

CAIQUE DUARTE BATISTA

**AVALIAÇÃO DE FORMULAÇÕES NANOENCAPSULADAS DE ÓLEO
ESSENCIAL DE ALECRIM-PIMENTA *Lippia origanoides* KUNTH
(VERBENACEAE) E MORTALIDADE SOBRE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH)
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

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

Orientador: Angelo Pallini

Coorientador: Patrik Luiz Pastori

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

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

T

B333a
2022
Batista, Caique Duarte, 1996-
Avaliação de formulações nanoencapsuladas de óleo
essencial de alecrim-pimenta *Lippia origanoides* Kunth
(Verbenaceae) e mortalidade sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E.
Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) / Caique Duarte Batista. –
Viçosa, MG, 2022.

1 dissertação eletrônica (29 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Ângelo Pallini Filho.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Entomologia, 2022.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.656>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Lagarta-do-cartucho - Controle. 2. Nanotecnologia.
3. Essências e óleos essenciais . 4. *Lippia origanoides*. I. Pallini
Filho, Ângelo, 1965-. II. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Entomologia. Programa de Pós-Graduação em
Defesa Sanitária Vegetal. III. Título.

CDD 22. ed. 595.78

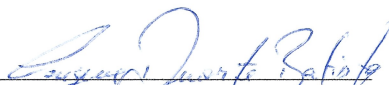
CAIQUE DUARTE BATISTA

**AVALIAÇÃO DE FORMULAÇÕES NANOENCAPSULADAS DE ÓLEO
ESSENCIAL DE ALECRIM-PIMENTA *Lippia origanoides* KUNTH
(VERBENACEAE) E MORTALIDADE SOBRE *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH)
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

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

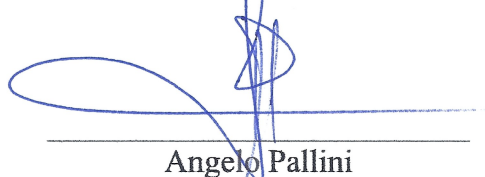
APROVADA: 05 de agosto de 2022

Assentimento:



Caique Duarte Batista

Autor



Angelo Pallini
Orientador

A meus pais, a minha esposa,
familiares e amigos que estão
sempre juntos em minha
caminhada.

AGRADECIMENTOS

A meus pais por todo o esforço e apoio na minha caminhada profissional e pessoal que me permitiu chegar até aqui com êxito.

A minha esposa Alícia Monteiro por apoiar na realização de todos os meus sonhos e contribuir com seu cuidado para a realização deles.

Ao meu orientador Patrik Luís Pastori por todo seu empenho e dedicação, abrindo todas as portas necessárias, sem medir esforços para a concretização desse trabalho.

Ao meu orientador Ângelo Pallini pela orientação e conselhos.

À Deyse de Sousa Maya por todo o auxílio na realização deste trabalho, disponibilizando o seu tempo e seu conhecimento para a construção deste projeto

Ao meu amigo Mateus Mielli por toda a troca de conhecimento e ajuda nesse processo de conclusão desse mestrado.

À empresa Agropaulo Agroindustrial na pessoa do Dr. Paulo Campos Telles Neto pela confiança e pela concessão da bolsa de estudos que permitiu a conclusão desse mestrado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

BATISTA, Caíque Duarte, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, outubro de 2022. **Avaliação de formulações nanoencapsuladas de óleo essencial de alecrim-pimenta *Lippia origanoides* kunth (verbenaceae) e mortalidade sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae).** Orientador: Ângelo Pallini. Coorientador: Patrik Luiz Pastori.

Os óleos essenciais extraídos de plantas têm sido amplamente estudados como potencial ferramenta para o controle de diversas pragas de importância econômica. Por apresentarem grande variedade de compostos químicos, podem ser utilizados individualmente ou combinados, aumentando seu espectro de ação. O custo de produção dos óleos é, porém, um fator limitante para a expansão do uso. Por outro lado, a nanotecnologia tem sido aplicada visando potencializar o efeito de ingredientes ativos em diversos tipos de formulações. Neste sentido, o presente trabalho teve por objetivo selecionar uma nanoformulação do óleo essencial de alecrim-pimenta *Lippia origanoides* Kunth (Verbenaceae) e estimar seu potencial larvicida sobre a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Para tanto, foram realizados testes para seleção de uma nanoformulação e, posteriormente comparadas cinco concentrações do óleo essencial *in natura* ou em nanoformulação (0,125; 0,25; 0,5; 1,0 e; 2,0%) além da testemunha negativa (2,0% de detergente neutro). O estudo visando determinar a mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado com 11 tratamentos e cinco repetições. Cada repetição foi constituída por 10 larvas de 3º instar de *S. frugiperda* individualizadas em tubos de vidro (1,5 x 10 cm) e alimentadas com dieta artificial. A goma guar foi utilizada como agente nanoencapsulante e, após análise do tamanho médio de partícula das formulações, foi escolhida a de menor diâmetro para o utilização no ensaio sobre o alvo biológico. A análise cromatográfica do óleo permitiu constatar a presença dos compostos majoritários do óleo de alecrim-pimenta que possuem ação inseticida, tais como 42,22% de Timol e 8,82% de Carvacrol. Após 12h da aplicação, o óleo *in natura* causou 86,0% de mortalidade e o nanoformulado, 14%. Os resultados referentes à mortalidade de *S. frugiperda* demonstram que a formulação nanoencapsulada utilizando goma aguar, apesar de apresentar características químicas adequadas, inibiu a ação dos princípios ativos do óleo essencial de alecrim-pimenta. Os resultados obtidos indicam a necessidade de novos estudos, utilizando-se outros agentes nanoencapsulantes visando viabilizar uma nanoformulação

que melhore o desempenho do óleo essencial de alecrim-pimenta visando causar mortalidade das lagartas de *S. frugiperda*.

Palavras-chave: Nanotecnologia. Óleos essenciais. *Lippia origanoides*. Lagarta-do-cartucho. Controle alternativo.

ABSTRACT

BATISTA, Caíque Duarte, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, October, 2022. **Avaliation of nanoencapsulated formuations of essential oil of alecrim-pimenta *lippia organoides kunth* (verbenaceae) and mortality on *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae).** Adviser: Ângelo Pallini. Co-adviser: Patrik Luiz Pastori.

Essential tools extracted from plants have been widely studied as potential for controlling diverse crops of economic importance. As they present a wide variety of chemical compounds, they can be used individually or in combination, increasing the spectrum. The cost of producing the oils is, however, a limiting factor for the expansion of use. On the other hand, nanotechnology has been applied to enhance the effects of actives in different types of formulations. In this sense, the present work aimed to select a nanoformulation of the essential oil of pepper rosemary *Lippia organoides* Kunth (Verbenaceae) and to estimate its larvicidal potential on the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). For that, they were carried out for selection in a nanoformulation and, in addition, for a selection of a nanoformulation; 0.20 is essential in a nanoformulation; (2.0% neutral detergent). The study will determine a caterpillar mortality. Each repetition consisted of 10 3rd instar larvae of *S. frugiperda* individualized in glass tubes (1.5 x 10 cm) and fed an artificial diet. Guar gum was used as a nanoencapsulated agent and, after analyzing the average size of the formulations, the smallest diameter was chosen for use in the assay on the biological target. The chromatographic analysis of the essential oil and verify the presence of the components of the rosemary-piment oil that have insecticide, such as 42.22% of Thymol and 8.82% of Carvacrol. After 12 hours, the natural base oil 86.0% and the nanoformulated 14%. The appeals to the mortality of *S. frugiper* that a nanoencapsulated formulation will use the most, although presenting the characteristics of calculated change, inhibited the actives of the essential actives of rosemary-pepper. The results indicate a need for studies, using other nanoencapsulating agents enabling a nanoformulation that improves the performance of rosemary essential oil to cause the death of *S. frugiperda* caterpillars.

Keywords: Nanotechnology. Essencial oils. *Lippia organoides*. Fall armyworm. Alternative control.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Desenho esquemático do processo produtivo de óleo essencial pelo método de arraste a vapor em escala industrial.....	14
Figura 2. Ultrassom modelo W-450 D (Sonifier®) utilizado para homogeneização da formulação e nanoencapsulamento do óleo essencial de alecrim-pimenta.....	17
Figura 3 - Formulação F1 selecionada para a realização do bioensaio com diâmetro médio de partículas de 230,8 nm.....	17
Figura 4. Distribuição de tamanho de partícula para as nanoformulações de óleo de alecrim-pimenta.....	21
Figura 5. Mortalidade de lagartas de 3º instar de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) 12 (A), 24 (B) e 48h (C) após aplicação dos tratamentos com óleo essencial de alecrim-pimenta <i>in natura</i> ou em nanoformulação.....	23
Figura 6. Mortalidade média de lagartas de 3º instar de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) após aplicação de doses do óleo essencial de alecrim-pimenta <i>in natura</i> ou em nanoformulação.....	24

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Rampa de aquecimento para separação dos componentes do óleo essencial de alecrim-pimenta, *Lippia sidoides* Kunth (Verbenaceae) 15
- Tabela 2. Abundância relativa dos compostos constituintes do óleo de alecrim-pimenta 15

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. JUSTIFICATIVA	12
3. OBJETIVO GERAL	13
4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
5. MATERIAL E MÉTODOS	13
5.1. Obtenção do óleo essencial de alecrim-pimenta <i>L. sidoides</i>	13
5.2. Identificação dos compostos constituintes do óleo essencial de alecrim-pimenta	14
5.3. Criação da lagarta-do-cartucho, <i>S. frugiperda</i>	16
5.4. Obtenção da nanoemulsão	16
5.4.1. Preparo da nanoemulsão	16
5.4.2. Determinação do tamanho de partícula e índice de polidispersão	18
5.4.3. Estabilidade da formulação	18
5.5. Teste das formulações - Desenvolvimento experimental	18
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
6.1. Determinação dos parâmetros das nanoemulsões	19
6.2. Ensaio - mortalidade larval de <i>S. frugiperda</i>	22
7. CONCLUSÕES	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

1. INTRODUÇÃO

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), é um inseto-praga que se destaca por seu elevado potencial biótico e ampla distribuição geográfica. Esta praga invadiu, recentemente, o continente africano e já está presente em 40 dos 54 países (FAO, 2018). No Brasil, ocorre em todas as regiões do país e, consolidou-se como a praga de maior importância na cultura do milho *Zea mays* L. podendo ocasionar perdas de até 55% na produtividade (CRUZ, 1995; GOERGEN *et al.*, 2016).

Para manter a lagarta-do-cartucho em níveis abaixo do de dano econômico, a principal estratégia adotada ainda é o uso de inseticidas químicos (CARVALHO *et al.*, 2018). No Brasil, existem mais de 220 produtos registrados para o controle desta praga-alvo somente na cultura do milho (AGROFIT, 2021). O uso indiscriminado destes produtos em altas dosagens e a alta frequência de aplicações têm levado à seleção de indivíduos resistentes a diversos grupos químicos, além dos riscos à saúde humana e possíveis impactos ambientais (DIEZ-RODRIGUEZ *et al.*, 2001; MORILLO *et al.*, 2001; YU *et al.*, 2003; BATISTA *et al.*, 2019). Diante deste cenário, outras estratégias como o uso de produtos alternativos à base de óleos essenciais têm sido fomentadas para ampliar as possibilidades de manejo da lagarta-do-cartucho (FAZOLIN *et al.*, 2005; ESTRELA *et al.*, 2006; SOMBRA *et al.*, 2020).

Os óleos essenciais são substâncias produzidas pelas plantas por vias de metabolização secundária que auxiliam na adaptação do vegetal às condições ambientais no qual está inserido (VIZZOTTO *et al.*, 2010). Em sua composição, estão presentes diversos compostos químicos, como aromáticos, alcaloides e acetatos conferindo propriedades repelentes e inseticidas que conferem vantagem de sobrevivência às plantas (DE MORAIS, 2009). A partir deste conhecimento, os óleos essenciais têm sido amplamente explorados como ingrediente ativo para fabricação de pesticidas orgânicos de baixo impacto ambiental (FAZOLIN *et al.*, 2005; ESTRELA *et al.*, 2006; SANTOS *et al.*, 2010; SOMBRA *et al.*, 2020).

Embora muitas das pesquisas comprovem a ação dos óleos essenciais sobre diferentes pragas, poucos são os produtos comerciais existentes à base desses ingredientes ativos conforme pode ser consultado em AGROFIT (2021). A maioria dos óleos essenciais possui alto valor agregado e elevado custo de produção e por este motivo, as dosagens necessárias para obter o controle eficiente das pragas torna-os economicamente inviáveis. Pesquisas utilizando o óleo essencial de alecrim-pimenta *Lippia sidoides* Kunth (Verbenaceae) têm demonstrado potencial no controle da lagarta-do-cartucho, *S. frugiperda* (COSTA *et al.*, 2011; SOMBRA *et al.* 2020). Esta planta é nativa do Brasil e produz um óleo essencial

composto majoritariamente por monoterpenos como o timol e carvacrol, ambos compostos com atividade inseticida e antimicrobiana comprovada (REGNAULT-ROGER *et al.*, 2012). Os monoterpenos são compostos aromáticos de alta volatilidade e fotossensibilidade (CAMPOS *et al.*, 2019) e, na presença de luz, estes compostos podem ser oxidados, já sob altas temperaturas, rapidamente são volatilizados (SAXENA *et al.*, 2018). Características como essas, dificultam o uso do óleo essencial de alecrim-pimenta para formulação de defensivos.

Diante dos desafios para efetivamente utilizar os óleos essenciais como inseticidas, torna-se necessário buscar meios para melhorar a aplicação e tornar a liberação das moléculas dos óleos essenciais mais eficiente, explorando mecanismos que permitam a adoção de doses reduzidas que sejam capazes de causar mortalidade e, conseqüentemente controle das pragas. Neste sentido, surgem ferramentas como a nanotecnologia para gerar uma formulação de emulsões mais estável (DOS REIS, 2017; PEREIRA *et al.*, 2017).

O nanoencapsulamento é uma realidade na indústria farmacêutica para fabricação de medicamentos de liberação controlada (OSES, 2016; RABELO, 2010; RAMOS *et al.*, 2006). No âmbito agrícola, estudos apontam para a possibilidade de uso das nanoformulações para proteção do princípio ativo contido no produto evitando a rápida degradação da molécula pela ação dos raios UV e aumentando a persistência do ativo no ambiente (DOS REIS, 2017; PEREIRA *et al.*, 2017). Além deste fator, as nanoemulsões possuem altíssima superfície específica, aumentando a interação do produto com a superfície do organismo e também da superfície foliar (SILVA *et al.*, 2006).

Nesta perspectiva, o trabalho teve por objetivo comparar o potencial larvicida do óleo essencial de alecrim-pimenta, *L. origanoides* nanoencapsulado, sobre a lagarta-do-cartucho *S. frugiperda*.

2. JUSTIFICATIVA

Diversas pesquisas acerca da efetividade dos óleos essenciais para o controle de pragas de interesse agrícola têm demonstrado resultados positivos. Porém, um aspecto fundamental que costuma ser deixado de lado é a elevada dose necessária para controle, o que pode inviabilizar a comercialização de possíveis novos pesticidas. Sendo assim, o nanoencapsulamento dos óleos essenciais é uma possibilidade para aumentar o potencial de interação dos seus ativos com os alvos biológicos. Esta estratégia pode permitir a redução da

quantidade de ingrediente ativo usada, mantendo a eficiência de controle sobre a praga. Para confirmação ou não desta hipótese, será apresentado o resultado de um estudo comparativo de mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* usando o óleo essencial de alecrim-pimenta nanoencapsulado e *in natura*.

3. OBJETIVO GERAL

Selecionar uma nanoformulação à base do óleo essencial de *Lippia sidoides* Kunth (Verbenaceae) e determinar a mortalidade sobre lagartas de *S. frugiperda*.

4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Desenvolver uma nanoformulação para viabilizar a aplicação do óleo de alecrim-pimenta.
2. Estimar a mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* tratadas com o óleo essencial de alecrim-pimenta em seu uso *in natura* ou em nanoformulação.

5. MATERIAL E MÉTODOS

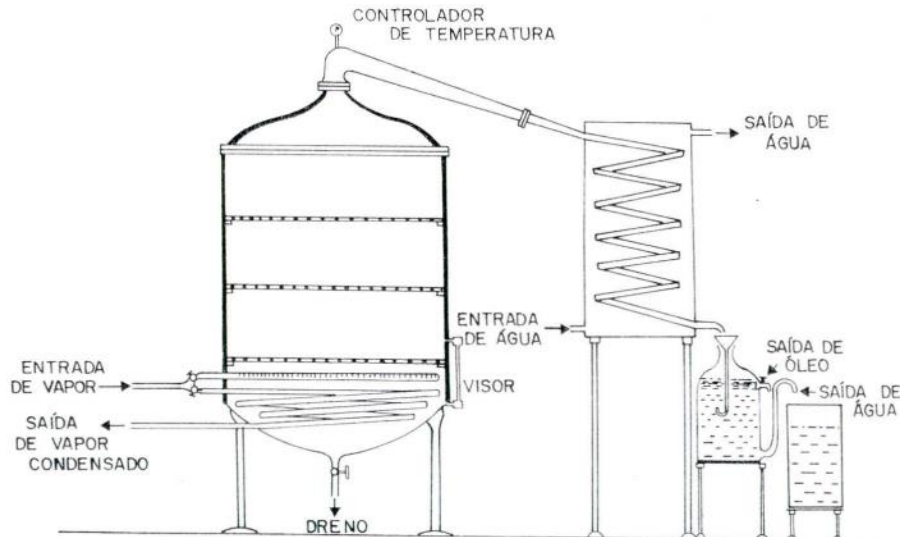
5.1 Obtenção do óleo essencial de alecrim-pimenta *L. sidoides*

O óleo essencial de alecrim-pimenta foi obtido a partir da coleta de ramos de plantas adultas oriundas do plantio comercial da empresa Agropaulo Agroindustrial S/A situada na cidade de Jaguaruana-CE (Latitude: 4° 49' 51" S, 37° 46' 54" W). A cultura é cultivada em sistema orgânico certificado pelo IBD desde 2016. Para este experimento, foram colhidos 40 Kg de material vegetal de plantas com 6 meses de idade, resultando na produção de 1200 mL de óleo (3% de rendimento médio), volume suficiente para realização dos ensaios.

O método empregado para extração do óleo essencial foi o arraste a vapor em escala industrial (KOKETSU, 1991) (Figura 1). Neste método, foram utilizados 40 Kg de material vegetal fresco para 100 L de vapor de água. Os ramos de alecrim-pimenta foram depositados no interior de cestos de aço inox acondicionados em painéis de aço inox hermeticamente

fechadas. A extração ocorreu a 100°C e 1kg.f^{-1} de pressão de trabalho dentro dos extratores. Ao final do processo, o óleo foi separado da água por diferença de densidade em recipientes de decantação.

Figura 1 - Desenho esquemático do processo produtivo de óleo essencial pelo método de arraste a vapor em escala industrial



Fonte: KOKETSU, M.; GONÇALVES, L.S. Óleos essenciais e sua extração por arraste a vapor. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, 1991. 11p.

5.2 Identificação dos compostos constituintes do óleo essencial de alecrim-pimenta

O óleo essencial obtido foi submetido à análise de cromatográfica gasosa (GC) para identificação dos compostos majoritários presentes no óleo. Para a análise foi utilizado um cromatógrafo a gás (ISQ-QD) acoplado a um espectrômetro de massa do modelo TRACE 1300, com coluna capilar apolar (GC NOVA-5 MS - 30m x 0,25mm x 0,25 μm), tendo hélio como gás de arraste com fluxo de 1 ml/min.

A amostra de 10 μl foi pesada e diluída no solvente hexano na proporção 1:100 e 1 μl desta solução foi inserido no equipamento para leitura. A amostra foi analisada utilizando a rampa de aquecimento para separação dos compostos (Tabela 1).

Tabela 1 - Rampa de aquecimento para separação dos componentes do óleo essencial de alecrim-pimenta, *Lippia sidoides* Kunth (Verbenaceae)

Temperatura (C°)	Taxa de aquecimento (C°/min)	Permanência (min)
50	0	1
60	10	2
80	3	1
100	3	2
150	3	0
300	50	0

Fonte: Autoria própria.

A análise de cromatografia gasosa identificou 14 compostos constituintes do óleo essencial de alecrim-pimenta referente ao lote de produção (L: 20009) utilizado no ensaio (Tabela 2). Dentre os compostos identificados, destacou-se o Thymol, com abrangência relativa de 42,44% em relação aos demais componentes. Outros constituintes também destacaram-se tais como o p-cymene, caryophyllene, γ -terpinene e o carvacrol com abundância relativa de 17,95; 9,78; 9,03 e; 8,84% respectivamente (Tabela 2).

Os monoterpenos thymol [2-isopropil-5-metil-fenol) e carvacrol (2-metil5-(1-metiletil)-fenol] possuem ação antimicrobiana e potencial larvicida, ovicida e antifedante sobre diversos artrópodes-praga, tais como a mosca-branca *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleyrodidae) e a lagarta-do-cartucho *S. frugiperda* (SILVA, 2018; SOMBRA *et al.*, 2020).

Tabela 2 - Abundância relativa dos compostos constituintes do óleo de alecrim-pimenta

Pico	Nome do composto	Área relativa (%)
1	Pinene<alpha>	0.88
2	Thujene<alpha>	2.16
3	Myrcene	1.80
4	Terpinene<alpha>	2.47
5	P-cymene	17.95
6	Limonene	0.58
7	1.8-Cineole	1.53
8	Terpinene<gamma>	9.03
9	Thymol methyl ether	1.70
10	Thymol	42.22
11	Carvacrol	8.84
12	Copaene<alpha>	0.70
13	Caryophyllene(E)	9.78
14	Humulene<alpha>	0.39

Fonte: Autoria própria.

5.3 Criação da lagarta-do-cartucho, *S. frugiperda*

Os insetos foram mantidos no Laboratório de Entomologia Agrícola e Fitopatologia (LEAF) da empresa Agropaulo Agroindustrial S/A. A criação foi estabelecida a partir de 150 lagartas coletadas nos campos produtivos de milho nas áreas de produção comercial da empresa. As lagartas foram alimentadas com dieta artificial (Greene et al., 1976). Os adultos foram mantidos no interior de gaiolas PVC com 100 mm de diâmetro e 40 cm de altura revestidas com papel sulfite que serviu de substrato para oviposição. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 10%. Os ovos foram coletados diariamente e armazenados em placas de Petri (9 cm de diâmetro) até a emergência das lagartas, que foram transferidas para tubos de vidro (12 cm x 1,5 cm) contendo dieta artificial. A criação foi mantida em ambiente controlado a $26 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa $65 \pm 2\%$ e fotofase de 14h (BUSATO et al., 2006; SOUZA et al., 2001).

5.4 Obtenção da nanoemulsão

5.4.1 Preparo da nanoemulsão

Foram preparadas três formulações, com variações no tipo de tensoativo. Para o preparo das nanoemulsões, foi utilizada a técnica de homogeneização por ultrassom (Figura 2). O sistema de ultrassom é um método que consiste em produzir ondas de intensas vibrações ultrassônicas que rompem as gotículas primárias da emulsão, sendo considerada uma técnica eficiente e rápida para formar nanoemulsões estáveis (BRUXEL et al., 2012).

A formulação 1 (F1) foi constituída por 0,5% (m/m) de goma guar e 70,5% (m/m) de água deionizada. Após a solubilização da goma guar, adicionou-se 2,0% (m/m) de tensoativo Span 20, e 2,0% (m/m) de Span 80 e 25,0% (m/m) de óleo de alecrim-pimenta (Figura 3). As formulações 2 (F2) e 3 (F3) foram constituídas pelas mesmas concentrações de goma guar, água, tensoativos e alecrim-pimenta, diferindo o tensoativo utilizado, sendo 2,0% (m/m) de Tween 80 e 2,0% (m/m) de Span 20 para a formulação 2, e 4,0% (m/m) de Tween 80 para a formulação 3.

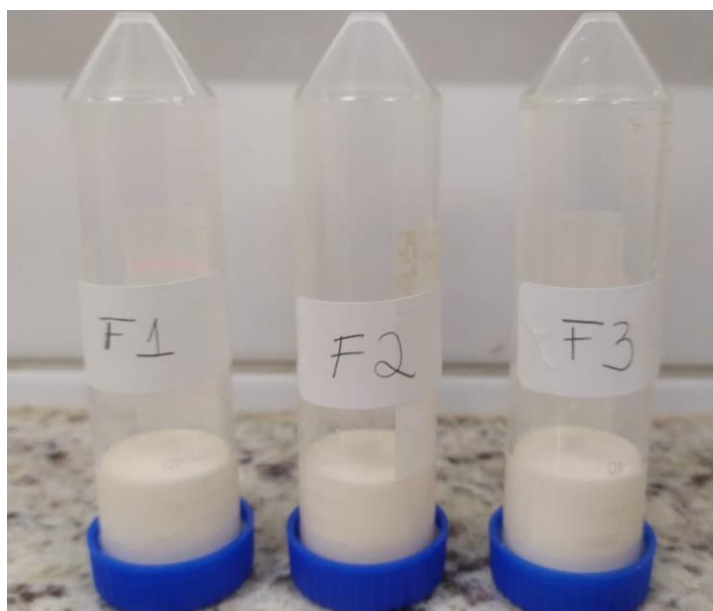
Em seguida, as formulações foram sonicadas em um ultrassom (modelo W-450D Branson Sonifier®) (Figura 2) com amplitude de 70,0% por 2 min (15 on/ 10 off).

Figura 2 - Ultrassom modelo W-450 D (Sonifier®) utilizado para homogeneização da formulação e nanoencapsulamento do óleo essencial de alecrim-pimenta



Fonte: Autoria própria.

Figura 3 - Formulação F1 selecionada para a realização do bioensaio com diâmetro médio de partículas de 230,8 nm



Fonte: Autoria própria

5.4.2 Determinação do tamanho de partícula e índice de polidispersão

As análises foram realizadas utilizando um aparelho medidor de tamanho de partículas modelo Zetasizer Nano ZS90 (Malvern®), que determina o tamanho de partícula de nanoestruturas por espalhamento de luz dinâmica (DLS - Dynamic Light Scattering) e o índice de polidispersão (IPD). A análise foi realizada em meio líquido, medindo-se o volume hidrodinâmico das partículas atribuindo-se o formato esférico. As nanoemulsões foram diluídas em água deionizada na proporção 1:1000 (v/v) (nanoemulsão: H₂O) e analisadas em ângulo fixo de 90° a 25°C. O diâmetro médio das nanopartículas foi dado pela medida de três determinações. O índice de polidispersão refere-se à distribuição de tamanho, o qual também foi expresso como média de três determinações.

5.4.3 Estabilidade da formulação

A estabilidade física das nanoemulsões foi avaliada no medidor de tamanho de partículas modelo Zetasizer Nano ZS90 (Malvern®) utilizando a carga de superfície das nanoemulsões. As análises foram realizadas diluindo-se as dispersões em água deionizada na proporção 1:1000 (v/v) (nanoemulsão: H₂O) e os resultados expressos como médias de três determinações.

5.5 Teste das formulações - Desenvolvimento experimental

O bioensaio foi realizado utilizando delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) e avaliou-se a letalidade do óleo essencial de alecrim-pimenta *L. sidoides* em uma formulação nanoencapsulada (melhor resultado obtido na etapa anterior) nas dosagens de 0,125; 0,25; 0,5; 1,0 e 2,0% de óleo essencial em calda. As mesmas concentrações foram utilizadas para o óleo essencial *in natura* para efeito de comparação. Para preparo das diluições com o óleo essencial *in natura*, foi utilizado detergente neutro como emulsificante na proporção de 1:1 na mistura óleo:detergente.

As dosagens foram estabelecidas mediante ensaios preliminares realizados avaliando-se a letalidade do óleo *in natura* sobre as larvas de 3° instar de *S. frugiperda*. Neste ensaio foram utilizadas 10 larvas de 3° instar de *S. frugiperda* por parcela em 5 repetições por

tratamento. A uniformização da idade das larvas foi realizada por meio da observação da largura da cápsula cefálica (CAPINERA, 2002). As larvas foram separadas em grupos de 5 e agrupadas em placas de Petri (9 cm de diâmetro) e os tratamentos foram aplicados sobre a área da placa utilizando-se um aerógrafo com vazão proporcional a 200L/ha (BELLON *et al.*, 2010). A verificação da mortalidade foi realizada 12, 24 e 48h após aplicação dos tratamentos e, os insetos que não apresentaram movimentação mesmo após estímulo mecânico de um pincel de cerdas finas, foram contabilizados como mortos. Na testemunha foi utilizada água e detergente neutro na concentração de 2,0%.

Os dados de mortalidade foram corrigidos pela mortalidade da testemunha conforme Abbott (1925):

$$\%M = \frac{NLMT}{NTLT} \times 100$$

Onde:

%M= Percentual de mortalidade;

NLMT= Número de lagartas mortas no tratamento;

NTLT= Número total de lagartas no tratamento

$$Mc (\%) = \frac{\%Mo - \%Mt}{100 - \%Mt} \times 100$$

Mc (%)= Percentual de mortalidade corrigida;

%Mo= Percentual de mortalidade observada;

Mt= Mortalidade da testemunha.

As médias foram submetidas a análise de regressão. Os modelos foram escolhidos baseados na significância dos parâmetros da regressão, utilizando-se o teste "t", pelo coeficiente de determinação (R^2) e pelo fenômeno estudado. As análises estatísticas foram processadas utilizando-se o software SISVAR (FERREIRA, 2014).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Determinação dos parâmetros das nanoemulsões

A nanoformulação 1 (F1) apresentou índice de polidispersão de $0,154 \pm 0,02$ e, diâmetro médio de $230,8 \pm 3,9$ nm (Figura 5a). Para a nanoformulação 2 (F2) o índice de

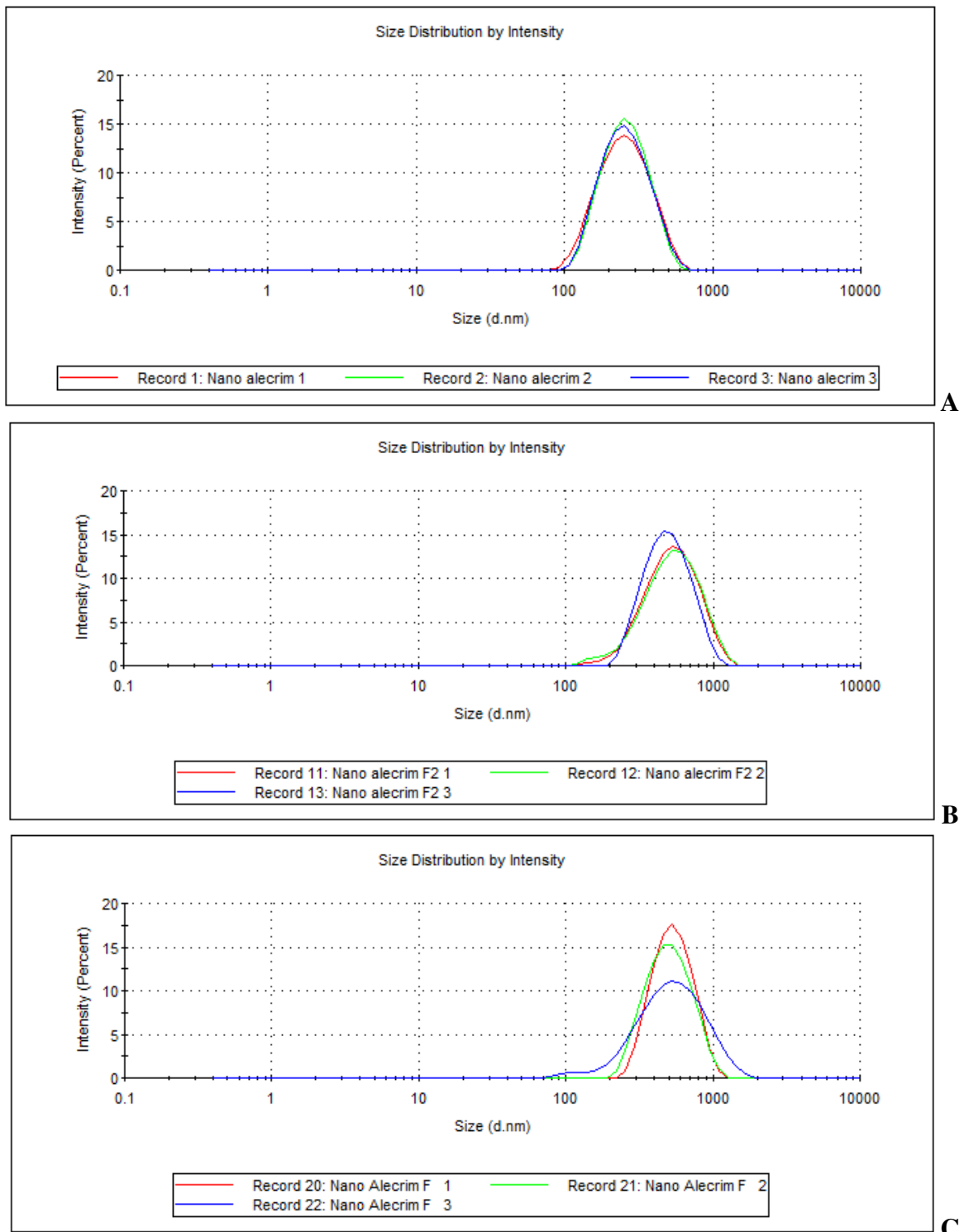
polidispersão foi de $0,148 \pm 0,01$ e o diâmetro médio foi de $473,2 \pm 3,4$ nm (Figura 5b). A nanoformulação 3 (F3) apresentou índice de polidispersão de $0,186 \pm 0,03$ e diâmetro médio de $457,0 \pm 12,4$ nm (Figura 5c). Constatou-se que a nanoformulação 1 apresentou, portanto, menor diâmetro médio, utilizando-se os tensoativos: Span 20 (HLB= 8,6) e Span 80 (HLB= 4,3). Estes tensoativos geralmente apresentam valores de HLB inferiores aos do Tween 80 (HLB= 15,0).

A estabilidade das emulsões se deve, principalmente, ao uso dos tensoativos, classe de substâncias caracterizadas pela sua natureza anfifílica, cujas moléculas são formadas por grupamentos hidrofílicos e lipofílicos capazes de reduzir a tensão interfacial entre duas fases imiscíveis (DALTIM, 2011). O valor de HLB (balanço hidrofílico-lipofílico) mostra a interação das partes lipofílica e hidrofílica de uma molécula anfifílica (que possui parte hidrofílica e lipofílica). Assim, os surfactantes possuem valores de HLB entre 0 e 20, onde 0 é solúvel em óleo e 20, em água. Isso indica que, possivelmente, a ação do tensoativo tenha sido favorável para formação de uma nanoemulsão com menor diâmetro médio. A escolha do tensoativo e sua concentração são fatores que impactam na estabilidade das dispersões formadas (MEHNERT e MADER, 2012).

O índice de polidispersão (PDI) sugere a homogeneidade da amostra e, quanto menor o valor, preferencialmente $\leq 0,2$, maior o grau de homogeneidade. As amostras testadas apresentaram valores de PDI próximos à faixa aceitável (SPAREMBERGE *et al.*, 2013).

A utilização da goma guar apresentou bons resultados quando comparadas as análises dos parâmetros de polidispersão e tamanho de partículas para o nanoencapsulamento do óleo essencial de alecrim-pimenta (Figura 5abc). No entanto, diferentes agentes nanoencapsulantes podem exprimir diferentes resultados a partir do mesmo princípio ativo, demonstrando a necessidade de novos ensaios com óleo essencial de alecrim-pimenta com novas matrizes de nanoencapsulamento (ZORNIO *et al.*, 2010).

Figura 4 - Distribuição de tamanho de partícula para as nanoformulações de óleo de alecrim-pimenta



Fonte: Autoria própria

6.2 Ensaio - mortalidade larval de *S. frugiperda*

O óleo de alecrim-pimenta *in natura* apresentou maior capacidade de causar mortalidade sobre larvas de 3º instar da lagarta-do-cartucho quando comparado ao seu uso na nanoformulação 1, selecionada no ensaio anterior (Figura 5). O óleo *in natura* causou 100,0% de mortalidade larval na concentração 2,0% em 12h enquanto o óleo em nanoformulação alcançou somente 16,0% (Figura 6). A ação inseticida do óleo de alecrim-pimenta, apresenta seu maior potencial logo nas primeiras horas após a aplicação, visto que houve baixa variação entre os intervalos de aplicação (Figura 6). Esse mesmo comportamento da ação do óleo de alecrim-pimenta em seu uso *in natura* sobre *S. frugiperda* foi relatado por Sombra *et al.* (2020).

A baixa eficiência da formulação nanoencapsulada pode estar relacionada, principalmente, à baixa taxa de liberação do ingrediente ativo, visto que o nanoencapsulamento, à medida que protege os compostos da possível degradação, também limita ou controla a sua liberação (JARDIM, 2013). O óleo de alecrim-pimenta geralmente tem maior ação sobre insetos-praga quando aplicado por contato (SOMBRA *et al.*, 2020), por isso precisa que seus ativos estejam prontamente disponíveis nas primeiras horas após a aplicação, visto que o efeito não depende de ação acumulativa no organismo-alvo. O óleo de Neem, que age por ingestão, causou mortalidade da lagarta-do-cartucho 7 dias após o início da ingestão de folhas contaminadas com o óleo, apresentando caráter acumulativo no organismo dos insetos (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

Figura 5. Mortalidade de lagartas de 3º instar de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) 12 (A), 24 (B) e 48h (C) após aplicação dos tratamentos com óleo essencial de alecrim-pimenta *in natura* ou em nanoformulação

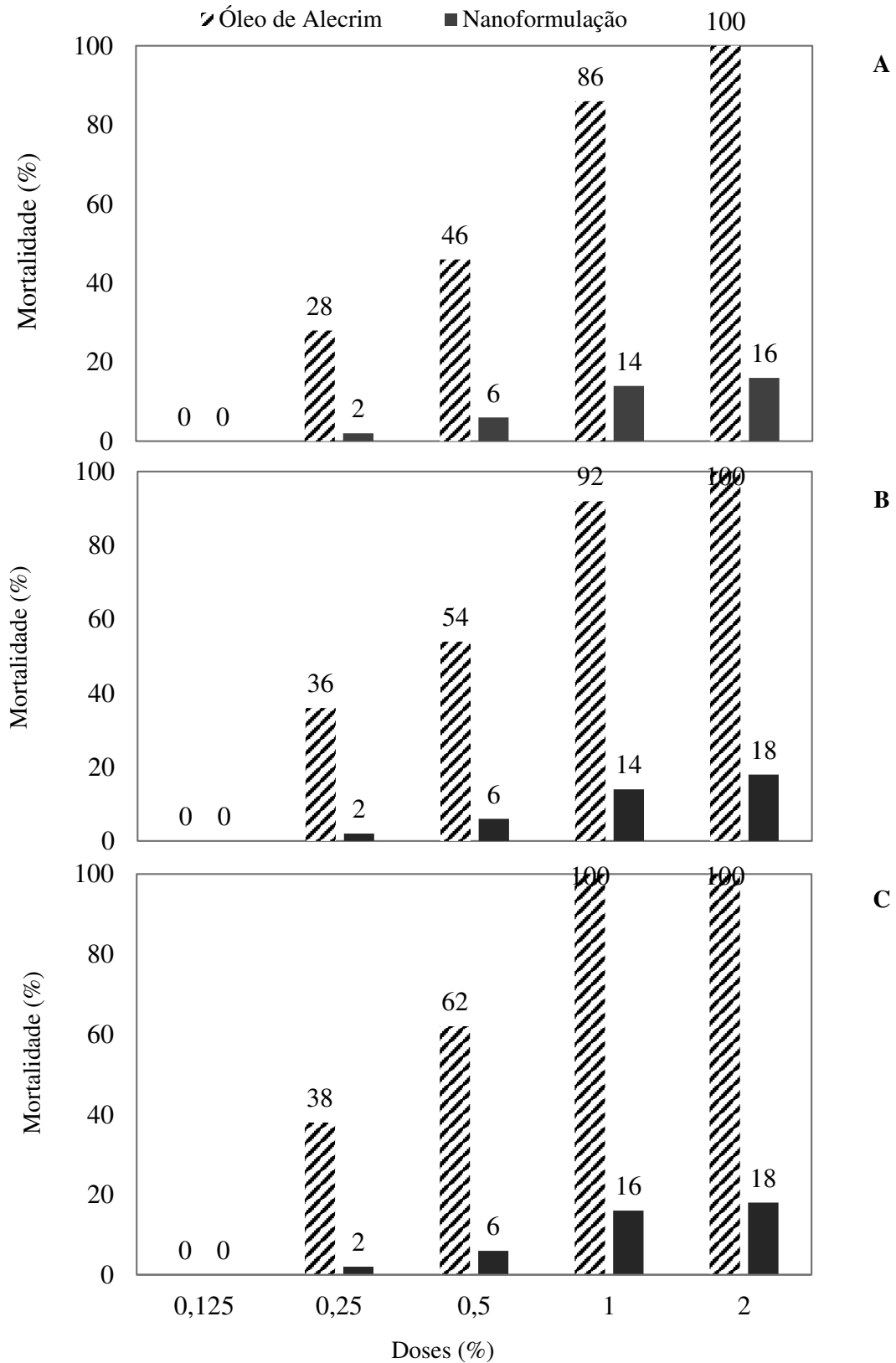
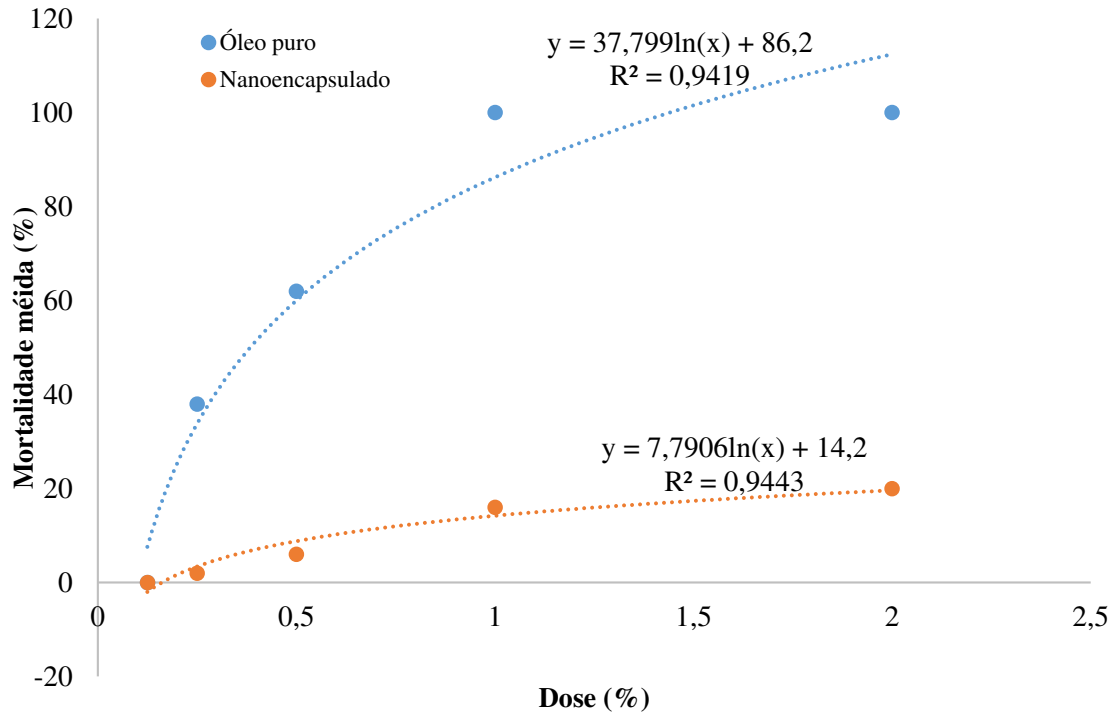


Figura 6. Mortalidade média de lagartas de 3º instar de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) após aplicação de doses do óleo essencial de alecrim-pimenta *in natura* ou em nanoformulação



7. CONCLUSÕES

O nanoencapsulamento do óleo essencial de alecrim-pimenta é possível utilizando goma guar como agente nanoencapsulante pelo processo de sonicação em ultrassom.

A nanoformulação apresentou estabilidade e homogeneidade utilizando-se goma guar como matriz de encapsulamento.

A nanoemulsão do óleo de alecrim-pimenta a partir da goma guar não resultou no incremento de eficiência no controle de *S. frugiperda* quando se avaliou o parâmetro de mortalidade de larvas de 3º instar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT. **Consulta aberta.**

2018<https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 01 de dezembro 2021.

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, p. 265-266, 1925.

BATISTA, C. D. **Conhecimentos sobre segurança no trabalho e o uso de ferramentas de Manejo Integrado de Pragas por produtores rurais da região da Serra da Ibiapaba-Ceará.** 2019. Monografia (Entomologia agrícola) - Curso de Agronomia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

BELLON, P. P. **Controle biológico e alternativo do percevejo de renda (*Vatiga manihotae*) (Drake) (Hemiptera: Tingidae) na cultura da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz).** 2010. Dissertação (Pós-graduação em Agronomia) - Faculdade de Agronomia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Paraná, 2010.

BUSATO, G. R.; GARCIA, M. S.; LOECK, A.; ZART, M.; NUNES, AA. M.; BERNARDI, O.; ANDERSSON, F. S. Adequação de uma dieta artificial para os biótipos "milho" e "arroz" de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Bragantia**, v. 65, n. 2, p. 317-323, 2006.

BRUXEL, F.; LAUX, M.; WILD, L. B.; FRAGA, M.; KOESTER, L. S.; TEIXEIRA, H. F. Nanoemulsões como sistemas de liberação parenteral de fármacos. **Química Nova**, v. 35, p. 1827-1840, 2012.

CAMPOS, E. V.; PROENÇA, P. L. F.; OLIVEIRA, J. L.; BAKSHI, M.; ABHILASH, P. C.; FRACETO, F. L. Use of botanical insecticides for sustainable agriculture: Future perspectives. **Ecological Indicators**, São Paulo, v. 105, p. 483-495. 2019.

CAPINERA, J. L. Fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). **EDIS**, Flórida, v. 2002, n. 7, 2002.

CARVALHO, I. F.; ERDMANN, L. L.; MACHADO, L. L.; ROSA, A. P. S. A.; ZOTTI, M. J.; NEITZKE, C. G. Metabolic resistance in the fall armyworm: an overview. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 12, p. 426-436. 2018.

COSTA, J. P.; ALMEIDA, A. C.; MARTINS, E. R.; RODRIGUES, M. N.; SANTOS, C. A.; IMENEZES, I. R. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim-pimenta e do extrato bruto seco do barbatimão diante de bactérias isoladas do leite. **Biotemas**, v. 24, n. 4, p. 1-6. 2011.

CRUZ, I. A lagarta-do-cartucho na cultura do milho. Embrapa Milho e Sorgo-Circular Técnica (**INFOTECA-E**), 1995.

DALTIN, D. Tensoativos: **química, propriedades e aplicações.** São Paulo. 1º Edição: Editora Blucher. 2011.

DE MORAIS, L. A. S. Óleos essenciais no controle fitossanitário. *In*: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. p.140-151.

DE MORAES J. R. C.; RUELA, A. L. M.; GOMES, A. F.; AMARAL, J. G.; LEITE, M. F. Desenvolvimento e caracterização química de fragrâncias a partir de óleos essenciais e flavorizante sintético. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 17, n. 1, 2021.

DOS REIS, L. E. L. **Impactos fisiológicos e metabólicos em tomateiros (*Solanum lycopersicum* L.) submetidos à aplicação de óleos essenciais *in natura* e nanoencapsulados de ação repelente**. 2017. Dissertação (Pós-graduação em agroquímica) – Faculdade de Agroquímica, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – Campus Rio Verde, Rio Verde, 2017.

DIEZ-RODRÍGUEZ, G. I.; OMOTO, C. Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cialotrina. **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 311-316, 2001.

ESTRELA, J. L. V.; FAZOLIN, M.; CATANI, C.; ALÉCIO, M. R.; LIMA, M. S. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 217-222, 2006.

FAO. **Guia para combater praga da lagarta do cartucho em África**. 2018 <<https://news.un.org/pt/story/2018/02/1611372>>. Acesso em: 01 de dezembro 2021.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; CATANI, C.; LIMA, M. S.; ALÉCIO, M. R. Toxicidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 485-489, 2005.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.

FINNEY, D. J. 'Probit analysis'. 4. ed. London: Cambridge University Press, 2009. 272 p.

GOERGEN, G.; KUMAR, P. L.; SANKUNG, S. B.; TOGOLA, A.; TAMÓ, M. First report of outbreaks of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), a new alien invasive pest in West and Central Africa. **PLoS One**, v. 11, n. 10, p. e0165632. 2016.

GREENE, G. L.; LEPPLA, N. C.; DICKERSON, W. A. Velvetbean caterpillar: A rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, v. 69, n. 4, p.487-488, 1976.

JARDIM, K. V. **Desenvolvimento de nanopartículas de quitosana/sulfato de condroitina para nanoencapsulação da curcumina visando sua liberação controlada e avaliação de sua atividade antitumoral**. 2013. Dissertação (Pós-graduação em Ciências dos materiais) - Faculdade de Eng. de materiais, Universidade de Brasília, Planaltina, 2013.

KOKETSU, M.; GONÇALVES, S. L. Óleos essenciais e sua extração por arraste a vapor. EMBRAPA-CTAA. Documentos, 1991.

- MELO, M. T. P.; RIBEIRO, J. M.; MEIRA, M. R.; FIGUEIREDO, L. S.; MARTINS, E. R. Teor de óleo essencial de alecrim-pimenta em função do horário de colheita. **Ciência Rural**, v. 41, p. 1166-1169, 2011.
- MEHNERT, W.; MADER, K. Solid lipid nanoparticles, production, characterisation and applications. **Adv. Drug Deliv.** V. 64, p. 83–101, 2012.
- MORILLO, F.; NOTZ, A. Resistance of *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) to lambda-cyhalothrin and methomyl. **Entomotropica**, v. 16, n. 2, p. 79-87, 2001.
- OLIVEIRA, M. S. S.; ROEL, A. R.; ARRUDA, E. J.; MARQUES, A. S. Eficiência de produtos vegetais no controle da lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797)(Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, p. 326-331, 2007.
- OSÉS, J. K. V. Nanoencapsulação do fármaco miltefosina em micelas poliméricas de poli (óxido de etileno)-poli (óxido de propileno). 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- PEREIRA, K. C.; ROCHA, D. V. M.; QUINTELA, E. D.; SILVA, D. J.; CAZAL, C. M.; SILVA, F. G. Atividade inseticida de óleos essenciais in natura e nanoencapsulados sobre *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). In: Embrapa Arroz e Feijão-Resumo em anais de congresso (ALICE). In: SEMINÁRIO JOVENS TALENTOS, 11., 2017, Santo Antônio de Goiás. Coletânea dos resumos apresentados. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2017.
- RABELO, B. D. Otimização da atividade antioxidante do ácido lipóico através da nanoencapsulação. **Salão de Iniciação Científica (22.: 2010 out. 18-22: Porto Alegre, RS). Livro de resumos. Porto Alegre: UFRGS, 2010., 2010**
- REGNAULT-ROGER, C.; VINCENT, C.; ARNASON, J. T. Essential oil in insect control: Low risk products in a high-state world. **Annual Review Entomology**, v. 57, p. 405-424, 2012.
- SANTOS, A. C.; ROSSATO, M.; SERAFINI, L. A.; BUENO, M.; CRIPPA, L. B.; SATORI, V. C.; DELLACASSA, E.; MOYNA, P. Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 154-159, 2010.
- SAXENA, S.; AGARWAL, D.; JOHN, S.; DUBEY, P.; LAL, G. Analysis of fennel (*Foeniculum vulgare*) essential oil extracted from green leaves, seeds and dry straw. **International Journal Seed Spices**, v. 8, n. 1, p. 60-64, 2018.
- SILVA, C.; MARTINI, E.; TAVARES, G.; SILVEIRA, T.; DE OLIVEIRA, M. C.; TEIXEIRA, H. Caracterização físico-química de nanoemulsões catiônicas como sistemas de liberação de oligonucleotídeos. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 25, n. 1, p. 17, 2006.
- SPAREMBERGER, R. M.; MELO, L. D. W.; SILVA, A.P. T.; BULHÕES, L. O. S. Análise físico-química de nanocápsulas contendo óleo de semente de uva em diferentes

concentrações. **Disciplinarum Scientia| Naturais e Tecnológicas**, v. 14, n. 1, p. 123-130, 2013.

SILVA, DLV. **Atividade inseticida dos óleos essenciais de duas espécies da caatinga sobre a mosca-branca-do-cajueiro**. 2018. Dissertação (Pós-graduação em ciências naturais) – Faculdade de Ciências exatas e naturais, Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, Mossoro, 2018.

SOMBRA, K. E. S. et al. Potential pesticide of three essential oils against *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 80, p. 617-628, 2020.

SOUZA, A. M. L.; ÁVILA, C. J.; PARRA, J. R. P. Consumo e utilização de alimento por *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Pyralidae), *Heliothis virescens* (Fabr.) e *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas temperaturas. **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 11-17, 2001.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C. R.; WEBER, G. E. B. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. Embrapa Clima Temperado-Documents (INFOTECA-E), 2010.

YU, S. J.; NGUYEN, S. N.; ABO-ELGHAR, G. E. Biochemical characteristics of insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 77, n. 1, p. 1-11, 2003.

ZORNIO, C. F. Preparação e caracterização de microesferas de goma guar reticulada com EDC. 2010.