

Avaliação de metodologia para a detecção de resíduos de terra diatomácea em grãos de trigo e farinha**

Evaluation of the methodology for detection of diatomaceous earth residue (de) in wheat grain and flour

Márcia B. ATUI^{1*}
Flávio A. LAZZARI²
Sonia M. N. LAZZARI³

RIALA6/932

Atui, M. B.; Lazzari, F. A. e Lazzari, S. M. N. - Avaliação de metodologia para a detecção de resíduos de terra diatomácea em grãos de trigo e farinha**. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 62(1): 11 - 16 ,2003

RESUMO. O uso de terra diatomácea e de outros pós inertes vem se tornando uma prática comum no controle de insetos de produtos armazenados. Elas podem ser usadas em associação com fumigantes, criando uma barreira física que impede a infestação das partes inferiores e superiores da massa de grãos com insetos vindos de fora da estrutura. A existência de uma metodologia que permita a detecção de pós inertes, no caso, terra diatomácea, em grãos é de grande importância para a indústria e para os laboratórios oficiais. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de uma metodologia para detectar a presença de terra diatomácea em grãos de trigo. Para isto, foram tomadas amostras de 1 Kg de grãos de trigo tratados com diferentes dosagens de terra diatomácea: 250 g/t; 500 g/t; 750 g/t; 1000 g/t; 2000 g/t; 4000 g/t; 6000 g/t; 8000 g/t; 10000 g/t. O método proposto utilizou água filtrada para lavagem dos grãos e extração das algas diatomáceas em substituição ao álcool a 95% utilizado no método original. Foram recuperadas carapaças/fragmentos de algas diatomáceas em todas as amostras analisadas, mesmo naquelas tratadas com pequenas quantidades de terras diatomáceas. O método proposto mostrou-se adequado para avaliar a presença de partículas de algas diatomáceas e sugere-se ser adotado como método oficial.

PALAVRAS CHAVES. pós inertes, algas diatomáceas, trigo.

INTRODUÇÃO

O uso de terra diatomácea (sedimento de carapaças de algas diatomáceas) e de outros pós inertes vem se tornando uma alternativa para o controle de insetos de grãos armazenados em vários países do mundo (Austrália, Brasil, Canadá e Estados Unidos). Trabalhos técnicos têm demonstrado a eficiência de

formulações de terra diatomácea na dosagem de 250 a 1000 g/t, dependendo do tipo de grãos, no controle das diversas espécies de insetos de grãos armazenados, tais como *Sitophilus* spp. (Coleoptera: Curculionidae), *Rhizopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae), *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) e *Cryptolestes* spp. (Coleoptera: Cucujidae)^{2,3,4,5,8,9,10,11,12,13,14,16,18}.

¹Instituto Adolfo Lutz, SP, Seção de Microscopia Alimentar.

^{2,3}Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR

*Endereço para correspondência: Divisão de Bromatologia e Química do Instituto Adolfo Lutz, Seção de Microscopia Alimentar, Av. Dr. Arnaldo, 355 – CEP 01246-902, São Paulo, SP.

**Parte da tese de doutorado, apresentada pela primeira autora, a Coordenação do Curso de Pós Graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Entomologia da Universidade Federal do Paraná.

Existem aproximadamente 250 gêneros e 8.000 espécies de algas diatomáceas, cujas carapaças ricas em sílica foram sendo depositadas há mais ou menos 20 a 80 milhões de anos no fundo de oceanos e lagos, formando camadas que podem ter de poucos centímetros a centenas de metros. As camadas depositadas principalmente em águas marinhas são extraídas e trituradas formando um pó fino semelhante a talco que é utilizado para o controle de insetos em produtos armazenados, cujas partículas podem ter tamanho variando entre 7 a 15 μm ^{7,17}.

As partículas de terra diatomácea e de outros pós inertes causam danos à cutícula dos insetos através da adsorção da cera da epicutícula e abrasão da cutícula, tornando-a permeável à água e promovendo a morte por dessecação⁷.

O uso de formulações de terra diatomácea no controle de insetos de grãos armazenados tende a se tornar muito comum em regiões de clima seco devido a melhoria de sua eficiência. Controlam eficazmente insetos em cereais e feijão. Podem ser usadas em associação com fumigantes, criando uma barreira física que impede a infestação das partes inferiores e superiores da massa de grãos com insetos vindos de fora da estrutura. A atividade prolongada, mais a incapacidade dos insetos de desenvolverem resistência aos pós inertes os tornam altamente competitivos para o controle de insetos de grãos armazenados, permitindo sua conservação quase que indefinidamente. Também são inócuos ao homem e animais domésticos.

A existência de uma metodologia que permita a detecção de pós inertes, no caso, terra diatomácea, em grãos é de grande importância para a indústria e para os laboratórios oficiais responsáveis pela emissão de certificados de sanidade. A aplicação de formulações de terra diatomácea em grãos inteiros de trigo, triticale, cevada, aveia, milho e feijão deixa os mesmos com aparência fosca, esbranquiçada, sem seu brilho natural. Grãos tratados com pós inertes não apresentam riscos no seu manuseio e processamento. Entretanto, não é fácil através de avaliações visuais de qualidade saber se o produto recebeu tratamento com terra diatomácea.

A indústria pode requerer do fornecedor um certificado a fim de saber se o grão foi tratado ou não, porém, o grão não deve ser rejeitado ou penalizado no momento de sua comercialização, pois é indicativo de qualidade e ausência de resíduos de inseticidas químicos.

Assim, a existência de uma metodologia que permita identificar se cargas ou mesmo lotes de grãos foram tratados com pós inertes representa um avanço no controle de insetos de grãos armazenados. O objetivo desta pesquisa é, portanto, desenvolver uma metodologia que permita a detecção de resíduos de terra diatomácea em grãos de trigo e farinha e que possa ser usada pelos laboratórios oficiais como referência para os testes de qualidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparo das amostras de grãos de trigo com terra diatomácea

Foram tomadas amostras de 1 Kg de grãos de trigo tratados com diferentes dosagens de terra diatomácea (Insecto®). Esta formulação comercial é de origem marinha, contém 86,7% de dióxido de sílica (SiO_2), partículas com tamanho em torno de 10 μm , pH 6,0 e possui em sua composição 10% de aditivo alimentar, conforme Subramanyan *et al.*¹⁶. As amostras foram preparadas pela Cooperativa Agrária Mista Entre Rios Ltda. (AGRÁRIA), localizada em Guarapuava, PR, e analisadas no laboratório de Microscopia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo.

As amostras foram tratadas com as seguintes concentrações de terra diatomácea: Amostra 1 – 250 g/t, Amostra 2 – 500 g/t, Amostra 3 – 750 g/t, Amostra 4 – 1000 g/t, Amostra 5 – 2000 g/t, Amostra 6 – 4000 g/t, Amostra 7 – 6000 g/t, Amostra 8 – 8000 g/t, Amostra 9 – 10000 g/t.

Na Figura 1 pode-se observar grãos de trigo tratados com dosagens mínima e máxima de terra diatomácea, sendo notável a quantidade de pó aderida aos grãos nesta última (10000 g/t).

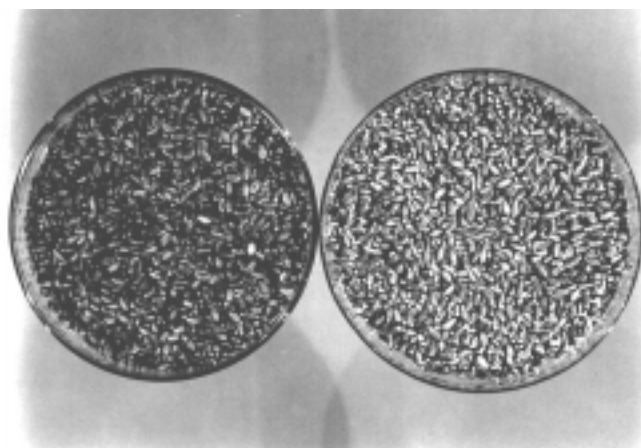


Figura 1 – Amostras de grãos de trigo tratadas com terra diatomácea, 250 g/t (à esquerda) e 10000g/t (à direita), para análise de resíduos, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, 2002.

Metodologia para a análise das amostras

A princípio, adotou-se o método utilizado para avaliar a presença de algas diatomáceas nas amostras descrito por Jonhson *et al.*⁶, porém como não funcionou adequadamente, foram feitas modificações, conforme se segue:

Método original

- Pesar 50 g de grãos de trigo em erlenmeyer de 300 mL;
- Adicionar 100 mL de álcool etílico a 95 % e agitar vigorosamente por 15 segundos;
- Transferir imediatamente 0,20 mL da suspensão alcoólica para uma cavidade de um prato de porcelana apropriado;
- Levar a solução alcoólica à evaporação até quase à secura;
- Adicionar 0,20 mL de um óleo adequado ao resíduo contido na cavidade do prato e misturar bem sem esmagamento. Em virtude das algas diatomáceas usadas possuírem um índice de refração de cerca de 1,45 é conveniente usar um óleo com índice de refração maior que 1,50 ou menor que 1,40, de modo que o contraste permita a sua identificação mais facilmente;
- Transferir uma gota do material óleo-resíduo para a cavidade (0,10 mL) de uma lâmina escavada, que é coberta com lamela de reticulado conveniente (placa de contagem ou de Neubauer);
- Examinar o material ao microscópio óptico com aumento de 400x para determinar a presença e contar carapaças e fragmentos das algas diatomáceas;
- Determinar o número de algas diatomáceas e seus fragmentos em 0,2 mm² da placa de contagem;

Só deverão ser contadas as algas diatomáceas e fragmentos que forem identificados pela forma ou estrutura característica;

Se, em média, duas ou mais algas diatomáceas ou fragmentos destas, forem encontrados por 0,2 mm² na placa de contagem, o resultado é considerado positivo para a presença de algas diatomáceas.

Modificações

- Adicionar 100 mL de água filtrada em substituição ao álcool etílico 95%;
- Transferir com auxílio de uma pipeta 0,20 mL da suspensão para um vidro de relógio pequeno, em substituição a um prato de porcelana;
- Levar a evaporação em estufa a 105°C por 7 minutos ou até que a água seque;
- Adicionar 0,20 mL de óleo de cravo com índice de refração de 1,53 (26°C) e misturar bem com auxílio de um bastão de vidro sem esmagamento;
- Transferir uma gota (ou 0,02 mL) do material para uma câmara (hemocitômetro) de Neubauer, com capacidade de 0,10 mm e cobrir com a lamínula própria;
- Contar o número de algas diatomáceas e seus fragmentos em 25 campos da câmara de Neubauer medindo 0,2 mm² cada;
- Lavar a câmara de Neubauer e realizar nova contagem;
- Tirar a média dos resultados de 2 contagens.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método descrito por Johnson *et al.*⁶ para a detecção de algas diatomáceas nas amostras de grãos de trigo, após as modificações sugeridas pelos autores deste trabalho, mostrou-se mais simples e eficiente.

As algas diatomáceas e seus fragmentos foram identificados conforme suas características típicas Andrey *et al.*¹ apresentadas nas Figuras 2 e 3.

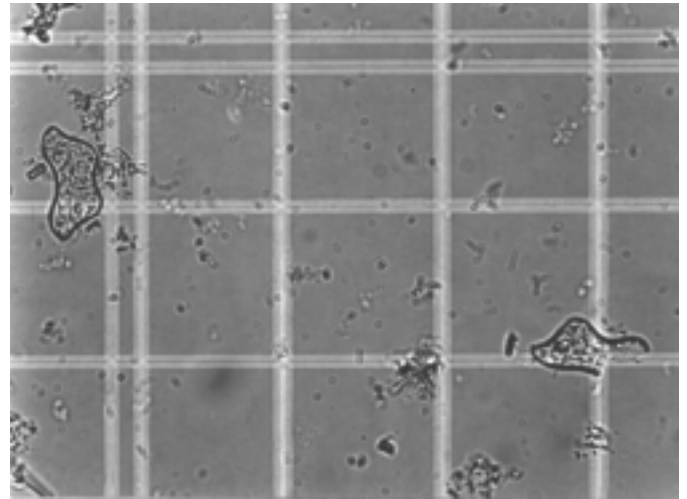


Figura 2 – Carapaça de algas diatomáceas observada em câmara de Neubauer, aumento de 4000x, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, 2002.

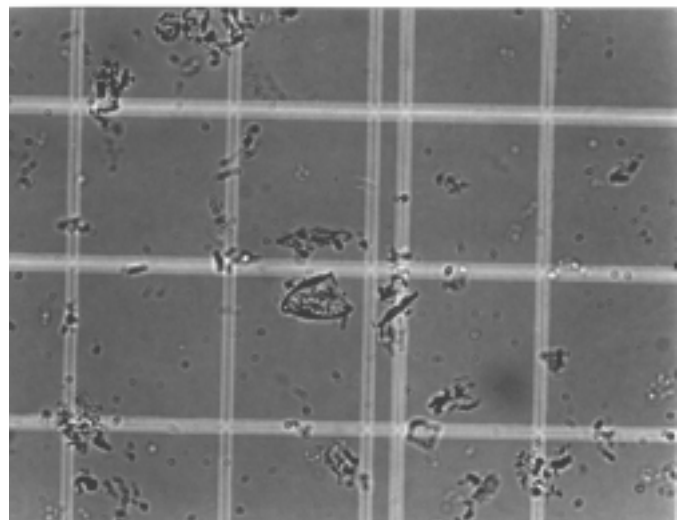


Figura 3 – Fragmento de carapaças de alga diatomácea na câmara de Neubauer, aumento de 4000x, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, 2002.

A água atuou bem nos grãos de trigo, de modo que as algas diatomáceas e fragmentos foram recuperados em todas as amostras, mesmo naquelas que foram tratadas com pequenas quantidades de pó inerte, como pode ser observado na Tabela 1. Foram contadas as algas diatomáceas e/ou fragmentos em 50 campos da câmara de Neubauer de 0,2 mm² cada, e a média destas contagens estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Número de carapaças/fragmentos de algas diatomáceas em amostras de grãos de trigo tratadas com diferentes concentrações de terra diatomácea, com dois produtos para a extração. São Paulo, SP, 2002.

AMOSTRAS/ Concentração de terra diatomácea	Média da contagem/campo* (água filtrada)	Média da contagem/campo* (álcool etílico a 95%)
A1 - 250g/t	0,04	0
A2 - 500g/t	0,28	0,12
A3 - 750g/t	0,26	0,2
A4 - 1000g/t	0,7	0,18
A5 - 2000g/t	1,22	0,12
A6 - 4000g/t	1,62	0,08
A7 - 6000g/t	3,52	3,44
A8 - 8000g/t	4,36	0,38
A9 - 10.000g/t	5,52	2,74

* O número expressa a média de carapaças de algas/fragmentos presentes em 50 campos de 0,2 mm² cada.

De acordo com Johnson *et al.*⁶ e Silva e Sousa¹⁵ só deveriam ser consideradas amostras positivas ou tratadas com pó inerte aquelas em que foram encontradas duas ou mais carapaças ou fragmentos/0,2 mm². Assim, somente as amostras 7, 8, 9 seriam consideradas positivas para a presença de terra diatomácea na lavagem com água, o que corresponde a 6, 8 e 10 Kg/t, que são dosagens muita elevadas não utilizadas na prática.

De acordo com os autores deste trabalho, todas as amostras que apresentaram carapaças ou fragmentos de algas diatomáceas foram consideradas positivas, portanto 100% das amostras.

Nas amostras 1, 2 e 3 foi adicionado menos de 1Kg/t, e mesmo assim foi possível detectar uma pequena quantidade de carapaças de algas, indicando que a lavagem com água ajuda a recuperar mais material que o álcool (Tabela 1).

Quando as amostras foram lavadas com água filtrada para a extração, o número de carapaças/fragmentos recuperado foi diretamente proporcional à concentração da terra diatomácea (Tabela 1). Ao contrário, quando lavadas com álcool a 95%, a detecção foi menos sensível, indicando que a lavagem com água é mais adequada, particularmente para as baixas concentrações do produto.

Na extração com álcool o número de algas/fragmentos detectado não obedece a uma ordem crescente, pois na amostra 9 que foi tratada com maior quantidade de pó inerte (10000 g/t) a média de algas/fragmentos foi de 2,74, enquanto que as amostras 7 e 8, que foram tratadas com menor quantidade de terra diatomácea (6000 e 8000 g/t) a média de algas/fragmentos foi de 3,44 e 0,38 carapaças/campo, respectivamente, indicando resultados disparatados.

Amostras em que foram adicionadas até 4000 g/t não apresentaram contagem expressiva de algas e ou fragmentos.

O método adotado por Johnson *et al.*⁶ e o sugerido pelos autores deste trabalho são adequados para o trigo em grão, mas não para a extração de carapaças de algas diatomáceas em farinha de trigo. Foram realizados testes com algumas amostras de farinha de trigo originadas das amostras de trigo tratadas com pó inerte utilizadas neste trabalho e testadas pelo método original de Johnson *et al.*⁶ sem modificações. Contudo, não foi possível realizar a contagem, pois sobrou muito amido de trigo, e a câmara de Neubauer ficou com muito material dificultando a distinção entre amido e as carapaças de algas diatomáceas.

CONCLUSÕES

A utilização de água filtrada para a extração de partículas de terra diatomácea em amostras de grãos de trigo mostrou-se mais adequada que o uso de álcool etílico a 95%. Em todas as amostras foram recuperadas algas diatomáceas, mesmo naquelas tratadas com pequenas quantidades de terra diatomácea.

O método proposto é adequado para extração de partículas de terra diatomácea em amostras de trigo tratadas com dosagem de 250 a 1000 g/t, que são dosagens usadas para o controle de insetos de grãos armazenados.

A análise de resíduos de terra diatomácea em farinha de trigo não é possível pelos métodos estudados devido a grande quantidade de amido.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao funcionário Antônio Roberto de Souza Ferreira da Seção de Fotomicrografia do Instituto Adolfo Lutz, a Adelino Poli Neto da Seção de Hematologia do Instituto Adolfo Lutz e a Cooperativa Agraria Entre Rios Ltda.

Atui, M. B.; Lazzari, F. A. e Lazzari, S. M. N. - Evaluation of the methodology for detection of diatomaceous earth residue (de) in wheat grain and flour. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 62(1): 11 - 16 ,2003.

ABSTRACT. The use of diatomaceous earth (DE) and other inert dusts has become a common practice for insect control in stored products. They may be used in association with fumigants, creating a physical barrier against infestation in the lower and upper grain mass by insects or coming from outside the storage structure. A methodology, which permits the detection of inert dust, in this case, DE - in grains is of great importance for the industry and official laboratories. Thus, the objective of this work was to develop a method for detecting the presence of DE particles on wheat kernels. Samples of 1 Kg of wheat grains were treated with different dosages of DE: 250 g/t; 500 g/t; 750 g/t; 1000 g/t; 2000 g/t; 4000 g/t; 6000 g/t; 8000 g/t; 10,000 g/t. The best results were obtained using filtered water for washing the grains and extracting the DE particles, instead of using 95% alcohol as it is prescribed in the original method. Fragments/carapaces of diatomace algae were recovered from all samples, even those treated with small amounts of the product. The proposed method proved to be adequate for detecting the presence of DE fragments/carapaces and we suggest to be adopted as an official method.

KEY WORDS. inert dust, diatomace earth, wheat.

REFERÊNCIAS

1. Andrey, D.E.; Clesceri, L.S.; Greenberg, A.E. (eds.). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 19th Ed., Published by American Public Health Association, Washington, DC, 1995, p 10-110 – 10-142, 10-143 – 10-165.
2. Arthur, F. Toxicity of diatomaceous earth to red flour beetle and confused flour beetles (Coleoptera:Tenebrionidae) Effects of temperature and relative humidity. *Journal of Economic Entomology*, 93: 526-532, 2000.
3. Dupchak, L. **Detecção de sujidades e avaliação de uma formulação de pós inertes para o controle de insetos em grãos e farinhas de trigo**. (Tese de Mestrado em Entomologia – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná). Curitiba, PR, 1997, 77p.
4. Fields, P.G.; Korunic, Z. Diatomaceous earth to control stored-grain insects. In: International Congress of Entomology, 21., Foz do Iguaçu, 2000. **Abstracts...** Londrina: Embrapa Soja. Vol 2, p. 1013.
5. Fields, B. Application technology and usage patterns of diatomaceous earth in stored product protection. In: International Working Conference on Stored-product Protection 7., Beijing, 1998. **Proceedings...**, Chengdu, v.1, p.785-789.
6. Johnson, R.M.; Jackson, R.L., Anzulovic, B.M. Microscopic identification of diatoms on treated wheat. *Agronomy Journal*, 56: 241, 1964.
7. Korunic, Z. Diatomaceous earth, a group of natural insecticides. *Journal of Stored Product Research*, Exeter, 34:2/3: 87-97, 1998.
8. Lorini, I.; Schneider, S. **Pragas de grãos armazenados: resultados de pesquisa**. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 1994, 48p.
9. Mewis, I.; Reichmuth, C. Diatomaceous earth against the coleoptera granary weevil *Sitophilus granarius* (Curculionidae). The confused flour beetle *Tribolium castaneum* (Tenebrionidae). The Mealworm *Tenebrio molitor* (Tenebrionidae). In: International Working Conference on Stored-product Protection, 7., Beijing, 1998. **Proceedings...** Chengdu, v.1, p.966-973.
10. Paula, M.C.Z de. **Manutenção da Qualidade do Arroz Armazenado: Monitoramento e Controle de Insetos**. (Tese de Doutorado em Entomologia - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná). Curitiba, PR, 2001, 74p.
11. Pereira, P.R.V.S. **Contribuição para o manejo integrado de pragas de produtos armazenados**. (Tese de Doutorado em Entomologia - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná). Curitiba, PR, 1999, 62p.
12. Pinto Jr., A. **Uso de pós inertes no controle de insetos de grãos armazenados**. (Tese de Mestrado em Entomologia – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná). Curitiba, PR, 1994, 62p.
13. Pinto Jr., A. **Utilização de terra diatomácea no controle de pragas de armazenamento e domissanitárias**. (Tese de Doutorado em Entomologia - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná). Curitiba, PR, 1999, 114p.

14. Rupp, M.M.M. **Detecção de sujidades e avaliação do pó inerte para o controle de insetos em cevada cervejeira e malte armazenados.** (Tese de Mestrado em Entomologia – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná). Curitiba, PR, 1996, 68p.
15. Silva e Sousa, M.E. 1967. Estudo do interesse de pós inseticidas inertes no combate à pragas dos produtos armazenados. **Garcia de Lorca** (Lisboa), 15: 367-408, 1967.
16. Subramanyam, Bh.; Swason, C.L.; Madamanchi, N.; Norwood, S. Effectiveness of Insecto® a new diatomaceous earth formulation in suppressing several stored-grain insect species. In: International Working Conference on Stored-product Protection, 6., Canberra, 1994. **Proceedings...** Wallingsdorf. v. 2, p.650-659.
17. Subramanyam, Bh., Madamanchi, N.; Norwood, S., 1998. Effectiveness of Insecto applied to shelled maize against stored-product insect larvae. **Journal of Economic Entomology**, 91: 280-286, 1998.
18. Subramanyan, Bh.; Roesli, R. Inert dusts. In: Subramanyan, Bh. Hagstrum, D. W. (eds). **Alternatives to pesticides in stored-product IPM.** 1 ed. Massachusettes, Kluwer Academic Publishers Norwell, 2000, p.321-380.

Recebido em 09/10/2002 ; Aprovado em 12/06/2003