n-p}} \quad (17)$
Fator bias	$bias = 10^{\sum\left(\frac{\log(y_{pred}/y_{obs})}{n}\right)} \quad (18)$
Fator de exatidão	$exatidão = 10^{\sum\left(\frac{ \log(y_{pred}/y_{obs}) }{n}\right)} \quad (19)$

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Onde y_{obs} é o valor observado nos experimentos, \bar{y}_{obs} é o valor médio observado em uma condição experimental, y_{pred} é o valor predito pelo modelo, n é o número de pontos experimentais e p é o número de parâmetros do modelo.

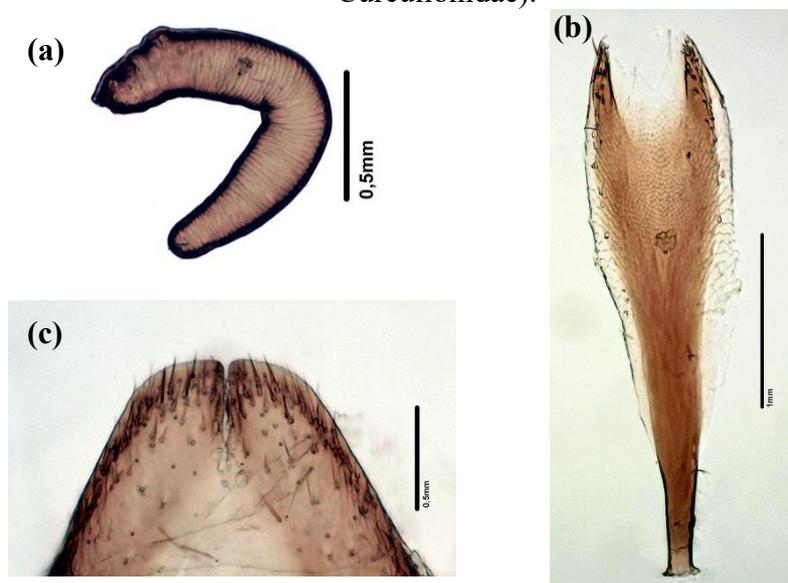
As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do *software* Matlab[®] R2011b (versão 7.13, (MathWorks, Natick, MA, EUA)).

3.1.3 Resultados e Discussão – Estudo 1

3.1.3.1 Identificação da espécie do inseto-praga

Baseado no estudo morfológico detalhado de *Sitophilus spp.* (*S. zeamais* e *S. oryzae*), realizado por Devi et al. (2017), foi possível confirmar que os espécimes utilizados neste estudo formam uma população de *S. zeamais*, conforme comprovam o formato de três estruturas da genitália: 1) forma da espermateca (Figura 5 a), no qual a glândula acessória é distante da base do ducto; 2) ápice da espícula da genitália feminina (Figura 5 b), no qual forma margem apical largamente emarginada; 3) ápice do tergito 8 do macho (Figura 5 c) com emarginação estreita e pouco nítida. Mais informações são apresentadas no Apêndice A, ao final deste documento.

Figura 5: Imagens da (a) espermateca, (b) espícula da genitália feminina e (c) ápice do tergito 8 do macho, de espécimes dissecados que comprovam ser a espécie *S. zeamais* (Coleoptera: Curculionidae).



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

3.1.3.2 Temperatura do tratamento isotérmico

As temperaturas de referência utilizadas nos tratamentos foram de 46, 50, 54, 58 e 62 °C (Tabela 2) e os valores das médias experimentais registrados de temperatura e umidade relativa (UR) do ar estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Valores experimentais das temperaturas e umidades relativas do ar quente durante o tratamento térmico de *S. zeamais* correspondentes às temperaturas de referência.

Temperatura de referência (°C)	Valor experimental ± Desvio Padrão	
	Temperatura (°C)	UR (%)
46	46,4 ± 0,2	18,3 ± 0,6
50	49,8 ± 0,3	15,0 ± 0,7
54	53,7 ± 0,2	12,4 ± 0,2
58	58,0 ± 0,3	8,0 ± 0,2
62	61,8 ± 0,3	8,0 ± 0,1

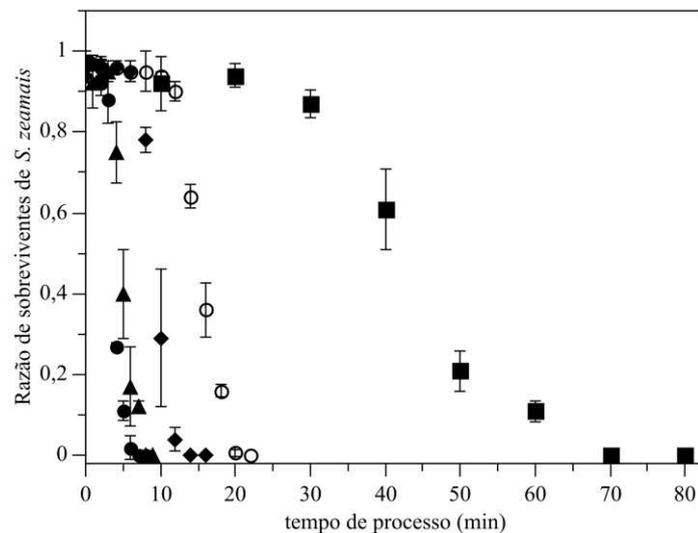
Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Os dados experimentais das temperaturas registradas durante os tratamentos estão apresentados na Figura B - 1, no Apêndice B deste documento.

3.1.3.3 Comportamento da sobrevivência de indivíduos adultos de *S. zeamais* ao tratamento por ar quente

Na Figura 6 são apresentadas as curvas de morte térmica dos insetos adultos submetidos ao aquecimento isotérmico. Os resultados apresentados referem-se ao sexto dia de análise de sobreviventes. Todos os dados experimentais das réplicas estão apresentados no Apêndice C (Figura C - 1).

Figura 6: Dados experimentais médios e desvio padrão das curvas de morte térmica de *S. zeamais* nas temperaturas de referência iguais a (■) 46 °C, (○) 50 °C, (◆) 54 °C, (▲) 58 °C e (●) 62 °C.



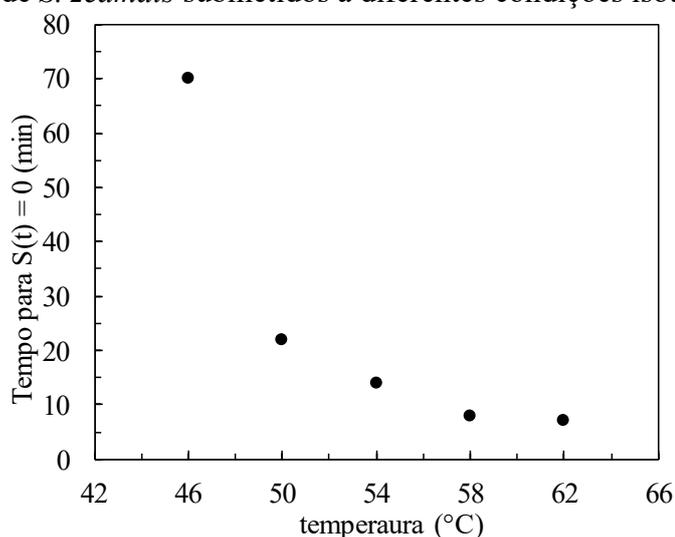
Fonte: Elaborada pela autora (2020).

É possível observar um comportamento sigmoide para a morte da população de *S. zeamais* ao longo do tempo de processo, em todas as temperaturas estudadas. No início do tratamento, os insetos sofrem aquecimento e adaptam-se ao novo ambiente. Portanto, a população inicial do inseto não decaiu nesse período e é caracterizada como uma fase de atraso (manutenção da população inicial). O tempo de adaptação (fase de atraso) foi de aproximadamente 20 min a 46 °C, 10 min a 50 °C, 6 min a 54 °C, 3 min a 58 °C e 2 min a 62 °C. Posteriormente, ocorreu um período de rápida redução da população, quando foi observada a velocidade máxima de mortalidade. Por fim, a velocidade de morte térmica é reduzida (cauda) até a morte completa de toda a população de insetos. Foi observada uma redução de aproximadamente 80% da população inicial a 46 °C após 50 min de tratamento no presente estudo.

Li et al. (2015a) trataram insetos adultos de *S. zeamais* em blocos metálicos aquecidos (taxas de aquecimento de $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$) e obtiveram comportamento linear na cinética de morte. Segundo os autores, o tratamento realizado simula condições de tratamento térmico em micro-ondas ou por radiofrequência, porém não validaram experimentalmente esta suposição.

O tempo necessário para a supressão total da população de insetos foi de aproximadamente 70 min a $46\text{ }^{\circ}\text{C}$, 22 min a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, 14 min a $54\text{ }^{\circ}\text{C}$, 8 min a $58\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 7 min a $62\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Figura 7).

Figura 7: Tempo de processo observado para mortalidade total da população de insetos adultos de *S. zeamais* submetidos a diferentes condições isotérmicas.



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Como esperado, o aumento da temperatura reduz o tempo de processo para a mortalidade completa da população de insetos. Nota-se que a redução do tempo de processo para supressão total dos insetos.

Li et al. (2015a) avaliaram a morte térmica de *S. zeamais* sob tratamento isotérmico em um sistema de blocos metálicos aquecidos (HBS, taxa de aquecimento de $5\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$) e observaram períodos de 165, 40, 14 e 4 min para a eliminação completa da população de insetos a 46, 48, 50 e $52\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente. No mesmo estudo, Li et al. (2015a) analisaram a morte de insetos adultos de *S. zeamais* submetidos a uma taxa de aquecimento de $1\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e relataram uma mortalidade de 55% dos indivíduos após 52 min de tratamento a $48\text{ }^{\circ}\text{C}$ (22 min para aquecer os insetos a $48\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 30 min, mantendo-os nesta temperatura).

O aumento da temperatura do ar diminuiu a fase de atraso (manutenção da população inicial) e aumentou a taxa de mortalidade da população de insetos. Acima de $54\text{ }^{\circ}\text{C}$, a redução

da população de *S. zeamais* é rápida (< 20 min). Um aumento na temperatura de 46 °C para 50 °C reduz em mais de 70% o tempo para suprimir a população de *S. zeamais*. Aumentos de 4 °C a partir de 50 °C reduzem o tempo de morte total dos insetos entre 20 e 30%. Um aumento na temperatura de tratamento de 54 °C para 62 °C resulta em um processo 50% mais rápido.

A temperatura tem grande influência na morte dos insetos adultos. Pequenas variações de temperatura (~ 4 °C) podem reduzir o tempo de processamento em aproximadamente 60%. Os tratamentos com ar quente a temperaturas acima de 54 °C eliminam todos os indivíduos em até 15 min. De acordo com a literatura insetos-praga morrem quando atingem temperaturas superiores a 52 °C (CHAKRAVERTY et al., 2003; GALLO, 2002; HALLMAN; DENLINGER, 1998). Assim, podemos concluir que a fase de atraso observada neste estudo, em temperaturas superiores a 52 °C, refere-se ao aquecimento dos insetos até esta temperatura. Presume-se que em temperaturas superiores a 62 °C, o período de aquecimento seja reduzido a um tempo mínimo de aquecimento dos insetos, ou que seja tão pequeno que não possa ser observado e registrado experimentalmente.

3.1.3.4 Modelagem matemática da morte térmica de insetos adultos de S. zeamais submetidos ao aquecimento por ar quente em diferentes temperaturas

3.1.3.4.1 Modelos cinéticos de morte térmica da população de S. zeamais submetidos a diferentes condições isotérmicas

O comportamento da curva de sobrevivência dos insetos submetidos ao aquecimento é muito semelhante ao observado em curvas de inativação microbiana (MCKELLAR; LU, 2004; PELEG, 2006). Muitos modelos são utilizados para descrição e conhecimento do comportamento populacional de microrganismos ou para elaboração de modelos preditivos de crescimento e inativação, que permitem prever o comportamento da população em diferentes condições ambientais (T, pH, atividade de água, presença de sais, ácidos e conservantes, entre outros) não analisadas experimentalmente, auxiliando em estudos e desenvolvimento de formas de controle, inativação ou crescimento da população de interesse (MCKELLAR; LU, 2004; PELEG, 2006; WHITING; BUCHANAN, 1993). Estes modelos podem ser aplicados para a análise de sobrevivência de insetos-praga submetidos a diferentes tratamentos para sua eliminação, como sugerido no presente estudo.

Os modelos de Weibull (WBL) (Equação (9)), Fermi (FER) (Equação (10)), e Gompertz ajustado (GOM_{aj}) (Equação (12)) foram ajustados aos dados experimentais para a descrição do comportamento sigmoide da cinética de morte da população de indivíduos adultos de *S. zeamais* submetidos ao aquecimento por ar quente nas temperaturas constantes de 46, 50, 54, 58 e 62 °C. O ajuste de modelos aos dados experimentais auxilia na compreensão e entendimento das mudanças nas respostas dos indivíduos em função do tempo, para um determinado conjunto de condições ambientais.

Os índices estatísticos resultantes da comparação entre os valores experimentais e os valores obtidos a partir dos modelos ajustados estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6: Valores dos índices estatísticos utilizados para comparação dos modelos de Weibull (WBL), Fermi (FER) e Gompertz ajustado (GOM_{aj}) ajustados aos dados experimentais de cinética de morte térmica de indivíduos adultos de *S. zeamais* em cada condição de temperatura.

T	Modelo	Índices estatísticos			
		R^2_{aj}	RMSE	Fator bias	Fator exatidão
46 °C	WBL	0,9899	0,045	0,954	1,131
	FER	0,9915	0,039	0,978	1,090
	GOM_{aj}	0,9864	0,050	1,018	1,068
50 °C	WBL	0,9906	0,039	1,104	1,153
	FER	0,9910	0,038	1,183	1,221
	GOM_{aj}	0,9871	0,045	1,260	1,232
54 °C	WBL	0,9928	0,038	0,918	1,143
	FER	0,9934	0,037	1,036	1,035
	GOM_{aj}	0,9911	0,042	1,073	1,086
58 °C	WBL	0,9877	0,047	0,915	1,155
	FER	0,9908	0,041	0,936	1,110
	GOM_{aj}	0,9921	0,038	0,981	1,070
62 °C	WBL	0,9880	0,051	0,039	26,471
	FER	0,9914	0,043	0,708	1,477
	GOM_{aj}	0,9931	0,038	0,888	1,177

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Os três modelos representaram bem o comportamento das cinéticas de morte térmica, com valores de RMSE abaixo de 0,051 e de R^2_{aj} acima de 0,986 em todas as temperaturas analisadas. Apesar disso, os fatores de bias e exatidão foram inadequados para a configuração do modelo WBL a 62 °C. Esta discrepância nos índices estatísticos pode ser decorrente da comparação dos dados na parte final da curva de sobreviventes (cauda), onde os valores

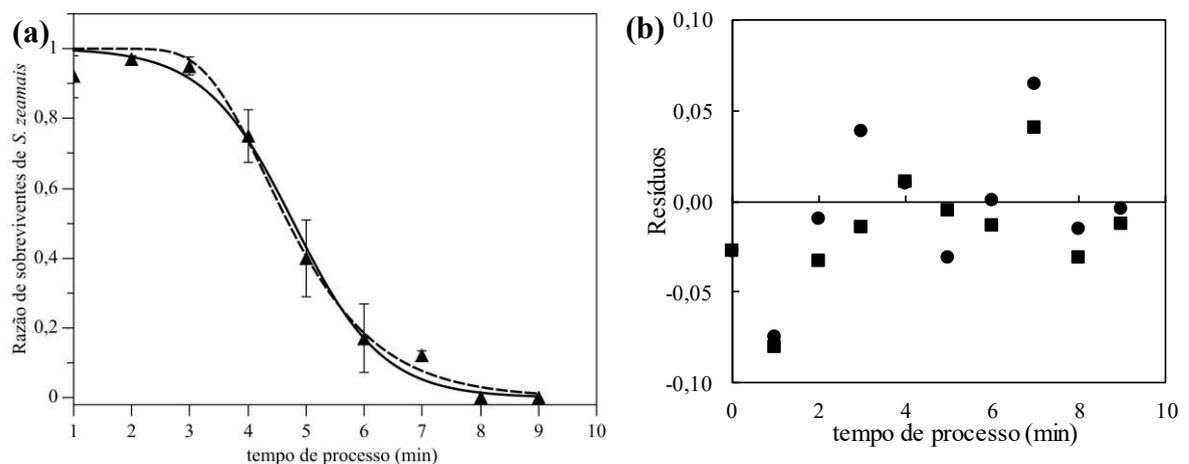
ajustados e experimentais tendem a zero. Assim, se estes valores não estiverem na mesma ordem de grandeza, resulta em um fator de bias e de exatidão desproporcionais.

Os valores dos fatores de exatidão, bias e RMSE para o modelo de WBL ficaram relativamente acima dos valores obtidos para os modelos GOM_{aj} e FER, na maioria das condições isotérmicas.

O ajuste de um modelo capaz de representar os dados experimentais da cinética de morte térmica é fundamental para o desenvolvimento de modelos preditivos que descrevam a morte dos indivíduos em condições não analisadas experimentalmente. Desta forma, uma comparação mais aprofundada dos ajustes dos modelos FER e GOM_{aj} foi realizada.

Na Figura 8 são apresentados os ajustes para os modelos GOM_{aj} e FER juntamente com os resíduos dos ajustes na temperatura de 58 °C. No Apêndice – D são apresentados os dados da morte térmica de *S. zeamais* e os resíduos dos ajustes de GOM_{aj} e FER em todas as condições isotérmicas. Os dois modelos apresentaram boa concordância com os dados experimentais, porém em todos os tratamentos observam-se resíduos relativamente maiores para o modelo GOM_{aj} . Além disso, o modelo FER representou melhor a fase de supressão total da população de insetos (cauda). Assim, o modelo FER foi utilizado como modelo cinético para descrever a morte térmica de insetos adultos de *S. zeamais* submetidos ao aquecimento por ar quente nas temperaturas de 46, 50, 54, 58 e 62 °C.

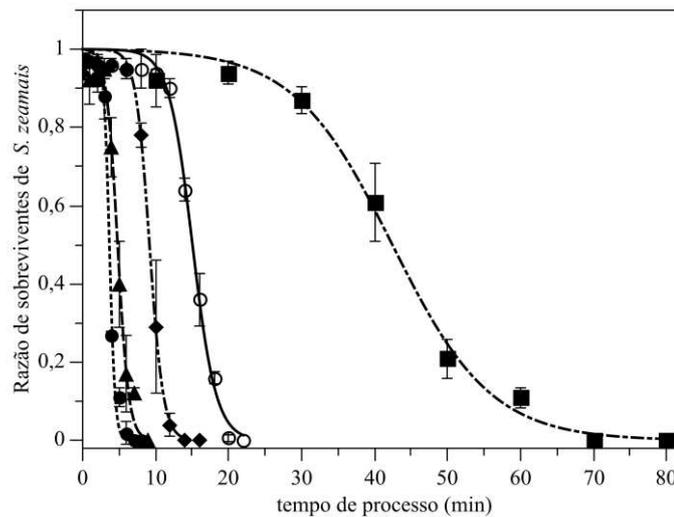
Figura 8: (a) Ajustes dos modelos sigmóides GOM_{aj} (----) e FER (—) aos dados experimentais (▲) e (b) resíduos dos ajustes dos modelos GOM_{aj} (■) e FER (●) na temperatura de referência de 58 °C.



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

O modelo FER apresentou boa concordância com os valores experimentais, com baixos valores de RMSE e resíduos, associados a valores de R_{aj}^2 próximos a 1 ($\geq 0,99$). Na Figura 9 são apresentados os ajustes do modelo FER aos dados experimentais de morte térmica de indivíduos adultos de *S. zeamais* para as temperaturas de 46, 50, 54, 58 e 62 °C.

Figura 9: Ajustes do modelo FER (linhas) aos dados experimentais (símbolos) de morte térmica de *S. zeamais* nas temperaturas de referência de 46 °C (---, ■), 50 °C (—, ○), 54 °C (-.-.-, ◆), 58 °C (-.-, ▲) e 62 °C (....., ●).



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

O modelo proposto descreveu de maneira eficiente o comportamento da morte de insetos adultos de *S. zeamais* sob condições isotérmicas. A utilização de tratamento térmico é efetiva na morte de insetos adultos de pragas de grãos e pode ser uma boa alternativa à desinfestação química. Porém, nota-se que grande parte dos estudos realizados na área são abordados através do aquecimento em blocos metálicos (HBS), simulando situações de aquecimento em água e ar quente ou aquecimento por micro-ondas (GAZIT et al., 2004; HILL, 2002; LI et al., 2015a; TANG et al., 2000, 2007; WANG et al., 2002a, 2002b; YAN et al., 2014). Desta forma, uma análise do comportamento destes insetos submetidos a tratamentos de aquecimento seletivo faz-se necessária para mais esclarecimentos.

Hou, Wu e Wang (2019) avaliaram a cinética de morte térmica dos besouros *Cryptolestes pusillus* e *T. confusum* em HBS, com taxa de aquecimento de 5 °C min^{-1} em faixa de temperatura entre 46 °C e 54 °C. Os autores obtiveram comportamento linear de morte dos insetos. A mortalidade total dos indivíduos a 46 °C foi observada no tempo de tratamento igual a 166,3 min para *C. pusillus* e de 67,9 min para *T. confusum*.

Os modelos ajustados aos dados experimentais estimaram parâmetros de morte térmica para as cinéticas avaliadas. Os valores dos parâmetros e os respectivos intervalos de confiança (95%) são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7: Valores dos parâmetros α (fator de forma), β (tempo característico), k (velocidade de morte), t_M (tempo em que k é máxima), k_{max} (velocidade máxima de morte), t_L (tempo em que a população inicial foi reduzida à metade), obtidos pelo ajuste dos modelos WBL, GOM_{aj} e FER aos dados experimentais de morte térmica de *S. zeamais* em condições isotérmicas.

T (°C)	WBL		GOM _{aj}		FER	
	α	β (min)	k (min ⁻¹)	t_M (min)	k_{max} (min ⁻¹)	t_L (min)
46	4,26	46,57	0,11	38,35	0,15	42,53
	(3,07; 5,45)	(44,25; 48,89)	(0,07; 0,14)	(35,93; 40,78)	(0,11; 0,18)	(40,69; 44,37)
50	6,27	16,08	0,45	14,03	0,62	15,05
	(5,00; 7,54)	(15,67; 16,49)	(0,34; 0,56)	(13,58; 14,48)	(0,49; 0,74)	(14,68; 15,42)
54	6,79	9,72	0,78	8,54	1,06	9,15
	(4,80; 8,77)	(9,40; 10,03)	(0,55; 1,01)	(8,22; 8,86)	(0,79; 1,34)	(8,85; 9,44)
58	4,14	5,27	0,94	4,32	1,30	4,80
	(3,04; 5,23)	(5,02; 5,53)	(0,74; 1,14)	(4,12; 4,51)	(1,00; 1,60)	(4,60; 5,00)
62	7,63	3,87	1,76	3,40	2,56	3,68
	(4,11; 11,16)	(3,71; 4,03)	(1,31; 12,21)	(3,26; 3,54)	(1,71; 3,41)	(3,51; 3,83)

*Intervalos de confiança (95%) estão apresentados entre parênteses.

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

A partir da análise dos parâmetros apresentados na Tabela 7, pode-se afirmar que a temperatura possui grande influência no tempo de redução da população de insetos vivos, pois um aumento de 8 °C (de 46 °C para 58 °C) reduziu o tempo de morte de metade da população inicial (t_L) de 42,5 min para aproximadamente 9 min. E um aumento de 54 °C para 62 °C na temperatura de tratamento reduziu 60% deste tempo (t_L).

Estudos de morte térmica de insetos adultos da mesma espécie submetidos a aquecimento elétrico em bloco metálico, sem circulação de ar, obtiveram períodos para redução da população à metade iguais a 90 min para temperatura de tratamento de 46 °C (LI et al., 2015a). No mesmo estudo, há uma redução de 60% no tempo necessário para morte de metade da população, quando a temperatura é elevada de 48 °C para 50 °C. Estudos realizados com inseto-praga de arroz (*S. oryzae*) apresentaram eliminação de metade da população de indivíduos adultos em

23 min durante o tratamento a 46°C em blocos metálicos aquecidos sem circulação de ar (YAN et al., 2014).

A velocidade máxima de morte também é influenciada pela temperatura, k_{max} é maior em temperaturas mais elevadas. O valor de k_{max} quase dobrou quando a temperatura de tratamento passou de 58 °C para 62 °C. Estudos de morte térmica de insetos-praga adultos de milho e arroz, em blocos metálicos aquecidos, apresentaram comportamento linear ao longo do tempo, caracterizando assim uma velocidade de morte térmica (k) constante (LI et al., 2015a; YAN et al., 2014). Os autores obtiveram valores de k para *S. zeamais* e *S. oryzae* iguais a 0,0061 e 0,0169 min⁻¹ para temperatura de tratamento de 46 °C e iguais a 0,0635 e 0,2598 min⁻¹ para 50 °C, respectivamente.

O aumento da temperatura do ar resulta em processos mais eficientes na eliminação de insetos adultos de *S. zeamais*, com elevadas taxas de morte térmica e fases de atraso curtas. Porém, cabe ressaltar que tratamentos térmicos reduzem a qualidade dos alimentos e que o binômio tempo-temperatura é fundamental na manutenção das características físico-químicas e nutricionais do produto.

3.1.3.4.2 Modelos secundários

Na Tabela 8 são apresentados os parâmetros dos modelos que descrevem a velocidade máxima de morte térmica (k_{max}) e o tempo necessário para a mortalidade de 50% da população (t_L) em função da temperatura.

Tabela 8: Coeficientes do modelo secundário para *S. zeamais* baseados no modelo FER.

Modelo	Parâmetros do modelo cinético	Coeficientes do modelo secundário*		Índices estatísticos	
		<i>a</i>	<i>b</i>	R_{aj}^2	RMSE
Racional	k_{max}	-0,337 (-0,817; 0,144)	20,25 (-5,791; 46,3)	0,499	1,366 (min ^{-1/2})
	t_L	0,016 (0,013; 0,020)	-0,752 (-0,962; -0,542)	0,979	0,015 (min)
Tipo Arrhenius	k_{max}	2032,0 (-6034,0; 1,01 10 ⁴)	415,20 (179,10; 651,20)	0,937	0,480 (min ^{-1/2})
	t_L	1,42 10 ⁻⁴ (4,86 10 ⁻⁴ ; 7,71 10 ⁻⁴)	-584,30 (-792,10; -376,40)	0,979	2,305 (min)
Raiz quadrada	k_{max}	0,071 (0,041; 0,100)	39,95 (33,66; 46,24)	0,934	0,115 (min ^{-1/2})
	t_L	O modelo não ajustou aos dados experimentais			

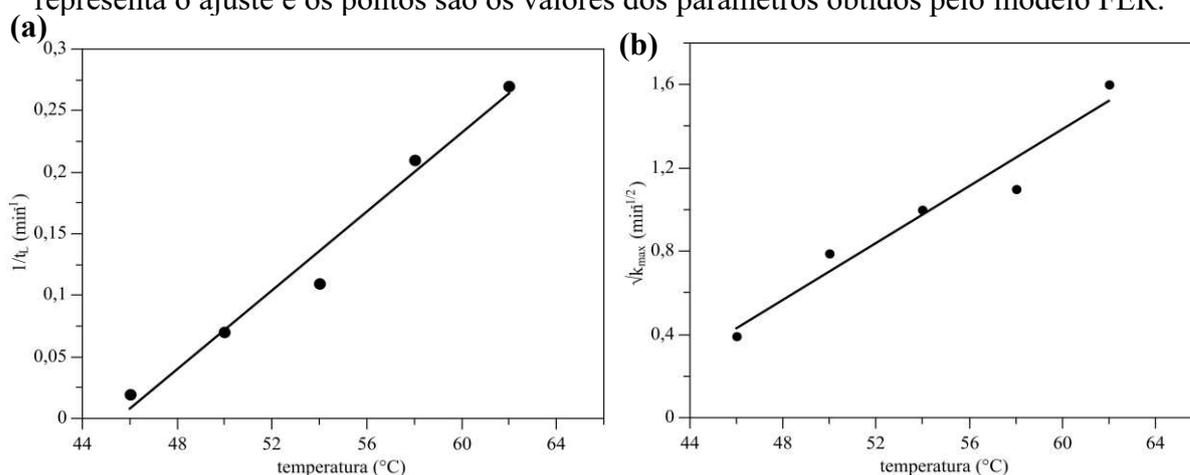
*Intervalos de confiança (95%) estão apresentados entre parênteses.

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

A partir do modelo FER, obtido para descrever o comportamento da morte térmica de insetos adultos de *S. zeamais* sob diferentes condições isotérmicas, foram ajustados modelos secundários que retratam a mudança nos valores dos parâmetros do modelo FER com a variação da temperatura de tratamento. Os modelos da raiz quadrada (Equação (14)) e racional (Equação (15)) mostraram melhor capacidade de representar a influência da temperatura nos parâmetros k_{max} e t_L , respectivamente. Tais ajustes apresentaram valores de $R_{aj}^2 > 0,93$ e $RMSE < 0,12$. Esses ajustes são apresentados na Figura 10.

O ajuste dos modelos secundários evidencia a influência da temperatura no comportamento de morte dos insetos, onde um aumento linear na temperatura resultou em um aumento quadrático da velocidade máxima de morte térmica dos insetos (Figura 10b). O mesmo aumento na temperatura do processo resulta em um aumento linear no inverso do tempo no qual a população reduziu à metade ($1/t_L$), na faixa de temperatura de 46 °C a 62 °C (Figura 10a). Li et al. (2015a) e Yan et al. (2014) obtiveram um comportamento exponencial crescente da velocidade de morte térmica constante (k) de insetos-praga com a elevação da temperatura, e ajustaram a equação de Arrhenius para descrever este comportamento. Esta avaliação reforça a influência da temperatura na mortalidade dos insetos.

Figura 10: Influência da temperatura sobre os parâmetros (a) t_L e (b) k_{max} . A linha contínua representa o ajuste e os pontos são os valores dos parâmetros obtidos pelo modelo FER.



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

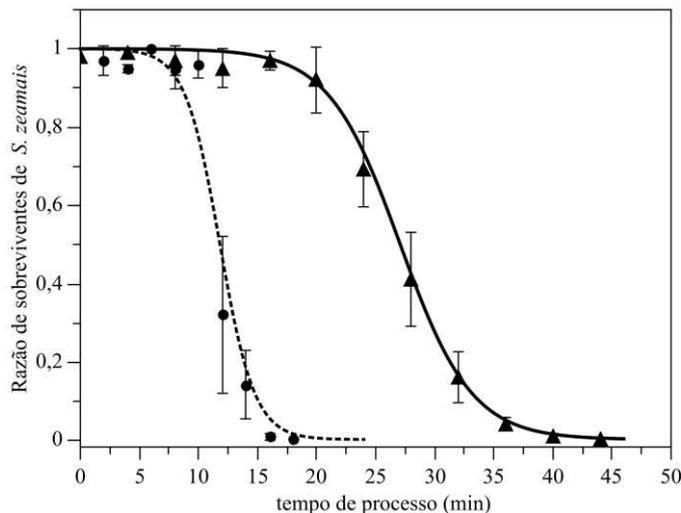
3.1.3.4.3 Validação do Modelo

O modelo de Fermi e os modelos secundários da raiz quadrada e racional foram utilizados para prever o comportamento da morte térmica de *S. zeamais* submetidos ao aquecimento

isotérmico na faixa de temperatura entre 46 °C e 62 °C. Curvas cinéticas experimentais nas temperaturas de referência de 48 °C e 52 °C foram obtidas para validação do modelo preditivo.

Através dos modelos secundários foram obtidos valores para o parâmetro k_{max} iguais a 0,3300 min^{-1} e 0,6782 min^{-1} e para o parâmetro t_L iguais a 27,07 min e 11,81 min para as temperaturas de 48 °C e 52 °C, respectivamente. A predição da cinética de morte pelo modelo FER foi comparada com os dados experimentais (não utilizados para determinar os parâmetros do modelo) e está apresentada na Figura 11.

Figura 11: Curvas cinéticas de morte térmica de *S. zeamais* preditas (linhas) pelos modelos FER e secundários, e validadas com dados experimentais (pontos) nas temperaturas de referência de 48 °C (▲, —) e 52 °C (●, - -).



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

O modelo proposto predisse bem a morte de insetos adultos em ar quente, para a faixa de temperatura de 46 °C a 62 °C. Na Tabela 9 são apresentados os índices estatísticos de comparação entre a predição e os dados experimentais.

Tabela 9: Índices estatísticos da predição de morte de indivíduos adultos de *S. zeamais* por ar quente nas temperaturas de referência de 48 e 52 °C.

Temperatura	Índices estatísticos			
	R^2_{aj}	RMSE	Fator bias	Fator de exatidão
48 °C	0,9967	0,025	1,104	1,106
52 °C	0,9491	0,080	1,297	1,366

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

As temperaturas experimentais médias foram de $48,1 \pm 0,2$ °C e $51,6 \pm 0,2$ °C, e as umidades relativas de $14,9 \pm 0,4\%$ e $13,4 \pm 0,1\%$, durante os tratamentos térmicos por ar quente nas temperaturas de referência de 48 e 52 °C, respectivamente. Os dados experimentais da temperatura ao longo do tratamento estão apresentados no Apêndice B (Figura B - 1).

O modelo apresentou uma excelente capacidade preditiva da morte térmica de insetos adultos de *S. zeamais*, com valores de *RMSE* baixos ($< 0,081$) e bons valores para o coeficiente de determinação ajustado ($> 0,949$). O modelo FER descreveu bem os dados experimentais em condições isotérmicas (modelo primário), e a dependência dos parâmetros com a temperatura foi bem descrita pelas equações da raiz quadrada e racional (modelos secundários).

3.1.4 Conclusão – Estudo 1

O tratamento por ar quente em temperaturas superiores a 46 °C é capaz de eliminar insetos adultos de *S. zeamais* em poucos minutos de processo. A supressão completa dos insetos *S. zeamais* pode ser alcançada submetendo-os a 46 °C por 70 min, 50 °C por 22 min, 54 °C por 14 min, 58 °C por 8 min ou a 62 °C por 7 min.

O modelo do tipo Fermi como modelo primário e as equações da raiz quadrada e racional como modelos secundários são adequados para construir um modelo preditivo para a morte de populações de *S. zeamais* em processos térmicos, na faixa de temperatura entre 46 °C e 62 °C.

Os processos de aquecimento podem ser usados como uma alternativa aos tratamentos de fumigação para matar insetos que infestam grãos. Estudos adicionais são importantes para considerar heterogeneidades de temperatura e condições não-isotérmicas. O modelo preditivo apresentado neste trabalho é ferramenta útil para o projeto destes tratamentos.

Um modelo com boa predição para o comportamento da morte de pragas de grãos é capaz de auxiliar no desenvolvimento de tratamentos térmicos (isotérmicos e não-isotérmicos) para desinfestação de grãos. O desenvolvimento e utilização destes modelos preditivos ainda é escasso na literatura, e é um grande desafio para a área de estudo. Desta maneira, o modelo preditivo proposto neste estudo é uma ferramenta útil para o crescimento da tecnologia e pesquisa na área.

3.2 ESTUDO 2 - ESTUDO DA DESINFESTAÇÃO DE GRÃOS DE MILHO POR AQUECIMENTO EM MICRO-ONDAS – ANÁLISE EXPERIMENTAL E MODELAGEM MATEMÁTICA

3.2.1 Introdução – Estudo 2

Os grãos de cereais têm grande importância econômica e nutricional. São fontes de proteínas, carboidratos, vitaminas e minerais, e importantes na alimentação humana e animal. Além disso, alguns grãos são amplamente utilizados na produção de energia renovável alternativa (CHAKRAVERTY et al., 2003; TANG et al., 2007). O armazenamento de grãos pode ocorrer por meses antes de sua utilização, tornando-os suscetíveis a ataques de pragas, o que provoca redução da qualidade e perdas significativas. A atividade dos insetos causa aquecimento local na massa de grãos e gera gradientes de umidade e temperatura, permitindo o desenvolvimento de fungos, bactérias e o ataque de pragas secundárias (CHAKRAVERTY et al., 2003; GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002). Os danos causados pelos insetos podem resultar em perdas de até 30% dos grãos armazenados (GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002).

Sitophilus zeamais (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae), o gorgulho do milho, é uma das principais pragas de grãos armazenados. Seu principal alvo é o milho, mas também ataca arroz, trigo, cevada, centeio, sorgo, alimentos processados à base de cereais e outros grãos (GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002; LAZZARI; LAZZARI, 2012; LORINI et al., 2015; MASON; MCDONOUGH, 2012). Os insetos *S. zeamais*, diferentes de outros insetos-praga, causam danos ao grão em todos os seus estágios de desenvolvimento (CHAKRAVERTY et al., 2003; GOLOB; FARRELL; ORCHARD, 2002).

O grau de infestação de uma massa de grãos é definido pelo número de insetos vivos por massa amostral (LAZZARI; LAZZARI, 2012). Na comercialização de grãos, quando insetos vivos estão presentes na amostra, os grãos são rejeitados e podem ser submetidos novamente a tratamento efetivo de desinfestação (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 1985; FAO, 1994; HILL, 2002).

Os tratamentos físicos são processos alternativos para o uso de produtos químicos na desinfestação de grãos. Alguns desses métodos são atmosfera modificada, manipulação da pressão e tratamentos térmicos (DAS; KUMAR; SHAH, 2013; KUMAR et al., 2017; MOHAPATRA; KAR; GIRI, 2015). Temperaturas extremas ($< 0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ou $> 80\text{ }^{\circ}\text{C}$) podem ser

letais para os insetos em todas as fases da vida, mas também podem afetar a qualidade físico-química dos grãos. Temperaturas brandas, entre 40 °C e 70 °C, podem ser letais para muitos insetos, mas são dependentes das espécies, estágio de vida e condições do ambiente (umidade relativa, temperatura, tipo de grão) (BEN-LALLI et al., 2013; FIELDS, 1992; GALLO, 2002).

Alguns estudos avaliaram a desinfestação de insetos-praga por tratamento térmico, englobando aquecimento de grãos com água quente, ar quente, irradiação por micro-ondas, radiação infravermelha (IR) e radiofrequência (RF), bem como a eficácia desses tratamentos foram investigados (BEN-LALLI et al., 2013; GAZIT et al., 2004; HOU; LING; WANG, 2014; HUANG; CHEN; WANG, 2015; JONES; WADDELL, 1997; LAY-YEE et al., 1997; LI et al., 2015b; MANICKAVASAGAN et al., 2013; PAN et al., 2008; VERGHESE; NAGARAJU; SREEDEVI, 2011; YANG et al., 2018; ZHOU; WANG, 2016). A maior parte destes estudos descreve o efeito das variáveis do processo na mortalidade dos insetos e na qualidade dos grãos, como teor de umidade, propriedades de moagem, germinação de sementes e qualidade das farinhas (AHMADY; MOUSA; ZAITOUN, 2016; HALVERSON et al., 1996; PUROHIT et al., 2013; VADIVAMBAL et al., 2010; ZHOU et al., 2015). Em todos estes estudos, temperaturas mais altas tendem a aumentar a taxa de mortalidade, reduzindo o tempo de processo e diminuindo a capacidade germinativa das sementes e alguns parâmetros de qualidade do produto.

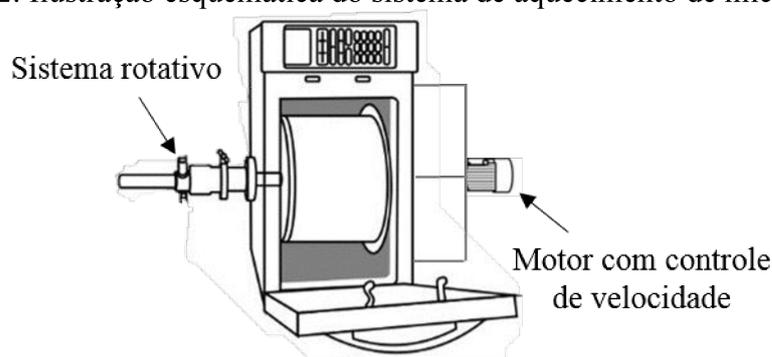
A partir do exposto, o presente estudo tem como objetivo avaliar e ajustar modelos matemáticos que descrevam a cinética de desinfestação de *S. zeamais*, em estágio imaturo (larva de 3º e 4º ínstars – L3 e L4) e adulto (< 21 d), em grãos de milho utilizando o aquecimento por micro-ondas.

3.2.2 Material e Métodos – Estudo 2

3.2.2.1 Aparato experimental

O micro-ondas comercial (LG, modelo – MS4297DIR(A), China) utilizado nos experimentos possui volume interno de 42 L, potência máxima nominal de saída do magnetron de 1200 W e frequência das ondas ao redor de 2450 MHz. Um recipiente cilíndrico de polipropileno foi adaptado dentro do forno, sobre o prato giratório, para permitir a utilização do sistema como um tambor rotativo (MONTEIRO et al., 2015). Uma representação do aparato experimental está apresentada na Figura 12.

Figura 12: Ilustração esquemática do sistema de aquecimento de micro-ondas.



Fonte: adaptado de Monteiro, et al. (2018).

3.2.2.2 Preparação das amostras e condições de desinfestação por micro-ondas

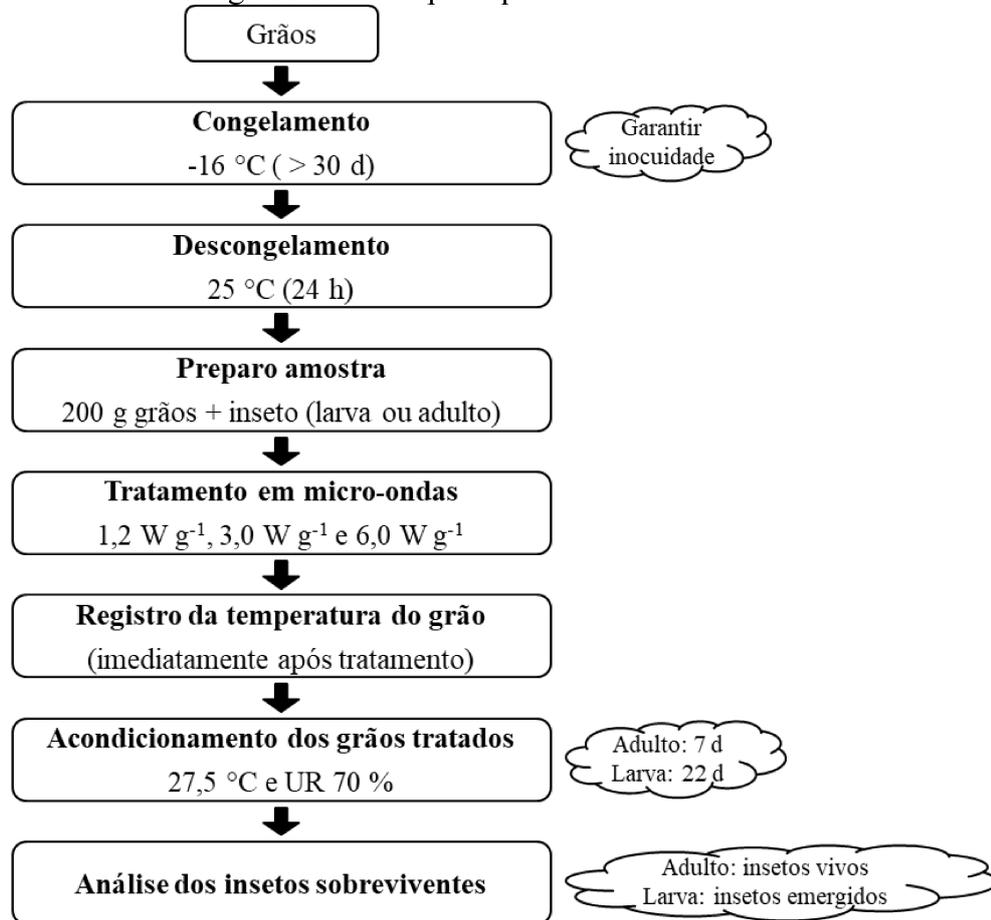
A avaliação da desinfestação de *S. zeamais* em grãos de milho submetidos ao aquecimento por micro-ondas foi realizada no Laboratório de Propriedades Físicas de Alimentos (PROFI), do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). O procedimento experimental descrito neste item foi realizado para os dois estágios de desenvolvimento de *S. zeamais* avaliados no presente estudo: larval tardio (L3 e L4) e inseto adulto. Um esquema do procedimento realizado está apresentado na Figura 13.

Grãos de milho foram adquiridos em mercado local (Florianópolis - SC) e congelados a $-16\text{ }^{\circ}\text{C}$ em freezer doméstico (Consul, modelo – CHA31BBBNA, Brasil) por pelo menos 30 d a fim de garantir a morte ou inativação de qualquer praga que possa estar presente nos mesmos (HALLMAN; DENLINGER, 1998; ZHAO et al., 2007a). Os grãos de milho foram previamente descongelados em dessecador à temperatura ambiente ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 24 h antes de sua utilização nos experimentos.

A infestação dos grãos foi realizada de maneira diferente para cada estágio de desenvolvimento do inseto e a descrição desta etapa será abordada separadamente nos itens subsequentes. Para a realização dos experimentos foi utilizada uma massa de grãos próxima a 200 g. Os recipientes contendo grãos de milho infestados foram inseridos na cavidade do micro-ondas e os tratamentos foram realizados em três densidades de potência nominal distintas ($1,2\text{ }^{\circ}\text{Wg}^{-1}$, $3\text{ }^{\circ}\text{Wg}^{-1}$ e $6\text{ }^{\circ}\text{Wg}^{-1}$), em intervalos de tempo pré-determinados e rotação do tambor de 16 rpm. Imediatamente após o tratamento, a temperatura superficial dos grãos foi aferida com o auxílio de um termômetro de infravermelho (Fluke, 62 max+, EUA). Posteriormente, os grãos de milho infestados e tratados foram transferidos para recipientes plásticos à temperatura

ambiente, com abertura circular (4 cm de diâmetro) na parte superior, coberto por tecido perfurado permitindo a troca gasosa.

Figura 13: Fluxograma das etapas desenvolvidas para a avaliação da desinfestação de *S. zeamais* em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas.



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Os recipientes foram acondicionados em câmara incubadora BOD (Dist, modelo – VB27/28/40/46R, Brasil) na temperatura de 27,5 °C ± 0,7 °C e umidade relativa igual a 70,1% ± 8,9%, condições ideais para o desenvolvimento da espécie (CHAKRAVERTY et al., 2003; HUI, 2006). O tempo de acondicionamento deu-se até o momento da análise dos indivíduos. Cada ponto experimental foi realizado de maneira destrutiva, para posterior análise do comportamento temporal de desinfestação. Amostras-controle foram manejadas da mesma forma e foram rotacionadas no equipamento sem o uso de micro-ondas, durante o tempo máximo de processo do referente tratamento. Os resultados obtidos das amostras-controle foram considerados como tempo de tratamento igual a zero ($t = 0$) nos resultados. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

3.2.2.3 Desinfestação de insetos adultos de *S. zeamais* em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas

A infestação dos grãos foi realizada com a inserção de 40 indivíduos adultos de *S. zeamais*, com até 21 d de vida (após a emergência) e 200 g ($199,8 \text{ g} \pm 0,29 \text{ g}$) de grãos de milho para cada ponto experimental. Os grãos foram tratados termicamente em micro-ondas nas condições de densidade de potência de $1,2 \text{ W g}^{-1}$, $3,0 \text{ W g}^{-1}$ e $6,0 \text{ W g}^{-1}$ nos intervalos de tempo apresentados na Tabela 10. A contagem dos indivíduos vivos foi realizada logo após o experimento e diariamente durante 7 d, em conformidade com a metodologia utilizada por Yan et al. (2014), a mesma utilizada nos tratamentos isotérmicos do presente estudo (Estudo 1).

Tabela 10: Intervalo de tempo entre os pontos experimentais da desinfestação de insetos adultos de *S. zeamais* em aquecimento por micro-ondas.

Densidade de potência	Intervalo de tempo	Tempo total
$1,2 \text{ W g}^{-1}$	30 s	180 s
$3,0 \text{ W g}^{-1}$	10 s	60 s
$6,0 \text{ W g}^{-1}$	5 s	35 s

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

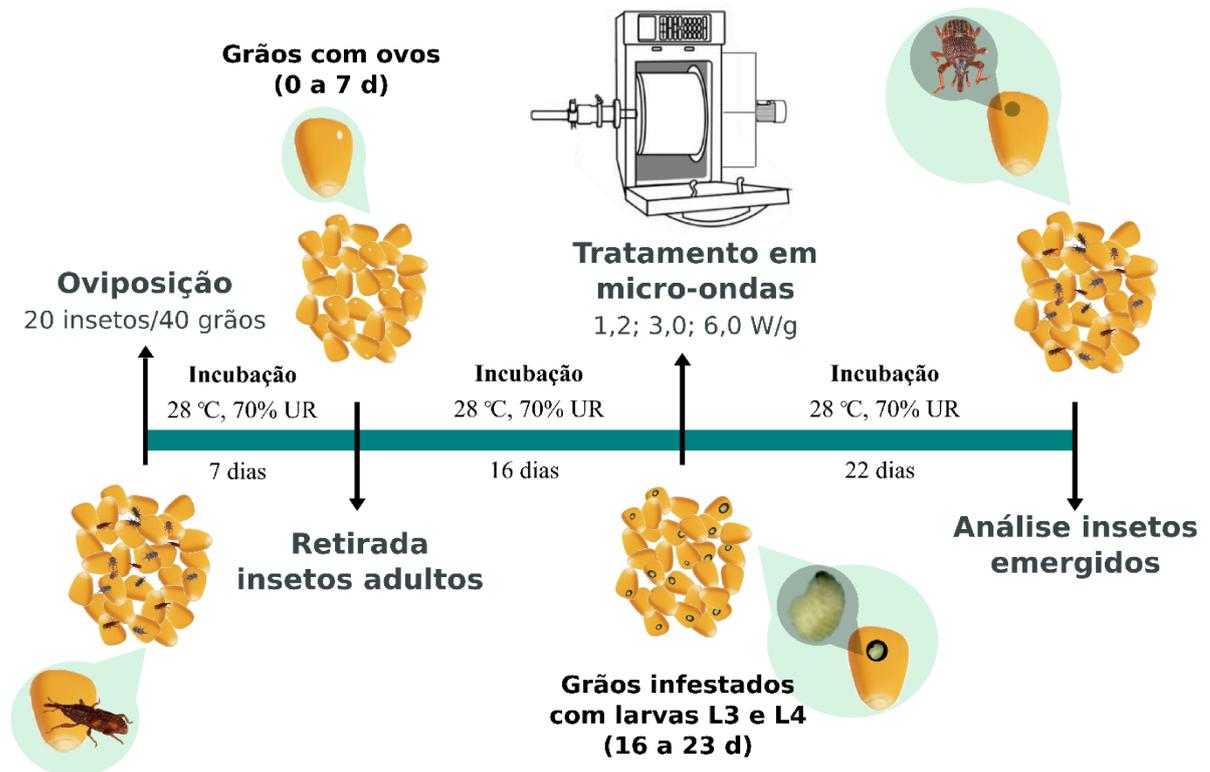
3.2.2.4 Desinfestação de larvas de *S. zeamais* em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas

Um estudo preliminar do ciclo de vida do inseto *S. zeamais* foi realizado nas condições de incubação ($27 \text{ }^\circ\text{C}$ e 70% UR), ideais para o desenvolvimento destes insetos (RITA DEVI et al., 2017; VADIVAMBAL et al., 2010). A partir disto, o experimento foi conduzido na seguinte sequência: oviposição, incubação, tratamento em micro-ondas, incubação e análise. Um esquema destes experimentos está apresentado na Figura 14.

A obtenção dos grãos de milho infestados foi elaborada através da oviposição. Para tal, 20 insetos adultos com até 21 d selecionados aleatoriamente foram colocados juntamente com 40 grãos de milho em recipiente com abertura circular permitindo a troca gasosa. As amostras foram acondicionadas em câmara incubadora BOD (Dist, modelo – VB27/28/40/46R, Brasil), a $27,5 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,7 \text{ }^\circ\text{C}$ e UR de $70,1\% \pm 8,9\%$ por 7 d. Posteriormente, os insetos adultos foram retirados e os grãos de milho ovipositados foram agrupados, para formação de um lote, e

condicionados em BOD por mais 16 d, período necessário para que os insetos atingissem estágio larval de 3° (L3) ou 4° (L4) ínstar.

Figura 14: Esquema representativo das etapas realizadas no tratamento de desinfestação de grãos de milho infestados com larvas tardias (L3 e L4) de *S. zeamais* por aquecimento em micro-ondas.



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

A quantidade de grãos infestados foi determinada em estudos preliminares através da realização de experimentos. Estimou-se que a oviposição ocorreria em cerca de 50% dos grãos e que os ovos viáveis ao desenvolvimento seriam apenas 25% dos grãos ovipositados, e que cada grão desenvolveria apenas um inseto. As estimativas foram baixas para garantir a emergência de no mínimo 40 insetos por ponto experimental.

Para o tratamento em micro-ondas, 320 grãos de milho infestados com estágio larval tardio (L3 e L4) foram colocados em recipientes de polipropileno, e a massa total de 200 g (199,96 g \pm 0,13 g) de grãos foi completada com milhos previamente descongelados (25 °C/24 h) e livre de pragas. Os recipientes contendo os grãos infestados com larvas de *S. zeamais* foram então tratados em micro-ondas nas condições de densidade de potência de 1,2 W g⁻¹, 3,0 W g⁻¹ e 6,0 W g⁻¹ nos intervalos de tempo apresentados na Tabela 11. Após o tratamento e aferição da temperatura, os grãos tratados foram transferidos para recipientes de

polipropileno à temperatura ambiente e novamente incubados em BOD por mais 22 d. Este período de incubação foi definido com base em estudos preliminares da emergência dos insetos adultos a partir da oviposição realizada, garantindo que todos os ovos viáveis se desenvolvessem e os insetos emergissem dos grãos. Após este período a contagem do número de indivíduos adultos emergidos foi realizada. O tempo total para realização de um experimento foi de 45 d.

Tabela 11: Intervalo de tempo entre os pontos experimentais da desinfestação de larvas de *S. zeamais* por aquecimento em micro-ondas em cada condição de densidade de potência.

Densidade de potência	Intervalo de tempo	Tempo total
1,2 W g ⁻¹	20 s	120 s
3,0 W g ⁻¹	10 s	50 s
6,0 W g ⁻¹	5 s	35 s

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

3.2.2.5 Determinação da umidade dos grãos

A umidade em base seca, X_{bs} (g g⁻¹), do grão de milho foi aferida em estufa à temperatura de 105 °C por 24 h (MAPA, 2009), e calculada através da Equação (20).

$$X_{bs} = \frac{m_w}{m_{ss}} \quad (20)$$

em que m_w (g) é a massa de água presente na amostra e removida na estufa e m_{ss} (g) é a massa de sólidos secos da amostra.

A umidade dos grãos foi avaliada antes e após a desinfestação total dos grãos por aquecimento em micro-ondas a 1,2 W g⁻¹, 3,0 W g⁻¹ e 6,0 W g⁻¹. Os resultados da triplicata das análises foram avaliados estatisticamente através do teste de Tukey a nível de significância 99%, com o auxílio do *software* R, versão 3.6.0 (The R Foundation for Statistical Computing).

3.2.2.6 Modelagem matemática da desinfestação de *S. zeamais* em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas

O processo de desinfestação dos grãos de milho por micro-ondas ocorre em condições não-isotérmicas, portanto as curvas de desinfestação foram representadas por modelos

logísticos considerando a probabilidade de sobrevivência dos insetos quando uma massa de grãos infestados é submetida ao aquecimento seletivo por micro-ondas. Os modelos de probabilidade são utilizados geralmente quando o resultado de interesse é dicotômico, ou seja, possui apenas dois resultados possíveis. No presente trabalho as variáveis resposta são: sobrevivência ou morte dos insetos submetidos ao tratamento. A probabilidade está relacionada a possíveis variáveis predictoras por alguma função matemática utilizando técnicas de regressão. Desta maneira, a equação de regressão está geralmente relacionada às probabilidades de log ou logit do resultado de interesse (MCKELLAR; LU, 2004; MONTGOMERY, 2012; TANG et al., 2007). A função logit, utilizada para descrever os dados de desinfestação em micro-ondas, está representada na Equação (21).

$$\text{logit}(P_i) = \ln \left[\frac{P_i}{1 - P_i} \right] = Z \quad (21)$$

em que P_i é a probabilidade do resultado de interesse. E sua expressão pode ser representada como alguma função Z , que descreve os efeitos das variáveis independentes (MCKELLAR; LU, 2004; TANG et al., 2007). Desta maneira, podemos representar a Equação (21) como:

$$\frac{1}{1 + \exp(-Z)} = P_i \quad (22)$$

A regressão logística utilizada para descrever a desinfestação de larvas e insetos adultos de *S. zeamais* pode ser descrita pela Equação (23)

$$S(x) = \frac{1}{1 + \exp[-(a + bx)]} \quad (23)$$

na qual $S(x)$ representa a probabilidade (P_i) de sobrevivência da população de *S. zeamais* avaliada (razão de sobreviventes ou emergidos). A expressão $(a + bx)$ foi utilizada para descrever a função Z , considerando a simplicidade da equação e sua objetividade em descrever

o processo físico. A probabilidade de sobreviventes foi avaliada para duas variáveis independentes (x): tempo de processo (t) e temperatura dos grãos (T_g).

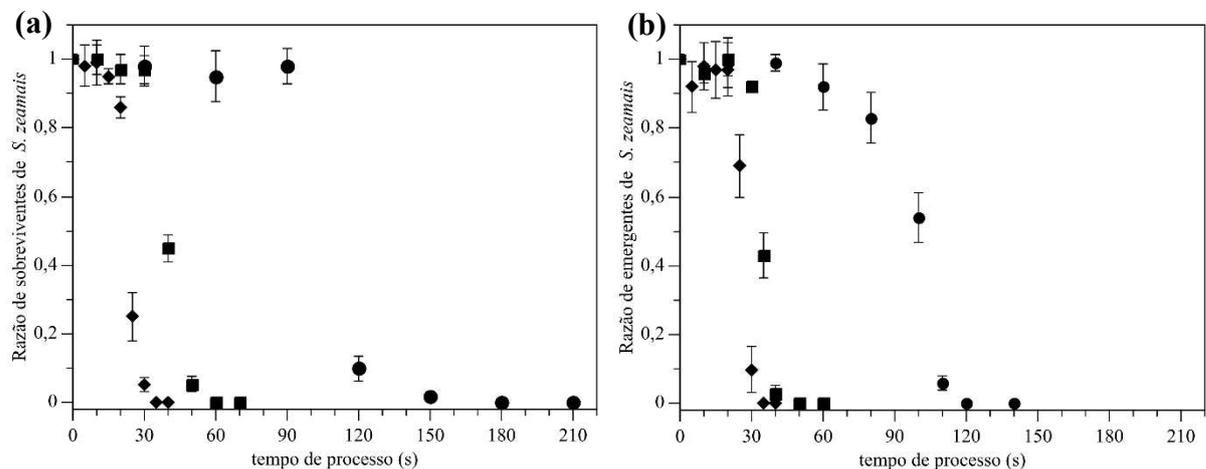
Os índices estatísticos utilizados para analisar o ajuste dos modelos foram R_{aj}^2 , $RMSE$, fator bias e fator de exatidão. Estes índices foram descritos anteriormente no item 3.1.2.3.3.

3.2.3 Resultados e Discussão – Estudo 2

3.2.3.1 Desinfestação de *S. zeamais* nas fases larval e adulta em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas

As cinéticas de desinfestação dos grãos de milho sob aquecimento em micro-ondas são apresentadas na Figura 15. Um comportamento sigmoide é observado ao longo do tempo de processo. Os resultados apresentados para a desinfestação de insetos adultos são referentes ao sétimo dia de análise.

Figura 15: Curva cinética de desinfestação de insetos (a) adultos e (b) larvas de *S. zeamais* em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas nas densidades de potência nominais de (●) 1,2 W g⁻¹, (■) 3,0 W g⁻¹ e (◆) 6,0 W g⁻¹.



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

O início do processo é marcado pela manutenção da população inicial (fase de atraso), seguido de uma redução rápida e atingindo a morte total da população de insetos presentes na massa de grãos. A redução da população de *S. zeamais* em estágio larval foi mais rápida que a de adultos, ou seja, o estágio larval é mais suscetível ao aquecimento em micro-ondas. Vale ressaltar, que um processo de desinfestação deve ser eficiente para todos os estágios de

desenvolvimento da praga alvo. Desta maneira, uma desinfestação em micro-ondas, nas condições avaliadas, quando observada a mortalidade dos insetos adultos, há garantia de mortalidade de larvas tardias (L3 e L4). Estudos para o ovo, larvas de 1° e 2° ínstaes e pupas são importantes para complementação da avaliação.

Os resultados da desinfestação nas 3 condições de densidade de potência avaliadas sugerem que a densidade de $3,0 \text{ W g}^{-1}$ é interessante para este fim, visto que a relação entre o tempo de processo e a densidade de potência é a melhor entre os casos avaliados.

O tempo experimental para a desinfestação completa de milho em micro-ondas está apresentado na Tabela 12. O tempo para desinfestação total da população de insetos adultos em grãos de milho reduziu em 3 vezes quando a densidade de potência aumentou de $1,2 \text{ W g}^{-1}$ para $3,0 \text{ W g}^{-1}$, e reduziu em aproximadamente 5 vezes quando o aumento foi de $1,2 \text{ W g}^{-1}$ para $6,0 \text{ W g}^{-1}$. Para a fase larval o aumento da densidade de potência de $1,2 \text{ W g}^{-1}$ para $3,0 \text{ W g}^{-1}$ também resultou em uma redução de 3 vezes no tempo de processo.

Tabela 12: Tempo de processo necessário para desinfestação completa de insetos *S. zeamais* em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas.

Densidade de potência	Estágio de desenvolvimento	Tempo para desinfestação total
$1,2 \text{ W g}^{-1}$	Adulto	180 s
	Larval	120 s
$3,0 \text{ W g}^{-1}$	Adulto	60 s
	Larval	40 s
$6,0 \text{ W g}^{-1}$	Adulto	35 s
	Larval	35 s

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Purohit et al. (2013) avaliaram a desinfestação de *C. maculatus* em grãos de feijão mungo por aquecimento em micro-ondas industrial. Os autores observaram desinfestação completa dos estágios imaturos (ovo, larva e pupa) e 90% de mortalidade dos indivíduos adultos quando aplicada densidade de potência de 6 W g^{-1} por 42 s. Barbosa et al. (2017) obtiveram desinfestação total de larvas de *C. maculatus* em 50 grãos de feijão-caupi em 120 s de tratamento na potência de 400 W em forno micro-ondas.

A desinfestação de insetos adultos de *Callosobruchus chinensis* L. foi avaliada em grão-de-bico, feijão-mungo e feijão-guandu com tratamento térmico em micro-ondas. A desinfestação total destes grãos ocorreu quando submetidos por 240 s em densidade de potência de $1,4 \text{ W g}^{-1}$ em todos os grãos. Já para a condição de $3,5 \text{ W g}^{-1}$, o tempo de processo necessário para mortalidade total foi de 100 s em grão-de-bico, 90 s em feijão-guandu e 70 s em feijão-

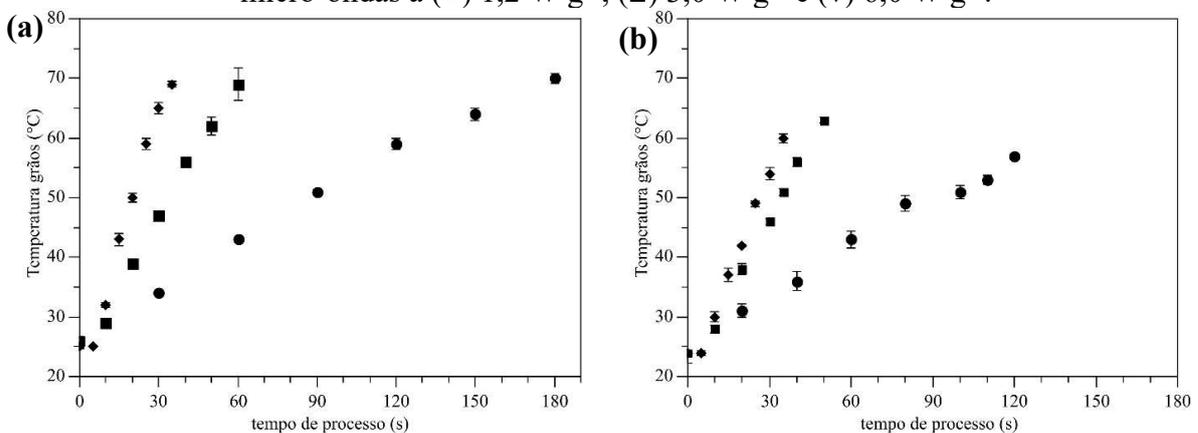
mungo (SINGH; SINGH; KOTWALIWALE, 2012). El-Naggar e Mikhael (2011) avaliaram a desinfestação de larvas e adultos de diferentes insetos-praga em farinha e grãos de trigo utilizando micro-ondas em temperaturas médias constantes, e obtiveram mortalidade total para os dois estágios de desenvolvimento quando *T. confusum* foi submetido por 20 s a 55 °C, *Lasioderma serricorne* por 30 s a 55 °C e *Corcyra cephalonica* por 40 s a 45 °C.

Vadivambal et al. (2010) avaliaram a desinfestação em micro-ondas industrial de 50 g de grãos de milho contendo 10 indivíduos (estágios larval tardio e adulto) de *S. zeamais*. Os autores obtiveram desinfestação total dos grãos quando os grãos foram submetidos por 28 s a 10 W g⁻¹, na qual a temperatura dos grãos atingiu cerca de 63 °C. Além disso, os autores constataram uma mortalidade de 63% da população em estágio larval e de 77% para insetos adultos, quando submetidos ao aquecimento em micro-ondas por 28 s a 6 W g⁻¹. O presente estudo observou uma mortalidade de mais de 90% para os dois estágios de desenvolvimento tratados em micro-ondas por 30 s na mesma condição de densidade de potência (6 W g⁻¹). A desinfestação é consideravelmente maior no presente estudo.

O processo de desinfestação de grãos por micro-ondas avaliado neste estudo, confirma que esta é uma alternativa muito promissora na área, visto que tratamentos de fumigação química levam até 4 semanas para sua completa eficácia. Além disso, o processo avaliado é isento de resíduos químicos.

A temperatura superficial dos grãos registrada durante o processo de desinfestação está apresentada na Figura 16. Nota-se que o aquecimento dos grãos se deu de maneira linear ao longo do tratamento, em todas as condições avaliadas.

Figura 16: Evolução temporal da temperatura superficial dos grãos de milho durante o processo de desinfestação de *S. zeamais* nas fases adulta (a) e larval (b) por aquecimento em micro-ondas a (●) 1,2 W g⁻¹, (■) 3,0 W g⁻¹ e (◆) 6,0 W g⁻¹.



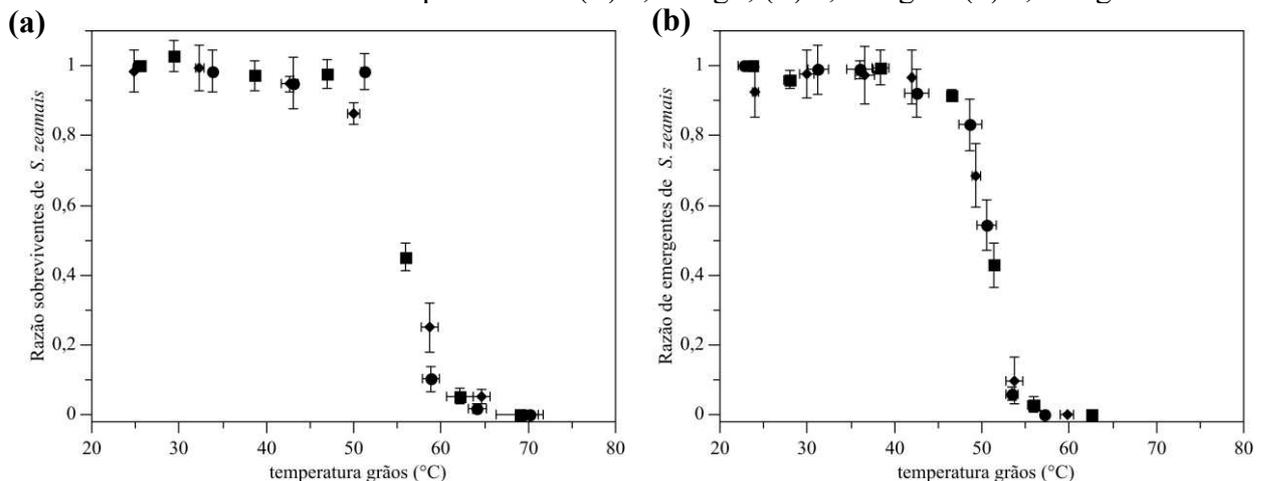
*Dados representados pela média experimental ± desvio padrão.

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

A temperatura dos grãos foi semelhante quando utilizadas as mesmas condições de processo. Na condição de $6,0 \text{ W g}^{-1}$ a taxa de aquecimento para o processo de desinfestação de insetos adultos foi maior que a da larva. Nesta condição de tratamento o tempo de processo para a desinfestação dos dois estágios de desenvolvimento é próximo, ratificando a maior resistência do adulto.

Avaliando os dados de razão de sobreviventes (Figura 15) e temperatura dos grãos (Figura 16), nota-se que a partir do momento que os grãos ultrapassam uma determinada temperatura (temperatura crítica), ocorre a eliminação da maior parte da população de insetos. Esta análise fica mais evidente quando relacionamos a razão de sobreviventes em função da temperatura dos grãos, conforme apresentado na Figura 17.

Figura 17: Curva de desinfestação de insetos (a) adultos e (b) larvas de *S. zeamais* em grãos de milho em função da temperatura superficial dos grãos durante o aquecimento por micro-ondas nas densidades de potência de (●) $1,2 \text{ W g}^{-1}$, (■) $3,0 \text{ W g}^{-1}$ e (◆) $6,0 \text{ W g}^{-1}$.



*Dados representados pela média experimental \pm desvio padrão.

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

A temperatura crítica observada para a mortalidade nas fases adulta e larval foram de aproximadamente $60 \text{ }^\circ\text{C}$ e $55 \text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente. A probabilidade de haver insetos sobreviventes em temperaturas superiores à crítica é inferior a 0,06. A desinfestação de grãos de milho por aquecimento em micro-ondas de *S. zeamais* nas fases larval (3° e 4° ínstar) e adulta depende da condição de temperatura e os insetos adultos são mais resistentes ao aquecimento que a fase larval tardia (L3 e L4). Os resultados obtidos são similares aos observados por Vadivambal et al. (2010) em desinfestação de milho em micro-ondas industrial, os autores observaram uma temperatura crítica de morte para os insetos (larva e adulto) igual a $63 \text{ }^\circ\text{C}$ a

10 W g⁻¹ e de 55 °C a 12 W g⁻¹, mas os autores não observaram diferenças significativas na desinfestação dos dois estágios de desenvolvimento. Cabe ressaltar que Vadivambal et al. (2010) avaliaram a mortalidade dos insetos adultos logo após o tratamento térmico, esta metodologia pode ter afetado os resultados de mortalidade dos mesmos, visto que em condições altas de temperatura estes insetos podem entrar em estágio de estivação. Como proteção à altas temperaturas, os insetos cessam suas atividades e movimentos, podendo ser considerados mortos se avaliados apenas seus movimentos, e com o retorno de temperaturas favoráveis eles retomam suas atividades. Este comportamento foi observado durante a execução do presente estudo, tanto nos tratamentos em temperatura controlada (Estudo 1), quanto na desinfestação dos grãos de milho (Estudo 2).

A temperatura máxima atingida nos grãos durante a desinfestação por micro-ondas observada no presente estudo é branda (< 70 °C) e o tempo de tratamento é rápido (< 3 min), sendo estas boas condições para a manutenção da qualidade dos grãos. Ainda assim, um estudo mais aprofundado das possíveis alterações nas características físico-químicas dos grãos é importante.

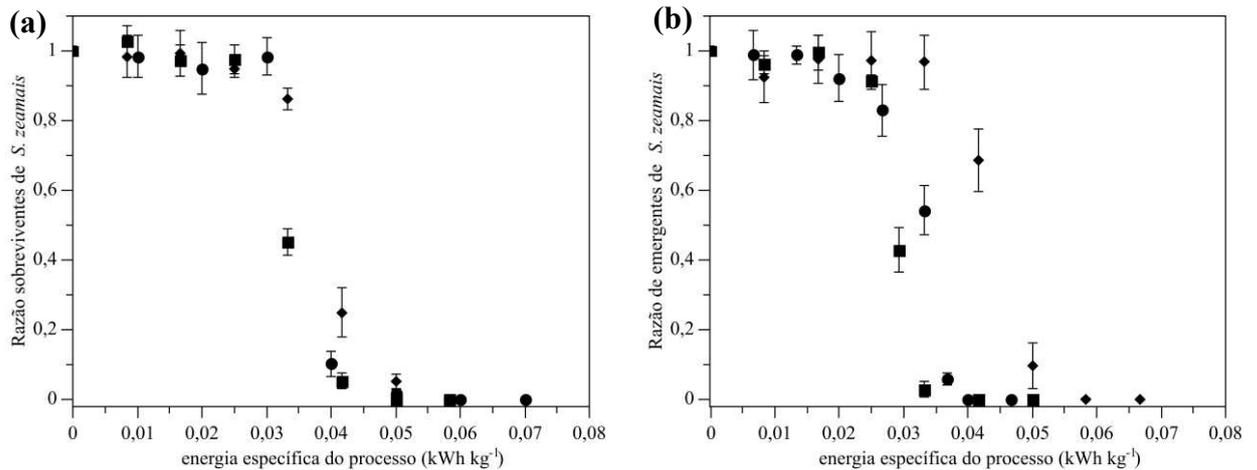
Zhao et al. (2007a) observaram comportamento sigmoide para desinfestação de ovos e adultos de *S. oryzae* em tratamento por micro-ondas. Os autores tiveram resultados similares aos do presente estudo em relação à temperatura crítica de morte de *S. oryzae*, de 55 °C para os adultos e de 54 °C para as larvas. Yu, Shrestha e Baik (2017) observaram a completa desinfestação de *T. castaneum* em sementes de canola em temperaturas superiores a 80 °C, quando 250 g foram aquecidas por radiofrequência (1,5 kW e 27,12 MHz). Os autores também obtiveram um comportamento sigmoide para a desinfestação das sementes em função da temperatura dos grãos. Pei et al. (2018a) obtiveram mortalidade total de *S. zeamais* e *T. castaneum* em arroz quando submetido durante 110 s a 60 °C em aquecimento por infravermelho sob intensidade de 2780 W m⁻² em uma amostra de 100 g de grãos com 50 indivíduos.

Uma análise do consumo de energia pelo processo de desinfestação por micro-ondas foi realizada avaliando o mesmo conjunto de dados em relação à energia específica do processo (Figura 18), que é o consumo de energia por massa de grãos ($\varepsilon = P t/m_g$).

O maior consumo de energia do processo ocorreu na densidade de potência de 6 W g⁻¹ para a desinfestação total dos dois estágios de *S. zeamais* em grãos de milho. O consumo de energia necessário para desinfestação completa dos insetos ficou entre 0,042 - 0,050 kW h kg⁻¹ para os adultos e entre 0,033 - 0,050 kW h kg⁻¹ para as larvas. A melhor condição experimental

avaliada foi a $3,0 \text{ W g}^{-1}$, na qual é necessário um consumo de energia de $0,033 \text{ kWh kg}^{-1}$ para desinfestação total das larvas e de $0,042 \text{ kWh kg}^{-1}$ para os insetos adultos de *S. zeamais*, e com tempo de processo inferior a 1 min.

Figura 18: Energia específica do processo para a desinfestação de (a) insetos adultos e (b) larvas durante aquecimento por micro-ondas em densidades de potência de $1,2 \text{ W g}^{-1}$ (●), $3,0 \text{ W g}^{-1}$ (■) e $6,0 \text{ W g}^{-1}$ (◆).



*Dados representados pela média experimental \pm desvio padrão.

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Zhao et al. (2007a) avaliaram a desinfestação de *S. oryzae* em grãos de arroz em forno micro-ondas industrial em potências entre 9,4 kW e 15,0 kW e observaram que a morte da população de insetos adultos e ovos ocorreu quando o consumo de energia foi igual ou superior a $0,02 \text{ kWh kg}^{-1}$. A capacidade de tratamento do sistema avaliado pelos autores era de 400 kg h^{-1} a 1200 kg h^{-1} . Apesar do consumo de energia menor obtido por Zhao et al. (2007a), é importante ressaltar que a densidade de potência avaliada pelos autores pode variar entre $7,81 \times 10^{-3} \text{ W g}^{-1}$ e $0,0375 \text{ W g}^{-1}$, e como observado no presente estudo, menores densidades de potência tendem a resultar em menores consumos de energia.

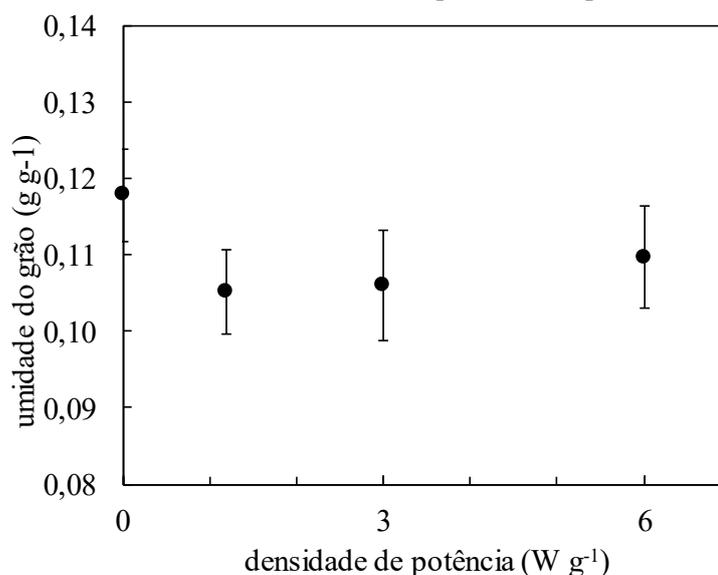
3.2.3.2 Umidade dos grãos

A umidade dos grãos foi avaliada após a desinfestação total dos dois estágios de desenvolvimento do inseto. A variação da umidade em relação à densidade de potência usada no processo está apresentada na Figura 19.

Observa-se uma pequena tendência à redução da umidade do grão após a desinfestação em todos os casos avaliados. Porém essa redução de umidade não ultrapassou $0,013 \text{ g g}^{-1}$. A

manutenção da umidade do grão após a desinfestação em micro-ondas é pertinente. Com o tratamento estudado garante-se a desinfestação da massa de grãos sem alteração significativa em sua umidade ($p > 0,01$). A manutenção da umidade dos grãos durante a desinfestação é conveniente para o processo, pois não altera sua composição centesimal.

Figura 19: Umidade (bs) do grão avaliada antes e após o processo de desinfestação total de indivíduos adultos de *S. zeamais* em aquecimento por micro-ondas.



*A umidade do grão na densidade de potência $\varepsilon = 0$ representa a umidade dos grãos antes dos tratamentos.

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Zhou e Wang (2016) avaliaram a mortalidade de *S. oryzae* em arroz em tratamento por radiofrequência, e também não obtiveram diferença significativa ($p > 0,05$) entre as umidades dos grãos antes e após 6 min de tratamento a 50 °C (27,12 MHz e 6 kW). Já Zhao et al. (2007b) obtiveram uma diferença significativa (95%) na umidade de grãos de arroz tratados termicamente em micro-ondas (2450 MHz, 15 kW). Vadivambal, Jayas e White (2007) observaram uma perda de cerca de 2% de umidade em grãos de trigo durante a desinfestação de *T. castaneum*, *C. ferrugineus* e *S. granarius* por aquecimento em micro-ondas durante 28 s a 10 W g⁻¹.

3.2.3.3 Modelagem matemática da desinfestação de grãos de milho infestados com *S. zeamais* por aquecimento em micro-ondas

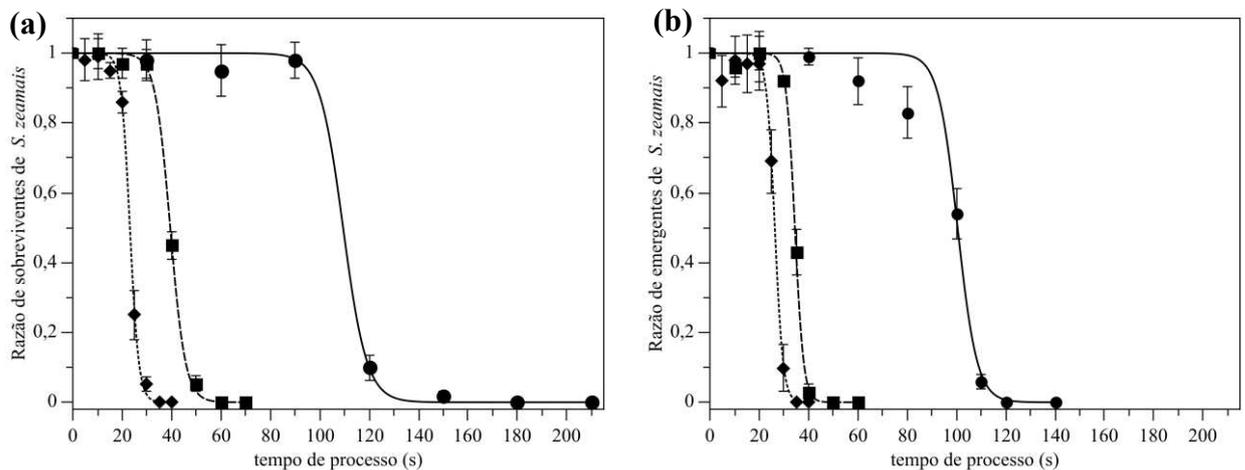
O modelo logístico (Equação (23)) foi ajustado para a descrição das curvas de cinéticas de desinfestação de larvas e adultos de *S. zeamais* em grãos de milho por aquecimento em

micro-ondas e em função da temperatura dos grãos, nas condições de densidade de potência de $1,2 \text{ W g}^{-1}$, $3,0 \text{ W g}^{-1}$ e $6,0 \text{ W g}^{-1}$.

3.2.3.3.1 Modelagem matemática da cinética de desinfestação de grãos de milho em aquecimento por micro-ondas

O modelo ajustado e os dados experimentais estão apresentados na Figura 20 para os dois estágios de desenvolvimento do inseto *S. zeamais*. O modelo logístico apresentou boa concordância com os dados experimentais, descrevendo todas as etapas de redução das populações larval e adulta durante o tratamento de desinfestação em micro-ondas. Na condição de $1,2 \text{ W g}^{-1}$ o modelo logístico não descreveu fielmente o início da supressão da população em estágio larval (Figura 20b), mas nesta condição o modelo estimou a manutenção da população por um tempo de processo maior, ou seja, o modelo está na zona de segurança, garantindo uma boa utilização do mesmo.

Figura 20: Ajuste do modelo logístico aos dados experimentais da desinfestação das fases de desenvolvimento (a) adulta e (b) larval de *S. zeamais* em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas nas densidades de potência de $1,2 \text{ W g}^{-1}$ (●, —), $3,0 \text{ W g}^{-1}$ (■, - -) e $6,0 \text{ W g}^{-1}$ (◆,).



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Os parâmetros do modelo logístico e os índices estatísticos estão apresentados na Tabela 13. Os ajustes apresentaram valores de $R_{aj}^2 > 0,99$ e $RMSE < 0,04$ para todos os casos avaliados. O parâmetro b apresentou uma redução no seu valor quando houve aumento da densidade de potência do processo nos dois estágios de desenvolvimento.

Tabela 13: Parâmetros e valores dos índices estatísticos do modelo logístico ajustado aos dados experimentais de desinfestação de *S. zeamais* em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas.

Densidade de potência	Estágio de desenvolvimento	Parâmetros*		Índices estatísticos			
		a	b	R ² _{aj}	RMSE	Fator bias	Fator exatidão
1,2 W g ⁻¹	Adulto	22,80 (9,21; 36,40)	-0,208 (-0,322; -0,094)	0,9980	0,023	0,585	1,739
	Larval	44,83 (31,19; 58,47)	-0,886 (-1,157; -0,615)	0,9933	0,035	1,042	1,054
3,0 W g ⁻¹	Adulto	12,91 (9,21; 16,62)	-0,327 (-0,420; -0,234)	0,9984	0,019	0,934	1,081
	Larval	29,62 (22,75; 36,50)	-0,583 (-0,717; -0,448)	0,9980	0,020	1,081	1,085
6,0 W g ⁻¹	Adulto	12,90 (10,75; 15,06)	-0,558 (-0,650; -0,467)	0,9980	0,021	0,912	1,121
	Larval	34,20 (22,14; 46,26)	-0,667 (-0,918; -0,436)	0,9925	0,036	1,027	1,027

*Intervalos de confiança estão apresentados entre parênteses.

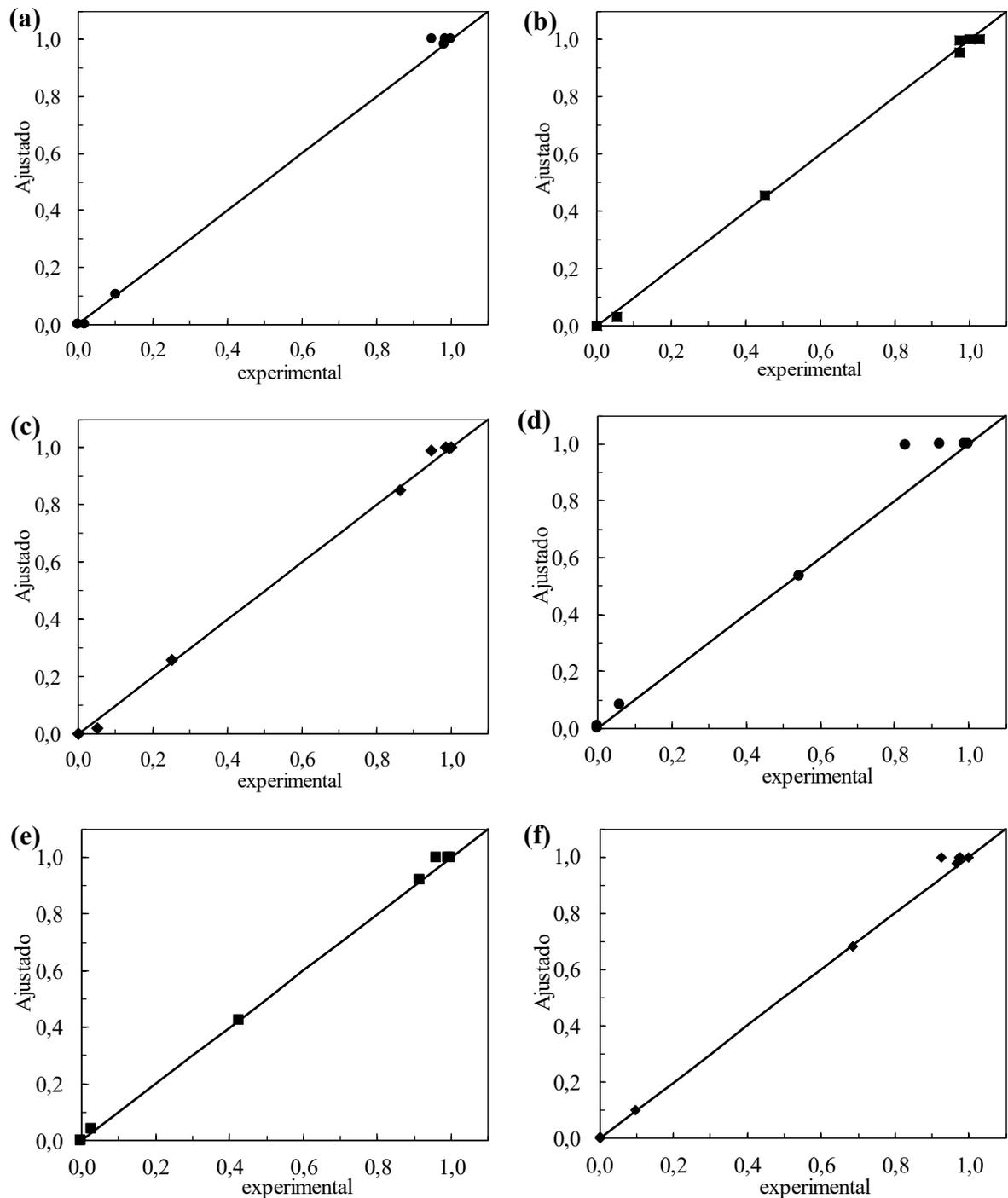
Fonte: Elaborada pela autora (2020).

O parâmetro *a* do modelo logístico é maior para o processo de desinfestação da larva e o parâmetro *b* é negativo para os dois estágios de desenvolvimento, representando a declividade da curva. Valores maiores em módulo, porém negativos, foram observados para *b*, indicando que a desinfestação ocorre de maneira mais drástica a partir do início da redução da população.

Os dados experimentais e ajustados foram representados graficamente e estão apresentados na Figura 21.

O modelo aplicado para descrever a desinfestação de milho com estágio larval e adulto de *S. zeamais* apresentou boa concordância com os dados experimentais, na qual os pontos estão próximos da linha de igualdade. Na Figura 21 d, é notável a diferença entre os dados ajustados e experimentais no início da redução da população de larvas discutidos e avaliados anteriormente (Figura 20). Os resíduos dos ajustes do modelo estão apresentados no Apêndice E (Figura E - 1), ao final deste documento.

Figura 21: Comparação entre os dados experimentais e ajustados para a desinfestação da fase adulta (a, b, c) e larval (d, e, f) de *S. zeamais* em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas a $1,2 \text{ W g}^{-1}$ (●), $3,0 \text{ W g}^{-1}$ (■) e $6,0 \text{ W g}^{-1}$ (◆).



*A linha contínua (—) refere-se à função onde valor ajustado é igual ao experimental ($y = x$).

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Ben-Lalli et al. (2013) descreveram um modelo de transferência de calor acoplado à mortalidade de *E. kuehniella* para desinfestação de tâmaras em aquecimento por ar quente e obtiveram boa concordância com os dados experimentais. Os autores propuseram um modelo

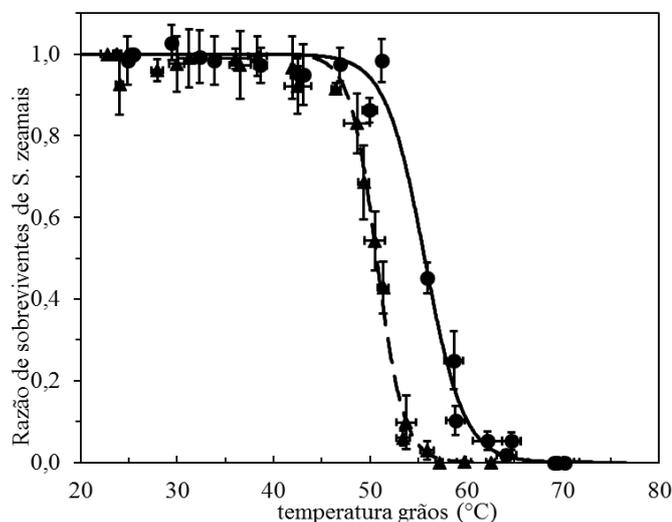
que engloba o aquecimento por convecção e micro-ondas, utilizando modelo de morte térmica para inseto sugerido por Ben-Lalli et al. (2011), similar ao modelo proposto no Estudo 1 do presente trabalho.

Duangkhamchan et al. (2017) avaliaram a desinfestação de ovos de *S. zeamais* em arroz pelo aquecimento por infravermelho. A cinética de desinfestação apresentou um comportamento exponencial e o modelo melhor ajustado foi uma cinética de reação de ordem 0,5. A desinfestação completa do arroz (50 g de arroz com taxa de infestação de 2 : 5) ocorreu após 3 min a temperatura de 50 °C e após 2 min para as temperaturas de 55 °C e 60 °C.

3.2.3.3.2 Curva de desinfestação de grãos de milho infestados com larvas e adultos de *S. zeamais* em relação a temperatura dos grãos

A avaliação da desinfestação de *S. zeamais* em micro-ondas revelou que a supressão dos indivíduos é totalmente dependente da temperatura e independente das condições de densidade de potência ou histórico tempo – temperatura. Desta maneira, o modelo logístico (Equação (23)) também foi ajustado a todos os dados de desinfestação em função da temperatura ($S(T)$). O ajuste levou em consideração as três condições de densidade de potência conjuntamente, representando a desinfestação em relação à temperatura dos grãos. O modelo ajustado e os dados experimentais estão representados na Figura 22.

Figura 22: Dados experimentais (símbolos) e ajustes do modelo logístico (linhas) para a relação entre a razão de sobreviventes de larvas (\blacktriangle , - - -) e adultos (\bullet , —) de *S. zeamais* e a temperatura dos grãos durante a desinfestação por aquecimento em micro-ondas em todas as condições de densidade de potência avaliadas.



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Um modelo que descreva a redução desta população de pragas em relação à temperatura dos grãos é uma ferramenta muito útil para a avaliação do processo de desinfestação, podendo ser usado para a confirmação da desinfestação no momento do tratamento, garantindo assim a eficiência do processo, ou como um indicador de que os grãos necessitam de reprocesso.

Na Figura 22 é evidenciado que a fase adulta é mais resistente ao aquecimento por micro-ondas que o estágio larval tardio (L3 e L4). O inseto adulto pode utilizar de mecanismos de defesa comportamentais e fisiológicos podendo contornar ou minimizar possíveis lesões resultantes do aquecimento (GALLO, 2002; HALLMAN; DENLINGER, 1998). Além disso, a estrutura da larva é mais sensível que o exoesqueleto do inseto adulto. Por outro lado, devemos levar em consideração o aquecimento seletivo dos insetos nas diferentes fases de desenvolvimento. A estrutura e a composição dessas duas fases são muito distintas, o que pode resultar em uma taxa de aquecimento diferente para estes dois estágios quando submetidos a aquecimento seletivo como as micro-ondas. Portanto, um estudo mais detalhado das propriedades dielétricas e aquecimento seletivo é interessante para a elucidação das curvas de aquecimento dos insetos nas diferentes fases de seu ciclo de desenvolvimento.

Alguns estudos avaliaram as propriedades dielétricas de insetos-praga e de grãos, frutas e vegetais e outros deles também simularam o comportamento da temperatura de insetos em diferentes amostras quando submetidos à aquecimentos seletivos como micro-ondas, radiofrequência e infravermelho (HUANG; CHEN; WANG, 2015; NELSON, 2001, 2015; NELSON; TRABELSI, 2011; WANG et al., 2003; YAN et al., 2016; YU; SHRESTHA; BAIK, 2019). Os resultados mostram que a taxa de aquecimento em insetos pode ser 1,5 vezes maior que o alimento. O modelo desenvolvido no presente estudo complementa a literatura e poderá auxiliar em análises mais rápidas e eficazes do aquecimento e desinfestação por tratamentos térmicos em diferentes processos e alimentos.

Zhao et al. (2007a) avaliaram a mortalidade de ovos e adultos de *S. oryzae* em arroz submetidos ao aquecimento por micro-ondas e observaram que os ovos são mais suscetíveis ao tratamento que os insetos adultos. Os autores também observaram um comportamento sigmoide de supressão dos insetos quando avaliados em relação à temperatura de processo.

Diante do exposto, tratamentos térmicos com aquecimento seletivo, como micro-ondas e radiofrequência são alternativas promissoras. Sua utilização é livre de resíduos químicos e permite um aquecimento menor na massa de grãos, atingindo temperaturas críticas de morte

menores para insetos-praga quando comparados a aquecimentos como ar quente, além de resultarem em taxas de aquecimento superiores e em tratamentos mais rápidos.

Os parâmetros e índices estatísticos do ajuste da curva de desinfestação em relação a temperatura dos grãos estão apresentados na Tabela 14. Os ajustes realizados descreveram muito bem os dados experimentais, com valores de R_{aj}^2 superiores a 0,992 e $RMSE$ inferiores a 0,04.

Tabela 14: Parâmetros e valores dos índices estatísticos do modelo logístico ajustado aos dados experimentais de desinfestação de *S. zeamais* em função da temperatura dos grãos de milho, por aquecimento em micro-ondas.

Estágio de desenvolvimento	Parâmetros*		Índices estatísticos			
	a	b	R_{aj}^2	RMSE	Fator bias	Fator exatidão
Adulto	27,42 (21,7; 33,15)	-0,492 (-0,594; -0,391)	0,9922	0,040	0,933	1,154
Larval	36,32 (30,61; 42,03)	-0,7162 (-0,829; -0,604)	0,9929	0,035	1,023	1,082

*Intervalos de confiança estão apresentados entre parênteses.

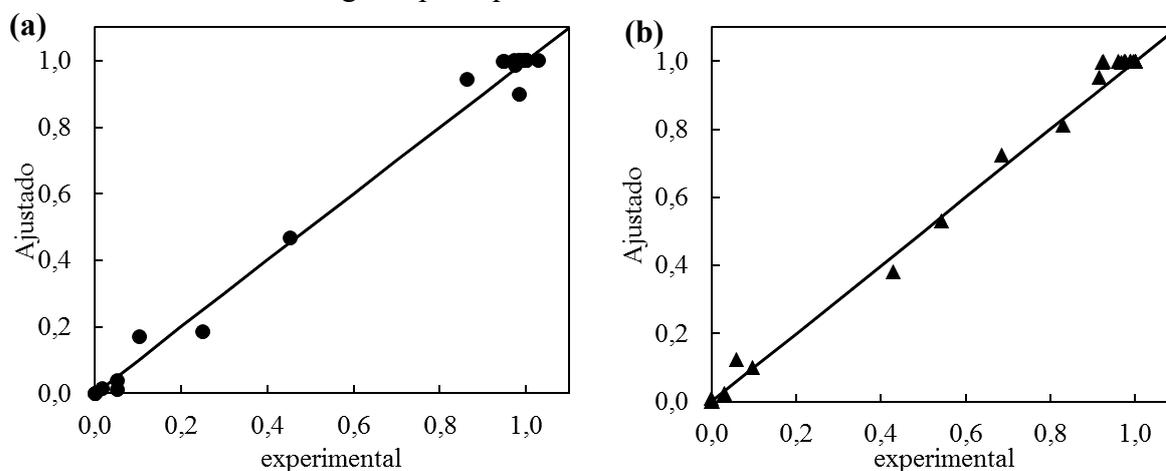
Fonte: Elaborada pela autora (2020).

O parâmetro a apresentou valores menores para a desinfestação do inseto adulto em função da temperatura. Já o parâmetro b foi maior, porém negativo, para as larvas, evidenciando a maior suscetibilidade das larvas ao tratamento térmico avaliado.

A comparação entre os dados ajustados e experimentais são apresentados na Figura 23. Observa-se que os dados ajustados e experimentais estão muito próximos da linha que representa a igualdade deles, demonstrando que o modelo é representativo.

Um modelo em função da temperatura dos grãos, que descreva bem a desinfestação é extremamente útil em tratamentos térmicos para este fim. Modelos como os propostos podem ser utilizados em processos de desinfestação térmica, com elevadas taxas de aquecimento, de maneira integrada com um sistema de aquisição de dados de temperatura. Caso a temperatura de desinfestação não tenha sido atingida, os grãos podem passar por reprocesso imediato, garantindo a mortalidade dos insetos e reduzindo gastos e perdas decorrentes de uma desinfestação incompleta.

Figura 23: Comparação entre os dados experimentais e ajustados para a desinfestação das fases (a) adulta e (b) larval de *S. zeamais* em grãos de milho em função da temperatura dos grãos por aquecimento em micro-ondas.



*A linha contínua (—) refere-se à função onde valor ajustado é igual ao experimental ($y = x$).

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Os resíduos dos ajustes do modelo estão apresentados no Apêndice F (Figura F - 1), ao final deste documento.

3.2.4 Conclusão – Estudo 2

O uso de micro-ondas para o aquecimento por micro-ondas na a desinfestação de milho é capaz de eliminar estágio de desenvolvimento imaturo e adulto de *S. zeamais* em poucos segundos de processo. A mortalidade completa de insetos adultos e larvas neste estudo ocorreu quando os grãos infestados foram submetidos às densidades de potência de: $1,2 \text{ W g}^{-1}$ por 180 s, $3,0 \text{ W g}^{-1}$ por 60 s ou $6,0 \text{ W g}^{-1}$ por 35 s. A desinfestação dos insetos é dependente da temperatura dos grãos atingida durante o processo de aquecimento em forno micro-ondas. E o modelo logístico proposto ajustou-se bem aos dados de desinfestação cinética e em relação à temperatura durante o processo.

O aquecimento em micro-ondas mostrou-se um processo eficiente e efetivo na eliminação de insetos em diferentes estágios de desenvolvimento, sendo um processo alternativo possível ao uso de fumigação química. Os modelos propostos no estudo auxiliam na compreensão do tratamento e na avaliação da eficiência da desinfestação em relação à temperatura dos grãos.

3.3 ESTUDO 3 – AVALIAÇÃO DAS MUDANÇAS BIOQUÍMICAS DOS INSETOS ADULTOS DE *S. ZEAMAI*S DURANTE A DESINFESTAÇÃO POR AQUECIMENTO EM MICRO-ONDAS

3.3.1 Introdução - Estudo 3

Os insetos são organismos poiquilotérmicos, ou seja, não possuem capacidade de regulação da temperatura corporal. Desta maneira, são extremamente vulneráveis à variação de temperaturas. Apesar disso, grande parte dos insetos possuem uma série de respostas comportamentais, fisiológicas e bioquímicas capazes de inibir ou minimizar possíveis lesões provocadas por variação extrema de temperatura. De maneira geral, estes mecanismos são eficientes em curto período de exposição a temperaturas extremas (GALLO, 2002; HALLMAN; DENLINGER, 1998; NEVEN, 2000; TANG et al., 2007).

As respostas comportamentais de defesa a variações de temperatura podem ser desde um mecanismo de resfriamento evaporativo para controle da temperatura corporal, tremores para seu aquecimento e permanência em estágio de estivação, que é uma fase de letargia induzida capaz de reduzir as atividades do organismo para resistir a períodos de temperatura elevada (GALLO, 2002; HALLMAN; DENLINGER, 1998). Além disso, alguns insetos são capazes de sintetizar proteínas que auxiliam na proteção das moléculas, as proteínas de choque térmico (HSP), como resposta ao aquecimento. Estas proteínas são capazes de interagir de maneira reversível com outras proteínas e sua função é auxiliar na síntese, montagem e desdobração das proteínas. Além disso, as HSP facilitam o redobramento de proteínas danificadas termicamente e podem auxiliar na eliminação de proteínas cujos danos não são reparáveis (CASTRO et al., 2013; HALLMAN; DENLINGER, 1998; TANG et al., 2007).

O objetivo do presente estudo foi avaliar mudanças na umidade e na concentração de proteínas totais dos insetos adultos durante um processo de desinfestação térmica eficiente para larvas e adultos de *S. zeamais* utilizando micro-ondas como fonte de aquecimento.

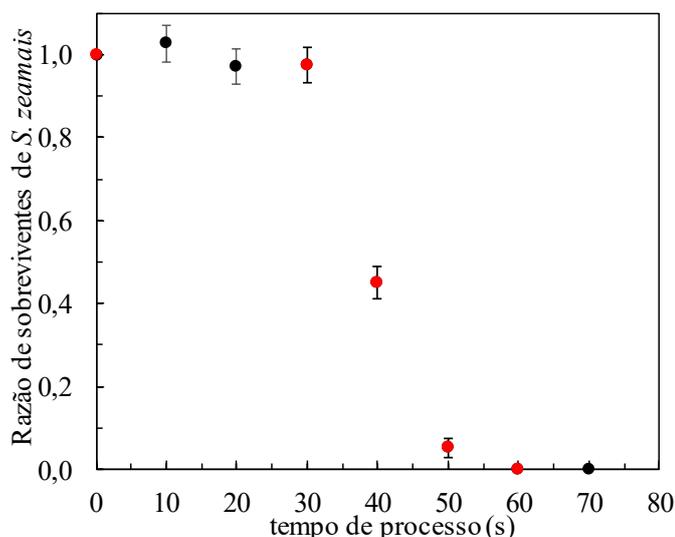
3.3.2 Material e Métodos – Estudo 3

3.3.2.1 Método de Bradford para quantificação de proteínas totais nos insetos S. zeamais submetidos à desinfestação de grãos de milho por aquecimento em micro-ondas

A condição experimental de $3,0 \text{ W g}^{-1}$ foi utilizada para a avaliação das alterações no perfil eletroforético de proteínas totais nos insetos adultos, devido ao seu baixo consumo de energia (menor entre os avaliados) e rápido tempo de processo ($< 1 \text{ min}$).

A desinfestação foi realizada da mesma maneira que a descrita no item 3.2.2.3. Os tempos de tratamento avaliados nesta condição foram: 30 s, 40 s, 50 s, 60 s e não tratados (controle) (em destaque na Figura 24). Os tempos de processo foram selecionados para que representassem os principais eventos observados na cinética de desinfestação. Assim, em $t = 30 \text{ s}$ é o tempo máximo de tratamento onde a população inicial é mantida. O perfil de redução da população também foi avaliado ($t = 40 \text{ s}$ e $t = 50 \text{ s}$) e o tempo de processo onde ocorre mortalidade total da população ($t = 60 \text{ s}$). Insetos sem tratamento ($t = 0$ - controle) foram utilizados como referência na análise.

Figura 24: Cinética de desinfestação de insetos adultos de *S. zeamais* em micro-ondas na densidade de potência de $3,0 \text{ W g}^{-1}$. Nos pontos experimentais em destaque (●) foi realizada a dosagem de proteínas totais dos espécimes adultos.



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

A quantificação de proteínas totais nos insetos adultos foi realizada pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976). Nesta análise, 40 indivíduos foram utilizados em cada condição experimental avaliada. Logo após o tratamento, os indivíduos foram macerados em gelo com $500 \mu\text{L}$ de água mili-Q para extração das proteínas. As amostras foram centrifugadas com auxílio de centrífuga (*Eppendorf*, modelo 5804R, país) a 11000 rpm por 30 min a $4 \text{ }^\circ\text{C}$. O sobrenadante foi retirado para quantificação de proteínas.

A amostra do sobrenadante foi diluída 10 vezes. Uma solução contendo 10 µL da amostra diluída (diluição 10x), 15 µL de água mili-Q e 250 µL de reagente de Bradford foi utilizada para a leitura da quantidade de proteínas totais presentes nas amostras. A curva padrão foi construída com albumina de soro bovino (BSA) para determinação de proteínas na faixa entre 0 µg e 20 µg de proteína.

As leituras de absorvância foram realizadas com o auxílio de leitor de absorvância TECAN (Infinite pro, EUA) em comprimento de onda de 595 nm. A concentração de proteínas foi calculada com base em cada unidade de inseto (µg proteína inseto⁻¹).

*3.3.2.2 Eletroforese unidimensional (SDS-PAGE) das proteínas dos insetos *S. zeamais* submetidos à desinfestação por aquecimento em micro-ondas*

As proteínas foram separadas por eletroforese em gel de poliacrilamida a 12% em condições desnaturantes (SDS – PAGE). As amostras foram preparadas com 20 µL do sobrenadante separado por centrifugação (conforme descrito no item 3.3.2.1 acima) e 10 µL de solução-tampão (Tris-HCl 200 mM, pH 6,8, glicerol 20% (v/v), bromofenol blue 0,1% (m/v), SDS 2,5% (m/v) e água destilada) Essa amostra foi homogeneizada com auxílio de vórtex (Vertex) e uma alíquota de 20 µL foi aplicada em cada poço do gel. Os géis foram submetidos a uma voltagem constante e igual a 150 V em sistema Tetra Mini-PROTEAN III (Bio-Rad, EUA). Após a separação das proteínas, os géis foram corados com corante azul de Comassie Blue R 1% (m/v) em agitação por 12 h, seguido de remoção de coloração em solução de etanol 25% (v/v) e ácido acético 5% (v/v) sob agitação por 12 h. A eletroforese foi realizada em triplicata.

*3.3.2.3 Termogravimetria dos insetos de *S. zeamais* submetidos ao tratamento de desinfestação em micro-ondas*

Análises termogravimétricas (TGA) foram realizadas em insetos adultos de *S. zeamais*. Duas amostras foram analisadas, insetos sem tratamento de desinfestação ($t = 0$) e insetos submetidos à desinfestação na condição de densidade de potência de 3,0 W g⁻¹ durante 60 s (tempo necessário para a morte completa dos insetos nesta condição). Os ensaios foram realizados em duplicata.

A análise foi realizada utilizando cadinho de platina e condição experimental de vazão de gás nitrogênio de 50 mL min^{-1} e taxa de aquecimento de $5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ até a temperatura de $300 \text{ }^\circ\text{C}$. A aquisição dos dados de massa durante o aquecimento foi registrada, assim como a termogravimetria derivada (DTG).

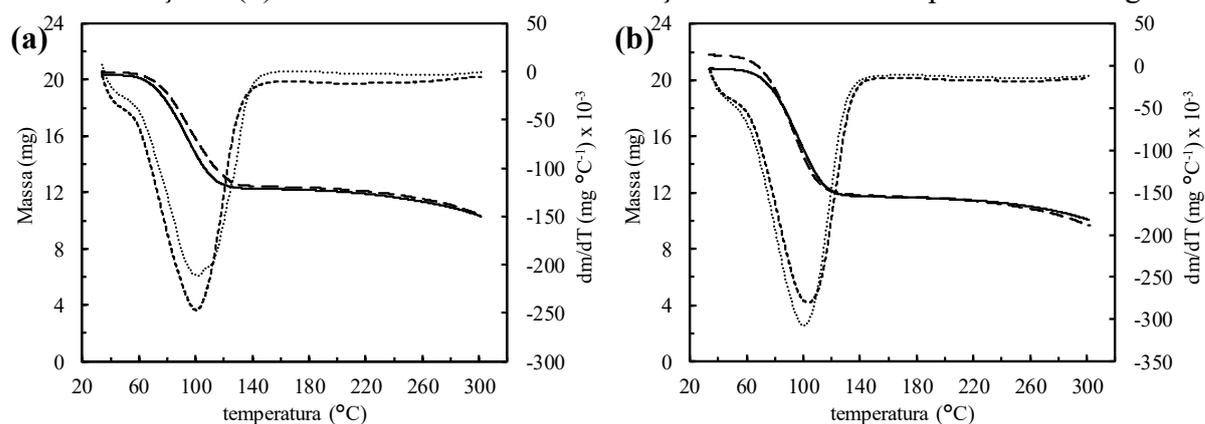
3.3.3 Resultados e Discussão – Estudo 3

As análises realizadas nos insetos tratados nas condições de desinfestação referem-se à desinfestação de grãos de milho na condição de densidade de potência de $3,0 \text{ W g}^{-1}$.

3.3.3.1 Perda de água do inseto adulto de *S. zeamais* pelo aquecimento

Na Figura 25 são apresentados os dados de perda de massa dos insetos submetidos ao aquecimento de temperatura ambiente até $300 \text{ }^\circ\text{C}$. A perda de água pelo inseto adulto é observada entre $60 \text{ }^\circ\text{C}$ e $125 \text{ }^\circ\text{C}$. O pico pode ser visto na curva DTG próximo a $100 \text{ }^\circ\text{C}$ tanto no inseto adulto não tratado termicamente quanto no submetido à desinfestação ($3,0 \text{ W g}^{-1}$ por 60 s).

Figura 25: Evolução da massa do inseto adulto de *S. zeamais* (—, - -) e derivada primeira da curva TGA (DTG) (-----,) em relação à temperatura. (a) Inseto não submetido à desinfestação e (b) inseto submetido à desinfestação em micro-ondas por 60 s a 3 W g^{-1} .



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

A eliminação da água no corpo dos insetos ocorreu em temperatura próxima a $100 \text{ }^\circ\text{C}$ e correspondeu a cerca de 40% da massa inicial deles. A umidade em base seca dos insetos adultos submetidos à desinfestação foi de $0,714 \text{ g g}^{-1} \pm 0,013 \text{ g g}^{-1}$ e para os insetos não tratados

foi de $0,896 \text{ g g}^{-1} \pm 0,044 \text{ g g}^{-1}$. As umidades dos insetos avaliados não apresentaram diferença em um nível de significância de 95%. Desta maneira, conclui-se que a desinfestação por micro-ondas não provoca desidratação significativa nos insetos adultos e sua morte não deve estar relacionada a perda de água pelo corpo do inseto, visto que a quantidade de água perdida nos insetos adultos e os tratados em micro-ondas é significativamente igual.

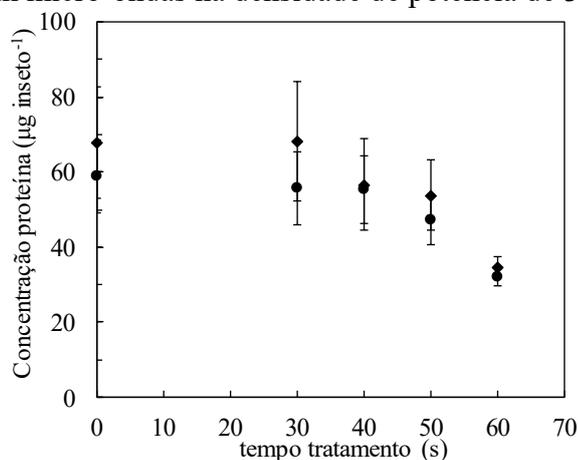
3.3.3.2 Concentração de proteínas totais do inseto adulto de *S. zeamais*

A concentração total de proteínas totais dos insetos submetidos ao tratamento de desinfestação foi avaliada pelo método de Bradford. O perfil eletroforético destas proteínas foi analisado através de géis de eletroforese (SDS-PAGE). A avaliação das proteínas dos insetos submetidos ao tratamento de desinfestação foi avaliada quanto à concentração total de proteínas presentes nos indivíduos adultos pelo método de Bradford. Adicionalmente, estas proteínas foram avaliadas através de géis de eletroforese (SDS - PAGE). As amostras utilizadas foram originadas dos experimentos de desinfestação por micro-ondas na densidade de potência de $3,0 \text{ W g}^{-1}$, nos tempos de tratamento 30 s (A30), 40 s (A40), 50 s (A50), 60 s (A60) e não tratados (controle - AC), como detalhado no item 3.3.2.1.

3.3.3.2.1 Quantificação das proteínas

A quantidade total de proteínas dos insetos adultos está apresentada na Figura 26.

Figura 26: Concentração de proteínas totais por inseto durante a desinfestação de grãos de milho em micro-ondas na densidade de potência de $3,0 \text{ W g}^{-1}$.



*Dados apresentados como média \pm desvio padrão para cada análise realizada.

Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Nota-se uma tendência à redução na quantidade de proteínas totais nos insetos ao longo do tempo de desinfestação. Esta redução na concentração de proteínas totais pode estar associada à degradação de proteínas pela ação do aquecimento durante a desinfestação. Vale ressaltar também que o método de Bradford não é capaz de detectar proteínas de baixa massa molar (< 5 kDa) (LABORATORIES, [s.d.]; MOORE et al., 2010; ZAIA; ZAIA; LICHTIG, 1998).

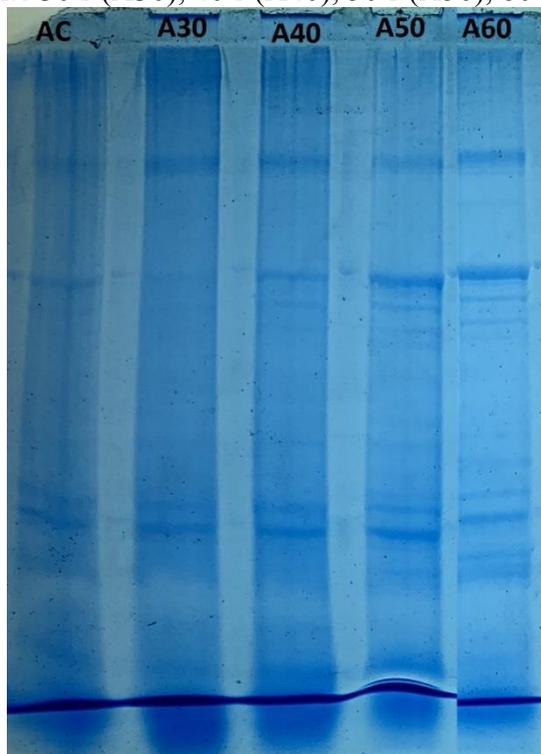
Uma análise estatística foi realizada para avaliar a diferença entre os valores obtidos (Tukey, 95%). Houve diferença significativa entre a quantidade de proteína dos insetos tratados em micro-ondas por 60 s e os insetos submetidos à desinfestação por 30 s, 40 s, 50 s e o controle (Figura 26). Para melhor elucidação, realizou-se a eletroforese 1 D (SDS - PAGE) destas amostras.

3.3.3.2.2 Eletroforese

A Figura 27 apresenta a imagem do gel de eletroforese. Os insetos adultos submetidos à desinfestação em micro-ondas por 30 s (A30) e 40 s (A40) apresentaram um perfil de proteínas próximo aos insetos não tratados (AC). Durante a desinfestação a temperatura da massa de grãos foi menor que $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ nos primeiros 40 s de processo (Figura 16a) e a população de insetos manteve-se totalmente viva neste período. Aos 40 s de tratamento a mortalidade atingiu cerca de 50% da população inicial (Figura 24) e a temperatura dos grãos ficou em torno de $56\text{ }^{\circ}\text{C}$. As réplicas dos géis estão apresentadas no Apêndice G (Figura G - 1) ao final deste documento.

A partir de 50 s de tratamento de desinfestação, na densidade de potência de $3,0\text{ W g}^{-1}$, quando a temperatura dos grãos é próxima a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$, as proteínas de maior massa molar (topo da coluna) começam a desaparecer, ao passo que bandas com menor massa molar surgem nos géis analisados. Estas bandas podem ser fragmentos das proteínas de maior massa molar que foram degradadas em função do aquecimento por micro-ondas. Além disso, a aparição destas bandas de proteína pode caracterizar a produção de proteínas de choque térmico (*heat shock proteins* - HSP), o que deve ser confirmado através de técnicas adicionais de análise não realizadas neste trabalho.

Figura 27: Gel de eletroforese para os insetos adultos submetidos a desinfestação em micro-ondas a $3,0 \text{ W g}^{-1}$ durante 30 s (A30), 40 s (A40), 50 s (A50), 60 s (A60) e controle (AC).



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

Tungjitwitayakul et al. (2015) avaliaram HSP em *S. zeamais* em todos os estágios de desenvolvimento. Os autores observaram um aumento na expressão de HSP90 em todos os estágios de desenvolvimento e de HSP70 nas fases ovo, larval e adulta quando os insetos foram submetidos a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ por 60 min. Em todos os casos, os insetos adultos apresentaram um nível de expressão de HSP muito maior que as outras fases, apresentando níveis até 10 vezes maiores para estas proteínas.

A morte dos insetos adultos submetidos à desinfestação de grãos milho por aquecimento em micro-ondas pode ter ocorrido devido à desnaturação e degradação das proteínas do organismo do inseto. Além disso, os insetos podem ter produzido proteínas de choque térmico como forma de se protegerem do aquecimento gerado pelo forno micro-ondas. Vale ressaltar que o presente estudo avaliou de maneira geral a expressão das proteínas nos insetos e que um estudo mais minucioso, identificando as proteínas que foram suprimidas e as geradas, é de grande importância para melhores conclusões e confirmações nesta área de estudo. Técnicas como os géis nativos (condições não desnaturantes), *Western Blotting* e uma análise proteômica poderiam ser muito úteis para futuros trabalhos nesta área.

3.3.4 Conclusão – Estudo 3

Uma análise geral de mudanças que possam ter causado a morte dos insetos adultos de *S. zeamais* foi realizada e observou-se que não houve alteração na umidade do inseto adulto de *S. zeamais* durante a desinfestação de grãos de milho por aquecimento em micro-ondas (condição de $3,0 \text{ W g}^{-1}$). Por outro lado, mudanças significativas nos perfis de proteína dos insetos adultos foram observadas. Proteínas de elevada massa molar foram suprimidas ao longo do processo, e proteínas com menor massa molar aumentaram sua expressão durante a desinfestação em micro-ondas. Estudos mais aprofundados nas alterações bioquímicas dos insetos são importantes para a elucidação da mortalidade dos insetos e para auxiliar em trabalhos futuros.

4 CONCLUSÕES GERAIS E SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

4.1 CONCLUSÕES

A desinfestação de grãos armazenados por tratamentos térmicos, livres de resíduos químicos, é pertinente para o controle de pragas, sendo possível, em temperaturas relativamente brandas e intervalos de tempo relativamente curtos, não impactar na qualidade geral dos grãos de milho.

A cinética de morte dos insetos adultos submetidos à condição isotérmica com circulação de ar quente foi elucidada no presente trabalho. O modelo matemático preditivo proposto nesta tese é capaz de descrever a mortalidade de uma das principais pragas de grãos acondicionados na faixa de temperatura crítica para sua eliminação (46 °C – 62 °C). O modelo proposto foi validado experimentalmente em duas condições de temperatura dentro deste intervalo, demonstrando elevada capacidade preditiva.

A desinfestação por uso de micro-ondas mostrou-se um tratamento rápido e eficiente, sendo possível extrapolar a potencial utilização em maiores escalas e em processos contínuos. O aquecimento seletivo por micro-ondas resultou na desinfestação completa dos grãos de milho sem alterar a umidade do produto. A avaliação experimental e ajustes de modelos matemáticos aos dados da sobrevivência dos insetos (larva e adulto) evidenciou a dependência única da mortalidade dos insetos em relação à temperatura dos grãos para aquecimento em micro-ondas.

O comportamento bioquímico dos insetos submetidos aos tratamentos de desinfestação por micro-ondas indica uma mudança no perfil das proteínas. Ainda, foi evidenciada a produção de proteínas de choque térmico, um mecanismo de defesa destes organismos. Porém, proteínas de elevada massa molar foram reduzidas durante o tratamento por micro-ondas. A quantidade de água no corpo dos insetos não se alterou ao longo do tratamento.

A desinfestação por aquecimento seletivo como o micro-ondas é um processo emergente capaz de eliminar larvas e insetos adultos em grãos de maneira rápida e eficiente, sem a presença de resíduos químicos e os modelos propostos nesta tese são extremamente úteis e aplicáveis à compreensão e melhoria dos processos de desinfestação de grãos por tratamentos térmicos.

4.2 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar a desinfestação por micro-ondas em grãos de milho infestados com: ovo, pupa e larvas de 1° e 2° ínstaes de *S. zeamais*;
- Avaliar a morte térmica e gerar modelos de predição de morte térmica para outras espécies de insetos-praga;
- Simular a desinfestação de *S. zeamais* por aquecimento com circulação de ar quente em condição não-isotérmica utilizando o modelo preditivo proposto;
- Avaliar a desinfestação em micro-ondas de outros grãos e espécies de insetos-praga;
- Identificar as proteínas que são produzidas e suprimidas durante a desinfestação;
- Avaliar as alterações bioquímicas que ocorrem nos insetos durante a desinfestação por micro-ondas, em diferentes estágios de desenvolvimento.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, H. et al. Effect of gamma radiation on different stages of indian meal moth *Plodia interpunctella* Huebner (Lepidoptera: Pyralidae). **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 20, p. 4259–4264, 2011.

AGRAFIOTI, P.; ATHANASSIOU, C. G.; NAYAK, M. K. Detection of phosphine resistance in major stored-product insects in Greece and evaluation of a field resistance test kit. **Journal of Stored Products Research**, v. 82, p. 40–47, 2019.

AHMADY, A.; MOUSA, M. A. A.; ZAITOUN, A. A. Effect of microwave radiation on *Tribolium confusum* Jaquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchidae). **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 4, n. 4, p. 1257–1263, 2016.

BARBOSA, D. R. E S. et al. Microwave radiation to control *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) larvae in cowpea cultivars. **Austral Entomology**, v. 56, n. 1, p. 70–74, 2017.

BEN-IALLI, A. et al. Survival kinetics of *Ephestia kuehniella* eggs during 46-75 °C heat treatment. **Journal of Stored Products Research**, v. 45, p. 206–211, 2009.

BEN-LALLI, A. et al. Modelling heat-disinfestation of dried fruits on “biological model” larvae *Ephestia kuehniella* (Zeller). **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 156–166, 2011.

BEN-LALLI, A. et al. Modeling heat transfer for disinfestation and control of insects (larvae and eggs) in date fruits. **Journal of Food Engineering**, v. 116, n. 2, p. 505–514, 2013.

BRADFORD, M. M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248–254, 1976.

CARLI, M. DE. **Análise do desenvolvimento de infestações de *Sitophilus* spp. em milho orgânico embalado em atmosfera modificada (AM)**. [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2007.

CARON, E.; MOUSSALLEM, M.; BORTOLUZZI, S. Revision of Brazilian species of *Aleochara* Gravenhorst of the subgenus *Aleochara* (Coleoptera: Staphylinidae: Aleocharinae). **Zootaxa**, v. 4712, n. 1, p. 1–33, 2019.

CASTRO, S. V. et al. Proteínas de choque térmico hsp 70: Estrutura e atuação em resposta ao estresse celular. **Acta Veterinaria Brasílica**, v. 7, n. 4, p. 261–271, 2013.

CHAKRAVERTY, A. et al. **Handbook of Postharvest Technology**. New York: Marcel Dekker, 2003.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Codex Standard for Maize (Corn)**, 1985. Disponível em: <www.fao.org/input/download/standards/51/CXS_153e.p>

COLLINS, P. J. et al. Response of mixed-age cultures of phosphine-resistant and susceptible strains of lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica*, to phosphine at a range of concentrations and exposure periods. **Journal of Stored Products Research**, v. 41, n. 4, p. 373–385, 2005.

DAS, I.; KUMAR, G.; SHAH, N. G. Microwave heating as an alternative quarantine method for disinfestation of stored food grains. **International Journal of Food Science**, p. 1–13, 2013.

DEVI, S. R. et al. Biology, morphology and molecular characterization of *Sitophilus oryzae* and *S. zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 73, p. 135–141, 2017.

DUANGKHAMCHAN, W. et al. Infrared Heating as a Disinfestation Method Against *Sitophilus oryzae* and Its Effect on Textural and Cooking Properties of Milled Rice. **Food and Bioprocess Technology**, v. 10, n. 2, p. 284–295, 2017.

EL-NAGGAR, S. M.; MIKHAIEL, A. A. Disinfestation of stored wheat grain and flour using gamma rays and microwave heating. **Journal of Stored Products Research**, v. 47, n. 3, p. 191–196, 2011.

ELIAS, M. C.; OLIVEIRA, M. DE; VANIER, N. L. **Tecnologias de pré-armazenamento, armazenamento e conservação de grãos**. Capão do Leão - RS, 2017.

FAO, F. AND A. O. OF THE U. N. **Grain storage techniques: Evolution and trends in developing countries**. Rome: FAO Agricultural Services Bulletin, 1994.

FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 28 set. 2018.

FARONI, L. R. D.; SILVA, J. DE S. E. Manejo de Pragas no Ecossistema de Grãos Armazenados. In: SILVA, J. DE S. E (Ed.). **Secagem e Armazenagem de Produtos Agrícolas**. Viçosa: Editora Aprenda Fácil, 2008. p. 371–405.

FIELDS, P. G. The Control of Stored-Product Insects and Mites With Extreme Temperatures *. **Journal of Stored Products Research**, v. 28, n. 2, p. 89–118, 1992.

GALLO, D. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, 2002.

GAZIT, Y. et al. Thermal Death Kinetics of Egg and Third Instar Mediterranean Fruit Fly (Diptera: Tephritidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 97, n. 5, p. 1540–1546, 2004.

GOLOB, P.; FARRELL, G.; ORCHARD, J. E. Crop Post-Harvest: Science and Technology, volume 1: Principles and practice. In: Oxford: Blackwell Science, 2002. v. 1p. 568.

HAGSTRUM, D. W.; PHILLIPS, T. W.; CUPERUS, G. **Stored Product Protection**. Manhattan: K-State Research and Extension, 2012.

HALLMAN, G. J.; DENLINGER, D. L. **Temperature Sensitivity in Insects and Application in Integrated Pest Management**. Oxford: Westview Press, 1998.

HALVERSON, S. L. et al. High-Power Microwave Radiation as an Alternative Insect Control Method for Stored Products. **Journal of Economic Entomology**, v. 89, n. 6, p. 1638–1648, 1996.

HILL, D. S. **Pests of Stored Foodstuffs and their Control**. New York: Kluwer Academic Publishers, 2002.

HOU, L.; JOHNSON, J. A.; WANG, S. **Radio frequency heating for postharvest control of pests in agricultural products: A review** *Postharvest Biology and Technology*, 2016.

HOU, L.; LING, B.; WANG, S. Development of thermal treatment protocol for disinfecting chestnuts using radio frequency energy. **Postharvest Biology and Technology**, v. 98, p. 65–71, 2014.

HOU, L.; WU, Y.; WANG, S. Thermal death kinetics of *Cryptolestes pusillus* (Schonherr), *Rhyzopertha dominica* (Fabricius), and *Tribolium confusum* (Jacquelin du Val) Using a Heating Block System. **Insects**, v. 10, n. 5, p. 1–13, 2019.

HUANG, Z.; CHEN, L.; WANG, S. Computer simulation of radio frequency selective heating of insects in soybeans. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 90, p. 406–417, 2015.

HUI, Y. H. **Handbook of Food Science, Technology and Engineering**. Boca Raton: Taylor and Francis Group, 2006. v. 1

ILELEJI, K. E.; MAIER, D. E.; WOLOSHUK, C. P. Evaluation of different temperature management strategies for suppression of *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) in stored maize. **Journal of Stored Products Research**, v. 43, p. 480–488, 2007.

JIAN, F. et al. An evaluation of insect expulsion from wheat samples by microwave treatment for disinfestation. **Biosystems Engineering**, v. 130, p. 1–12, 2015.

JONES, V. M.; WADDELL, B. C. Hot-Water Effect on Mortality of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 90, n. 5, p. 1357–1359, 1997.

KUMAR, S. et al. Vacuum Hermetic Fumigation: A review. **Journal of Stored Products Research**, v. 71, p. 47–56, 2017.

LABORATORIES, B.-R. **Protein Assay Instruction Manual**. Disponível em: <<https://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/4110065A.pdf>>.

LACROIX, M.; MARCOTTE, M.; RAMASWAMY, H. S. Irradiation of Fruits, Vegetables, Nuts and Spices. In: CHAKRAVERTY, A. et al. (Eds.). . **Handbook of Postharvest Technology (Cereals, Fruit, Vegetables, Tea, and Spices)**. New York: Marcel Dekker, 2003. p. 623–652.

LAY-YEE, M. et al. Hot-water treatment for insect disinfestation and reduction of chilling injury of ‘Fuyu’ persimmon. **Postharvest Biology and Technology**, v. 10, n. 1, p. 81–87, jan. 1997.

LAZZARI, F. N.; RIBEIRO-COSTA, C. S. **Control of *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchinae) in *Phaseolus vulgaris* Linnaeus, using diatomaceous earth under different temperatures**. 9th International Working Conference on Stored Product Protection. **Anais...**Campinas: 2006

LAZZARI, S. M. N.; LAZZARI, F. A. Insect Pests in Stored Grain. In: PANIZZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Eds.). . **Insect Bioecology and Nutrition for Integrated Pest Management**. Boca Raton: CRC Press, 2012.

LEE JR., R. E. Insect Cold-Hardiness: To Freeze or Not to Freeze. **Bioscience**, v. 39, n. 5, p. 308–313, 1989.

LI, W. et al. Tolerance of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) to heated controlled atmosphere treatments. **Journal of Stored Products Research**, v. 62, p. 52–57, 2015a.

LI, W. et al. Performance of controlled atmosphere/heating block systems for assessing insect thermotolerance. **Biosystems Engineering**, v. 135, p. 1–9, 2015b.

LIMA, A. A. D. et al. Controle de Pragas por Atmosferas Controladas. In: SILVA, J. DE S. E (Ed.). . **Secagem e Armazenagem de Produtos Agrícolas**. Viçosa: Editora Aprenda Fácil, 2008. p. 407–416.

LING, B.; CHENG, T.; WANG, S. Recent developments in applications of radio frequency heating for improving safety and quality of food grains and their products: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 0, n. 0, p. 1–21, 2019.

LORINI, I. et al. **Manejo Integrado de Pragas de Grãos e Sementes Armazenadas**. 1. ed. Brasília: Embrapa, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2015.

LÜ, J.; ZHANG, H. The Effect of Acclimation to Sublethal Temperature on Subsequent Susceptibility of *Sitophilus zeamais* Mostchulsky (Coleoptera: Curculionidae) to High Temperatures. **PloS one**, v. 11, n. 7, 2016.

MALIA, H. A. E. et al. Diatomaceous earth impairment of water balance in the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Journal of Pest Science**, v. 89, n. 4, p. 945–954, 2016.

MANGAN, R. L. et al. High temperature forced-air treatments with fixed time and temperature for “Dancy” tangerines, “Valencia” oranges, and “Rio Star” grapefruit. **Journal of Economic Entomology**, v. 91, n. 4, p. 933–939, 1998.

MANICKAVASAGAN, A. et al. Disinfestation of stored dates using microwave energy. **Journal of Stored Products Research**, v. 55, p. 1–5, 2013.

MANSOOR-UL-HASAN et al. Effect of temperature and relative humidity on development of *Sitophilus oryzae* L. (coleoptera: curculionidae). **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 5, n. 6, p. 85–90, 2017.

MAPA. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, , 2009.

MAPA. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Instrução Normativa 60/2011**. Diário Oficial da União, , 2011.

MASON, L. J.; MCDONOUGH, M. Biology, Behavior, and Ecology of Stored Grain and Legume Insects. In: HAGSTRUM, D. W.; PHILLIPS, T. W.; CUPERUS, G. (Eds.). . **Stored Product Protection**. [s.l.] K-State Research and Extension, 2012. p. 350.

MCKELLAR, R. C.; LU, X. **Modeling Microbial Responses in Food**. Boca Raton: CRC Press, 2004.

MOHAPATRA, D.; KAR, A.; GIRI, S. K. Insect Pest Management in Stored Pulses: an Overview. **Food and Bioprocess Technology**, v. 8, n. 2, p. 239–265, 1 fev. 2015.

MONTEIRO, R. L. et al. How to make a microwave vacuum dryer with turntable. **Journal of Food Engineering**, v. 166, p. 276–284, 2015.

MONTEIRO, R. L. et al. Microwave vacuum drying and multi-flash drying of pumpkin slices. **Journal of Food Engineering**, v. 232, p. 1–10, 2018.

MONTGOMERY, D. C. **Design and Analysis of Experiments**. 8. ed. New York: J.Wiley, 2012.

MOORE, J. C. et al. Total protein methods and their potential utility to reduce the risk of

food protein adulteration. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 4, p. 330–357, 2010.

NAKASHIMA, S. M. K.; ANDRÉ, C. D. S.; FRANCO, B. D. G. M. Revisão: Aspectos Básicos da Microbiologia Preditiva. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 3, p. 41–51, 2000.

NAYAK, M. K. Managing resistance to phosphine in storage pests: Challenges and opportunities. In: NAVARRO S, BANKS HJ, JAYAS DS, BELL CH, NOYES RT, FERIZLI AG, EMEKCI M, ISIKBER AA, A. K. (Ed.). . **Proc. 9th. Int. Conf. on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products**. Antalya, Turkey: ARBER Professional Congress Services, 2012. p. 609–619.

NELSON, S. O. Radio-frequency and microwave dielectric properties of insects. **Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy**, v. 36, n. 1, p. 47–56, 2001.

NELSON, S. O. **Dielectric properties of agricultural materials and their applications**. [s.l.] Academic Press, 2015.

NELSON, S. O.; TRABELSI, S. Models for the microwave dielectric properties of grain and seed. **Transactions of the ASABE**, v. 54, n. 2, p. 549–553, 2011.

NEVEN, L. G. Physiological responses of insects to heat. **Postharvest Biology and Technology**, v. 21, n. 1, p. 103–111, 2000.

OMAR, Y. M. et al. Threshold temperature and heat unit requirements for the development of the granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.). **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 47, n. 5, p. 555–563, 2014.

OPIT, G. P. et al. Phosphine Resistance in *Tribolium castaneum* and *Rhyzopertha dominica* From Stored Wheat in Oklahoma. **Journal of Economic Entomology**, v. 105, n. 4, p. 1107–1114, 2012.

PAN, Z. et al. Feasibility of simultaneous rough rice drying and disinfestations by infrared radiation heating and rice milling quality. **Journal of Food Engineering**, v. 84, n. 3, p. 469–479, 2008.

PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. **Insect Bioecology and Nutrition for Integrated Pest Management Insect Bioecology and Nutrition for Integrated Pest Management**. Florida: CRC Press, Taylor and Francis Group, 2012.

PEI, Y. et al. Lethal effects and mechanism of infrared radiation on *Sitophilus zeamais* and *Tribolium castaneum* in rough rice. **Food Control**, v. 88, p. 149–158, 2018a.

PEI, Y. et al. Lethal effects and mechanism of infrared radiation on *Sitophilus zeamais*

and *Tribolium castaneum* in rough rice. **Food Control**, v. 88, p. 149–158, 2018b.

PELEG, M. **Advanced quantitative microbiology for foods and biosystems: Models for predicting growth and inactivation**. Boca Raton: Taylor and Francis Group, 2006.

PEREIRA, P. R. V. DA S.; SALVADORI, J. R. **Identificação dos principais Coleoptera (Insecta) associados a produtos armazenados**. Passo Fundo, RS. Embrapa Trigo, 2006. Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do75.htm>

PUROHIT, P. et al. Microwaves to control *Callosobruchus maculatus* in stored mung bean (*Vigna radiata*). **Journal of Stored Products Research**, v. 53, p. 19–22, 2013.

RATKOWSKY, D. A. et al. Model for Bacterial Culture Growth Rate Throughout the Entire Biokinetic Temperature Range. **Journal of Bacteriology**, v. 154, n. 3, p. 1222–1226, 1983.

REES, D. P. The effect of *Teretriosoma nigrescens* Lewis (Coleoptera: Histeridae) on three species of storage Bostrichidae infesting shelled maize. **Journal of Stored Products Research**, v. 27, n. 1, p. 83–86, 1991.

RITA DEVI, S. et al. Biology, morphology and molecular characterization of *Sitophilus oryzae* and *S. zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 73, p. 135–141, 2017.

ROSS, T. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 81, n. 5, p. 501–508, nov. 1996.

SAGLAM, Ö.; EDDE, P. A.; PHILLIPS, T. W. Resistance of *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) to fumigation with phosphine. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 5, p. 2489–2495, 2015.

SÁNCHEZ-MARIÑEZ, R. I. et al. End-use quality of flour from *Rhyzopertha dominica* infested wheat. **Cereal Chemistry**, v. 74, n. 4, p. 481–483, 1997.

SILVA, J. DE S. E et al. Aeração de Grãos Armazenados. In: SILVA, J. DE S. (Ed.). **Secagem e Armazenagem de Produtos Agrícolas**. Viçosa: Editora Aprenda Fácil, 2008. p. 269–295.

SINGH, R.; SINGH, K. K.; KOTWALIWALE, N. Study on disinfestation of pulses using microwave technique. **Journal of Food Science and Technology**, v. 49, n. 4, p. 505–509, 2012.

TANG, J. et al. High-temperature-short-time thermal quarantine methods. **Postharvest Biology and Technology**, v. 21, n. 1, p. 129–145, 2000.

TANG, J. et al. **Heat Treatments for Postharvest Pest Control: Theory and Practice**. 1. ed. Washington: CABI, 2007.

TEFERA, T. et al. **Mass rearing of stem borers, maize weevil, and larger grain borer insect pests of maize**. Nairobi: CIMMYT, 2010.

THRONE, J. E. Life History of Immature Maize Weevils (Coleoptera : Curculionidae) on Corn Stored at Constant Temperatures and Relative Humidities in the Laboratory. **Environmental Entomology**, v. 23 (6), p. 1459–1471, 1994.

TUNGJITWITAYAKUL, J. et al. Expression of Heat Shock Protein Genes in Different Developmental Stages and After Temperature Stress in the Maize Weevil (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 3, p. 1313–1323, 2015.

UNEP. **Montreal Protocol on Substances that Deplet the Ozone Layer. United Nations Environment Programme. Report of the Methyl Bromide Technical Options Committee**. Nairobi, 2002. Disponível em: <<https://www.unenvironment.org/resources/report/2002-report-methyl-bromide-technical-options-committee-mbtoc>>

VADIVAMBAL, R. et al. Disinfestation of stored corn using microwave energy. **Agriculture and Biology Journal of North America**, v. 1, n. 1, p. 18–26, 2010.

VADIVAMBAL, R.; JAYAS, D. S.; WHITE, N. D. G. Wheat disinfestation using microwave energy. **Journal of Stored Products Research**, v. 43, n. 4, p. 508–514, 2007.

VADIVAMBAL, R.; JAYAS, D. S.; WHITE, N. D. G. Determination of Mortality of Different Life Stages of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) in Stored Barley Using Microwaves. **Journal of Economic Entomology**, v. 101, n. 3, p. 1011–1021, 2008.

VERGHESE, A.; NAGARAJU, D. K.; SREEDEVI, K. Hot water as an effective post harvest disinfestant for the Oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) on mango. **Pest Management in Horticultural Ecosystems**, v. 17, n. 2, p. 63–68, 2011.

WALE, M.; ASSEGIE, H. Efficacy of castor bean oil (*Ricinus communis* L.) against maize weevils (*Sitophilus zeamais* Mots.) in northwestern Ethiopia. **Journal of Stored Products Research**, v. 63, p. 38–41, 2015.

WANG, S. et al. Thermal death kinetics and heating rate effects for fifth-instar *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 38, n. 5, p. 441–453, 2002a.

WANG, S. et al. Thermal-death kinetics of fifth-instar *Amyelois transitella* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 38, n. 5, p. 427–440, 2002b.

WANG, S. et al. Dielectric properties of fruits and insect pests as related to radio

frequency and microwave treatments. **Biosystems Engineering**, v. 85, n. 2, p. 201–212, 2003.

WHITING, R. C.; BUCHANAN, R. L. A classification of models in predictive microbiology. **Food Microbiology**, v. 10, n. 2, p. 175–177, abr. 1993.

YAN, R. et al. Thermal death kinetics of adult *Sitophilus oryzae* and effects of heating rate on thermotolerance. **Journal of Stored Products Research**, v. 59, p. 231–236, 2014.

YAN, R. et al. Simulation of heating uniformity in a heating block system modified for controlled atmosphere treatments. **Journal of Stored Products Research**, v. 65, p. 19–29, 2016.

YANG, C. et al. Radio frequency heating as a disinfestation method against *Corcyra cephalonica* and its effect on properties of milled rice. **Journal of Stored Products Research**, v. 77, p. 112–121, 2018.

YU, D.; SHRESTHA, B.; BAIK, O. D. Thermal death kinetics of adult red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst) in canola seeds during radio frequency heating. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. 12, p. 3064–3075, 2017.

YU, D.; SHRESTHA, B.; BAIK, O. D. Computer simulation of heat transfer for disinfestation of red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst) in stored canola seeds (*Brassica napus* L.) by radio frequency heating. **Engineering in Agriculture, Environment and Food**, v. 12, n. 3, p. 297–314, 2019.

ZAIA, D. A. M.; ZAIA, C. T. B. V.; LICHTIG, J. Determination of total protein by spectrophotometry: advantages and disadvantages of proposed methods. **Química Nova**, v. 21, n. 6, p. 787–793, 1998.

ZHAO, S. et al. A thermal lethal model of rice weevils subjected to microwave irradiation. **Journal of Stored Products Research**, v. 43, p. 430–434, 2007a.

ZHAO, S. et al. Effect of microwaves on rice quality. **Journal of Stored Products Research**, v. 43, n. 4, p. 496–502, 2007b.

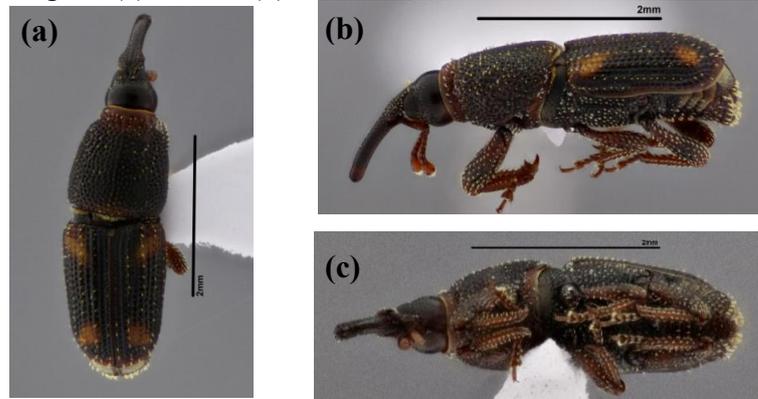
ZHOU, L. et al. Developing radio frequency technology for postharvest insect control in milled rice. **Journal of Stored Products Research**, v. 62, p. 22–31, 2015.

ZHOU, L.; WANG, S. Industrial-scale radio frequency treatments to control *Sitophilus oryzae* in rough, brown, and milled rice. **Journal of Stored Products Research**, v. 68, p. 9–18, jul. 2016.

ZHOU, X.; WANG, S. Recent developments in radio frequency drying of food and agricultural products: A review. **Drying Technology**, v. 37, n. 3, p. 271–286, 2019.

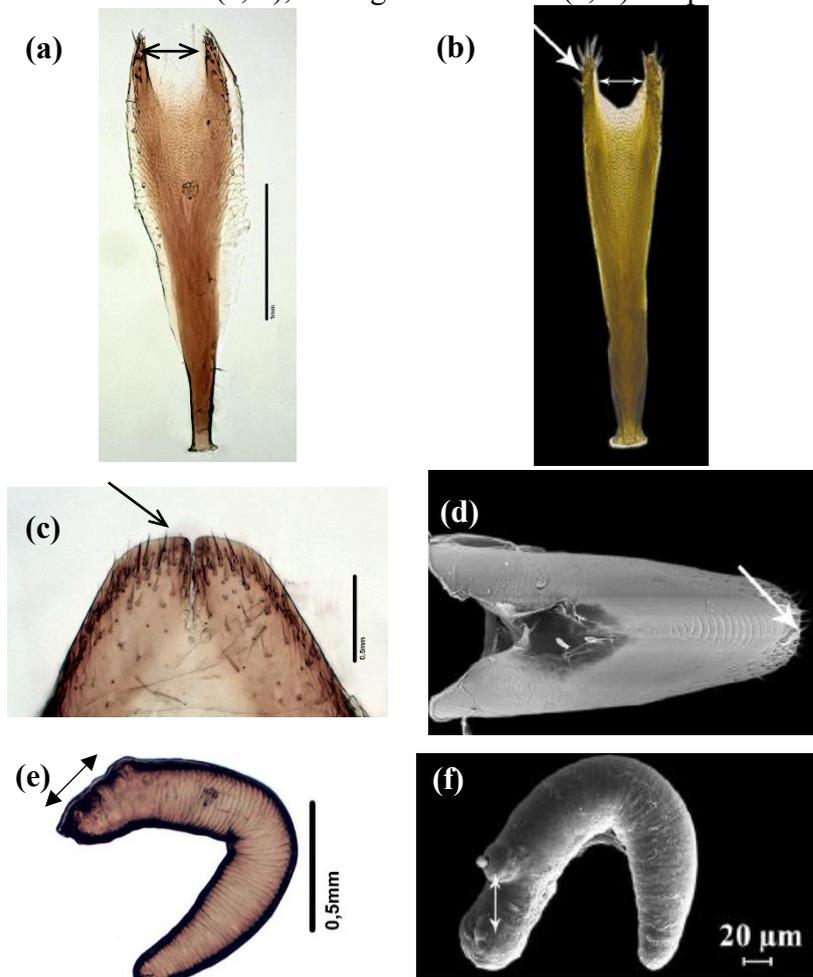
APÊNDICE A – IDENTIFICAÇÃO DA ESPÉCIE *Sitophilus zeamais*

Figura A - 1: Imagens (a) dorsal, (b) lateral e (c) ventral do inseto adulto de *S. zeamais*.



*A escala das imagens é de 2 mm.
Fonte: Elaborada pela autora (2020).

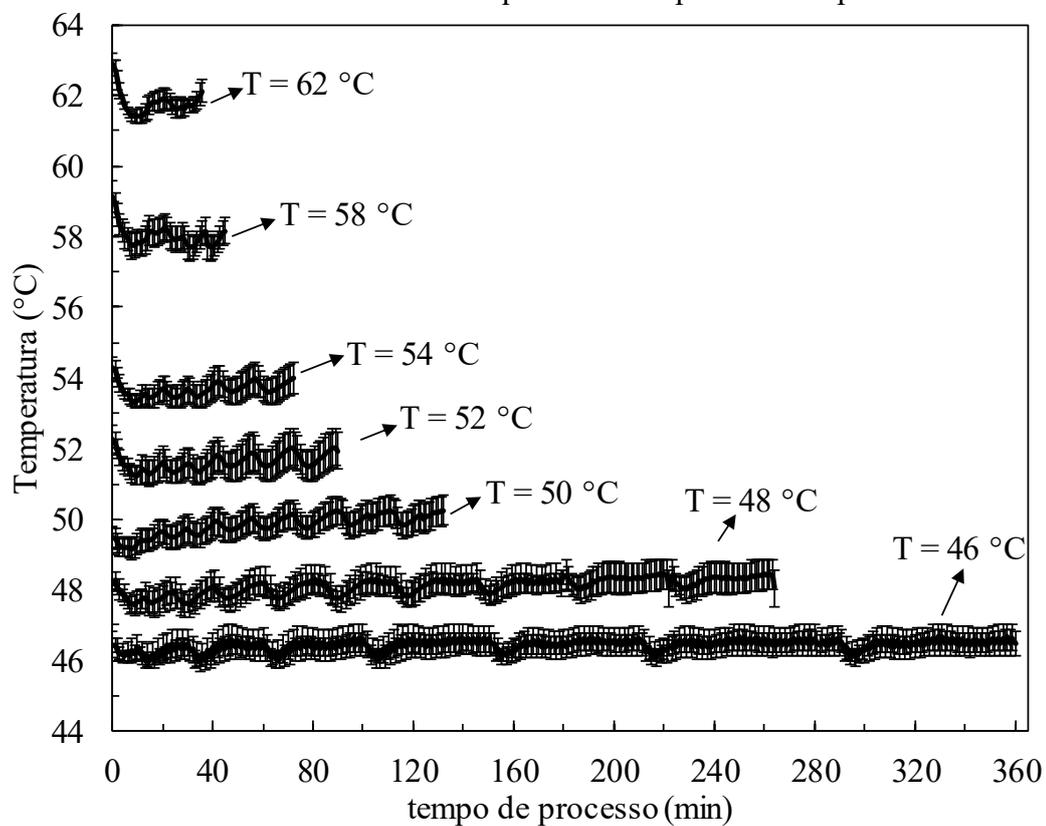
Figura A - 2: Comparação entre as imagens das peças internas dos espécimes dissecados (a, c, e) e do estudo morfológico realizado por Devi et al. (2017) (b, d, f). Imagens da espícula da genitália feminina (a, b), 8º tergito do macho (c, d) e espermateca (e, f).



Fonte: Elaborada pela autora (2020) e adaptada de Devi et al. (2017).

APÊNDICE B – DADOS EXPERIMENTAIS DA TEMPERATURA DO AR QUENTE

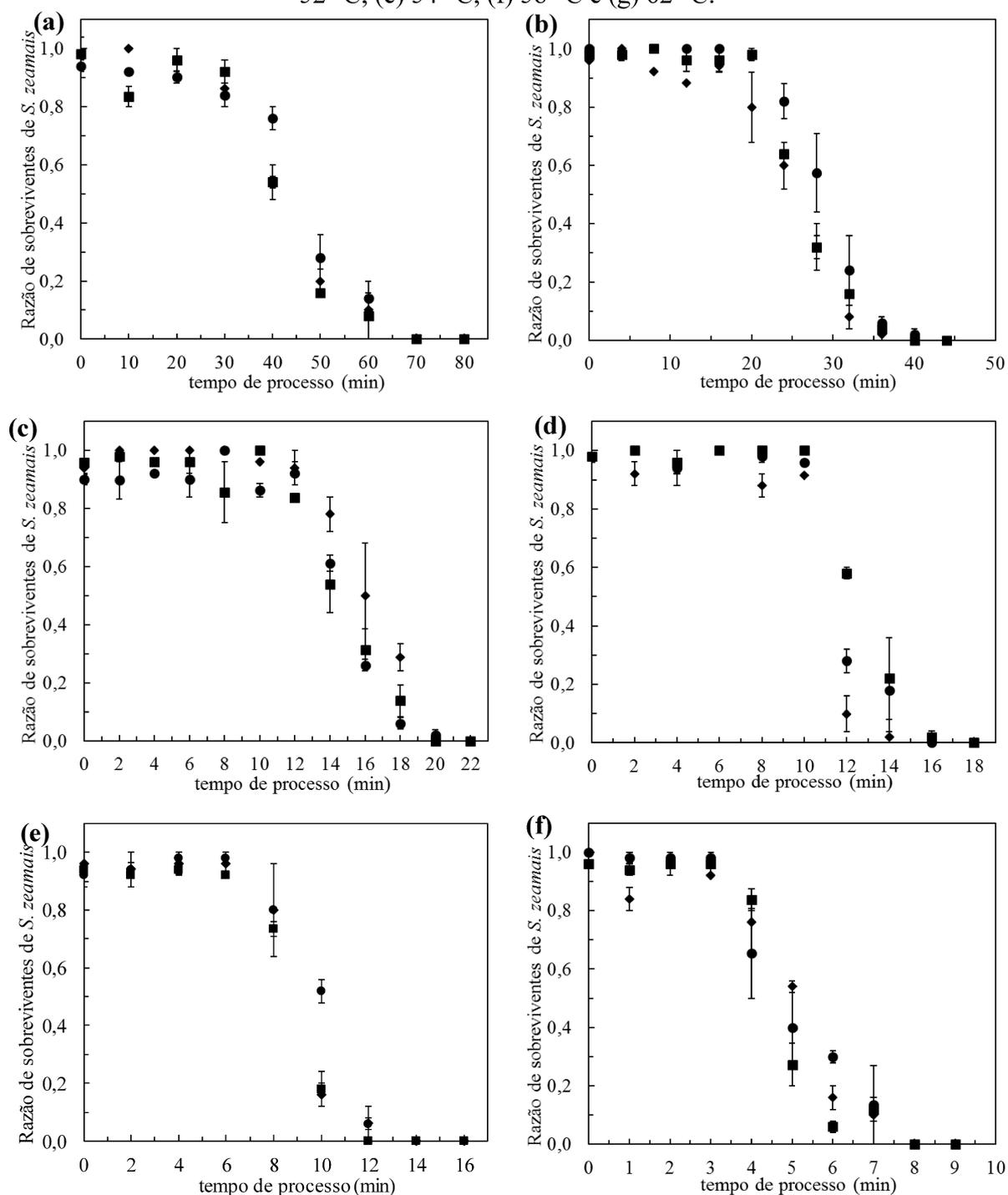
Figura B - 1: Temperaturas experimentais médias (\pm desvio padrão) dos tratamentos térmicos de indivíduos adultos de *S. zeamais* com ar quente nas respectivas temperaturas de referência.

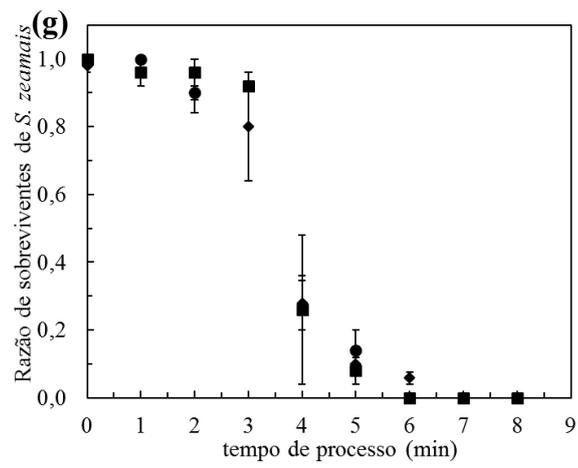


Fonte: Elaborada pela autora (2020).

**APÊNDICE C – DADOS EXPERIMENTAIS DAS TRIPLICATAS DE MORTE
TÉRMICA DE *S. zeamais* POR AR QUENTE**

Figura C - 1: Dados das triplicatas experimentais (Valor médio \pm Desvio padrão) de morte térmica de *S. zeamais* por ar quente nas temperaturas de (a) 46 °C, (b) 48 °C, (c) 50 °C, (d) 52 °C, (e) 54 °C, (f) 58 °C e (g) 62 °C.

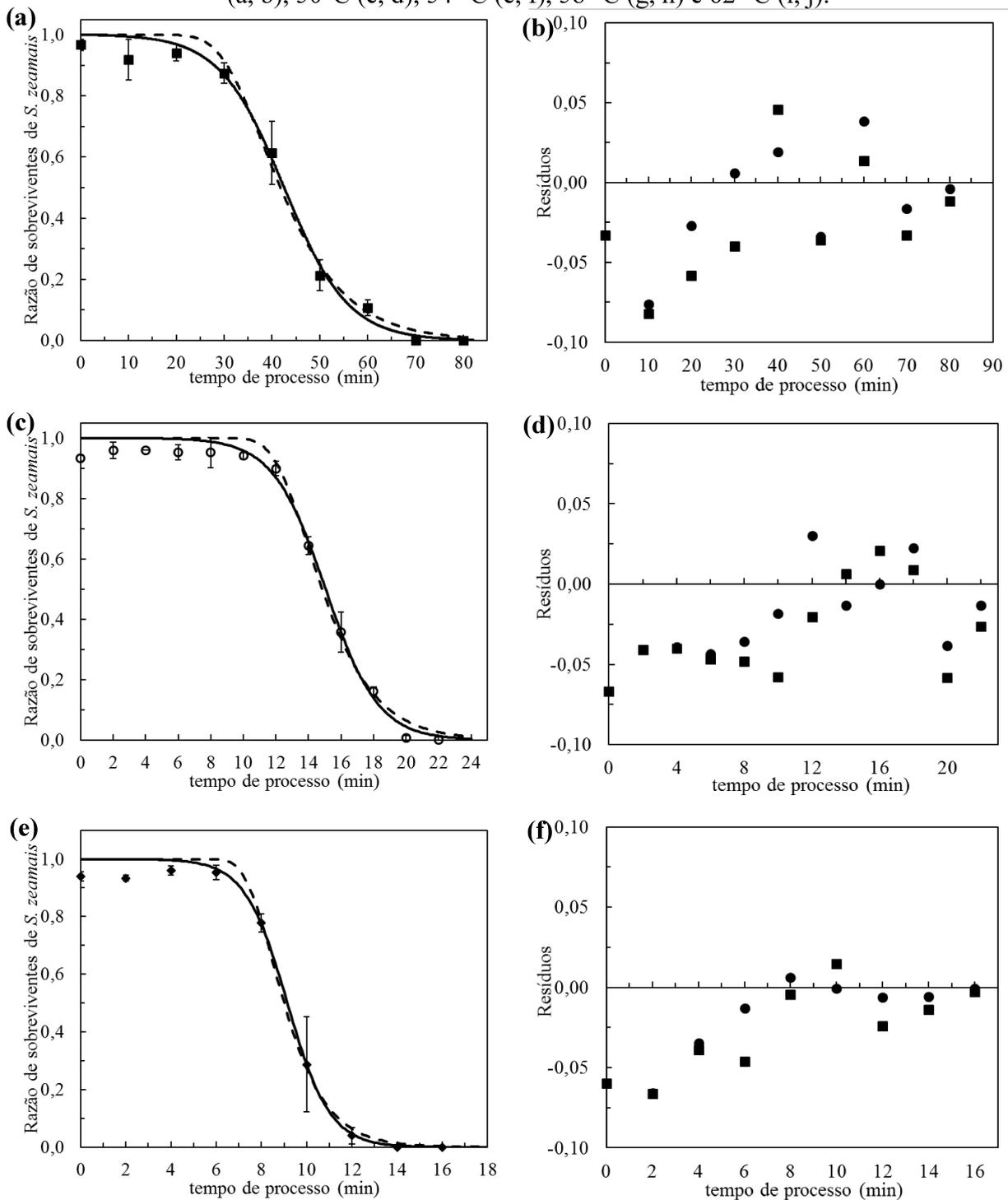


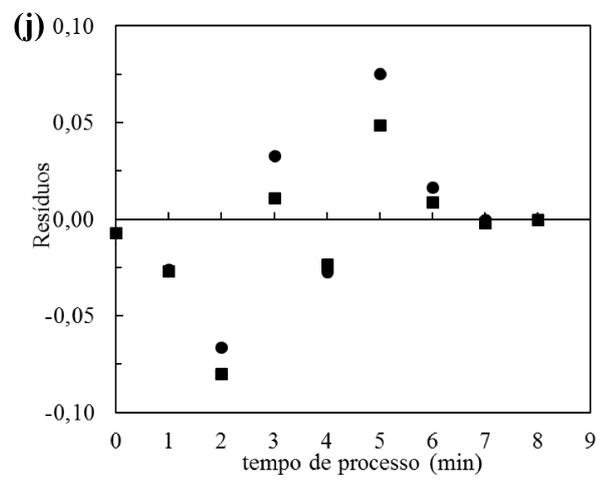
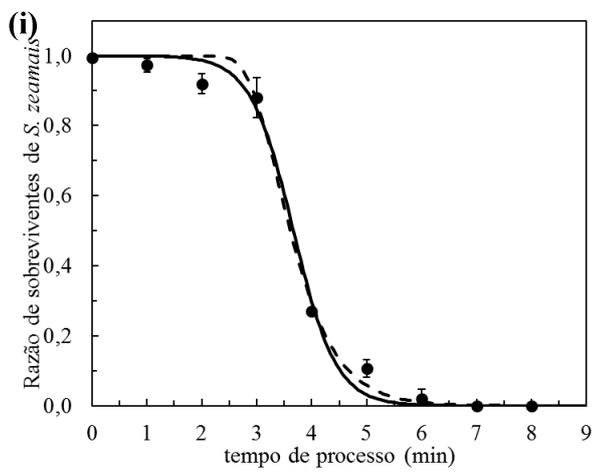
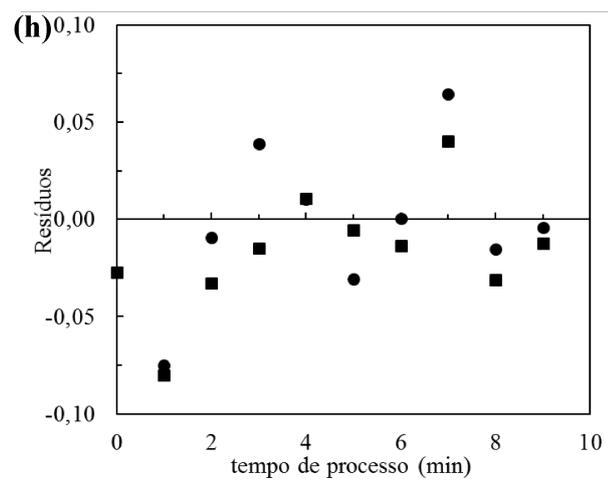
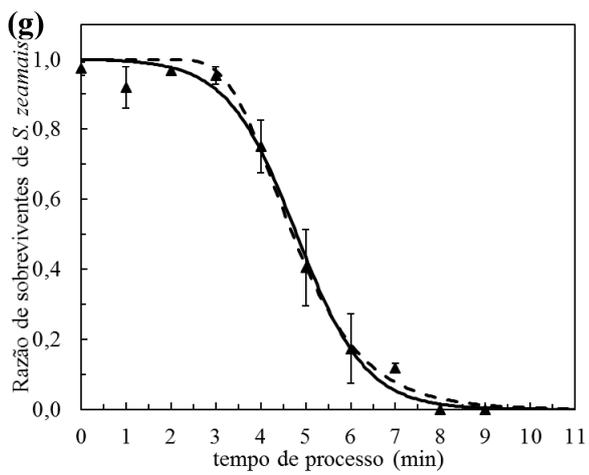


Fonte: Elaborada pela autora (2020).

APÊNDICE D – AJUSTES E RESÍDUOS DOS AJUSTES DOS MODELOS GOM_{AJ} E FER PARA A CINÉTICA DE MORTE TÉRMICA DE *S. zeamais* EM CONDIÇÕES ISOTÉRMICAS

Figura D - 1: Ajustes dos modelos sigmoides aos dados experimentais e resíduos dos ajustes dos modelos de Gompertz ajustado (---, ■) e Fermi (—, ●) nas temperaturas de: 46 °C (a, b), 50 °C (c, d), 54 °C (e, f), 58 °C (g, h) e 62 °C (i, j).

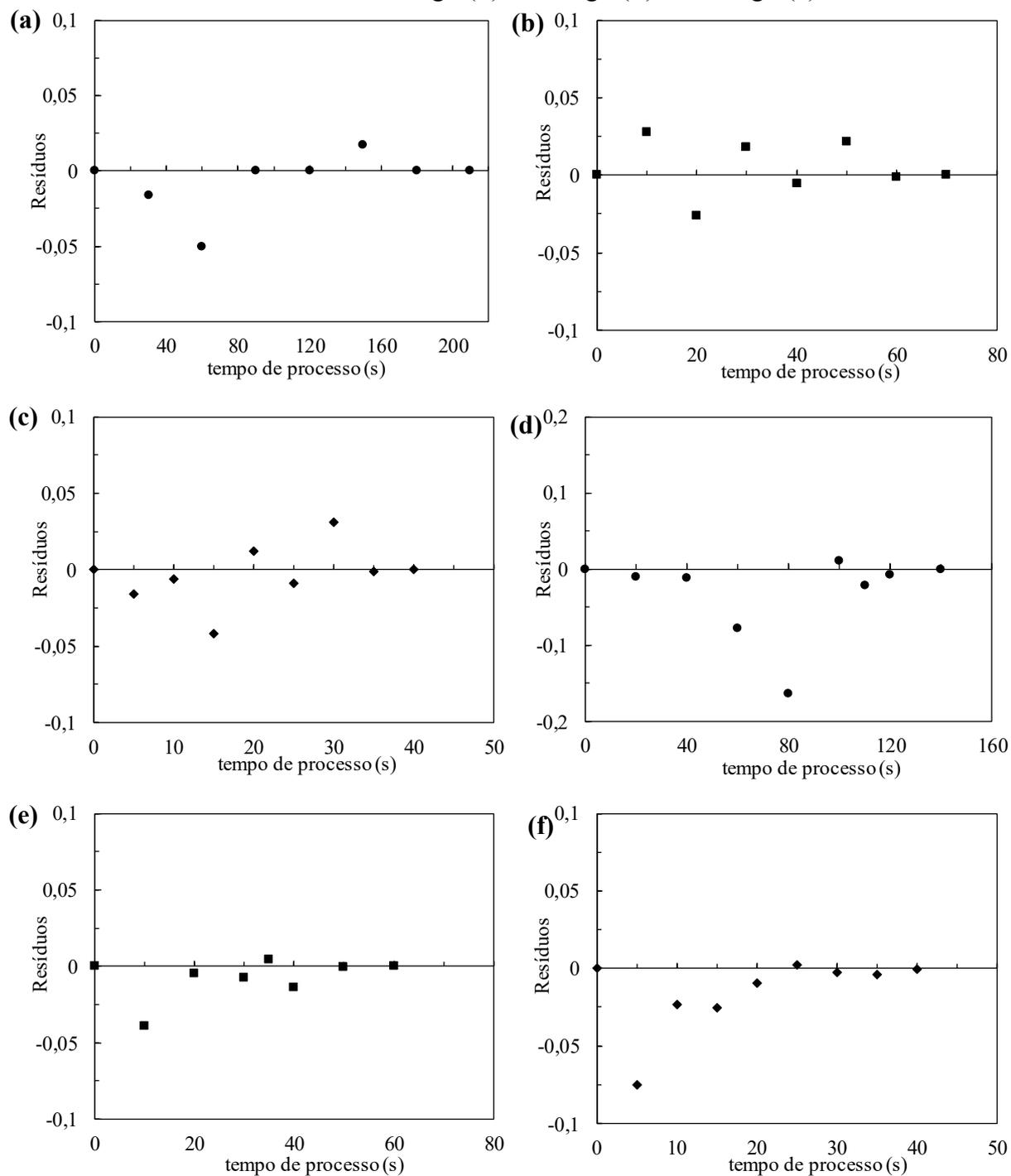




Fonte: Elaborada pela autora (2020).

**APÊNDICE E – RESÍDUOS DOS AJUSTES DO MODELO LOGÍSTICO PARA A
CINÉTICA DE DESINFETAÇÃO DE *S. zeamais* EM MICRO-ONDAS**

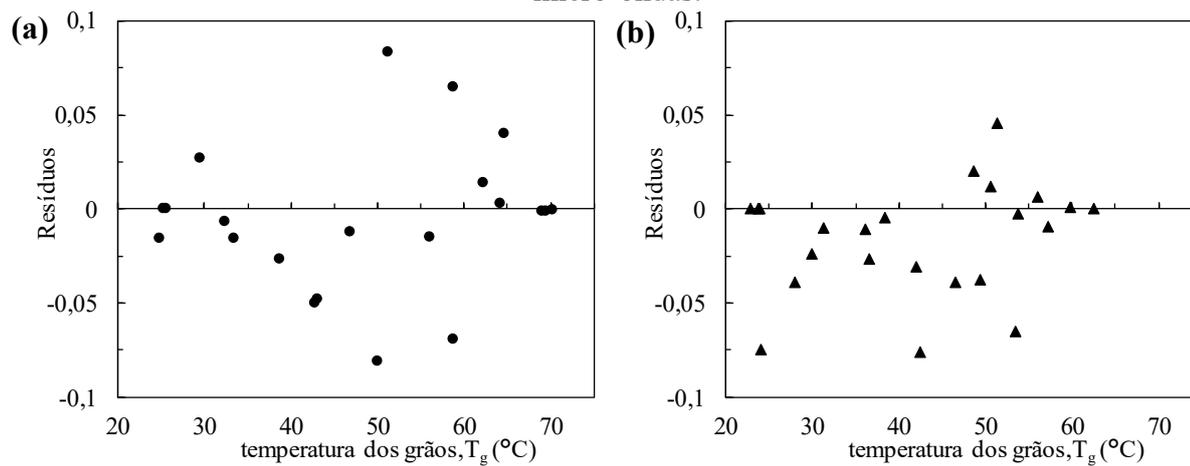
Figura E - 1: Resíduos dos ajustes do modelo logístico ajustado à cinética de desinfestação de *S. zeamais* na fase adulta (a, b, c) e larval (d, e, f) em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas a $1,2 \text{ W g}^{-1}$ (●), $3,0 \text{ W g}^{-1}$ (■) e $6,0 \text{ W g}^{-1}$ (◆).



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

**APÊNDICE F – RESÍDUOS DOS AJUSTES DO MODELOS LOGÍSTICO PARA A
DESINFETAÇÃO DE *S. zeamais* EM MICRO-ONDAS EM FUNÇÃO DA
TEMPERATURA**

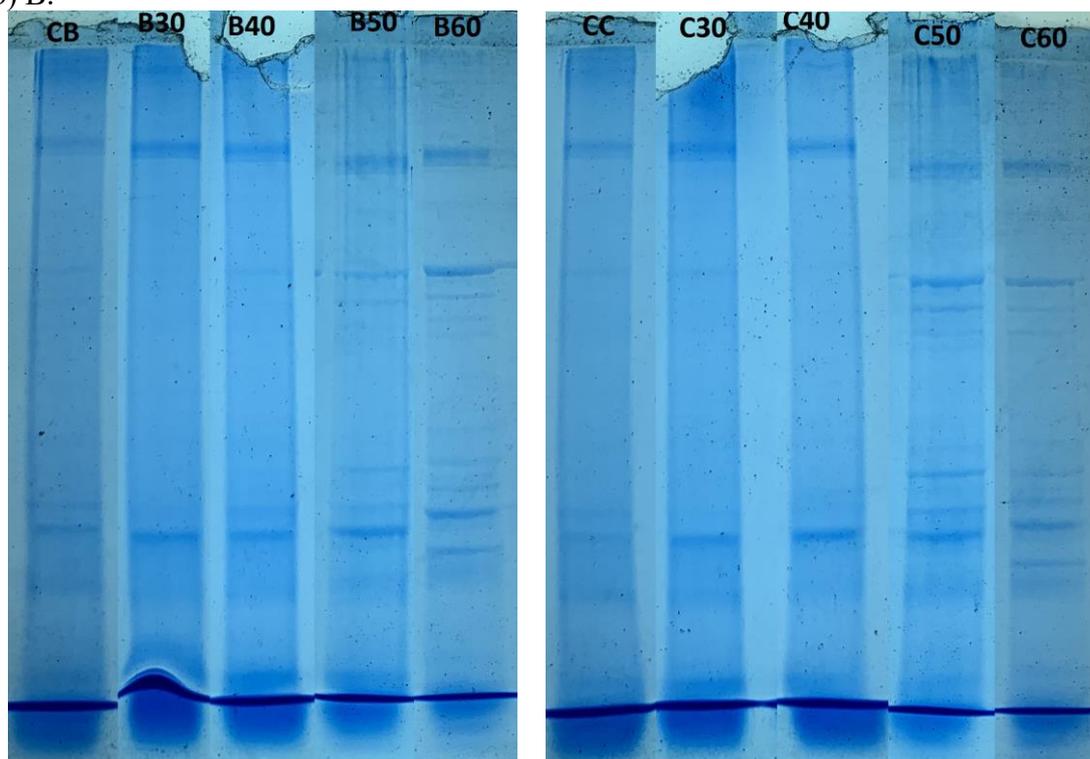
Figura F - 1: Resíduos dos ajustes do modelo logístico de desinfestação de *S. zeamais*, em função da temperatura na fase (a) adulta e (b) larval em grãos de milho por aquecimento em micro-ondas.



Fonte: Elaborada pela autora (2020).

**APÊNDICE G – GEL DE ELETROFORESE DOS INSETOS ADULTOS DE *S. zeamais*
SUBMETIDOS À DESINFESTAÇÃO EM MICRO-ONDAS (3 W g⁻¹)**

Figura G - 1: Géis de eletroforese 1- D (SDS - PAGE) das amostras dos insetos adultos submetidos à desinfestação em micro-ondas a 3,0 W g⁻¹ durante 30 s (B30, C30), 40 s (B40, C40), 50 s (B50, C50), 60 s (B60, C60) e controle (AC, CC) das réplicas experimentais (a) A e (b) B.



Fonte: Elaborada pela autora (2020).