

PUCRS

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATOLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS
DOUTORADO EM ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATEIRIAIS

ANA LUISA BUTELLI FIANCO

**OBTENÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS NATIVAS DO SUL DO
BRASIL E AVALIAÇÃO FRENTE A DIFERENTES TIPOS DE PRAGAS**

Porto Alegre
2018

PÓS-GRADUAÇÃO - *STRICTO SENSU*



Pontifícia Universidade Católica
do Rio Grande do Sul



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

ESCOLA POLITÉCNICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS

OBTENÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS NATIVAS DO SUL DO BRASIL E AVALIAÇÃO FRENTE A DIFERENTES TIPOS DE PRAGAS

Ana Luisa Butelli Fianco

Farmacêutica

Mestre em Engenharia e Tecnologia de Materiais

ORIENTADOR: PROF(a). DR(a). Eduardo Cassel

Tese realizada no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais (PGETEMA) da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Engenharia e Tecnologia de Materiais.

**Porto Alegre
Agosto, 2018**

Ficha Catalográfica

B983o Butelli Fianco, Ana Luisa

Obtenção de óleos essenciais de plantas nativas do sul Brasil e avaliação frente a diferentes tipos de pragas / Ana Luisa Butelli Fianco .
– 2018.

102p.

Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais, PUCRS.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Cassel.

1. Óleos essenciais. 2. Anticarsia gemmatalis. 3. Varroa destructor. 4. Rhipicephalus (Boophilus) microplus. 5. Encapsulação. I. Cassel, Eduardo. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da PUCRS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Bibliotecária responsável: Saete Maria Sartori CRB-10/1363



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
 ESCOLA POLITÉCNICA
 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS

OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS NATIVAS DO SUL DO BRASIL FRENTE A DIFERENTES TIPOS DE PRAGAS

CANDIDATA: ANA LUISA BUTELLI FIANCO

Esta Tese de Doutorado foi julgada para obtenção do título de DOUTOR EM ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.



DR. EDUARDO CASSEL - ORIENTADOR

BANCA EXAMINADORA



DRA. GILSANE LINO VON POSER - DA FACULDADE DE FARMÁCIA - UFRGS



DRA. ALINE MACHADO LUCAS - ESCOLA POLITÉCNICA - PUCRS



DRA. NARA REGINA DE SOUZA BASSO - DO PGETEMA - PUCRS

PUCRS

Campus Central
 Av. Ipiranga, 6681 - Prédio 32 - Sala 505 - CEP: 90619-900
 Telefone: (51) 3353.4059 - Fax: (51) 3320.3625
 E-mail: engenharia.pg.materiais@pucrs.br
 www.pucrs.br/politecnica

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a elaboração deste trabalho:

Ao meu amor Bernardo pela paciência, compreensão e simplicidade de sempre.

À minha família Pai, Mãe, Clara e Mano por todo o apoio, a qualquer momento, em qualquer circunstância.

Aos meus avós, por todo carinho e amor.

A todas as pessoas que fazem parte do Laboratório de Operações Unitárias, meus amigos, em especial ao Guilherme Evaldt, Rodrigo Scopel, Jessica Haupt, Americia F. Bento, Rafael Nolibos, indispensáveis para a elaboração deste trabalho e a Aline Machado Lucas e Caroline Finkler por estarem sempre dispostas a qualquer momento.

À professora Neiva Monteiro de Barros e ao doutorando e colega Aaron Machado do Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, pelo apoio imprescindível para a elaboração deste trabalho.

Ao Centro Interdisciplinar de Nanociências e Micro-Nanotecnologia (NanoPUC), em especial às colegas Elisa Magno e Gisele Selli, pela paciência e compreensão em todas as análises realizadas (sempre com muita diversão).

À todos os colegas do Laboratorio de Ecologia Química, da Universidade da República de Montevideo, em especial à Carmen Rossini e Federico Rodrigues, por todos os ensinamentos.

Ao meu orientador Eduardo Cassel, por acreditar no meu potencial e pela paciência e parceria de sempre.

Ao professor Rubem Mario Figueiró Vargas, pelo apoio e muitas risadas.

À CAPES pela oportunidade e bolsa de estudos.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	5
AGRADECIMENTOS	6
SUMÁRIO	7
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE TABELAS.....	11
RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	16
2.1. Objetivos Específicos	16
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
3.1. Biopraguicidas	18
3.2. Pragas da indústria agropecuária e apícola	20
3.2.1. <i>Anticarsia gemmatalis</i>	21
3.2.2. <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	23
3.2.3. <i>Varroa destructor</i>	26
3.3. Espécies de plantas em estudo	27
3.4. Óleos essenciais	30
3.4.1. Óleos essenciais no manejo de pragas	32
3.5. Encapsulação de óleos essenciais em polímeros	35
3.5.1. Técnicas de encapsulação de óleos essenciais em matrizes poliméricas	37
3.5.2. Polímeros biodegradáveis	38
3.5.3. Alginato de Sódio.....	39
3.5.4. Quitosana	42
3.5.5. Complexo quitosana e alginato	44
4. MATERIAIS E MÉTODOS	47
4.1. Coleta do material vegetal	47
4.2. Obtenção dos óleos essenciais	48

4.3. Análise dos óleos essenciais por CG-MS	49
4.4. Encapsulação dos óleos essenciais.....	50
4.5. Eficiência de encapsulação.....	51
4.6. Ensaio de liberação dos óleos essenciais	52
4.7. Ensaio em <i>Anticarsia gemmatalis</i>	53
4.8. Ensaio em <i>Boophilus microplus</i>	54
4.9. Ensaio em <i>Varroa destructor</i>	55
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	57
5.1. Obtenção dos óleos essenciais	57
5.2. Análise dos óleos essenciais.....	58
5.3. Encapsulação dos óleos essenciais.....	61
5.3.1. Eficiência de encapsulação	62
5.3.2. Ensaio de Liberação	63
5.4. Bioensaio com <i>Anticarsia gemmatalis</i>	66
5.5. Bioensaio com <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	70
5.6. Bioensaio com <i>Varroa destructor</i>	77
6. CONCLUSÕES	81
7. PROPOSTA DE TRABALHOS FUTUROS	83
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 Ciclo de vida da <i>Anticarsia gemmatalis</i>	22
Figura 3.2 <i>Anticarsia gemmatalis</i> na fase adulta.....	23
Figura 3.3 Ciclo de vida do carrapato <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	25
Figura 3.4 Ciclo de vida de <i>Varroa destructor</i>	27
Figura 3.5 Compostos relatados na literatura com atividade inseticida.....	28
Figura 3.6. Regiões do Brasil que possuem a espécie <i>S. juergensii</i>	29
Figura 3.7 Estados do Brasil que apresentam a espécie <i>B. psidioides</i>	30
Figura 3.8 Equipamento de destilação por arraste a vapor em escala laboratorial. ...	32
Figura 3.9. Esquema das nanocápsulas e nanopartículas poliméricas.....	36
Figura 3.10. Monômeros presentes no alginato.	40
Figura 3.11. Estrutura dos blocos contendo sequência M-M (a), G-G (b) e M-G-M (c).40	
Figura 3.12. Modelo “Caixa de ovos”	41
Figura 3.13. Monômeros presentes na quitina e na quitosana.....	43
Figura 3.14. Esquematização do complexo alginato-quitosana	45
Figura 4.1. Unidade piloto de arraste a vapor.	48
Figura 4.2 Envelope impregnado com óleo essenciais/suspensão de nanopartículas.54	
Figura 4.3 Placas de Petri contendo as abelhas, varroas e amostra impregnada em papel filtro.....	56
Figura 5.1 Curva de calibração volume de óleo essencial de <i>B. psidioides</i> versus absorbância.....	63
Figura 5.2 Curva de calibração do volume de óleo essencial <i>S. juergensii</i> versus absorbância.....	63

- Figura 5.3. Curva de calibração do *headspace* do composto α -humuleno, referente ao óleo essencial de *S. juergensii*. 64
- Figura 5.4. Curva de calibração do *headspace* do composto β -pineno, referente ao óleo essencial de *B. psiadioides*. 64
- Figura 5.5 Mortalidade das larvas de *A. gemmatalis* frente a diferentes concentrações do óleo essencial livre de *S. juergensii*. 67
- Figura 5.6. Mortalidade das larvas de *A. gemmatalis* frente a diferentes concentrações do óleo essencial livre de *B. psiadioides*. 68
- Figura 5.7 Mortalidade das larvas de *A. gemmatalis* frente a diferentes concentrações do óleo essencial encapsulado de *S. juergensii*. 69
- Figura 5.8 Mortalidade das larvas de *A. gemmatalis* frente a diferentes concentrações do óleo essencial encapsulado de *B. psiadioides*. 69
- Figura 5.9 Mortalidade (%) dos carrapatos bovinos com óleo essencial de *B. psiadioides* puro (A) e encapsulado (B) em 48 h de ensaio. 75
- Figura 5.10 Mortalidade (%) dos carrapatos bovinos com óleo essencial de *S. juergensii* puro (A) e encapsulado (B) em 48 h de ensaio. 76
- Figura 5.11 Mortalidade dos controles utilizados nos ensaios. C+ = Controle positivo, C-OE= Controle negativo para comparação ao óleo essencial e C-Nano = para comparação do óleo encapsulado. 76
- Figura 5.12 Mortalidade em abelhas (A) e varroas (B) frente ao óleo essencial puro (OE), encapsulado (NP) e ao controles positivo (C+), controle negativo para os ensaios com óleo livre (C-OE) e controle negativo para os ensaios com óleo encapsulado (C-NP) de *S. juergensii*. 78
- Figura 5.13 Mortalidade em abelhas (A) e varroas (B) frente ao óleo essencial puro (OE), encapsulado (NP) e ao controles positivo (C+), controle negativo para os ensaios com óleo livre (C-OE) e controle negativo para os ensaios com óleo encapsulado (C-NP) de *B. psiadioides*. 79

LISTA DE TABELAS

Tabela 3-1 Principais bioinseticidas utilizados no mundo.	19
Tabela 3-2 Óleos essenciais e fixos popularmente utilizados no manejo de pragas.	33
Tabela 4-1 Informações sobre o material vegetal e indicação das condições operacionais utilizadas na extração de óleos essenciais de espécies nativas do sul do Brasil	49
Tabela 4-2 Concentrações utilizadas nos bioensaios frente a <i>R. (B) microplus</i>	55
Tabela 5-1: Rendimentos do processo de extração por arraste a vapor utilizado na obtenção de óleo essencial.....	57
Tabela 5-2 Análise cromatográfica CG/EM do óleo essencial de <i>Baccharis psiadioides</i>	59
Tabela 5-3 Análise cromatográfica CG/EM do óleo essencial de <i>Senecio juergensii</i>	60
Tabela 5-4 Resultados da caracterização das nanopartículas de óleos essenciais de <i>S. juergensii</i> e <i>Baccharis psiadioides</i> encapsuladas em alginato/quitosana	62
Tabela 5-5. Média de área e desvio padrão do composto majoritário do óleo essencial de <i>S. juergensii</i> livre e encapsulado em diferentes tempos..	65
Tabela 5-6. Média de área e desvio padrão de um composto majoritário do óleo essencial de <i>B. psiadioides</i> livre e encapsulado em diferentes tempos.	66
Tabela 5-7 Parametros biológicos de <i>A. gemmatalis</i> alimentadas com dieta artificial contendo o OE livre de <i>S. juergensii</i>	71
Tabela 5-8 Parâmetros biológicos de <i>A. gemmatalis</i> alimentadas com dieta artificial contendo nanopartículas encapsuladas com OE de <i>B. psiadioides</i>	74

RESUMO

FIANCO, ANA LUISA BUTELLI. Obtenção de óleos essenciais de plantas nativas do sul do Brasil e avaliação frente a diferentes tipos de pragas. Porto Alegre. 2018. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais, PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL.

Os setores agropecuário e apícola têm buscado alternativas a base de extratos vegetais para combater pragas que acarretam importantes perdas na produção e, conseqüentemente, impacto econômico. A utilização indiscriminada de pesticidas sintéticos é um dos motivos que leva ao aparecimento de pragas resistentes, além de comprometer a fauna local e gerar resíduos químicos nos produtos. Devido a isto, a procura por inseticidas naturais vem sendo amplamente realizada e os óleos essenciais, substâncias voláteis produzidas pelo metabolismo secundário de plantas, consistem em uma alternativa promissora para o controle de pragas. O objetivo deste trabalho é o estudo sobre a atividade praguicida de óleos essenciais de *Senecio juergensii* e *Baccharis psiadioides* frente a pragas que acometem o setor agropecuário e apícola: *Anticarsia gemmatalis*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e *Varroa destructor*. Os óleos essenciais foram obtidos através da extração por arraste a vapor e foram caracterizados por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG/EM). Para impedir a rápida degradação e volatilidade dos óleos essenciais estudados, estes foram encapsulados em polímeros de alginato/quitosana, através de método contendo etapas de emulsificação do óleo em água, gelificação ionotrópica com quitosana e alginato e evaporação do solvente. A eficiência de encapsulação dos óleos essenciais de *B. psiadioides* e de *S. juergensii* foi de 89% e 86%, respectivamente. Os óleos essenciais livre e encapsulado de *S. juergensii* promoveram 100% de mortalidade em carrapatos bovinos a 7,5 mg/mL, 75% e 82% de mortalidade em varroas na concentração de 1% e 25% e 20% de mortalidade à concentração de 1% em larvas de *A. gemmatalis*. Os óleos essenciais livre e encapsulado de *B. psiadioides* causaram também 100% de mortalidade em carrapatos bovinos na concentração de 7,5 mg/mL, 77,6% e 83,3% de mortalidade em varroas na concentração de 0,5% e 60% e 40% em *A. gemmatalis*, na concentração de 1%. A mortalidade das pragas estudadas aumentou de acordo com o aumento da concentração dos óleos essenciais testados e foi mais lenta quando estes foram encapsulados, estando de acordo com os testes de liberação. Os óleos essenciais de *S. juergensii* e *B. psiadioides* demonstraram ser promissores no controle das pragas estudadas.

Palavras-chave: óleos essenciais, *Anticarsia gemmatalis*, *Varroa destructor*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, encapsulação.

ABSTRACT

FIANCO, ANA LUISA BUTELLI. Obtention of native essential oils from Rio Grande do Sul and evaluation against the main plagues of beekeeping and agriculture. Porto Alegre. 2017. PhD Qualify. Graduation Program in Materials Engineering and Technology, PONTIFICAL CATHOLIC UNIVERSITY OF RIO GRANDE DO SUL.

The agricultural and beekeeping sector have been looking for alternatives based on plant extracts to combat pests that lead to significant losses in production and consequently an economic impact. The indiscriminate use of synthetic pesticides is one of the reasons that lead to the appearance of resistant pests, in addition to compromising the local fauna and generating chemical residues in the products. Due to this, the demand for natural insecticides has been widely studied and the essential oils (EO), volatile substances produced by the secondary metabolism of plants, are a promising alternative for pest control. The aim of this work is to study the pesticidal activity of *Senecio juergensii* and *Baccharis psiadioides* essential oils against pests that affect the agricultural and beekeeping sector: *Anticarsia gemmatalis*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and *Varroa destructor*. The EO were obtained by steam distillation and were characterized by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometer (GC/MS). To prevent the rapid degradation and volatility of the EO, they were encapsulated in alginate / chitosan polymers by a method containing steps of o/w emulsification, ionotropic gelation with chitosan and alginate and evaporation of the solvent. The encapsulation efficiency of *B. psiadioides* and *S. juergensii* was $89\% \pm 4.7$ and $86\% \pm 1.15$, respectively. Free and encapsulated EOs of *S. juergensii* caused 100% mortality in cattle ticks at 7.5 mg/mL, 75% and 82% mortality in varroa at concentrations of 1% and 30% and 20% mortality in larvae of *A. gemmatalis*, at 1%. Free and encapsulated OEs of *B. psiadioides* also caused 100% mortality in cattle ticks at 7.5 mg/mL, 77.6% and 83.3% mortality in varroas in the concentration of 0.5% and 60% and 40% in *A. gemmatalis*, at 1%. Mortality of the studied pests increased according to the increase of concentration of the EOs tested and was slower when they were encapsulated, being in agreement with the release tests. The OE of *S. juergensii* and *B. psiadioides* have shown to be promising in the control of the studied pests.

Keywords: essential oils, *Anticarsia gemmatalis*, *Varroa destructor*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, encapsulation.

1. INTRODUÇÃO

A agropecuária é uma das principais atividades econômicas do Brasil, a qual representa 5,5% (2016) do Produto Interno Bruto (PIB) brasileiro e estima-se que houve um crescimento de 10,9% no ano de 2017 (IPEA, 2017). O Brasil é o segundo maior produtor de soja do mundo, com uma produção de aproximadamente de 115 milhões de toneladas na safra de 2017. Além disto, possui como uma das maiores fontes de riqueza a pecuária, que já abateu mais de 14 milhões de cabeças de gado até o final do 2º trimestre de 2017. A produção de mel também ocupa uma importante atividade no setor apícola, com produção de cerca de 40 mil toneladas de mel em 2016 (IBGE, 2017).

Por ser uma atividade amplamente difundida no Brasil, a agropecuária enfrenta obstáculos que muitas vezes afetam a sua produção, estando entre eles a persistência de pragas resistentes aos agrotóxicos, assim como a utilização de praguicidas sintéticos de maneira indiscriminada tem gerado enorme preocupação por seus efeitos nocivos ao meio ambiente. Além da contaminação do solo e da água, muitos deles não são seletivos às pragas, o que pode acarretar em um desequilíbrio na fauna local e o desenvolvimento de resistência química (Martinez, 2013). O Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos do mundo e cerca de 2000 formulações de agrotóxicos são autorizadas pelo Ministério da Saúde, do Meio Ambiente e registrados no MAPA. Dentre os 50 agrotóxicos mais utilizados nas lavouras, 22 deles são proibidos na Europa (Carneiro, 2015). Os efeitos maléficos das formulações sintéticas têm levado a comunidade científica a pesquisar sobre praguicidas naturais, uma excelente alternativa por serem econômicos e facilmente biodegradáveis (Castro, 2007).

Os biopraguicidas já vêm sendo utilizados em diversos países e vêm ganhando atenção especial no Brasil. Já existem opções no mercado, porém a maioria é de origem biológica como fungos, bactérias e vírus. Praguicidas derivados de plantas são menos utilizados (Menezes, 2005; Dias, 2016). Produtos a base de

nim (*Azadirachta indica*) e de extrato de alho já são utilizados na agricultura orgânica bem como alguns óleos essenciais de plantas como citronela e eucalipto (Menezes, 2005).

Os óleos essenciais (OE) são substâncias voláteis provenientes do metabolismo secundário das plantas e são constituídos principalmente por compostos terpênicos, os quais são responsáveis por diversas atividades biológicas como antimicrobiana, antiviral e antioxidante (Reichling et al., 2009; Teixeira et al., 2013). Sua ação praguicida já vem sendo estudada e até mesmo aplicada, o que os torna promissores para o controle de pragas de uma forma mais sustentável (Isman, 2016; Andres et al., 2017). Há uma crescente procura por produtos de origem botânica que possuam atividade praguicida devido à variedade de compostos químicos existentes na natureza, bem como à variedade de espécies de plantas que ainda não foram estudadas. O vasto território brasileiro e sua biodiversidade permitem a exploração de novas fontes vegetais.

Este trabalho apresenta o estudo sobre a atividade praguicida de óleos essenciais de duas plantas nativas do sul do Brasil: *Baccharis psiadioides* e *Senecio juergensi* frente a pragas da agropecuária e apicultura no Brasil: *Anticarsia gemmatalis*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplis* e *Varroa destructor*. Os óleos essenciais foram extraídos através do método de arraste a vapor e analisados por cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas (CG/EM). A volatilidade e degradação dos compostos ativos dos óleos essenciais obtidos levou a necessidade de encapsulação dos mesmos em nanopartículas de alginato e quitosana. A obtenção das nanopartículas foi realizada através de um método contendo etapas de emulsificação dos óleos essenciais em uma solução aquosa de alginato de sódio e gelificação com cloreto de cálcio e quitosana, com posterior evaporação do solvente. A avaliação frente às três pragas foi realizada através da exposição destas frente aos óleos essenciais livre e encapsulados. Os testes carrapaticidas foram realizados através do Teste do Pacote de Larvas (TPL), os testes varroacidas foram realizados através da exposição das varroas e abelhas a diferentes concentrações dos óleos essenciais livres e encapsulados, que foram impregnados em papéis filtro e os ensaios envolvendo *A. gemmatalis* foram realizados a partir da solubilização dos óleos em estudo no alimento das lagartas, com posterior verificação de sua mortalidade e desenvolvimento.

2. OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho consiste na avaliação da atividade praguicida de extratos voláteis de plantas nativas do sul do Brasil frente às pragas da agropecuária e apicultura *Anticarsia gemmatalis*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e *Varroa destructor*.

2.1. Objetivos Específicos

- a) *Screening* de plantas nativas do sul do Brasil com possíveis atividades praguicidas.
- b) Extração de óleos essenciais de *Baccharis psiadoides* e *Senecio juergensii* por destilação por arraste a vapor;
- c) Análise química dos óleos essenciais de *Baccharis psiadoides* e *Senecio juergensii* por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG/EM);
- d) Avaliação da atividade praguicida dos óleos essenciais obtidos frente à praga da soja *Anticarsia gemmatalis*;
- e) Avaliação da atividade praguicida dos óleos essenciais obtidos frente ao carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*;
- f) Avaliação da atividade praguicida dos óleos essenciais obtidos frente à praga de colmeias *Varroa destructor*;
- g) Encapsulação dos extratos voláteis de *Baccharis psiadoides* e *Senecio juergensii* em nanopartículas de alginato/quitosana;
- h) Avaliação da eficiência de encapsulação e perfil de liberação dos óleos essenciais encapsulados;

- i) Avaliação da atividade praguicida dos óleos essenciais encapsulados contra as pragas *Anticarsia gemmatalis*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e *Varroa destructor*.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Biopraguicidas

A manutenção e controle de pragas na agropecuária e apicultura são caracterizados pelo uso indiscriminado de praguicidas/pesticidas sintéticos, os quais são responsáveis pela elevada toxicidade à fauna local, presença de resíduos químicos na flora/fauna e em produtos oriundos da pecuária e apicultura, comprometimento do solo e colmeias, resistência de pragas aos praguicidas utilizados, além de serem tóxicos para os que os aplicam (Saito et al., 2004; Isman, 2006; Cantrell et al., 2012; Echeverri & Rossini, 2013; Moreira et al., 2016). Diante disto, pesquisadores vêm procurando alternativas menos tóxicas e mais seletivas para o manejo das pragas como a utilização de produtos naturais (Chung et al., 2013, Oliveira et al., 2014; Asbahani et al., 2015). As plantas possuem diversos componentes químicos utilizados para afastar invasores ou atrair polinizadores, logo tais componentes podem ser obtidos por diferentes processos, gerando extratos voláteis ou não voláteis.

O mecanismo de ação de biopraguicidas está relacionado com a atividade de compostos provenientes do metabolismo secundário de plantas, os quais possuem papel contra a herbivoria, ataque de patógenos, competição entre plantas e atração de organismos benéficos como polinizadores, dispersores de semente, entre outros (Bruneton, 2001; Kokate, 2008). A obtenção destes compostos pode ser através de diferentes métodos de extração como destilação por arraste a vapor (Cassel et al., 2009), extração com solventes orgânicos a baixas pressões (Aspé & Fernández, 2011), extração supercrítica (Scopel et al., 2014), extração por ultrassom e extração por micro-ondas (Wang & Weller, 2006; Aspé & Fernández, 2011).

Os inseticidas naturais (ou derivados de produtos naturais) mais utilizados pelo setor agropecuário são os produtos a base de piretrina, rotenona, azadiractina,

nicotina, rianodina, quássia e alguns óleos essenciais (Tabela 3.1). Os mais utilizados são os piretroides, rotenonea e nim (Menezes, 2005; Isman, 2016).

A piretrina é uma oleoresina extraída das flores secas de plantas do gênero *Chrysanthemum* spp. e é um composto de fácil degradação pela ação da luz e calor. Através disto, derivados sintéticos da piretrina foram desenvolvidos a fim de melhorar sua estabilidade: os piretroides. Seu mecanismo de ação está relacionado com o bloqueio dos canais de sódio no axônio dos neurônios, impedindo a transmissão do impulso nervoso nos artrópodes (Menezes, 2005; Moreira, 2005; Correa et al., 2011).

A rotenona é um isoflavonoide produzido pelas raízes e rizomas de legumes tropicais *Derris* spp., *Lonchocarpus* spp. e *Tephrosia* spp. Ela age na mitocôndria das células dos insetos, bloqueando a cadeia de transporte de elétrons, o que impede a produção de energia. A utilização da rotenona na agricultura é limitada, pois é um composto instável à luz, ar e ao calor, apresentando menor atividade inseticida em ambientes com temperaturas elevadas, além do alto custo de produção (Ling, 2003; Menezes, 2005; Moreira, 2005; Correa et al., 2011).

O nim é derivado da planta *Azadirachta indica*, originária da Índia. É o inseticida botânico mais utilizado no Brasil. É muito utilizado em cultivos orgânicos pela sua baixa toxicidade, biodegradabilidade e elevada eficiência. Os compostos ativos presentes no nim são os triterpenoides como a salanina e nimbina, que funcionam como repelentes, e o mais estudado e utilizado, a azadiractina que possui atividade inseticida, impedindo o crescimento e metamorfose de diversos insetos (Menezes, 2005; Moreira, 2005; Correa et al., 2011).

Tabela 3-1 Principais bioinseticidas utilizados no mundo.

	Origem	Compostos ativos	Função	Mecanismo de ação
Nim ^{1,2,3}	<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	Azadiractina	Inseticida	Ação por ingestão ou contato
Piretrinas ^{1,2,3}	<i>Crysanthemum cinerariifolium</i> Vis.	Piretrina	Inseticida e acaricida	Ação por contato
Rotenona ^{1,2,3}	<i>Derris elliptica</i> Benth.	Rotenona	Inseticida e acaricida	Ação por contato
Nicotina ^{1,2,3}	<i>Nicotiana</i>	Nicotina	Inseticida	Ação por contato

	<i>tabacum</i> L.		e acaricida	
Rianodina ^{1,2}	<i>Ryania speciosa</i> Vahl	Rianodina	Inseticida	Ação por ingestão
Sabadilha ^{1,2}	<i>Schoenocaulon officinale</i>	Cevadina e veratridina	Inseticida	Ação por ingestão
Quassia ¹	<i>Quassia amara</i>	Quassinoides	Inseticida e acaricida	Ação por ingestão ou contato
Limoneno e linalol ^{1,2,3}	Casca de frutas cítricas.	d-limoneno e linalol	Inseticida e acaricida	Ação por contato
Extrato de alho ^{1,2}	<i>Allium sativum</i> L.	Conjunto de compostos sulfurados	Inseticida e repelente	Ação por contato

Fonte: Menezes, 2005¹; Moreira 2005²; Oliveira, 2014³.

3.2. Pragas da indústria agropecuária e apícola

O cultivo de soja é uma das principais atividades econômicas no Brasil, que ocupa o 2º lugar no ranking mundial em termos de produção. A pecuária também exerce importante papel na geração de riquezas, pois além de abastecer o mercado interno, é exportada em grandes quantidades. Além disso, a produção de mel ocupa uma importante atividade no setor apícola, com produção anual de cerca de 40 mil toneladas de mel em 2016 (IBGE, 2017). Tais atividades enfrentam sérios problemas frente a pragas que acarretam grandes perdas nas produções. A *Anticarsia gemmatilis*, mais conhecida como lagarta-da-soja, é um exemplo de praga que afeta uma das culturas mais importantes do setor agrícola nacional, a produção de soja. Por ser um inseto desfolheador, pode acabar com uma planta por completo. A resistência a pesticidas como organofosforados e piretroides, pesticidas sintéticos amplamente utilizados para erradicação de *A. gemmatilis* (Moscardi et al., 2012; Oliveira, 2013), vem sendo reportado também como um problema que afeta a produção da soja. Em relação à pecuária nacional, o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, conhecido como carrapato-de-boi, é um ectoparasita que traz consequências para toda a cadeia de produção de carne bovina, afetando a produção da carne, assim como os derivados couro e leite. É o ectoparasita que causa maiores danos na indústria pecuária da América do Sul devido à dificuldade

do controle de sua propagação (Ferreira, 2002; Rosario-Cruz et al., 2009; Ferreira et al., 2017). Outro exemplo de praga é o ácaro ectoparasita *Varroa destructor*. Este se desenvolve no interior das colmeias e acomete abelhas adultas e crias, podendo gerar má-formação de órgãos e redução do peso de zangões e operárias. Dependendo do grau de infestação da colmeia, a polinização pode ser afetada, bem como a produção de mel e de propolis. É a praga apícola que tem despertado o maior interesse mundial (Rosenkranz et al., 2010; Castagnino & Orsi, 2012; Islam et al., 2016).

3.2.1. *Anticarsia gemmatalis*

A soja é o principal grão cultivado no Brasil, com produção de cerca de 96 milhões de toneladas na safra de 2016/2017. O aumento populacional das últimas décadas levou a um aumento da demanda deste grão e novas tecnologias e práticas de cultivo foram aplicadas (IBGE, 2017). Todo o processo de cultivo teve que ser extremamente simplificado e amplificado para facilitar a produção. O aumento da produção levou ao uso indiscriminado de adubos, fertilizantes e, principalmente, agrotóxicos (pesticidas sintéticos). Por consequência do aumento da produção de soja e do uso contínuo dos pesticidas sintéticos, o número de pragas presentes nas culturas também aumentou. Um dos maiores desafios hoje no cultivo da soja é o controle das pragas que provocam diminuição de rendimento na produção (Batista et al., 2005; Moscardi et al., 2012; Oliveira, 2013).

Dentre as principais pragas presentes nas culturas de soja destaca-se a *Anticarsia gemmatalis*, popularmente conhecida como a lagarta-da-soja. É um inseto desfolheador que se alimenta do limbo e nervura das folhas e está presente em diversas regiões de cultivos de soja no Brasil. Em cultivos em que não há o tratamento desta praga, a desfolhagem pode chegar a 100% (Moscardi et al., 2012). Os ovos da *Anticarsia gemmatalis* são depositados na parte inferior das folhas, ramos, hastes e caule e levam de três a cinco dias para eclodirem. Após eclodirem, as lagartas já se alimentam das folhas e passam por cinco a seis instares larvais (14 - 20 dias) até a fase de pré-pupa que dura aproximadamente 2 dias. A fase pupal varia de sete a onze dias até virar adulta, onde permanece viva por mais ou menos 25 dias (Figura 3.1). O indivíduo adulto apresenta coloração parda, cinza ou marrom

e uma listra transversal escura de uma ponta a outra das asas (Figura 3.2) (Batista et al., 2005; Moscardi et al., 2012; Oliveira, 2013).

O controle da lagarta-da-soja é realizado por pulverização de inseticidas geralmente de amplo espectro, como os organofosforados e os piretroides, que causam enorme impacto ambiental e tem gerado indivíduos cada vez mais resistentes. Inseticidas naturais já vêm sendo estudados e testados para o controle da *A. gemmatalis*, como os produtos a base de cepas de *Bacillus thuringiensis*, uma bactéria Gram positiva presente no solo que durante a sua esporulação produz inclusões proteicas cristalinas (proteínas *cry*) que têm ação inseticida, levando o inseto à paralisia do sistema digestório, dos músculos e septicemia (Batista et al., 2005; Guedes et al., 2011).

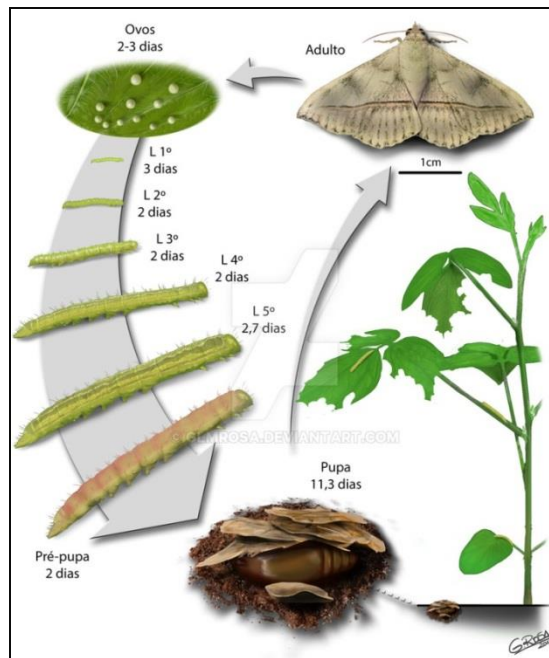


Figura 3.1 Ciclo de vida da *Anticarsia gemmatalis*

Fonte: Deviant Art

Nascimento et al. (2004) avaliaram a atividade inseticida de extratos obtidos com etanol e acetona do tubérculo de *Aristolochia pubescens* em larvas de *A. gemmatalis* e também de alguns compostos isolados a partir destes extratos. Observaram uma maior ação dos extratos obtidos com acetona do que com etanol. Os compostos isolados ácido aristolóquico e ent-kaur-15-en-17-ol causaram um aumento do tempo da fase larval e os compostos (+)-sesamina e (+)-eudesmina

provocaram malformação de indivíduos adultos, indicando resultados promissores para o controle de *A. gemmatalis* no cultivo da soja.

Lucena (2015) avaliou a ação de extratos etanólicos, hexânicos e de acetato de etila de folhas de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* frente à *A. gemmatalis*. A concentração letal média (CL₅₀) dos extratos de *P. hispidinervum* foi 4,93 mg/mL para extrato obtido com acetato de etila e 2,34 mg/mL para extrato hexânico e a taxa de mortalidade foi 100% para ambos os extratos. O extrato hexânico de *P. aduncum* apresentou taxa de mortalidade de 93,3% e CL₅₀ de 6,35 mg/mL e o extrato obtido com acetato de etila apresentou 90% de mortalidade e CL₅₀ de 5,79 mg/mL. Os extratos etanólicos de ambas as espécies apresentaram baixas taxas de mortalidade.



Figura 3.2 *Anticarsia gemmatalis* na fase adulta

Fonte: *Butterflies and Moths of North America*

3.2.2. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é um ectoparasita hematófago de mamíferos, pertencente à família Ixodidae e constitui uma das principais pragas que afetam a criação de gado. Este ácaro é encontrado nas zonas tropicais e subtropicais, sendo amplamente distribuído na América, Ásia, África e Austrália. É o ectoparasita que causa maiores danos à pecuária da América do Sul

devido à dificuldade do controle de sua propagação (Echeverri & Rossini, 2013; Ferreira et al., 2017).

A perda na produção se deve principalmente a doenças as quais os carrapatos bovinos são vetores, como babesiose e anaplasmose, responsáveis pela tristeza parasitária bovina (TPB). Além disto, um carrapato pode sugar até 3 mL de sangue do seu hospedeiro, acarretando diminuição na produção de leite, de carne e afetando a qualidade do couro. Devido a estes fatores, medidas de controle para evitar a proliferação de *R. (B) microplus* estão sendo extensivamente estudadas (Ferreira, 2002; Rosario-Cruz et al., 2009; Ferreira et al., 2017).

O carrapato bovino possui apenas um hospedeiro, pois todos os seus estados evolutivos (larva, ninfa e adulto) ocorrem em um único animal. Possuem um ciclo de vida parasitário e um ciclo de vida livre. O ciclo de vida livre se inicia quando a fêmea adulta, fecundada e ingurgitada (teleógena) se desprende do hospedeiro para realizar a postura dos ovos, que ficam encubados por 7-21 dias antes da eclosão das larvas. Com a eclosão inicia o ciclo de vida parasitário, em que as larvas infestam o hospedeiro e permanecem até sua fase adulta, passando pela fase ninfa. A transformação de ninfa à fase adulta leva em média 21 dias (Figura 3.3) (Ferreira, 2002; Rosario-Cruz et al., 2009).

O método mais efetivo de controle dos carrapatos bovinos é eliminá-los enquanto eles ainda se encontram no hospedeiro, ou seja, evitar que cheguem à fase adulta ingurgitada para não haver desprendimento, ovoposição e eclosão de novas larvas. O método de aplicação de acaricidas mais comumente utilizado é através do banho de imersão, onde o todo o corpo do bovino é banhado em uma calda carrapaticida ou banho de aspersão, onde a solução acaricida é pulverizada no bovino (Rosario-Cruz et al., 2009; Echeverri & Rossini, 2013; Ferretto, 2013).

Devido à falta de informação a respeito do ciclo de vida do *R. (B) microplus* os criadores de gado acabam por utilizar acaricidas sintéticos de maneira indiscriminada. Isto contribui com o surgimento de resistência aos acaricidas, contaminação no ambiente como também da carne e do leite bovino, sendo necessária a busca de novos acaricidas que sejam eficazes e seguros (Echeverri & Rossini, 2013; Ferretto, 2013).

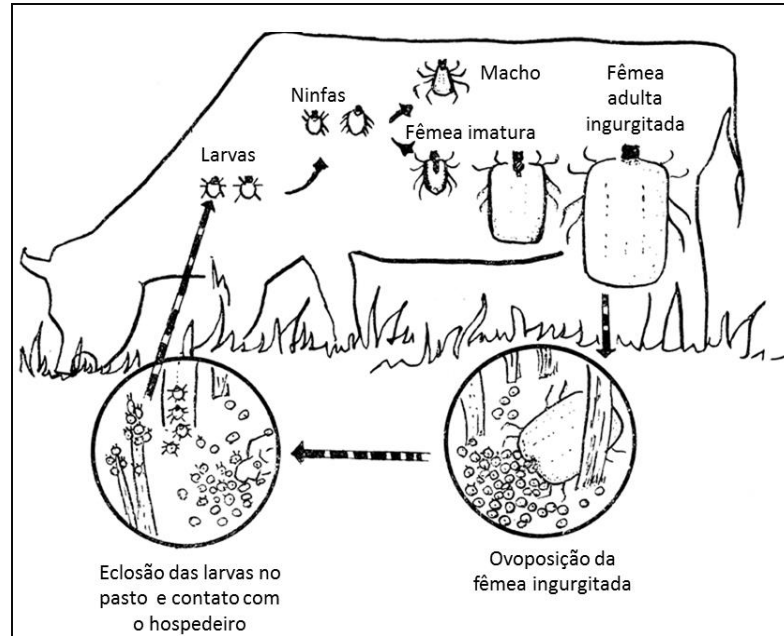


Figura 3.3 Ciclo de vida do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Fonte: Adaptada de Kim, 1994.

Cruz et al. (2013) avaliaram a atividade dos óleos essenciais de quatro genótipos de *Lippia gracilis* Schauer, bem como seus compostos majoritários timol e carvacrol frente a larvas e fêmeas ingurgitadas de *R. (B) microplus* através de testes de sensibilidade larval e de imersão, respectivamente. O composto carvacrol apresentou valores de CL_{50} de 0,2 mg/mL para larvas e 4,5 mg/mL para as fêmeas ingurgitadas, sendo mais efetivo que o composto timol, o qual apresentou CL_{50} de 3,8 mg/mL para larvas e 5,5 mg/mL para as teleógenas. Dentre os genótipos testados, os óleos essenciais dos genótipos LGRA-210 e LGRA-106 apresentaram concentrações letais de 1,3 mg/mL frente às larvas e de 4,7 mg/mL frente às fêmeas ingurgitadas, respectivamente.

Ferreira et al. (2017) testaram a eficácia do óleo essencial de *Syzygium aromaticum*, seu hidrolato e seu composto majoritário eugenol frente a larvas e adultos do *R. (B) microplus* pelo teste de imersão de adultos (TIA) e teste do pacote de larvas (TPL). Os autores observaram 100% de mortalidade larval utilizando eugenol na concentração de 2,5 mg/mL e óleo essencial na concentração de 5,0 mg/mL. O hidrolato não apresentou atividade acaricida.

Dantas et al. (2015) avaliaram a ação de extratos hexânicos de *Neoglaziovia variegata* em teleógenas do carrapato *R. (B) microplus* e observaram inibição da oviposição em 94,1%, com 0,3 % de eclosão dos ovos. Sugeriu-se que a

ação está relacionada com a grande quantidade de compostos terpênicos identificados no extrato hexânico testado.

3.2.3. *Varroa destructor*

A varroa (*Varroa destructor*) é um ácaro que infesta as colmeias de abelhas das espécies *Apis mellifera* e *Apis cerana* e se caracteriza por ser uma das principais pragas apícolas do mundo. A ação das varroas pode levar à total destruição de uma colmeia, dependendo do grau de infestação (Damiani et al., 2009). Este ectoparasita se alimenta da hemolinfa das abelhas, provocando diminuição do peso corporal dos zangões e das abelhas operárias, além de promover a má formação de novos indivíduos (Rosenkranz et al., 2010). Infestações graves deste ácaro causam severos danos às abelhas, levando à redução da qualidade de produção de mel e própolis e da capacidade das abelhas em polinizar as plantas (Islam et al. 2016).

As varroas são transmitidas pelo contato entre as abelhas e entram na célula de formação (alvéolos) dos zangões e operárias. Aproximadamente 60 h depois que os alvéolos são operculados (cobertos), a varroa fêmea deposita seus ovos pelas paredes dos alvéolos e lá eles são desenvolvidos, passando pelas fases *ovo-larva-ninfa-adulto* em um período de 8-9 dias. A partir deste momento há uma fase de maturação sexual, gerando machos e fêmeas. As fêmeas são fecundadas pelos machos e, quando a abelha hospedeira de que se alimentam sai do alvéolo, as varroas fecundadas saem juntamente com elas, procurando outra célula de formação com outra larva de abelha. Apenas as fêmeas adultas parasitam as abelhas. Os machos e as imaturas morrem pouco tempo depois da abertura da célula (Rosenkranz et al., 2010; Castagnino & Orsi, 2012). O ciclo de vida das varroas pode ser dividido em duas fases: a fase reprodutiva, que ocorre no interior dos alvéolos e a fase forética, que ocorre no exterior dos alvéolos, quando o ácaro está parasitando a abelha adulta (Figura 3.4).

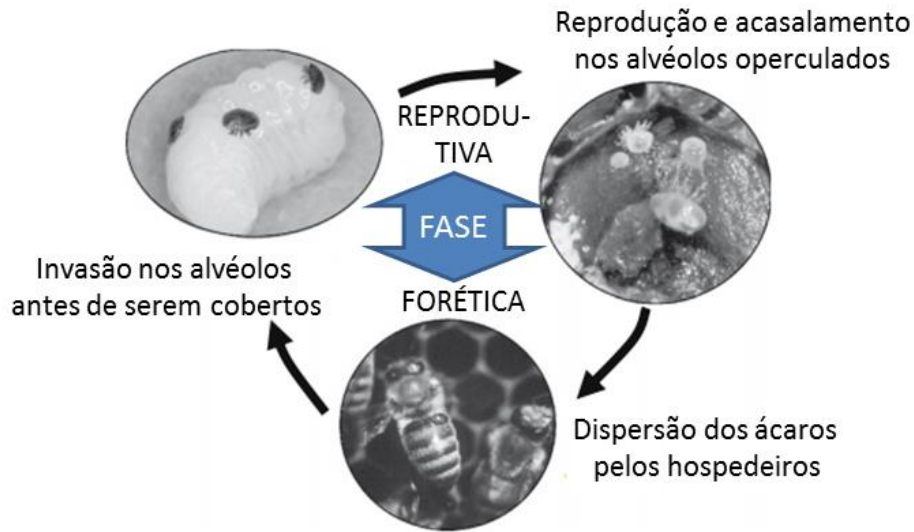


Figura 3.4 Ciclo de vida de *Varroa destructor*

Fonte: Adaptada de Rosenkranz *et al*, 2010.

Os piretroides e organofosforados foram muito utilizados no combate à *Varroa destructor*, porém provocam elevada taxa de resistência e de resíduos químicos no mel e na própolis. Acaricidas que causam menos impacto nas colmeias e em produtos apícolas estão sendo pesquisados e alguns já estão sendo utilizados, como o ácido oxálico, ácido fórmico e o timol (Vieira *et al.*, 2012). Castagnino & Orsi (2012) utilizaram óleos essenciais de arruda, hortelã, eucalipto e os compostos timol e ácido oxálico no tratamento de 30 colônias de *Apis mellifera* africanizadas com sintomas de infestação por varroas. Parâmetros como mortalidade das varroas e das crias das abelhas e infestação das varroas nas crias e em abelhas adultas foram avaliados antes e depois das aplicações dos óleos essenciais e dos compostos. Todos os óleos essenciais, o timol e o ácido oxálico causaram redução na mortalidade de crias infestadas das abelhas, com valores de 80-90% de redução. O ácido oxálico apresentou diminuição significativa da infestação de varroas nas crias e abelhas adultas (89% e 87,4%) e o timol apresentou redução significativa da infestação apenas nas crias de abelhas (67,1%).

3.3. Espécies de plantas em estudo

Boulogne *et al.* (2012) realizaram uma revisão de compostos com atividade inseticida já estudados e encontraram 119 compostos citados, os quais foram

divididos em 11 classes, sendo as classes dos terpenos, alcaloides e compostos fenólicos as que apresentam maior atividade inseticida (Figura 3.5). Os autores também apresentaram a frequência de famílias de plantas com atividade contra insetos, indicando que as espécies da família *Lamiaceae* são as que mais possuem atividade (28%), seguido das famílias *Fabaceae* e *Asteraceae* em um total de 110 famílias citadas na literatura.

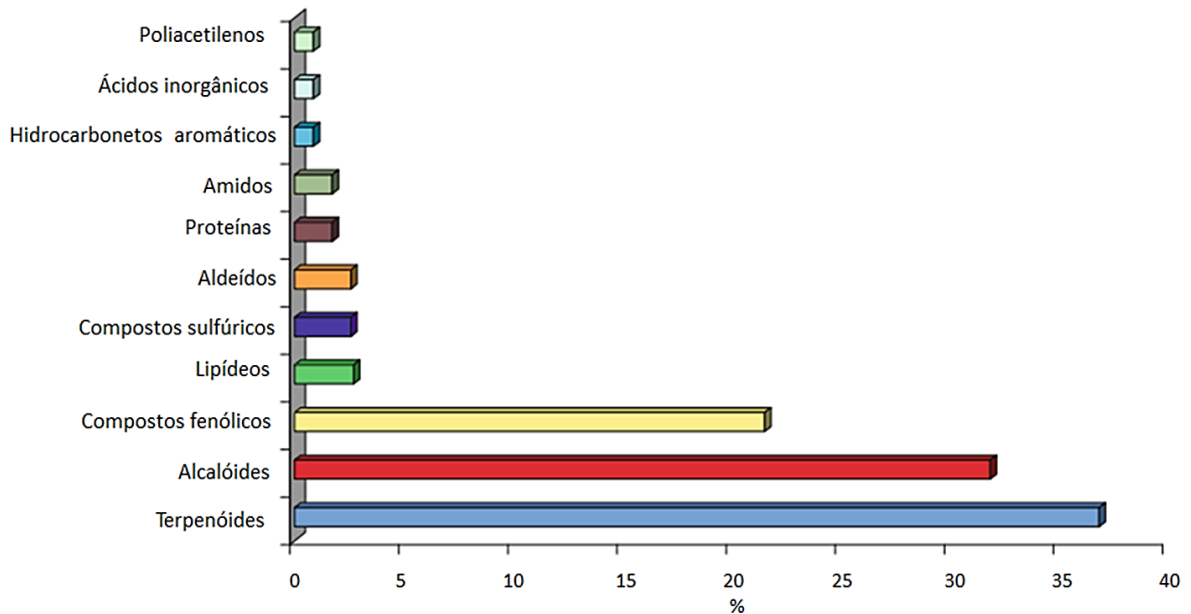


Figura 3.5 Compostos relacionados na literatura com atividade inseticida (Boulogne et al., 2012)

Lupinus magnistipulatus, *Mimosa lanata* (Fabaceae) e *Eupatorium hecathantum* (Asteraceae) são plantas nativas do Brasil que pertencem a famílias conhecidas por possuírem espécies com atividade inseticida (Albuquerque et al., 2004; Bermudez-Torres et al., 2008; Tabanca et al., 2010; Boulogne et al., 2012; Brito et al., 2017; Sen et al., 2017).

A família *Asteraceae* é constituída por cerca de 1500 gêneros e de 23000 a 32000 espécies conhecidas (Judd et al., 2009) sendo considerada uma das maiores famílias do reino vegetal. Aproximadamente metade das espécies está presente na América Latina e cerca de três mil espécies pertencem à flora brasileira (Hind, 1993; Bremer, 1996, Judd et al., 2009).

O gênero *Senecio* está distribuído por todo o mundo, com exceção das regiões polares e na Amazônia. América do Sul e África são os continentes que possuem a maior parte das espécies (Bremer, 1994). Este gênero prevalece em regiões montanhosas e zonas áridas (Hind, 1995) e possui mais de 2000 espécies

(Matzenbacher, 2009). As espécies do gênero *Senecio* são conhecidas por produzirem alcaloides pirroizidínicos, compostos responsáveis por toxicidade em gado e atividade antialimentar em alguns insetos. Estudos utilizando frações não-alcaloicas de espécies de *Senecio* sugerem que parte da atividade inseticida vem de compostos como os sesquiterpenos, já relatados por apresentarem diversas ações contra insetos (Joshi e Vrieling, 2005; Domínguez et al., 2008; Portero et al., 2012; Reina et al., 2012).

Algumas espécies do gênero *Senecio* são mais populares como *Senecio bonariensis* (Silva et al., 2010), *Senecio graveolens* (Perez et al., 1999); *Senecio vulgaris* (Loizzo 2004), *Senecio jacobaea* L. e seus extratos foram avaliados frente a diferentes atividades biológicas. *Senecio juergensii* é nativa e endêmica no Brasil e distribui-se nas regiões Sudeste e Sul do Brasil (Figura 3.6), sendo mais encontrada em banhados e turfeiras (Matzenbacher, 2009; Teles, 2014). Não foram encontrados relatos de estudos biológicos e fitoquímicos que envolvam extratos de *Senecio juergensii*.



Figura 3.6. Regiões do Brasil que ocorre a espécie *S. juergensii*

Fonte: Refflora, 2018.

O gênero *Baccharis* compreende cerca de 500 espécies em todo território americano, onde aproximadamente 120 espécies ocorrem no Brasil, principalmente na região sul e sudeste (Budel et al., 2005; Oliveira et al., 2006). O caráter dióico da maior parte das plantas, o polimorfismo e a vasta presença de binômios descritos superficialmente dificultam a delimitação das espécies (Giuliano, 2004).

Baccharis psiadioides (sin. *Heterothalamus psiadioides*) é um arbusto que se desenvolve na Argentina, Uruguai e na região sul do Brasil (Figura 3.7). É utilizada na medicina popular como antimicrobiana, antipirética, citotóxica, anti-inflamatória e como antídoto contraveneno de cobra (Ruppelt et al., 1991; Schmidt-Silva et al., 2011; Negreiros et al., 2015). Estudos laboratoriais indicam presença de potencial alelopático em extratos voláteis de espécies *B. psidadioides* (Silva, 2012; Lazarotto, 2014;). Alelopatia é a liberação de metabólitos secundários que podem influenciar negativamente no crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos e de algumas espécies de plantas (Silva, 2012; Lazarotto, 2014), porém Silva et al. (2015) conduziram um estudo de campo onde avaliaram a influência de *B. psidadioides* e *B. patens* sobre uma comunidade de plantas através da alelopatia e não encontraram evidências de inibição do crescimento e desenvolvimento de plantas que estavam localizadas próximas à estas espécies. Os autores concluíram que, baseado em testes laboratoriais, o potencial alelopático das espécies estudadas foi superestimado.



Figura 3.7 Estados do Brasil que apresentam a espécie *B. psiadioides*

Fonte: Reflora, 2018.

3.4. Óleos essenciais

Os óleos essenciais são definidos como produtos lipofílicos voláteis constituintes do metabolismo secundário das plantas que as conferem aroma e sabor. Os compostos aromáticos têm papel fundamental na sobrevivência das espécies, pois são responsáveis por funções como proteção contra microrganismos, insetos invasores e na atração de polinizadores (Asbahani, 2015; Pavela, 2015).

A maioria dos óleos essenciais é composta por misturas complexas de compostos voláteis, como os monoterpenos e sesquiterpenos e os fenilpropanoides. Estas substâncias são as responsáveis pelas diversas atividades biológicas dos óleos essenciais como antimicrobiana, antioxidante, antiviral, antitumoral, antimalária, repelente, controle de pragas, entre outras (Bakkali et al., 2008; Reichling et al., 2009; Correa et al., 2011; Cantrell et al., 2012; Teixeira et al., 2013; Calo et al., 2015).

Por possuírem compostos suscetíveis à degradação, seja por aquecimento, oxidação, volatilização ou pela luz, sua aplicação direta como praguicida é inviável (Barky et al., 2015). Em função disto, pesquisadores buscam uma forma de melhorar sua estabilidade, protegendo estes compostos dos fatores citados anteriormente com o objetivo de aumentar o tempo de ação pela liberação controlada do óleo (Koul, 2008; Pavela, 2015). Uma técnica que vem sendo estudada é a encapsulação de óleos essenciais em matrizes poliméricas (Chung et al., 2013; Oliveira et al., 2014).

Primeiramente, para a obtenção dos óleos essenciais a partir de plantas são utilizados diferentes métodos de extração, como hidrodestilação, destilação a vapor, prensagem a frio e *enfleurage*. O método de extração é definido pela localização do óleo essencial no material vegetal, podendo ser nas flores, folhas, caules, raízes, rizomas, casca ou sementes (Xavier, 2011; Falcão, 2012). A técnica de extração mais comumente utilizada na obtenção dos óleos essenciais é a técnica de destilação por arraste de vapor (Figura 3.8).

O método de destilação por arraste a vapor consiste na passagem de vapor de água (CA) a aproximadamente 100 °C pelo material vegetal, que se encontra dentro de um leito fixo (VE). O vapor de água é conduzido pelo leito onde o material vegetal se encontra, arrastando os compostos voláteis presentes no material vegetal (pois possuem uma maior pressão de vapor que a água) até um condensador onde são liquefeitos e, em seguida, a um vaso separador líquido-líquido, onde há formação de uma fase aquosa e uma oleosa (Cassel & Vargas, 2008; Cassel et al., 2009).

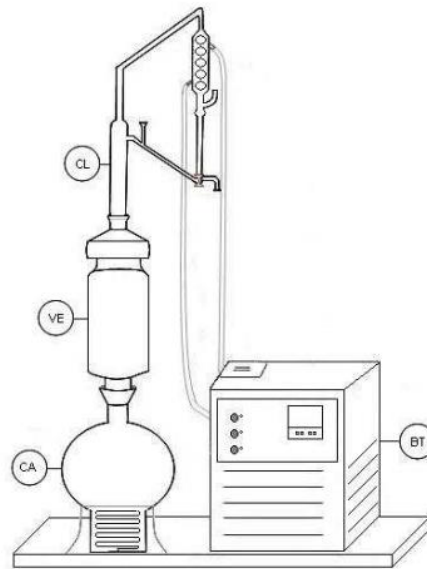


Figura 3.8 Equipamento de destilação por arraste a vapor em escala laboratorial.

CA= Caldeira com aquecimento, VE=Vaso de extração, onde se localiza o material vegetal, BT= Banho termostático, CL=clevenger, onde ocorre a condensação e separação dos líquidos imiscíveis.

Fonte: Lucas, 2011.

3.4.1. Óleos essenciais no manejo de pragas

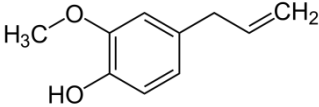
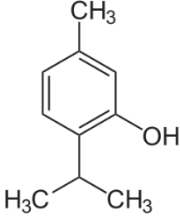
Os óleos essenciais são utilizados há anos pela indústria alimentícia e farmacêutica e apenas nas últimas décadas é que a utilização destes extratos voláteis como inseticidas comerciais vem sendo explorada (Moreira et al., 2005). Este fato foi citado por Isman (1997), que indicou que há barreiras importantes que dificultam a comercialização de inseticidas botânicos como a disponibilidade do material vegetal de uma maneira sustentável, a padronização de extratos pela quantificação de seus compostos ativos e a mais limitante, a aprovação de uso por órgãos governamentais de fiscalização, os quais exigem avaliações toxicológicas do produto que normalmente possuem elevados custos. Menezes (2005) também cita que a principal limitação na incorporação dos inseticidas botânicos no mercado é o registro. Os produtos naturais são uma mistura complexa de diversas substâncias e para realizar o registro é necessário que todas estas sejam identificadas e analisadas quanto sua toxicologia. De acordo com Pavela & Benelli (2016), apesar da variedade de compostos químicos ativos presentes nos óleos essenciais, a pouca opção de biopraguicidas contendo óleos essenciais para o manejo de pragas se deve a fatores como a legislação restrita, como citado anteriormente, a falta de resultados práticos nos diversos estudos publicados, baixa persistência dos efeitos e

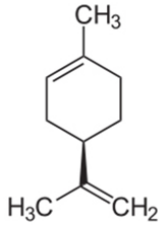
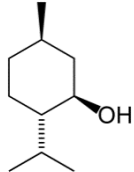
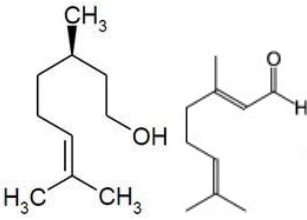
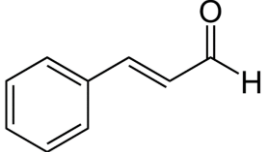
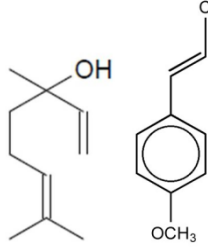
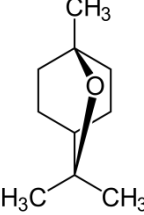
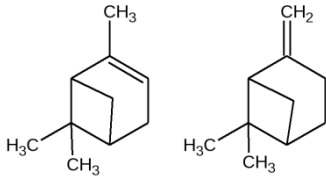
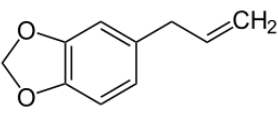
a falta de preços acessíveis devido a pouca quantidade e qualidade das matérias-primas.

Dentre os óleos utilizados no controle de pragas, o óleo de nim é um dos únicos que são largamente usados (Menezes, 2005). Muitos outros óleos essenciais (Tabela 3.2) são estudados com este enfoque e são utilizados, porém não de maneira extensiva. Os mecanismos de ação inseticida dos óleos essenciais ainda não foram completamente elucidados, porém a rápida ação frente a alguns insetos e ácaros indica uma atividade neurotóxica através do bloqueio da liberação de neurotransmissores como a octopamina e a acetilcolina (Tripathi et al., 2009). Pode ser através de inalação, ingestão ou absorção pela pele. Alguns óleos essenciais possuem atividade larvicida, onde podem atrasar ou impedir a emergência das larvas (Khater, 2012).

A ação mais comum dos óleos essenciais em insetos e ácaros é repelente e inseticida, porém alguns óleos essenciais e seus isolados já foram reportados como fumigante. Entre eles destacam-se a *Lippia alba*, a *Artemisa anua*, o d-limoneno e o 1,8-cineol (Tripathi et al., 2009). Gomes et al. (2014) analisaram os componentes principais dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e observaram atividade contra larvas e ninfas de *Rhipicephalus sanguineus* e *Amblyomma cajennense*. Os compostos majoritários encontrados foram o timol, ocimeno, e-cariofileno e mirceno.

Tabela 3-2 Óleos essenciais e fixos popularmente utilizados no manejo de pragas

Nome comum	Nome científico	Composto majoritário	Estrutura química	Atividade
Cravo-da-índia ^{1,2}	<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merrill & Perry	Eugenol		Inseticida e repelente
Tomilho ²	<i>Thymus vulgaris</i>	Timol		Inseticida, acaricida e repelente

Citrus sp. ^{1,2}	<i>Citrus limon</i> , <i>Citrus sinensis</i>	Limoneno		Repelente
Menta ^{1,2}	<i>Mentha piperita</i> L.	Mentol		Inseticida e repelente
Citronela ^{1,2}	<i>Cymbopogon nardus</i> Rendle. e <i>C. winterianus</i> Jowitt.	Citronelal e Geraniol		Iseticida e repelente
Canela ²	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Cinamaldeído		Iseticida e repelente
Manjeriço ²	<i>Ocimum basilicum</i>	Linalol, Estragol		Iseticida e repelente
Eucalipto ^{1,2}	<i>Eucalyptus</i>	1,8-cineol		Inseticida, acaricida e repelente
Pinheiro ^{1,2}	<i>Pinus</i> spp.	α -pineno e β -pineno		Inseticida
Pimenta-longa ²	<i>Piper hispidinervum</i>	Safrol		Inseticida, acaricida e repelente.

Fonte: ¹; Menezes (2005);³; Barky et al. (2016)².

Umpiérrez et al. (2013) analisaram a ação do óleo essencial de folhas e galhos de *Eupatorium buniifolium* coletados em diferentes estações do ano frente a *Varroa destructor*. Os óleos essenciais testados apresentaram ação varroacida *in vitro*, porém com diferentes níveis de toxicidade para as abelhas. O óleo essencial extraído dos galhos de *E. buniifolium* apresentou menor toxicidade para as abelhas e uma boa atividade varroacida, mas apresentou baixo rendimento. Devido ao maior rendimento obtido e a boa atividade varroacida *in vitro*, o óleo essencial obtido a partir das folhas de *E. buniifolium* foi selecionado para verificação da atividade varroacida *in vivo*, resultando em uma atividade acaricida menor do que os controles testados, com doses letais (DL_{99}) de 0,3 mg/mL em comparação aos 0,07 mg/mL observados nos controles; porém com menor toxicidade às abelhas (DL_{99} = 0,7 mg/mL) do que os controles positivos (0,02 mg/mL para o ácido fórmico e 0,08 mg/mL para o timol).

Ribeiro et al. (2010) determinaram a toxicidade do óleo essencial extraído de folhas de *Hesperozygis ringens* (Benth.) em fêmeas ingurgitadas e larvas de carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* através do teste de imersão de adultos (TIA) e teste de imersão de larvas (TIL). Os autores observaram que concentrações de 50 µg/mL e 25 µg/mL do óleo causaram inibição da ovoposição e da eclosão dos ovos. A concentração letal que matou metade dos carrapatos (CL_{50}) foi de 0,260 µg/mL e esta atividade foi justificada pela presença do composto majoritário pulegona, um monoterpene presente em diversas espécies de plantas.

Como já citado neste trabalho, os óleos essenciais são excelentes alternativas para o controle de pragas por sua riqueza de compostos bioativos, porém a alta volatilidade, baixa solubilidade em água e instabilidade são fatores que limitam sua utilização no desenvolvimento de produtos. Desta maneira, a encapsulação dos óleos essenciais vem sendo usada como uma opção eficaz que promove a diminuição da volatilidade e causa melhoras significativas na estabilidade do produto final (Fernandes, 2013; Moreira, 2014).

3.5. Encapsulação de óleos essenciais em polímeros

Os óleos essenciais são estudados por suas diversas ações biológicas, porém limitações como volatilidade e a degradação por agentes ambientais levam a busca de estratégias para aumentar sua estabilidade e, conseqüentemente, seu

tempo de ação (Asbahani et al., 2014; Oliveira et al., 2014). A incorporação destas substâncias através da encapsulação em matrizes poliméricas mantém as propriedades biológicas, funcionais e físico-químicas dos compostos encapsulados, além de permitir a solubilização de substâncias hidrofóbicas em matrizes hidrofílicas e vice-versa (Pavela, 2015; Bakry et al., 2016).

O principal objetivo da encapsulação é a proteção físico-química de compostos bioativos através da incorporação destes no núcleo/parede/matriz da partícula formada. Com este processo, podem-se produzir esferas ou cápsulas. Microcápsulas/esferas são partículas que possuem tamanho variável entre 1 e 1000 μm e nanocápsulas/esferas são partículas que possuem diâmetros que variam entre 1 a 1000 nm (Silva (a), 2015). As nanocápsulas/microcápsulas são partículas que possuem um núcleo oleoso, onde geralmente a substância de interesse está dissolvida, envolto por uma parede polimérica. Dependendo de características como solubilidade, volatilidade e polaridade, o composto de interesse pode se localizar também no invólucro polimérico (Freixo, 2013; Bakry, 2015; Silva (a), 2015). As nano/microesferas possuem a substância retida (heterogênea) ou adsorvida (homogênea) na matriz polimérica sem a presença de um núcleo oleoso (Figura 3.9).

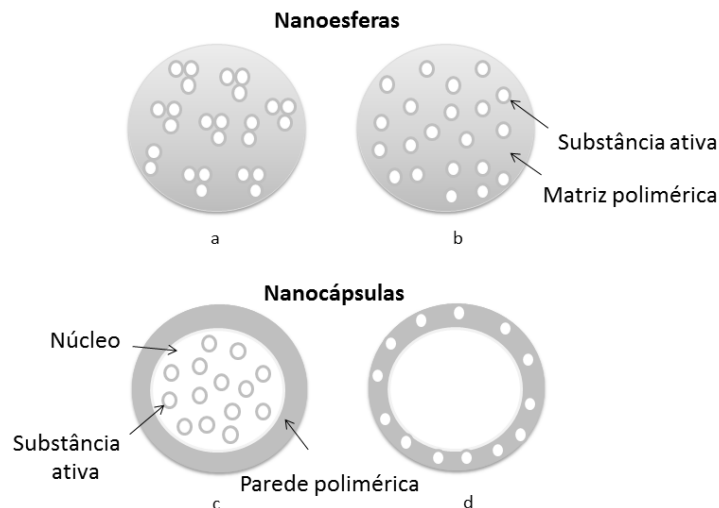


Figura 3.9. Esquema das nanocápsulas e nanopartículas poliméricas. a) *Composto ativo retido na matriz polimérica* b) *composto ativo adsorvido na matriz polimérica* c) *composto ativo no núcleo oleoso* d) *composto ativo na parede da cápsula*.

Fonte: O autor.

O método de incorporação de óleos essenciais deve ser escolhido baseando-se em técnicas de encapsulação que não incluam etapas como

aquecimento e evaporação com temperaturas elevadas, devido à volatilidade e à instabilidade térmica dos constituintes presentes no óleo essencial que podem ser volatilizados/degradados durante o processo.

A escolha da matriz polimérica é importante e depende de variáveis como o tamanho da partícula desejada, carga e permeabilidade da superfície, perfil de liberação, presença de toxicidade, degradabilidade e solubilidade e estabilidade em água dos compostos ativos (Silva (a), 2015).

3.5.1. Técnicas de encapsulação de óleos essenciais em matrizes poliméricas

Apesar de ser uma tecnologia relativamente recente, já existem diversos métodos de encapsulação e estes são divididos em métodos físicos, métodos químicos e métodos físico-químicos. Os métodos físicos abrangem técnicas como revestimento em turbinas, revestimento em leito fluidizado, *spray-drying*, *spray-cooling*, *spray-chilling*, extrusão e liofilização. Os métodos químicos são realizados através de técnicas como a polimerização *in situ*, polimerização interfacial e inclusão molecular e os métodos físico-químicos compreendem processos de separação de fases (coacervação), evaporação e precipitação (Silva et al., 2003; Oliveira, 2013).

As técnicas mais utilizadas para a encapsulação de óleos essenciais e outros extratos são emulsificação, *spray-drying* e *freeze-drying*, polimerização *in situ*, extrusão, leito fluidizado e tecnologias utilizando fluidos supercríticos (Freixo, 2013; Bakry, 2016). O método utilizado neste trabalho contém etapas como a emulsificação com evaporação do solvente e gelificação ionotrópica do polímero alginato de sódio. Este método ocorre através do gotejamento da fase aquosa que contém alginato de sódio e íons cálcio em uma fase oleosa, gerando uma emulsão água em óleo, que é adicionada a uma solução aquosa de quitosana para ocorrer a formação dos complexos polieletrólíticos e formação das micro/nanocápsulas. Após etapas de evaporação de solventes, lavagem e secagem, obtém-se as micro/nanocápsulas (Lertsutthiwong et al., 2009; Silva (a), 2015). Lertsutthiwong et al. (2009) realizaram a encapsulação de óleo essencial de cúrcuma em nanopartículas de alginato-quitosana através de um método contendo etapas de emulsificação, gelificação ionotrópica e evaporação do solvente. Os autores avaliaram parâmetros como a influência do peso molecular da quitosana, razão de massa quitosana/alginato utilizada e a ordem de adição do cloreto de cálcio e da

quitosana no processo. Através da análise da estabilidade das partículas em 120 dias, eficiência de encapsulação e rendimento das nanocápsulas, obtiveram como condição ótima partículas com a razão de massa de quitosana/alginato de 0,1:1. A quitosana de baixo peso molecular adicionada após o cloreto de cálcio promoveu melhor estabilidade e tamanho de partículas menores.

A técnica de emulsificação para a formação de nanocápsulas é muito aplicada para encapsular compostos ativos em soluções aquosas. Uma emulsão é uma dispersão coloidal que consiste em dois líquidos imiscíveis, geralmente água e óleo, com um dos líquidos disperso em formas de pequenas gotas no outro líquido. Para a emulsão possuir estabilidade cinética devem-se adicionar agentes emulsificantes que possuem características hidrofílicas e lipofílicas. O preparo das emulsões consiste em misturar a fase dispersante, a fase dispersa e o agente emulsificante, utilizando um homogeneizador. O agente emulsificante forma uma camada ao redor das gotas do agente disperso, prevenindo a coalescência e sua escolha influencia diretamente no tamanho das partículas. Dependendo da natureza do polímero e do tipo de emulsão desejada, ele pode ser solubilizado na fase aquosa ou oleosa (Pereira, 2011; Freixo, 2013; Bakry 2016).

Mukerjee & Vishwanatha (2009) encapsularam curcumina em poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) através do método de emulsão com evaporação do solvente, obtendo nanoesferas com tamanho médio de 45 *nm*, e com uma eficiência de encapsulação de aproximadamente 90%. As nanoesferas produzidas foram testadas em diferentes linhagens celulares de câncer de próstata e mostraram ser endocitadas por todas as linhagens celulares testadas. A curcumina encapsulada foi liberada controladamente, com cerca de 65% liberada no período de 10 dias.

3.5.2. Polímeros biodegradáveis

Os polímeros biodegradáveis são polímeros que podem ser degradados por microrganismos de ocorrência natural como bactérias, fungos e algas, gerando dióxido de carbono, água, metano e compostos inorgânicos, conforme estabelecido pela *American Standard for Testing Methods* (ASTM-D-833). Podem ser divididos em naturais e sintéticos: os polímeros biodegradáveis naturais podem ser provenientes de fontes naturais renováveis como a celulose e cana-de-açúcar; de

microrganismos através da síntese de moléculas como o ácido butírico, gerando o polihidroxibutirato (PHB), e de fontes animais, como a quitosana. Os polímeros biodegradáveis sintéticos são provenientes de fontes fósseis como o petróleo (Avérous & Pollet, 2012; Brito et al., 2011; Villanova, 2010). Os polímeros provenientes matérias-primas de fontes renováveis, também denominados biopolímeros, recebem grande destaque por gerar menos danos ao ambiente, sendo uma excelente alternativa para a incorporação de produtos naturais. Os biopolímeros possuem características como bioadesão, capacidade de formar hidrogéis, solubilidade em água e baixo custo devido a sua abundância natural (Leite, 2014). Os mais encontrados naturalmente são celulose, amido, quitosana, ácido algínico, polipeptídeos e poliésteres bacterianos (Avérous & Pollet, 2012; Brito et al., 2011; Franchetti & Marconatto, 2006; Leite, 2014).

A degradação dos polímeros biodegradáveis ocorre quando, em condições favoráveis de temperatura, pH, umidade e disponibilidade de oxigênio, certas enzimas de bactérias, de fungos ou de algas clivam ligações químicas da cadeia principal do polímero (Brito et al., 2012, Leite, 2014). A biodegradabilidade de um polímero depende de fatores como estrutura química (presença de ligações hidrolisáveis ou oxidáveis na cadeia), massa molar, flexibilidade conformacional, área superficial e condições ambientais no qual o polímero é exposto (Brito et al., 2011; Franchetti & Marconatto, 2006).

Dentre os polímeros biodegradáveis sintéticos podemos destacar o poli (ϵ -caprolactona) (PCL), poli (ácido glicólico) (PGA), poli (ácido lático) (PLA). São utilizados na área biomédica, assim como na liberação controlada de fármacos e em alguns tipos de próteses (Anderson et al.; 2012; Franchetti & Marconato, 2006; Li et al., 2012; Marin et al., 2013; Makadia & Siegel, 2011; Ulery et al., 2011).

3.5.3. Alginato de Sódio

O ácido algínico (alginato de sódio) é um componente extraído da parede celular de algas marrons da família *Phaeophyceae* e é utilizado na indústria alimentícia como agente espessante, emulsificante, gelificante e estabilizador (Tagliari, 2012). É um polímero polianiónico composto por unidades monoméricas de ácido β -D-manurônico (M) e ácido α -L-gulurônico (G) que são unidas por ligações glicosídicas 1,4 (Figura 3.10). A proporção destas unidades influencia as

propriedades físicas do polímero. Possuem diferentes tipos de estrutura de blocos: blocos contendo as unidades monoméricas G, blocos contendo M e blocos contendo G e M (Figura 3.11). Sua estrutura depende da espécie de alga de onde foi extraído (Bressel, 2007; Kawaguti & Sato, 2008; Tagliari, 2012).

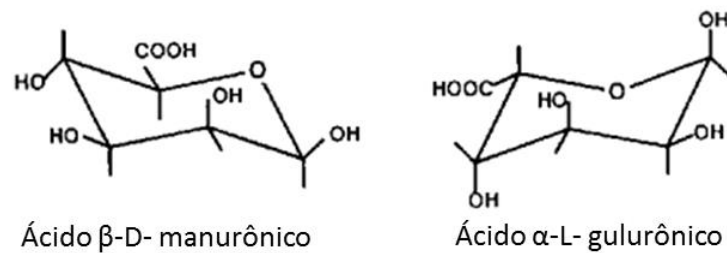


Figura 3.10. Monômeros presentes no alginato.

O alginato é solúvel em soluções aquosas com pH maiores que 3,5 e em soluções ácidas ocorre sua descarboxilação. Geralmente está presente na forma de sal sódico, potássico ou magnésico. As indústrias alimentícias e farmacêuticas têm grande interesse neste produto em função da sua capacidade de formar géis. O contato com cátions divalentes ou polímeros catiônicos pode induzir a formação de ligações cruzadas entre as unidades de ácido gulurônico, formando um gel. Este processo é denominado gelificação ionotrópica (Bressel, 2007; Oliveira, 2012; Silva (b), 2015).

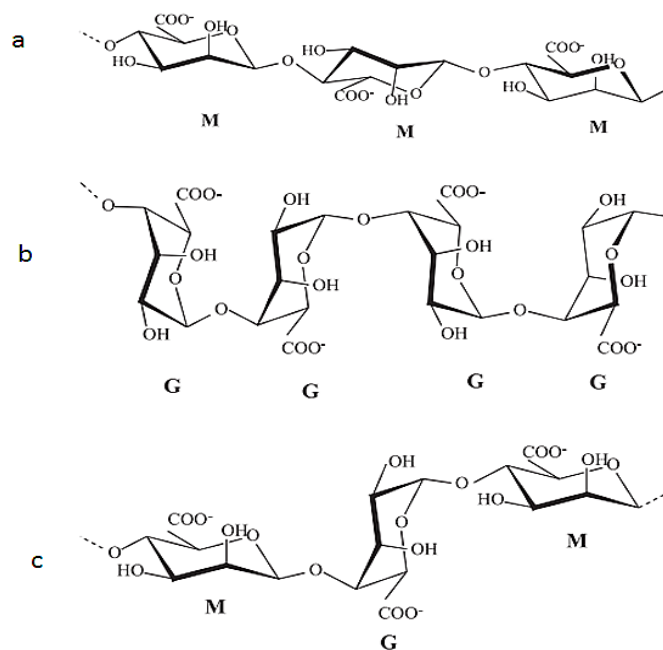


Figura 3.11. Estrutura dos blocos contendo sequência M-M (a), G-G (b) e M-G-M (c).

A formação de géis com maior resistência depende da proporção dos monômeros presentes no alginato. Os que possuem maior quantidade de blocos contendo monômeros de ácido gulurônico, quando em contato com Ca^{2+} , formam géis mais resistentes devido à presença de cavidades que facilitam a incorporação destes íons, gerando uma estrutura extremamente organizada denominada “caixa de ovos” (Bressel, 2007; Tagliari, 2012). Os íons de cálcio formam uma “ponte” que une os grupamentos com cargas negativas do ácido gulurônico (Figura 3.12).

O ácido algínico é muito utilizado na formação de complexos com quitosana pela forte interação das cadeias poliméricas, formando estruturas muito resistentes, biodegradáveis e biocompatíveis, além de possuir boa estabilidade em pH mais ácido, onde a quitosana é solúvel (Tagliari, 2012).

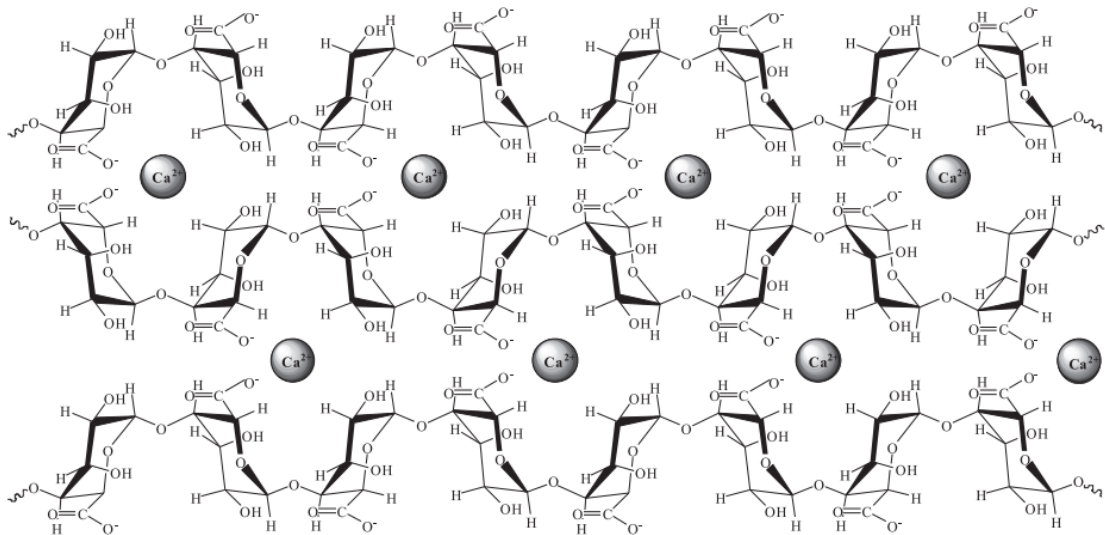


Figura 3.12. Modelo “Caixa de ovos”

O alginato como agente encapsulante de produtos naturais já foi reportado em diversos estudos. Abreu et al. (2012) realizaram a encapsulação do óleo essencial de *Lippia sidoides* em alginato de sódio e goma de cajueiro através do método de *spray-drying* e obtiveram nanopartículas com um tamanho médio na faixa de 223-399 nm. Os valores de potencial zeta estiveram na faixa de -30 a -36 mV, demonstrando boa estabilidade. A eficiência de encapsulação foi de 55% e o perfil de liberação *in vitro* demonstrou que entre 30 – 50 h houve uma variação na liberação do óleo de 45 a 95%. Lai et al. (2007) sintetizaram esferas de alginato de sódio carregadas com óleo essencial de *Artemisia arborescens* L., utilizando os agentes reticulantes gutaraldeído e cloreto de cálcio com diferentes tempos de

exposição. O objetivo foi a criação de esferas para administração oral com liberação controlada deste óleo essencial que possui propriedades antivirais. As esferas finais foram avaliadas quanto à eficiência de encapsulação, morfologia da superfície e liberação *in vitro*. Os resultados demonstraram eficiência de encapsulação de 86% a 100% com os dois agentes reticulantes, sendo a de 100% realizada com 10% de cloreto de cálcio com um tempo de exposição de 10 min. A liberação *in vitro* das esferas contendo óleo essencial de *Artemisia arborescens* L. foi mais bem controlada pelo agente reticulante cloreto de cálcio. O glutaraldeído não demonstrou ser um agente reticulante apropriado, pois interagiu com componentes do óleo essencial.

A síntese de microesferas de alginato contendo extratos de coco com alto teor de polifenóis pelos métodos de emulsificação seguido de gelificação iônica foi realizada por Lupo et al. (2014), os quais testaram os gelificantes citrato de cálcio e carbonato de cálcio e os emulsificantes Span 80, Span85, Span 80-Tween 80 e polirricinoleato de poliglicerol (PGPR). Observaram esferas mais estáveis e com menores tamanhos as que foram emulsificadas com PGPR e o citrato de cálcio foi fonte de cálcio que apresentou microesferas mais homogêneas e menores. Através do método de emulsificação com gelificação iônica, obtiveram cerca de 60% do extrato de coco encapsulado.

3.5.4. Quitosana

A quitina é uma substância extraída do exoesqueleto de crustáceos e insetos e é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza depois da celulose. Para ser extraída das carapaças dos crustáceos ou insetos, estas passam por processos de desmineralização, desproteinização e descoloração. Após estas etapas, a quitina formada é então desacetilada, originando a quitosana e, quanto maior é o grau de desacetilação, mais puro é o polímero (Oliveira, 2011; Cardoso et al., 2012).

A quitina e quitosana são copolímeros formados por monômeros de glicosamina e n-acetilglicosamina, unidos por ligações 1-4 (Figura 3.13). Quando há maior quantidade de unidades de glicosamina no polímero, este é denominado quitina e quando há maiores quantidades de D-glicosamina, o polímero é denominado quitosana (Cardoso et al., 2012; Tagliari, 2012; Leite, 2014).

A quitosana é solúvel em meio ácido diluído e em contato com este meio, os grupamentos amino presentes em sua estrutura são protonados, levando à formação de cargas positivas ao longo da molécula, o que a torna hidrossolúvel. Ou seja, a solubilidade da quitosana está relacionada com a presença dos grupamentos amino (Oliveira 2011; Tagliari 2012).

Além de ser um polímero biodegradável e atóxico, possui diversas propriedades biológicas como antitumoral, cicatrizante, imunoestimulatória, hemostática, hipolipêmica, anticoagulante, antimicrobiana, mucoadesiva, entre outras (Battisti & Campana-Filho, 2008; Dai et al., 2011; Goy et al., 2009; Huang et al., 2015; Mazzarino et al., 2012; Park et al., 2011; Vongchan et al., 2002; Zhang et al., 2012). Por ser um polímero versátil, a busca por novas aplicações vem sendo pesquisada pela área biomédica, farmacêutica, alimentícia e agrícola (Aider, 2010; Cheung et al., 2015; Dash et al., 2011; Kashyap et al., 2015).

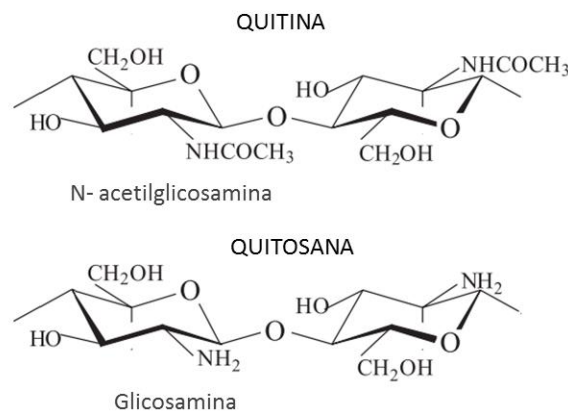


Figura 3.13. Monômeros presentes na quitina e na quitosana

Fonte: Adaptado de Battisti & Campana-Filho, 2008.

Assim como o alginato, a encapsulação de óleos essenciais com quitosana já foi reportada. Hosseini et al. (2013) realizaram a encapsulação de óleo essencial de orégano em nanopartículas de quitosana através dos métodos de emulsificação e gelificação ionotrópica da quitosana com tripolifosfato de sódio (TPF) como agente gelificante, obtendo partículas com tamanhos que variavam de 40 a 80 nm, com eficiência de encapsulação entre 21-47% e capacidade de carga de 3 – 8%. Resultados similares foram encontrados em estudo de Keawchaon & Yoksan (2011), que utilizaram também os métodos de emulsificação com gelificação ionotrópica da quitosana, com agente gelificante tripolifosfato de sódio (TPF) para

encapsular o composto carvacrol, obtendo eficiência de encapsulação e capacidade de carga variando de 14-31% e 3-21%, respectivamente, e partículas com tamanhos entre 40 e 80 nm.

O revestimento com quitosana com o objetivo de aumentar a estabilidade da partícula também foi estudado. Van Vuuren et al. (2010) encapsularam óleos essenciais de *Artemisia afra*, *Eucalyptus globulus* e *Melaleuca alternifolia* em lipossomas revestidos com quitosana e observaram a eficácia antimicrobiana frente aos microrganismos *Echerichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. O revestimento com quitosana não aumentou a atividade antimicrobiana como os autores esperavam, porém influenciou positivamente na estabilidade das partículas, além de influenciar na taxa de liberação do óleo, devido à capacidade que o polímero tem de controlar a liberação de compostos bioativos. Natrajan et al. (2015) sintetizaram partículas de alginato revestidas com quitosana em diferentes concentrações para encapsulação de óleos essenciais de cúrcuma e capim-limão. A combinação de concentrações 0,3 mg/mL de alginato e 0,6 mg/mL de quitosana conferiram boa estabilidade às partículas, com valores de potencial zeta superiores a 35mV.

3.5.5. Complexo quitosana e alginato

Quitosana e alginato são polímeros biodegradáveis, biocompatíveis e atóxicos e amplamente utilizados em diversas áreas em forma de cápsulas, nanopartículas e emulsões. Quando em conjunto, formam um complexo estável (Caetano, 2012; Leite, 2014; Natrajan et al., 2015; Tagliari, 2012). O complexo alginato-quitosana (Figura 3.14) ocorre através da forte interação eletrostática entre os grupamentos amino da quitosana e os grupos carboxílicos do alginato. Estes compostos formam um complexo polieletrólítico devido à natureza aniônica do alginato e catiônica da quitosana. Devido ao processo de gelificação ionotrópica que ocorre quando em contato com os íons de cálcio, o alginato é a matriz do complexo e a quitosana age reforçando a micro/nanocápsula de alginato, aumentando sua estabilidade. Além deste reforço, a presença do envoltório de quitosana permite uma liberação mais lenta do composto ativo, já que alginato tende a formar poros pela sua conformação estrutural (Battisti& Campana-Filho, 2008; Tagliari, 2012; Leite, 2014). Este complexo é estável também em condições ácidas, pois apesar da

quitosana ser solúvel em meios ácidos, quando complexadas com alginato, sua dispersão é diminuída pela insolubilidade do alginato em baixos valores de pH (Leite, 2014).

Poucos estudos relatando encapsulação de óleos essenciais em alginato/quitosana foram encontrados (Dima et al., 2013; Lertsutthiwong et al., 2009; Natrajan et al., 2015), sendo mais reportados estudos com encapsulação de extratos não voláteis e compostos naturais isolados (Das et al., 2010; Swarnalatha et al., 2015; Yogeshkumar et al., 2012). Rajendran et al. (2013) desenvolveram tecidos antimicrobianos de algodão contendo nanopartículas de alginato/quitosana carregadas com o extrato metanólico de *Ocimum sanctum* e também com o extrato puro. As nanopartículas de alginato/quitosana contendo o extrato metanólico apresentaram maior atividade antimicrobiana do que o extrato puro, além de apresentarem uma melhor durabilidade com a lavagem do tecido, resultando em 90 a 100% de redução antimicrobiana frente a todos os microrganismos testados em até 20 lavagens. O tecido contendo apenas os extratos metanólicos de *Ocimum sanctum* apresentou atividade antimicrobiana significativa em até 5 lavagens, com redução da atividade antimicrobiana em lavagens posteriores. O valor do potencial zeta das nanopartículas formadas foi de - 41,6mV, demonstrando boa estabilidade.

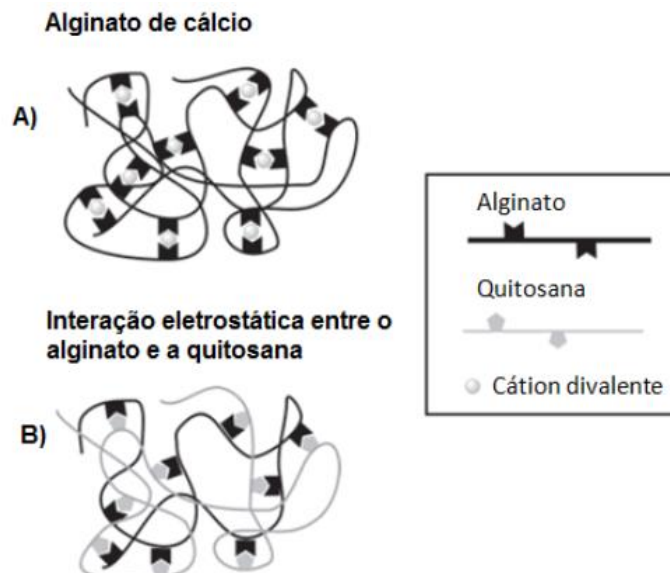


Figura 3.14. Esquematização do complexo alginato-quitosana

Fonte: Leite, 2014.

A encapsulação de compostos fenólicos com atividade antioxidante para aplicação na indústria alimentícia foi reportada por Belščak-Cvitanović et al. (2011)

que avaliaram o potencial de encapsulação de polifenóis com atividade antioxidante realizando a encapsulação de extratos aquosos de *Urtica dioica* L., *Crataegus laevigata*, *Olea europea* L., *Rubus idaeus* L., *Achillea millefolium* L. e *Glechoma hederacea* L. em alginato/quitosana pelo método de extrusão eletrostática, com adição de ácido ascórbico para solubilizar a quitosana e aumentar a atividade antioxidante. Os resultados apresentaram alta eficiência de encapsulação, variando entre 80 a 89% e o percentual de carga do ácido ascórbico foi de 59%, demonstrando que foi encapsulado e que contribuiu com a atividade antioxidante das nanopartículas. Anbinder et al. (2011) encapsularam extratos de *Ilex paraguariensis* ricos em polifenóis em esferas de alginato/quitosana para incorporação em aditivos alimentares. A formação das esferas foi confirmada por análises em espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (EITF), análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC), que apontaram temperatura de decomposição superior à temperatura utilizada para preparação e consumo de alimentos, o que torna viável a utilização de esferas de alginato/quitosana contendo extratos *Ilex paraguariensis* na indústria alimentícia.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

A escolha do material vegetal utilizado neste trabalho foi baseada em estudos sobre espécies nativas do sul do Brasil que apresentavam atividades praguicidas (Menezes, 2005; Moreira, 2005; Zoubiri & Baaliouamer, 2011; Boulogne et al., 2012; Oliveira, 2014), relacionando-as com a família botânica, gênero botânico e compostos presentes nos extratos. As espécies selecionadas inicialmente foram: *Senecio juergensii*, *Senecio conyzaefolius*, *Mimosa lanata*, *Eupatorium hecatanthum*, *Lupinus magnistipulatus* e *Baccharis psiadioides*. De posse do material vegetal, foram realizadas as extrações dos óleos essenciais pelo método de destilação por arraste a vapor. Para as plantas que se obteve óleos essenciais em quantidade suficiente para os ensaios de atividade praguicida, isto é, *Senecio juergensii* e *Baccharis psiadioides*, procedeu-se os ensaios de atividade toxicológica frente a três diferentes pragas. Os ensaios frente às pragas foram realizados no Laboratório de Controle de Pragas da Universidade de Caxias do Sul e no Laboratório de Ecologia Química da Universidade da República - Uruguai. Como proposta para aumentar a estabilidade dos óleos essenciais estudados, a encapsulação em alginato de sódio e quitosana foi realizada e analisada através de parâmetros como eficiência de encapsulação, tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta. A análise dos parâmetros citados foi realizada no Centro Interdisciplinar de Nanociências e Micro-Nanotecnologia – NanoPUC.

4.1. Coleta do material vegetal

As folhas e flores da espécie *Senecio juergensii*, *Senecio conyzaefolius*, *Mimosa lanata*, *Eupatorium hecatanthum*, e *Lupinus magnistipulatus* foram coletadas no Pró-Mata - PUCRS, reserva natural voltada para pesquisa e conservação da natureza localizada em São Francisco de Paula, e as folhas de *Baccharis psiadioides* foram coletadas no Morro do Osso, localizado em Porto Alegre. As

espécies coletadas foram secas em estufa a 40 °C por 24 horas e armazenadas a temperatura ambiente.

4.2. Obtenção dos óleos essenciais

Os óleos essenciais de *B. psiadioides*, *S. juergensii*, *S. conyzaefolius*, *L. magnistipulaus*, *E. hecatanthum* e *M. lanata* foram obtidos através da extração por arraste a vapor em uma Unidade Piloto de Arraste a Vapor (Figura 4.1). No trabalho de Rossa et al. (2018) são apresentadas as características do equipamento, assim como os procedimentos relacionados ao funcionamento do mesmo. As condições operacionais utilizadas para a realização dos experimentos são apresentadas na Tabela 4.1.



Figura 4.1. Unidade piloto de arraste a vapor.

Em função do baixo rendimento de óleo essencial obtido à pressão atmosférica para as diferentes espécies estudadas, os experimentos de extração por arraste a vapor foram realizados em vaso de extração pressurizado. Como o vapor é gerado na condição de saturação, o aumento da pressão promove o aumento da temperatura de operação. Quanto à massa de planta utilizada, esta estava diretamente relacionada com a capacidade do leito de extração.

O teor de umidade das plantas foi determinado através de um analisador de umidade, o HB43 (Mettler Toledo). Adiciona-se uma massa de planta ao analisador que possui uma balança, determinando a massa da amostra. Em

seguida, a amostra é rapidamente aquecida e ocorre variação de massa devido à perda de água presente no material vegetal. A umidade é então determinada pela medida da variação das massas inicial e final da planta adicionada ao equipamento. Foi adicionado 1,2 g de planta em cada análise.

Tabela 4-1 Informações sobre o material vegetal e indicação das condições operacionais utilizadas na extração de óleos essenciais de espécies nativas do sul do Brasil

Material vegetal	Parte utilizada	Massa de planta seca (g)	Pressão (bar)
<i>Baccharis psiadioides</i>	Folhas secas	366	1,5
<i>Senecio juergensii</i>	Folhas secas	350	2,0
<i>Lupinus magnistipulatus</i>	Folhas secas	309	2,0
<i>Eupatorium hecatanthum</i>	Folhas e flores secas	225	2,0
<i>Mimosa lanata</i>	Folhas secas	190	2,0
<i>Senecio conyzaefolius</i>	Folhas e flores secas	520	2,0

De posse dos resultados das extrações dos óleos essenciais, determinou-se o rendimento (R) do processo, através da Equação 1. As plantas que apresentaram rendimento de óleo essencial suficiente para a realização dos ensaios de atividade praguicida, assim como maior disponibilidade de material vegetal, foram coletadas novamente e seu óleo essencial foi extraído e utilizado nos bioensaios frente às pragas.

$$R = \frac{V_f \times \rho}{m} \times 100 \quad (1),$$

onde V_f é o volume de óleo essencial (mL), ρ é a densidade do óleo essencial e m é a massa de planta (g) adicionada ao extrator.

4.3. Análise dos óleos essenciais por CG-EM

A composição química dos óleos essenciais com melhor rendimento foi determinada a partir de análises realizadas em um cromatógrafo a gás acoplado a

um detector de massas (*Hewlett Packard*, Agilent sistema CG/EM, CG modelo 7890A e detector de massas modelo 5975C). A programação de temperatura do forno se inicia a 60 °C, mantendo-se por 8 min, aumentando a 3 °C/min até 180 °C, mantendo esta temperatura por 1 minuto, aumentando a 20 °C/min até 250 °C e mantendo essa temperatura por 10 minutos. O gás de arraste utilizado foi hélio com fluxo de 0,8 mL/min, temperatura do injetor 250 °C, volume de injeção 0,2 µL, no modo *split*, razão de *split* 1:55. A faixa de massa analisada foi de 40 a 450 nm. A coluna utilizada foi uma HP-5MS, 5% fenil-metilpolisiloxano, 30 m x 250 µm de diâmetro interno com espessura de filme de 0,25 µm (Lucas, 2011; Xavier, 2011).

A partir de uma série de n-alcenos (C8-C20), os índices de retenção dos compostos foram obtidos e comparados com os da literatura (Adams, 2007). Os espectros de massas também foram comparados, a fim de uma melhor e mais exata identificação.

4.4. Encapsulação dos óleos essenciais

As nanopartículas de alginato/quitosana foram sintetizadas através metodologia de emulsificação com gelificação ionotrópica do alginato, utilizando uma modificação da técnica por Lertsutthiwong et al. (2009).

Em tubos *falcon* de 50 mL foram solubilizados 18 mg de alginato de sódio (Protanal 10/60, FMC *Biopolymer*) em 30 mL de água deionizada, com ajuda de um *vortex*. Após, 1 mL de uma solução aquosa de álcool polivinílico (PVA, Sigma-Aldrich) na concentração de 0,09 g/mL foi adicionado à solução, gerando uma solução aquosa de alginato de sódio na concentração de 0,6 mg/mL, contendo 0,3% de PVA. Para melhor solubilização, a solução foi sonicada à amplitude de 70% e 8 W.

Após a sonicação, 0,6 mL de uma solução de óleo essencial em etanol (167 mg/mL) foi gotejada lentamente à solução aquosa contendo alginato de sódio e PVA (descrita anteriormente), levando à formação de uma emulsão O/A, a qual foi sonicada por 15 min em ultrassom. Combinou-se então 20 mL da emulsão formada com 4 mL de uma solução aquosa de CaCl₂ (0,67 mg/mL) e a mistura foi agitada por 30 minutos. Após o tempo de agitação, foram gotejados lentamente 4 mL de uma solução aquosa de quitosana de baixo peso molecular (Sigma-Aldrich) na concentração 0,3 mg/mL, contendo 1% (v/v) de ácido acético (Merck), com posterior

agitação por 30 minutos. Após a agitação, a suspensão formada foi deixada em equilíbrio por 12 horas e então rotaevaporada a 40 °C por 20 minutos. A concentração final da suspensão de nanopartículas contendo óleo essencial foi de 5mg/mL.

Os parâmetros avaliados das nanopartículas foram o tamanho de partícula, potencial zeta e índice de polidispersão, os quais foram realizados no equipamento ZetaSizer® Nanoseries (Malvern, Inglaterra) a partir de 1 mL da suspensão na concentração de 100 µg/mL.

4.5. Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação foi avaliada de maneira indireta através da presença de atividade antioxidante dos óleos essenciais, pelo método de captura do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). Previamente, a fim de verificar se os óleos essenciais estudados possuíam atividade antioxidante, foi realizada uma Cromatografia em Camada Delgada (CCD) dos óleos, utilizando-se como fase móvel tolueno:acetato de etila na proporção 97:3. Após a corrida cromatográfica, os compostos presentes na placa foram revelados com uma solução metanólica de DPPH a 0,2%. A presença de coloração branca/amarela após a revelação é indicativo de atividade antioxidante.

Uma solução contendo 2,4 mg de DPPH em 100mL de metanol (Merck) foi preparada e foram adicionados 4 mL desta solução em diferentes tubos de ensaio. Para cada tubo de ensaio foram adicionadas quantidades crescentes de cada óleo essencial (0,30 µL; 0,623 µL; 1,25 µL; 2,5 µL; 10 µL e 15 µL para o óleo de *B. psiadioides* e 0,07 µL; 0,15 µL; 0,30 µL; 0,625 µL e 2,5 µL para o óleo de *S. juergensii*) e os tubos foram então acondicionados à temperatura ambiente e ao abrigo de luz (15 minutos para *S. juergensii* e 1h40min para *B. psiadioides*). Após o tempo necessário para captura do radical DPPH, as absorvâncias de cada tubo de ensaio foram medidas em espectrofotômetro (Biospectro SP-220) em um comprimento de onda 515 nm. A partir das informações obtidas, foi construída uma curva de calibração volume de óleo essencial x absorvância. Como branco foi utilizado o metanol.

Para determinar a eficiência de encapsulação, 1 mL da suspensão de nanopartículas contendo os óleos essenciais foi centrifugado a 10.000 rpm por 30 min em uma centrífuga KC16 (Kindly) e o sobrenadante foi recolhido. 300 µL do sobrenadante foram adicionados a um tubo de ensaio contendo 4 mL da solução de DPPH descrita anteriormente e, após o tempo de estabilização da atividade antioxidante, a absorbância foi medida. Através dos valores obtidos pôde-se determinar a quantidade de óleo essencial presente no sobrenadante, ou seja, que não foi encapsulado. Como branco foi utilizado 300 µL água deionizada em 4 mL de metanol. Os testes foram realizados em triplicata.

A eficiência de encapsulação (E) foi calculada através da diferença entre a concentração do óleo total e do óleo presente no sobrenadante (Equação 2):

$$E(\%) = \frac{V_i - V_s}{V_i} * 100 \quad (2),$$

onde V_i corresponde ao volume de óleo adicionado inicialmente à formulação e V_s ao volume de óleo não incorporados às nanocápsulas.

4.6. Ensaios de liberação dos óleos essenciais

Foram preparadas soluções aquosas dos óleos essenciais contendo 0,3% de PVA em concentrações finais de 10 mg/mL, 5 mg/mL, 2,5 mg/mL, 1,25 mg/mL e 0,75 mg/mL e então, foram retiradas amostras dos compostos voláteis dos óleos essenciais de cada concentração através do modo *headspace*: 1 mL de cada solução foi lacrada em vials de 2mL e aquecida a 30 °C por cerca de 2 horas e então armazenadas a temperatura ambiente por 24 horas para que ocorresse o equilíbrio da fase líquida com a fase vapor. Posteriormente, foram coletados com uma seringa *gas tight* (Agilent) 100 µL os compostos voláteis presentes na fase vapor do vial e injetados em CG/MS, conforme descrito no item 4.3. As injeções foram realizadas de modo *split* na razão 1:55 na seguinte programação de temperatura: 60° C durante 8 minutos aumentando para 180°C a 3°C minuto, depois aumentou-se de 180 °C a 250°C a 20°C/min e então a 250°C por 10 min. O volume injetado foi de 100 µL e gás de arraste foi o hélio, com vazão de 0,8 mL/min.

Analisando as cromatografias obtidas, foi construída uma curva de calibração área do composto majoritário x concentração de óleo essencial, através da área do pico majoritário de cada concentração injetada.

A análise do perfil de liberação dos óleos essenciais encapsulados foi realizada da seguinte maneira: em vials de 2 mL foi adicionado 1 mL da suspensão de nanopartículas contendo óleo essencial a uma concentração de 5 mg/mL. A cada duas horas foram retirados 100 µL da fase vapor do vial (*headspace*) e estes foram injetados no CG/MS. Este procedimento foi realizado até que as concentrações dos picos majoritários permanecessem constantes, ou seja, até o sistema atingir o equilíbrio. O mesmo procedimento foi realizado utilizando-se óleo essencial em água e PVA, na concentração final de 5mg/mL, a fim de observar o perfil de liberação do óleo livre. A partir daí, a liberação do óleo encapsulado foi comparada com a liberação do óleo livre.

4.7. Ensaios em *Anticarsia gemmatalis*

Os bioensaios em *Anticarsia gemmatalis* (lagarta-da-soja) foram realizados no Laboratório de Controle de Pragas, localizado na Universidade de Caxias do Sul (UCS). As lagartas de *A. gemmatalis* foram obtidas através da criação com dieta artificial (Greener et al., 1976), localizadas no insetário do laboratório.

Diferentes concentrações de óleo essencial, 0,00%; 0,10%; 0,25%; 0,50%, 0,75% e 1,00% (p/v), foram solubilizadas em solução aquosa de *Tween* 80 a 1,0 % (v/v) e adicionadas na dieta artificial. Para cada concentração, 20 lagartas em 3º ínstar foram utilizadas e mais o grupo controle, totalizando 140 lagartas. As lagartas foram individualmente separadas em recipientes de plástico com capacidade de 50 mL com 1 g da dieta artificial (Greener et al., 1976), contendo as diferentes concentrações dos óleos essenciais livres e encapsulados disponíveis para alimentação até a fase pupal. Para manter o ambiente úmido, uma porção de algodão embebido com água destilada foi colocada no recipiente e umedecida a cada 24 horas. O experimento todo foi realizado em um ambiente com temperatura constante de 27 ± 1 °C e umidade relativa do ar de $70 \pm 5\%$ (Lucena, 2016).

As taxas de mortalidade das lagartas foram avaliadas diariamente até o estágio de pupa. Foram verificados também possíveis efeitos secundários como

variação no peso após sete dias do início do experimento, a duração das fases larval e pupal, peso e dados morfométricos da pupa. Os dados foram analisados por análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey ($P < 0,05$). Para determinação da concentração letal mediana (CL_{50}) foi utilizado o método de Probit.

4.8. Ensaios em *Boophilus microplus*

Os ensaios carrapaticidas foram realizados no Laboratório de Ecologia Química, localizado na *Universidad de la Republica*, em Montevideu, através do teste do pacote larval (TPL) (Stone & Haydock, 1962), que consiste na adição de larvas do carrapato em envelopes contendo o extrato impregnado.

Os ensaios foram realizados com os óleos essenciais de *Baccharis psiadioides* e *Senecio juergensii* puros e encapsulados. Em papéis filtro medindo 8,5 x 7,5 cm (*Whataman 1*) os óleos foram adicionados homogeneamente em diferentes concentrações (Tabela 4.2). Após alguns minutos de secagem, os papéis foram fechados com *binder clips* formando um envelope (Figura 4.2) e foram adicionadas 100 larvas de carrapatos em cada envelope. Os envelopes foram fechados e incubados a temperatura de 27-29 °C, com umidade relativa maior que 80% por 48 h. O controle negativo para comparação com o óleo essencial livre foi acetona e para comparação com o óleo encapsulado foi 1 mL da suspensão não contendo os óleos essenciais. O controle positivo utilizado foi o timol a 5mg/mL.

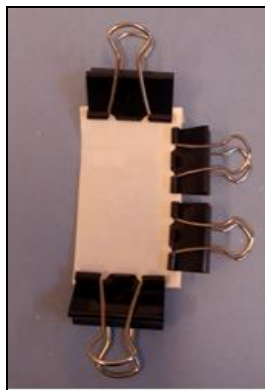


Figura 4.2 Envelope impregnado com óleo essenciais/suspensão de nanopartículas.

Após o período de incubação, realizou-se a contagem de carrapatos vivos (com movimento) e mortos (quietos ou incapazes de se movimentar) a cada 12 h, por um período de 48 h. Através da contagem dos carrapatos, determinou-se o percentual de carrapatos mortos.

Tabela 4-2 Concentrações utilizadas nos bioensaios frente a *R. (B) microplus*

		Concentrações
<i>S. juergensii</i>	Puro	3,35; 5,00 e 7,00*
	Encapsulado	670; 1000 e 1500**
<i>B. psiadiodies</i>	Puro	5,0; 7,5 e 10,0*
	Encapsulado	100, 1500 e 2000**

*mg/mL

**µL

4.9. Ensaios em *Varroa destructor*

As abelhas da espécie *Apis mellifera* e as varroas foram coletadas de colmeias comerciais orgânicas localizadas em Canelones - Uruguai no mesmo dia em que os bioensaios foram realizados, no Laboratório de Ecologia Química da Universidad de La República, em Montevideo. A metodologia utilizada para os bioensaios consiste em uma adaptação dos procedimentos propostos por Lindberg et al. (2000).

Os ensaios foram realizados em um recipiente contendo duas bases de placas de Petri (9 cm x 1 cm), contendo uma tampa perfurada (cerca de quatro furos por cm²) em seu interior, dividindo as bases das placas. Na base superior, 10 abelhas e 6 varroas foram adicionadas. Na parte inferior, foi adicionado um papel filtro com 36 cm², onde foram adicionados os óleos essenciais livres e encapsulados (Figura 4.3). Nos ensaios utilizando o óleo essencial livre de *S.juergensii*, foram adicionados 500 µL de uma solução de etanol contendo o óleo essencial nas concentrações 0,5%, 1,0% e 2,0% e nos ensaios utilizando o óleo essencial encapsulado, foram adicionados diferentes volumes da suspensão de nanopartículas: 1000 µL e 2000 µL. Nos ensaios com o óleo essencial livre de *B. psiadiodies* foram adicionadas 500 µL de uma solução de etanol contendo o óleo essencial nas concentrações de 0,25%, 0,50% e 1,00% e os ensaios contendo a suspensão de nanopartículas foram realizados adicionando-se 500 µL e 1000 µL nos papéis filtro. As concentrações foram ajustadas conforme resposta das varroas frente aos óleos essenciais.



Figura 4.3 Placas de Petri contendo as abelhas, varroas e amostra impregnada em papel filtro.

O controle negativo utilizado para comparação com o óleo essencial puro foi 1 mL de etanol e para comparação com óleo essencial encapsulado foi 2 mL da suspensão contendo as nanopartículas sem o óleo essencial. O controle positivo foi timol a 5 mg/mL. Após o preparo dos ensaios, as placas contendo as abelhas, varroas e as amostras impregnadas nos papéis filtro foram incubadas a 20-22 °C com 60-70% de umidade relativa durante 48 h. A contagem das abelhas e varroas mortas foram realizada a cada 24 h pelo período de 48 h. Os resultados foram expressos em percentual de mortalidade de abelhas e varroas.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Obtenção dos óleos essenciais

Para a realização dos testes praguicidas e do preparo das nanopartículas foi necessária uma quantidade considerável de óleo essencial, sendo o rendimento um fator excluyente para a seleção do material vegetal utilizado nos ensaios. A Tabela (5.1) apresenta resultados dos rendimentos de óleo essencial obtido pelo processo de extração por arraste a vapor das diferentes folhas e hastes das plantas utilizadas. O processo de extração dos óleos essenciais dos materiais vegetais em estudo foi realizado até que o volume de óleo essencial se mantivesse constante por um período de 30 minutos. O rendimento foi calculado através da Equação 1.

Tabela 5-1: Rendimentos do processo de extração por arraste a vapor utilizado na obtenção de óleo essencial.

Material vegetal	Tempo de extração (min)	Umidade (%)	Rendimento (%)
<i>Baccharis psiadioides</i>	365	5,02%	3,27%
<i>Senecio juergensii</i>	334	13,83%	0,40%
<i>Lupinus magnistipulatus</i>	60	14,07%	0,09%
<i>Eupatorium hecatanthum</i>	150	11,16%	0,07%
<i>Mimosa lanata</i>	165	42,00%	0,07%
<i>Senecio conyzaefolius</i>	120	4,01%	0,28%

As extrações dos óleos essenciais de *Senecio juergensii*, *Senecio conyzaefolius* e *Baccharis psiadioides* foram as que apresentaram maior rendimento, 0,40%, 0,28% e 3,27%, respectivamente. Porém, devido à dificuldade de coleta de

maiores quantidades de *Senecio conyzaefolius* (baixa disponibilidade da planta) os estudos com esta planta não se tornaram viáveis. As plantas *Senecio juergensii* e *Baccharis psiadioides* foram então escolhidas para serem estudadas, já que a quantidade de óleo essencial produzida por estas plantas atendeu a quantidade mínima para a realização das análises químicas, dos ensaios praguicidas e da produção das nanopartículas.

A extração por arraste a vapor do óleo essencial de *B. psiadioides* apresentou alto rendimento, uma vez que a grande maioria das plantas apresentam rendimentos que variam de 0,5 a 2,0%, dependendo do método de extração (Gomes, 2003). Este valor é maior do que o obtido em estudo realizado por Negreiros et al. (2016) e Suyenaga et al. (2003), os quais obtiveram valores de rendimentos de óleo essencial de *B. psiadioides* de 1,5%, empregando o método de extração por hidrodestilação. Em relação às demais plantas utilizadas neste estudo, *Senecio juergensii*, *Lupinus magnisitpulatus*, *Eupatorium hecatanthum*, *Mimosa lanata* e *Senecio conyzaefolius*, não há relatos sobre de rendimentos de óleos essenciais.

5.2. Análise dos óleos essenciais

Nas Tabelas 5.2 e 5.3 são apresentados os compostos identificados dos óleos essenciais extraídos das folhas secas de *Bacharis pisiadioides* e *Senecio juergensii*. Os compostos identificados mais abundantes presentes nos óleos de *B. psiadioides* foram o α -Curcumeno (6,88%), seguido de β -Pinoeno (5,74%), β -Elemeno (4,95%) e Globulol (4,27%). Estes resultados podem ser comparados com os obtidos por Lazarotto (2014), Negreiros (2014) e Cheiran (2015), os quais encontraram em seus estudos alguns destes compostos majoritários, em diferentes quantidades. Esta diferença pode ser explicada através da época e do local de colheita das folhas, que influenciam diretamente na composição química dos óleos essenciais.

O óleo essencial de *S. juergensii* apresentou α -humuleno como composto majoritário. Através de análise dos trabalhos presentes na literatura, não foram encontrados relatos a respeito da caracterização química do óleo essencial de *S. juergensii*.

Tabela 5-2 Análise cromatográfica CG/EM do óleo essencial de *Baccharis psiadioides*.

Compostos ^a	IR	IR teórico ^b	Área% ^c
α-Pineno	951	932	1,22
β-Pineno	997	974	5,74
Mirceno	1009	988	0,33
δ 3-Careno	1028	1008	1,57
o-Cimeno	1043	1022	0,57
Limoneno	1047	1024	1,50
p-Cimeno	1108	1089	0,16
Monoterpenos hidrocarbonetos			11,09
Linalol	1120	1095	0,06
exo-Fenchol	1134	1118	0,14
trans-Sabinol	1160	1137	0,81
Pinocarvona	1183	1160	0,21
Terpinen-4-ol	1198	1174	0,26
p-Metilacetofenona	1205	1179	0,25
p-Cimen-8-ol	1208	1179	0,45
α-Terpineol	1213	1186	0,54
Mirtenol	1219	1194	0,89
Car-3-en-2-ona	1275	1244	0,11
Indanol	1371	1338	0,18
Monoterpenos oxigenados			3,90
α-Cubebeno	1374	1345	0,15
α-Ylangeno	1396	1373	0,62
α-Copaeno	1401	1374	0,49
β-Elemeno	1421	1389	4,95
α-Gurjuneno	1438	1409	0,22
β-Gurjuneno	1451	1431	0,12
α-Humuleno	1482	1452	0,63
allo-Aromadendreno	1489	1458	0,23
γ-Gurjuneno	1500	1475	0,32
γ-Muuroleno	1506	1478	2,79
ar-Curcumeno	1514	1479	6,88
β-Selineno	1517	1489	0,82
Viridifloreno	1526	1496	1,50
α-Muuroleno	1531	1500	1,56
γ-Cadineno	1546	1513	2,04
cis-Calameneno	1554	1528	1,87
α-Cadineno	1568	1537	0,43
β-Calacoreno	1594	1564	0,55
Sesquiterpenos hidrocarbonetos			26,17
Palustrol	1601	1567	1,62
Globulol	1622	1590	4,27
Cubeban-11-ol	1630	1595	2,23
Ledol	1639	1602	1,69
Epoxido de humuleno II	1646	1608	1,53
Junenol	1655	1618	0,55
1-epi-Cubenol	1663	1627	0,57
β-Eudesmol	1686	1649	0,31
cis-Calamenen-10-ol	1692	1660	2,62
trans-Calamenen-10-ol	1695	1668	0,81
Curcufenol	1755	1717	0,14
Ciclocoloronona	1789	1759	0,33
Sesquiterpenos oxigenados			16,67
Compostos identificados			57,83

^a = compostos identificados pela comparação de seus espectros de massa e índices de retenção com a biblioteca Adams (2007); compostos com área ≥ 0,1%; ^b RI = índice de retenção calculado em relação a uma série de alcanos; ^cÁrea = área percentual de cada pico em relação à área total do cromatograma.

Tabela 5-3 Análise cromatográfica CG/EM do óleo essencial de *Senecio juergensii*

Compostos ^a	IR	IR teórico ^b	Área% ^c
Ácido tíglico	939	909	0,63
α-Pineno	951	932	0,22
β-Pineno	994	974	0,04
Mirceno	1009	988	0,07
α-Felandreno	1022	1002	0,09
p-Cimeno	1042	1020	0,40
Limoneno	1046	1024	0,21
γ-Terpineno	1077	1054	0,03
p-Cimeno	1108	1089	0,06
Monoterpenos hidrocarbonetos			1,75
Linalol	1120	1095	0,04
Terpinen-4-ol	1198	1174	0,06
α-Terpineol	1212	1186	0,04
Monoterpenos oxigenados			0,14
α-Cubebeno SH	1372	1345	0,19
α-Copaeno SH	1402	1374	2,88
β-Bourboneno SH	1410	1387	0,15
β-Elemeno SH	1418	1389	1,59
α-Gurjuneno	1437	1409	0,11
β-Copaeno SH	1456	1430	0,18
Aromadendreno SH	1467	1439	0,30
α-Humuleno SH	1488	1452	16,55
trans-Cadina-1(6),4-dieno	1502	1475	0,49
γ-Muuroleno	1505	1478	1,59
γ-Curcumeno	1507	1481	0,78
α-Curcumeno	1510	1479	2,10
β-Selineno	1516	1489	0,52
α-Zingibereno	1524	1493	2,91
γ-Cadineno SH	1546	1513	2,94
trans-Cadina-1,4-dieno	1564	1533	0,33
α-Cadineno	1569	1537	0,89
α-Calacoreno	1574	1544	0,49
Sesquiterpenos hidrocarbonetos			34,99
E-Nerodiol SO	1592	1561	0,43
Espatuleno SO	1611	1577	0,62
Óxido de cariofileno SO	1617	1582	1,82
5-epi-7-epi-α-Eudesmol	1636	1607	0,53
1,10-di-epi-Cubenol	1648	1618	0,36
1, epi-Cubenol SO	1662	1627	0,81
Selina-3,11-dien-6-α-ol	1667	1642	0,27
Torreol SO	1680	1644	0,89
trans-Calamenen-10-ol	1702	1668	0,27
Germacra-4(15),5,10(14)-trien-1-a-ol SO	1715	1685	0,15
6R, 7R -Bisabolone	1776	1740	1,21
6S, 7R -Bisabolone	1786	1748	4,03
Sesquiterpenos oxigenados			7,36
Compostos identificados:			44,24

^a = compostos identificados pela comparação de seus espectros de massa e índices de retenção com a biblioteca Adams (2007); compostos com área ≥ 0,1%; ^b RI = índice de retenção calculado em relação a uma série de alcanos; ^cÁrea = área percentual de cada pico em relação à área total do cromatograma.

O baixo percentual de identificação dos compostos pode ser explicado pela similaridade dos espectros de massa, o que pode gerar co-eluições de picos, impedindo uma identificação e quantificação correta (Silva et al 2018).

5.3. Encapsulação dos óleos essenciais

A encapsulação dos óleos essenciais em nanopartículas de alginato e quitosana foi realizada pelo método de Lertsutthiwong et al. (2009) com modificações que otimizaram a síntese das nanopartículas. A adição de PVA a 3% ao invés de 1% de *Tween 80* diminuiu o índice de polidispersão das nanopartículas de $0,846 \pm 0,03$ a $0,488 \pm 0,04$. A adição de uma maior quantidade de óleo essencial em relação ao método original também influenciou no resultado final, demonstrando um aumento de estabilidade, com aumento nos valores de potencial zeta que foram de $-19,03 \text{ mV} \pm 1,00$ a $-23,6 \text{ mV} \pm 4,04$. A partir dos resultados obtidos, realizou-se então a encapsulação do óleo essencial de *S.juergensii*. A formulação final obtida consiste em uma solução aquosa com óleo essencial encapsulados em nanopartículas de alginato/quitosana suspensas nesta solução.

Na Tabela 5.4 são apresentados os resultados obtidos pela caracterização das nanopartículas. As suspensões de nanocápsulas contendo óleo essencial de *S. juergensii* apresentaram maior tamanho de partícula ($705 \pm 16,26$ nm), maior valor de potencial zeta ($-24,36 \pm 1,98$ nm), assim como um índice de polidispersão mais alto do que as partículas de *B. psiadiodies*. Este fato pode ser explicado pela possível formação de agregados, ou uma diferente distribuição da camada externa de quitosana (Yoksan et al., 2010). As nanopartículas contendo o óleo essencial de *B. psiadiodies* apresentaram um tamanho um pouco menor ($488 \pm 12,01$ nm) do que as apresentadas por Lertsutthiwong et al. (2009), os quais realizaram a encapsulação de óleo essencial de cúrcuma em polímeros de alginato e quitosana, apresentando valores de diâmetro médio 522 ± 15 nm.

Através dos valores de potencial zeta, pode-se observar que ambas as formulações apresentaram boa estabilidade, apresentando valores de -23mV a -25 mV. Suspensões com valores de potencial zeta próximos a $+30\text{mV}$ e a -30 mV apresentam boa estabilidade, pois a repulsão entre as partículas previne a agregação (Tagliari, 2012).

Tabela 5-4 Resultados da caracterização das nanopartículas de óleos essenciais de *S. juergensii* e *Baccharis psiadioides* encapsuladas em alginato/quitosana

	Diâmetro Médio (nm)	Pdi	Potencial Zeta (mV)
<i>Baccharis psiadioides</i>	488,4 ± 12,01	0,488 ± 0,04	-23,6 ± 4,04
<i>Senecio juergensii</i>	705 ± 16,26	0,56 ± 0,05	- 24,36 ± 1,98

5.3.1. Eficiência de encapsulação

A determinação da eficiência de encapsulação foi realizada através do método de captura do radical DPPH. O DPPH caracteriza-se como um radical livre estável por virtude da localização de um elétron livre sobre toda a molécula. Esta localização do elétron gera uma coloração violeta. Quando adicionado substrato (antioxidante ou uma espécie radicalar) à solução de DPPH, há doação de um átomo de hidrogênio, estabilizando a molécula de DPPH e gerando um decréscimo na absorbância, caracterizado pela mudança da coloração violeta para amarela. Nas Figuras 5.1 e 5.2 são apresentadas as curvas de calibração que relacionam a concentração dos óleos essenciais de *B. psiadioides* e *S. juergensii* versus absorbância, respectivamente. Os índices de determinação (R^2) calculados através das curvas de calibração foram 0,9895 (*B. psiadioides*) e 0,9999 (*S. juergensii*).

A eficiência de encapsulação foi calculada através da Equação 2. Ambas as formulações apresentaram uma alta eficiência de encapsulação: 89% ± 4,7 para o óleo essencial de *B. psiadioides* e 86% ± 1,15 para óleo essencial de *S. juergensii*.

Através dos resultados obtidos, pode-se observar que a suspensão final contendo nanopartículas com óleo essencial de *S. juergensii* apresentou 86% (86 µL) do volume adicionado de óleo encapsulado e 14% (14 µL) do volume de óleo adicionado livre na suspensão. A maior taxa de encapsulação do óleo essencial de *B. psiadioides* permitiu que 89% (89 µL) do óleo essencial adicionado fossem encapsulados, enquanto 11% (11 µL) permanecessem livres na suspensão.

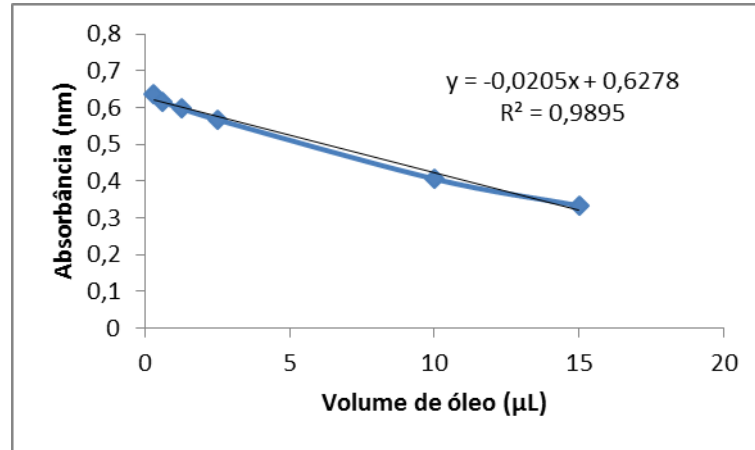


Figura 5.1 Curva de calibração volume de óleo essencial de *B. psidadioides* versus absorbância

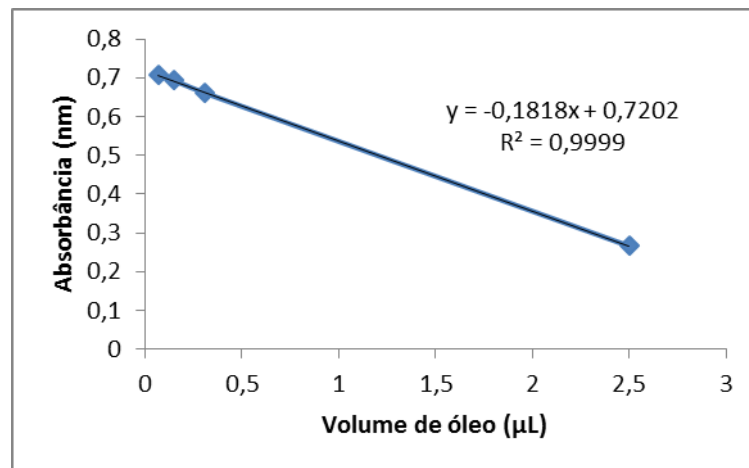


Figura 5.2 Curva de calibração do volume de óleo essencial *S. juergensii* versus absorbância.

5.3.2. Ensaio de Liberação

As curvas de calibração dos óleos essenciais em estudo foram realizadas baseando-se na área do pico do composto majoritário de cada óleo essencial versus uma concentração conhecida do óleo essencial total. A curva de calibração referente ao óleo essencial de *S. juergensii* foi realizada através do composto α -humuleno (Figura 5.3) e a curva referente ao óleo essencial de *B. psidadioides* foi realizada através da área do composto β -pineno (Figura 5.4). Pode-se observar que em ambos os casos a área dos picos dos compostos majoritários aumenta de acordo com o aumento da concentração de óleo essencial.

O método de amostragem com seringa *gas-tight* do *headspace* dos vials foi proposto neste estudo pela possibilidade de reproduzir o ambiente em que as pragas estudadas foram expostas. A mortalidade e influência no desenvolvimento das pragas ocorreram pelo contato destas com os compostos voláteis dos óleos

essenciais estudados e o método citado permite a análise destes componentes, ou seja, a análise da fase vapor.

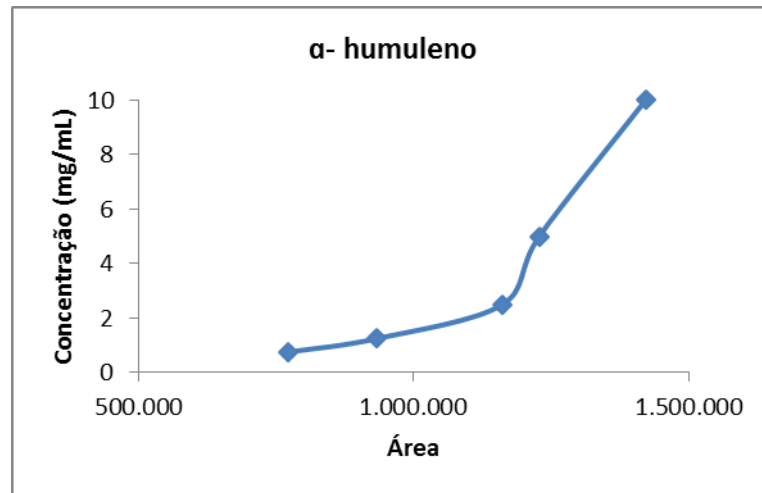


Figura 5.3. Curva de calibração do *headspace* do composto α -humuleno, referente ao óleo essencial de *S. juergensii*.

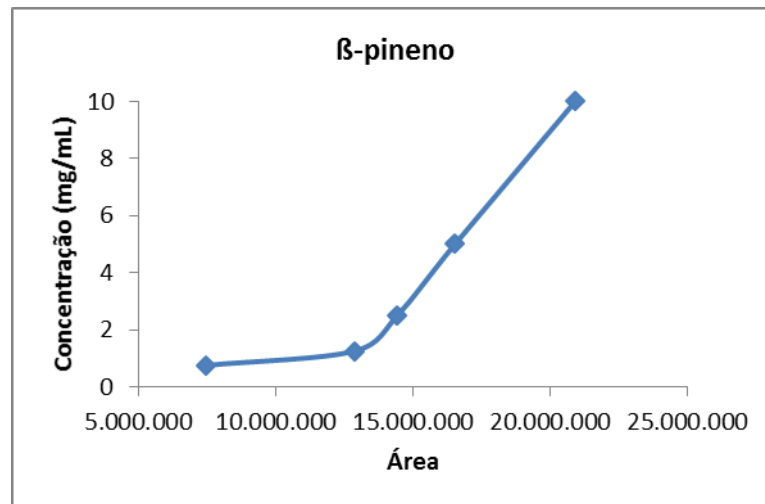


Figura 5.4. Curva de calibração do *headspace* do composto β -pineno, referente ao óleo essencial de *B. psiadioides*.

As análises dos compostos majoritários coletados no *headspace* dos vias em diferentes tempos demonstraram que o equilíbrio ocorre nas primeiras 12 h de ensaio. Este fato foi observado pelo valor constante de área dos picos nos últimos três tempos de ensaio, ou seja, em 08, 10 e 12 h de ensaio a concentração dos picos permaneceu similar. A partir daí, as réplicas foram realizadas em três tempos, sendo a primeira injeção realizada 02 h após o preparo da amostra (tempo 1 – T1), a segunda 06 h após o preparo da amostra (tempo 2 – T2) e a terceira 12 horas após o preparo da amostra (tempo 3 – T3).

Nas Tabelas 5.5 e 5.6 são apresentados a média e desvio padrão em relação às áreas dos picos obtidos para o α -humuleno, composto majoritário do óleo essencial de *S. juergensii* e do β -pineno, um dos compostos mais abundantes no óleo essencial de *B. psidioides* nos três tempos analisados. Pode-se observar que, para uma mesma concentração (5 mg/mL) os picos gerados de α -humuleno e β -pineno do OE livre apresentam maiores áreas do que os picos gerados com OE encapsulado, confirmando a liberação de maiores quantidades do composto em um mesmo tempo. Os compostos foram liberados em menores quantidades quando encapsulados, podendo explicar a mortalidade mais lenta das pragas estudadas neste trabalho.

Tabela 5-5. Média de área e desvio padrão do composto α -humuleno do óleo essencial de *S. juergensii* livre e encapsulado em diferentes tempos.

α-humuleno			
OE livre		OE encapsulado	
Tempo	Área \pm DP*	Tempo	Área \pm DP*
T1	805.290 \pm 91252,1	T1	268.262 \pm 51.536,7
T2	989.522 \pm 189262,0	T2	315.093 \pm 75.619,4
T3	1.179.758 \pm 33301,19	T3	340.254 \pm 67.327,8

DP*= Desvio Padrão

Através da curva de calibração gerada do composto α -humuleno, pode-se observar que a área correspondente a menor concentração utilizada (0,75 mg/mL) de óleo essencial de *S. juergensii* é de 771.604. As áreas obtidas nos três tempos do ensaio com OE encapsulado e nos dois primeiros tempos do ensaio com OE livre estão abaixo deste valor, ou seja, em concentrações de OE menores que 0,75 mg/mL (Tabela 5.5). Somente o T3 do OE livre apresentou valores de área superiores à menor concentração de OE testado, podendo-se afirmar que, em aproximadamente 0,8 mg/mL de OE de *S. juergensii*, há liberação do composto α -humuleno correspondente ao valor de área 1.179.758 \pm 33301,19.

Na Tabela 5.6 são apresentados resultados que demonstram que a liberação do composto β -pineno nos ensaios com OE livre ocorreu de maneira mais rápida do que nos ensaios com OE encapsulado. Os valores de áreas do composto β -pineno nos T1 do OE livre e T3 do OE encapsulado foram 10.941.462 \pm

2.823.136,5 e $10.177.351 \pm 274.628,6$; correspondente à liberação do composto em concentrações de OE de *B. psiadioides* próximas a 1,5 mg/mL. Analisando a curva de calibração do composto β -pineno em relação ao OE de *B. psiadioides* (Figura 5.4), este apresentou área de 7.479.647 na menor concentração de OE testada, indicando que houve menor liberação do β -pineno nos T1, T2 e T3 do OE encapsulado.

A maior concentração de β -pineno em comparação a de α -humuleno presente nas curvas de calibração a partir da mesma concentração de OE pode ser explicada pela maior volatilidade do composto β -pineno. Seu índice de retenção teórico é 974, enquanto que o índice de retenção teórico do composto α -humuleno é 1452.

Tabela 5-6. Média de área e desvio padrão do composto β -pineno do óleo essencial de *B. psiadioides* livre e encapsulado em diferentes tempos.

<i>\beta</i>-pineno			
OE livre		OE encapsulado	
Tempo	Área \pm DP	Tempo	Área \pm DP
T1	10.941.462 \pm 2.823.136,5	T1	6.476.902 \pm 1.558.455,5
T2	28.304.904 \pm 1.212.513,4	T2	7.197.572 \pm 694.919,1
T3	29.014.443 \pm 140.605,3	T3	10.177.351 \pm 274.628,6

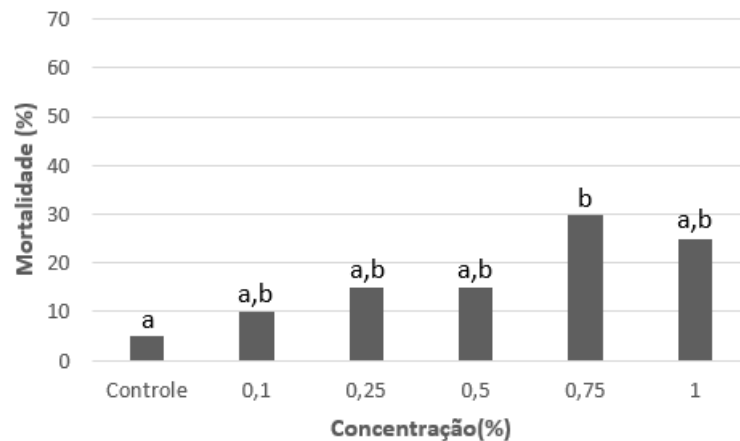
DP* = Desvio Padrão

Os altos valores de desvio padrão obtidos nas análises realizadas indicam baixa reprodutibilidade do método proposto. A análise de um composto isolado em meio a uma mistura é de difícil reprodutibilidade, pois a interação de moléculas vizinhas influencia na concentração de um composto na interface gás-líquido ao longo do tempo (Carneiro, 2012).

5.4. Bioensaios com *Anticarsia gemmatalis*

Através das Figuras 5.5 e 5.6 é possível observar os gráficos de mortalidade das larvas de *A. gemmatalis* frente às diferentes concentrações dos óleos essenciais livres de *S. juergensii* e *B. psiadioides*. A taxa de mortalidade das

larvas expostas ao óleo essencial de *S. juergensii* foi inferior a 50%, atingindo apenas 30% de mortalidade na concentração do óleo essencial de 0,75% e apresentando diferenças estatísticas significativas somente entre a concentração do óleo essencial a 0,75% frente às outras concentrações testadas. Devido à taxa de mortalidade ser menor do que 50%, não foi possível calcular a CL_{50} do óleo essencial de *S. juergensii*.



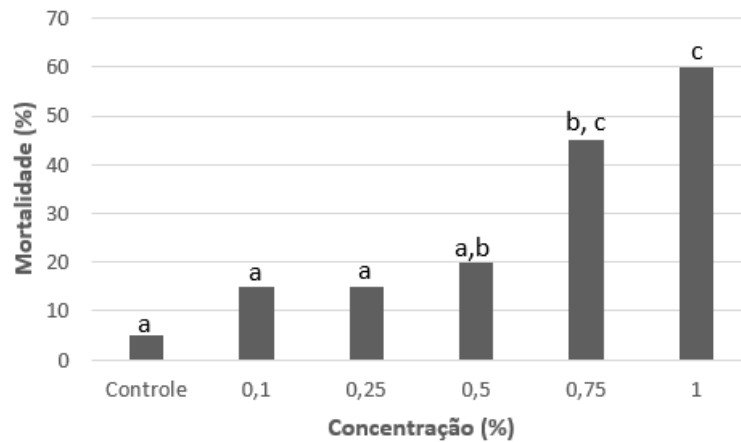
Médias seguidas pelas mesmas letras, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey e X^2 ($p \leq 0,05$).

Figura 5.5 Mortalidade das larvas de *A. gemmatalis* frente a diferentes concentrações do óleo essencial livre de *S. juergensii*.

O óleo essencial livre de *B. psiadioides* causou mortalidade que variou de 5% a 60%, sendo esta última na maior concentração testada. Foram observadas diferenças estatísticas significativas nas concentrações mais elevadas em relação às concentrações menores (Figura 5.6). O percentual de lagartas mortas aumentou com o aumento da concentração testada, demonstrando haver uma relação dose/dependente. A concentração letal mediana CL_{50} foi de 0,92%. Valores próximos de CL_{50} foram apresentados no estudo de Santos (2015), que obteve valores de 1,67% e 2,83% em extratos etanólicos e de frações de diclorometano de *Solanum habrochaites* Knapp & Spooner, que foram testados em ovos e lagartas de terceiro ínstar de *A. gemmatalis*.

Em estudo previamente citado, Lucena (2015) obteve valores de CL_{50} variando entre 2,34 mg/mL a 5,79 mg/mL de extratos etanólicos, hexânicos e de acetato de etila de folhas de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* frente a *A. gemmatalis*. Os extratos também apresentaram valores maiores de mortalidade (de 90% a 100%) quando comparados aos dos óleos de *S. juergensii* (30%) e *B. psiadioides* (60%). A mortalidade frente aos extratos testados foi explicada pela

presença de fenilpropanóides, monoterpenos e sesquiterpenos identificados nos extratos das espécies do gênero *Piper* L.



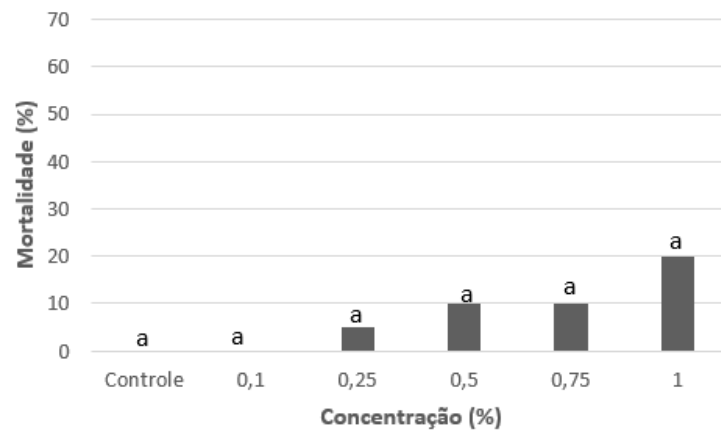
Médias seguidas pelas mesmas letras, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey e X^2 ($p \leq 0,05$).

Figura 5.6. Mortalidade das larvas de *A. gemmatalis* frente a diferentes concentrações do óleo essencial livre de *B. psiadioides*.

O óleo essencial de *S. juergensii* apresentou baixas taxas de mortalidade tanto nos ensaios realizados com o óleo essencial livre (25%), quanto nos ensaios realizados com o óleo essencial encapsulado (20%), na maior concentração testada. Ao analisar os resultados presentes nas Figuras 5.5 e 5.7, pode-se observar que a mortalidade das larvas de *A. gemmatalis* foi mais baixa nos ensaios utilizando o óleo essencial encapsulado (20%), não apresentando diferenças estatísticas significativas entre as concentrações testadas. Os parâmetros biológicos analisados demonstraram diferenças significativas no desenvolvimento da *A. gemmatalis* em relação ao grupo controle e de acordo com o aumento de concentração do óleo essencial, influenciando nas variáveis largura pupal e peso das lagartas quando expostas ao óleo essencial livre e peso pupal, duração larval, comprimento pupal, quando expostas ao óleo essencial encapsulado (Tabelas 5.7 e 5.9).

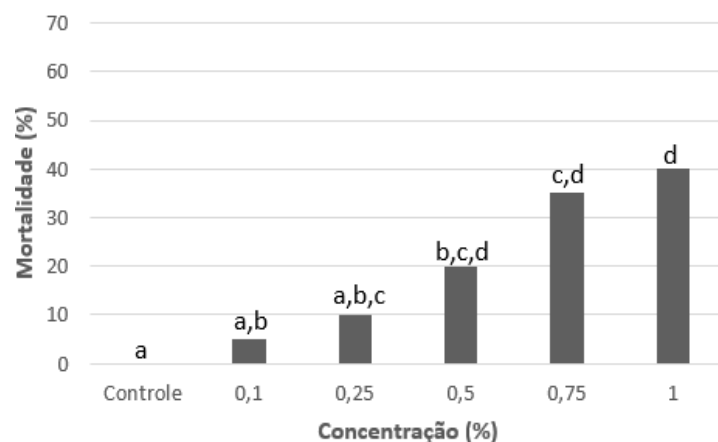
O óleo essencial encapsulado de *B. psiadioides* (Figura 5.8) apresentou resultados similares com os obtidos no parágrafo anterior, apresentando menor taxa de mortalidade (40%) que o óleo essencial livre (60%), e apresentou diferenças significativas em quase todos os parâmetros biológicos testados (Tabelas 5.8 e 5.10), exceto a largura pupal – único parâmetro com diferenças significativas quando expostos a diferentes concentrações do óleo essencial livre.

Em ambos os casos, o óleo essencial encapsulado levou a uma menor mortalidade das lagartas de *A. gemmatalis*, porém teve maior influencia no desenvolvimento das lagartas. Em outras palavras, a liberação mais lenta do óleo essencial encapsulado influenciou no desenvolvimento das lagartas, não atingindo altas taxas de mortalidade e o óleo essencial livre atingiu taxa de mortalidade mais elevada, porém influenciou apenas na variável largura pupal. Este fato pode ser explicado pela inexistência de uma barreira física no caso do óleo essencial livre, conseqüentemente nesta condição a concentração de componentes voláteis é maior em um menor período de tempo, causando mortalidade de maneira mais rápida do que o óleo essencial encapsulado, o qual possui uma taxa de liberação mais lenta, alterando o desenvolvimento da larva e posteriormente, podendo causar sua morte.



Médias seguidas pelas mesmas letras, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey e X^2 ($p \leq 0,05$).

Figura 5.7 Mortalidade das larvas de *A. gemmatalis* frente a diferentes concentrações do óleo essencial encapsulado de *S. juergensii*



Médias seguidas pelas mesmas letras, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey e X^2 ($p \leq 0,05$).

Figura 5.8 Mortalidade das larvas de *A. gemmatalis* frente a diferentes concentrações do óleo essencial encapsulado de *B. psiodiodies*.

Sabe-se que exposição repetida de um mesmo agrotóxico em um curto período de tempo pode levar a criação de mecanismos de resistência em pragas, os quais induzem o agricultor a aumentar ainda mais a frequência de utilização do produto. Fatores como precisão de dosagens e periodicidade de uso são de extrema importância no planejamento das aplicações (Moura et al., 2013). A utilização de óleo essencial encapsulado acaba por ser uma alternativa para o manejo de pragas pela menor chance de desenvolvimento de mecanismos de resistência, pois a aplicação poderá ser realizada em maiores intervalos de tempo além da possibilidade de controlar a taxa de liberação do óleo essencial.

5.5. Bioensaios com *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

A mortalidade das larvas de carrapatos bovinos que foram tratados com diferentes concentrações de óleos essenciais puros e encapsulados de *S. juergensii* e *B. psiadiodeis* pode ser analisada através dos gráficos presentes das Figuras 5.9 e 5.10, respectivamente. A Figura 5.11 mostra os resultados de mortalidade dos controles positivo e negativos testados.

Ambos os óleos essenciais apresentaram alta taxa de mortalidade frente às larvas de carrapatos bovinos *R. (B) microplus*. O óleo essencial livre de *B. psiadioides* apresentou taxas crescentes de mortalidade, de acordo com o aumento da concentração e, ao final das 48 h, atingiu praticamente 100% de mortalidade nas concentrações testadas. Na concentração mais alta, atingiu 100% de mortalidade em 24 h de ensaio. A partir da análise dos resultados apresentados na Figura 5.9 para os óleos essenciais encapsulados se pode observar que a mortalidade dos carrapatos bovinos foi retardada, atingindo 100% em 48 h, nas concentrações 7,5 mg/mL e 10 mg/mL.

A partir dos resultados dos ensaios com o óleo essencial livre de *S. juergensii* é possível observar a rápida ação praguicida a partir da concentração de 5 mg/mL, chegando a 100% de mortalidade nas primeiras 12 h de ensaio e demonstrando mesma eficácia carrapaticida que o controle positivo (Figura 5.11). Com a encapsulação do óleo, pode-se perceber uma liberação mais lenta do óleo essencial de *S. juergensii*, visto que a mortalidade atingiu 50% somente a partir de 36 horas de ensaio. Este fato é um indicativo que a encapsulação atingiu um dos objetivos que consiste em aumentar o tempo de disponibilização do óleo essencial, isto é, aumentar o tempo de ação do óleo essencial frente aos carrapatos.

Tabela 5-7 Parametros biológicos de *A. gemmatalis* alimentadas com dieta artificial contendo o OE livre de *S. juergensii*.

Variáveis	Controle	0,1%	0,25%	0,5%%	0,75%	1%
N	19	18	17	17	14	15
Peso pupal (mg) (mg ± EP) *	0,252 ± 0,006a	0,234 ± 0,008a	0,242 ± 0,005a	0,254 ± 0,010a	0,260 ± 0,009a	0,252 ± 0,007a
Largura pupal (mm) (mm ± EP) *	4,539 ± 0,085a	4,349 ± 0,072 a,b	4,214 ± 0,049b	4,113 ± 0,066b	4,195 ± 0,070b	4,188 ± 0,083b
Comp. pupal (mm) (mm ± EP)	16,690 ± 0,157a	16,161 ± 0,289a	16,061 ± 0,188a	16,331 ± 0,284a	16,467 ± 0,284a	16,300 ± 0,242a
Peso lagartas (mg) (mg ± EP) *	0,145 ± 0,011a	0,099 ± 0,006b	0,083 ± 0,007b,c	0,068 ± 0,017b,c	0,044 ± 0,004c	0,060 ± 0,007b,c
Duração pupal (Dias ± EP) *	15,000 ± -0,270a	13,500 ± 0,477a	13,290 ± 0,304a	14,000 ± 0,745 a	13,220 ± 0,364 a	13,750 ± 0,773a
Duração larval (Dias ± EP) *	12,150 ± 0,730a	13,150 ± 1,062a	12,650 ± 1,284a	14,450 ± 1,417a	11,550 ± 1,758a	11,150 ± 1,522a

*Médias seguidas pelas mesmas letras, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

* Médias seguidas pelas mesmas letras, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de X^2 ($p \leq 0,05$).

Tabela 5-8 Parâmetros biológicos de *A. gemmatalis* alimentadas com dieta artificial contendo OE livre de *B. psiadioides*

Variáveis	Controle	0,1%	0,25%	0,5%	0,75%	1%
N	20	19	18	18	16	13
Peso pupal (mg) (mg ± EP) *	0,254± 0,009a	0,205± 0,008b	0,194± 0,011b,c	0,174± 0,005b,c,d	0,167± 0,007d,e	0,146±0,009e
Largura pupal (mm) (mm ± EP) *	4,915±0,155a	4,887±0,106a	4,446±0,147a,b	3,876±0,383a,b	4,364±0,097a,b	4,129±0,141a,b
Comp. pupal (mm) (mm ± EP) *	17,067±0,246a	16,665±0,23a,b	16,369±0,259a,b,c	16,318±0,161a,b,c	16,047±0,183b,c	15,610±0,233c
Peso lagartas (mg) (mg ± EP) *	0,191±0,012a	0,170±0,008a,b	0,131±0,012b,c	0,097±0,008c,d	0,074±0,009d,e	0,053±0,010e
Duração pupal (Dias ± EP)*	24,100±0,416a	25,588±0,364a,b	25,800±0,428a,b	26,500±0,310b,c	27,091±0,495b,c	27,000±0,436b,c
Duração larval (Dias ± EP) *	12,050±0,223a	13,368±0,256a,b	14,000±0,420b,c	14,556±0,305b,c	15,063±0,295c,d,e	15,500±0,289d,e

*Médias seguidas pelas mesmas letras, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

* Médias seguidas pelas mesmas letras, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de X^2 ($p \leq 0,05$).

Tabela 5-9 Parâmetros biológicos de *A. gemmatalis* alimentadas com dieta artificial contendo nanopartículas encapsuladas com OE de *S. juergensii*

Variáveis	Controle	0,1%	0,25%	0,5%	0,75%	1%
N	20	20	19	17	17	15
Peso pupal (mg) (mg ± EP) *	0,250±0,006a	0,213±0,005b	0,202±0,008b	0,205±0,005b	0,205±0,007b	0,204±0,007b
Largura pupal (mm) (mm ± EP) *	5,153±0,093a	5,360±0,100a	5,052±0,175a	5,120±0,116a	4,982±0,158a	4,918±0,134a
Comprimento pupal (Dias ± EP)	16,640±0,189a	16,346±0,207a,b	16,107±0,313a,b	16,269±0,222a,b	16,098±0,236a,b	15,136±0,248b
Peso lagartas (mg) (mg ± EP) *	0,214±0,004a	0,207±0,005a	0,168± 0,017a	0,191±0,011a	0,194±0,011a	0,185± 0,015a
Duração larval (Dias ± EP) *	10,050±0,211a	10,579±0,221a,b	11,059±0,264a,b	11,684±0,276a,b	11,474±0,337a,b	10,632±0,746b

*Médias seguidas pelas mesmas letras, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

* Médias seguidas pelas mesmas letras, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de X^2 ($p \leq 0,05$).

Tabela 5-8 Parâmetros biológicos de *A. gemmatalis* alimentadas com dieta artificial contendo nanopartículas encapsuladas com OE de *B. psiadioides*

Variáveis	Controle	0,1%	0,25%	0,5%	0,75%	1%
N	19	17	17	16	11	8
Peso pupal (mg) (mg ± EP) *	0,274±0,008a	0,267±0,006a	0,260±0,012a,b	0,269±0,007a	0,220±0,016b	0,243±0,013a,b
Largura pupal (mm) (mm ± EP) *	4,903±0,055a	4,949±0,071a	4,688±0,080a	4,761±0,064a	4,237±0,210b	4,140±0,164b
Comp. pupal (mm) (mm ± EP) *	17,152±0,167a,b	17,204±0,222a,b	17,278±0,231b	17,158±0,236a,b	16,025±0,372c	16,163±0,346b,c
Peso lagartas (mg) (mg ± EP) *	0,273 ± 0,007a	0,266 ± 0,006 a	0,260± 0,011 a,b	0,269± 0,006 a	0,242 ± 0,016a,b	0,220± 0,013b
Duração pupal (Dias ± EP)*	0,159±0,013a	0,149±0,011b	0,117±0,012a	0,082±0,09a	0,037±0,09a,b	0,026±0,07a
Duração larval (Dias ± EP) *	12,56±0,246a	11,76±0,219a,b	11,47±0,501a	12±0,474a,b	12,73±0,557a,b	14,63±0,885b

*Médias seguidas pelas mesmas letras, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

* Médias seguidas pelas mesmas letras, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de X^2 ($p \leq 0,05$).

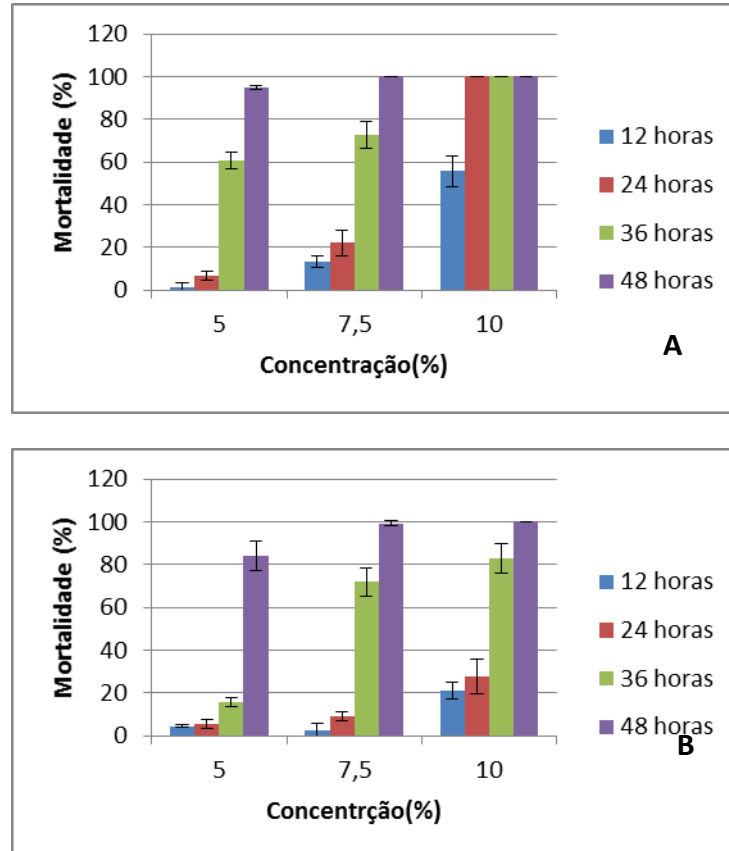


Figura 5.9 Mortalidade (%) dos carrapatos bovinos com óleo essencial de *B. psiodiodies* puro (A) e encapsulado (B) em 48 h de ensaio.

‘Os resultados obtidos fazem sentido quando comparados à eficiência de encapsulação: para ambos os óleos essenciais a maior parte de óleo foi encapsulada, sendo liberada mais lentamente. O óleo essencial que não foi encapsulado permaneceu livre na suspensão e, por não possuir as barreiras poliméricas, volatilizou mais rápido. Isto pode explicar a maior mortalidade inicial presente nos testes com óleos puros: ação mais rápida e por menor tempo.

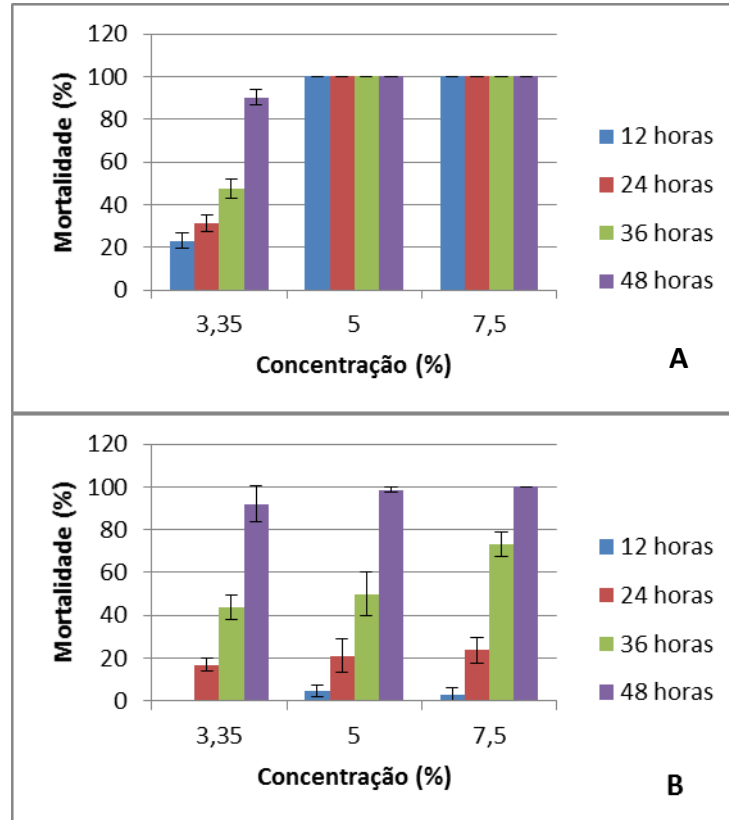


Figura 5.10 Mortalidade (%) dos carrapatos bovinos com óleo essencial de *S. juergensii* puro (A) e encapsulado (B) em 48 h de ensaio.

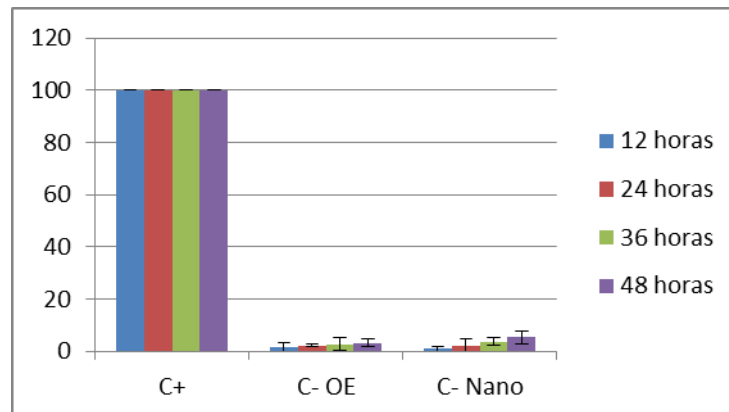


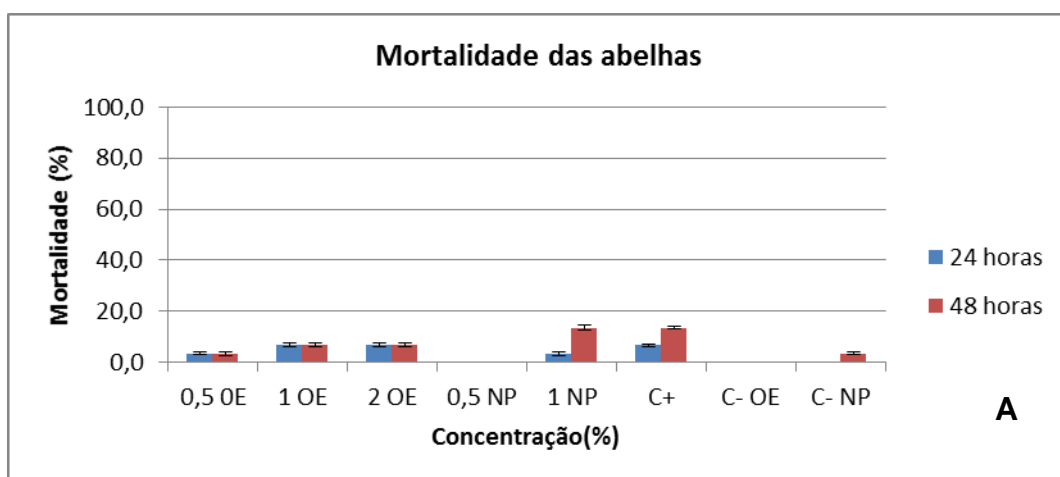
Figura 5.11 Mortalidade dos controles utilizados nos ensaios. C+ = Controle positivo, C-OE= Controle negativo para comparação ao óleo essencial e C-Nano = para comparação do óleo encapsulado.

Os resultados demonstraram boa atividade carrapaticida quando comparados ao estudo realizado por Gazim et al. (2011), que analisaram o efeito do óleo essencial de *Tetradenia riparia* frente a larvas de *R. (B) microplus* através do TPL e observaram mortalidade de 99,9% na concentração de óleo essencial de

11,38 g/mL. Os óleos essenciais de *S. juergensii* e *B. psiadioides* também demonstraram melhor ação carrapaticida em relação aos ensaios de Lage et al. (2015), que observaram 100% de mortalidade de *R. (B) microplus* na concentração de 20 mg/mL de óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC através do TPL (teste de pacote em larvas); enquanto que os óleos essenciais testados neste estudo necessitaram concentrações próximas a 7,5 mg/mL. O estudo de Ferreira et al. (2017) apresentou resultados similares aos obtidos neste trabalho: através do TPL os autores observaram mortalidade de 100% de larvas de *R. (B) microplus* quando expostas à concentração de 5 mg/mL de óleo essencial de *Syzygium aromaticum*. Destaca-se que não foram encontrados na literatura disponível estudos a respeito da atividade dos óleos essenciais de *S. juergensii* e *B. psiadioides* frente ao carrapato bovino *R. (B) microplus*

5.6. Bioensaios com *Varroa destructor*

Os ensaios de toxicidade dos óleos essenciais de *B. psiadioides* e *S. juergensii* foram realizados frente às varroas, mas também frente às abelhas, pois a substância deve ser tóxica apenas às varroas, não afetando as abelhas. Nas Figuras 5.12 e 5.13 são apresentados os resultados de mortalidade de abelhas e varroas devido à ação tóxica dos óleos essenciais livres e encapsulados de *S. juergensii* e *B. psiadioides*, respectivamente.



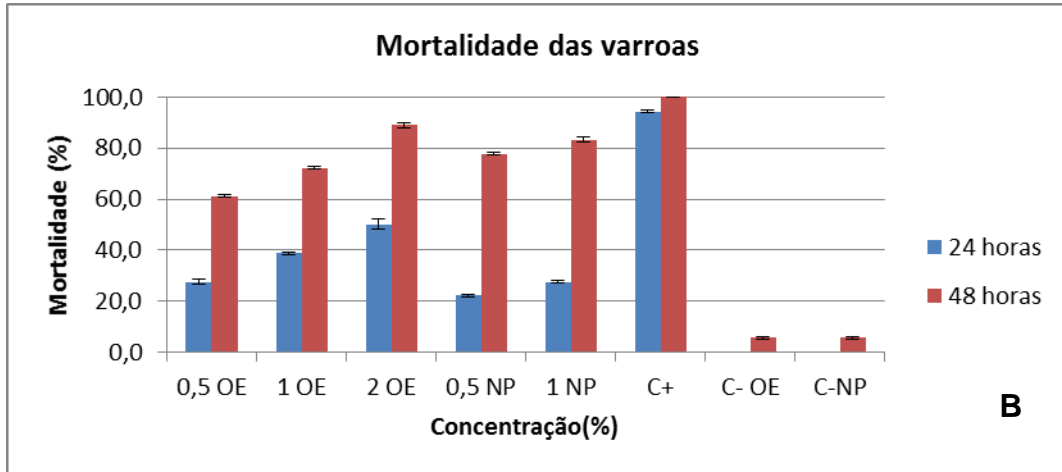


Figura 5.12 Mortalidade em abelhas (A) e varroas (B) frente ao óleo essencial puro (OE), encapsulado (NP) e ao controles positivo (C+), controle negativo para os ensaios com óleo livre (C-OE) e controle negativo para os ensaios com óleo encapsulado (C-NP) de *S. juergensii*.

A partir de análises dos resultados de mortalidade apresentados na Figura 5.12 o óleo essencial de *S. juergensii* se mostrou tóxico frente a varroas nas concentrações utilizadas, apresentando uma baixa taxa de mortalidade de abelhas. A taxa de mortalidade das varroas que foram tratadas com o óleo essencial livre ao final das 48 h foi de 75% na concentração de 1% e 89% na concentração de 2%. Na concentração de óleo essencial mais baixa, 0,5 %, a mortalidade foi de 66,6%. Estes valores podem ser comparados aos obtidos no estudo realizado por Imdorf et al. (1999) que obtiveram valores de mortalidade de 70% e 75% para os óleos essenciais de *Citrus* spp e de *Tanacetum vulgare* e de 80% e 85% para os óleos essenciais de *Foeniculum vulgare* e *Melissa officinalis*, através da evaporação de 0,5 mL dos óleos essenciais sobre uma espécie de varroa denominada *varroa jacobsoni*. Pode-se observar que quando o óleo essencial foi encapsulado a mortalidade ocorre de maneira mais lenta, atingindo maior taxa mortalidade em 48 h (78%) na concentração 0,5% e 82% na concentração de 1%. Estes dados demonstram forte indício de que os óleos essenciais encapsulados apresentam uma taxa de liberação mais lenta em relação ao óleo essencial livre. O aumento da mortalidade em relação ao tempo pode ser explicado pelo maior tempo de ação do óleo essencial sobre as varroas. Devido a sua volatilidade, o óleo essencial livre permanece pouco tempo em contato com a praga. Quando encapsulado, os polímeros agem como uma barreira que possibilita uma liberação mais lenta do óleo essencial, fazendo-o permanecer por mais tempo em contato com o inseto, promovendo uma ação mais prolongada.

O óleo essencial livre de *B. psiodioides* apresentou maior ação frente às varroas do que o óleo essencial livre de *S. juergensii*, necessitando uma menor concentração (0,25%) para matar cerca de 60% das varroas. Apesar da melhor ação, o óleo essencial de *B. psiodioides* apresentou maior toxicidade às abelhas em concentrações a partir de 0,5%, o que não ocorreu com o óleo essencial de *S. juergensii*. Resultados muito parecidos foram encontrados no estudo realizado por Ruffinengo et al. (2007), onde foi avaliada a atividade dos óleos essenciais de *Tagetes minuta* L. e *Heterotheca latifolia* Buchley e do composto eucaliptol frente a colônias de abelhas infestadas com varroas. O óleo essencial de *Heterotheca latifolia* Buchley e o composto eucaliptol foram os que apresentaram melhor eficácia, alcançando valores que variaram entre 63% a 84% de mortalidade em varroas. O eucaliptol, apesar da boa ação varroacida, apresentou alta toxicidade frente às abelhas, com mortalidade de 70%.

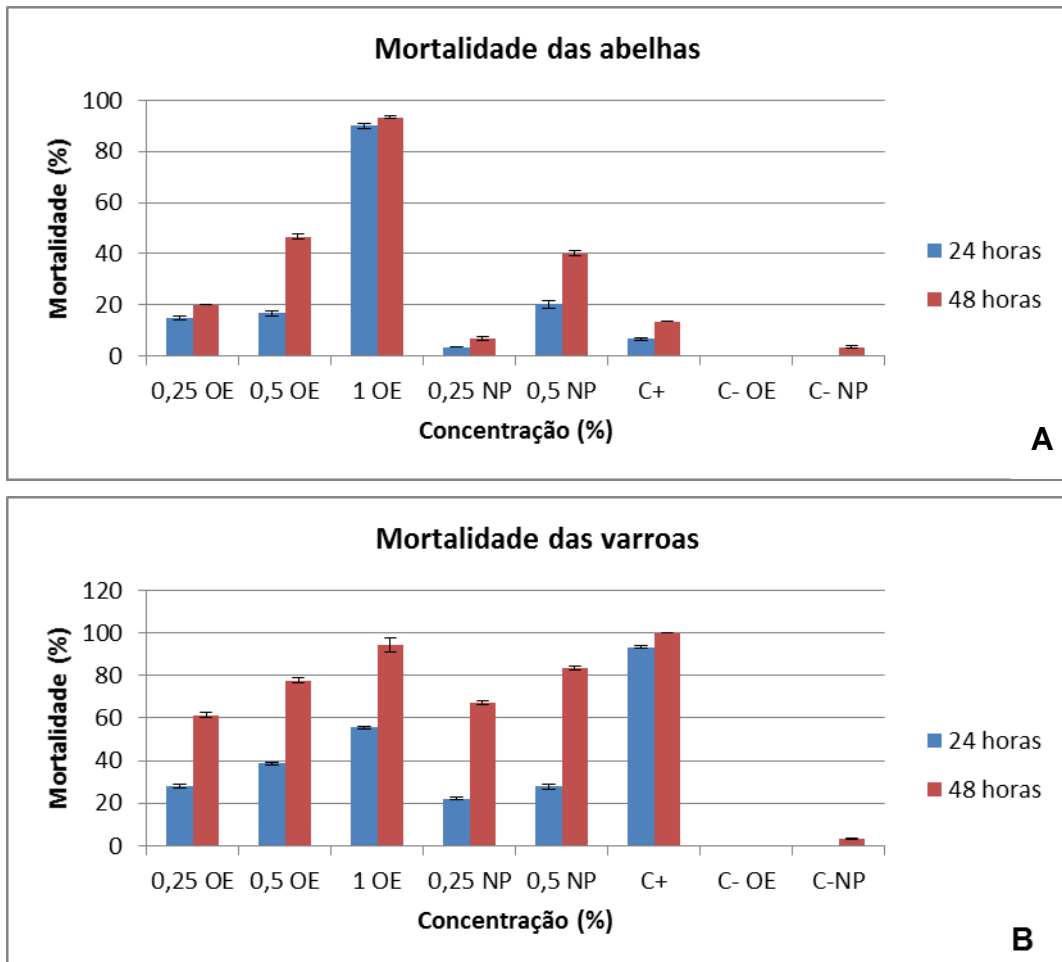


Figura 5.13 Mortalidade em abelhas (A) e varroas (B) frente ao óleo essencial puro (OE), encapsulado (NP) e ao controles positivo (C+), controle negativo para os ensaios com óleo livre (C-OE) e controle negativo para os ensaios com óleo encapsulado (C-NP) de *B. psiodioides*.

O ensaio com o óleo essencial encapsulado de *S. juergensii* frente às varroas apresentou resultados similares aos obtidos com o óleo encapsulado de *B. psiadiodies*: a mortalidade em relação ao óleo puro foi um pouco mais elevada e ocorreu de forma mais lenta. Na concentração de 0,25%, houve uma queda na mortalidade nas primeiras 24 h de ensaio (de 28% a 19,3%) e um aumento da mortalidade ao final das 48 h (61,33% a 67%), bem como na concentração de 0,5%, a qual foi de 34,6% a 27,6% nas primeira 24 h e de 77,3% a 85% no fim das 48 h. A mortalidade na concentração de 1% foi 92%.

Não foi possível realizar os ensaios com nanopartículas com o óleo encapsulado de *S. juergensii* na concentração 2% e com o óleo encapsulado de *B. psiadiodies* na concentração 1% devido ao número insuficiente de indivíduos, abelhas e varroas, para a realização dos experimentos.

6. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que os extratos voláteis das plantas estudadas, *S. juergensii* e *B. psidioides*, apresentam potencial como praguicidas frente à *R. (B) microplus*, *A. gemmatalis* e *Varroa destructor*.

Com rendimento de 0,4% na extração por arraste a vapor, o óleo essencial de *S. juergensii* apresentou resultados promissores frente às pragas estudadas, principalmente em relação a atividade varroacida e carrapaticida. Em varroas, o óleo essencial livre apresentou 89% de mortalidade em 48 horas de ensaio na concentração de 2%, além de possuir baixa toxicidade em abelhas, aspecto importante para a utilização como varroacida. Quando testados frente ao *R. (B) microplus*, os óleos essenciais livre e encapsulado promoveram altos índices de mortalidade, alcançando 100% em 48 h de ensaio e em concentrações de 5 mg/mL. As lagartas de *A. gemmatalis* apresentaram taxas de mortalidade de 30% quando expostas ao óleo essencial livre de *S. juergensii* e o pôde-se observar que desenvolvimento destas foi influenciado através de variações nos parâmetros largura pupal, e peso das lagartas.

O alto rendimento (3,27%) apresentado nas extrações do óleo essencial de *B. psidaioides* e a boa ação frente à *R. (B) microplus* e à *A. gemmatalis* tornam este óleo uma alternativa para o controle destas pragas. As taxas de mortalidade das lagartas de *A. gemmatalis* foram de 60% na concentração de 1%, afetando de maneira significativa o desenvolvimento das lagartas em todos os parâmetros estudados, exceto na largura das pupas. Assim como os resultados obtidos para o óleo essencial livre de *S. juergensii*, os carrapatos bovinos apresentaram 100% de mortalidade em 48 h de ensaio, porém na concentração de 7,5 mg/mL. Apesar da boa ação varroacida (94%), o óleo essencial de *B. psidioides* apresentou toxicidade frente às abelhas.

Quando encapsulados, os óleos essenciais apresentaram menor taxa de mortalidade frente às pragas, o que é justificado pela liberação mais lenta dos compostos voláteis através do perfil de liberação. Baseando-se nos compostos majoritários de cada óleo, foi observado que os óleos essenciais encapsulados das plantas *S. juergensii* e *B. psiadioidies* libera uma maior quantidade do composto majoritário em 12 h de ensaio, partindo de uma mesma concentração (5mg/mL) do que os óleos essenciais livres, indicando a que o óleo essencial encapsulado foi liberado em maior período de tempo que o óleo essencial livre. A eficiência de encapsulação dos óleos essenciais foi de 89% para o óleo essencial de *B. psiadioidies* e 86% para o óleo essencial de *S. juergensii*, assim como a suspensão aquosa contendo as nanopartículas demonstrou estabilidade. Tais resultados consistem em um indicativo para a utilização destes óleos essenciais encapsulados de maneira extensiva frente às pragas estudadas.

Apesar de causar diminuição das taxas de mortalidade frente às pragas *R. (B) microplus*, *A. gemmatalis* e *Varroa destructor*, a encapsulação dos óleos essenciais promoveu a proteção destes da rápida degradação promovida por fatores ambientais externos. Os diferentes mecanismos de ação dos óleos essenciais diminuem a possibilidade de desenvolvimento de mecanismos de resistência por parte das pragas e a encapsulação destes óleos permite uma liberação mais prolongada dos compostos voláteis, permitindo a aplicação destes com menor frequência no manejo de pragas. As taxas de mortalidade das pragas em estudo podem ser modificadas através de ajustes na concentração dos óleos no momento da encapsulação.

7. PROPOSTA DE TRABALHOS FUTUROS

- Análise estatística das atividades carrapaticidas e varroacidas, com objetivo de confirmar correlação das variáveis estudadas;
- Avaliação do potencial alelopático do óleo essencial de *B. psidiodies* frente ao crescimento e desenvolvimento da soja (*Glycine max*);
- Caracterização morfológica e estrutural das nanopartículas de alginato/quitosana através de microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG);
- Análise do tempo de degradação dos polímeros alginato/quitosana na suspensão de nanopartículas;
- Realização de ensaios de toxicidade exigidos para o uso de produtos naturais em combates de pragas.

8. REFERÊNCIAS

ABREU, F. O. M. S. Oliveira, E. F.; Paula, H. C. B. Paula, R., C., M. Chitosan/cashew gum nanogels for essential oil encapsulation. **Carbohydrate Polymers**, v.89, p. 277–1282, 2012.

AIDER, M. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, p. 837-842, 2010.

ADAMS, R., P. Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/ Mass Spectrometry. 4 Ed., Allured. Carol Stream, IL, USA, 2007.

ALBUQUERQUE, M. R.; Silveira, E. R.; Uchôa, D. E.; Lemos, T. L.; Souza, E. B.; Santiago, G. M.; Pessoa, O. D. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils from eupatorium betonicaeforme (D.C.) Baker (Asteraceae). **Journal of agriculture and food chemistry**, v. 52, n. 22, p. 6708- 6711, 2004.

ANBINDER, P. S.; Deladino, L; Navarro, A. S.; Amalvy, J. I; Martino, M. N. Yerba Mate extract encapsulation with elginate and chitosan systems: interactions between active compound nanocapsulation Polymers. **Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences**, v.1, p. 80-87, 2011.

ANDRES, M. F. ; Rossa, G. E. ; Cassel, E. ; Vargas, R. M. F. ; Santana, O. ; Díaz, C.E. ; Gonzalez-coloma, A. . Biocidal effects of Piper hispidinervum (Piperaceae) essential oil and synergism among its main components. **Food and chemical toxicology**, v. 109, p. 1086-1092, 2017.

ANDERSON, J. M; Shive, M. S. Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 64:72–82, 2012.

ASBAHANI, E.; Miladi, K.; Sala, M., Addi, E.; Casabianca, H.; Mousadik, E. Hrtmann, A. ; Jilale, D.; Renaud, A.; Elaissari, F., N. Essential oils: from extraction to encapsulation. **International journal of Pharmaceutics**, v. 483, p. 220-43. 2015.

ASPÉ, E., Fernández, K. The effect of different extraction techniques on extraction yield, total phenolic, and anti-radical capacity of extracts from *Pinus radiata* Bark. **Industrial Crops and Products**, v.34, n.1, p.838-844, 2011.

AVÉROUS, L.; Pollet, E. Biodegradable Polymers. Environmental Silicate Nano-biocomposites. Springer-Verlag (London). 461p, 2012.

BANUMATHI, B.; Malaikozhundan, B.; Vaseeharan, B. In vitro acaricidal activity of ethnoveterinary plants and green synthesis of zinc oxide nanoparticles against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology**, v.216, p. 93–100, 2016.

BAKKALI, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D.; Idaomar, M. Biological effects of essential oils: a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 02, p. 446-475, 2008.

BAKRY, A.; Abbas, S.; Ali, B.; Majeed, H.; Abouelwafa, M., Y.; Mousa, A.; Liang, L. Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.15, p. 143-181.2016.

BATISTA, A. C.; Mellati, V. M.; Demo, C.; Martins, E. S.; Praça, L. B.; Gomes, A.C., M. M.; Falcão, R.; Brod, C. S.; Monnerat, R. G. Prospecção de estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas no controle de *Anticarsia gemmatalis*. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, v.82, n.1, p.19, 2005.

BATTISTI, M. V.; Campana-filho, S, P. Obtenção e caracterização de α -quitina e quitosanas de cascas de *Macrobrachium rosenbergii*. **Quimica Nova**, v. 31, n. 8, p. 2014-2019, 2008.

BELŠČAK-CVITANOVIĆ, A.; Stojanović, R.; Manojlović, V.; Komes, D.; Cindrić, I. J.; Nedović, V. Bugarski, B. Encapsulation of polyphenolic antioxidants from medicinal plant extracts in alginate–chitosan system enhanced with ascorbic acid by electrostatic extrusion. **Food Research International**, v.44, p.1094-1101, 2011.

BERMUDEZ-TORRES, K.; Herrera, J. M.; Brito, R. F.; Wink, M.; Luc, L. Activity of quinolizidine alkaloids from three Mexican *Lupinus* against the lepidopteran crop pest *Spodoptera frugiperda*. **Biocontrol**, v. 54, n.3, p. 459-466, 2009.

BOLOUGNE, I.; Ozier-Lafontaine, H.; Petit, P.; Loranger-Merciris, G. Insecticidal and antifungal chemicals produced by plants: A review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 10, n.4, p.325-347, 2012.

BREMER, K. 1994. Asteraceae: cladistics and classification. Portland: **Timber Press**. 752p.

BREMER, K. 1996. Major clades and grades of the Asteraceae. In: Hind, D.J.N. & Beentje, H. J. Proceedings of the International Compositae Conference. **The Royal Botanic Gardens Kew**: Whitstable Litho Printers, v. 1. p. 1-7.

BRESSEL, T. A., B. Sistema gerador de micro cápsulas de alginato.70f. Tese de Doutorado. Pós Graduação em Genética e Biologia Molecular. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, 2007.

BRITTO, G. F.; Agrawal, P.; Araújo, E. M.; Mélo, T. J. A. Biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes. **Revista eletrônica de materiais e processos**, v.6, n. 2, p. 127-139, 2011.

BRITO, D. R. B.; Júnior, L. M. C.; Garcia, J. L.; Lopes, S. G.; Santos, G. C. O.; Sousa, J. V.S. Ação in vitro do extrato cetônico da *Mimosa caesalpinifolia* sobre

Haemonchus contortuse Trichostrongylus colubriformis. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 4, p. 1963-1971, 2017.

BRUNETON, J. Farmacognosia, fitoquímica y plantas medicinales. 2. ed. **Zaragoza: Acribia**, 2001.

BUDEL, J. M.; Duarte, M. R.; Santos, C. A. M.; Farago, P. V.; Matzenbacher, N. I. Research progress on the genus *Baccharis*, Asteraceae: I-Botanical studies. **Revista brasileira de farmacognosia**, v.15 n.3 , p. 2005.

BUTTERFLIES and Moths of North America, disponível em: <https://www.butterfliesandmoths.org>. Acessado em 15 de setembro de 2017.

CABRERA, E.; Glagosky, P. Plagas principais del cultivo de soja. Campo global. Disponível em: <https://es.slideshare.net/campoglobal/plagas-principales-del-cultivo-de-soja>.

CAETANO, G.; F. Biomembrana de quitosana-alginato na cicatrização de úlceras cutâneas em ratos. 89f. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação Interunidades em Biotecnologia. **Instituto Butantan**, São Paulo, 2012.

CALO, J. R.; Crandall, P. G.; O'Bryan, C. A.; Ricke, S. C. Essential oils as antimicrobials in food systems: A review. **Food Control**, v. 54, p.111-119, 2015.

CANTRELL, C., L.; Dayan, F., E.; Duke, S., O. Natural products as sources for new pesticides. **Journal of Natural Products**, v.75, p.1231-1242, 2012.

CARDOSO, M. J. B.; Barbosa, R. C.; Fidelis, T.; Fook, M. V. L. Ensaios Físico-Químicos e Mecânicos de Membranas de Quitosana com Cobre, Zinco e Magnésio. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.71, p.1 – 6, 2012.

CARNEIRO F. F.; Augusto, L. G. S.; Rigotto, R. M.; Friedrich, K.; Búrigo, A. C. Dossie ABRASCO: Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos à saúde. **Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio**. Rio de Janeiro: EPSJV; São Paulo: Expressão Popular, 2015.

CARNEIRO, A., C., S. Performance do perfume: modelagem e simulação da evaporação/difusão. 61f. Dissertação de Mestrado. Departamento de Engenharia Química. **Universidade do Porto**, Portugal. 2012.

CASSEL, E.; Vargas, R. M. F.; Brun, G. W. Processos de Extração Supercrítica Aplicados a Produtos Naturais. In: Fundamentos de Tecnologia de **Productos Fitoterapáuticos**. p. 213-228.2º edição. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2008.

CASSEL, E.; Vargas, R. M. F.; Martinez, N; Lorenzo, D.; Dellacasa, E. Steam distillation modeling for essential oil extraction process. **Industrial Crops and Products**, v. 29, p. 171-176, 2009.

CASTAGNINO, G. L. B.; Orsi, R. O. Produtos naturais para o controle do ácaro *Varroa destructor* em abelhas africanizadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n.6, p.738-744, 2012.

CASTRO, M. J. P. Potencial inseticida de extratos de *Piper tuberculatum* jacq. (piperaceae) sobre a fase larval de *Spodoptera frugiperda* (j. e. smith). Piauí. 2007 58p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Faculdade de Ciências Agrárias. **Universidade Federal do Piauí**, 2007.

CHEIRAN, K. P. Atividade anti *Listeria monocytogenes* dos monoterpenos e dos sesquiterpenos de óleo essencial de *Heterothalamus psiadioides*. Trabalho de conclusão de curso. Faculdade de Farmácia. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, 2015.

CHEUNG, R. C. F.; Ng, T. B.; Wong, J. H.; Chan, W. Y. Chitosan: An Update on Potential Biomedical and Pharmaceutical Applications. **Marine drugs**, v.13, n.8, p.5156-5186, 2015.

CHUNG, S. K.; Seo, J. Y.; Lim, J. H.; Park, H. H.; Yea, M. J.; Park, H. J. Microencapsulation of essential oil for insect repellent in food packaging system. **Journal of Food Science**, v.78, p. 709–714, 2013.

CORREA, J. C. R.; Salgado, H., R., N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 13, n. 4, p. 500-506, 2011.

COSTA VIEIRA, G. H.; Andrade, W. P., Nascimento, D M. Uso de óleos essenciais no controle do ácaro *Varroa destructor* em *Apis mellifera*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, n. 3, 2012

CRUZ, E. M. O.; Costa-Junior, L. M.; Pinto, J. A. O.; Santos, D. A.; Araujo, S. A.; Arrigoni-Blank, M. F.; Bacci, L.; Alves, P. B.; Cavalcanti, S. C. H.; Blank, A. F. Acaricidal activity of *Lippia gracilis* essential oil and its major constituents on the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology**, v.195, n.1–2, p.198–202, 2013.

DAI, T.; Tanaka, M.; Huang, Y. Y.; Hamblin, M. R. Chitosan preparations for wounds and burns: antimicrobial and wound-healing effects. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 9, n. 7, 2011.

DAS, K. R.; Kasoju, N.; Bora, U. Encapsulation of curcumin in alginate-chitosan-pluronic composite nanoparticles for delivery to cancer cells. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 6, p. 153–160, 2010.

DAMIANI, N.; Liesel B.; Gende , B.; Bailac, P.; Marcangeli , J. A.; Eguaras, M. J. Acaricidal and insecticidal activity of essential oils on *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). **Parasitology Research**, v. 106, p.145–152, 2009.

DANTAS, A. C.; Machado, D. M.; Araújo, A. C.; Oliveira-Junior, R. C.; Lima-Saraiva, S. R.; Ribeiro, L. A.; Almeida, J. R.; Horta, M. C. Acaricidal activity of extracts from the leaves and aerial parts of *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Research in Veterinary Science**, 2015.

DASH, M.; Chiellini, F.; Ottenbrite, R. M.; Chiellini, E. Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 36, n.8, p. 981-1014, 2011.

DEVIANT ART. Disponível em: <https://glmrosa.deviantart.com/art/Ciclo-de-vida-de-Anticarsia-gemmatalis-560101544>. Acesso em: 20 de julho de 2017.

DIAS, R. P. Produtos fitossanitários com uso aprovado para a agricultura orgânica no Brasil. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, 2016.

DIAZ, M.; Rossini, C. Triterpenoides de frutos de *Melia azedarach*: su potencial como agentes de control de insectos. **Revista del Laboratorio Tecnológico del Uruguay**, n.6, p.56-59. 2011.

DIMA, C.; Alexe, P.; Gitin, L.; Dima, S. Encapsulation of coriander essential oil in alginate and alginate/chitosan microspheres by emulsification external gelation method. **Inside Food Symposium**, 2013.

DOMÍNGUEZ, D. M.; Reina, M.; Santos-Guerra, A.; Santana, O.; Agulló, T.; Lopez-Balboa, C.; González-Coloma, A. Pyrrolizidine alkaloids from Canarian endemic plants and their biological effects. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 36, p.153–166, 2008.

FALCÃO, M. Estudo da atividade antimicrobiana do óleo essencial de capim limão e suas frações para produtos de higiene corporal. 2012. 62 f. Dissertação 54 (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais). Faculdade de Engenharia. **Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, 2012.

FERNANDES, R. V. B. Microencapsulamento de óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) através de secagem por atomização. 2013. 134f Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. **Universidade Federal de Lavras**, Minas Gerais.

FERREIRA, F. M.; Delmonte, C. C.; Novato, T. L. P.; Monteiro, C. M. O.; Daemon, E., Vilela, F. M. P.; Amaral, M. P. H. Acaricidal activity of essential oil of *Syzygium aromaticum*, hydrolate and eugenol formulated or free on larvae and engorged females of *Rhipicephalus microplus*. **Medical and Veterinary Entomology**, 2017.

FERREIRA, C. A. S. Clonagem, caracterização e expressão de cDNAs similares a calreticulina e paramiosina siolados de glândula salivar do carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1987). Tese de Doutorado. Pós-graduação em ciências biológicas. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, 2012.

FERRETTO, 2013. Revisão de literatura sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Monografia de conclusão de curso. Graduação em Medicina Veterinária. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, 2013.

FRANCESCHINI, G. N. Avaliação do efeito das variáveis de processo na descafeinização da erva-mate por extração com fluido supercrítico. 78f. 2017. Dissertação de Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais. Faculdade de Engenharia. **Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre.

FRANCHETTI, S. M. M.; Marconato, J, C. Polímeros biodegradáveis – uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 811-816, 2006.

FREIXO, L. C. A.. Micro e Nanoencapsulação como Estratégias de Estabilização de Entidades Bioativas: Proteínas, Enzimas e Bacteriófagos. 76f Dissertação de Mestrado. Ciências farmacêuticas. **Universidade de João Pessoa**, 2013.

GARCIA-CRUZ, C., H.; Foggetti, U., Silva, A. N. Alginato bacteriano: aspectos tecnológicos, características e produção. **Química Nova**, v31, n.7, p.1800-1806. 2008.

GOMES, F. Estudo dos compostos voláteis do alecrim utilizando as técnicas de microextração em fase sólida (SPME), hidrodestilação e extração com fluido supercrítico (SFE). 77f. Dissertação de Mestrado. Programa de pós Graduação em Química. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, 2003.

GOMES, G. A., Monteiro, C. M. O.; Julião, L. S.; Maturano, R.; Senra, T. O. S; Zeringóta, V. Acaricidal activity of essential oil from *Lippia sidoides* on unengorged larvae and nymphs of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) and (Acari: Ixodidae). *Amblyomma cajennense*. *Experimental Parasitology*, v.137, p.41-45, 2014.

GOY, R. C.; Britto, D.; Assis, O. B. G. A Review of the Antimicrobial Activity of Chitosan. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 19, n 3, p. 241-247, 2009.

GONZÁLES-COLOMA, A.; Olmeda, S.; Burillo, J.; Sanz, J.; Sanz, P.; Umpiérrez, M. L.; Rossini, C. Desarrollo de métodos de bioensayo con garrapatas aplicadas a la detección de potenciales bioplaguicidas botánicos. In: Echeverri, F; Rossini, C. Productos Naturales contra Parasitos externos del Ganado Bovino y Ovino, tales, como Mosca de los cuernos y Garrapatas. **Ediciones de la Universidad de Magallanes**. Punta Arenas, Chile, 2013.

GAZIM, Z. C.; Demarchi, I. Z.; Lonardoni, M. V. C.; Amorim, A. C. L.; Hovell, A. M. C.; Rezende, C. M.; Ferreira, G. A.; Lima, E. L.; Cosmo, F. A.; Cortez, D. A. G. Acaricidal activity of the essential oil from *Tetradenia riparia* (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari; Ixodidae). **Experimental Parasitology**, v. 129, p. 175-178, 2011.

GUEDES, V. C.; Fiorin, R. A.; Glauber. F.; Stürmer, R.; Dal Prá, E.; Perini, C. P.; Bigolin, M. Sistemas de aplicação e inseticidas no controle de *Anticarsia gemmatalis* na soja. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16, n.8, p.910–914, 2012.

HIND, D. J. N. 1993. A checklist of Brazilian Senecioneae (Compositae). **Kew Bulletin**, Kew, Richmond, Surrey, v. 48, n. 2, p. 279-295.

HOSSEINI, S. F.; Zandi, M.; Rezaei, M.; Farahmandghavi, F. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. **Carbohydrate Polymers**, v.95, p. 50-56, 2013.

HUANG, X. Sun, Y.; Nie, J.; Lu, W.; Yang, L.; Zhang, Z.; Yin, H.; Wang, Z.; Hu, Q. Using absorbable chitosan hemostatic sponges as a promising surgical dressing. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 75, p.322-329, 2015.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_201708_5.shtm. Consultado em 12 de setembro de 2017.

IMDORF A., Bogdanov, S.; Ochoa, R., I.; Calderone, N.; W. Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* Oud. in honey bee colonies. **Apidologie**, v.30, n.2-3, p.209–228, 1999.

IPEA. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. Disponível em: www.gov.br. Consultado dia 17 de outubro de 2017. ISMAN, M., B. Botanical Insecticides, Deterrents, and Repellents in Modern Agriculture and an Increasingly Regulated World. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 45-66, 2006.

ISLAM, N.; Amjad, M., Haq, E.; Stephen, E.; Naz, F. Management of *Varroa destructor* by essential oils and formic acid in *Apis Mellifera* Linn. Colonies. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v.4, n. 6, p. 97-104. 2016.

ISMAN, M. B. Pesticides Based on Plant Essential Oils: Phytochemical and Practical Considerations. In: Jeliaskov and Cantrell: **Medicinal and Aromatic Crops: Production, Phytochemistry, and Utilization**. S. Symposium Series; American Chemical Society: Washington, DC, 2016.

JOSHI, J.; Vrieling, K. The enemy release, EICA hypothesis revisited, incorporating the fundamental difference between specialist, generalist herbivores. **Ecology, Letters** v. 8, p.704–714, 2005.

JUDD, W. S.; Campbel, C. S.; Kellongg, E. A.; Steens, P. F.; Donogue, M. J. 2009. Sistemática vegetal: um enfoque filogenético. 3.ed. Porto Alegre. **Artmed**, 612p.

JUNIOR, C. V. Terpenes with insecticidal activity: an alternative to chemical control of insects. **Química Nova**, v.26, n.3, p. 390-400, 2003.

KEAWCHAOON, L.; Yoksan, R. Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chitosan nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 84, n. 1, p. 163-171, 2011.

KASHYAP, P. L.; Xiang, X.; Heiden, P. Chitosan nanoparticle based delivery systems for sustainable agriculture. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 77, p.36-51, 2015.

KATHRINA, G. A.; Antonio, L. O. J. Controle biológico de insectos mediante extractos botánicos. In: Carball, M.; Guaharay, F. (Eds.) **Control biológico de plagas agrícolas**. Managua, CATIE. p.137-160, 2004.

KAWAGUTI, H. Y.; Sato, H. H. Produção de isomaltulose, um substituto da sacarose, utilizando glicosiltransferase microbiana. **Química Nova**, v. 31, n 1, p 134-143, 2008.

KHATER, H. F. Prospects of Botanical Biopesticides in Insect Pest Management. **Pharmacologia** 3, v. 12, p.641-656, 2012.

KIM, S. H. Study on the ticks of Chejudo-life cycle. **The Korean Journal of Parasitology**, v.8, n. 2, p.51-57. 1970.

KIM, I. H.; Han, J.; Na, J. H.; Chang, P. S.; Chung, M. S.; Park, K., H.; Min, S. C. C. Insect-resistant food packaging film development using cinnamon oil and microencapsulation technologies. **Journal of Food Science**, v., n.2., p. 229-237, 2013.

Kokate, C. K. **Pharmacognosy**. 40. ed. Nirali Prakashan, Mumbai 2008.

LAGE, T. C. A. L.; Montarani, R., M.; Fernandes S., A.; Monteiro, C., M., O.; Senra, T., O., S.; Zeringota, V.; Matos, R., S.; Daemon, E. Chemical composition and acaricidal activity of the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* De Candolle (1836) and its constituents nerolidol and limonene on larvae and engorged females of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Experimental Parasitology**, v.146, p., 24-29, 2015.

LAI, F. Loy, G.; Manconi, M.; Manca, M., L.; Fadda, A. M. Artemisia arborescens L Essential Oil Loaded Beads: Preparation and Characterization. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 8, 2007.

LAZAROTTO, D., C. Fitotoxidez do óleo essencial de *Heterothalamus psiadioides* Less. sobre *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Botânica. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, 2014.

LEITE, M. V. Microcápsulas de alginato-quitosana contendo nanopartículas magnéticas para liberação controlada de progesterona. 106f. Dissertação de Mestrado. Centro de Ciência e Tecnologia. **Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro**. Rio de Janeiro, 2014.

LERTSUTTHIWONG, P.; Rojsitthisak, P.; Nimmannit, U. Preparation of turmeric oil-loaded chitosan-alginate biopolymeric nanocapsules. **Materials Science and Engineering C**, v. 29, p.856–860, 2009.

LI, X.; Zhang, Z.; Li, J.; Sun, S.; Wheng, Y.; Chen, H. Diclofenac/biodegradable polymer micelles for ocular applications. **Nanoscale**, v. 4, p. 4667-4673, 2012.

LINDBERG, C. M.; Melathopoulos, A. P.; Winston, M. L. Laboratory evaluation of miticides to control *Varroa jacobsoni* (Acari:Varroidae), a honey bee (Hymenoptera: Apidae) parasite. **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 2, p. 189–198, 2000.

LING, N. Rotenone. A review of its toxicity and use for fisheries management. **Science for Conservation**. 40 p. Department of Conservation. Wellington, Nova Zelândia, 2003.

LOIZZO, M. R.; Statti, G. A.; Tundis, R.; Conforti, F.; Bonesi, M.; Autelitano, G.; Houghton, P. J.; Miljkovic-Brake, A.; Menichini, F. Antibacterial and antifungal activity of *Senecio inaequidens* DC. and *Senecio vulgaris* L. **Phytotherapy Research**, v. 18, n.9, p.777-779, 2004.

LUCAS, A. M. Estudo comparativo de extratos voláteis de eucaliptos geneticamente modificados e não geneticamente modificados. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais. **Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul**. Brasil. Porto Alegre, 2011.

LUCENA, D. C. Atividade biológica de extratos de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* sobre *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda*. 64f. Dissertação de Mestrado. Pós Graduação em Biotecnologia. **Universidade de Caxias do Sul**, 2015.

LUCENA, D. C. Biological activity of *Piper aduncum* extracts on *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Erebididae) and *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Accepted Manuscript, 2016.

LUPO, B.; Maestro, A.; Porras, M.; Gutiérrez, J. M.; González, C. Preparation of alginate microspheres by emulsification/internal gelation to encapsulate cocoa polyphenols. **Food Hydrocolloids**, v. 38, p.56-65, 2014.

MAGALHÃES, H. I. F.; Sousa E. B. V. Antitumor essential oils. In: de Sousa D. P. Bioactive essential oils and cancer. Switzerland: **Springer International Publishing**; p. 135–174, 2015.

MAKADIA, H. K.; Siegel, S. J. Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier. **Polymers**, v. 3, p. 1377-1397, 2011.

MARIN, E.; Briceño, M. I.; Cballero-George, C. Critical evaluation of biodegradable polymers used in nanodrugs. **International Journal of Nanomedicine**, v.8, p. 3071–3091, 2013.

MARTÍNEZ, L. M.; Poser, G. V.; Henriques, A.; Gattuso, M.; Rossini, C. Simaroubaceae and Picramniaceae as potential sources of botanical pesticides. **Industrial Crops and Products**, v. 44, p. 600–602, 2013.

Matzenbacher, N. I. Uma nova espécie do gênero *Senecio* L. (Asteraceae - Senecioneae) no Rio Grande do Sul, Brasil. Iheringia, **Série Botânica**, v. 64, p. 109-113, 2009.

MAZZARINO, L.; Travelet, C.; Ortega-Murillo, S.; Otsuka, I.; Pignot-Paintrand, I.; Lemos-Senna, E.; Borsali, R. Elaboration of chitosan-coated nanoparticles loaded with curcumin for mucoadhesive applications. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 370, n. 1, p. 58-66, 2012.

MENEZES, E. L. A. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. **Embrapa Agrobiologia**, Rio de Janeiro, 2005.

MOREIRA, M.; Pianço, M.; Ezio, M.; Martins, J. C. Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas. Controle alternativo de pragas e doenças. p. 89-120, 2005.

MOREIRA, A. C. G. Microencapsulação de Óleos Essenciais. 2014. 60f. Dissertação de Mestrado em Engenharia Química. Faculdade de Engenharia. **Universidade do Porto**, Portugal.

MOREIRA, S. B. L. C.; Guimarães-Brasil, M. O.; Holanda-Neto, J. P.; Souza, M. C. M.; Souza, E. A. Avaliação *in vitro* da eficácia do óleo essencial do alecrim pimenta (*Lippia sidoides*) no combate a varrose em *Apis mellifera* L. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 11, n 1, p. 01-06, 2016.

MOSCARDI, F.; Bueno, A. F.; Sosa-Gomez, D. R.; Roggia, S.; Campo, C. B. H.; Pomari, A. F.; Corso, I. C.; Yano, S. A. C. Artrópodes que atacam as folhas da soja. In: HOFFMAN-CAMPO, C. B. *et al.* Soja - manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. Cap.4, p.213-334. Brasília: **Embrapa**, 2012.

MOURA, A. P.; Michereff, F. M.; Guimaraes, J. A. Manejo da resistência da mosca-branca *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) a agrotóxicos utilizados em hortaliças. Circular Técnica n. 114, Brasília: **Embrapa Hortaliças**, 2013.

MUKERJEE, A.; Vishwanatha, J., K. Formulation, characterization and evaluation of curcumin-loaded PLGA nanospheres for cancer therapy. **Anticancer Research**, v. 29, p. 3867 – 3876, 2009.

NASCIMENTO I. R.; Murata A. T.; Bortoli S. A.; Lopes L. M. Insecticidal activity of chemical constituents from *Aristolochia pubescens* against *Aticarsia gemmatilis* larvae. **Pest Management Science**, v.60, p.413-6. 2004.

NATRAJAN, D.; Srinivasan, S.; Sundar, K.; Ravindran, A. Formulation of essential oil-loaded chitosan-alginate nanocapsules. **Journal of food and drug analysis**, v.23, n.3, p.560-568, 2015.

NEGREIROS, M. O. Avaliação da atividade antimicrobiana e antibiofilme de óleos essenciais de *Heterothalamus* sp.sobre *Enterococcus faecalis*.100f. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, 2014.

NEGREIROS, M. O.; Pawlowski, A.; Zini, C.; A.; Soares, G. L. G.; Motta, A. S.; Frazzon, A. P. G. Antimicrobial and antibiofilm activity of *Baccharis psidioides* essential oil against antibiotic-resistant *Enterococcus faecalis* strains, **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n.12, p. 3272-3279, 2016.

OLIVEIRA, A. S. O.; Deble, L. O.; Schneider, A. A.; Marchior, J. N. C. Checklist do gênero *Baccharis* L. para o Brasil (Asteraceae-Astereae). **Balduinia**, n.9, p. 17-27, 2006.

OLIVEIRA, C. R. Nanopartículas de quitosana como novo sistema de liberação vacinal contra a esquistossomose. 105f. Dissertação de Mestrado. Pós-Graduação em Bioquímica e Imunologia. **Universidade Federal de Minas Gerais**, Belo Horizonte, 2011.

OLIVEIRA, A. R. A. 122f. Estudos de formulação em encapsulação de probióticos. Dissertação de Mestrado. Ciências Farmacêuticas. **Universidade da Beira Interior**, 2013.

OLIVEIRA, J. L.; Campos, E. V.; Bakshi, M.; Abhilash P. C.; Fraceto, L. F. Application of nanotechnology for the encapsulation of botanical insecticides for sustainable agriculture: prospects and promises. **Biotechnology Advances**, v.32 p.1550–1561, 2014.

OLIVEIRA, F. R. Prospecção de fungos para o controle de *Anticarsia gemmatilis* hübn, 1818 (Lepidoptera: noctuidae). 69f. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Agrobiologia. **Universidade Federal de Santa Maria**. 2013.

OPENDER, K.; Walia, S.; Dhaliwal, G. Essential oils as green pesticides: Potential and constraints. **Biopesticides International**, v. 4, p. 63-84. 2008.

PARK, J. K.; Chung, M. J.; Choi, H. N.; Park, Y. I. Effects of the Molecular Weight and the Degree of Deacetylation of Chitosan Oligosaccharides on Antitumor Activity. **International Journal of Molecular Science**, v. 12, p. 266-277, 2011.

PAVELA, R. Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: a review. **Industrial Crops and Products**, v.76, p.174–87, 2015.

PAVELA, R.; Benelli, G. Essential Oils as Ecofriendly Biopesticides? Challenges and Constraints . **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 12, p.1000-1007.2016.

PÉREZ, C.; Agnese, A. M. Cabrera, J. L. The essential oil of *Senecio graveolens* (Compositae): chemical composition and antimicrobial activity tests. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 66, n. 1, p.91-96, 1999.

PORTERO, A. G.; González-Coloma, A.; Reina, M.; Díaz, C. E. Plant-defensive sesquiterpenoids from *Senecio* species with biopesticide potential. **Phytochemistry Reviews**, v.11, p.391–403, 2012.

RAJENDRAN, R.; Radhai, R.; Kotresh, T. M.; Csiszar, E. Development of antimicrobial cotton fabrics using herb loaded nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v.91, p. 613-617, 2013.

REFLORA, Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB115801>. Acesso em: 28 de junho de 2017.

REICHLING, J.; Schnitzler, P.; Suschke, U.; Saller, R. Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotoxic properties—an overview. **Forsch Komplementmed**, v.16: 79-90, 2009.

REINA, M.; Santana, O.; Domínguez, D. M.; Villarroel, L.; Fajardo, V.; Rodríguez, M., L.; González-Coloma, A. Defensive sesquiterpenes of *Senecio candidans* and *S. magellanicus*, and their structure-activity relationships. **Chemical Biodiversity**, v. 9, p.625–643, 2012.

RIBEIRO, V. L. S.; Toigo, E.; Bordignon, S. A. L.; Gonçalves, K.; von Poser, G.. Acaricidal properties of extracts from the aerial parts of *Hypericum polyanthemum* on the cattle tick *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 147, n. 1-2, p. 199-203, 2010.

RODRÍGUEZ J.; Martín, M. J.; Ruiz, A. M.; Clares, B. Current encapsulation strategies for bioactive oils: from alimentary to pharmaceutical perspectives. **Food Research International**, v. 83, p. 41–59, 2016.

ROSARIO-CRUZ, R.; Garcia, D. I. D.; Rojas, .E. R. Estrategias para el control de la garrapata *Boophilus microplus* y la mitigación de la resistencia. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria, **Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias**, 2009.

ROSENKRANZ, P.; Aumeier, P.; Ziegelmann, B. Biology and control of *Varroa destructor*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 10, p.106-119, 2010.

ROSSA, G. E.; ALMEIDA, R. N.; VARGAS, R. M. F.; CASSEL, E.; MOYNA, G. Sequential Extraction Methods Applied to *Piper hispidinervum*: An Improvement in the Processing of Natural Products. **Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 96, p. 756-762, 2018.

RUFFINENGO, S.; Maggi, M.; Faverin, C.; Garcia, D. S. B.; Bailac, P.. Essential oils toxicity related to *Varroa destructor* and *Apis mellifera* under laboratory conditions. **Zootecnia Tropical**, v 25, p. 63-69, 2007.

RUPPELT, B. M.; Pereira, E. F. R.; Gonçalves, L. C.; Pereira, N. A. Pharmacological screening of plants recommended by folk medicine as anti-snake venom: I. Analgesic and anti-inflammatory activities. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 86, n. 2, p.203-205, 1991.

SAITO, M. L.; Pott, A.; Ferraz, J. M. G.; Nascimento, R. S. Avaliação de plantas com atividade deterrente alimentar em *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) e *Anticarsia gemmatalis* Hubner. **Pesticidas: Revista Ecotoxicológica e Meio Ambiente**, v. 14, p.1-10, 2004.

SANTOS, C. A. M. Toxicidade de extratos de *Solanum habrochaites* (solanaceae) para *Anticarsia gemmatalis* (lep: erebidae) e seletividade a *Palmistichus elaeisis* (hym: eulophidae).43f. Dissertação de Mestrado. Pós-Graduação em entomologia. **Universidade Federal de Viçosa**, 2015.

SWARNALATHA, Y.; Gunna, G. K.; Jacob, C. M. Synthesis of alkaloid loaded chitosan nanoparticles for enhancing the anticancer activity in A549 lung cancer cell line .**Der Pharmacia Lettre**, v.7, n.6, p.378-390, 2015.

SCHMIDT-SILVA, V.; Santos, E. K.; Zini, C. A.; Soares, G. L. G. Cytotoxicity of essential oils from two species of *Heterothalamus* (Asteraceae). **Australian Journal of Botany**, v.59, n. 7, p. 682-69, 2011.

SCOPEL, R.; Falcão, M. A.; Lucas, A. M.; Almeida, R. N.; Gandolfi, P. H. K.; Cassel, E.; Vargas, R.M.F. Supercritical Fluid Extraction from *Syzygium aromaticum* Buds: Phase Equilibrium, Mathematical Modeling and Antimicrobial Activity. **Journal Supercritical Fluids**, v.92, p.223-230, 2014.

SEN, S., Yalçın, M.; Taşçıoğlu, C.; Özbayram, A. K. Larvicidal activities of some bark and wood extracts against wood-damaging insects. *Maderas. Ciencia y tecnologia*, v. 19, n. 3, p. 273-284, 2017.

SILVA, C. M.; Bolzan, A. A.; Mallmann, C. A.; Pozzatti, P.; Alves, S. H.; Heinzmann, B. M. Sesquiterpenóides de *Senecio bonariensis* Hook. & Arn., Asteraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 1, p.87-92, 2010.

SILVA, C.; Ribeiro, A.; Ferreira, D.; Veiga, F. Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.39, n.1, 2013.

SILVA(a), G., R. Estudo de formação e estabilidade de nanopartículas de poliácido láctico para liberação controlada de óleo essencial de *Schinus molle* L. 129f Dissertação de Mestrado. Programa de pós-graduação em Ciências e Engenharia de Materiais. **Universidade de São Paulo**, 2015.

SILVA (b), M. C.; Fideles, T. B.; Fook, M. V. L. Esferas de quitosana e quitosana/curcumina pelo método de gelificação ionotrópica: influência da incorporação do fármaco. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 10, n. 11, p.21–28, 2015.

SILVA, E. R.; Ferreira, P. M. A.; Overbeck, G. E.; Soares, G. L. G. Does the phytotoxic shrub *Heterothalamus psiadioides* affect a plant community through allelopathy? **Plant Ecology**, v.216, n. 1, p.87-97, 2015.

SILVA, E. R.; Lazarotto, D. C.; Pawlowski, Â.; Schwambach, J.; Soares, G. L. G. Antioxidant Evaluation of *Baccharis patens* and *Baccharis psiadioides* Essential Oils. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v.21, n.2, p.485–492, 2018.

SUYENAGA, E. S; Apel, M. A.; Chaves, C. G; Zuanazzi, J. A; Henriques, A. T. Essential oil composition of *Heterothalamus psiadioides* Less. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.32, p. 83-86, 2004.

TABANCA, N.; Bernier, U. R.; Tsikolia, M.; Becnel, J. J.; Sampson, B.; Werle, C.; Demirci, B.; Başer *Eupatorium capillifolium* Essential Oil: Chemical Composition, Antifungal Activity, and Insecticidal Activity. **Natural Product Communications**, v. 5, n. 9, p. 1409 – 1415, 2010.

TAGLIARI, M. P. Desenvolvimento de nanopartículas de quitosana e alginato de sódio para incorporação de ácido glicirrízico, ácido salicílico ou cafeína visando

liberação tópica. 229f. Tese de doutorado. Programa de pós-graduação em Farmácia. **Universidade Federal de Santa Catarina**, 2012.

TEIXEIRA, B.; Marques A.; Ramos, C.; Saraiva, J. A.; Nunes, M. L. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. **Industrial Crops and Products**, V. 43, p.587–595. 2013.

TRIPHATI, A. K.; Uphadhyay, S.; Bhuiyan, M.; Battacharya, P. R. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**, v.1, n. 5, p. 52-63, 2009.

ULERY, Bret, D.; Nair, L. S.; Laurencin, C. T. Biomedical Applications of Biodegradable Polymers. **Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics**, v. 49, p. 832–864, 2013.

UMPIÉRREZ, M. L.; Santos, E.; Mendoza, Y.; Altesor, P.; Rossini, C. Essential oil from *Eupatorium buniifolium* leaves as potential varroacide. **Parasitologie Research**, v.112, n. 10, p.3389-400.2013.

VAN VUREEN, S. F.; du Toit, L. C.; Parry, A.; Pillay, V., Choonara, Y. E. Encapsulation of Essential Oils within a Polymeric Liposomal Formulation for Enhancement of Antimicrobial Efficacy. **Natural Product Communications**, v.5, n.9, p.1401-140, 2010.

VIEIRA, G. H. C.; Andrade, W. P.; Nascimento, D. M. Avaliação in vitro da eficácia do óleo essencial do alecrim pimenta (*Lippia sidoides*) no combate a varroase em *Apis mellifera*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, n. 3, p. 317-322, 2012.

VILLANOVA, J. C. O. Oréface, R. L; Cunha, A. S. Aplicações Farmacêuticas de Polímeros. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 20, n.1, p. 51-64, 2010.

VONGCHAN, P.; Sajomsang, W.; Subyen, D.; Kongtawelert, P. Anticoagulant activity of a sulfated chitosan. **Carbohydrate Research**, v.337, n.13, p. 1239-1242, 2002.

WANG, L.; Weller, C. L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. **Trends in Food Science & Technology**, v.17, n. 6, p. 300-312, 2006.

XAVIER, V. B., Investigação sobre compostos voláteis de espécies de Baccharis nativas do Rio Grande do Sul. 2011. 104 f. Dissertação de Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais. Faculdade de Engenharia. **Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre.

YOGESHKUMAR, G.; Vikram, S.; Abhimanyu, B.; Adhikrao, Y. Stability enhancement of aloe-gel by formulating polyelectrolyte complex Beads. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 2, p. 66-69, 2010.

YOKSAN, R.; Jirawutthiwongchai, J., Arpo, K. Encapsulation of ascorbyl palmitate in chitosan nanoparticles by oil-in-water emulsion and ionic gelation processes. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 76, p.292–297, 2010.

ZHANG, J.; Zhang, W.; Mamadouba, B.; Xia, W. A comparative study on hypolipidemic activities of high and low molecular weight chitosan in rats. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.51, n. 4, p. 504-508, 2012.

ZOUBIRI, S.; Baaliouamer, A. Potentiality of plants as source of insecticide principles. **Journal of Saudi Chemical Society**, v.18, p.925–938, 2014.



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
Pró-Reitoria de Graduação
Av. Ipiranga, 6681 - Prédio 1 - 3º. andar
Porto Alegre - RS - Brasil
Fone: (51) 3320-3500 - Fax: (51) 3339-1564
E-mail: prograd@pucrs.br
Site: www.pucrs.br