

ARTUR OLIVEIRA ABREU

OZÔNIO COMO ALTERNATIVA PARA O CONTROLE DE *Callosobruchus maculatus* EM GRÃOS DE FEIJÃO-CAUPI

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

Orientadora: Lêda Rita D'Antonino Faroni

Coorientadores: Paulo Roberto Cecon
Adalberto Hipólito de Sousa

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

A162o
2020 Abreu, Artur Oliveira, 1993-
Ozônio como alternativa para o controle de *Callosobruchus maculatus* em grãos de feijão-caupi / Artur Oliveira Abreu. – Viçosa, MG, 2020.

1 dissertação eletrônica (48 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Leda Rita D'Antonino Faroni.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Engenharia Agrícola, 2020.

Referências bibliográficas: f. 42-48.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2021.238>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Feijão-caupi - Doenças e pragas - Controle biológico.
2. Feijão-caupi - Armazenamento. 3. Ozônio. 4. *Vigna unguiculata* - Controle biológico. I. Faroni, Leda Rita D'Antonino, 1953-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Engenharia Agrícola. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola. III. Título.

CDD 22. ed. 633.37297

Bibliotecário(a) responsável: Alice Regina Pinto CRB6 2523

ARTUR OLIVEIRA ABREU

OZÔNIO COMO ALTERNATIVA PARA O CONTROLE DE *Callosobruchus maculatus* EM GRÃOS DE FEIJÃO-CAUPI

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

APROVADA: 12 de março de 2020.

Assentimento:



Artur Oliveira Abreu
Autor



Lêda Rita D'Antonino Faroni
Orientadora

*Aos meus pais, Antonio da Silva Abreu e
Maria do Socorro Barros Oliveira,
aos meus irmãos,
ao meu avô Honorato Santana de Oliveira,
à minha noiva Sara Rafaela Salazar Matias*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo.

Aos meus pais, Maria do Socorro Barros Oliveira e Antonio da Silva Abreu, por todo o apoio, amor, ensinamentos e por serem minha motivação para a realização dos meus sonhos.

Aos meus irmãos pelo apoio, incentivo e pelos momentos de alegria.

À minha noiva, Sara Rafaela Salazar Matias, por todo o apoio, amor, cuidado, incentivo e paciência, principalmente nos momentos difíceis.

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

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

À professora Lêda Rita D'Antonino Faroni pela orientação, confiança e ensinamentos.

Aos professores Adalberto Hipólito de Sousa e Paulo Roberto Cecon, pela co-orientação, ensinamentos e contribuições para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus colegas de laboratório Marcus, Suely, Patrícia, Eridiane, João Victor, Daniel, Grazi, Ailyn, Jessica, Jessica Bravim, Samuel e Kesleyane por todo o apoio e companheirismo durante o mestrado.

Aos colegas e funcionários da universidade Lucas, José Geraldo e Edson por toda a ajuda nos experimentos e pelas conversas diárias.

Ao professor Ernandes, pela ajuda nas etapas finais do mestrado e orientações para a redação do texto.

Ao professor Gutierrez, pela amizade, confiança e pelos incentivos.

Ao Sr. Jorge e Sra. Cida, pela amizade, conversas e pelo acolhimento em Viçosa.

Aos meus colegas do alojamento da UFV, pelas conversas, momentos de alegria e pelo apoio nos momentos difíceis.

Aos meus colegas das Repúblicas Terreiro de Pai José e Vaca Magra, por compartilhar grandes vitórias, desafios e momentos de alegria juntos.

Às grandes amizades construídas em Viçosa, em especial ao Miro, Maria e Sra. Célia, pelos momentos de descontração e alegria. Obrigado!

A todos aqueles que passaram pela minha vida durante o mestrado e deixaram uma parcela de contribuição para meu crescimento pessoal e profissional. Meu muito obrigado!

“Disse-lhe Jesus: Eu sou o caminho, e a verdade e a vida; ninguém vem ao Pai, senão por mim”.

(João 14:6)

BIOGRAFIA

Artur Oliveira Abreu, filho de Antonio da Silva Abreu e Maria do Socorro Barros Oliveira, nasceu no município de Santa Inês, Estado do Maranhão, em 20 de outubro de 1993.

Em março de 2013 iniciou o curso de Bacharelado em Agronomia no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA), Campus Codó, graduando-se em fevereiro de 2018.

Em março de 2018 ingressou no Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, na área de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas, da Universidade Federal de Viçosa (UFV), sob orientação da Professora Lêda Rita D'Antonino Faroni, submetendo-se à defesa de dissertação em março de 2020.

RESUMO

ABREU, Artur Oliveira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2020. **Ozônio como alternativa para o controle de *Callosobruchus maculatus* em grãos de feijão-caupi.** Orientadora: Lêda Rita D'Antonino Faroni. Coorientadores: Paulo Roberto Cecon e Adalberto Hipólito de Sousa.

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma das leguminosas alimentares mais importantes nos trópicos semiáridos de várias regiões do mundo. As perdas durante o armazenamento de feijão-caupi são frequentes, principalmente devido a infestação por insetos-praga. O *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae) é um dos principais insetos-praga de feijão-caupi armazenado, e seu controle é realizado por meio do uso do gás fosfina (PH₃). O uso contínuo e indiscriminado da fosfina resultou em populações de insetos-praga resistentes a este inseticida. O gás ozônio (O₃) vem sendo utilizado como alternativa no controle destes insetos-praga durante o armazenamento. O objetivo deste estudo foi caracterizar a cinética de reação do gás ozônio em grãos de feijão-caupi, determinar sua atividade inseticida sobre insetos adultos de *C. maculatus* e avaliar a qualidade dos grãos após o processo de ozonização. Amostras de feijão-caupi foram expostas ao gás ozônio em uma vazão específica de 0,5 m³ min⁻¹ t⁻¹ e concentrações de ozônio de 500, 1.500, 2.500 e 3.500 µg L⁻¹. Estas condições foram adotadas para caracterizar a cinética de reação e determinar os tempos letais para os insetos. O tempo de cocção, o percentual de germinação, o teor de água e a condutividade elétrica foram as variáveis de qualidade avaliadas após a exposição dos grãos ao ozônio. As variáveis de qualidade dos grãos foram avaliadas nos tempos de exposição correspondentes ao TL₉₅ de cada concentração de ozônio. Para cada tempo de exposição ao ozônio, os grãos também foram expostos ao ar atmosférico. As amostras de feijão-caupi expostas ao ozônio nas concentrações de 500, 1.500, 2.500 e 3.500 µg L⁻¹ atingiram a condição de saturação após 45,18; 20,11; 16,86 e 14,70 min, respectivamente. O modelo cinético de primeira ordem foi o que melhor explicou o decaimento do ozônio nos grãos de feijão-caupi. As constantes da taxa de decomposição foram iguais a 0,0919; 0,0975; 0,1101 e 0,1050 min⁻¹ nas concentrações de 500, 1.500, 2.500 e 3.500 µg L⁻¹, respectivamente. Os tempos letais para os insetos adultos expostos às concentrações de ozônio de 500, 1.500, 2.500 e 3.500 µg L⁻¹ foram de 777,27; 133,27; 84,29 e 52,33 min (TL₅₀) e de 1.698,00; 331,20; 157,07 e 84,40 min (TL₉₅), respectivamente. A progênie adulta de *C. maculatus* foi reduzida com o aumento do tempo de exposição, em todas as concentrações de ozônio. O tempo de cocção, percentual de germinação e teor de água dos grãos foram

mantidos após a exposição ao ozônio, com exceção da condutividade elétrica, que diferiu entre os grãos expostos ao ozônio e ao ar atmosférico. Os resultados deste estudo indicam que o gás ozônio é eficaz no controle de *C. maculatus* e, em geral, não altera a qualidade dos grãos de feijão-caupi nas concentrações de entrada e tempos de exposição estudados.

Palavras-chave: Armazenamento. Insetos-praga. Ozônio. *Vigna unguiculata*.

ABSTRACT

ABREU, Artur Oliveira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March 2020. **Ozone gas as an alternative for controlling *Callosobruchus maculatus* in cowpea beans.** Advisor: Lêda Rita D'Antonino Faroni. Co-advisors: Paulo Roberto Cecon and Adalberto Hipólito de Sousa.

Cowpea beans (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) is one of the most important legumes cultivated for food purposes in many semiarid regions worldwide. However, storage-related losses are frequent, mostly due to infestation by plague insects. *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae) is the primary insect plaguing stored cowpea beans, and its control is usually done by applying phosphine gas (PH₃). Nevertheless, the continuous and indiscriminate use of phosphine has resulted in insect populations resistant to this insecticide. Alternatively, ozone gas (O₃) has been used for controlling this plague throughout storage. This study aimed to characterize the reaction kinetics of ozone gas in cowpea beans, determine its insecticidal activity against *C. maculatus* adult insects, and assess grain quality after ozonation. Samples of cowpea beans were exposed to the gas at a specific flow rate of 0.5 m³ min⁻¹ t⁻¹ and ozone concentrations of 500, 1,500, 2,500, and 3,500 µg L⁻¹. Such conditions were adopted in order to establish the reaction kinetics and the lethal time to the insects. The quality parameters evaluated after the exposition to ozone included the cooking time, percentage of germination, water content, and electrical conductivity of the grains. These features were appraised considering the exposure times corresponding to the TL₉₅, for each concentration, and these times were also employed to analogously subject sets of grains to atmospheric air. The cowpea bean samples submitted to ozone concentrations of 500, 1,500, 2,500, and 3,500 µg L⁻¹ reached the saturation conditions after 45.18, 20.11, 16.86, and 14.70 min, respectively. The ozone decay among the grains was best explained by a first-order model, which produced decomposition rate constants equal to 0.0919, 0.0975, 0.1101, and 0.1050 min⁻¹ for the respective concentrations of 500, 1,500, 2,500, and 3,500 µg L⁻¹. The lethal times at the ozone concentrations of 500, 1,500, 2,500, and 3,500 µg L⁻¹ were 777.27, 133.27, 84.29, and 52.33 min (TL₅₀), and 1,698.00, 331.20, 157.07, and 84.40 min (TL₉₅), respectively. *C. maculatus* adult progeny declined as the exposure time increased, at all ozone concentrations. The cooking time, germination percentage, and water content of the grains remained unaltered after the ozonation. In contrast, the electrical conductivity showed a difference between beans treated with ozone and those exposed to atmospheric air. The results of this study indicate that ozone gas controls *C. maculatus* effectively and, in general, does

not change the quality of cowpea beans at the input concentrations and exposure times appraised.

Keywords: Storage. Plague insects. Ozone. *Vigna unguiculata*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1. Feijão-caupi	14
2.2. <i>Callosobruchus maculatus</i>	16
2.3. Gás ozônio	17
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
3.1. Obtenção e caracterização do feijão-caupi	19
3.2. Criação dos insetos	20
3.3. Obtenção do gás ozônio	20
3.4. Condições de ozonização e configuração experimental	20
3.5. Cinética de reação do gás ozônio em grãos de feijão-caupi	21
3.6. Atividade inseticida do gás ozônio sobre <i>Callosobruchus maculatus</i>	23
3.7. Avaliação da qualidade do feijão-caupi	24
3.8. Análise estatística	25
4. RESULTADOS	26
4.1. Cinética de reação do gás ozônio em grãos de feijão-caupi	26
4.2. Atividade inseticida do gás ozônio sobre <i>Callosobruchus maculatus</i>	31
4.3. Avaliação da qualidade do feijão-caupi	34
5. DISCUSSÃO.....	36
6. CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS	42

1. INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma das leguminosas alimentares mais importantes nos trópicos semiáridos da Ásia, África, Sul da Europa, América Central e América do Sul (DEHPANDE et al., 2011). O grão de feijão-caupi contém 23 a 25% de proteínas e 50 a 67% de carboidratos (DEVI, KUSHWAHA e KUMAR, 2015). A presença de quantidades expressivas de proteínas, calorias e algumas vitaminas hidrossolúveis como riboflavina, piridoxina e folacina fazem do feijão-caupi um componente alimentar promissor (DEVI, KUSHWAHA e KUMAR, 2015; FABRI e CROSBY, 2016). Em algumas regiões o feijão-caupi é uma alternativa a outras fontes de proteína menos acessíveis como produtos lácteos e carnes (MANDA et al., 2019). Devido a importância do feijão-caupi na dieta básica de milhares de pessoas no mundo, estratégias de conservação pós-colheita são necessárias para que a qualidade dos grãos seja mantida durante o armazenamento.

A infestação por insetos-praga é uma das principais restrições para o armazenamento seguro de grãos em países tropicais (ADEDIRE et al., 2011). O gorgulho do feijão-caupi, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae) é um dos principais insetos-praga que infestam grãos de feijão-caupi na pós-colheita (BAOUA et al., 2012). A infestação começa no campo e se intensifica durante o armazenamento (DE SÁ et al., 2014). Devido o rápido crescimento populacional deste inseto, o nível de infestação dos grãos pode chegar a 100% em um período de 120 dias (SILVA et al., 2018). Os danos causados por *C. maculatus* incluem a redução do percentual de germinação, massa específica aparente e o aumento da condutividade elétrica da solução contendo os grãos (SILVA et al., 2018). Os grãos tornam-se inadequados para consumo humano e inviáveis para o replantio ou comercialização (OLIVEIRA et al., 2014).

O manejo de insetos-praga em instalações de armazenagem tem sido realizado por meio da combinação de diferentes métodos de controle. Estes métodos incluem desde operações como limpeza e aeração da massa de grãos até a utilização de inseticidas sintéticos (HANSEN et al., 2012). No Brasil, o controle de insetos-praga de produtos armazenados é realizado por meio da aplicação do fumigante fosfina e de inseticidas protetores do grupo dos organofosforados e piretróides (SOUSA et al., 2008). No entanto, o uso indiscriminado destes produtos foi associado a vários problemas, incluindo a toxicidade para organismos não-alvo, resistência de insetos praga, disseminação de resíduos, contaminação ambiental e toxicidade direta aos usuários (LORINI et al., 2007; PIMENTEL et al., 2009; BIONDI et al., 2012; KAUR, GILL e KAUR, 2019). Além disso, os níveis residuais de pesticidas nos alimentos e

os riscos que eles representam para a saúde do consumidor despertaram a preocupação da sociedade em relação ao uso destes produtos (FREITAS, FARONI e SOUSA, 2016).

Pesquisas realizadas nos últimos anos sugerem que o gás ozônio pode ser uma alternativa promissora no manejo de insetos-praga em produtos armazenados (IŞIKBER e ATHANASSIOU, 2015). Estudos revelaram que o tratamento com o gás ozônio em fluxo contínuo é eficaz no controle de diferentes fases de vida de várias espécies de insetos que infestam grãos durante o armazenamento (SOUSA et al., 2008; IŞIKBER e ÖZTEKIN, 2009; HOLMSTRUP et al., 2011; MCDONOUGH et al., 2011; SOUSA et al., 2012; HANSEN, HANSEN e JENSEN, 2013; PANDISELVAM et al., 2019; SILVA et al., 2019). O uso do ozônio na indústria de alimentos tem sido motivado pelas vantagens que o gás apresenta em relação aos pesticidas convencionais (KELLS et al., 2001, KHADRE, YOUSEF e KIM, 2001). Uma das principais vantagens é que o gás ozônio se decompõe em oxigênio molecular, sem deixar resíduos nos grãos (KELLS et al., 2001). Além disso, é um gás que pode ser gerado no local de aplicação, eliminando operações como armazenamento, transporte e descarte de embalagens (KELLS et al., 2001; KHADRE, YOUSEF e KIM, 2001).

Embora a atividade inseticida do gás ozônio seja conhecida, as características de escoamento em grãos armazenados e eficácia no controle de insetos-praga dependem de fatores como concentração, vazão específica, tempo de exposição e características do produto infestado (ALENCAR et al., 2011; MCDONOUGH et al., 2011; PAES et al., 2017; SILVA et al., 2019). Além disso, as respostas ao ozônio variam entre diferentes espécies (SOUSA et al., 2008). Estudos anteriores mostraram que o gás ozônio foi eficaz no controle de insetos-praga que infestam grãos de cereais, incluindo *Sitophilus zeamais* (SOUSA et al., 2012), *Rhizopertha dominica* (SUBRAMANYAM et al., 2017) e *Tribolium castaneum* (SOUSA et al., 2008). No entanto, existem poucas informações disponíveis na literatura sobre o uso do gás ozônio no manejo de insetos-praga que infestam grãos de leguminosas (Fabaceae), como *C. maculatus*. Além disso, é importante conhecer a concentração de ozônio no meio poroso, uma vez que essa variável é fundamental para estabelecer condições de controle (OLIVEIRA et al., 2020).

Para que o gás ozônio seja utilizado como fumigante no controle de insetos-praga, sua cinética de reação e efeito sobre grãos devem ser compreendidos (SILVA et al., 2019). O conhecimento de variáveis como tempo de saturação e constante da taxa de decomposição permite caracterizar o transporte do gás ozônio através da massa de grãos, avaliar a viabilidade técnica do processo de ozonização e dimensionar sistemas industriais para a aplicação do ozônio (ALENCAR et al., 2011; SILVA et al., 2019). As características do

escoamento do gás ozônio em grãos de feijão-caupi e o efeito na qualidade dos grãos ainda não foram documentados na literatura. Neste sentido, objetivou-se com este trabalho (i) caracterizar a cinética de reação do gás ozônio em grãos de feijão-caupi, (ii) determinar a atividade inseticida do gás ozônio para insetos adultos de *C. maculatus* e (iii) avaliar a qualidade dos grãos após o processo de ozonização.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Feijão-caupi

O feijão-caupi é uma cultura de origem africana, que é classificada como uma planta dicotiledônea, pertencente a ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Faboideae, tribo Phaseoleae, subtribo Phaseolineae, gênero *Vigna*, subgênero *Vigna*, secção *Catyang*, espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp. e subespécie *unguiculata*. Esta espécie é subdividida em quatro cultigrupos, *Unguiculata*, *Sesquipedalis*, *Biflora* e *Textilis* (SMARTT, 1990; PADULOSI e NG, 1997; FREIRE FILHO et al., 2011). No Brasil são cultivados dois destes grupos, os cultigrupos *Unguiculata*, destinado a produção de grão seco e feijão-verde, e *Sesquipedalis*, também conhecido como feijão-de-metro, utilizado para a produção de vagem (FREIRE FILHO et al., 2011).

O feijão-caupi é cultivado em regiões tropicais e subtropicais da África, Ásia, América, Europa e Oceania. Os principais países produtores são a Nigéria, o Níger e o Brasil (FREIRE FILHO et al., 2011). Os grãos de feijão-caupi possuem alto conteúdo proteico, energético, de fibras alimentares e de minerais, incluindo ferro, zinco, potássio, fósforo e magnésio (FROTA, SOARES e ARÊAS, 2008). As características nutricionais associadas ao baixo custo de produção fazem do feijão-caupi uma das principais culturas alimentares das regiões tropicais (FROTA, SOARES e ARÊAS, 2008). Segundo dados da Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), a produção mundial do feijão-caupi no ano de 2018 foi de aproximadamente 7,2 milhões de toneladas, em aproximadamente 12,5 milhões de hectares (FAOSTAT, 2020).

A introdução da cultura do feijão-caupi no Brasil foi feita por colonizadores portugueses, na segunda metade do século XVI (FREIRE FILHO, 1988). No Brasil, o feijão-caupi é um componente alimentar básico das populações rurais e urbanas das regiões Norte e Nordeste (FREIRE FILHO et al., 2011). Na região Nordeste, a produção é concentrada nas áreas semiáridas, onde outras leguminosas anuais, em razão da irregularidade das chuvas e das altas temperaturas, não se desenvolvem satisfatoriamente (FREIRE FILHO et al., 2011).

Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), a produção brasileira de feijão-caupi na safra 2018/19 foi de aproximadamente 637,7 mil toneladas. Esta produção resultou de aproximadamente 1,27 milhões de hectares plantados no país. As regiões Norte e Nordeste foram responsáveis por 87% da área de feijão-caupi cultivada na safra 2018/19. A região nordeste registrou a maior produção, com aproximadamente 409,3 mil toneladas, seguida da região Centro-Oeste, com produção estimada em 155,3 mil toneladas (CONAB, 2019). Na Tabela 1 são apresentadas as estimativas de área plantada, produtividade e produção de feijão-caupi no Brasil, na safra de 2018/19.

Tabela 1 – Estimativa de área plantada, produtividade e produção de feijão-caupi no Brasil, na safra 2018/19.

REGIÃO/UF	ÁREA (Em mil ha)	PRODUTIVIDADE (Em kg/ha)	PRODUÇÃO (Em mil t)
NORTE	69,5	920	64
RR	3	2.160	6,5
AC	1,9	647	1,2
AM	3,5	900	3,2
PA	32,2	800	25,8
TO	28,9	944	27,3
NORDESTE	1.047,70	391	409,3
MA	46,4	625	29
PI	197,2	420	82,7
CE	359,5	305	109,6
RN	51,1	482	24,6
PB	68,1	294	20
PE	136,8	319	43,7
AL	7,3	537	3,9
BA	181,3	528	95,8
CENTRO-OESTE	142,4	1.090	155,3
MT	130,2	1.094	142,4
DF	0,2	1.350	0,3
SUDESTE	16,6	553	9,1
MG	16,6	553	9,1
NORTE/NORDESTE	1.117,20	424	473,3
CENTRO-SUL	159	1.034	164,4
BRASIL	1.276,20	500	637,7

Fonte: (CONAB, 2019).

O feijão-caupi possui três seguimentos de mercado bem consolidados, que incluem o mercado de grãos secos, de feijão verde e de sementes (FREIRE FILHO et al., 2011). Entre estes produtos comerciais, o grão seco representa quase a totalidade do mercado de feijão-caupi. O feijão verde e a semente são mercados em crescimento. No mercado de grãos secos, nas regiões Norte e Nordeste, o feijão-comum e o feijão-caupi competem por mercado, e sempre que há uma queda na oferta de feijão-caupi, o mercado é abastecido por feijão-comum de outras regiões do país (FREIRE FILHO et al., 2011).

Após a colheita, os grãos são armazenados na propriedade rural ou em instalações de armazenamento até a distribuição ou o processamento (CHIDANANDA et al., 2014). Durante o armazenamento, os grãos sofrem alterações fisiológicas que resultam em perdas qualitativas e quantitativas (CHIDANANDA et al., 2014). Estas perdas geralmente estão associadas às condições inadequadas de armazenamento e a infestação por insetos-praga (SILVA et al., 2018). Uma das principais alterações fisiológicas que ocorrem durante o armazenamento inadequado é o aumento da atividade metabólica dos grãos. A taxa respiratória de grãos de leguminosas ou de qualquer material biológico está intimamente relacionada à sua atividade metabólica, que é influenciada por fatores bióticos e abióticos (CHIDANANDA et al., 2014). O aumento da taxa respiratória, em resposta a fatores como temperatura, umidade relativa e teor de água dos grãos resulta no maior consumo de reservas, e conseqüentemente, perdas na qualidade (CHIDANANDA et al., 2014). Perdas adicionais incluem a redução do valor nutricional; alterações nas características de cozimento; perda de valor de mercado e perda de viabilidade, quando os grãos danificados por bruquídeos são usados como semente (MUTUNGI et al., 2020). Para o feijão-caupi, o gorgulho *C. maculatus*, é o principal inseto-praga que infesta os grãos durante o armazenamento (BAOUA et al., 2012).

2.2. *Callosobruchus maculatus*

O gorgulho do feijão-caupi, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae), também conhecido como besouro do feijão ou besouro da semente de feijão-caupi, é uma praga cosmopolita de leguminosas armazenadas (Fabaceae) (KRZYŻOWSKI et al., 2019), particularmente do gênero *Vigna* (COPE e FOX, 2003). O período entre a fase de ovo e a fase adulta de *C. maculatus* é completado em 22 dias sob temperatura de 32,5 °C e umidade relativa de 70%, que são as condições ótimas para o desenvolvimento dessa espécie (LIMA et al., 2001).

As fêmeas de *C. maculatus* fixam seus ovos na superfície dos grãos, aproximadamente seis dias depois, as larvas de primeiro ínstar eclodem e penetram no tegumento dos grãos (OLIVEIRA et al., 2014). As larvas não se movimentam entre os grãos, portanto são restritas ao grão escolhido pela fêmea (COPE e FOX, 2003). O desenvolvimento larval (quatro ínstars) e a fase de pupa são concluídos inteiramente dentro de um único grão (OLIVEIRA et al., 2014). Os besouros adultos emergem entre 25 e 30 dias após a oviposição (SOUZA et al., 2011). Os insetos saem dos grãos por meio de uma “janela pupal”, e são capazes de acasalar e ovipositar horas depois da emergência (DICK e CREDLAND, 1984). O estágio larval é o mais destrutivo, e dentro de um único grão podem se desenvolver mais de uma larva

(GBAYE, MILLARD e HOLLOWAY, 2011). Os adultos emergidos não necessitam de alimento e nem de água para se reproduzir (COPE e FOX, 2003).

O armazenamento de grãos de feijão-caupi é comprometido pela infestação por *C. maculatus* (SILVA et al., 2018). Os danos causados pelos insetos incluem a perda de peso e redução do poder germinativo e do valor nutritivo dos grãos e sementes. Além dos danos diretos, grãos com a presença de excrementos, ovos e insetos podem ser rejeitados pelos consumidores (ALMEIDA et al., 2005). Segundo Southgate (1979), uma única larva de *C. maculatus* é capaz de reduzir até um quarto do cotilédone de uma semente de feijão-caupi de tamanho médio.

O controle de *C. maculatus*, bem como o de outros insetos-praga de grãos armazenados, é realizado por meio do uso de inseticidas sintéticos (ALMEIDA et al., 2005). No Brasil, apenas o fosfeto de magnésio, que é precursor da fosfina, é recomendado para o controle de *C. maculatus* em grãos de feijão-caupi (AGROFIT, 2020). No entanto, o desenvolvimento de mecanismos de resistência de insetos-praga de produtos armazenados a fosfina (LORINI et al., 2007; PIMENTEL et al., 2009), tem motivado a busca por novas alternativas de controle.

2.3. Gás ozônio

O ozônio é uma forma alotrópica do oxigênio (KIM, YOUSEF e DAVE, 1999). Em temperatura ambiente, é um gás com odor pungente característico, e pode ser detectado pelo olfato humano em concentrações entre 0,02 e 0,04 ppm (KIM, YOUSEF e DAVE, 1999; KHADRE, YOUSEF e KIM, 2001). É um gás incolor em baixas concentrações e em temperatura ambiente, e apresenta coloração azulada em altas concentrações. A -112°C , o ozônio condensa como um líquido azul escuro (GUZEL-SEYDIM et al., 2004). Na estratosfera, é formado naturalmente em pequenas concentrações pela ação da radiação solar ultravioleta em moléculas de oxigênio (KIM, YOUSEF e DAVE, 1999). Uma pequena quantidade de ozônio também é formada na troposfera como subproduto de reações fotoquímicas entre hidrocarbonetos, oxigênio e nitrogênio (KIM, YOUSEF e DAVE, 1999).

O gás ozônio pode ser produzido artificialmente pelo método de descarga corona (TIWARI et al., 2010). Neste método, uma descarga de alta tensão é aplicada em um fluxo de ar atmosférico ou oxigênio puro, entre dois eletrodos, que resulta na divisão da molécula de oxigênio. Os átomos do oxigênio dividido se recombinam com outras moléculas de oxigênio e formam o gás ozônio (KIM, YOUSEF e DAVE, 1999; TIWARI et al., 2010). Se o ar atmosférico for utilizado como gás de alimentação, 1 a 3% de ozônio pode ser produzido. No

entanto, se o oxigênio puro for utilizado, os rendimentos podem chegar a 6% de ozônio (RICE et al., 1981).

Os métodos analíticos para a determinação do ozônio podem ser agrupados em métodos físicos, físico-químicos e químicos (KIM, YOUSEF e DAVE, 1999; KHADRE, YOUSEF e KIM, 2001). Os métodos físicos são baseados na medição de propriedades específicas do ozônio, como a intensidade de absorção na região do espectro ultravioleta, do visível e do infravermelho (KIM, YOUSEF e DAVE, 1999; KHADRE, YOUSEF e KIM, 2001). Os métodos físico-químicos medem os efeitos físicos de reação de ozônio com diferentes reagentes, incluindo a luminescência química e o calor liberado na reação (KIM, YOUSEF e DAVE, 1999; KHADRE, YOUSEF e KIM, 2001). Os métodos químicos medem a quantidade dos produtos liberados da reação do ozônio com um reagente químico, como o iodeto de potássio (KI) (KIM, YOUSEF e DAVE, 1999; KHADRE, YOUSEF e KIM, 2001). Entre os métodos químicos para a quantificação do ozônio, o método iodométrico é um dos mais utilizados. Neste método, o ozônio oxida o íon iodeto, liberando iodo, que é então titulado com tiosulfato de sódio até o ponto final da titulação, identificado pelo uso do amido (KHADRE, YOUSEF e KIM, 2001). O método iodométrico foi aprovado pela International Ozone Association (IOA) para a quantificação do ozônio (GORDON e GRUNWELL, 1983)

O gás ozônio possui diversas aplicações agrícolas, incluindo a preservação de frutas e legumes, desinfestação de alimentos, degradação de pesticidas e o controle de insetos-praga de grãos e subprodutos armazenados (KIM, YOUSEF e DAVE, 1999; KHADRE, YOUSEF e KIM, 2001; CULLEN et al., 2009; TIWARI et al., 2010; PANDISELVAM, et al., 2020). O ozônio foi apontado como uma alternativa ao gás fosfina no armazenamento de grãos, apresentando eficácia no controle de diversas espécies de insetos-praga, incluindo *Sitophilus zeamais* (KELLS et al., 2001; MCDONOUGH et al., 2011; SOUSA et al., 2012; SILVA et al., 2019), *S. granarius* (HANSEN, HANSEN e JENSEN, 2012), *Rhizopertha dominica* (SOUSA et al., 2008; SILVA et al., 2016; SUBRAMANYAM et al., 2017), *Tribolium castaneum* (KELLS et al., 2001; SOUSA et al., 2008; IŞIKBER e ÖZTEKIN, 2009; MCDONOUGH et al., 2011), *Sitotroga cerealella* (HANSEN, HANSEN e JENSEN, 2012), *Plodia interpunctella* (KELLS et al., 2001), *Ephestia kuehniella* (IŞIKBER e ÖZTEKIN, 2009) e *Callosobruchus maculatus* (PANDISELVAM et al., 2019).

Além da atividade inseticida para insetos-praga de grãos armazenados, vários estudos foram realizados nos últimos anos com o objetivo de obter informações sobre o comportamento do gás ozônio em diferentes produtos agrícolas (ALENCAR et al., 2011; PAES et al., 2017; SILVA et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2020). A maioria destes estudos

forneceu informações sobre o tempo de saturação e a cinética de decomposição do gás ozônio nestes materiais (ALENCAR et al., 2011; SILVA et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2020). O conhecimento dos mecanismos envolvidos no transporte do gás ozônio na massa de grãos permite o planejamento de aplicações em larga escala, bem como o dimensionamento de sistemas industriais para a aplicação do ozônio (ALENCAR et al., 2011; SILVA et al., 2019). Além disso, é importante estabelecer condições de aplicação que controlem os insetos-praga e mantenham a qualidade do produto após a ozonização. Alguns estudos mostraram que a exposição ao gás ozônio em condições letais para os insetos-praga não alterou os atributos de qualidade de diferentes produtos agrícolas (MENDEZ et al., 2003; SILVA et al., 2016; SILVA et al., 2019).

O gás ozônio apresenta diversas vantagens em relação aos inseticidas convencionais. Dentre as principais vantagens destacam-se: o ozônio é instável em condições ambientais e se decompõe em oxigênio molecular, sem deixar resíduos (KHADRE, YOUSEF e KIM, 2001; KELLS et al 2001); o ar atmosférico ou o oxigênio são insumos para a produção industrial do ozônio e são abundantes e inesgotáveis (KHADRE, YOUSEF e KIM, 2001); o gás ozônio pode ser produzido no local da aplicação, dispensando o transporte e o descarte de embalagens (KHADRE, YOUSEF e KIM, 2001). Além disso, a aplicação do gás ozônio foi reconhecida como segura pela FDA (Food and Drug Administration) (FDA 2001). Estas e outras vantagens fazem do gás ozônio uma alternativa promissora para o controle de insetos-praga de produtos armazenados.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Pós-Colheita, localizado no setor de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas do Departamento de Engenharia Agrícola (DEA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

3.1. Obtenção e caracterização do feijão-caupi

Foram utilizados grãos de feijão-caupi da variedade BRS Guariba, adquiridos no município de Timon, Estado do Maranhão, Brasil. O feijão-caupi foi armazenado em câmara fria sob temperatura de 5 ± 2 °C até a utilização nos experimentos. Após a caracterização inicial, os grãos apresentavam percentual de germinação de 98,63%, teor de água de 11,44% b.u., condutividade elétrica de $126,71 \mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ e tempo de cocção de 13,71 min.

3.2. Criação dos insetos

Insetos adultos da espécie *C. maculatus* foram utilizados nos experimentos. As criações foram feitas a partir de insetos coletados no município de Crato, Ceará, Brasil (MOURA et al., 2019). Para a obtenção das criações, 100 insetos adultos, não-sexados, com idade de até 48 h, foram acondicionados em frascos de vidro com capacidade de 1,6 L, juntamente com o substrato alimentar. Grãos de feijão-caupi (BRS Guariba) com teor de água de 11,50% b.u. foram utilizados para a manutenção das criações. As tampas dos frascos de vidro foram perfuradas e revestidas com tecido tipo organza, para permitir as trocas gasosas e impedir a fuga dos insetos. Os frascos foram mantidos em uma sala de criação climatizada, no Laboratório de Pós-Colheita DEA/UFV, sob temperatura de 27 ± 2 °C, umidade relativa de $70\pm 5\%$ e escotofase de 12 h.

3.3. Obtenção do gás ozônio

O gás ozônio foi obtido por meio de um gerador de ozônio modelo O&L3 ORM (Ozone & Life, São José dos Campos, SP, Brasil), com funcionamento baseado no método de Descarga em Barreira Dielétrica (DBD). O insumo utilizado para a produção do gás ozônio foi o oxigênio. O oxigênio, isento de umidade e com pureza de $90\pm 3\%$, foi produzido por um concentrador de oxigênio (Mark 5 Plus Oxygen Concentrator). A vazão utilizada para a produção de ozônio foi de $1,5 \text{ L min}^{-1}$. A quantificação da concentração residual do ozônio foi feita por meio de titulação indireta, pelo método iodométrico, conforme descrito por Clescerl, Greenberg e Eaton (2000). Este método é reconhecido pela Associação Internacional de Ozônio (IOA).

3.4. Condições de ozonização e configuração experimental

Para estudar a cinética de reação do gás ozônio em feijão-caupi, a atividade inseticida do gás ozônio para *C. maculatus* e a qualidade dos grãos após a ozonização, amostras de 3 kg de feijão-caupi foram expostas às concentrações de ozônio de 500, 1.500, 2.500 e $3.500 \mu\text{g L}^{-1}$. As concentrações foram definidas em testes preliminares e se encontram dentro de uma faixa de concentrações utilizadas anteriormente em outras investigações com grãos e cereais (SILVA et al., 2016; SILVA et al., 2019). Um protótipo cilíndrico de PVC (0,29 m x 0,20 m) foi utilizado para aplicação do gás ozônio na massa de grãos. Pontos de injeção e saída do gás foram instalados na base e no topo da coluna cilíndrica, respectivamente. Uma chapa perfurada foi fixada a 0,10 m da base do cilindro, simulando um *plenum*, para sustentar os grãos e uniformizar a distribuição do gás durante o processo de ozonização. A quantificação

do ozônio residual foi realizada no topo da coluna cilíndrica, sobre a massa de grãos. O ozônio residual foi direcionado para um ponto de degradação, que foi composto por um frasco de vidro contendo uma solução de iodeto de potássio (KI) 2% (SILVA et al., 2019). O gás ozônio foi injetado na base da coluna de grãos em uma vazão específica de $0,5 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1} \text{ t}^{-1}$. A vazão utilizada se encontra dentro dos limites recomendados para o processo de aeração de grãos (KALIYAN et al., 2007; SILVA et al., 2019). Um esquema da configuração experimental utilizada é apresentado na Figura 1.

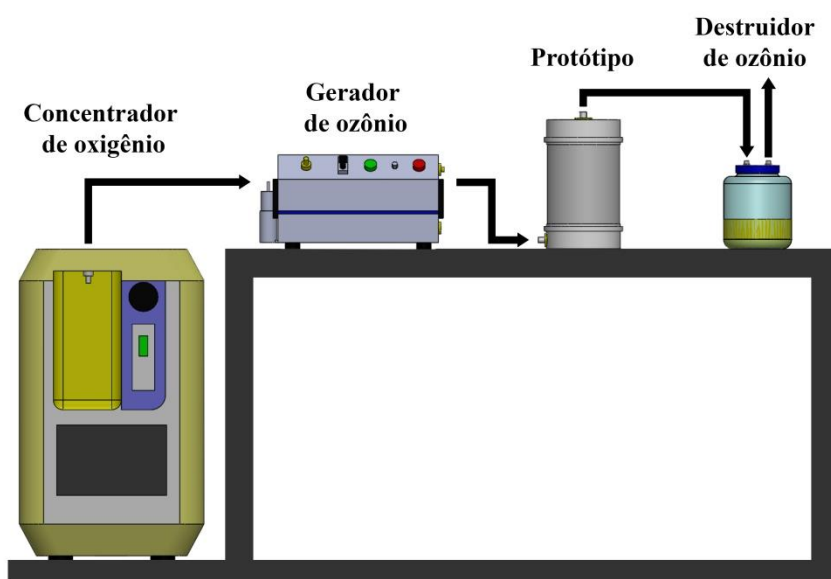


Figura 1 – Configuração experimental utilizada nos ensaios.

3.5. Cinética de reação do gás ozônio em grãos de feijão-caupi

Tempo de saturação e concentração de saturação

O tempo de saturação foi determinado para todas as concentrações de ozônio (500, 1.500, 2.500 e $3.500 \mu\text{g L}^{-1}$). O procedimento foi realizado conforme metodologia descrita por Alencar et al. (2011). Para isso, o gás ozônio foi injetado na base da coluna de grãos e a concentração foi monitorada em intervalos de tempo regulares, no ponto de saída do gás. A condição de saturação da massa de grãos foi alcançada quando as leituras da concentração de ozônio assumiram valores constantes. Uma equação sigmoideal foi ajustada aos dados experimentais para explicar a relação entre a concentração e o tempo de exposição (Equação 1).

$$C = \frac{a}{\left(1 + e^{-\left(\frac{t-b}{c}\right)}\right)}$$

(Equação 1)

Em que:

C = concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)

t = tempo (min);

a, b e c = constantes da equação.

O tempo de saturação, para cada concentração, foi obtido a partir dos valores das constantes b e c da equação sigmoideal ajustada aos dados de saturação, por meio da Equação 2 (ALENCAR et al., 2011; VENEGAS, HARRIS e SIMON, 1998). A partir do tempo de saturação foi possível calcular a concentração de saturação, por meio da Equação 1.

$$t_{\text{sat}} = b + 2c \quad (\text{Equação 2})$$

Em que:

t_{sat} = Tempo de saturação.

Cinética de decomposição

A cinética de decomposição do gás ozônio em feijão-caupi foi determinada para todas as concentrações (500, 1.500, 2.500 e 3.500 $\mu\text{g L}^{-1}$). O procedimento foi realizado conforme metodologia adaptada de Alencar et al. (2011). Com a massa de grãos saturada, o fluxo de gás foi interrompido e o ozônio passou a se decompor naturalmente no espaço intergranular (ALENCAR et al., 2011; SILVA et al., 2019). As leituras da concentração residual foram realizadas em intervalos de tempo regulares (2 min). Para a quantificação do ozônio, um aporte de oxigênio foi injetado na base da coluna de grãos em uma vazão de 1,5 L, para direcionar o gás para o ponto de leitura. O procedimento foi repetido até o momento em que não foi mais possível quantificar o ozônio pelo método iodométrico.

Para determinar a cinética de decomposição, modelos cinéticos de ordem zero, de primeira ordem e de segunda ordem foram ajustados aos dados de concentração do gás ozônio em função do tempo de exposição (Tabela 2) (WRIGHT, 2004).

Tabela 2: Modelos de cinética de reação.

Ordem	Equação diferencial	Equação integrada e linearizada	Tempo de meia vida
0	$\frac{dC}{dt} = -k$	$C = C_0 - kt$	$t_{1/2} = \frac{C_0}{2k}$
1	$\frac{dC}{dt} = -kC$	$C = \ln C_0 - kt$	$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$
2	$\frac{dC}{dt} = -kC^2$	$\frac{1}{C} = \frac{1}{C_0} + kt$	$t_{1/2} = \frac{1}{kC_0}$

C - Concentração de ozônio ($\mu\text{g L}^{-1}$); C_0 - Concentração inicial de ozônio ($\mu\text{g L}^{-1}$); k - Constante da taxa de decomposição (s^{-1}) e t - Tempo (s).

A constante da taxa de decomposição (k) foi determinada após o ajuste dos modelos integrados e linearizados, por meio do coeficiente angular da equação ajustada. O tempo de meia vida ($t_{1/2}$) do gás ozônio nos grãos de feijão-caupi, para cada concentração, foi obtido a partir dos valores da constante da taxa de decomposição, por meio das equações apresentadas na Tabela 2 (WRIGHT, 2004):

3.6. Atividade inseticida do gás ozônio sobre *Callosobruchus maculatus*

Toxicidade e progênie adulta

Curvas de tempo-mortalidade foram utilizadas para estimar os tempos letais do gás ozônio para 50 e 95% dos insetos (TL_{50} e TL_{95}) nas concentrações de 500, 1.500, 2.500, 3.500 $\mu\text{g L}^{-1}$. Inicialmente, foram estabelecidos testes preliminares para obter os tempos de exposição que resultassem em 5 e 95% de mortalidade. Posteriormente, intervalos de tempo intermediários foram propostos para a realização dos ensaios definitivos. Nos ensaios foram utilizados insetos adultos de *C. maculatus*, não-sexados, com idade de até 48 h.

A exposição dos insetos ao gás ozônio e ao ar atmosférico foi realizada em protótipo, conforme descrito no item 3.4. Para conter os insetos foram confeccionadas gaiolas com armação em PVC (0,06 m x 0,05 m) e revestidas com tecido tipo organza para permitir a passagem do gás ozônio e do ar atmosférico durante os experimentos. Quatro gaiolas contendo 10 g de grãos de feijão-caupi e 20 insetos adultos de *C. maculatus* foram inseridas na camada superior da massa de grãos. Os grãos e os insetos foram expostos ao gás ozônio nas concentrações de 500, 1.500, 2.500 e 3.500 $\mu\text{g L}^{-1}$ e pelos tempos de exposição que resultaram em 5 a 95% de mortalidade. A mortalidade dos insetos foi avaliada 48 h após o período de exposição ao gás ozônio. Os insetos foram considerados mortos quando não respondiam aos estímulos realizados com o auxílio de um pincel. O número de insetos mortos no tratamento com o ar atmosférico foi utilizado para a correção da mortalidade (ABBOT, 1925).

A progênie adulta de *C. maculatus* foi avaliada a partir dos insetos expostos ao gás ozônio no ensaio de toxicidade. Para cada concentração e tempo de exposição ao ozônio, os grãos de feijão-caupi contendo os insetos foram transferidos das gaiolas para recipientes plásticos com tampas perfuradas. Os recipientes foram mantidos em câmara climatizada sob temperatura de 30 ± 2 °C e umidade relativa de $70 \pm 5\%$ por 40 dias. Após esse período, a progênie adulta de *C. maculatus* foi contabilizada, subtraindo-se o número inicial de insetos.

3.7. Avaliação da qualidade do feijão-caupi

A qualidade dos grãos de feijão-caupi foi avaliada após a exposição ao gás ozônio e ao ar atmosférico. Os tempos de exposição corresponderam ao tempo letal para 95% (TL₉₅) de *C. maculatus*, nas concentrações de ozônio de 500, 1.500, 2.500 e 3.500 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os grãos foram expostos ao ar atmosférico nas mesmas condições em que o gás ozônio foi aplicado, ou seja, para cada concentração de ozônio os grãos também foram expostos ao ar atmosférico nos tempos de exposição correspondentes a TL₉₅. Após a aplicação do gás ozônio e ar atmosférico, a massa de grãos foi removida do protótipo, homogeneizada, e uma amostra de trabalho foi retirada para a realização das análises e determinações.

Teor de água

O teor de água dos grãos de feijão-caupi foi determinado por meio do método padrão da estufa (ASAE, 2004). Para cada unidade experimental, três amostras de 30 g de feijão-caupi foram separadas e pesadas em balança analítica com precisão de 0,0001 g. Em seguida, as amostras foram acondicionadas em recipientes de alumínio e o peso total das amostras foi aferido. As amostras foram transferidas para uma estufa com circulação forçada de ar regulada à temperatura de 103 ± 1 °C. Após o período de 72 h, as amostras foram novamente pesadas e o teor de água foi obtido por diferença de massa. O resultado foi expresso em porcentagem em base úmida (% b.u.).

Germinação

O percentual de germinação dos grãos de feijão-caupi foi determinado de acordo com a metodologia descrita pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Para cada unidade experimental, quatro amostras de 50 grãos foram distribuídas sobre duas folhas de papel germitest, cobertas por uma terceira folha e umedecidas com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel. As amostras foram embrulhadas na forma de rolos e foram acondicionadas em um germinador (25 °C). A contagem final foi realizada oito dias após o início do teste. O número de grãos germinados foi considerado para a obtenção do percentual de germinação. Os resultados foram expressos em porcentagem média de germinação (%).

Condutividade elétrica

A condutividade elétrica da solução contendo os grãos de feijão-caupi foi determinada conforme metodologia descrita por Vieira et al. (2002), por meio do método conhecido como “Sistema de copo” ou “Condutividade de massa”. Para cada unidade experimental, quatro

amostras de 50 grãos de feijão-caupi foram separadas e pesadas em balança analítica com precisão de 0,0001 g. Em seguida, os grãos foram adicionados em copos plásticos de 200 mL juntamente com 75 mL de água destilada. Os recipientes foram colocados em uma incubadora do tipo D.B.O. e mantidos por um período de 24 h. Após o período de tempo estabelecido, as leituras foram realizadas em um medidor de condutividade elétrica, modelo CA-150, da marca Tecnopon. O valor da condutividade elétrica fornecido pelo equipamento foi dividido pela massa (g) dos 50 grãos e expresso com base na massa seca da amostra, em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$.

Tempo de cocção

O tempo de cocção das amostras de feijão-caupi foi determinado a partir de um aparelho cozedor de Mattson (MATTSON, 1946; JACKSON e VARRIANO-MARSTON, 1981). O aparelho possui 25 êmbolos com 21,6 cm de comprimento e peso de 82,0 g cada. Na extremidade, o êmbolo apresenta uma ponta afunilada com 0,2 mm de diâmetro e 0,9 mm de comprimento, que fica apoiada perpendicularmente sobre o grão (RESENDE et al., 2008). Para cada unidade experimental, quatro amostras de 50 g de feijão-caupi foram embebidas em 200 ml água destilada à temperatura de 25 °C. O período de imersão utilizado para os grãos de feijão-caupi foi de 12 h (ÁVILA et al., 2015). Após esse período, 25 grãos inteiros e com o tegumento intacto foram selecionados e posicionados na base do aparelho. Em seguida, cada êmbolo foi cuidadosamente posicionado sobre os grãos. O aparelho foi colocado em um recipiente metálico contendo 1,5 L de água destilada em estado de ebulição. A temperatura da água foi monitorada durante o cozimento e apresentou valores constantes (97 ± 2 °C). Um cronômetro foi utilizado para registrar o tempo de queda de cada êmbolo durante o cozimento. Os grãos foram considerados cozidos quando o 13^a êmbolo penetrou o grão.

3.8. Análise estatística

Os resultados experimentais do processo de saturação e decomposição do gás ozônio nos grãos de feijão-caupi e da progênie adulta de *C. maculatus* foram submetidos a análise de regressão. Em relação à cinética de decomposição do gás ozônio na massa de grãos, modelos cinéticos de ordem zero, de primeira ordem e de segunda ordem foram ajustados aos dados experimentais. O valor do coeficiente de determinação (r^2) foi utilizado como parâmetro de escolha do modelo cinético com melhor ajuste. O software SigmaPlot, versão 12.0, foi utilizado para as análises de regressão e confecção dos gráficos.

Os resultados dos ensaios de tempo-resposta foram submetidos a análise de Probit, para a obtenção das curvas de tempo-mortalidade. O procedimento PROBIT do software SAS, versão 9.0, foi utilizado para estimar os tempos letais para 50 e 95% (TL_{50} e TL_{95}) dos

insetos expostos ao ozônio. A razão de toxicidade (RT) e o intervalo de confiança entre as concentrações foram calculados conforme Robertson e Preisler (1992).

Para a avaliação da qualidade dos grãos de feijão-caupi expostos ao gás ozônio e ao ar atmosférico, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado. Os ensaios foram realizados com dois tratamentos (gás ozônio e ar atmosférico) e quatro repetições, para cada tempo de exposição (1.698,00; 331,20; 157,07 e 84,40 min). Os dados foram submetidos à análise de variância, ao nível de 5% de significância. O software SAS, versão 9.0, foi utilizado para as análises estatísticas.

4. RESULTADOS

4.1. Cinética de reação do gás ozônio em grãos de feijão-caupi

Tempo de saturação e concentração de saturação

A Figura 2 mostra o comportamento da concentração residual do gás ozônio em função tempo de exposição, durante o processo de saturação da massa de grãos de feijão-caupi. Os tempos de saturação dos grãos expostos ao ozônio nas concentrações de 500, 1.500, 2.500 e 3.500 $\mu\text{g L}^{-1}$ foram de 45,18; 20,11; 16,86 e 14,70 min, respectivamente. Na Tabela 3 são apresentados os modelos ajustados aos dados de concentração residual de ozônio e seus respectivos coeficientes de determinação.

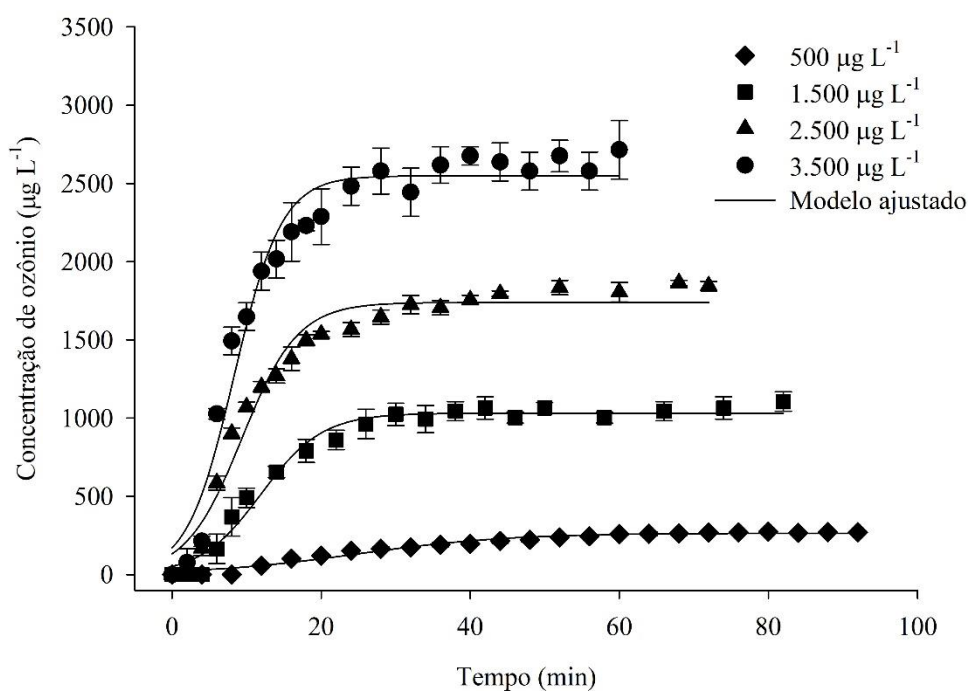


Figura 2 – Concentração residual do gás ozônio durante o processo de saturação de grãos de feijão-caupi nas concentrações de 500, 1.500, 2.500 e 3.500 $\mu\text{g L}^{-1}$. O símbolo representa a média de três repetições. As barras de erro representam o desvio padrão.

As concentrações de saturação nas injeções de 500, 1.500, 2.500 e 3.500 $\mu\text{g L}^{-1}$ de ozônio foram de 233, 908, 1.532 e 2.245 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (Tabela 3). A razão entre a concentração de saturação e a concentração inicial de ozônio foi de 0,47; 0,60; 0,61 e 0,64 para as concentrações de 500, 1.500, 2.500 e 3.500 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (Tabela 3). A Figura 3 mostra a relação entre a concentração inicial de ozônio e as variáveis tempo e concentração de saturação, durante o processo de ozonização dos grãos de feijão-caupi. Para os dados de tempo de saturação, em resposta a concentração inicial de ozônio, os melhores ajustes foram obtidos utilizando um modelo de decaimento exponencial de três parâmetros ($R^2 > 0,95$). Para os dados de concentração de saturação, em resposta a concentração inicial de ozônio, os melhores ajustes foram obtidos utilizando um modelo de regressão linear ($R^2 > 0,95$). Os modelos ajustados aos dados de tempo e concentração de saturação e seus respectivos coeficientes de determinação são apresentados na Tabela 4.

Tabela 3 – Modelos ajustados aos dados de concentração residual do gás ozônio em função do tempo de exposição durante o processo de saturação de grãos de feijão-caupi nas concentrações iniciais de 500, 1.500, 2.500 e 3.500 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Concentração de ozônio ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Modelo ajustado	R^2	t_{sat} (min)	c_{sat} ($\mu\text{g L}^{-1}$)	c_{sat}/c_0
500	$\hat{y} = \frac{264,7176}{\left(1 + e^{-\left(\frac{x-24,8262}{-10,1788}\right)}\right)}$	0,97	45,18	233	0,47
1.500	$\hat{y} = \frac{1031,2130}{\left(1 + e^{-\left(\frac{x-11,2130}{4,0838}\right)}\right)}$	0,98	20,11	908	0,60
2.500	$\hat{y} = \frac{1739,8660}{\left(1 + e^{-\left(\frac{x-9,3572}{3,7518}\right)}\right)}$	0,97	16,86	1532	0,61
3.500	$\hat{y} = \frac{2548,5352}{\left(1 + e^{-\left(\frac{x-8,3479}{3,1747}\right)}\right)}$	0,97	14,70	2245	0,64

R^2 – Coeficiente de determinação; t_{sat} – Tempo de saturação e c_{sat} – Concentração de saturação ($\mu\text{g L}^{-1}$).

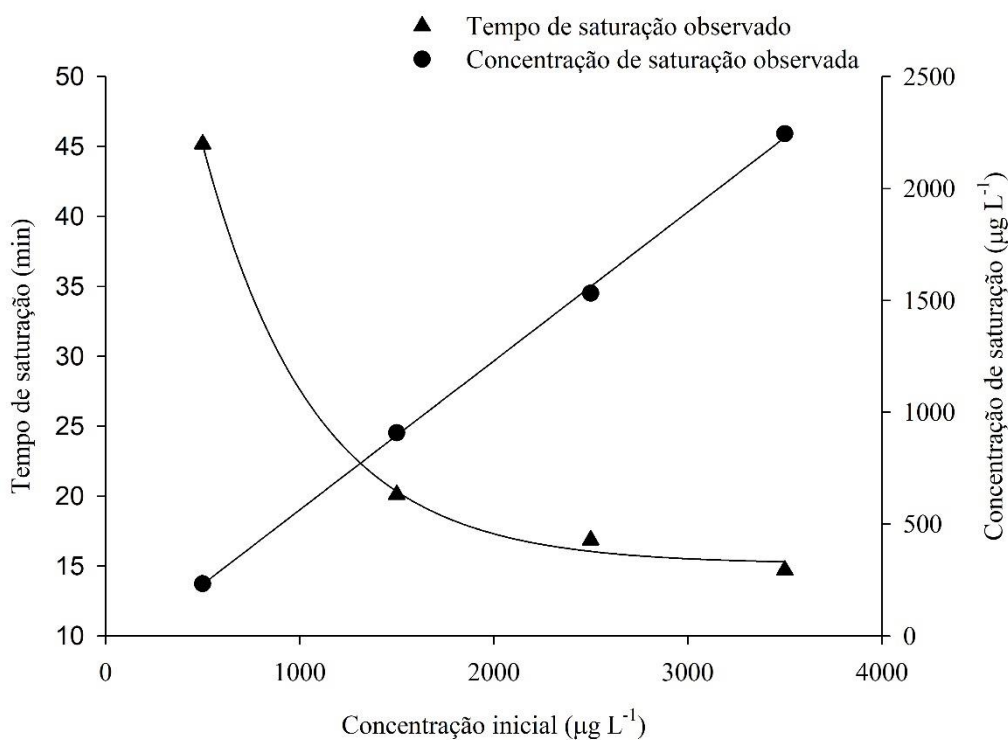


Figura 3 – Tempo e concentração de saturação por ozônio em função da concentração inicial durante a ozonização de grãos de feijão-caupi.

Tabela 4 – Modelos ajustados aos dados de tempo e concentração de saturação por ozônio em função da concentração inicial durante o processo de ozonização de grãos de feijão-caupi.

Variável dependente	Modelo ajustado	R ²
Tempo de saturação (min)	$\hat{y} = 15,1497 + 72,1893e^{-0,0018x}$	0,99
Concentração de saturação (µg L ⁻¹)	$\hat{y} = -102,5000 + 0,6660x$	0,99

R² – Coeficiente de determinação.

Cinética de decomposição

Na Tabela 5 são apresentados os modelos cinéticos ajustados aos dados de decaimento do gás ozônio nos grãos de feijão-caupi e seus respectivos coeficientes de determinação (r^2). O modelo de primeira ordem apresentou o melhor ajuste aos dados de decaimento do ozônio nos grãos de feijão-caupi, em todas as concentrações estudadas. O coeficiente de determinação foi considerado como critério para a escolha do modelo com o melhor ajuste. Apresentam-se na Figura 4 as curvas referentes ao modelo cinético de primeira ordem para cada uma das concentrações testadas.

A constante da taxa de decomposição (k), para cada concentração de ozônio estudada, correspondeu ao módulo do valor do coeficiente angular do modelo de regressão ajustado. Os valores de k obtidos para o modelo cinético de primeira ordem nas concentrações de ozônio de 500, 1.500, 2.500, e 3.500 $\mu\text{g L}^{-1}$ foram de 0,0919; 0,0975; 0,1101 e 0,1050 min^{-1} , respectivamente. Por meio destes valores foi possível determinar o tempo de meia vida do gás ozônio na massa de grãos de feijão-caupi. Os tempos de meia vida obtidos para as concentrações de 500, 1.500, 2.500, e 3.500 $\mu\text{g L}^{-1}$ foram de 7,54; 7,11; 6,29 e 6,60 min, respectivamente. O tempo de meia vida médio do ozônio em meio poroso contendo grãos de feijão-caupi foi de $6,88 \pm 0,48$ min.

Tabela 5 – Modelos cinéticos ajustados aos dados de decaimento das concentrações de ozônio em grãos de feijão-caupi e seus respectivos coeficientes de determinação (r^2).

Concentração de ozônio ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Ordem	Equação integrada e linearizada	r^2	Tempo de meia vida (min)
500	0	$\hat{y} = - 9,358t + 246,64$	0,91	13,18
	1	$\hat{y} = - 0,0919t + 5,7414$	0,99	7,54
	2	$\hat{y} = 0,0013t - 0,0023$	0,92	1,77
1.500	0	$\hat{y} = - 30,181t + 870,14$	0,91	14,41
	1	$\hat{y} = - 0,0975t + 7,1243$	0,98	7,11
	2	$\hat{y} = 0,0004t - 0,001$	0,79	2,50
2.500	0	$\hat{y} = - 58,607t + 1648,4$	0,93	14,06
	1	$\hat{y} = - 0,1101t + 7,8425$	0,98	6,29
	2	$\hat{y} = 0,0004t - 0,0022$	0,77	5,5

	0	$\hat{y} = -74,906t + 2310,8$	0,90	14,42
3.500	1	$\hat{y} = -0,1050t + 8,2135$	0,99	6,60
	2	$\hat{y} = 0,0003t - 0,0021$	0,76	7,00

r² – Coeficiente de determinação.

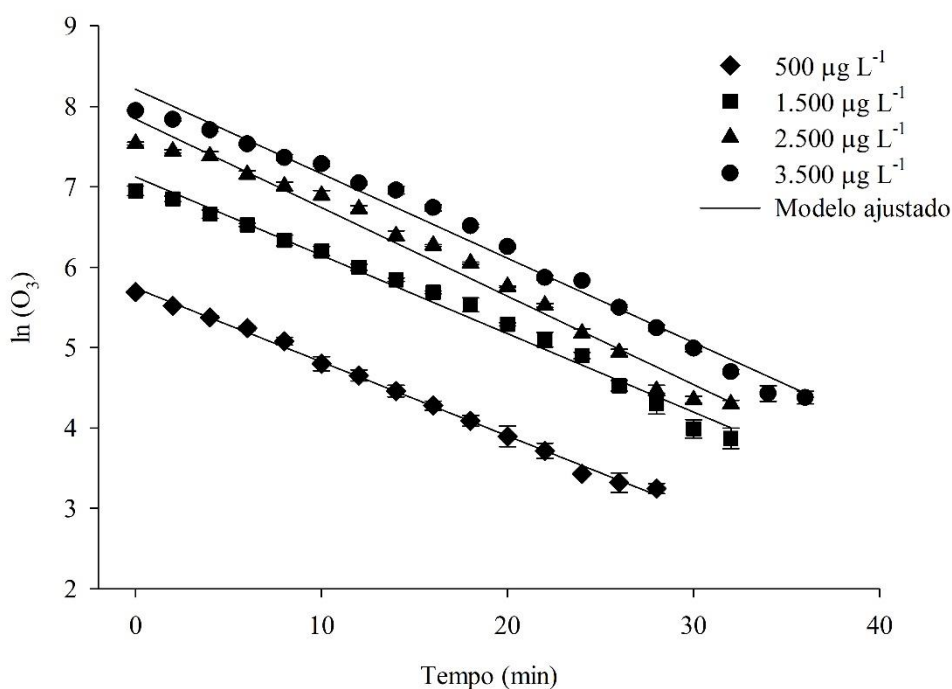


Figura 4 – Ajuste do modelo cinético de primeira ordem aos dados de decaimento do ozônio em feijão-caupi nas concentrações de 500, 1.500, 2.500 e 3.500 $\mu\text{g L}^{-1}$. O símbolo representa a média de 3 repetições. As barras de erro representam o desvio padrão.

4.2. Atividade inseticida do gás ozônio sobre *Callosobruchus maculatus*

Toxicidade e progênie adulta

O modelo probit se mostrou adequado para a obtenção das estimativas dos tempos letais, baseado nos baixos valores de χ^2 e elevados valores de P obtidos para as concentrações de ozônio ($\chi^2 < 7,72$; $P > 0,05$). Na Tabela 6 são apresentados os resultados dos ensaios de toxicidade do gás ozônio para *C. maculatus* em grãos de feijão-caupi. Os tempos letais estimados para os insetos adultos expostos às concentrações de 500, 1.500, 2.500 e 3.500 $\mu\text{g L}^{-1}$ foram de 777,27; 133,27; 84,29 e 52,33 min (TL_{50}) e de 1.698,00; 331,20; 157,07 e 84,40 min (TL_{95}), respectivamente. Os valores de inclinação das curvas de tempo-mortalidade foram de 4,85; 4,16; 6,08 e 7,92 para as concentrações de 500, 1.500, 2.500 e 3.500 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. A razão de toxicidade entre as concentrações de ozônio apresentou valores entre 5,83 e 14,85 para a TL_{50} e entre 5,13 e 20,12 para a TL_{95} .

Tabela 6 – Toxicidade do gás ozônio para *C. maculatus* em grãos de feijão-caupi nas concentrações de 500, 1.500, 2.500 e 3.500 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Concentração de ozônio ($\mu\text{g L}^{-1}$)	n	Inclinação (\pm EPM)	TL ₅₀ (IC 95%) (min)	RT TL ₅₀ (IC 95%)	TL ₉₅ (IC 95%) (min)	RT TL ₉₅ (IC 95%)	χ^2	gl	P
500	720	4,85 (0,27)	777,27 (740,01 – 815,76)	-	1.698,00 (1.557,00 – 1.886,00)	-	7,72	7	0,35
1.500	560	4,16 (0,23)	133,27 (124,94 – 141,78)	5,83 (5,48 – 6,22)	331,20 (295,95 – 381,49)	5,13 (4,45 – 5,74)	5,89	5	0,31
2.500	560	6,08 (0,47)	84,29 (81,07 – 87,8)	9,22 (8,85 – 9,59)	157,07 (142,98 – 177,91)	10,81 (9,54 – 11,88)	4,06	5	0,54
3.500	640	7,92 (0,47)	52,33 (50,53 – 54,13)	14,85 (14,36 – 15,38)	84,40 (79,83 – 90,32)	20,12 (18,80 – 21,27)	5,32	6	0,50

n - Número de insetos utilizados; EPM - Erro padrão da média; TL - Tempo letal; RT - Razão de toxicidade; IC 95% - Intervalo de confiança a 95% de probabilidade; χ^2 - Qui-quadrado; gl - Graus de liberdade; P - Probabilidade.

Na Figura 5 são apresentadas as curvas que descrevem o comportamento da progênie adulta de *C. maculatus* 40 dias após a exposição ao gás ozônio, nas concentrações de 500, 1.500, 2.500 e 3.500 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os melhores ajustes foram obtidos utilizando um modelo sigmoidal de três parâmetros ($R^2 > 0,95$). Os modelos ajustados aos dados experimentais e seus respectivos coeficientes de determinação são apresentados na Tabela 7. A progênie adulta os insetos, avaliada 40 dias após a exposição ao ozônio, foi reduzida com o aumento do tempo de exposição, em todas as concentrações de ozônio testadas. Em geral, a redução da progênie adulta de *C. maculatus* nas concentrações de ozônio testadas foi superior a 90%, em relação aos insetos expostos ao ar atmosférico (Figura 5).

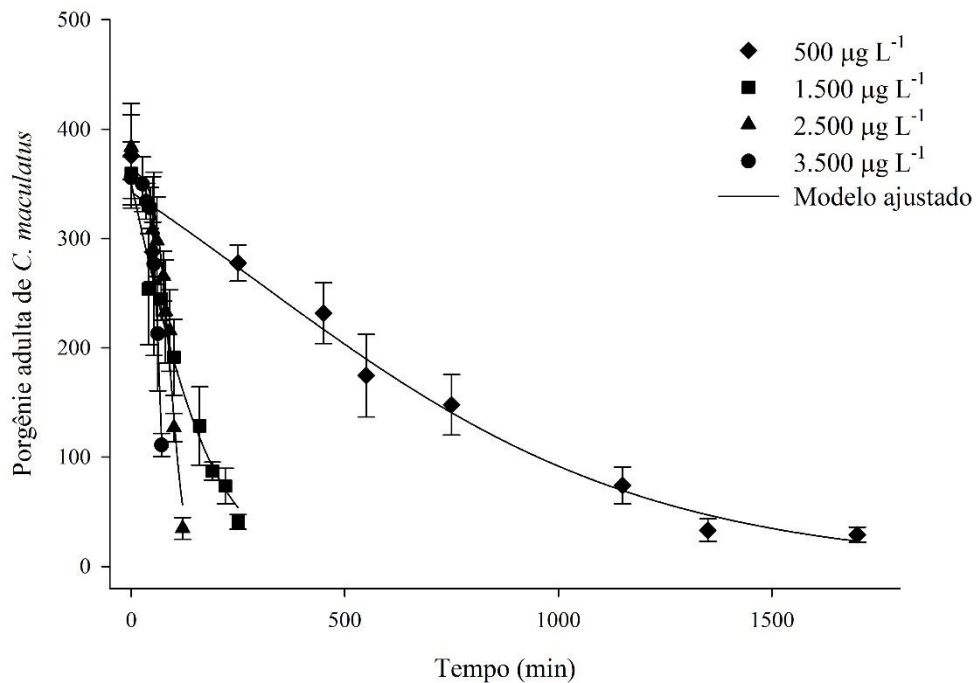


Figura 5 – Progênie adulta de *C. maculatus* em função do tempo de exposição ao gás ozônio nas concentrações de 500, 1.500, 2.500 e 3.500 $\mu\text{g L}^{-1}$, após 40 dias. O símbolo representa a média de quatro repetições. As barras de erro representam o desvio padrão.

Tabela 7 – Modelos ajustados aos dados de progênie adulta de *C. maculatus* em função do tempo de exposição para as concentrações de ozônio de 500, 1.500, 2.500 e 3.500 $\mu\text{g L}^{-1}$, após 40 dias.

Concentração de ozônio ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Modelo ajustado	R^2
500	$\hat{y} = \frac{523,7927}{\left(1 + e^{-\left(\frac{x - 290,8224}{-457,8088}\right)}\right)}$	0,97
1.500	$\hat{y} = \frac{724,7777}{\left(1 + e^{-\left(\frac{x - 6,9297}{-101,7309}\right)}\right)}$	0,98
2.500	$\hat{y} = \frac{363,4674}{\left(1 + e^{-\left(\frac{x - 90,7734}{-17,2790}\right)}\right)}$	0,97
3.500	$\hat{y} = \frac{351,5885}{\left(1 + e^{-\left(\frac{x - 64,9159}{-8,4602}\right)}\right)}$	0,99

R^2 – Coeficiente de determinação.

4.3. Avaliação da qualidade do feijão-caupi

Na Tabela 8 são apresentados os valores médios referentes às variáveis de qualidade dos grãos de feijão-caupi expostos ao ar atmosférico e ao gás ozônio nas concentrações de 500, 1.500, 2.500 e 3.500 $\mu\text{g L}^{-1}$ pelos tempos de exposição de 1.698,00; 331,20; 157,07 e 84,40 min, respectivamente. Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos com o ar atmosférico e o gás ozônio para o tempo de cocção, percentual de germinação e teor de água dos grãos, nas concentrações testadas ($P > 0,05$). No entanto, foram observadas diferenças significativas para a condutividade elétrica da solução contendo os grãos entre os tratamentos com o ar atmosférico e o gás ozônio, em todas as concentrações ($P < 0,05$).

Os valores da condutividade elétrica das soluções contendo os grãos diferiram entre os grãos ozonizados e expostos ao ar atmosférico (Tabela 8). Para os grãos expostos às concentrações de 500, 1.500, 2.500 e 3.500 $\mu\text{g L}^{-1}$ nos tempos de exposição de 1.698,00; 331,20; 157,07 e 84,40 min os valores de condutividade elétrica foram de 149,36; 158,29; 143,82 e 143,17 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$, respectivamente. Em contrapartida, os grãos expostos ao ar atmosférico nos tempos de exposição de 1.698,00; 331,20; 157,07 e 84,40 min apresentaram valores de condutividade elétrica de 127,60; 126,03; 125,66 e 127,60 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$, respectivamente.

Tabela 8 – Variáveis de qualidade dos grãos de feijão-caupi após a exposição ao gás ozônio e ao ar atmosférico.

Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Tratamento	Período de exposição (min)	Tempo de cocção (min) [DP]	Percentual de germinação (%) [DP]	Teor de água (% b.u.) [DP]	Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) [DP]
500	Ozônio	1.698,00	13,66 [0,37]a*	97,88 [1,03]a	11,47 [0,06]a	149,36 [3,33]a
-	Ar atmosférico	1.698,00	13,59 [0,58]a	98,63 [0,63]a	11,41 [0,13]a	127,60 [2,10]b
1.500	Ozônio	331,20	13,10 [0,96]a	98,50 [0,71]a	11,38 [0,06]a	158,29 [3,12]a
-	Ar atmosférico	331,20	13,13 [0,65]a	98,75 [0,87]a	11,45 [0,08]a	126,03 [3,83]b
2.500	Ozônio	157,07	13,57 [1,03]a	97,88 [1,03]a	11,48 [0,13]a	143,82 [5,08]a
-	Ar atmosférico	157,07	13,46 [0,75]a	98,50 [0,41]a	11,35 [0,08]a	125,66 [4,08]b
3.500	Ozônio	84,40	12,58 [0,56]a	97,62 [0,48]a	11,27 [0,06]a	143,17 [4,58]a
-	Ar atmosférico	84,40	12,16 [0,51]a	98,25 [0,29]a	11,50 [0,27]a	126,76 [2,10]b

[DP] Desvio padrão.

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, para cada concentração e variável, não diferem estatisticamente pelo teste F ao nível de 5% de significância.

5. DISCUSSÃO

Cinética de reação do gás ozônio em grãos de feijão-caupi

Tempo de saturação e concentração de saturação

A concentração residual de gás ozônio nos grãos de feijão-caupi aumentou com o aumento do tempo de exposição, em todas as concentrações testadas. Comportamento semelhante foi verificado durante o processo de saturação por ozônio em produtos como amendoim, feijão-mungo e milho de pipoca (ALENCAR et al., 2011; PANDISELVAM e THIRUPATHI, 2015; SILVA et al., 2019). No início do processo de ozonização o transporte do gás ozônio através da massa de grãos é restringido pela sua reatividade (KELLS et al., 2001; MENDEZ et al., 2003). Este comportamento se deve às características do transporte do gás ozônio em uma massa de grãos, que ocorre em duas fases distintas: na primeira, o gás ozônio escoia através da massa de grãos com uma elevada taxa de reação; na segunda, a taxa de reação é reduzida, pois todos os sítios ativos dos grãos reagem com o gás (KELLS et al., 2001; MENDEZ et al., 2003). Neste momento, a concentração de ozônio no espaço intergranular assume valores constantes, indicando a condição de saturação da massa de grãos.

A massa de grãos de feijão-caupi (teor de água de 11,44% b.u.), exposta ao ozônio na concentração de $1.500 \mu\text{g L}^{-1}$, alcançou a condição de saturação após 20,13 min. Resultados semelhantes foram obtidos por Pandiselvam e Thirupathi (2015), estudando a cinética de reação do gás ozônio em grãos de feijão-mungo (teor de água de 10,60% b.u.). Os autores encontraram um tempo de saturação de 18,00 min em grãos expostos ao ozônio em uma concentração equivalente a $1.901 \mu\text{g L}^{-1}$.

O tempo de saturação apresentou uma redução exponencial com o aumento da concentração inicial de ozônio. O aumento da concentração, para um mesmo volume de grãos, provavelmente acelerou a taxa de reação do gás ozônio com os sítios ativos presentes na superfície dos grãos (KELLS et al., 2001; MENDEZ et al., 2003). Assim, menores tempos de exposição foram necessários para que a condição de saturação dos grãos por ozônio fosse alcançada. Resultados semelhantes foram encontrados por Silva et al. (2019), estudando a cinética de reação do gás ozônio em grãos de milho de pipoca (teor de água de 11,20% b.u.). Os autores obtiveram tempos de saturação de 600,00; 182,20 e 126,00 min para as concentrações de 500, 2.200 e $4.500 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

A concentração de saturação apresentou um aumento linear com o aumento da concentração inicial de ozônio. O ajuste do modelo de regressão linear permitiu concluir que

um aumento na concentração inicial de ozônio de $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ resultou em um aumento de aproximadamente $0,67 \mu\text{g L}^{-1}$ na concentração de saturação da massa de grãos de feijão-caupi (teor de água de 11,20% b.u.). Comportamento semelhante foi observado por Oliveira et al. (2020), estudando a cinética de reação do gás ozônio em castanha do Brasil (teor de água de 4,40% b.u.). Os autores verificaram que um aumento na concentração inicial de ozônio de $1,0 \text{mg L}^{-1}$ resultou em um aumento na concentração de saturação de aproximadamente $0,53 \text{mg L}^{-1}$.

Cinética de decomposição

Após a saturação da massa de grãos de feijão-caupi e fornecimento de ozônio suspenso, a concentração no espaço intergranular foi reduzida ao longo do tempo. Este comportamento também foi verificado em outros estudos realizados com grãos de cereais e de leguminosas (PANDISELVAM e THIRUPATHI, 2015; SILVA et al., 2019). Durante o decaimento da concentração de ozônio nos grãos de feijão-caupi foi observada uma redução de 70% da concentração de saturação nos primeiros 14 minutos de exposição. Resultados semelhante foram verificados em estudos de cinética de reação do gás ozônio em grãos de feijão-mungo e de milho de pipoca (PANDISELVAM e THIRUPATHI, 2015; SILVA et al., 2019).

O modelo cinético de primeira ordem apresentou melhor ajuste aos dados de decaimento das concentrações de ozônio em função do tempo de exposição, nos grãos de feijão-caupi. O tempo de meia vida médio do gás ozônio na massa de grãos foi de $6,88 \pm 0,48$ min. Este valor é inferior ao tempo de meia vida do gás ozônio no ar atmosférico (20 a 50 min) (KELLS et al., 2001). Tempos de meia vida inferiores a meia vida do gás ozônio no ar atmosférico também foram obtidos em meios porosos contendo amendoim, feijão-mungo, milho de pipoca e castanha do Brasil (ALENCAR et al., 2011; PANDISELVAM, THIRUPATHI e ANANDAKUMAR, 2015; PANDISELVAM e THIRUPATHI, 2015; SILVA et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2020). Segundo Hardin et al. (2010), as superfícies de vários materiais atuam como catalisadores para a degradação do gás ozônio. Assim, o decaimento da concentração de ozônio depende das características dos produtos que são expostos ao gás.

O tempo de meia vida médio do gás ozônio nos grãos de feijão-caupi com teor de água de 11,44% b.u. foi de $6,88 \pm 0,48$ min. Resultados semelhantes foram encontrados por Pandiselvam e Thirupathi (2015), estudando a cinética de reação do gás ozônio em grãos de

feijão-mungo. Os autores encontraram um tempo de meia vida de 8,72 min em grãos com teor de água de 10,60% b.u. expostos a uma concentração de ozônio equivalente a $1.901 \mu\text{g L}^{-1}$.

Atividade inseticida do gás ozônio sobre Callosobruchus maculatus

Toxicidade e progênie adulta

Estudos anteriores mostraram que o uso de atmosfera modificada com o gás ozônio foi eficaz no controle de insetos-praga de produtos armazenados, incluindo *Sitophilus zeamais* (KELLS et al., 2001; MCDONOUGH et al., 2011; SOUSA et al., 2012; SILVA et al., 2019), *S. granarius* (HANSEN, HANSEN e JENSEN, 2012), *Rhyzopertha dominica* (SOUSA et al., 2008; SILVA et al., 2016; SUBRAMANYAM et al., 2017), *Tribolium castaneum* (KELLS et al., 2001; SOUSA et al., 2008; IŞIKBER e ÖZTEKIN, 2009; MCDONOUGH et al., 2011), *Sitotroga cerealella* (HANSEN, HANSEN e JENSEN, 2012), *Plodia interpunctella* (KELLS et al., 2001), *Ephestia kuehniella* (IŞIKBER e ÖZTEKIN, 2009), e *Callosobruchus maculatus* (PANDISELVAM et al., 2019).

As concentrações de ozônio de 500, 1.500, 2.500 e $3.500 \mu\text{g L}^{-1}$ foram eficazes no controle de insetos adultos de *C. maculatus* em grãos de feijão-caupi. Maiores concentrações de ozônio resultaram em menores tempos letais para 50 e 95% dos insetos. As razões de toxicidade obtidas entre as concentrações de 500 e $3.500 \mu\text{g L}^{-1}$ foram de 14,85 e 20,12 vezes para a TL_{50} e TL_{95} , respectivamente. Estes resultados permitem concluir que a TL_{95} foi 20,12 vezes menor na concentração de $3.500 \mu\text{g L}^{-1}$ (84,40 min) em relação a TL_{95} obtida na concentração de $500 \mu\text{g L}^{-1}$ (1.698,00 min). Subramanyam et al. (2017), estudando o processo de ozonização de grãos de trigo infestados com *Rhyzopertha dominica*, verificaram que o tempo necessário para controlar 99% dos adultos (TL_{99}) de *R. dominica* expostos ao ozônio era 1,2 a 1,6 vezes mais lento na concentração de $0,42 \text{ g m}^{-3}$ (equivalente a $420 \mu\text{g L}^{-1}$), quando comparada a concentração de $0,84 \text{ gm}^{-3}$ (equivalente a $840 \mu\text{g L}^{-1}$). Segundo os autores, as diferenças nos tempos letais podem estar relacionadas ao processo de saturação da massa de grãos, que é influenciado pela concentração inicial de ozônio. Segundo Kells et al. (2001), o gás ozônio é consumido ao interagir com sítios ativos presentes na superfície do grão. Quando a concentração é aumentada, menores tempos de exposição são necessários para que os sítios ativos sejam saturados pelo ozônio. Consequentemente, maior disponibilidade do gás é verificada no espaço intergranular.

Os valores de inclinação da curva de tempo-mortalidade aumentaram com o aumento da concentração do gás ozônio. Estes resultados indicam que as respostas dos insetos a variação no tempo de exposição foram mais sensíveis quando a concentração de ozônio foi

aumentada. O TL₉₅ encontrado para insetos adultos de *C. maculatus* em grãos de feijão-caupi na concentração de 1.500 µg L⁻¹ foi de 331,20 min. Resultados semelhantes foram encontrados por Pandiselvam et al. (2019), estudando a eficácia do gás ozônio no controle de *C. maculatus* em grãos de feijão-mungo. Os autores verificaram que o tempo necessário para controlar 90% dos insetos adultos (TL₉₀) de *C. maculatus* na massa de grãos, na concentração de 500 ppmv (equivalente a 1000 µg L⁻¹), foi de 274,40 min.

Para todas as concentrações de ozônio estudadas, a massa de grãos de feijão-caupi atingiu a condição de saturação em períodos de tempo inferiores aos tempos letais obtidos para *C. maculatus*. Na concentração de 500 µg L⁻¹, por exemplo, o TL₉₅ para *C. maculatus* foi de 1.698,00 min, enquanto que o tempo de saturação da massa de grãos por ozônio foi de 45,18 min. Silva et al. (2019) obtiveram 100% de mortalidade de insetos adultos de *S. zeamais* em grãos de milho de pipoca em períodos de tempo correspondentes aos tempos de saturação da massa de grãos, que foram de 600,00; 182,20 e 126,00 min, para as concentrações de 500, 2.200 e 4.500 µg L⁻¹, respectivamente. Estes resultados mostram que o conhecimento das características do escoamento do gás ozônio em diferentes produtos, bem como a susceptibilidade de diferentes espécies ao ozônio são importantes para o planejamento de aplicações para controle de insetos-praga em grãos armazenados.

A progênie adulta de *C. maculatus* avaliada 40 dias após a exposição dos grãos de feijão-caupi ao ozônio foi reduzida com o aumento do tempo de exposição, em todas as concentrações. Esta redução foi superior a 90% nos grãos expostos ao gás ozônio, em relação aos grãos expostos ao ar atmosférico. Subramanyam et al. (2017) estudaram o efeito do gás ozônio na supressão da progênie de *R. dominica*. Os autores observaram que menores concentrações de ozônio administradas por maiores tempos de exposição foram mais eficazes na redução da progênie dos insetos. No entanto, os autores revelaram que a redução da progênie provavelmente estava relacionada à mortalidade dos insetos durante a exposição ao ozônio e não à infertilidade de adultos causada pela exposição ao gás. O que provavelmente teria ocorrido durante a exposição de *C. maculatus* ao ozônio, nos grãos de feijão-caupi

Avaliação da qualidade do feijão-caupi

O tempo de cocção, o percentual de germinação e o teor de água dos grãos de feijão-caupi não foram alterados após a exposição ao gás ozônio nos tempos letais para *C. maculatus*. Outros estudos mostraram que a exposição ao gás ozônio em condições letais para diferentes espécies de insetos-praga não afetou a qualidade dos grãos (MENDEZ et al., 2003; SILVA et al., 2019). Mendez et al. (2003) observaram que a exposição ao gás ozônio não

alterou variáveis como o volume de expansão de milho de pipoca; composição de ácidos graxos e aminoácidos da soja, trigo e milho; características de moagem de trigo e milho; características de cozimento do trigo e viscosidade do arroz.

Em geral, os grãos de leguminosas são cozidos antes do consumo, normalmente por um processo hidrotérmico, como o cozimento convencional ou sob pressão (WOOD, 2016). O tempo de cozimento é um parâmetro importante na avaliação da qualidade de feijões e pode ser afetado pela infestação por insetos-praga durante o armazenamento (FREITAS, FARONI e SOUSA, 2016). Neste estudo, os tempos de cocção dos grãos de feijão-caupi não foram alterados após a exposição ao gás ozônio em tempos letais para *C. maculatus*. Estes resultados são importantes, pois longos períodos de cozimento exigem maior gasto energético e afetam a qualidade nutricional dos grãos (WOOD, 2016).

O percentual de germinação é um importante indicativo de qualidade dos grãos (NITHYA et al., 2011; CHIDANANDA et al., 2014). O gás ozônio, além de controlar os insetos adultos de *C. maculatus*, não afetou o percentual de germinação dos grãos de feijão-caupi. A manutenção do percentual de germinação dos grãos após a exposição ao ozônio também foi verificada em estudos anteriores (WU, DOAN e CUENCA, 2006; FREITAS et al., 2017). Freitas et al. (2017) verificaram que o percentual de germinação de grãos de milho foi mantido após a exposição ao gás ozônio na concentração de 0,86 mg L⁻¹ por até 60 min.

Grãos de leguminosas podem ser armazenados de forma segura por longos períodos de tempo em temperaturas abaixo de 20 °C e teor de água entre 12 e 14% b.u. (CHIDANANDA et al., 2014). A exposição dos grãos ao gás ozônio foi eficaz no controle de *C. maculatus* e não alterou o teor de água dos grãos de feijão-caupi. A manutenção do teor de água após o processo de ozonização também foi observada em outros estudos realizados com grãos de milho e de milho de pipoca (FREITAS et al., 2017; SILVA et al., 2019).

A condutividade elétrica da solução contendo os grãos de feijão-caupi diferiu entre os grãos expostos ao gás ozônio e ao ar atmosférico. Resultados semelhantes foram observados por Silva et al. (2019) em grãos de milho de pipoca expostos ao gás ozônio nas concentrações de 500, 2.200 e 4.500 µg L⁻¹. Segundo os autores é provável que a exposição ao gás ozônio danifique a membrana das células do tecido dos grãos. As alterações na integridade das membranas celulares resultam na liberação de íons, açúcares e outros metabólitos na solução (FESSEL et al., 2006). Neste sentido, maiores valores de condutividade elétrica poderão ser observados após a exposição dos grãos ao gás ozônio.

Os resultados deste estudo fornecem informações importantes sobre o escoamento do gás ozônio em grãos de feijão-caupi, atividade inseticida para *C. maculatus* e efeito nas

variáveis de qualidade dos grãos. Os dados de escoamento permitem a simulação de aplicações do gás ozônio em grandes volumes, uma vez que a vazão específica utilizada no sistema de aplicação pode ser alcançada com uso de ventiladores disponíveis no mercado. Por meio destes dados também é possível estimar a concentração e o tempo de saturação por ozônio na massa de grãos, o que permite estabelecer condições de aplicação para o controle de insetos-praga. Os dados de toxicidade do gás ozônio e progênie adulta de *C. maculatus*, aliados aos dados de qualidade dos grãos, permitem concluir que o gás ozônio pode ser uma alternativa promissora para o controle de *C. maculatus* em grãos de feijão-caupi.

6. CONCLUSÃO

Os tempos de saturação foram reduzidos com o aumento da concentração inicial de ozônio. Em contrapartida, a concentração de saturação aumentou com o aumento da concentração de ozônio. O modelo cinético de primeira ordem apresentou o melhor ajuste aos dados de decaimento das concentrações de ozônio nos grãos de feijão-caupi. O tempo de meia vida médio do gás ozônio na massa de grãos foi de $6,88 \pm 0,48$ min.

Os insetos adultos de *C. maculatus* foram susceptíveis a exposição ao gás ozônio. Os tempos letais estimados para 50 e 95% dos insetos e a progênie adulta foram reduzidos com o aumento da concentração de ozônio.

O tempo de cocção, percentual de germinação e teor de água dos grãos foram mantidos após a exposição ao ozônio, com exceção da condutividade elétrica, que diferiu entre os grãos expostos ao ozônio e ao ar atmosférico. Embora a condutividade elétrica tenha sido alterada, em geral, a qualidade dos grãos foi preservada após a exposição ao gás ozônio nas concentrações e tempos de exposição estudados.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. A method for computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, n. 18, p. 265–267, 1925.
- ADEDIRE, C. O.; OBEMBE, O. M.; AKINKUROLERE, R. O. & ODULEYE, S. O. Response of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) to extracts of cashew kernels. **Journal of plant diseases and protection**, v. 118, n. 2, 75-79, 2011.
- AGROFIT. **Sistemas de agrotóxicos fitossanitários**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <
http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons > Acesso em: 01 mar. 2020.
- ALENCAR, E. R.; FARONI, L. R. D’A.; MARTINS, M. A., COSTA, A. R. & CECOM, P. R. Decomposition kinetics of gaseous ozone in peanuts. **Engenharia Agrícola**, v. 31, n. 5, p. 930-939, 2011.
- ALMEIDA, F. D. A.; ALMEIDA, S. A. D.; SANTOS, N. R. D.; GOMES, J. P. & Araújo, M. E. Efeitos de extratos alcoólicos de plantas sobre o caruncho do feijão vigna (*Callosobruchus maculatus*). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, n. 4, p. 585-590, 2005.
- ASAE – American Society of Agricultural Engineers. **Moisture Measurement -Unground Grain and Seeds**. St. Joseph, 2004. p.567.
- ÁVILA, B. P.; DOS SANTOS, M. S.; NICOLETTI, A. M.; ALVES, G. D.; ELIAS, M. C., MONKS, J. & GULARTE, M. A. Impact of different salts in soaking water on the cooking time, texture and physical parameters of cowpeas. **Plant foods for human nutrition**, v.70, n. 4, p. 463-469, 2015.
- BAOUA, I. B.; MARGAM, V.; AMADOU, L. & MURDOCK, L. L. Performance of triple bagging hermetic technology for postharvest storage of cowpea grain in Niger. **Journal of Stored Products Research**, v. 51, p. 81-85, 2012.
- BIONDI, A.; DESNEUX, N.; SISCARO, G. & ZAPPALÀ, L. Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: Selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. **Chemosphere**, v. 87, n. 7, p. 803-812, 2012.
- BRASIL. **Regras para Análise de Sementes**. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Brasília, 2009. 399p
- CHIDANANDA, K. P.; CHELLADURAI, V.; JAYAS, D. S.; ALAGUSUNDARAM, K., WHITE, N. D. G. & FIELDS, P. G. Respiration of pulses stored under different storage conditions. **Journal of stored products research**, v. 59, p. 42-47, 2014.
- CLESCERL, L. S.; GREENBERG, A. E & EATON, A. D. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Denver: American Water Works Association, 2000. 1220 p.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da safra brasileira: grãos: safra 2018/19**. Brasília, DF: CONAB, 2019. v. 6, n. 12, 126 p.

COPE, J. M. & FOX, C. W. Oviposition decisions in the seed beetle, *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae): effects of seed size on superparasitism. **Journal of Stored Products Research**, v. 39, n. 4, p. 355-365, 2003.

CULLEN, P. J.; TIWARI, B. K.; O'DONNELL, C. P. & MUTHUKUMARAPPAN, K. Modelling approaches to ozone processing of liquid foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n.3-4, p. 125-136, 2009.

DE SÁ, L. F. R.; WERMELINGER, T. T.; DA SILVA RIBEIRO, E.; DE AMARAL GRAVINA, G.; FERNANDES, K. V. S.; XAVIER-FILHO, J. ... & OLIVEIRA, A. E. A. Effects of *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) seed coat on the embryonic and larval development of the cowpea weevil *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of insect physiology**, v. 60, p. 50-57. 2014.

DESHPANDE, V. K.; MAKANUR, B.; DESHPANDE, S. K.; ADIGER, S. & SALIMATH, P. M. Quantitative and Qualitative losses caused by *Callosobruchus maculatus* in Cowpea during Seed Storage. **Plant Archives**, v. 11, n. 2, 723-731, 2011.

DEVI, C.B., KUSHWAHA, A. & KUMAR, A. Sprouting characteristics and associated changes in nutritional composition of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 6821-6827, 2015.

DICK, K. M. & CREDLAND, P. F. Egg production and development of three strains of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 20, n. 4, p. 221-227, 1984.

FABBRI, A. D. T & CROSBY, G. A. A review of the impact of preparation and cooking on the nutritional quality of vegetables and legumes. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, v. 3, p. 2-11, 2016.

FAOSTAT. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>> Acesso em: 01 mar. 2020.

FDA, United States Food and Drug Administration. Rules and Regulations. Part 173 - Secondary Direct Food Additives Permitted in Food for Human Consumption (21 CFR Part 173 Authority: 21 U.S.C. 321, 342, 348). Federal Register 66, 123. Washington, DC.

FESSEL, S. A.; VIEIRA, R. D.; DA CRUZ, M. C. P.; DE PAULA, R. C. & PANOBIANCO, M. Electrical conductivity testing of corn seeds as influenced by temperature and period of storage. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 10, p. 1551-1559, 2006.

FREIRE FILHO, F. R. Origem, evolução e domesticação do caupi. In: ARAÚJO, J. P. P. de; WATT, E. E. (Org.). **O caupi no Brasil**. Brasília, DF: IITA: EMBRAPA, 1988. p. 26-46.

FREIRE FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; ROCHA, M. M.; SILVA, K. J. D.; NOGUEIRA, M. S. R. & RODRIGUES, E. V. **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2011. 84p.

FREITAS, R. S.; FARONI, L. R. D'A. & SOUSA, A. H. Hermetic storage for control of common bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* (Say). **Journal of Stored Products Research**, v. 66, p. 1-5, 2016.

FREITAS, R. S.; FARONI, L. R. D'A., QUEIROZ, M. E. L. R., HELENO, F. F. & PRATES, L. H. F. Degradation kinetics of pirimiphos-methyl residues in maize grains exposed to ozone gas. **Journal of Stored Products Research**, v. 74, p. 1-5, 2017.

FROTA, K. M. G.; SOARES, R. A. M. & ARÊAS, J. A. G. Composição química do feijão caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), cultivar BRS-Milênio. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 2, p. 470-476, 2008.

GBAYE, O. A.; MILLARD, J. C. & HOLLOWAY, G. J. Legume type and temperature effects on the toxicity of insecticide to the genus *Callosobruchus* (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 47, n. 1, p. 8-12, 2011.

GORDON, G. & GRUNWELL, J. Comparison of analytical methods for residual ozone. In: **Proc 2nd Natl Symposium on municipal wastewater disinfection. EPA Report, EPA**. 1983. p. 9-83.

GUZEL-SEYDIM, Z. B., GREENE, A. K., & SEYDIM, A. C. Use of ozone in the food industry. **LWT-Food Science and Technology**, v. 37, n. 4, p. 453-460, 2004.

HANSEN, L. S.; HANSEN, P. & JENSEN, K. M. V. Lethal doses of ozone for control of all stages of internal and external feeders in stored products. **Pest management science**, v. 68, n. 9, p. 1311-1316, 2012.

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

HARDIN, J.A.; JONES, C. L.; BONJOUR, E. L.; NOYES, R. T.; BEEBY, R. L.; ELTISTE, D.A.; DECKER, S. Ozone fumigation of stored grain; closed-loop recirculation and the rate of ozone consumption, **Journal of Stored Products Research**, v. 46, n. 3, p. 149-154, 2010.

HOLMSTRUP, M.; SØRENSEN, J. G.; HECKMANN, L. H.; SLOTSBO, S.; HANSEN, P. & HANSEN, L. S. Effects of ozone on gene expression and lipid peroxidation in adults and larvae of the red flour beetle (*Tribolium castaneum*). **Journal of stored products research**, v. 47, n. 4, p. 378-384, 2011.

IŞIKBER, A. A. & ÖZTEKIN, S. Comparison of susceptibility of two stored-product insects, *Ephestia kuehniella* Zeller and *Tribolium confusum* du Val to gaseous ozone. **Journal of Stored Products Research**, v. 45, n. 3, p. 159-164, 2009.

IŞIKBER, A. A. & ATHANASSIOU, C. G. The use of ozone gas for the control of insects and micro-organisms in stored products. **Journal of Stored Products Research**, v. 64, parte B, p. 139-145, 2015.

JACKSON, G. M. & VARRIANO-MARSTON, E. Hard-to-cook phenomenon in beans: effects of accelerated storage on water absorption and cooking time. **Journal of Food Science**, v. 46, n. 3, p. 799-803, 1981.

KALIYAN, N.; MOREY, R. V.; WILCKE, W. F.; CARRILLO, M. A. & CANNON, C. A.; Low-temperature aeration to control Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Hübner), in stored grain in twelve locations in the United States: a simulation study. **Journal of Stored Products Research**, v. 43, n. 2, p. 177-192, 2007.

- KAUR, H.; GILL, R. S. & KAUR, R. Correlation between biophysical seed characteristics of rice bean, *Vigna umbellata* (Fabaceae: Faboideae: Phaseoleae) and the development of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). **Journal of Stored Products Research**, v. 83, p. 9-13, 2019.
- KELLS, S. A.; MASON, L. J.; MAIER, D. E. & WOLOSHUK, C. P. Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. **Journal of Stored Products Research**, v. 37, n. 4, p. 371-382, 2001.
- KHADRE, M. A.; YOUSEF, A. E. & KIM, J. G. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. **Journal of food science**, v. 66, n. 9, p. 1242-1252, 2001.
- KIM, J. G.; YOUSEF, A. E. & DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of food protection**, v. 62, n. 9, p. 1071-1087, 1999.
- KRZYŻOWSKI, M.; FRANCIKOWSKI, J., BARAN, B. & BABCZYŃSKA, A. Physiological and behavioral effects of different concentrations of diatomaceous earth on common stored product pest *Callosobruchus maculatus*. **Journal of Stored Products Research**, v. 82, p. 110-115, 2019.
- LIMA, M. P. D.; OLIVEIRA, J. V.; BARROS, R. & TORRES, J. B. Identificação de genótipos de caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp. resistentes a *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae). **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 2, p. 289-295, 2001.
- LORINI, I.; COLLINS, P. J.; DAGLISH, G. J.; NAYAK, M. K. & PAVIC, H. Detection and characterisation of strong resistance to phosphine in Brazilian *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae). **Pest Management Science**, v. 63, n. 4, p. 358-364, 2007.
- MANDA, J.; ALENE, A. D.; TUFA, A. H.; ABDOULAYE, T.; WOSSEN, T.; CHIKOYE, D. & MANYONG, V. The poverty impacts of improved cowpea varieties in Nigeria: A counterfactual analysis. **World Development**, v. 122, p. 261-271, 2019.
- MATTSON, S. The cookability of yellow peas. A colloid-chemical and biochemical study. **Acta Agriculturae Suecana**, v. 2, p. 185-231, 1946.
- MCDONOUGH, M. X.; MASON, L. J. & WOLOSHUK, C. P. Susceptibility of stored product insects to high concentrations of ozone at different exposure intervals. **Journal of Stored Products Research**, v. 47, n. 4, p. 306-310, 2011
- MENDEZ, F.; MAIER, D. E.; MASON, L. J. & WOLOSHUK, C. P. Penetration of ozone into columns of stored grains and effects on chemical composition and processing performance. **Journal of Stored Products Research**, v. 39, n. 1, p. 33-44, 2003.
- MOURA, E. S. M.; FARONI, L. R. D'A.; ZANUNCIO, J. C.; HELENO, F. F. & PRATES, L. H. F. Insecticidal activity of *Vanillosmopsis arborea* essential oil and of its major constituent α -bisabolol against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Scientific Reports**, v. 9, p. 1-8, 2019.
- MUTUNGI, C.; CHAMWILAMBO, M.; MASANJA, S.; MASSAM, C.; WAYDA, P.; TUNGU, J.; GASPAR, A.; BEKUNDA, M. & ABASS, A. Quality and storability of common beans in small-holders farm stores in Northern Tanzania: A multivariate analysis of agro-location, variety, and storage method effects. **Journal of Stored Products Research**, v. 89, 2020.

- NITHYA, U.; CHELLADURAI, V.; JAYAS, D. S. & WHITE, N. D. G. Safe storage guidelines for durum wheat. **Journal of stored products research**, v. 47, n. 4, p. 328-333, 2011.
- OLIVEIRA, G. B.; KUNZ, D.; PERES, T. V.; LEAL, R. B.; UCHÔA, A. F.; SAMUELS, R. I.; MACEDO, M. L. R.; CARLINI, C. R.; RIBEIRO, A. F.; GRANGEIRO, T. B.; TERRA, W. R.; XAVIER-FILHO, J. & SILVA, C. P. Variant vicilins from a resistant *Vigna unguiculata* lineage (IT81D-1053) accumulate inside *Callosobruchus maculatus* larval midgut epithelium. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 168, p. 45-52, 2014.
- OLIVEIRA, J. M.; ALENCAR, E. R.; BLUM, L. E. B.; FERREIRA, W. F. S.; BOTELHO, S. C. C.; RACANICCI, A. M. C.; LEANDRO, E. S.; MENDONÇA, M. A.; MOSCON, E. S.; BIZERRA, L. V. A. S. & SILVA, C. R. Ozonation of Brazil nuts: Decomposition kinetics, control of *Aspergillus flavus* and the effect on color and on raw oil quality. **LWT**, v. 123, 2020.
- PADULOSI, S.; NG, N. Q. Origin taxonomy, and morphology of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. In: SINGH, B. B.; MOHAN RAJ, D. R.; DASHIELL, K. E.; JACKAI, L. E. N. (Ed.). **Advances in cowpea research**. Ibadan: International Institute of Tropical Agriculture; Tsukuba: Japan International Research Center for Agricultural Sciences, 1997. p. 1-12.
- PAES, J. L.; FARONI, L. R. D'A.; MARTINS, M. A.; CECON, P. R. & HELENO, F. F. Reaction kinetics of ozone gas in wheat flour. *Engenharia Agrícola*, v. 37, n.3, p. 520-528, 2017.
- PANDISELVAM, R.; THIRUPATHI, V. & ANANDAKUMAR, S. Reaction kinetics of ozone gas in paddy grains. **Journal of Food Process Engineering**, v. 38, n. 6, p. 594-600, 2015.
- PANDISELVAM, R; THIRUPATHI, V. Reaction kinetics of Ozone gas in Green gram (*Vigna radiate*). **Ozone: Science & Engineering**, v. 37, n. 4, p. 309-315, 2015.
- PANDISELVAM, R.; THIRUPATHI, V.; MOHAN, S.; VENNILA, P.; UMA, D.; SHAHIR, S. & ANANDAKUMAR, S. Gaseous ozone: A potent pest management strategy to control *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) infesting green gram. **Journal of Applied Entomology**, v. 143, n. 4, p. 451-459, 2019.
- PANDISELVAM, R.; KAAVYA, R.; JAYANATH, Y.; VEENUTTRANON, K.; LUEPRASITSAKUL, P.; DIVYA, V. ... & RAMESH, S. V. Ozone as a novel emerging technology for the dissipation of pesticide residues in foods—a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 97, p. 38-54, 2020.
- PIMENTEL, M. A. G.; FARONI, L. R. D'A.; GUEDES, R. N. C.; SOUSA, A. H. & TÓTOLA, M. R. Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 45, n. 1, p. 71-74, 2009.
- RESENDE, O.; CORRÊA, P. C.; FARONI, L. R. D. A. & CECON, P. R. Avaliação da qualidade tecnológica do feijão durante o armazenamento. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 2, p. 517-524, 2008.

- RICE, R. G.; ROBSON, C. M.; MILLER, G. W. & HILL, A. G. Uses of ozone in drinking water treatment. **Journal-American Water Works Association**, v. 73, n.1, p. 44-57, 1981.
- ROBERTSON, J. L. & PREISLER, H. K. **Bioassays with arthropods**. CRC press, Boca Raton, 1992.
- SILVA, G. N.; FARONI, L. R. A.; CECON, P. R.; SOUSA, A. H. & HELENO, F. F. Ozone to control *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) in stored wheat grains. **Journal of Stored Products and Postharvest Research**, v. 7, n. 4, p. 37-44, 2016.
- SILVA, M. G. C.; SILVA, G. N.; SOUSA, A. H.; FREITAS, R. S.; SILVA, M. S. & ABREU, A. O. Hermetic storage as an alternative for controlling *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) and preserving the quality of cowpeas. **Journal of stored products research**, v. 78, p. 27-31, 2018.
- SILVA, M. V. A.; FARONI, L. R. A.; SOUSA, A. H.; PRATES, L. H. F. & ABREU, A. O. Kinetics of the ozone gas reaction in popcorn kernels. **Journal of Stored Products Research**, v. 83, p. 168-175, 2019.
- SOUSA, A. H.; FARONI, L. R. D'A; GUEDES, R. N. C.; TÓTOLA, M. R & URRUCHI, W. I. Ozone as a management alternative against phosphine-resistant insect pests of stored products. **Journal of Stored Products Research**, v. 44, n. 4, p. 379-385, 2008.
- SOUTHGATE, B. J. Biology of the Bruchidae. **Annual review of entomology**, v. 24, n. 1, p. 449-473, 1979.
- SOUZA, A. J.; SANTOS, P. O.; PINTO, M. S.; WERMELINGER, T. T.; RIBEIRO, E. S.; SOUZA, S. C.; DEUS, M. F.; SOUZA, M. C.; XAVIER-FILHO, J.; FERNANDES K. V. S. & OLIVEIRA, A. E. A. Natural seed coats provide protection against penetration by *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) larvae. **Crop Protection**, v. 30, n. 6, 651-657, 2011.
- SOUSA, A. H.; FARONI, L. R. A.; SILVA, G. N. & GUEDES, R. N. C. Ozone toxicity and walking response of populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of economic entomology**, v. 105, n. 6, p. 2187-2195, 2012.
- SMARTT, J. **Grain legumes: evolution and genetic resources**. Cambridge: Cambridge University Press, 1990. 333 p.
- SUBRAMANYAM, B.; XINYI, E.; SAVOLDELLI, S. & SEHGAL, B. Efficacy of ozone against *Rhyzopertha dominica* adults in wheat. **Journal of Stored Products Research**, v. 70, p. 53-59, 2017.
- TIWARI, B. K.; BRENNAN, C. S.; CURRAN, T.; GALLAGHER, E.; CULLEN, P. J. & O'DONNELL, C. P. Application of ozone in grain processing. **Journal of Cereal Science**, v. 51, n. 3, p. 248-255, 2010.
- VENEGAS, J. G.; HARRIS, R. S. & SIMON, B.A. A comprehensive equation for the pulmonary pressure-volume curve. **American Physiological Society**, v.84, n.1, p.389-395, 1998.
- VIEIRA, R. D.; PENARIOL, A. L.; PERECIN, D. & PANOBIANCO, M. Condutividade elétrica e teor de água inicial das sementes de soja. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 37, n. 9, p. 1333-1338, 2002.

WOOD, J. A. Evaluation of cooking time in pulses: A review. **Cereal Chemistry**, v. 94, n. 1, p. 32-48, 2017.

WRIGHT, M. R. **An introduction to chemical kinetics**. 1ª Edição. Editora John Wiley & Sons, Ltda. New York. 2004. 441p.

WU, J.; DOAN, H. & CUENCA, M. A. Investigation of gaseous ozone as an anti-fungal fumigant for stored wheat. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 81, n. 7, p. 1288-1293, 2016.