

EMERSON FLÁVIO DOS SANTOS

**SÍNTESE DE BIOCOMPOSTO A PARTIR DE SEMENTES DE ABACATE E
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL INSETICIDA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Lessando Moreira Gontijo

Coorientador: Brenno Santos Leite

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

T

S237s
2023 Santos, Emerson Flávio, 1980-
Síntese de biocomposto a partir de sementes de abacate: Avaliação
do potencial inseticida / Emerson Flávio Santos. - Florestal, MG, 2023.
90 f.: il. (algumas color.).

Inclui apêndices.

Orientador: Lessando Moreira Gontijo.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Instituto
de Ciências Agrárias, 2023.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvcaf.2023.010>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Plantas frutíferas. 2. Abacate. 3. Semente. 4. Viabilidade. 5.
Inseticida. I. Gontijo, Lessando Moreira. II. Universidade Federal de
Viçosa. Instituto de Ciências Agrárias. Mestrado em Manejo e
Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários. III. Título.

CDD 23. ed. 634.653

Bibliotecário(a) responsável: Kellen dos Santos Silva Barbosa CRB-6/ES 548


EMERSON FLÁVIO DOS SANTOS

**SÍNTESE DE BIOCOMPOSTO A PARTIR DE SEMENTES DE ABACATE E
AVALIAÇÃO DO POTENCIAL INSETICIDA**


Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Manejo e Conservação de Ecossistemas Naturais e Agrários, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 18 de agosto de 2023.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 **EMERSON FLAVIO DOS SANTOS**
Data: 27/09/2023 15:56:58-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Emerson Flavio dos Santos
Autor

Documento assinado digitalmente
 **LESSANDO MOREIRA GONTIJO**
Data: 27/09/2023 16:45:00-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Lessando Moreira Gontijo
Orientador

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus e a ele toda honra e toda glória!

A Universidade Federal de Viçosa *Campus Florestal* e a todos seus funcionários que diretamente ou indiretamente contribuíram para conclusão deste.

Ao Professor Dr. Lessando Moreira Gontijo pelos ensinamentos, paciência, dedicação, confiança e orientação deste trabalho.

Ao Professor Dr. Brenno Santos Leite pela valiosa contribuição como coorientador deste trabalho e disposição de sempre.

Ao Professor Dr. Cláudio Pagotto Ronchi pela disponibilidade e incentivo.

Ao Professor Dr. Leandro José dos Santos por ter disponibilizado o seu laboratório para a realização de purificação do produto utilizado neste trabalho.

A toda equipe do setor de Olericultura da UFV- Campus Florestal, pela oportunidade de desenvolver a parte de campo desta pesquisa.

A minha esposa e filhos, por todo amor e apoio dedicado a mim durante esta jornada.

Aos meus irmãos Renato Rodrigo dos Santos e Cláudio Roberto dos Santos, pela amizade de sempre e amor durante toda vida.

A minha mãe Dulce Lina dos Santos pelo amor de sempre e companheirismo.

A meu pai José Sebastião dos Santos que permanece vivo para sempre no meu coração e na minha essência.

A todos meus amigos pela paciência, incentivo e cooperação para este trabalho.

Aos estagiários que estiveram sempre a disposição para auxiliarem nas atividades.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho e para minha formação acadêmica.

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

RESUMO

Santos, Emerson Flávio, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2023. **Síntese de biocomposto a partir de sementes de abacate e avaliação do potencial inseticida.** Orientador: Lessando Moreira Gontijo. Coorientador: Brenno Santos Leite.

Atividades agroindustriais como o processamento das frutas geram resíduos diversos, muitas vezes com grande potencial a ser explorado. A semente de abacate é um destes resíduos com potencial bioativo. Nesta vertente o conceito de biorrefinaria, aplicando a tecnologia de liquefação, pode ser uma alternativa interessante para valorizar, explorar e transformar resíduos agroindustriais em novos produtos, como por exemplo um inseticida. Para atender estas expectativas, no Capítulo 1 deste estudo explorou a técnica de liquefação para síntese de biocompostos a partir da semente de abacate (*Persea americana* Mill. (Lauraceae)) (Margarida) e pó da folha de nim *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae) usando como solvente a glicerina. Também foram comaprados os grupos funcionais dos biocompostos do abacate e pó de nim por meio de espectroscopia FT-IR. Para isso, as sementes (biomassa) foram previamente desidratadas, pulverizadas e caracterizadas. Os resultados mostraram que o processo de liquefação foi eficaz em liquefazer a biomassa de semente de abacate, pois os rendimentos variaram entre 38 a 60 % m/m. Os valores de $p < 0,05$ demonstraram que ambos os fatores (proporção x tempo) podem ser responsáveis pelo rendimento observado. O teste de médias indicou o biocomposto (AAA) que experimentou a combinação de 2:1/30 (solvente/biomassa/tempo) alcançou maior rendimento ($60,3 \pm 0,9$ % m/m), apresentou viscosidade de 116 mPa e pH 5,01, e não exibiu variações significativas quando submetido a diluições. Através da espectroscopia FT-IR inferimos que os constituintes do biocomposto possuem grupos funcionais similares às estruturas de moléculas como: as acetogeninas, furanos e compostos fenólicos. A comparação dos grupos funcionais dos biocompostos sintetizados da biomassa do nim com Azamax® revelou que eles não se sobrepõem, porém bioensaios preliminares revelaram que ambos apresentaram atividade inseticida sobre ninfas de primeiro/segundo ínstares de pulgões. No Capítulo 2 investigou o potencial inseticida dos biocompostos sobre ninfas de primeiro/segundo ínstares de pulgões (*Brevicoryne brassicae* (Linnaeus) e *Myzus persicae* (Sulzer)

(Hemiptera: Aphididae)) em bioensaios de laboratório e campo. Bioensaios preliminares permitiram inferir que a técnica de liquefação é eficaz para síntese de biocompostos a partir da biomassa das sementes de abacate e nim, e ambos mostraram efeito letal sobre ninfas de primeiro/segundo ínstares de pulgões, variando entre 20 a 48% quando submetidos a doses preparadas à 15 % m/m observados no intervalo de 24 e 48h. Dentre estes, o mais efetivo contra as ninfas foi o biocomposto AAA (2:1/30 min), apresentando a DL₅₀ (64 mg/mL) e DL₉₀ (429 mg/mL) (p<0,001). A DL₉₀ do biocomposto AAA (2:1/30 min) repeliu ninfas de pulgões e o efeito observado se mostrou relativamente maior do que a dose de campo do Azamax[®] (cultura da couve de folha). O bioensaio de campo demonstrou que a dose de campo do Azamax[®] e a DL₉₀ do biocomposto AAA (2:1/30 min) foram capazes de reduzir as populações dos pulgões em cultivo de couve do grupo manteiga no período de outubro à novembro. Em conclusão, os resultados mostraram que as sementes de abacate podem ser uma fonte promissora de compostos bioativos a serem aplicados no controle de pragas importantes como os pulgões, podendo ser desenvolvido um inseticida a ser utilizado no Manejo Integrado de Pragas (MIP). Apesar dos resultados promissores, novos estudos serão necessários para investigar a(s) molécula(s) responsável(is) pela atividade inseticida observada, bem como realizar testes toxicológicos letais e subletais em organismo não-alvo, principalmente à saúde humana e biodegradabilidade à condições ambientais.

Palavras-chave: Semente de abacate. Valorização de resíduos agroindustriais. Síntese. Biocomposto. Liquefação.

ABSTRACT

Santos, Emerson Flávio, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August 2023. **Synthesis of biocompound from avocado seeds and assessment of insecticidal potential.** Advisor: Lessando Moreira Gontijo. Co-advisor: Brenno Santos Leite.

Fruit processing in the agro-industry can engender various residues, which sometimes may contain great chemical potential to be explored. Avocado seed is one of these residues that possess important bioactive compounds. In this regard, the use of liquefaction technology, can be an interesting alternative to explore chemically waste material from agro-industry, which may thus sometimes be transformed into new products such as insecticides. Therefore, in Chapter 1 we explored the liquefaction technique for the synthesis of biocompounds from avocado seeds (*Persea americana* Mill. (Lauraceae)) (Daisy) and neem leaf powder *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae). In addition, we compared the functional groups from avocado seed and neem biocompounds by means of using the FT-IR spectroscopy. For this, the avocado seeds (biomass) were previously dehydrated, pulverized and characterized. The results showed that the liquefaction process was effective in liquefying the avocado seed biomass, as it yielded an efficiency rate of 38 to 60% m/m. The values of $p < 0.05$ suggested that both factors (mass proportion x time) could be responsible for the observed performance/efficiency. The results indicate that the biocompound (AAA) that experienced the combination of 2:1/30 (solvent/biomass/time) as the one with the highest conversion efficiency rate ($60.3 \pm 0.9\%$ m/m). This biocompound also presented a viscosity of 116 mPa and pH 5.01, and had no significant variations when subjected to dilution. Through FT-IR spectroscopy we were able to infer that the constituents of the biocompound have functional groups similar to the structures of molecules such as: acetogenins, furans and phenolic compounds. Comparison of the functional groups of biocompounds synthesized from neem biomass and Azamax® revealed that they do not overlap, but preliminary bioassays revealed that both showed insecticidal activity on first/second instar nymphs of aphids. Thus, Chapter 2 investigated the insecticidal potential of biocompounds on first/second instar nymphs of aphids (*Brevicoryne brassicae* (Linnaeus) and *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae)) in laboratory and field bioassays. Preliminary bioassays allowed inferring that the liquefaction technique is effective for the synthesis of biocompounds from

avocado and neem seeds, and both showed a lethal effect on first/second instars nymphs of aphids, ranging from 20 to 48% when subjected to prepared doses. at 15 % w/w observed between 24 and 48 hours. Among these, the most effective against nymphs was the AAA biopolyol (2:1/30 min), presenting LD50 (64 mg/mL) and LD90 (429 mg/mL) ($p < 0.001$). The LD90 of the AAA biopolyol (2:1/30 min) caused repellency to the aphid nymphs and the observed effect was shown to be relatively higher than the field dose of Azamax® (kale leaf culture). The field bioassay demonstrated that the field dose of Azamax® and the LD90 of the AAA biocompound (2:1/30 min) were able to reduce aphid populations in cabbage cultivation of the butter group from October to November, in tropical conditions. The results showed that avocado seeds can be a promising source of bioactive compounds to be applied in the control of important pests such as aphids, and an insecticide can be developed to be used in Integrated Pest Management (IPM). Despite the promising results, new studies are needed to investigate the molecule(s) responsible for the observed insecticidal activity, as well as to carry out lethal and sublethal toxicological tests on non-target organisms, mainly on human health and biodegradability under environmental conditions.

Keywords: Avocado seed. Valorization of agro-industrial residues. Synthesis. Biocomposite. Liquefaction.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	10
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	18
2. CAPÍTULOS.....	24
2.1. Capítulo 1 – Síntese de biocomposto a partir de sementes de abacate	24
Resumo	24
2.1.1. INTRODUÇÃO	25
2.1.2. MATERIAL E MÉTODOS	28
2.1.2.1. Obtenção das sementes de abacate.....	28
2.1.2.2. Caracterização das sementes.....	29
2.1.2.3. Liquefação.....	32
2.1.2.4. Caracterização do biocomposto.....	35
2.1.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
2.1.3.1. Análises imediatas – caracterização da biomassa	37
2.1.3.2. Caracterização via espectroscopia FT-IR da biomassa	38
2.1.3.3. Eficiência do processo de liquefação	39
2.1.3.4. caracterização via FT-IR e comparações dos biocompostos ..	40
2.1.3.5. Caracterização e comparações do biocomposto AAA	41
2.1.3.6. Tabelas	43
2.1.3.7. Figuras	44
2.1.4. CONCLUSÕES.....	48
2.1.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
2.2. Capítulo 2 – Atividade inseticida do biocomposto de semente de abacate sobre pulgões.....	53
Resumo	53
2.2.1. INTRODUÇÃO.....	54
2.2.2. MATERIAL E MÉTODOS	58
2.2.2.1. Criação de pulgões para bioensaios	58
2.2.2.2. Bioensaios.....	59
2.2.2.2.1. Bioensaios preliminares.....	59
2.2.2.2.2. Determinação das doses letais.....	61
2.2.2.2.3. Efeito de repelência causado pela DL ₉₀ e comparações ..	62
2.2.2.2.4. Eficácia da DL ₉₀ contra pulgões no campo	64
2.2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
2.2.3.1 – Tabela	69

2.2.3.2. Figuras	70
2.2.4. CONCLUSÕES.....	75
2.2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
3. CONCLUSÕES GERAIS.....	83
APÊNDICES.....	84

1. INTRODUÇÃO GERAL

Nos últimos tempos conceitos relacionados ao desenvolvimento sustentável, economia circular e química verde tem chamado a atenção de todo segmento consumidor e produtivo (BASTOS, 2012; MACHADO, 2014; LIGUIRO, 2016; SHELDON, 2017; SEIDL, 2019). Nesse sentido o Brasil vem se destacando no setor de agronegócios e no mesmo ritmo é crescente a geração de resíduos provenientes das atividades, bem como a necessidade de se investir em tecnologias que permitam a transformação e valorização destes, atendendo tais conceitos (CORTEZ et al. 1992; LOUSADA JÚNIOR et al., 2005; CRUZ, et al. 2014; ALVIM et al. 2014; BUDZIANOWSKI, 2016; CORNEJO et al. 2017; CHEN et a. 2020).

Dentre as formas mais comuns adotadas para destinar e valorizar os resíduos agroindustriais estão: a produção de ração animal, reaproveitamento para consumo humano, fonte de energia, fertilização e condicionamento do solo. Mas estudos recentes têm demonstrado que há muito a se explorar, como por exemplo o potencial bioativo de alguns constituintes que podem estar disponíveis nestes resíduos (BARRET et al., 2005).

Atendendo estas expectativas vale destacar a produção do abacate no Brasil que é crescente desde 2009 atingindo em 2019 cerca de 242.932 toneladas em uma área de 15.315 ha, e a variedade Margarida como uma das mais plantadas. Geralmente o abacate é destinado ao consumo da sua polpa *in natura*, bem como para fabricação de cosméticos e outros derivados, sendo considerado resíduos do processamento a casca e a semente do fruto, representando cerca de 16% do peso bruto que poderiam ser melhor explorados e transformados em produtos com maior valor agregado (DABAS, et al. 2013; IBGE 2020, CARVALHO et al., 2020).

Produtos derivado de plantas como do Abacateiro (*Persea americana Miller*) pertencente à Família Lauraceae, vem recebendo atenção do meio científico buscando desenvolvimento e agregação de valor ao produto e subprodutos gerados no processamento, ao qual pode-se destacar os extratos e óleos provenientes das folhas, casca, polpa e sementes. Trabalhos diversos relataram efeitos bioativos fitoterápicos, nutricionais, medicinais na saúde humana, e atividade inseticida (NÉEMAM et al. 1970; STEIN & KINGAUF 1990; RODRIGUEZ-SAONA et al.1998; ABE et al. 2005; LEITE et al. 2009; CHIA & DIKES 2010; SANTA-CECÍLIA et al. 2010;

CARVALHO, 2011; JIMÉNEZ-ARELLANES et al. 2013; ADESINA et al. 2016; CARDOSO et al. 2017; CARVALHO et al. 2020).

Outro que merece destaque no que tange a observação da atividade inseticida são os extratos e óleos de nim (*Azadirachta indica*) pertencente à Família Meliaceae (ISMAN, 2006). Possui reconhecimento mundial de sua eficácia no controle de diversas pragas, devido à presença do imunossupressor azadiractina, um tetranotriterpenóide bioativo, que pode interferir no comportamento alimentar, no desenvolvimento e na reprodução de muitos insetos (MARTINEZ & EMDEN, 2001). Além de exibir baixa toxicidade a mamíferos (BOEKE et al., 2004) podendo se degradar no solo e nas plantas (ISMAN, 2006). Tais características têm chamado a atenção de empresas dos ramos de defensivos agrícolas e diversas patentes de produtos utilizando formulações a partir do nim, como o Azamax®, que tem sido comercializado e indicado para o controle de diversas pragas em muitos países como no Brasil (MARTINEZ & EMDEN, 2001; COX, 2002).

Em geral os óleos e extratos obtidos a partir de flores, ervas, frutos, ramas, cascas, sementes, madeiras e raízes, podem apresentar dentre seus constituintes moléculas bioativas advindas comumente do metabolismo secundário das plantas sintetizado mediante a interação desta com o ambiente circundante como por exemplo em defesa contra o ataque de herbívoros, podendo tais compostos serem armazenados em diferentes células como nas oleíferas presente em plantas como o abacateiro (RODRIGUEZ-SAONA et al.2000; DUKE, 2000; GOBBO-NETO & LOPES, 2007; SOLÓRZANO & MIRANDA, 2012). Com foco na atividade inseticida vários estudos se dedicaram à exploração do espectro de ação, eficiência, seletividade, toxicidade, biodegradabilidade e uso de fontes renováveis (MOREIRA et al., 2005; ISMAN, 2006; DAYAN et al. 2009, VENZON et al., 2010; SILVA et al., 2010).

Conforme ISMAN (2006), para se produzir um inseticida a partir de plantas atendendo o princípio da sustentabilidade a matéria prima utilizada deve ser obtida em larga escala de preferência sem sazonalidade, ser abundante na natureza, ou cultivada para outra finalidade como por exemplo: sombra, quebra-vento, frutos, lenha, produção de medicamentos, cosméticos ou até mesmo que a fonte de obtenção seja proveniente de subprodutos destes, um “resíduo”.

Os resíduos quando considerados fontes para obtenção de novos produtos, dão origem ao conceito de biomassa que pode ser uma fonte potencial de energia e

compostos, após passarem por transformação e ou fracionamento de seus constituintes mediante aplicação de variadas técnicas dentro do conceito de biorrefinaria (GHATAK, 2011; PÉREZ et al. 2017).

A biorrefinaria é constituída por variados processos que podem combinar entre si com objetivo de transformação, conversão, aproveitamento e a valorização de biomassas. Dentre os processos mais comuns estão os termoquímicos, bioquímicos, químicos e outros que utilizam meios físicos para pré-tratamento das biomassas. Estas podem ser oriundas das mais variadas matérias-primas, como por exemplo os resíduos dos processamentos agroindustriais, classificados como materiais lignocelulósicos. E seus constituintes podem variar de acordo com a origem e transformação a qual primariamente foi submetida, mas geralmente são constituídas por celulose, hemicelulose, lignina, proteínas, óleos, terpenos alcalóides, flavorizantes, compostos fenólicos dentre outros, variando em concentração e composição (RODRIGUES et al., 2011; KING, 2010; GHATAK, 2011).

Destacando os processos termoquímicos mais comuns como a pirólise, gaseificação, combustão e liquefação onde a biomassa é submetida a variação de temperaturas, pressão, com ou sem solvente e catalisadores, devido ao vasto acervo de informações e detalhamento de rotas de cada processo, vale aqui separar para estudo o processo de liquefação. Sendo assim, DERMIBAS (2000) concluiu que a biomassa pode ser liquefeita por meio da sua decomposição em moléculas menores instáveis e reativas, por isso podem se repolimerizarem formando compostos oleosos com variável faixa de peso molecular.

Mais tarde DERMIBAS (2008), ressaltou que o processo de liquefação pode ser realizado em duas etapas: a direta e indireta, a primeira envolve pirólise rápida produzindo compostos como alcatrões, óleos, biopolióis e vapores orgânicos, e a segunda se encarrega mediante ao uso de catalizadores em liquefazer os vapores orgânicos.

Em outro estudo LEITE et al. (2018), concluíram que o processo de liquefação foi eficaz na conversão de diferentes biomassas lignocelulósicas em novos produtos, e ainda aplicou o conceito de química verde no processo, utilizando o glicerol como solvente, sendo este um subproduto dos processos de transesterificação. Ressaltaram ainda que houve a transformação da fase sólida da biomassa para fase líquida, por meio da deslignificação das cadeias poliméricas em moléculas menores

possibilitando sua incorporação ao glicerol, dando origem aos biopolióis. Para isso exploraram variações de proporções entre solvente e biomassa, tempo e temperatura a pressão constante, em vaso reacional e por fim comparou os diferentes rendimentos obtidos que variaram de 38 a 91% m/m atribuindo a variação a presença de diferentes constituintes de cada biomassa.

CRUZ et al. (2014), ressaltaram a importância da observação constante do conceito de química verde em rotas de sínteses para obtenção de novos produtos no que tange a substituição de produtos químicos tradicionais, como solventes orgânicos derivados do petróleo, nocivos a saúde humana, com alto grau de inflamabilidade e potenciais poluidores atmosféricos.

Nesse sentido, o uso de glicerina tem chamado atenção do meio científico por reunir características desejáveis podendo ser considerado um solvente verde (ZHOU et al. 2008; GU & JEROME, 2010), por apresentar baixa toxicidade ao homem, não inflamável, viscoso, biodegradável, alto ponto de ebulição, polaridade, e dentre outras possui o efeito de desidratação destacada por DERMIBAS (2008) atribuindo a versatilidade de adesão à matéria lignocelulósica sólida seca por meio da ligação de hidrogênio com os grupos hidroxila.

Sendo assim diante do exposto o uso da tecnologia de liquefação utilizando a glicerina como solvente surge como uma alternativa interessante para a síntese de novos produtos na perspectiva de aumentar o rendimento no que se refere ao aproveitamento da biomassa e observação dos princípios de química verde. Levando em consideração estudos como o de CARVALHO et al. (2020) que ao prepararem extratos a partir das sementes de abacate utilizando solventes orgânicos convencionais dentre eles o etanol, hexano, diclorometano, acetato de etila e solução hidroalcolica, observou por meio de bioensaios atividade inseticida frente a *Bemisia tabaci* (GENNADIUS, 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae) praga de importância agrícola, obtendo rendimentos em aproveitamento da biomassa em torno de 10 % m/m.

Nessa vertente explorar compostos bioativos advindos de plantas observando a valorização de resíduos gerados em atividades agroindustriais, a fim de se produzir inseticidas a serem utilizados no manejo de insetos-praga como os pulgões, muitas das vezes pode ser encarada como um desafio. Pois alguns inseticidas como os da classe de organo-sintéticos vislumbram características atraentes ao mercado como por exemplo: resposta rápida no controle, facilidade de obtenção por meio de rotas

sintéticas empregando solventes convencionais e simplicidade de aplicação. No entanto tais práticas podem acarretar em diversos problemas como: resíduos nos alimentos, surgimento de populações de insetos resistentes, contaminação ambiental, ressurgência e erupção de pragas (VERDRAMIM & CASTIGLIONE, 2000).

No que se refere aos pulgões, no mundo é conhecido mais de 4000 espécies e cerca de 250 são consideradas pragas na agricultura sendo uma das principais, o *Brevicoryne brassicae* (LINNAEUS, 1758) e *Myzus persicae* (SULZER, 1776) (Hemiptera: Aphididae) (BLACKMAN & EASTOP, 2007). Estes insetos são pragas de regiões de clima temperado e tropical podendo atingir ampla distribuição mundial e causar danos diversos a culturas, por isso sua população deve ser controlada. Em geral, atacam principalmente plantas da Família Brassicaceae, incluindo couve de folhas, repolho, brócolis, dentre outras (VAN EMDEN & HARRINGTON, 2007; AHMAD & AKHTAR, 2013). As ninfas e adultos (pulgões) possuem aparelho bucal picador-sugador utilizado para sugar a seiva nos tecidos floemáticos das plantas resultando na perda de compostos secundários necessários para o seu desenvolvimento (LIU & SPARKS JR., 2001; VAN EMDEN, 2013). Ainda podem injetar partículas salivares que deformam os tecidos foliares, e excretam substância açucarada (Honeydew) que serve de substrato alimentar para fungos, como a fumagina (*Capnodim* sp.) (SALVADORI et al., 2005).

O cultivo das brássicas desempenha papel importante no mercado brasileiro, por possuir características tais como alto valor nutricional, rápido retorno financeiro, e baixo custo de produção (FILGUEIRA, 2000). Podemos destacar o cultivo da couve-de-folha (doravante apenas couve) no Brasil, dados do IBGE (2017) estimaram uma produção anual de 161.986 toneladas, sendo destacado como maior produtor o estado de São Paulo. Quando as folhas de couve são infestadas pelos pulgões, podem se tornar não comerciais por assumir forma reduzida, amarelada e distorcida/encarquilhada. O encarquilhamento das folhas pode dificultar o controle, pois os pulgões se abrigam nas folhas retorcidas protegendo-os do contato direto com inseticidas (LIU & SPARKS JR., 2001). O método de controle ainda mais utilizado no combate de pulgões tem sido o uso de inseticidas (i.e. controle químico), principalmente devido a sua rápida ação em causar a mortalidade desses insetos. No entanto, se utilizados de forma indiscriminada/irracional os inseticidas podem acarretar danos à saúde humana, ao meio ambiente, aos organismos não-alvo (ex.,

polinizadores e inimigos naturais), bem como contribuir para a seleção de populações resistentes (LIU & SPARKS JR., 2001).

Conforme SILVA et al. (2010), o Controle Alternativo de Pragas e Doenças (CAPD) pode ser um meio interessante para avanços no sentido de redução ou até mesmo na substituição de insetidas tradicionais, além disso destacaram que estas práticas têm chamado a atenção de horticultores. O CAPD tem como base a utilização de meios naturais e alternativos que assegurem a produção reduzindo os danos no solo, água e mantenha a qualidade final do produto. ISMAN (2006) também ressaltou que a adoção de estratégias como controle biológico e uso de insetidas derivados de plantas vem ganhando maior reconhecimento e ainda inferiu que as plantas podem ser uma alternativa valiosa para prospecção de novas moléculas bioativas.

Contudo nenhum momento foi apresentado um estudo sobre a eficiência do biocomposto oriundo da semente de abacate obtido a partir da técnica de liquefação (biomassa/solvente/tempo) sob condições controladas (temperatura/pressão) em vaso de pressão, também não há relatos da caracterização e exploração da sua bioatividade no concerne da atividade inseticida frente a um inseto-praga de importância agrícola.

Face ao exposto levando em conta a valorização de um resíduo agroindustrial, e princípios da química verde, explorou-se neste estudo a eficácia da técnica de liquefação mediante o uso da glicerina como solvente para produção de biocompostos a partir da biomassa da semente de abacate (*Persea americana Mill.* (Lauraceae)) (Margarida) e folhas do nim (*Azadirachta indica*) (Meliaceae), os quais passaram por caracterização, comparações e investigação da atividade inseticida sobre ninfas de pulgões (*B.brassicarum/M.persicae*) por meio de bioensaios conduzidos em ambiente laboratorial e campo. Portanto, o estudo foi dividido em dois capítulos, que serão detalhados na sequência:

- **Capítulo 1: obtenção dos biocompostos**

(i) Pré Preparo e Caracterização da biomassa (Etapa 1): Foi iniciada com o pré-tratamento e caracterização dos constituintes da biomassa da semente de abacate por meio de análises imediatas, em seguida utilizando a técnica de espectrometria FT-IR obteve-se os espectros e por meio destes foram comparados os grupos funcionais constituintes das biomassas da semente de abacate e da folha do nim.

(ii) Obtenção dos biocompostos e cálculo de rendimento (Etapa 2): Aplicou-se a técnica de liquefação às biomassas (abacate e nim), e calculou o rendimento do processo somente para a biomassa da semente de abacate.

(iii) Comparação espectral dos biocompostos obtidos (Etapa 3): Comparou-se os grupos funcionais dos espectros dos biocompostos obtidos a partir da biomassa da semente de abacate com os constituintes estruturais de algumas moléculas de mesma origem, indicadas como responsáveis por alguma atividade inseticida citada em literatura. Ainda nesta etapa comparou os grupos funcionais dos espectros dos biocompostos obtidos a partir da biomassa da folha do nim com os grupos funcionais observados no produto formulado indicado para o controle de inseto-pragas também a base do nim (Azamax®).

(iv) Determinação da viscosidade dos biocompostos (Etapa 4): Analisou-se a viscosidade do biocomposto que apresentou maior rendimento no processo de liquefação e comparou o resultado com o solvente de partida (glicerina P.A).

(v) Determinação de potencial hidrogeniônico (Etapa 5): Investigou e comparou o potencial hidrogeniônico (pH) do biocomposto que apresentou maior rendimento no processo de liquefação com o produto comercial formulado a base do nim (Azamax®), variando as diluições (10x; 50x e 100x) em água destilada.

- **Capítulo 2: investigação do potencial inseticida**

(vi) Bioensaio preliminar e seleção do biocomposto mais promissor (Etapa 6): Investigou-se a capacidade da técnica em extrair e concentrar componentes bioativos da biomassa (abacate e nim). Para isso foram realizados bioensaios primários com objetivo de observar alguma atividade inseticida sobre pulgões (*B. brassicae/M. persicae*). Ainda nesta etapa, mediante a observação dos resultados selecionou o biocomposto mais promissor obtido da biomassa da semente de abacate para continuidade nos bioensaios.

(vii) Determinação da curva dose-resposta (Etapa 7): Determinou-se por meio de bioensaios a DL₅₀ e DL₉₀ do biocomposto mais promissor obtido da biomassa da semente de abacate.

(viii) Bioensaio do efeito de repelência causado pela DL₉₀ (Etapa 8): Explorou-se o efeito de repelência por meio da análise comportamental de escolha/preferência por parte dos pulgões (*B. brassicae/M. persicae*), quando expostos a DL₉₀ do

biocomposto mais promissor e controle, em placa de petri. Do mesmo modo, o bioensaio foi realizado utilizando a dose de campo do Azamax[®] (produto formulado a base do nim) com intuito de comparação do efeito.

(ix) Bioensaio de campo (Etapa 9): Avaliou-se a eficácia da DL₉₀ do biocomposto mais promissor em bioensaio de campo contra pulgões, em plantio de couve do grupo manteiga.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ABE F.; NAGAFUJI S.; OKAWA M.; KINJO J.; AKAHANE H.; OGURA T.; MARTINEZ-ALFARO M.A.; REYES-CHILPA R. **Trypanocidal constituents in plants 5. Evaluation of some Mexican plants for their trypanocidal activity and active constituents in the seeds of *Persea americana***. Biol Pharm Bull 28:1314–1317, 2005.
- ADESINA J.M.; JOSE A.R.; RAJASHEKAR Y.; ILEKE K.D. ***Persea americana* (Mill.) seed extracts: potential herbal larvicide control measure against *Anopheles gambiae* Giles, 1902 (Diptera: Culicidae) Malaria vector**. Int J Mosq Res 3:14–17, 2016.
- AHMAD, M. AKHTAR, S. **Developmente of insecticide resistance in field populations of *Brevicoryne brassicae* (Hemiptera: Aphididae) in Pakistan**. Journal of Economic Entomology, v. 106, n. 2, p. 954-958, 2013.
- ALVIM J. C., ALVIM F. A. L. S., SALES V. H. G., SALES P. V. G., OLIVEIRA E. M., COSTA A. C. R. **Biorrefinarias: Conceitos Classificação, matérias primas e produtos**. Journal of Bioenergy and Food Science, v. 1, n 3, p. 61-77, 2014.
- BARRET, D.M.; SOMOGYI, L.P.; RAMASWAMY, H.S. **Processing fruits: science and technology**. 2. Ed. Boca Raton: CRC Press,841 p., 2005.
- BASTOS, V. D. **Biorrefinarias, biocombustíveis e química renovável : revolução tecnológica e financiamento**. Brasil, 2012.
- BLACKMAN, R.L.; EASTOP, V.F. **Taxonomic Issues**. In: van Emden, H.F. and Harrington, R., Eds., Aphids as Crop Pests, CABI, Wallingford, United Kingdom, 1-29, 2007.
- BOEKE, S.J.; BOERSMA, M.G. ALINK, G.M. van LOON, J.J.A.; van HUIS,A.; DICKE, M.; RIETJENS, M.C.M. **Safe evaluation of neem (*Azadirachta indica*) derived pesticides**. Journal of Ethnopharmacology, 94: 25-41. 2004.

BUDZIANOWSKI W. M. **High-value low-volume bioproducts coupled to bioenergies with potential to enhance business development of sustainable biorefineries**. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2016.

CARDOSO P.; SCARPASSA J.; PRETTO-GIORDANO L.; OTAGUIRI E.; YAMADA-OGATTA S.; NAKAZATO G.; PERUGINI M.; MOREIRA I.; VILAS-BÔAS G. **Antibacterial activity of avocado extracts (*Persea americana* Mill.) against *Streptococcus agalactiae***. Phytol 85:218–224, 2017.

CARVALHO, G. H. F. **Insecticidal activity of ethanolic crude extract of *Persea americana* (lauraceae) on larvae and pupae of *Aedes aegypti* (diptera, culicidae)**. Dissertação (Mestrado em Medicina) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 54 f, 2011.

CARVALHO, S.S.DE; RIBEIRO, L.D.; FORIM, M.R.; DA SILVA, M.F.G.; BICALHO, K.U.; FERNANDES, J.B.; VENDRAMIM, J.D. **Avocado kernels, an industrial residue: a source of compounds with insecticidal activity against silverleaf whitefly**. Environmental Science and Pollution Research, p. 1-9, 2020.

CHEN, T.L.; KIM, H.; PAN, S.Y.; TSENG, P.C.; LIN, Y.P.; CHIANG, P.C. **Implementation of green chemistry principles in circular economy system towards sustainable development goals: Challenges and perspectives**. Ciência Ambiental Total, 716, 136.998, 10.106/j.scitotenv.2020.136998, 2020.

CHIA T.W.R.; DYKES G.A. **Antimicrobial activity of crude epicarp and seed extracts from mature avocado fruit (*Persea americana*) of three cultivars**. Pharm Biol 48:753–756, 2010.

CORNEJO, A.; BARRIO, I.; CAMPOY, M.; LÁZARO, J.; NAVARRETE, B. **Oxygenated fuel additives from glycerol valorization. Main production pathways and effects on fuel properties and engine performance: A critical review**. Renewable and Sustainable Energy Reviews. V. 79. p. 1400-1413. 2017.

CORTEZ, L.; MAGALHAES, P.; HAPPI, J. **Principais subprodutos da agroindústria canavieira e sua valorização**. Revista Brasileira de Energia, v. 2, p. 1–17, 1992.

COX, C. **Pyrethrins/Pyrethrum**. Journal of Pesticide Reform, 22: 14-20, 2002.

CRUZ, A. C.; PEREIRA, F. DOS S.; COSTA, L. M. DA; SILVA, M. F. DE O. E. **Química verde na ótica dos agentes de mercado**. BNDES setorial, v. 39, n. Mdic, p. 5–54, 2014.

DABAS D., SHEGOG R.M.; ZIEGLER G.R.; LAMBERT J.D. **Avocado (*Persea americana*) seed as a source of bioactive phytochemicals**. *Curr Pharm* 19:6133–6140, 2013.

DAYAN, F. E.; CANTRELL, C. L.; DUKE, S. O. **Natural products in crop protection**. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 17, n. 12, p. 4022-4034, 2009.

DEMIRBAŞ, A. **Mechanisms of liquefaction and pyrolysis reactions of biomass**. *Energy Conversion and Management*, vol. 41, no. 6, p. 633–646, 2000.

DEMIRBAS, A. **Liquefaction of Biomass Using Glycerol, Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects**. 30:12, 1120 1126, 2008.

DUKE, S. O. et al. **Natural products as sources of herbicides: current status and future trends**. *Weed Research, Oxford*, v. 40, n. 1, p. 99-111, 2000.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV. p.402, 2000.

GHATAK H. R. **Biorefineries from the perspective of sustainability: Feedstocks, products and processes**. *Renewable and Sustainable Energy Review*, v. 15, issue 8, p. 4042-4052, 2011.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. **Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários**. *Química Nova*, 30, 374-381, 2007.

GU Y.; JEROME F. **Glicerol como solvente sustentável para a química verde**. *Química Verde*, 7: p. 1127-1138, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Dados da produção de couve no Brasil, 2017**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/couve/br>. Acesso em: 22 de outubro de 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção Agrícola Municipal 2019**. Rio de Janeiro: IBGE, 2020

ISMAN M.B. **Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world**. *Annu Rev Entomol*, 51: p. 45-66, 2006.

JIMÉNEZ-ARELLANES A.; LUNA-HERRERA J.; RUIZ-NICOLAS R.; CORNEJO-GARRIDO J.; TAPIA A.; YEPEZ-MULIA L. **Antiprotozoal and antimycobacterial activities of *Persea Americana* seeds**. *BMC Complement Altern Med* 13:109–114, 2013.

KING D. **The future of industrial biorefineries**. *World Economic Forum*, 2010.

LEITE J.J.G.; BRITO E.H.S.; CORDEIRO R.A., BRILHANTE R.S.N.; SIDRIM J.J.C.; BERTINI L.M.; MORAIS S.M.; ROCHA M.F.G. **Chemical composition, toxicity and larvicidal and antifungal activities of *Persea Americana* (avocado) seed extracts**. *Rev Soc Bras Med Trop* 42:110–113, 2009.

LEITE S.A.F, LEITE B.S, CARRIÇO C.S, ROSA Y.G, Figueiredo M.T.D. **Biopolyol and Foam Production From Lemon Bagasse Liquefaction**. 65: p.376-381, 2018.

LIGUIRO R., FARACO V. **Biological processes for advancing lignocellulosic waste biorefinery by advocating circular economy**. *Bioresource Technology*, v. 215, p. 13-20, 2016.

LIU, T. X.; SPARKS JR., ALTON N. **Aphids on Cruciferous Crops Identification and Management**, 2001.

LOUSADA JUNIOR, J.E; NEIVA, J.N.M; RODRIGUEZ, N.M.; PIMENTEL, J.C.M.; LÔBO, R.N.B. **Consumo e digestibilidade de subprodutos do processamento de frutas em ovinos**. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v.34, n.2, p.659-669, 2005.

MACHADO, A. **Introdução às métricas da química verde: uma visão sistêmica**. Florianópolis: Editora da UFSC, 2014.

MARTINEZ, S.S.; EMDEN, H.F. **Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) caused by azadirachtin.** Neotropical Entomology, 30: 113-125, 2001.

MOREIRA, M.D.; PICANÇO, M.C.; SILVA E.M.; MORENO, S.C.; MARTINS, J.C. **Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas.** In: Venzon, M.; Júnior, T.J.P.; Pallini, A. Controle alternativo de pragas e doenças, p.89-120, 2005.

NÉEMAN I.; LISFSHITZ A.; KASHMAN Y. **New antibacterial agent isolated from the avocado pear.** Appl Microbol 1:470-473, 1970.

PÉREZ, A. T. E., CAMRGO, M., RINCÓN, P. C. N., MARCHANT, M. A. **Key challenges and requirements for sustainable and industrialized biorefinery supply chain design and management: A bibliographic analysis.** Renewable and Sustainable Energy Review, v. 69, p. 350-359, 2017.

RODRIGUEZ-SAONA C.; MILLAR J.G.; MAYNARD D.F.; TRUMBLE J.T. **Novel antifeedant and insecticidal compounds from avocado idioblast cell oil.** Chem Ecol 24:867–889, 1998.

RODRIGUES-SAONA, C.; TRUMBLE, J.L. **Biologically active aliphatic acetogenins from specialized idioblast oil cells.** Curr Org Chem 4: 1249-1260, 2000.

RODRIGUES, J. A.R. **Do engenho à biorrefinaria, a usina de açúcar como empreendimento industrial para a geração de produtos bioquímicos e biocombustíveis.** Química Nova, São Paulo, v.34, n.7,p. 1242-1254, 2011.

SALVADORI, J. R.; PEREIRA, P. R. V. S.; SILVA, M. T. B. **Manejo de pulgões.** Revenue Culture, v. 75, n. 1, p. 32-34, 2005.

SANTA-CECÍLIA L.V.C.; SANTA-CECÍLIA F.V.; PEDROSO E.C.; SOUZA M.V.; ABREU F.A.; OLIVEIRA D.V.; CARVALHO G.A. **Extratos de plantas no controle de *Planococcus citri* (Risso, 1813) (Hemiptera: Pseudococcidae) em cafeeiro.** Coffee Sci 5:283–293, 2010.

SEIDL, P. R. **Oportunidades e Desafios na Cadeia Produtiva do Biodiesel.** *Caderno de Química Verde*. N. 12, 2019.

SHELDON, R.A. **O fator E 25 anos depois: A ascensão da química verde e da sustentabilidade.** *Química Verde*, 2017 .

SILVA, M.B.; MORANDI, M.A.B.; JÚNIOR, T.J.P.; VENZON, M.; FONSECA, M.C.M.; PALLINI, A. Extratos de plantas e seus derivados no controle de doenças e pragas. **Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica.** p. 33-53, 2010.

SOLÓRZANO, F.; MIRANDA M. G. **Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agentes.** *Current Opinion in Biotechnology*, v. 23, p. 136-141, 2012.

STEIN U.; KLINGAUF F. **Insecticidal effect of plant extracts from tropical and subtropical species. Traditional methods are good as long as they are effective.** *J Appl Entomol* 110:160–166, 1990.

VAN EMDEN, H. F. **Handbook of agricultural entomology.** Wiley-Blackwell. p. 311, 2013.

VAN EMDEN, H. F.; HARRINGTON, R. **Aphids as crop pests.** Wallingford: CAB International. 717p, 2007.

VENDRAMIM, J.D. & CASTIIGLIONI E. **Aleloquímicos, resitência de plantas e plantas inseticidas.** p.113-128. In GUEDES, J.C.; COSTA, I.D. & CASTIGLIONI E. Bases e técnicas do manejo de insetos. Santa Maria : UFSM/CCR/DFS, Pallotti, 234 p., 2000.

VENZON, M.; PAULA, T.J.; PINTO, C.M.F.; OLIVEIRA, R.M.; BONOMO, I.S. **Insumos alternativos para o controle de pragas e doenças.** *Informe agropecuário*, 31: 108-115, 2010.

ZHOU C.H.; BELTRAMINI J.N.; FAN Y.X.; LU G.Q. **Conversão catalítica quimiosseletiva de glicerol como uma fonte biorrenovável para produtos químicos valiosos.** *Chem Soc Rev*. 2008, 37: p. 527-549, 2008.

2. CAPÍTULOS

2.1. Capítulo 1 – Síntese de biocomposto a partir de sementes de abacate

Resumo

Atividades agroindustriais geram os mais variados tipos de resíduos lignocelulósicos, muitas vezes com grande potencial a ser explorado. A semente de abacate é um destes resíduos com potencial bioativo a ser explorado levando em consideração o aprimoramento e desenvolvimento de técnicas que permitam maior aproveitamento, rendimento e valorização do resíduo. Neste contexto o conceito de biorrefinaria surge como uma alternativa interessante para transformação de resíduos em novos produtos, podendo destacar o tratamento termoquímico aplicando a tecnologia de liquefação. Neste sentido o objetivo deste trabalho foi explorar a eficácia do processo de liquefação na obtenção de biocompostos a partir da semente de abacate (*Persea americana Mill.* (Lauraceae)) (Margarida). Para isso a biomassa foi previamente desidratada, pulverizada e caracterizada. Na sequência os biocompostos foram obtidos por meio da liquefação da biomassa, explorando combinações de proporções entre solvente/biomassa que variaram de 2:1, 3:1 e 5:1 m/m, e o tempo variando entre 30, 60 e 90 minutos, à temperatura e pressão constante (120 ± 2 °C e $1,98 \pm 0,2$ atm) em autoclave. Os rendimentos obtidos variaram entre 38 a 60% m/m, mediante comparações com achados da literatura cerca de 10% m/m, pode-se inferir que o processo se mostrou eficiente no que tange o aproveitamento da biomassa. Os valores de $p < 0,05$ demonstraram que ambos os fatores (proporção x tempo) podem ser responsáveis pelo rendimento observado mesmo quando analisados separados ou combinados. O teste de médias apontou o biocomposto (AAA) que experimentou a combinação de 2:1/30 (solvente/biomassa/tempo) como o que apresentou maior rendimento ($60,3 \pm 0,9$ % m/m), o qual apresentou viscosidade de 116 mPa e pH 5,01 não exibindo variações significativas quando submetido a diluições. Por meio de espectroscopia FT-IR podemos inferir que os constituintes do biocomposto possui grupos funcionais similares a estruturas de moléculas como: as acetogeninas, furanos e compostos fenólicos, que também foram detectadas em extratos preparados a partir da semente de abacate, utilizando outras técnicas analíticas como HPLC e RMN H, investigadas em outros estudos, as quais foram atribuídas alguma atividade inseticida. Ainda investigando a eficiência da técnica de liquefação, ao preparar biocompostos a

partir da biomassa do nim observando as combinações anteriores utilizadas, comparou suas digitais espectrais com a do Azamax[®] inseticida comercial formulado a base do nim. Os resultados revelaram que os grupos funcionais não se sobrepuseram. Por outro lado, o processo de liquefação foi eficaz em liquefazer a biomassa da semente de abacate, o que sinaliza possível presença de constituintes bioativos nos biocompostos investigados. Entretanto novas pesquisas são necessárias para avaliar a(s) molécula(s) constituintes, a fim de maximização do processo.

2.1.1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas o mercado consumidor vem exigindo produtos cuja produção agrícola esteja pautada em valores de sustentabilidade. Sendo assim, surge a necessidade de exploração efetiva de toda cadeia produtiva, inclusive o potencial dos resíduos gerados (BARRET et al., 2005; ISMAN, 2006; BAKKALI et al., 2008; CARVALHO, 2020).

Nesta vertente a produção e consumo do abacate *Persea americana Mill.* (Lauraceae) e seus derivados é crescente no mundo. Em 2019, no Brasil foi produzido cerca 242.932 toneladas, sendo a variedade Margarida uma das mais consumidas. Geralmente são destinados ao consumo da polpa *in natura*, e de seus óleos a fabricação de cosméticos e derivados. Estima-se que deste montante cerca de 16 % m/m do peso bruto é representado pelas cascas e sementes, e apesar de pesquisas sinalizarem o potencial de exploração de moléculas bioativas de interesse diversos, podendo ser considerada uma biomassa potencial, por vezes são descartadas como resíduos (MOUCO et al. 2012; CARVALHO, 2020; IBGE 2020).

Na literatura observam-se diversos estudos que relatam a presença de compostos bioativos em produtos derivados do abacate oriundos das casca, polpa e sementes, destacando efeitos fitoterápicos, nutricionais, medicinais na saúde humana, e atividade inseticida (NÉEMAM et al. 1970; STEIN & KINGAUF 1990; RODRIGUEZ-SAONA et al. 1998; ABE et al. 2005; LEITE et al. 2009; CHIA & DIKES 2010; SANTA-CECÍLIA et al. 2010; CARVALHO 2011; JIMÉNEZ-ARELLANES et al. 2013; ADESINA et al. 2016; CARDOSO et al. 2017; CARVALHO et al. 2020).

Levando em consideração a exploração e valorização de compostos bioativos derivados da casca, folhas e sementes, o nim (*Azadirachta indica* A. Juss) pertencente à Família Meliaceae, vem se destacando em pesquisa no que se refere o segmento agrícola explorando sua atividade inseticida, devido a presença de constituintes como azadiractina um imunossupressor, que pode interferir no comportamento alimentar, no desenvolvimento e reprodução de muitos insetos, além de apresentarem baixa toxicidade a mamíferos (SCHMUTTERER, 1990, MARTINEZ & VAN EMDEN, 2001). Tais características fomentam o mercado de defensivos agrícolas e várias formulações derivadas do nim como o Azamax[®] comercializado no Brasil indicado para controle de insetos-praga tem chamado atenção (MARTINEZ & EMDEN, 2001; COX, 2001; BOEKE et al., 2004; ISMAN, 2006).

Nesta perspectiva o conceito de biorrefinaria surge como uma alternativa interessante para se explorar, aproveitar e valorizar biomassas potenciais como estas, caracterizadas como lignocelulósicas, que por meio de diversos processos como os termoquímicos, aplicando a técnica de liquefação e ainda utilizando um solvente que atenda os preceitos da química verde, pode transformá-las em novos produtos com perspectiva de mercado (KING, 2010; RODRIGUES et al. 2011; GHATAK, 2011). Conforme LEITE et al. (2018), o processo de liquefação baseia-se em sintetizar novos produtos a partir dos componentes oriundos da biomassa a temperatura e pressão controlada, explorando combinações de proporção entre o solvente/biomassa e o tempo, mediante a elaboração do planejamento fatorial destas combinações a fim de maximização do processo, resultando na monomerização do solvente e os constituintes da biomassa.

DEMIRBAS (2000), enfatizou que a biomassa pode ser liquefeita por meio da decomposição de seus constituintes em moléculas menores e instáveis, sendo assim podem se repolimizarem formando compostos diversos como os óleos de cadeias longas. LEITE et al. (2018), aplicaram a técnica de liquefação observando o conceito de química verde na exploração e valorização de diferentes biomassas lignocelulósicas e obteve biopolióis, onde observaram que os rendimentos podem ser variáveis de acordo com características da biomassa utilizada.

Contudo diante do exposto, a aplicação da técnica de liquefação observando os preceitos da química verde, levando em conta a possibilidade de aumentar rendimentos em aproveitamento da biomassa de semente de abacate e extração de

constituintes bioativos se torna interessante. Levando em consideração estudos anteriores como o trabalho apresentado por CARVALHO et al. (2020), que obtiveram rendimentos em torno de 10 % m/m ao prepararem extratos a partir da semente de abacate utilizando solventes como água, etanol, hexano, diclorometano, acetato de etila e solução hidroalcolólica, e observaram atividade inseticida frente a *Bemisia tabaci* (GENNADIUS, 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae) inseto-praga.

Ressalta-se que até o momento, não foram localizados na literatura, estudos investigando a eficácia da técnica de liquefação da biomassa da semente abacate e nim, nem mesmo do seu rendimento. Também não há relatos acerca da caracterização e comparação das digitais espectrais dos principais grupos funcionais constituintes destas biomassas e biocompostos, por meio de espectroscopia FT-IR, com foco na bioatividade já reconhecida anteriormente de compostos derivados da semente de abacate.

Sendo assim neste Capítulo 1 sementes de abacate foram coletadas, processadas e caracterizadas, na sequência realizou a interpretação dos resultados e comparou suas digitais espectrais com a biomassa do nim, para elaboração do planejamento fatorial a ser seguido para obtenção dos biocompostos mediante processo de liquefação. Na sequência, investigou-se a eficácia do processo de liquefação na obtenção de biocompostos a partir da semente do abacate (*Persea americana* Mill. (Lauraceae)) (Margarida) e folhas do nim (Meliaceae), posteriormente determinou o rendimento do processo para a biomassa da semente de abacate, e separou o biocomposto que apresentou maior rendimento para análises de viscosidade e pH. Ainda comparou as digitais espectrais dos biocompostos com objetivo de identificar grupos funcionais similares a perfis de moléculas apontadas na literatura como responsáveis por alguma atividade inseticida observada.

2.1.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1.2.1. Obtenção das sementes de abacate

As amostras de abacate foram coletadas de abacateiro da cultivar Margarida no período de safra entre março e maio de 2021, no setor de Olericultura da UFV Campus Florestal (Lat. 19° 52' 25" S, Long. 44° 25' 02") situado no município de Florestal – MG.

Após o amadurecimento dos frutos, as sementes foram retiradas e armazenadas em freezer a uma temperatura de -4 °C, a fim de manter sua integridade e disponibilidade durante todo período do estudo. Posteriormente as sementes (cerca de 5,00 kg) foram cortadas em seis partes iguais e submetidas ao processo de desidratação utilizando uma estufa de recirculação (TECNAL TE 394/3) por 10 dias a temperatura de 75 °C, a fim de secar as amostras e manter a integridade dos componentes com baixa cadeia carbônica que podem degradar a temperaturas próximas a 100 °C e conseqüentemente, a determinação da umidade da biomassa.

Para o cálculo de percentagem de desidratação foram separados 429,32 g das sementes de abacate pesado em balança semi-analítica (BEL MARK S 2202). Após as amostras permanecerem na estufa por cerca de 10 dias, quando foi observado peso constante em três medições consecutivas em intervalos de 12 h, restando a base seca (BS). Por fim, em posse destes dados foi possível calcular a percentagem de desidratação da semente de abacate utilizando a Equação 1.

$$\% \text{ de desidratação} = \frac{\text{Massa inicial} - \text{Massa final}}{\text{Massa inicial}} \times 100 \quad (\text{Eq.1})$$

Posteriormente a amostra total foi pulverizada a granulometria de 0,5 mm (biomassa), utilizando um moinho de facas (TIPO WILLYE – TE650), em seguida foi identificada, caracterizada, armazenada onde permaneceu até ser utilizada no processo de liquefação.

Figura 1: Sequência para obtenção do pulverizado da semente de abacate



A. Retirada das sementes; **B.** Cortes nas sementes; **C.** Sementes cortadas; **D.** Fração separada e aferida para cálculo de desidratação; **E.** Sementes em processo de desidratação; **F.** Aferição final após desidratação; **G.** Moinho de facas utilizado; **H.** Sementes de abacate pulverizada

2.1.2.2. Caracterização das sementes

Análises imediatas

- ***Percentual de Umidade Intrínseca***

Após a biomassa da semente de abacate ter passado pelo processo de desidratação e posteriormente pulverizada em moinho de facas procedeu-se com as análises imediatas. O processo iniciou-se com a separação de 8 cadinhos de porcelana, que passaram por processo de limpeza, secagem em estufa (ETHIK TECHNOLOGY 402-5D) a 105 °C por 1h, e foram transferidos para o dessecador onde permaneceram até que restaurassem a temperatura ambiente (25 °C). Nesta etapa, a partir da amostra desidratada e pulverizada, separou-se 8 amostras (biomassa da semente de abacate) contendo aproximadamente 1,0000 g que foram submetidos a identificação e pesagem e transferidas para os cadinhos (BALANÇA ANALÍTICA SHIMADZU AU220). Foram anotados os valores correspondentes e em seguida levadas para estufa à 105 °C onde permaneceram por 1h. Após, foram transferidos para o dessecador até restauração da temperatura ambiente, e por fim foram submetidos a nova pesagem individual.

Em posse destes dados foi possível calcular o Percentual de Umidade Intrínseca contida em 1,0000 g de amostra volatizada à 105 °C em 1h, utilizando a equação 2 abaixo, conforme adaptação da metodologia analítica em atmosfera controlada (ASTM E 1756 - 08).

$$\% \text{ de umidade} = \frac{Min - (Mfi - Mca)}{Min} \times 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde: i) *Mca*: Massa do cadinho de porcelana; ii) *Min*: Massa inicial da biomassa; iii) *Mfi*: Massa final (após).

Após o cálculo individual de percentagens das 8 amostras que pode ser observado (Apêndice C), foi realizado a média entre os resultados obtidos para maior abrangência e representatividade amostral.

- **Percentual de Matéria Volátil**

Foram separadas 8 alíquotas do pulverizado das sementes de abacate, contendo aproximadamente 1,0000 g, e acondicionou-se à cadinhos de porcelana previamente preparados conforme procedimento anteriormente citado (item 1.2.2 a) ... preparação dos cadinhos), seguindo para mufla (FORNITEC 10x12x15) a 750 °C por 7 minutos. O processo ocorreu quando a fração volátil contida na biomassa foi degradada sobrando no cadinho compostos inorgânicos.

Em posse destes dados foi possível calcular o Percentual de Matéria Volátil contida em 1,0000 g de amostra volatizada à 750 °C em 7 minutos, utilizando a Equação 3 abaixo, conforme adaptação da metodologia analítica em atmosfera controlada (ASTM D5832 - 98).

$$\% \text{ Matéria Volátil} = \frac{Min - (Mfi - Mca)}{Min} \times 100 \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde: i) *Mca*: Massa do cadinho de porcelana; ii) *Min*: Massa inicial da biomassa; iii) *Mfi*: Massa final (após).

Após o cálculo individual de percentagens das 8 amostras que pode ser observado (Apêndice D), foi realizado a média entre os resultados obtidos para maior abrangência e representatividade amostral.

- **Percentual de Cinzas**

Para o cálculo de percentual de cinzas, 8 cadinhos foram preparados e separadas 8 alíquotas da biomassa (semente de abacate) conforme descrito

anteriormente (item 1.2.2 a) ... preparação dos cadinhos). As amostras foram submetidas à degradação térmica em mufla a 650 °C por 1h, quando a matéria volátil da massa foi liberada, em seguida foram transferidas para o dessecador, onde permaneceram até restauração da temperatura ambiente. Sendo o que sobrou no cadinho correspondente a cinzas que foram submetidos a nova pesagem individual.

Em posse destes dados foi possível calcular o Percentual de Cinzas contida em 1,0000 g de amostra, utilizando a Equação 4 abaixo, conforme adaptação da metodologia analítica de degradação térmica em atmosfera controlada (ASTM D 3174).

$$\% \text{ de Cinzas} = \frac{(Mca + Min) - Mfi}{(Mca + Min)} \times 100 \quad (\text{Eq. 4})$$

Onde: i) *Mca*: Massa do cadinho de porcelana; ii) *Min*: Massa inicial da biomassa; iii) *Mfi*: Massa final (após calcinação)

Após o cálculo individual de percentagens das 8 amostras que pode ser observado (Apêndice E), foi realizado a média entre os resultados obtidos para maior abrangência e representatividade amostral.

- **Percentual de Carbono Fixo**

A percentagem de carbono fixo (FC) foi calculada, de forma indireta, a partir da soma das médias de percentagens de Umidade, Cinzas e Matéria Volátil obtidas anteriormente, subtraído de 100%, explorando a Equação 5 abaixo, conforme adaptação da metodologia analítica de degradação térmica em atmosfera controlada (ASTM D 3174).

$$\% \text{ de Carbono Fixo} = 100 \% - (\% \text{ Umidade} + \% \text{ Cinza} + \% \text{ Matéria Volátil}) \quad (\text{Eq. 5})$$

- **Caracterização via espectroscopia FT-IR**

Nesta etapa investigou-se os possíveis e principais grupos funcionais constituintes das amostras (biomassas) de semente de abacate e folhas do nim, esta última adquirida do mercado on-line, fornecido pela empresa SKYRUNBR (Marca: Pó

de neem), oriunda de folhas desidratadas da árvore do nim (*Azadirachta indica*), também submetido a pulverização a granulometria de 0,5 mm, com objetivo padronização física das biomassas e comparações. Para isso uma pequena alíquota da amostra do pulverizado (biomassas) de ambos foram submetidas a análise de varredura e caracterização dos grupos funcionais constituintes, obtidos a partir de um espectrômetro Perkin Elmer Frontier FTIR com acessório ATR.

O procedimento baseou-se na limpeza do equipamento com Acetona P.A, calibração e adição do disco com concavidade indicado para análises de amostras no estado sólido. Em seguida com auxílio de espátula adicionou a amostra na concavidade da superfície do disco onde fica posicionado o cristal de ATR (germânio). Posteriormente com auxílio de uma ponteira ajustada perfeitamente ao côncavo do disco, comprimiu-se a amostra até calibração de 100 “Force Gouge”, e obteve-se as digitais espectrais de cada amostra, que é única para cada composto químico. O procedimento se repetiu entre análises (limpeza, calibração, adição de amostras e arquivamento de dados).

As digitais espectrais obtidas revelaram os principais grupos funcionais constituinte de cada amostra impressas em bandas variando de 4000 a 500 cm^{-1} (Transmitância), que sugeriram a presença de determinados compostos químicos na amostra. Sendo assim os resultados de ambas amostras foram comparados a fim de detecção de similaridades, e contribuíram para elaboração do Planejamento fatorial utilizado no processo de liquefação das biomassas. Os espectros foram tratados pelo software Perkin Elmer Spectrum V10.03.06.0100 e ajustados em Microsoft Excel. As atribuições das bandas observadas nos espectros, foram analisadas conforme BARBOSA, 2007.

2.1.2.3. Liquefação

O processo de liquefação foi realizado em Autoclave (LEE et al., 2016) em delineamento inteiramente casualizado (DIC) contendo 9 tratamentos a partir da biomassa da semente de abacate, o mesmo (9) para biomassa da folha do nim. Cada tratamento foi submetido a 6 repetições representado por um Erlenmeyer.

Para padronização experimental e adaptação, o vaso reacional utilizado no processo foi o Erlenmeyer 125 mL, que passou pelo processo de limpeza, secagem, identificação e aferição do peso inicial (tara) (balança analítica Shimadzu AU220), em

seguida cada um recebeu aproximadamente entre 10,00 a 25,00 g de solvente, Glicerina P.A. 99,5% (ALPHATEC). A variação da massa do solvente obedece ao planejamento fatorial, bem como o tempo reacional apresentado (Tabela 1).

Tabela 1: Planejamento fatorial do processo de liquefação

BIOCOMPOSTO	Nº REPETIÇÕES	SOLVENTE* / BIOMASSA % (m/m)	TEMPO (MINUTOS)
A¹A²A³	6	2:1	30
A¹A²B³	6	2:1	60
A¹A²C³	6	2:1	90
A¹B²A³	6	3:1	30
A¹B²B³	6	3:1	60
A¹B²C³	6	3:1	90
A¹C²A³	6	5:1	30
A¹C²B³	6	5:1	60
A¹C²C³	6	5:1	90

Legenda: Pulverizado da biomassa de abacate (**A¹**), Proporção 2:1 solvente/biomassa (**A²**), Proporção 3:1 solvente/biomassa (**B²**), Proporção 5:1 solvente/biomassa (**C²**), Tempo de liquefação 30 minutos (**A³**), Tempo de liquefação 60 minutos (**B³**), Tempo de liquefação 90 minutos (**C³**), * Glicerina P.A. (99.5 %)

Cada vaso reacional recebeu cerca de 5,00 g de pulverizado de semente de abacate (biomassa), conforme definido no Planejamento fatorial. Imediatamente com bastão de vidro procedeu-se com a homogeneização entre solvente e biomassa, e logo após cada vaso reacional foi tampado com folha de alumínio de aproximadamente 0,2 mm de espessura, a fim de minimizar contaminações externas antes e durante o processo de liquefação dentro da autoclave.

As amostras foram transferidas para autoclave previamente aquecida, e sem demora foi lacrada para continuidade do aquecimento até temperatura e pressão final fixa (120 °C e 1,98 kgf/cm² respectivamente), sendo respeitado o tempo preestabelecido (Tabela 1).

O tempo de arrefecimento e despressurização da autoclave foi de aproximadamente 30 minutos, conforme descrito por LEITE et al. (2018). Após atingirem a temperatura ambiente cada amostra passou pelo processo de filtração a vácuo (TECNAL SCRUBBER TE-132), em papel filtro previamente identificado e

pesado (UNIFIL QUANTITATIVO C40 (125mm)). Aproximadamente 10,0 mL Álcool Etilíco ABS P.A – ACS (DINÂMICA) foi utilizado em cada amostra, para auxiliar na transferência e lavagem de todo produto liquefeito. Assim obteve-se a fração sólida retida no papel filtro e a fração líquida no Kitasato (1000 mL).

A fração líquida (biocompostos) de cada filtragem passou pelo processo de evaporação do solvente (Álcool) em rotaevaporador rotativo a 50° C e pressão de 600 mmhg (IKA RV10 DIGITAL), a fim de assegurar a integridade física e química dos biocompostos obtidos no processo. Posteriormente foram armazenados sob abrigo da luz em tubos falcon de 50 mL devidamente identificados em freezer vertical (CONSUL 210 L) a temperatura variável de 1 a 5° C, e assim permaneceram até etapas posteriores (caracterização e bioensaios).

No que se refere a fração sólida de cada filtragem, retida em papel filtro devidamente identificado e pesado anteriormente, esta foi reunida em vidro de relógio anteriormente preparados (secos, limpos, identificado e aferidos peso inicial), e levados para secagem e evaporação do solvente (Álcool Etilíco) e outros voláteis a temperatura constante de 105 ± 1 ° C em estufa (ETHIK TECHNOLOGY 402-5D), onde permaneceu por 15 dias, quando foi observado o peso final constante em três medições consecutivas em intervalos de 12 h. Por fim, passou por pesagem em balança analítica (SHIMADZU AU220), e calculou-se o rendimento do processo de liquefação específico de cada combinação anteriormente prevista no Planejamento fatorial (Apêndice F), conforme será detalhado na sequência.

- **Determinação da eficiência da liquefação**

A partir da fração sólida residual pós liquefação, foi possível calcular a eficiência do processo para cada combinação específica prevista (Tabela 1).

Foram utilizadas as massas aferidas, da biomassa antes do processo de liquefação, do papel filtro utilizado em cada respectiva filtragem e de cada vidro de relógio que recebeu o papel filtro, e por fim a massa final resultante de cada filtragem, após secagem em estufa (15 dias à 105 °C). Em posse destes dados foi possível calcular a percentagem do rendimento do processo de liquefação em aproveitamento da biomassa de semente de abacate para cada biocomposto (Apêndice F), utilizando a equação 6.

$$\% \text{ rendimento} = \frac{M_{bi} - (M_{fi} - (M_{vi} + M_{pa}))}{M_{bi}} \times 100 \quad (\text{Eq. 6})$$

Onde: i) M_{bi} : Massa da biomassa inicial; ii) M_{fi} : Massa final (Massa do vidro de relógio + Massa do papel filtro + Massa da biomassa final); iii) M_{vi} : Massa do vidro de relógio; iv) M_{pa} : Massa do papel.

Os dados passaram por análise estatística GLM (Generalized Linear Model) Binomial 3x3 programa estatístico R 4.0.0 (R Core Team, 2020), e teste de médias possibilitando apontar qual fator ou combinação que influenciou na eficiência em liquefazer a biomassa.

Para determinação da continuidade dos testes, o parâmetro de seleção foi o rendimento da liquefação. A partir deste momento o biocomposto obtido a partir da biomassa da semente de abacate que apresentou maior rendimento foi separado, comparado e analisado, considerando o parâmetro de escoamento (viscosidade), potencial hidrogeniônico e digitais espectrais via FT-IR.

2.1.2.4. Caracterização do biocomposto

- **Viscosidade**

Nesta etapa a partir do biocomposto obtido da biomassa da semente de abacate que apresentou maior rendimento no processo de liquefação, realizou-se análise da sua viscosidade em Viscosímetro Brookfield DV-II a 25°C tomando-se medidas pelo maior percentual de torque possível, sempre acima de 10 %, sendo o resultado analítico aplicado a equação 7 para obtenção do resultado final (Viscosidade).

$$\eta = k \times \alpha \quad (\text{Eq. 7})$$

Onde η é a viscosidade absoluta (mPa.s); k é o coeficiente (valor tabela para o viscosímetro) e α é a leitura indicada pelo ponteiro (ângulo de deflexão).

Por fim, o resultado foi comparado com o dado do solvente utilizado no processo de liquefação (Glicerina P.A).

- **Potencial hidrogeniônico**

Podemos considerar nesta etapa que conhecer o potencial hidrogeniônico de um produto, solução preparada bem como dos diluentes que serão utilizados para preparação das soluções a serem aplicadas é fundamental.

Sendo assim, a partir do biocomposto obtido da biomassa da semente de abacate que apresentou maior rendimento no processo de liquefação, e do produto formulado (Azamax[®]), preparou-se diluições (10X, 50X, 100X) em água destilada. Em seguida utilizando medidor de pH digital (PHMETRO ALFAKIT AT-355) anteriormente calibrado com seus respectivos padrões, mediu-se o pH dos produtos e soluções preparadas, logo após os resultados foram comparados e podem ser observados na Tabela 4.

- **Caracterização via espectroscopia FT-IR**

Neste momento investigou-se os possíveis e principais grupos funcionais constituintes dos biocompostos, com objetivo de comparação entre ambos. Para isso, amostras foram submetidas a análise de varredura e caracterização dos grupos funcionais constituintes, obtidos a partir de um espectrômetro Perkin Elmer Frontier FTIR com acessório ATR.

As digitais espectrais obtidas revelaram as características dos grupos funcionais constituintes de cada biocomposto impressas em bandas variando de 4000 a 500 cm^{-1} (Transmitância), que podem sugerir a presença de determinados compostos químicos na amostra. Sendo assim os resultados de ambas amostras foram comparados a fim de detecção de similaridades de grupos constituintes, aos quais foram comparados com perfis de algumas moléculas relatadas em literatura como responsáveis por alguma bioatividade observada. Os espectros foram tratados pelo software Perkim Elmer Spectrum V10.03.06.0100 e ajustados em Microsoft Excel. As atribuições das bandas observadas nos espectros, foram analisadas conforme BARBOSA, 2007.

Contudo, observando o mesmo Planejamento fatorial (Tabela 1) elaborado para produção dos biocompostos oriundos da biomassa da semente do abacate, foram produzidos biocompostos a partir da biomassa da folha do nim para efeito de comparações. Para isso, foram adquiridas do mercado, pó de folhas desidratadas oriundas da árvore do nim (SKYRUNBR (Marca: Pó de neem)), com intuito de

investigar se a técnica de liquefação adotada, bem como as combinações estabelecidas para biomassa de semente de abacate seria capaz de liquefazer da biomassa da folha do nim e sintetizar compostos bioativos, já reconhecidos anteriormente no que tange aplicação de outras técnicas como extração e formulações comerciais a partir do nim. Para isso os grupos funcionais de ambos foram comparados.

Ainda nesta etapa foi adquirido do mercado local um inseticida formulado a base do nim (Azamax[®]), recomendado para controle de pragas agrícolas. Posteriormente também foi submetido a mesma análise citada acima, com intuito de obtenção das suas digitais espectrais, para posteriores comparações com os biocompostos sintetizados a partir da bioamassa do nim mediante liquefação, e atribuições à atividade inseticida a ser observada em bioensaios no Capítulo 2.

O fluxograma geral do processo de obtenção dos biocompostos e demais etapas relatadas no Capítulo 1 encontra-se no Apêndice B.

2.1.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.1.3.1. Análises imediatas – caracterização da biomassa

Liquefazer uma biomassa e obter a partir desta um novo produto é dependente da sua composição química e das suas características físicas. Conforme LEITE et al. (2018), conhecer o teor de material volátil e fixos (carbono) contidos na biomassa pode ajudar a traçar a probabilidade de se encontrar no produto resultante da liquefação a 120°C, composto aromáticos como pectinas, flavonóides, dentre outros (DEMIRBAS, 2000; RAFIQUUL et al. 2000).

Sendo assim estão listados na Tabela 2 os resultados das análises imediatas que foram realizadas na biomassa (semente de abacate e pulverizado de semente de abacate), a fim de traçar o seu perfil.

No que se refere ao preparo inicial das sementes de abacate, vale destacar a eficiência do processo de desidratação adotado que alcançou, cerca de 70 % m/m na redução da massa inicial, o que possibilitou melhor desempenho da etapa seguinte (pulverização).

Observando o resultado correspondente à percentagem de matéria volátil (Tabela 2), cerca de 87 % contida na biomassa de semente de abacate, podemos inferir conforme LEITE et al. (2018) que estas podem ser liquefeitas no processo e serem parte constituinte do produto final (biocomposto). Por outro lado, a parte não liquefeita correspondente a cinzas, que pode também ser chamada de compostos inorgânicos representaram apenas $2,42 \pm 0,34$ % m/m, fato este que vem colaborar com a viabilidade da técnica de liquefação para obtenção de biocompostos a partir de sementes de abacate, pois conforme BRIONES et al. (2011) caso fossem obtidos números elevados do teor de cinzas o rendimento do processo poderia ser comprometido.

No que diz respeito ao carbono fixo o valor de 3,80 % m/m (Tabela 2), pode ser interpretado segundo LEITE et al. (2018), como a presença de compostos orgânicos de cadeia longa, como a celulose.

2.1.3.2. Caracterização via espectroscopia FT-IR da biomassa

Os espectros FT-IR das biomassas de semente de abacate e de nim, demonstraram similaridade em alguns grupos funcionais analisados na variação das bandas de 4000 a 500 cm^{-1} (Transmitância) (Figura 2). Podemos destacar a presença em comum da banda de absorção de 3296 cm^{-1} atribuída ao grupo OH, que são bandas características de fenol, álcool e ácido carboxílico. No entanto, observando o formato da banda configurado como sino, instrui a interpretação da presença de alcoóis e fenóis que pode ser ressaltada com a observação das bandas de absorção atribuída ao estiramento da ligação C-O observada na região de 1250-1000 cm^{-1} (BARBOSA,2007).

Os estiramentos observados em 2922 e 2856 cm^{-1} podem ser atribuídos à presença de grupos CH, CH₂ e CH₃ provavelmente devido a presença de compostos que possuem cadeia alifáticas (alcanos, grupo alquila, ácido graxo, etc.) (BARBOSA, 2007; IBRAIM, 2006).

Às bandas de estiramento entre 1440 e 1239 cm^{-1} podemos atribuir a ligações C-OH característica de fenóis (BOERIU, 2004). Também pode ser notado aumento significativo na intensidade da vibração do estiramento entre 1029 e 1007 cm^{-1} atribuídas a presença de ligações C-O, quando comparado às digitais espectrais do nim e semente de abacate. Esta variação de intensidade pode ser atribuída a

diferença no momento dipolo das moléculas constituintes, ramificações e número de ligações, por outro lado podemos inferir observando num contexto geral a presença de derivados fenólicos (WILLIANS & FLEMING, 1995; BARBOSA, 2007).

2.1.3.3. Eficiência do processo de liquefação

O processo de liquefação da semente de abacate se mostrou eficiente para todas as combinações estabelecidas no planejamento fatorial (Tabela 3). O biocomposto que experimentou combinação da proporção 2:1 (% m/m) solvente/massa e tempo reacional de 30 minutos (**AAA**), apresentou rendimento médio de cerca de $60,30 \pm 0,90$ % m/m, provavelmente por ser esta a combinação que mais favoreceu às condições testadas de variações entre as proporções no tempo suficiente para inibir que compostos fossem desestruturados por quebra das ligações, por precipitação ou fossem volatilizados.

Resultados similares foram apresentados por LEITE et al. (2018) ao liquefazerem biomassas diferentes obteve rendimentos superiores a 90 % m/m, mas utilizaram catalisador (Ácido Sulfúrico) e glicerol recuperado como solvente. Apesar dos rendimentos atrativos em aproveitamento das biomassas o uso deste tipo de catalisador pode ser um contraponto devido a sua toxicidade, principalmente se levarmos em consideração o propósito final de uso do biocomposto, como por exemplo um bioinseticida. Portanto neste trabalho optou-se por não usar nenhum tipo de catalisador e como solvente a glicerina P.A, a fim de manter a integridade, pureza do produto final e minimizar custos adicionais com possíveis purificações. Por outro lado, se levarmos em conta os rendimentos de cerca de 10 % m/m apresentados por CARVALHO et al. (2020) mediante a aplicação da técnica de extração utilizando solventes como a água e o etanol, podemos inferir que a técnica de liquefação foi mais eficaz no que tange o aproveitamento da biomassa da semente de abacate.

Pode-se considerar que o alto rendimento alcançado pelo processo de liquefação de semente de abacate mesmo sem a adição do catalisador pode ser atribuído ao alto teor de matéria volátil e baixo teor de cinzas, determinados anteriormente nas análises de caracterização da biomassa (BRIONES et al. 2011, LEITE et al. 2018).

A investigação do efeito das variáveis (tempo/solvente/biomassa) na eficiência do processo, mostraram que ambos os fatores influenciaram na eficiência do

processo, pois apresentaram $p < 0,05$ de significância, mesmo quando analisados simultaneamente. O teste de médias nos permitiu inferir que a melhor combinação entre proporção x tempo, foi a do biocomposto AAA que experimentou 2:1/30, conforme pode ser observado na Figura 3.

2.1.3.4. caracterização via FT-IR e comparações dos biocompostos

- **Biocomposto AAA (2:1/30) x biomassa da semente de abacate x glicerina**

Comparando os espectros do biocomposto AAA (2:1/30) e reagentes de partida (pulverizado de semente de abacate e glicerina P.A.), notamos que as bandas de absorção dos grupos funcionais constituintes de cada produto, não se sobrepuseram, o que sugere, que um novo produto foi formado (Figura 4). Observando os principais grupos funcionais que constituem o biocomposto AAA, podemos destacar a banda em formato de sino de $3395,3 \text{ cm}^{-1}$ referente ao grupo OH, que pode ser atribuída a presença de derivados de álcoois, fenóis e outros compostos que contenham o grupo. E em 1704 cm^{-1} podemos atribuir aos estiramentos das ligações C=O e C=C, característico de ácido carboxílico. Por fim observando as bandas de absorção em $1366,2 \text{ cm}^{-1}$, $1228,2 \text{ cm}^{-1}$ e 1050 cm^{-1} provavelmente são resultantes de vibrações das ligações C-O e C-O-H, que contribuem para inferir a presença de álcoois no composto com insaturação no carbono α (BARBOSA, 2007).

- ***Biocomposto AAA x demais biocompostos ambos obtidos da biomassa da semente de abacate***

Analisando o espectro do biocomposto AAA (2:1/30) o que apresentou maior rendimento frente aos demais biocompostos (Figura 5). Sendo tomando por base o traçado em negrito referente ao espectro do biocomposto AAA, nota-se que os grupos funcionais dos demais biocompostos se sobrepuseram, mas este apresentou maior intensidade em algumas bandas de absorção (ex. C=O). Conforme BARBOSA (2007), tal intensidade pode ser atribuída a diferença entre o momento dipolo causado pelas ligações, ou seja, quanto maior a ramificações maior diferença entre o momento dipolo e mais intensa é a vibração observado no espectro. Baseado nesse critério é possível sugerir que o maior rendimento observado na produção do biopoliol AAA, pode estar associado a presença de compostos com cadeias mais longas e ramificadas.

Comparando no geral os respectivos espectros levando em consideração os seus principais grupos funcionais constituintes já anteriormente relatado suas bandas de absorção, podemos inferir a presença de derivados de álcoois (acetogéninas), flavonóides, furanos e fenóis, os quais anteriormente já foram detectados em derivados do abacateiro mediante aplicação de técnicas como: a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e ressonância magnética nuclear de prótons (RMN H), em variados estudos, sendo parte destes reunidos por DING et al. (2007), onde apresentou possíveis estruturas (ver Apêndice A) de moléculas constituintes do metabólito secundário do abacateiro que apresentaram alguma bioatividade. Este fato abre perspectiva para o conhecimento destas moléculas e estudos sobre sua aplicação a campo no controle de pragas agrícolas.

Ressalta-se que apesar da identificação observada na literatura, o presente trabalho teve como objetivo avaliar uma técnica de síntese não usual para esses fins para obter um produto oriundo da biomassa de semente de abacate. Não ocorrendo a caracterização a nível de determinação estrutural molecular dos constituintes dos biocompostos obtidos.

- **Biocompostos obtidos a partir da biomassa do nim x Azamax®**

Comparando as digitais espectrais dos biocompostos obtidos do nim com produto formulado Azamax® (derivado do nim), este último indicado para o controle de pragas agrícolas (Figura 6). Nota-se que ambos não apresentaram similaridade dos grupos funcionais constituintes. A isto podemos atribuir ao estado de pureza do produto e a presença de outros constituintes parte da formulação do Azamax®, que podem conferir ao produto maior estabilidade, solubilidade, efetividade no campo, etc.

2.1.3.5. Caracterização e comparações do biocomposto AAA

- **Comparação da viscosidade do biocomposto AAA x solvente (glicerina)**

Segundo LEITE et al. (2018), uma das evidências de que a biomassa foi liquefeita é a comparação do aumento da viscosidade do solvente (glicerina P.A.) e o produto final (biocomposto). Sendo assim a viscosidade do biocomposto AAA (2:1/30 min) o que apresentou maior rendimento foi de 116,0 mPa. S⁻¹ a 30 °C e do solvente (glicerina P.A.) conforme dados do fabricante 95,0 mPa. S⁻¹ a 30 °C. Levando em

consideração que a viscosidade é uma propriedade de transporte dependente da densidade, os resultados obtidos apontaram que houve alteração na viscosidade do produto quando comparado ao reagente de partida, então podemos inferir que as características foram alteradas.

- **Comparações do pH do biocomposto AAA x Azamax®**

Conhecer o potencial hidrogeniônico (pH) do produto, solução preparada bem como dos diluentes que serão utilizados para preparo das soluções a serem utilizadas, pode ser determinante a depender do uso. CUNHA & ALVES (2009), ressaltaram que cada produto tem uma faixa de pH preferencial de ação de seus ingredientes ativos, que possibilita maior desempenho, eficácia, concentração e escolha da melhor técnica de aplicação no controle de pragas. Neste contexto vislumbrando o uso do biocomposto AAA (2:1/30 min) no controle de inseto-praga, o mesmo apresentou carácter ácido 5,01 e pouco variável mediante as diluições (10X, 50X e 100X) (Tabela 4) e não foi observado a presença de precipitado em todas as diluições (Figura 7).

Quando comparamos o pH do produto formulado Azamax® com o biocomposto AAA, ambos apresentaram variações similares frente a diluições (Tabela 4). Já no que refere ao aspecto físico notado diante das diluições, o Azamax® apresentou alteração visual considerável e pode ser notado mediante observação da Figura 8, passando do aspecto inicial oleoso de cor caramelo (puro), para solução leitosa, isto provavelmente devido à presença de constituintes que atuam para manter sua estabilidade, e outras funcionalidades desenvolvidas que são mantidas em segredo de patente comercial do produto.

2.1.3.6. Tabelas

Tabela 2: Análise imediata – Caracterização da biomassa da semente de abacate

Parâmetro (%)	Pulverizado de Semente de abacate (biomassa) (% m/m \bar{X})
Desidratação (10 dias)	70,38
Umidade Intrínseca	6,04 ± 0,78
Matéria Volátil	87,74 ± 2,59
Cinzas	2,42 ± 0,34
Carbono Fixo	3,80

Tabela 3: Rendimento do processo de liquefação da semente de abacate e combinações

BIOCOMPOSTOS	N (número de repetições)	SOLVENTE*/ BIOMASSA RAZÃO % (m/m)	TEMPO (MINUTOS)	RENDIMENTO MÉDIA Y (%)
A¹A²A³	6	2:1	30	60,30 ± 0,90
A¹A²B³	6	2:1	60	56,18 ± 1,95
A¹A²C³	6	2:1	90	47,39 ± 3,62
A¹B²A³	6	3:1	30	50,98 ± 6,59
A¹B²B³	6	3:1	60	49,09 ± 4,73
A¹B²C³	6	3:1	90	48,65 ± 6,04
A¹C²A³	6	5:1	30	48,60 ± 4,11
A¹C²B³	6	5:1	60	40,27 ± 3,23
A¹C²C³	6	5:1	90	38,34 ± 2,59

Legenda: Pulverizado da biomassa de abacate (**A¹**), **Proporção** 2:1 solvente/biomassa (**A²**), Proporção 3:1 solvente/biomassa (**B²**), Proporção 5:1 solvente/biomassa (**C²**), Tempo de liquefação 30 minutos (**A³**), Tempo de liquefação 60 minutos (**B³**), Tempo de liquefação 90 minutos (**C³**), * Glicerina P.A. (99,5 %)

Tabela 4: Diluições e análise do pH do biocomposto AAA e Azamax[®]

Amostra (23,0 ± 0,5 °C)	pH (produto)	pH (água/produto) 10X	pH (água/produto) 50X	pH (água/produto) 100X
Biopoliol AAA	5,01	5,03	5,16	5,30
Azamax [®]	4,86	4,78	5,02	5,28
Água destilada	6,03	-	-	-

2.1.3.7. Figuras

Figura 2: Espectro da biomassa da semente de abacate e biomassa da folha do nim

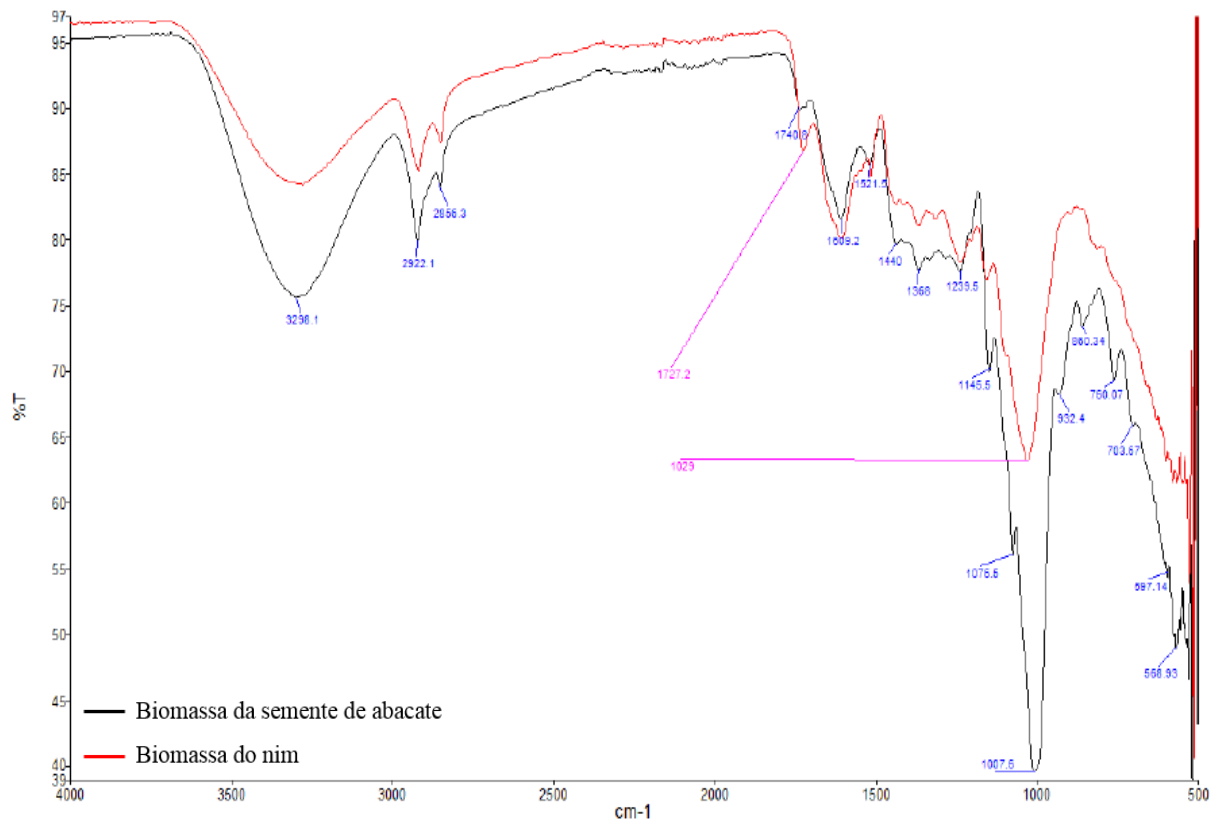
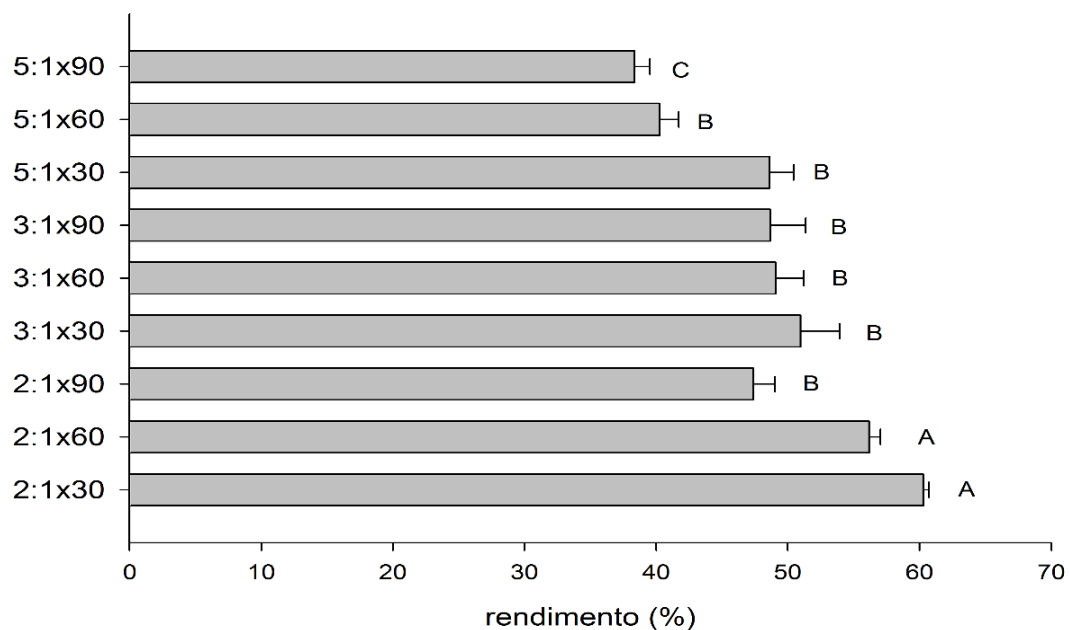
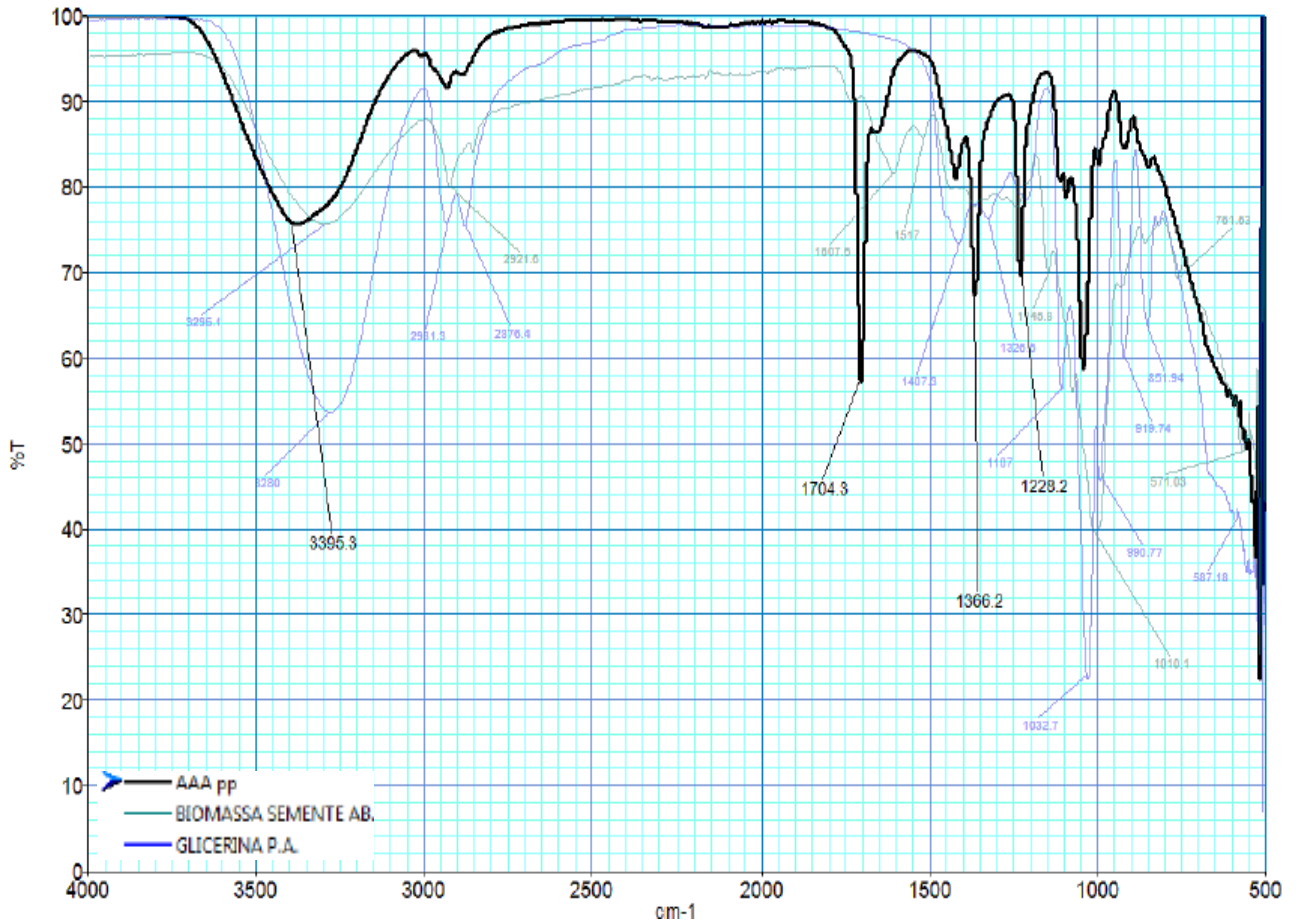


Figura 3: Gráfico do efeito da proporção x tempo x rendimento



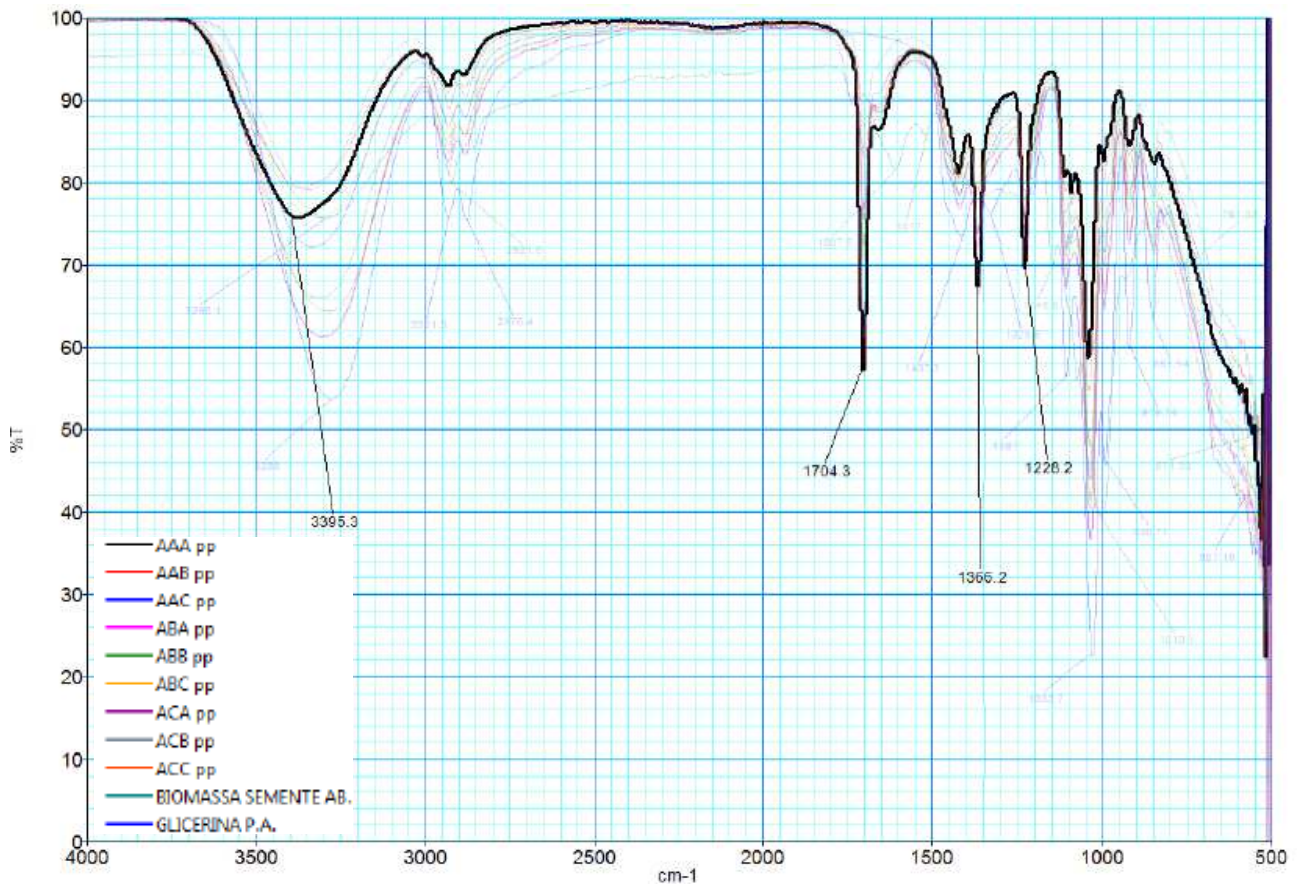
Obs: (proporções 2:1; 3:1; 5:1(solvente: biomassa da semente abacate (m/m)); 30; 60; 90 (tempo em minutos) experimentado no processo de liquefação; rendimento (%) (percentagem de biomassa liquefeita)

Figura 4: Comparação das digitais espectrais dos reagentes de partida e biocomposto AAA



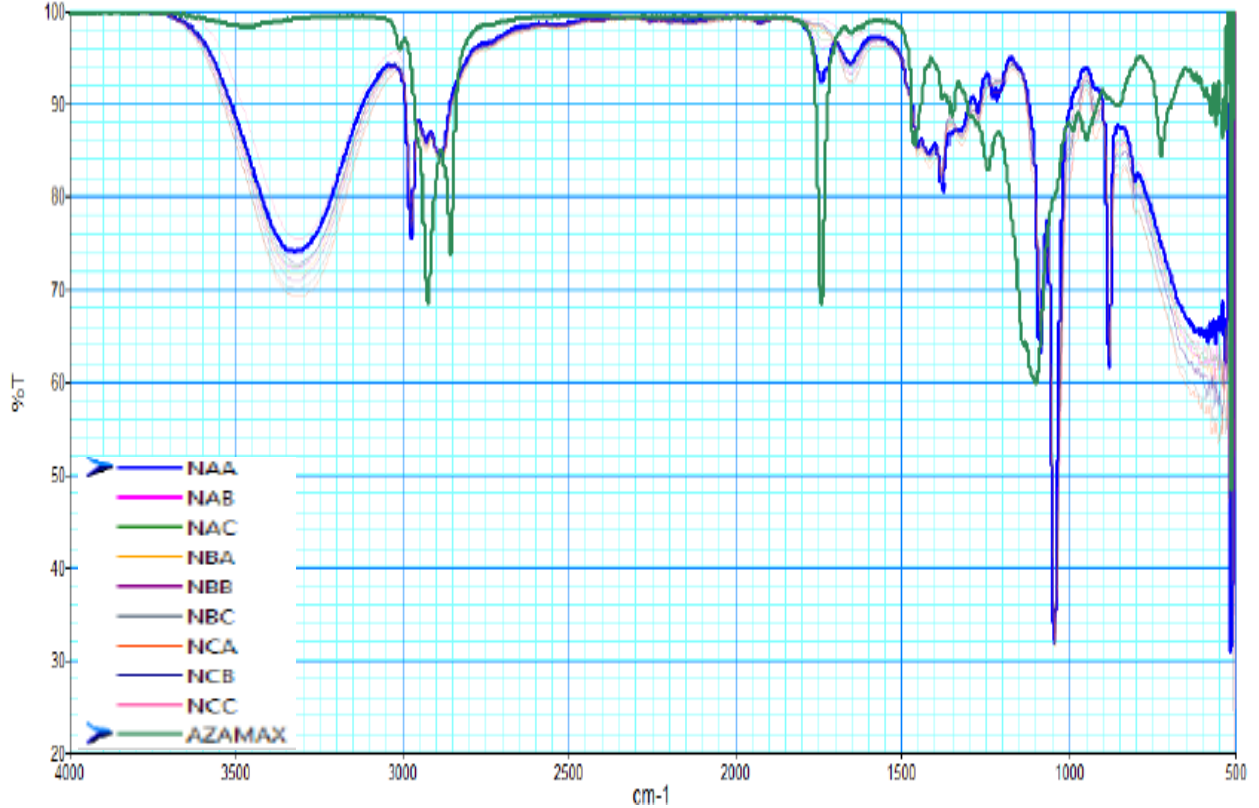
Obs: Reagentes de partida (biomassa da semente de abacate; glicerina P.A.) com o biocomposto AAA (2:1/30) (proporção (solvente:biomassa (m/m)) / tempo de liquefação em minutos)

Figura 5: Comparação dos espectros dos biocompostos da biomassa da semente de abacate e reagentes de partida



Obs: reagentes de partida (biomassa da semente de abacate; glicerina P.A.) – Combinações (solvente:biomassa da semente de abacate (m/m) / tempo de liquefação (minutos)): **AAA** (2:1/30); **AAB** (2:1/60); **AAC** (2:1/90); **ABA** (3:1/30); **ABB** (3:1/60); **ABC** (3:1/90); **ACA** (5:1/30); **ACB** (5:1/60); **ACC** (5:1/90).

Figura 6: Comparação dos espectros dos biocompostos da biomassa da folha do nim com Azamax®



Obs: Combinações (solvente: biomassa do nim (m/m) / tempo de liquefação (minutos)): **NAA** (2:1/30); **NAB** (2:1/60); **NAC** (2:1/90); **NBA** (3:1/30); **NBB** (3:1/60); **NBC** (3:1/90); **NCA** (5:1/30); **NCB** (5:1/60); **NCC** (5:1/90).

Figura 7: Comparação visual das diluições do biocomposto **AAA** (2:1/30) (proporção (solvente:biomassa (m/m)) / tempo de liquefação em minutos e Azamax®



2.1.4. CONCLUSÕES

Os resultados mostraram que a técnica de liquefação explorada neste trabalho se mostrou eficaz em liquefazer a biomassa das sementes de abacate, apresentando como uma alternativa interessante para exploração, valorização e aproveitamento deste resíduo. Em suma, as análises imediatas e o planejamento fatorial elaborado em observação destas se mostrou providencial para o rendimento alcançado em aproveitamento da biomassa. Além disso, as análises imediatas indicaram que a biomassa da semente de abacate pode ser explorada em processos termoquímicos como a liquefação, para síntese de novos produtos como o biocomposto. No entanto, técnicas como a liquefação devem ser avaliadas como um todo, e se necessário passarem por adaptações para torná-la economicamente viável. Assim, produzir biocomposto a partir das sementes de abacates, ao invés de descartá-las como resíduos do processamento da fruta, pode ser uma alternativa para prospecção de moléculas bioativas a serem exploradas, conforme demonstrado para o biocomposto AAA. Sendo assim, os resultados demonstraram a continuidade da exploração da atividade inseticida do biocomposto AAA, para o controle de pragas, e identificação dos seus constituintes, aplicando as mais variadas técnicas analíticas como espectrometria de massa, cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), ressonância magnética nuclear de prótons (RMN H) e outras.

2.1.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE F.; NAGAFUJI S.; OKAWA M.; KINJO J.; AKAHANE H.; OGURA T.; MARTINEZ-ALFARO M.A.; REYES-CHILPA R. **Trypanocidal constituents in plants 5. Evaluation of some Mexican plants for their trypanocidal activity and active constituents in the seeds of *Persea americana***. Biol Pharm Bull 28:1314–1317, 2005.

ADESINA J.M.; JOSE A.R.; RAJASHEKAR Y.; ILEKE K.D. ***Persea americana* (Mill.) seed extracts: potential herbal larvicide control measure against *Anopheles gambiae* Giles, 1902 (Diptera: Culicidae) Malaria vector**. Int J Mosq Res 3:14–17, 2016.

BARBOSA, L.C.A. **Espectroscopia no Infravermelho na caracterização de Compostos Orgânicos**. Editora UFV. 189 p, 2007.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; D.; IDAOMAR, M. **Biological Effects of Essential Oils**. A Review. Food and Chemical Toxicology, V.64, p.446-475, 2008.

BARRET, D.M.; SOMOGYI, L.P.; RAMASWAMY, H.S. **Processing fruits: science and technology**. 2. Ed. Boca Raton: CRC Press. 841p, 2005.

BOEKE, S.J.; BOERSMA, M.G. ALINK, G.M. van LOON, J.J.A.; van HUIS,A.; DICKE, M.; RIETJENS, M.C.M. **Safe evaluation of neem (*Azadirachta indica*) derived pesticides**. Journal of Ethnopharmacology, 94: 25-41. 2004.

BOERIU, C.G.; BRAVO, D.; GROSSELINK, R.J.A.; VAN DAM, J.E.G. **Characterization of struture-dependent functional properties of lignin with infrared spectroscopy**. Industrial Crops and Products. V.20, p.205-218, 2004.

BRIONES, R.; SERRANO, L.; LLANO-PONTE, R.; and LABIDI, J. **Polyols obtained from solvolysis liquefaction of biodiesel production solid residues**. *Chemical Engineering Journal*, vol. 175, no. 1, p.169–175, 2011.

CARVALHO, G. H. F.. **Insecticidal activity of ethanolic crude extract of *Persea americana* (lauraceae) on larvae and pupae of aedes aegypti (diptera, culicidae)**. Dissertação (Mestrado em Medicina) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 54 f, 2011.

CARVALHO, S.S.DE; RIBEIRO, L.D.; FORIM, M.R.; DA SILVA, M.F.G.; BICALHO, K.U.; FERNANDES, J.B.; VENDRAMIM, J.D. **Avocado kernels, an industrial residue: a source of compounds with insecticidal activity against silverleaf whitefly**. Environmental Science and Pollution Research, p. 1-9, 2020.

CARDOSO P.; SCARPASSA J.; PRETTO-GIORDANO L.; OTAGUIRI E.; YAMADA-OGATTA S.; NAKAZATO G.; PERUGINI M.; MOREIRA I.; VILAS-BÔAS G. **Antibacterial activity of avocado extracts (*Persea americana* Mill.) against *Streptococcus agalactiae***. Phytion 85:218–224, 2017.

CHIA T.W.R.; DYKES G.A. **Antimicrobial activity of crude epicarp and seed extracts from mature avocado fruit (*Persea americana*) of three cultivars**. Pharm Biol 48:753–756, 2010.

COX, C. **Pyrethrins/Pyrethrum**. Journal of Pesticide Reform, 22: 14-20, 2002.

CUNHA, J. P. A. R.; ALVES, G. S. **Características físicoquímicas de soluções aquosas com adjuvantes de uso agrícola**. *Interciência*, v. 34, n. 9, p. 655-659, 2009.

DEMIRBAŞ, A. **Mechanisms of liquefaction and pyrolysis reactions of biomass**. *Energy Conversion and Management*, vol. 41, no. 6, p. 633–646, 2000.

DING, H.; CHIN, Y.W.; KINGHORN, A.D., D'AMBRÓSIO, S.M. **Chemopreventive characteristics of avocado fruit**. Sem Cancer Biol 17: p. 386 – 394, 2007.

GHATAK H. R. **Biorefineries from the perspective of sustainability: Feedstocks, products and processes**. Renewable and Sustainable Energy Review, v. 15, issue 8, p. 4042-4052, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção Agrícola Municipal 2019**. Rio de Janeiro: IBGE, 2020.

IBRAHIM, M. et al. **Analysis of the structure and vibrational spectra of glucose and fructose**. *Eclética Química*, São Paulo, v. 31, n. 3, p. 15-21, 2006.

ISMAN M.B. **Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world**. *Annu Rev Entomol*, 51: p. 45-66, 2006.

JIMÉNEZ-ARELLANES A.; LUNA-HERRERA J.; RUIZ-NICOLAS R.; CORNEJO-GARRIDO J.; TAPIA A.; YEPEZ-MULIA L. **Antiprotozoal and antimycobacterial activities of *Persea Americana* seeds**. *BMC Complement Altern Med* 13:109–114, 2013.

KING D. **The future of industrial biorefineries**. *World Economic Forum*, 2010.

LEE, J.H.; KIM, D.K.; PARK, C.H.; YU, J.H.; and LEE, E.Y. **Crude glycerol-mediated liquefaction of empty fruit bunches saccharification residues for preparation of biopolyurethane**. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, vol. 34, pp. 157–164, 2016.

LEITE J.J.G.; BRITO E.H.S.; CORDEIRO R.A., BRILHANTE R.S.N.; SIDRIM J.J.C.; BERTINI L.M.; MORAIS S.M.; ROCHA M.F.G. **Chemical composition, toxicity and larvicidal and antifungal activities of *Persea Americana* (avocado) seed extracts**. *Rev Soc Bras Med Trop* 42:110–113, 2009.

LEITE SAF, LEITE BS, CARRIÇO CS, ROSA YG, Figueiredo MTD. **Biopolyol and Foam Production From Lemon Bagasse Liquefaction**. 65: p. 376-381, 2018.

MARTINEZ, S.S.; EMDEN, H.F. **Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) caused by azadirachtin**. *Neotropical Entomology*, 30: 113-125, 2001.

MOUCO, M.A.; COELHO, R.C; ARAÚJO, J.L.P. **Custo de produção e viabilidade econômica da exploração do abacate na região do vale do São Francisco**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 22. Bento Gonçalves. Resumos: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2012.

NÉEMAN I.; LISFSHITZ A.; KASHMAN Y. **New antibacterial agent isolated from the avocado pear.** *Appl Microbol* 1:470-473, 1970.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>> (Acessado em maio de 2023)

RAFIQUL, I.; LUGANG, B.; YAN, Y.; and LI, T. **Study on co-liquefaction of coal and bagasse by factorial experiment design method.** *Fuel Processing Technology*, vol. 68, no. 1, p. 3–12, 2000.

RODRIGUEZ-SAONA, C.; MILLAR J.G.; MAYNARD D.F.; TRUMBLE J.T. **Novel antifeedant and insecticidal compounds from avocado idioblast cell oil.** *Chem Ecol* 24: p. 867–889, 1998.

RODRIGUES, J. A.R. **Do engenho à biorrefinaria, a usina de açúcar como empreendimento industrial para a geração de produtos bioquímicos e biocombustíveis.** *Química Nova*, São Paulo, v.34, n.7,p. 1242-1254, 2011.

SANTA-CECÍLIA L.V.C.; SANTA-CECÍLIA F.V.; PEDROSO E.C.; SOUZA M.V.; ABREU F.A.; OLIVEIRA D.V.; CARVALHO G.A. **Extratos de plantas no controle de *Planococcus citri* (Risso, 1813) (Hemiptera: Pseudococcidae) em cafeeiro.** *Coffee Sci* 5: p. 283–293, 2010.

SCHMUTTERER, H. **Properties and potential of natural pesticides from neem tree.** *Ann. Rev. Entomol.* 35: p. 271–297, 1990.

STEIN U.; KLINGAUF F. **Insecticidal effect of plant extracts from tropical and subtropical species. Traditional methods are good as long as they are effective.** *J Appl Entomol* 110:160–166, 1990.

WILLIAMS, D. H.; FLEMING, I. **Spectroscopic methods in organic chemistry.** Londres: McGraw-Hill, 5. ed, 1995.

2.2. Capítulo 2 – Atividade inseticida do biocomposto de semente de abacate sobre pulgões

Resumo

O cultivo das brássicas, como couve-de-folha, desempenha um papel importante no mercado hortigranjeiro brasileiro. Dentre as pragas que causam danos à esta cultura merece destaque os afídeos, *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus) e *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). Tanto o público consumidor quanto lideranças governamentais tem clamado pela busca de alternativas mais sustentáveis para o manejo de pragas na agricultura, de forma a garantir alta produtividade, menos resíduos no alimento e menor contaminação do ambiente. Neste contexto, inseticidas derivados de plantas (botânicos) vêm recebendo atenção do meio científico por apresentarem características como boa eficácia, biodegradabilidade, seletividade e baixa toxicidade a mamíferos. Neste capítulo 2 foi avaliado a atividade inseticida de biocompostos sobre pulgões da couve (*B.brassicae/M.persicae*). Os resultados demonstraram que todos os biocompostos sintetizados mediante a exploração da técnica de liquefação a partir da biomassa da semente de abacate ou folhas do nim, causaram efeito letal variando de 13-48% a ninfas de primeiro/segundo ínstares de pulgões na dose de 15 % m/m, observado no intervalo de 24 e 48 h. Dentre estes, o mais efetivo contra as ninfas foi o biocomposto AAA (2:1/30 min) sintetizado a partir da biomassa da semente de abacate, sendo assim a partir deste determinou a DL₅₀ (64 mg/mL) e DL₉₀ (429 mg/mL) ($p < 0,001$). A DL₉₀ do biocomposto AAA (2:1/30 min) causou repelência à ninfas de pulgões e se mostrou mais efetiva do que o Azamax[®] (produto formulado a base do nim) em sua dose campo. O bioensaio de campo demonstrou que o Azamax[®] e a DL₉₀ do biocomposto AAA (2:1/30 min) foram capazes de reduzir as populações dos pulgões em cultivo de couve do grupo manteiga no período de outubro à novembro, em condições tropicais. Contudo a exploração da biomassa da semente de abacate por meio da aplicação da técnica de liquefação, pode ser promissora para obtenção de compostos bioativos. Neste contexto, o potencial inseticida de produtos sintetizados como o biocomposto, pode ser uma alternativa interessante a ser explorada para o controle alternativo de pragas agrícolas, podendo se tornar uma ferramenta adicional ao Manejo Integrado de Pragas (MIP).

2.2.1. INTRODUÇÃO

O cultivo das brássicas desempenha papel importante no mercado brasileiro, por possuir características tais como alto valor nutricional, rápido retorno financeiro, e baixo custo de produção (FILGUEIRA, 2000). Dentre as brássicas mais consumidas estão o repolho (*Brassica oleracea var. capitata L.*), couve-flor (*Brassica oleracea var. botrytis*), brócolis (*Brassica oleracea var. italica*) e a couve-de-folha (*Brassica oleracea var. acephala*). Tais brássicas podem ser cultivadas por grandes e pequenos produtores em regiões próximas às zonas de consumo (ex., grandes centros urbanos) (SILVA et al. 2011; ARAGÃO et al. 2013).

No que tange o cultivo da couve-de-folha (doravante apenas couve) no Brasil, dados do IBGE (2017) estimaram uma produção anual de 161.986 toneladas, sendo destacado como maior produtor o estado de São Paulo. Apesar do cultivo ocorrer tipicamente nos períodos de outono e inverno, a couve também tolera condições de altas temperaturas (EMBRAPA 2010). Dentre as pragas que causam danos com maior frequência a esta cultura merecem destaque os afídeos/pulgões, como por exemplo *Brevicoryne brassicae* (LINNAEUS, 1758) e *Myzus persicae* (SULZER, 1776) (Hemiptera: Aphididae), os quais habitam regiões de clima temperado e tropical, (VAN EMDEN & HARRINGTON, 2007; AHMAD & AKHTAR, 2013).

Em condições de clima tropical os pulgões podem se desenvolver mais rapidamente, diminuindo a duração da fase ninfal (7 a 8 dias), passando por até 4 fases ninfais antes de chegar a fase adulta; podendo atingir altas infestações em um curto período. Durante grande parte do seu ciclo de vida podem reproduzir sem a participação dos machos (i.e. reprodução por partenogênese). Os pulgões podem dispersar para outros cultivos/plantas mediante o surgimento de indivíduos alados, fato que acontece quando são submetidos a condições desfavoráveis como alta densidade populacional, temperatura adversa, dentre outras (LIU & SPARKS JR., 2001; BLACKMAN & EASTOP, 2007; AHEER et al., 2008; VAN EMDEN, 2013).

As ninfas e adultos de pulgões possuem aparelho bucal picador-sugador utilizado para sugar a seiva nos tecidos floemáticos, preferencialmente das folhas jovens das plantas, podendo resultar em perdas significativas (LIU & SPARKS JR., 2001; VAN EMDEN, 2013). Os pulgões também excretam uma substância açucarada ('honeydew') que serve de substrato alimentar para fungos que causam dano à planta, como a fumagina (*Capnodim* sp.). Além de tudo, podem transmitir doenças virais,

como o vírus-do-mosaico-do-nabo (SALVADORI et al., 2005; MARINGONI, 2005). As folhas de couve atacadas pelos pulgões podem ter seu tamanho reduzido, bem como amarelecer e encarquilhar; o que afeta negativamente a sua comercialização. O encarquilhamento das folhas pode dificultar o controle, pois os pulgões se abrigam nas folhas retorcidas protegendo-os do contato direto com inseticidas (LIU & SPARS JR., 2001).

O método de controle ainda mais utilizado no combate de pulgões tem sido o uso de inseticidas (i.e. controle químico), principalmente devido a sua rápida ação em causar a mortalidade desses insetos. No entanto, se utilizados de forma indiscriminada/irracional os inseticidas podem acarretar danos à saúde humana, ao meio ambiente, aos organismos não-alvo (ex., polinizadores e inimigos naturais), bem como contribuir para a seleção de populações resistentes (LIU & SPARKS JR., 2001). Além disso, MELO et al. (2017) comunicaram que a ANVISA em 2009, detectou alguns resíduos de agrotóxicos em amostras de couve coletadas em supermercados estratégicos de cada estado brasileiro, cujo limite máximo permitido foi ultrapassado, gerando assim preocupações. De qualquer forma, além do controle químico, merece destaque também o controle biológico de pulgões, o qual se dá principalmente pela ação de predadores afidófagos (ex. joaninhas, sírfideos, crisopídeos, etc) e parasitoides (ex., *Diaeretiella rapae* McIntosh), os quais conjuntamente são conhecidos como inimigos naturais.

SILVA et al. (2010) destacaram que o Controle Alternativo de Pragas e Doenças (CAPD) é promissor, o que tem atraído a atenção de horticultores. O CAPD consiste na utilização de meios naturais e alternativos que garantem a produtividade e qualidade dos produtos, minimizando danos ao meio ambiente e saúde. Sendo assim, o controle biológico e uso de inseticidas de menor risco ao homem (ex, reguladores de crescimento, botânicos) vem ganhando mais atenção, uma vez que o mercado consumidor requer cada vez mais alternativas seguras de produção. Neste âmbito, ISMAN (2006) ressaltou que as plantas podem ser uma alternativa valiosa para prospecção de novas moléculas que podem apresentar atividade inseticida. Além disso, ele destacou o fato que o metabolismo secundário das plantas é responsável por sintetizar substâncias diversas, mediadas pela interação destas com o meio ambiente, e podem ter ação inibitória, defensiva e atrativa de insetos (SAITO & LUCCHINI, 1998), que merecem, portanto, ser investigadas.

Dentre os compostos sintetizados no metabolismo secundário das plantas destacam-se os nitrogenados, fenólicos e terpenos (SAITO & LUCCHINI, 1998). Os compostos nitrogenados desempenham funções contra herbivoria e ação antifúngica (ex., alcalóides, glicosídeos cianogênicos, glucosinolatos, aminoácidos não proteicos) (CASTRO et al. 2005; ZAMORA-NATERA et al. 2008; TAIZ & ZEIGER, 2013; EVERT & EIRCHORN, 2014). Já os compostos fenólicos podem desempenhar várias funções como a proteção contra raios UV, atração de polinizadores e dispersores de sementes, alelopatia, e ações de efeito inseticida, fungicida, bactericida ou viricida. Por fim, os terpenos (monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos (tetra-*nor*-triterpenos) podem desempenhar funções diversas como anti-herbivoria, fungicida, bactericida, herbicida, atração de polinizadores, dentre outras (CASTRO et al. 2005; TAIZ & ZEIGER, 2013; EVERT & EIRCHORN, 2014). Neste âmbito, os inseticidas botânicos vêm se destacando no meio científico, principalmente no que diz respeito a investigação da bioatividade de extratos e óleos essenciais preparados a partir de derivados de partes das plantas como raízes, caules, flores, folhas, frutos e/ou sementes; buscando assim a obtenção de compostos bioativos que possam ser utilizados em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) (SALERMO et al. 2002). Além de tudo, DAYAN et al. (2009) destacam alguns pontos positivos destes derivados, incluindo a biodegradabilidade, possibilidade de menor toxicidade ao homem e obtenção das moléculas de interesse a partir de recursos renováveis. Por fim, RONDELLI et al. (2013) também enfatizam que o baixo custo da matéria prima e a disponibilidade do material vegetal, tem contribuído para que estudos fossem realizados, com intuito de comprovar a eficácia desses compostos.

Um dos inseticidas botânicos mais utilizados na agricultura tem sido o óleo de nim (azadiractina); derivado da árvore de nim *Azadirachta indica* A. Juss, Família Meliaceae. A azadiractina é um dos principais constituintes das árvores de nim, e tem chamado atenção por apresentar atividade inseticida em amplo espectro, alta seletividade contra seus inimigos naturais, baixa toxicidade a mamíferos e degradação rápida no solo e nas plantas. (JÚNIOR, 2003; BOEKE et al., 2004; ISMAN, 2006). STONE (1992) aponta que os resultados positivos obtidos com os derivados do nim tem incitado o meio científico à prospecção de novas moléculas a partir de outras plantas, mas o sucesso no mercado de defensivos agrícolas ainda está condicionado ao isolamento dos constituintes responsáveis pela bioatividade observada. Em muitos

países como no Brasil, inseticidas a base do nim são recomendados para controle de insetos-praga (ex. ácaro, mosca-branca, pulgões, psíldeos, tripes, lagartas, moscas-das-frutas, cochonilhas, gafanhotos, grilos, etc.) em diversas culturas (SOUZA & VENDRAMIM, 2000; MARTINEZ & EMDEN, 2001; COX, 2002).

Dentre a multitude de espécies de plantas que podem ter atividade inseticida, merece também destaque as plantas de abacate *Persea americana* Miller Família Lauraceae. Vários estudos têm indicado que o abacateiro pode armazenar metabólitos secundários em células oleíferas (RODRIGUEZ-SAONA et al. 2000; DUKE, 2000; GOBBO-NETO & LOPES, 2007; SOLÓRZANO & MIRANDA, 2012). Além disso, outros estudos demonstraram resultados satisfatórios da bioatividade apresentada pelos extratos e óleos de folhas, casca, polpas e sementes do abacateiro. Dentre os efeitos bioativos observados estão os nutricionais na saúde humana, fitoterápicos e atividade inseticida (NÉEMAM et al. 1970; STEIN & KINGAUF 1990; RODRIGUEZ-SAONA et al. 1998; ABE et al. 2005; LEITE et al. 2009; CHIA & DIKES 2010; SANTA-CECÍLIA et al. 2010; CARVALHO, 2011; JIMÉNEZ-ARELLANES et al. 2013; ADESINA et al. 2016; CARDOSO et al. 2017; CARVALHO et al. 2020). Com relação à atividade inseticida, CARVALHO et al. (2020) mostraram que extratos de sementes de abacate (cultivares Breda e Margarida) têm atividade inseticida satisfatória para o controle de mosca branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). Estudos como estes contribuem para possibilidade de valorização de resíduos do processamento das frutas como a semente do abacate, sinalizando um potencial de exploração de seus constituintes bioativos visando um melhor aproveitamento deste material (BARRET et al. 2005).

Neste Capítulo 2 investigamos a atividade inseticida dos biocompostos (obtidos durante os experimentos descritos no capítulo 1) sobre pulgões da couve (*B. brassicae*/*M. persicae*). Para tanto, investigamos em laboratório a mortalidade causada pelos biocompostos sobre os pulgões, com o objetivo de determinar o biocomposto com maior potencial inseticida. Após determinar o biocomposto mais promissor, sua eficácia foi comparada com o óleo de nim (i.e. Azamax[®]), a nível de campo em cultivo de couve no controle de população de pulgões. Além disso, também foi avaliado em laboratório o efeito repelente do biocomposto mais promissor para ninfas de pulgões. As hipóteses foram: i) os biocompostos possuem constituintes bioativos capazes de causar efeito letal à ninfas de pulgões, e este efeito observado

é dependente da dose; ii) a DL₉₀ do biocomposto e a dose de campo do Azamax[®] são eficazes em repelir ninfas de pulgões; iii) a DL₉₀ do biocomposto é eficaz no controle de infestações de pulgões na cultura da couve em condições de campo.

2.2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.2.1. Criação de pulgões para bioensaios

Uma criação de pulgões contendo *B. brassicae* e *M. persicae* foi mantida em casa de vegetação no setor de Olericultura da UFV Campus Florestal até o término dos experimentos/bioensaios (setembro 2021 a setembro 2022). Inicialmente vasos de plástico (2,8 L) receberam uma mistura (4/1 v/v) de terra e substrato (BIOPLANT GARDEN), e no mesmo instante, foram transferidos para casa de vegetação revestida com polietileno transparente e laterais com sombrite 50 %. Em seguida, os vasos receberam mudas de couve do grupo manteiga (2-3 por vaso) adquiridas no mercado local (viveiro milhão). As plantas foram mantidas separadas da criação dos pulgões até que tivessem 4-6 pares de folhas completamente expandidas ou com idade superior a 20 dias, quando então foram utilizadas para alimentar os pulgões ou para condução dos experimentos/bioensaios.

Especificamente, após as plantas atingirem as condições supracitadas, 20 plantas foram selecionadas e transferidas para duas as gaiolas de estrutura de metal (1,0 x 0,5 x 0,5 m), cobertas com tecido organza, com acesso interior lateral por meio de um sistema de feixe costurado (Figura 8). As plantas transferidas (10 plantas por gaiola) foram infestadas inicialmente, com cerca de 1000 pulgões coletados em cultivos de couve no setor de olericultura da UFV Campus Florestal. As folhas infestadas com os pulgões foram colocadas sobre as plantas advindas da casa de vegetação. E para manutenção da criação até o término do experimento, as plantas mais velhas infestadas davam lugar a plantas jovens, que recebiam a infestação das plantas mais velhas, antes de serem descartadas. Vale ressaltar que dentre os pulgões coletados foram identificadas duas espécies *B. brassicae* e o *M. persicae*, que são comuns em plantas de couve do setor. Optou-se por trabalhar com ambas as espécies.

Periodicamente inspeções foram realizadas com intuito de prevenir a presença de parasitóides, predadores e outros insetos que pudessem interferir na estabilidade da criação.

Figura 8: Sequência da instalação da criação para bioensaios



Obs: **A.** Casa de vegetação; **B.** Gaiola revestida com organza; **C.** Mistura (substrato e terra); **D.** Vasos com mistura; **E.** Vasos com mudas transplantadas; **F.** Plantas de couve prontas para infestação; **G.** Plantas infestadas com pulgões dentro da gaiola

2.2.2.2. Bioensaios

2.2.2.2.1. Bioensaios preliminares

Atividade inseticida dos biopolióis sobre pulgões

O potencial para atividade inseticida dos biocompostos obtidos no processo de liquefação (Capítulo 1, item 1.2.3 Liquefação), foi testado sobre pulgões (*B. brassicae/M.persicae*). No total foram testados 18 biocompostos, sendo 9 biocompostos obtidos da biomassa da semente de abacate e 9 da biomassa do nim (Fornecedor: SKYRUNBR (Marca: Pó de neem)), esta última oriunda de folhas desidratadas da árvore do nim (*Azadirachta indica*) submetidas a moagem. Cada biocomposto foi considerado um tratamento, submetido a 10 repetições (placa de petri), onde cada uma recebeu 6 ninfas (primeiro/segundo ínstar) de pulgões (*B. brassicae/M. persicae*). O desenho experimental seguiu um delineamento inteiramente ao acaso. Os bioensaios foram realizados em duas etapas, onde (i) foram testadas as doses preparadas dos biocompostos das sementes do abacate (9 biocompostos), e (ii), as doses preparadas dos biocompostos da biomassa do pó de nim. Para cada etapa/bioensaio, também foi preparado um tratamento controle (água + acetona (1:1 V/V) + adjuvante (0,075mL/100 mL). Para tanto, primeiramente foi preparada solução estoque constituída por água destilada e acetona (Alphatec PA), na proporção de 1:1 V/V, acrescida com (0,075 mL/100 mL) adjuvante (Regulux Plus)

que tem a finalidade de padronização de fixação das doses nos discos das folhas de couve (ver abaixo). Logo em seguida foram preparadas as doses de cada biocomposto, na proporção de 15 % m/m em solução estoque, aferido em balança analítica (ELECTRONIC BALANCE PRT).

Especificamente, as diluições foram transferidas para balões volumétricos (10 mL) devidamente identificados e homogeneizados. Em seguida, as diluições foram colocadas em recipientes plásticos (100 mL) limpos, distintos e previamente identificados, onde foram mergulhados os discos das folhas de couve. Os discos de couve foram adquiridos das plantas mantidas na casa de vegetação. Para esse fim, folhas jovens e saudáveis foram recolhidas (inferior a 3 folhas por planta) e imediatamente levadas para o laboratório em sacos plástico, e colocadas em bancada limpa, onde realizou-se os cortes dos discos ajustáveis perfeitamente as placas de petri (35mm x 10mm) que foram utilizadas nos bioensaios. Cada disco de couve foi mergulhado por 20 segundos nas respectivas doses preparadas anteriormente para cada biocomposto. Em seguida, os discos foram estendidos em papel filtro para secagem (10 - 30 minutos). Simultaneamente, as placas de petri passaram por preparação para recebimento dos discos, conforme adaptação da metodologia IRAC nº19, que instrui dentre outros a preparação de solução hidratante (água deionizada/água (1% p/p)). Após preparação da solução, ainda em temperatura em torno de 25 a 37 °C, foi transferida para placa de petri identificada respeitando uma espessura máxima de 4 mm, e no mesmo instante os discos tratados foram colocados nas placas com a parte abaxial voltada para cima. Logo em seguida, foram soltas 6 ninfas de pulgões (primeiro/segundo ínstar) advindos da criação sobre cada disco (placa de petri) com auxílio de pincel de cerdas macias e Microscópio Estereoscópico (NOVA XTD). No mesmo instante, as placas foram fechadas com filme plástico feltro transparente e tampa para serem acondicionadas em incubadora tipo BOD com temperatura ajustada para 25 °C e fotoperíodo 16:8 h.

A mortalidade dos pulgões em cada tratamento foi avaliada às 24 e 48 h após soltura dos pulgões nas placas. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise GLM (Generalized Linear Model) usando no modelo a distribuição binomial. As análises foram conduzidas de forma separada de acordo com o tipo de biocomposto (biomassa da semente de abacate ou biomassa do nim) e tempo de avaliação da mortalidade (24 ou 48 h). Comparações de médias também foram conduzidas pelo

método ajustado de Tukey usando o pacote 'multcomp'. As análises foram conduzidas no programa estatístico R 4.0.0 (R Core Team, 2020). Considerando os resultados obtidos, foi selecionado o biocomposto da biomassa da semente de abacate que apresentou maior mortalidade sobre os pulgões para ser submetido a mais testes de eficácia (veja abaixo).

2.2.2.2.2. Determinação das doses letais

O objetivo deste bioensaio foi determinar as doses letais de 50% (DL₅₀) e 90% (DL₉₀) da mortalidade dos pulgões. As doses letais de 50% e 90% correspondem respectivamente a sua capacidade de matar 50% e 90% do número total de pulgões expostos ao tratamento. Para tanto, o biocomposto da biomassa da semente de abacate selecionado no trabalho anterior (aquele com maior potencial inseticida) foi testado em bioensaios de mortalidade sob 11 doses distintas de forma a construir uma curva de dose-resposta. As 11 doses a serem testadas foram estimadas mediante a aplicação da seguinte equação:

(Eq. 8)

$$k = \frac{(\log \text{ sup}) - (\log \text{ inf})}{n - 1}$$

Onde :

K : intervalo entre as doses

sup : dose superior

inf : dose inferior

n: número de doses a serem testadas

Cálculo das respectivas doses:

$$D1 = \log \text{ inf}$$

$$D2 = k + D1$$

$$D3 = k + D2$$

...

$$D11 = k + D10$$

Mais especificamente, a dose inferior (inf) foi estimada mediante a testes preliminares como 2 % m/m (2,0g biocomposto/98,0g solução estoque) como responsável por causar a mortalidade de cerca de 10% das ninfas de pulgões. Da mesma forma, a dose superior (sup) foi estimada em 26 % m/m

(26,0g/biocomposto/74,0g solução estoque) como suficiente para causar mortalidade em cerca de 90% das ninfas, sendo as demais doses extrapoladas mediante a aplicação da equação.

O desenho experimental adotado foi inteiramente ao acaso, onde cada dose (tratamento) foi testada 10 vezes. Sendo assim, cada repetição foi representada por uma placa de petri (35 mm x 10 mm) que receberam 6 indivíduos (ninfas de primeiro/segundo ínstar de pulgões) cada. As 11 doses supracitadas foram preparadas a partir da solução estoque (água + acetona (1:1 V/V) + 0,075 mL/100 mL (adjuvante)) em sua devida proporção. Em seguida, cada tratamento (dose) foi transferido para recipiente plástico (100 mL) limpo e identificado, onde recebeu o mergulho dos discos de folhas de couve (grupo manteiga). O preparo da solução estoque e hidratante, diluição das doses, aquisição das folhas de couve e pulgões, cortes dos discos, mergulho nos tratamentos, secagem, preparação das placas, observações e demais procedimentos foram seguidos rigorosamente conforme metodologia descrita no item 2.2.2 (bioensaios preliminares). Esse preparo mantido para todas as 11 doses anteriormente determinadas e controle (água + acetona (1:1 V/V) + adjuvante (0,075mL/100 mL), conforme suas respectivas repetições.

Os resultados de mortalidade para cada dose testada foram utilizados para confecção de uma curva dose-resposta, a qual foi utilizada para determinar DL_{50} e DL_{90} . Especificamente, a confecção da curva e determinação das doses letais foram possíveis pela condução de uma análise de PROBIT usando o pacote 'ecotox' (GAMA, 2015). Esta análise foi realizada no programa estatístico R 4.0.0 (R Core Team, 2020).

2.2.2.2.3. Efeito de repelência causado pela DL_{90} e comparações

O bioensaio que investiga o efeito de repelência foi conduzido em laboratório sob condições similares à metodologia citada anteriormente (item 2.2.2.2.1; bioensaios preliminares) com relação ao preparo da dose, mergulho dos discos, secagem, placa de petri (solução hidratante), acondicionamento da folha na placa, disposição e condição da BOD. Neste bioensaio avaliou comportamento uma possível repelência do biocomposto da semente de abacate e do inseticida Azamax aos pulgões.

Os discos de couve foram adquiridos de folhas jovens das plantas mantidas na casa de vegetação, e posteriormente recortados em semidiscos. Cada placa continha

dois semidiscos complementares (Figura 9), onde um era tratado com a DL₉₀ do biocomposto da biomassa de semente de abacate e o outro com seu controle (água + acetona (1/1 v/v) + Adjuvante (0,75 mL/L). Do mesmo modo para efeito de comparação, um lado do semidisco foi tratado com (3,0 mL/L) do Azamax® e o outro com seu controle (água + Adjuvante (0,75mL/L) (Figura 11). Os controles, para o biocomposto do abacate e inseticida do nim, são distintos devido a observação das recomendações do fabricante do Azamax®. Os semi-discos foram colocados nas placas com a parte abaxial voltada para cima.

Figura 9: Esquema da disposição dos semidiscos (tratamento x controle)



Obs: **T1**. Semidisco tratado com DL₉₀ do biocomposto AAA (2:1/30 min); **C1**. Semidisco Controle (água + acetona (1:1 V/V) + adjuvante (0,075 mL/100 mL)); **T2**. Semidisco tratado com dose de campo do Azamax®; **C2**. Semidisco Controle (água + adjuvante (0,075 mL/100 mL)

Cada tratamento foi repetido 170 vezes, tanto o biocomposto da biomassa da semente de abacate quanto para o Azamax®. Cada repetição consistiu de uma placa de petri (35 mm x 10 mm), que recebeu uma ninfa de pulgão (primeiro/segundo ínstar), com auxílio do pincel e microscópico estereoscópico. Metade dos pulgões foi solta no lado do semidisco tratado (85) e outra metade no lado correspondente ao controle (85), com objetivo de minimizar o efeito de influência de escolha ao acaso. Cada placa foi envolvida por plástico filme com pequenos furos feitos com agulha, para evitar a fuga do pulgão e facilitar as observações, depois foram dispostas de forma aleatória na BOD com temperatura ajustada à 25 °C e fotoperíodo 16:8 h.

As observações da posição em que se encontrava o pulgão no disco (lado tratado ou controle) bem como a mortalidade, foram registradas a cada 2 horas totalizando 6 observações em um período de 12 horas de exposição. Os pulgões considerados mortos foram desprezados e não entraram na análise estatística dos dados do teste de repelência.

Os dados de proporção de escolha por cada lado da placa pelos pulgões foram submetidos ao Test T do tipo pareado, uma vez que os dados de escolha durante as 12 h de exposição são dependentes. As análises foram conduzidas de forma separada para cada tratamento/controle (biocomposto/controle ou Azamax[®]/controle). Todas as análises foram realizadas no programa estatístico R 4.0.0 (R Core Team 2020).

2.2.2.2.4. Eficácia da DL₉₀ contra pulgões no campo

O experimento de campo foi conduzido no setor de olericultura da UFV Campus Florestal nos meses de setembro a novembro de 2022. O preparo da área experimental se deu pelo gradeamento do solo, encanteiramento mecanizado (com ajuste manual), adubação com esterco bovino, montagem do sistema de irrigação por gotejamento, cobertura dos canteiros com ‘mulch’ plástico, e transplântio de mudas de couve (grupo manteiga). As temperaturas médias mínimas e máximas registradas no período do experimento foram 17°C e 27°C, respectivamente. O desenho experimental consistiu de 3 tratamentos e seis repetições por tratamento. Os tratamentos experimentais foram (A) controle negativo (apenas água), (B) Azamax[®] (3,0 mL/L) e (C) biocomposto da biomassa da semente de abacate (DL₉₀). Cada repetição foi representada por um canteiro (4,0 m x 1,8 m). Cada canteiro recebeu 40 mudas de couve (25/09/2022), dispostas em um espaçamento de 40 cm entre linhas e 40 cm entre plantas dentro de cada linha, totalizando 4 linhas por canteiro com 10 plantas por linha (Figura 12).

Os tratamentos foram preparados com suas respectivas doses observando o volume do pulverizador (pulverizador JACTO de 3 L). A ordem de aplicação dos tratamentos foi água (controle), biocomposto (DL₉₀), e após lavagem do pulverizador, procedeu para a pulverização do Azamax[®] (dose de campo). A duração da pulverização em cada planta foi definida até o ponto em que observou a perfeita cobertura, ou seja, antevendo o escorrimento superficial nas folhas. Em média gastou-se um volume de 300 mL de solução por canteiro (aplicação sobre todas as plantas).

Após 30 dias do transplântio das mudas (25/10/2022), foi realizada a primeira avaliação da infestação natural de pulgões nas plantas com auxílio de um contador manual. Para tanto, foram selecionadas 6 plantas das linhas centrais de cada canteiro nas quais foram contados os números de pulgões, e em seguida foram marcadas com fitas amarelas para posteriores avaliações. No mesmo dia desta avaliação (6-8 horas

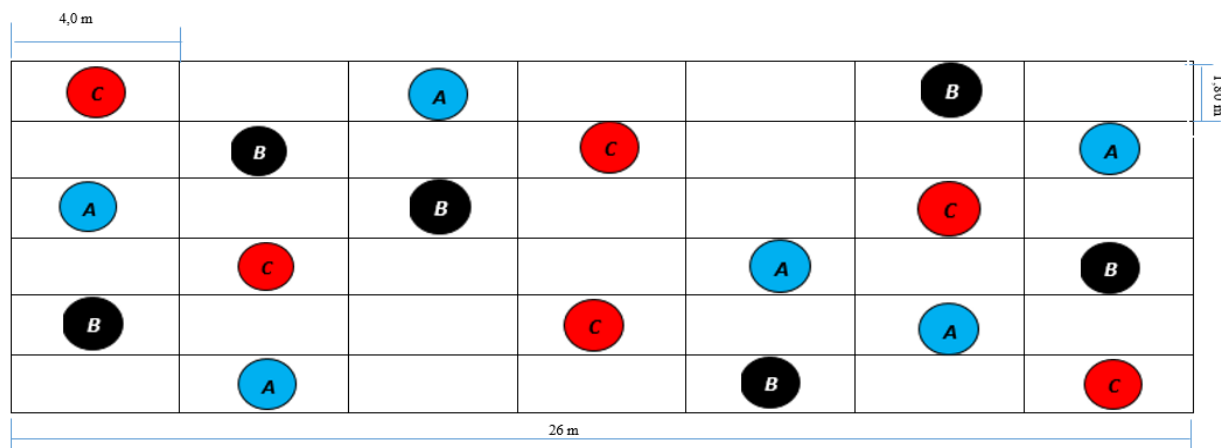
mais tarde) foi realizada a primeira aplicação dos tratamentos nas plantas em seus respectivos canteiros (i.e. repetições) (Figura 10). O horário de aplicação dos tratamentos foi mantido constante para a outra aplicação posterior (período da tarde). Dois dias após esta primeira aplicação dos tratamentos, as 6 plantas de couve selecionadas previamente, foram infestadas com 10 pulgões (primeiro/segundo ínstar) advindos da criação usando pincel de cerdas macias. Sete dias após esta infestação (03/11/2022), foram coletadas duas plantas centrais de cada canteiro (do conjunto de plantas marcadas a priori) e levadas para laboratório para contagem dos pulgões (análise destrutiva). Esta contagem se deu pela observação das folhas de cada planta sob Microscópio Estereoscópico (NOVA XTD). No mesmo dia (03/11/2022) após a coleta das plantas, foi realizada a segunda aplicação dos tratamentos experimentais como descrito acima. Vinte e um dias após esta segunda aplicação (24/11/2022), procedeu com a coleta de mais duas plantas por canteiro e contagem dos pulgões em laboratório. Enfim, este experimento de campo teve exposição intermitente a precipitações pluviométricas (Apêndice G).

Para análise dos dados foram calculados os valores de 'cumulativos para pulgões-dias' em cada tratamento nas 3 datas de avaliação da abundância de pulgões (25/10, 03/11, 24/11). O cálculo de cumulativo de pulgões-dias foi realizado seguindo a seguinte fórmula:

$$\sum = (D_{i+1} - D_i) \left[\frac{(Y_i + Y_{i+1})}{2} \right]$$

Onde D_i e D_{i+1} são as datas de observação adjacentes (dias) e Y_i e Y_{i+1} são as contagens de insetos nesses dias (RUPPEL, 1983). Em seguida os dados foram submetidos a análise estatística Modelos Lineares Generalizados (GLM), seguida de teste de médias (emmeans). As análises foram realizadas no programa estatístico R 4.0.0 (R Core Team 2020).

Figura 10: Desenho esquemático locacional do experimento de campo



Obs: **A.** Água (controle negativo); **B.** Azamax (dose de campo para cultura); **C.** DL₉₀ do biocomposto AAA (2:1/30 min) (biocomposto da biomassa da semente de abacate); Obs: espaçamento vertical entre canteiros (1,40 m)

O fluxograma geral da investigação do potencial inseticida realizada no Capítulo 2 encontra-se no Apêndice H.

2.2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os biocompostos sintetizado da biomassa da semente de abacate causaram mortalidade significativamente maior do que o tratamento controle, independentemente do tempo de avaliação (Figura 11). Para todos os biocompostos da biomassa da semente de abacate a mortalidade variou entre 15-41% e 23-48 % para as avaliações de 24h e 48h, respectivamente (Figura 11). De qualquer forma, o biocomposto AAA, que foi produzido na combinação de 2:1 m/m (solvente/biomassa) e tempo de liquefação de 30 minutos, causou maior mortalidade de pulgões em 24h e 48h (Figura 11) além de ter alcançado maior rendimento em aproveitamento da biomassa da semente de abacate no processo de liquefação (Capítulo 1). Podemos destacar o desempenho dos biocompostos que experimentaram as mesmas condições de tempo de liquefação (30 minutos) (AAA (2:1/30), ABA (3:1/30), ACA (5:1/30)), os quais apresentaram eficácia similar, principalmente nas primeiras 24h de exposição. Estes resultados sugerem que o tempo de 30 minutos pode ter sido mais favorável para síntese de compostos bioativos, possibilitando maior mortalidade dos pulgões. Em contrapartida os biocompostos que ficaram expostos mais tempo ao

aquecimento foram aparentemente menos eficazes na mortalidade dos pulgões, sugerindo que o tempo de liquefação é importante para síntese de moléculas com potencial inseticida. Tais moléculas poderiam ser investigadas por meio de técnicas analíticas como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e ressonância magnética nuclear de prótons (RMN H), para confirmação deste resultado.

RODRIGUES-SAONA & TRUMBLE (1998), exploraram os constituintes do extrato preparado de folhas do abacateiro aplicando a técnica de RMN H e isolaram avocadofuranos e triglicérides de trioleína as quais mostraram atividade inseticida sobre larvas de *Spodoptera exigua* (HUBNER) (Lepidoptera: Noctuidade). Além disso, eles ressaltaram que tais moléculas podem ter sido biossintetizadas através do metabolismo secundário da planta, e que podem atuar no sistema de defesa contra o ataque de pragas diversas, podendo estar armazenadas em células oleíferas idioblásticas encontradas em diversas partes da planta, inclusive na folhas, frutos e sementes. Semelhantemente, CARVALHO et al. (2020) ao prepararem extratos etanólicos da semente do abacate e por meio da RMN H verificaram a presença de derivados de acetogeninas alifáticas (alcanóis), avocadofuranos e ácidos graxos as quais causaram a mortalidade de ninfas de *Bemisia tabaci* biótipo B. (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). THOMSON et al. (2000) patentearam derivados de avocadofuranos e a trioleína com propriedade inseticida. Com base nestes estudos podemos sugerir a presença de moléculas derivadas de avocadofuranos, trioleínas, acetogeninas lauraceae e ácidos graxos no biocomposto sintetizado da biomassa da semente do abacate e ainda atribuir a estas a atividade inseticida observada sobre ninfas de pulgões, entretanto, novos estudos são necessários para identificar que molécula(s) são responsável(is) pela mortalidade dos pulgões.

Todos os biocompostos sintetizado da biomassa da folha do nim também causaram mortalidade de pulgões significativamente maior do que o tratamento controle, independentemente do tempo de avaliação (Figura 12). No entanto, não houve diferença significativa entre os biocompostos sintetizados da biomassa da folha do nim, para a mortalidade causada sobre pulgões (Figura 12). Considerando conjuntamente os dados de mortalidade de pulgões causada pelos biocompostos sintetizados da biomassa da semente de abacate e da biomassa da folha do nim, podemos inferir que a técnica de liquefação foi eficaz para síntese de compostos bioativos, pois ambos apresentaram resultados satisfatórios para dose testada (15 %

m/m) preliminarmente quando comparados aos respectivos controles. Levando em conta o tempo de observação do bioensaio (24 h e 48 h) e a mortalidade causada pelo biocomposto sintetizado da biomassa da folha do nim, podemos sugerir que se o tempo de observação fosse aumentado (i.e. após 48 hrs) possivelmente teríamos um aumento na mortalidade, uma vez que alguns componentes derivados do nim possuem mecanismos de ação já conhecidos, e dependem do tempo após exposição. Por exemplo, SOARES et al. (2008) observaram que o extrato aquoso e/ou óleo do nim agiram mais lentamente causando mortalidade expressiva após 24 h sobre *Nasutitermes corniger* (Motschus) (Isoptera: Termitidae). O principal mecanismo de ação da azadiractina se dá na alteração do sistema endócrino do inseto, modificando os níveis de hormônios morfogenéticos (ecdisona). Além disso pode interferir no sistema nervoso central bloqueando a liberação de substâncias essenciais para seu desenvolvimento (REMBOLD, 1989; MORDUE & BLACKELL, 1993; JÚNIOR 2003).

As doses letais DL_{50} e DL_{90} calculadas pela análise de PROBIT para o biocomposto AAA (2:1/30) da biomassa de semente de abacate, foram 63,68 e 429,53 mg/mL, respectivamente (Tabela 5). O resultado apresentado na Figura 13, implica que a mortalidade observada é dependente da dose. CARVALHO et al. (2020) obtiveram resultado semelhante, ao testarem extratos etanólicos preparados de sementes de abacate sobre ninfas de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), e concluíram que a toxicidade observada foi dependente da concentração (LC_{50} : 197,84 ppm e LC_{90} : 567,19 ppm).

Tanto a DL_{90} calculada previamente (Tabela 5) para o biocomposto da biomassa da semente de abacate (AAA) quanto o inseticida Azamax[®] (dose de campo) se mostraram significativamente repelentes para os pulgões (Figura 14). No entanto, a DL_{90} do biocomposto de abacate repeliu aparentemente uma proporção de pulgões relativamente maior do que o inseticida Azamax[®] (Figura 14). Esta diferença pronunciada pode estar relacionada com a maior concentração de moléculas de natureza terpênica de baixo peso molecular no biocomposto AAA. SAITO & LUCHINI (1998) destacaram que essa categoria de moléculas pode ser considerada responsável por repelir ou atrair insetos, e ainda, que algumas famílias de plantas como as Lauraceae podem abrigar concentrações superiores destas. Com relação ao óleo de nim (Azamax[®]) já se sabia que azadiractina pode causar um efeito de

repelente alimentar para pragas da Ordem Hemiptera (RUSCOE, 1972; REMBOLD et al. 1982; MARTINEZ, 2002).

O bioensaio realizado em condições de campo apontou que tanto a DL₉₀ do biocomposto (AAA), quanto o inseticida Azamax[®] (dose de campo) reduziram significativamente a abundância de pulgões nas plantas de couve, quando comparados com o controle (Figura 15). Podemos ressaltar a eficácia do biocomposto AAA no controle dos pulgões, pois mostrou desempenho similar ao Azamax[®], levando em conta que este último provavelmente guarda uma formulação que lhe confere maior estabilidade nestas condições.

No entanto, estes resultados observados não são o suficiente para recomendação de uso deste no controle do pulgão, pois, conforme ISMAN (2006) é necessário conhecer os ingredientes ativos que regem sobre a bioatividade observada, e o grau de padronização química do produto. Pois somente desta forma será possível obter um nível de confiabilidade da eficácia e segurança para o uso.

2.2.3.1 – Tabela

Tabela 5- Estimativa das DL₅₀ e DL₉₀ do biocomposto AAA (2:1/30) sobre ninfas de pulgões através de análise de PROBIT.

N ¹	Inclinação(±SE)	DL ₅₀ (mg/mL) ²	DL ₉₀ (mg/mL) ²	X ² *	df ³	p-valor
170	1,55 ± 0,11	63,68 (52,48 – 75,34)	429,53 (326,00 – 625,30)	276,94	168	< 0,001

¹ Números de insetos testados

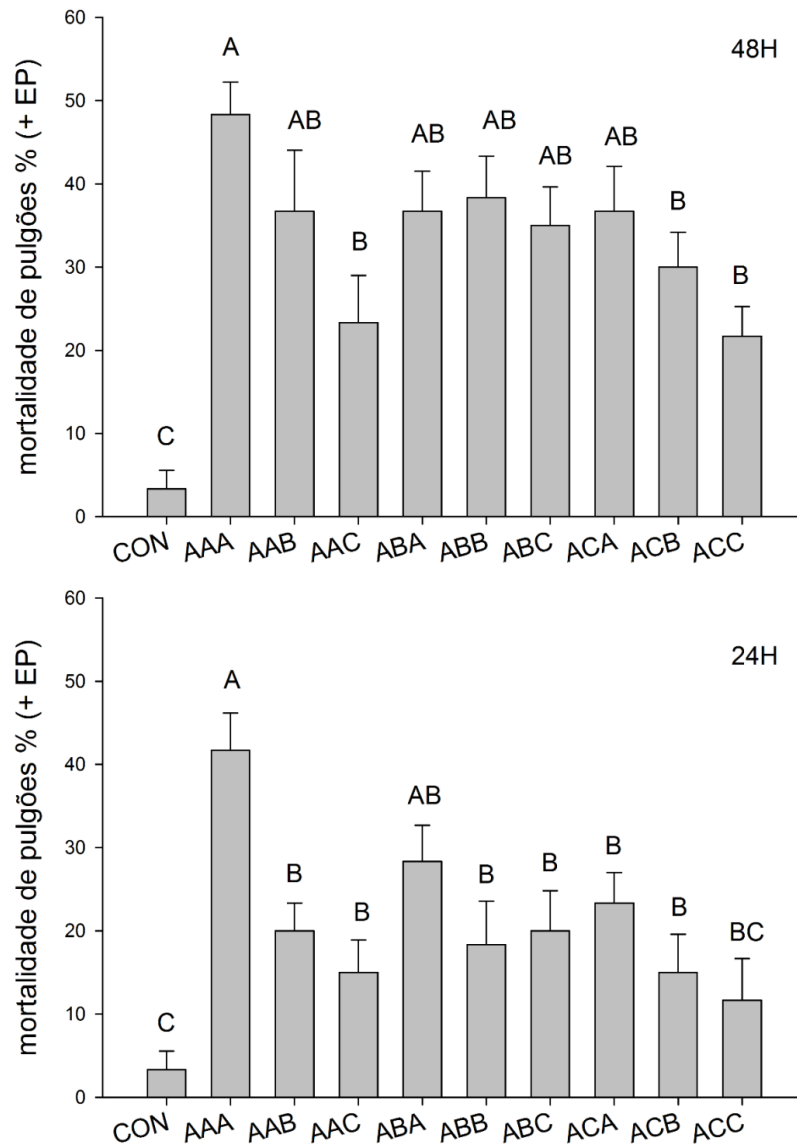
² Intervalo de confiança a 95% de probabilidade de erro

*Valores de qui-quadrado calculados

³ Grau de liberdade

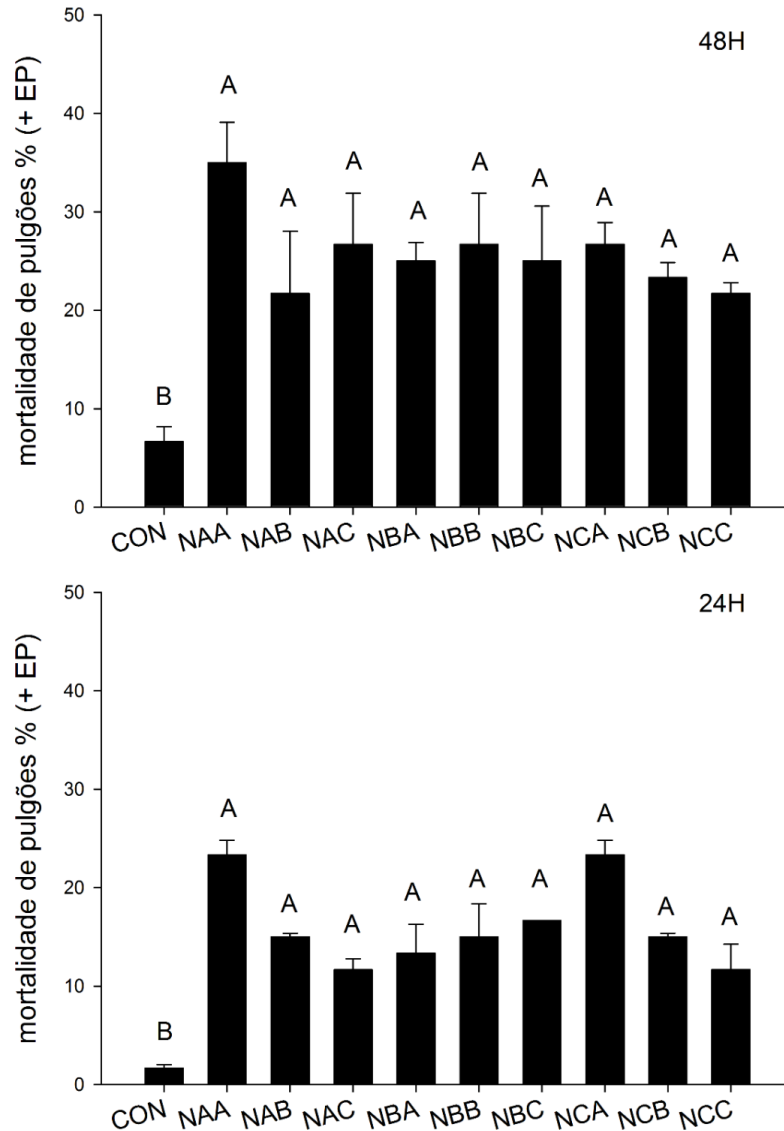
2.2.3.2. Figuras

Figura 11: Percentagem média (%) (+EP) de mortalidade de ninfas pulgões submetidos a dose de 15 % m/m de biocompostos da biomassa da semente de abacate



Obs: Mortalidade de ninfas de primeiro/segundo ínstar de pulgões em discos de folhas de couve do grupo manteiga submetidos a solução preparada à 15% (m/m) de biocompostos da biomassa da semente de abacate e solução estoque (água + acetona (1/1 v/v) + Adjuvante (0,075 mL/L). Temp.: 25 ± 1°C, 70 ± 5% de Umidade Relativa e Fotofase de 16h. Observações em 24 e 48h. Combinações dos biocompostos sintetizados na liquefação (solvente:biomassa/tempo): **CON**(solução estoque); **AAA**(2:1/30 min); **AAB**(2:1/60 min); **AAC**(2:1/90 min); **ABA**(3:1/30 min); **ABB**(3:1/60 min); **ABC**(3:1/90 min); **ACA**(5:1/30 min); **ACB**(5:1/60 min); **ACC**(5:1/90 min)

Figura 12: Percentagem média (%) (+EP) de mortalidade de ninfas pulgões submetidos a dose de 15 % m/m de biocompostos da biomassa da folha do nim



Obs: Mortalidade de ninfas de primeiro/segundo ínstar de pulgões em discos de folhas de couve do grupo manteiga submetidos a solução preparada à 15% (p/p) de biocompostos da biomassa da folha do nim e solução estoque (água + acetona (1/1 v/v) + Adjuvante (0,075 mL/L). Temp.: $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 5\%$ de Umidade Relativa e Fotofase de 16h. Observações em 24 e 48h. Combinações dos biocompostos sintetizados na liquefação (solvente:biomassa/tempo): **CON**(solução estoque); **NAA**(2:1/30 min); **NAB**(2:1/60 min); **NAC**(2:1/90 min); **NBA**(3:1/30 min); **NBB**(3:1/60 min); **NBC**(3:1/90 min); **NCA**(5:1/30 min); **NCB**(5:1/60 min); **NCC**(5:1/90 min).

Figura 13: Relação entre dose-mortalidade observada sobre ninfas de pulgões (*B. brassicae*/*M. persicae*) do biocomposto AAA (2:1/30)

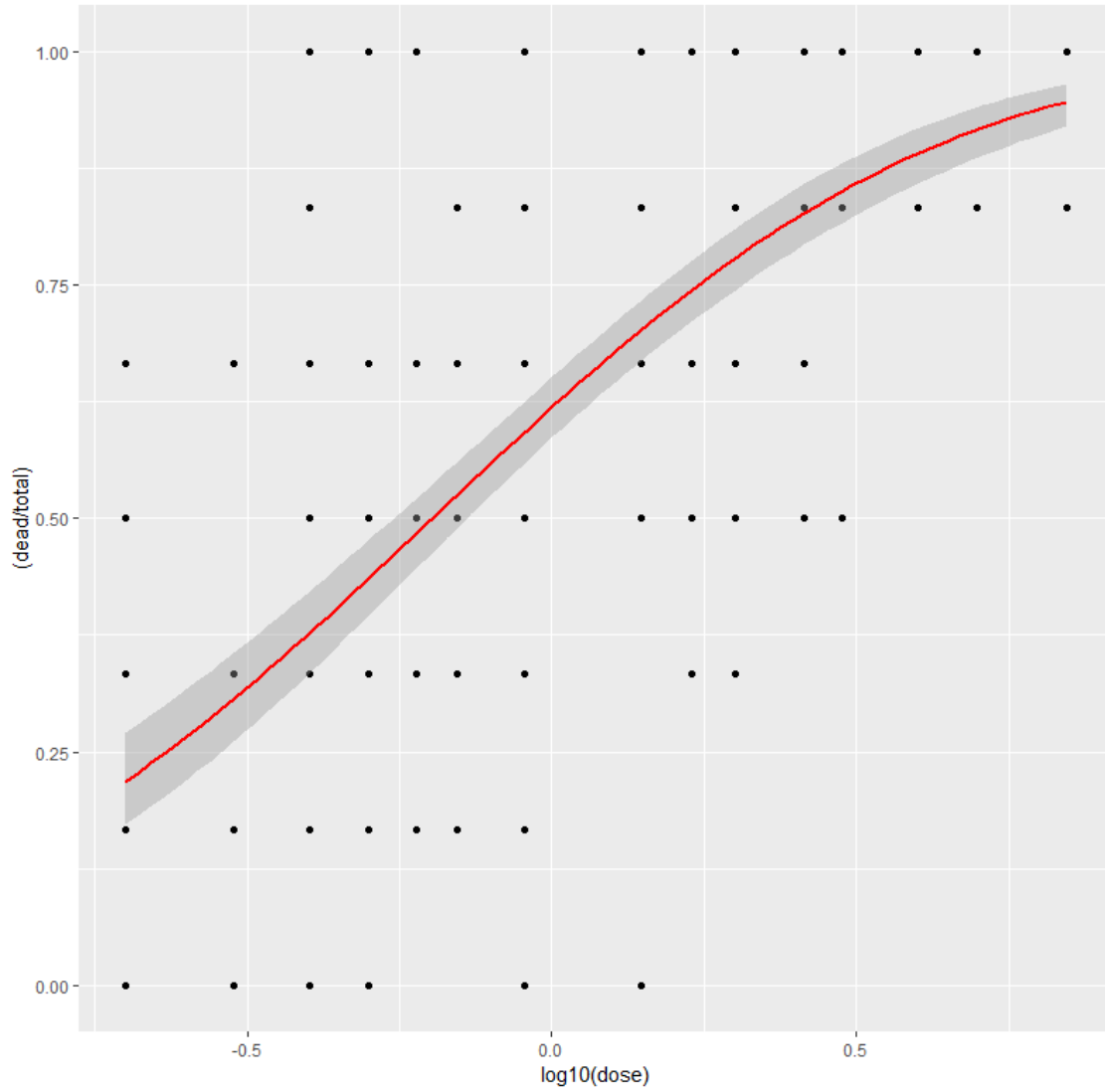
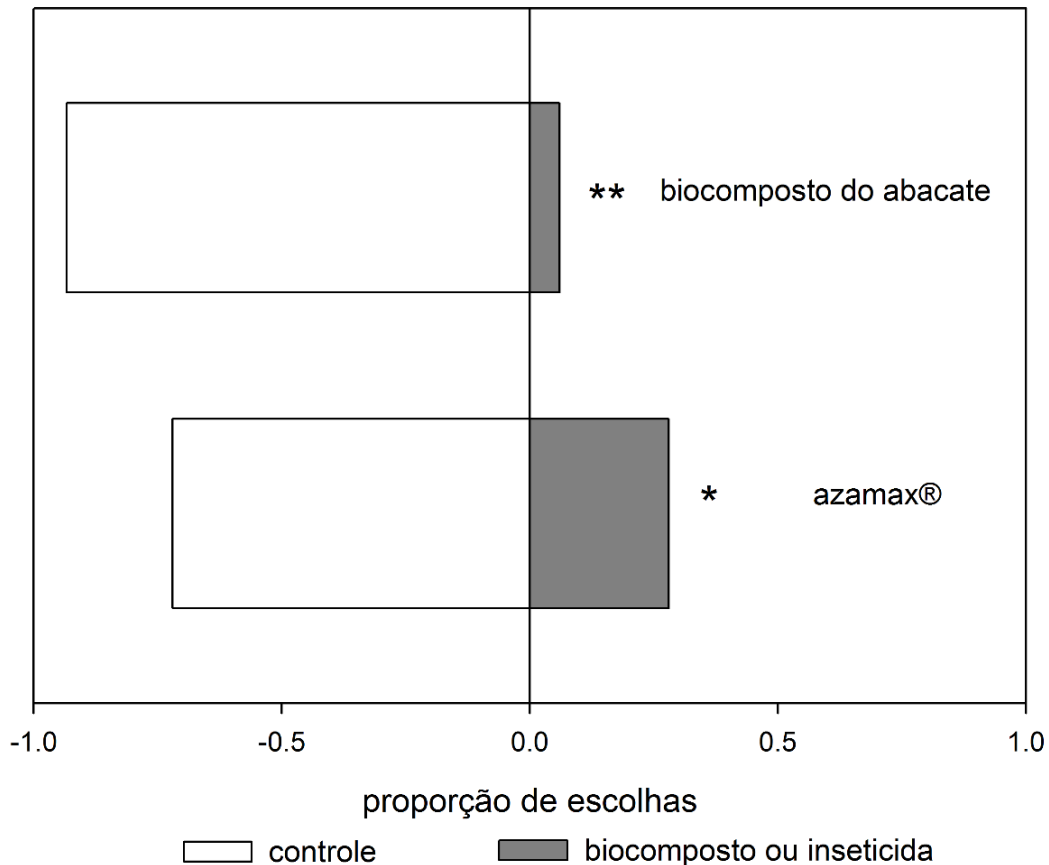
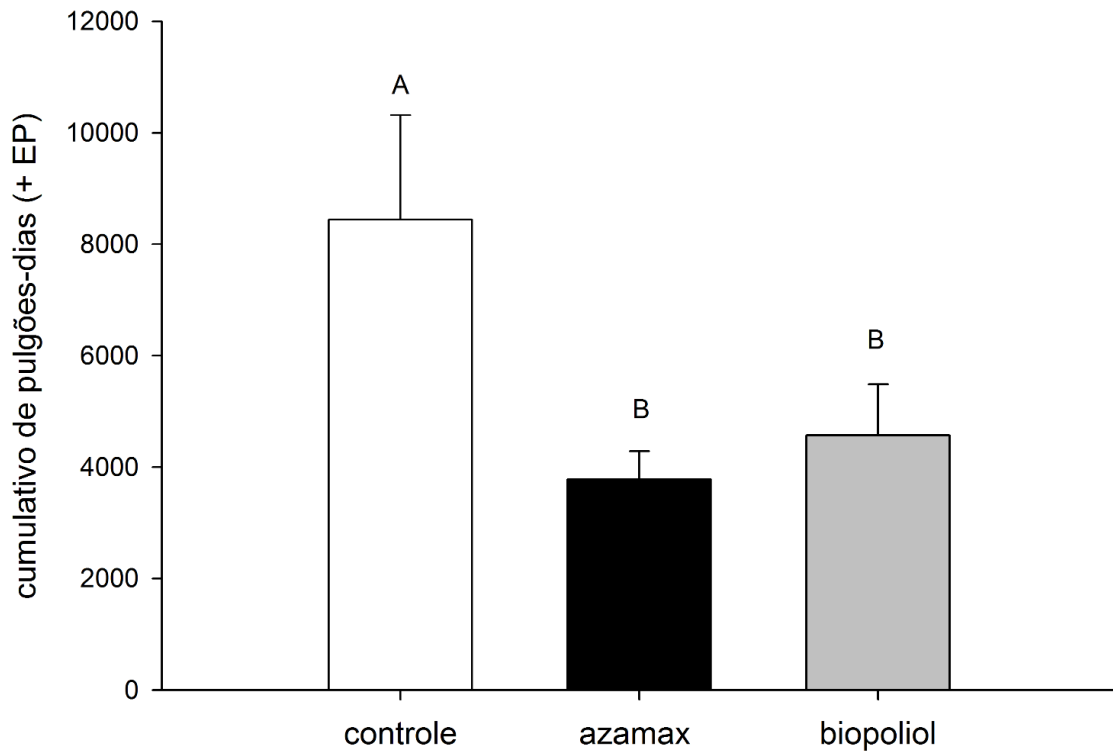


Figura 14: Teste proporcional de escolha/preferência de ninfas de pulgões por semidisco tratado e não tratado



Obs: Teste de preferência proporcional de escolhas das ninfas de primeiro/segundo ínstar de pulgões, entre o semidiscos de folhas de couve não tratados (controle (água + acetona (1/1 v/v) + Adjuvante (0,75 mL/L)) e semidiscos tratados com DL₉₀ biocomposto AAA (2:1/30min) (n = 170). E semi-discos não tratados (controle (água + acetona (1/1 v/v) + Adjuvante (0,75 mL/L)) e semidiscos tratados com Azamax® (dose de campo (3,0 mL/L)) (n = 170), onde (*) representa resultados significativos no nível de 5%. Temp.: 25 ± 1°C, 70 ± 5% de Umidade Relativa e Fotofase de 16h. Observações a cada 2h em um período de 12h.

Figura 15: Relação da população cumulativa de pulgões (+EP) em plantas de couve



Obs: População cumulativa de pulgões (+EP) em plantas de couve da cultivar manteiga sob condições de campo, submetidos à DL₉₀ do biocomposto AAA (2:1/30 min) (n = 24 plantas), à dose de campo (3,0 mL/L) Azamax® (n = 24 plantas) e água (n = 24 plantas), p < 0,05.

2.2.4. CONCLUSÕES

Os resultados dos bioensaios preliminares apontaram que, todos biocompostos sintetizados mediante a exploração da técnica de liquefação a partir da biomassa da semente de abacate e biomassa da folha do nim, apresentaram atividade inseticida sobre ninfas de primeiro/segundo ínstares de pulgões, na dose de 15 % m/m. Sinalizando então que a técnica de liquefação pode ser uma alternativa a ser explorada para síntese de moléculas oriundas de biomassas que poderão ser utilizadas no controle de pragas agrícolas. O biocomposto AAA (2:1/30) da biomassa da semente de abacate apresentou que há uma relação entre a mortalidade observada sobre pulgões e a dose aplicada. Sendo assim foi possível estimar a DL₉₀ do biocomposto AAA e prosseguir com a investigação do seu potencial inseticida sobre pulgões. O bioensaio de repelência revelou que este foi eficaz sobre as ninfas de pulgões. Ainda apresentou eficácia no controle de populações de pulgões em cultivo de couve do grupo manteiga em condições tropicais, semelhantemente ao Azamax[®].

É oportuno ressaltar, que apesar dos resultados promissores do biocomposto AAA (2:1/30), é necessário o desenvolvimento de estudos que isolem e caracterizem a(s) molécula(s) responsáveis pela bioatividade observada. E posteriormente sejam explorados aspectos como: espectro de ação; modo de ação a diferentes pragas e culturas; efeito letais e subletais aos inimigos naturais e a insetos não alvo; avaliações toxicológicas; e sua biodegradabilidade no ambiente.

2.2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE F.; NAGAFUJI S.; OKAWA M.; KINJO J.; AKAHANE H.; OGURA T.; MARTINEZ-ALFARO M.A.; REYES-CHILPA R. **Trypanocidal constituents in plants 5. Evaluation of some Mexican plants for their trypanocidal activity and active constituents in the seeds of *Persea americana***. *Biol Pharm Bull.* 28:1314–1317, 2005.

ADESINA J.M.; JOSE A.R.; RAJASHEKAR Y.; ILEKE K.D. ***Persea americana* (Mill.) seed extracts: potential herbal larvicide control measure against *Anopheles gambiae* Giles, 1902 (Diptera: Culicidae) Malaria vector**. *Int J Mosq Res* 3:14–17, 2016.

AHEER, G. M.; AMJAD, A.; MANZOOR, A. **Abiotic factors effect on population fluctuation of alate aphids in wheat**. *Journal of Agricultural Research*, v. 46, n. 4, p. 367-371, 2008.

AHMAD, M. AKHTAR, S. **Developmente of insecticide resistance in field populations of *Brevicoryne brassicae* (Hemiptera: Aphididae) in Pakistan**. *Journal of Economic Entomology*. v. 106, n. 2, p. 954-958, 2013.

ARAGÃO, F.A.S. de; FEITOSA, F.A.A.; MORAES, C.A.P.; CORREA, M.C. de M. **Sistema de produção de repolho utilizando TNT como mulching e manta**, 2013.

BARRET, D.M.; SOMOGYI, L.P.; RAMASWAMY, H.S. **Processing fruits: science and technology**. 2. Ed. Boca Raton: CRC Press,841 p., 2005.

BLACKMAN, R.L. & EASTOP V.L. Taxonomic issues. In van Emden, H.F. & Harrington R. **Aphid as crop pests**. Wallingford, CABI , p.1-30, 2007.

BOEKE, S.J.; BOERSMA, M.G.; ALINK, G.M.; VAN LOON, J.J.; VAN HUIS, A.; DICKE, M.; RIETJENS, I.M. **Safe evaluation of neem (*Azadirachta indica*) derived pesticides**. *Journal of Ethnopharmacology*, 94: p. 25-41. 2004.

CARDOSO P.; SCARPASSA J.; PRETTO-GIORDANO L.; OTAGUIRI E.; YAMADA-OGATTA S.; NAKAZATO G.; PERUGINI M.; MOREIRA I.; VILAS-BÔAS G. **Antibacterial activity of avocado extracts (*Persea americana* Mill.) against *Streptococcus agalactiae*.** *Phyton* 85: p. 218–224, 2017.

CARVALHO, G. H. F.. **Insecticidal activity of ethanolic crude extract of *Persea americana* (Lauraceae) on larvae and pupae of *Aedes aegypti* (diptera, culicidae).** Dissertação (Mestrado em Medicina) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 54 f, 2011.

CARVALHO, S.S.DE; RIBEIRO, L.D.; FORIM, M.R.; DA SILVA, M.F.G.; BICALHO, K.U.; FERNANDES, J.B.; VENDRAMIM, J.D. **Avocado kernels, an industrial residue: a source of compounds with insecticidal activity against silverleaf whitefly.** *Environmental Science and Pollution Research*, p. 1-9, 2020.

CASTRO, P.R.C; KLUGE, R.A; PEREZ, L.E.P.. **Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática.** Piracicaba: Agronômica Ceres,p. 640, 2005.

CHIA T.W.R.; DYKES G.A. **Antimicrobial activity of crude epicarp and seed extracts from mature avocado fruit (*Persea americana*) of three cultivars.** *Pharm Biol* 48: p. 753–756, 2010.

COX, C. **Pyrethrins/Pyrethrum.** *Journal of Pesticide Reform*, 22: p. 14-20, 2002.

DAYAN, F. E.; CANTRELL, C. L.; DUKE, S. O. **Natural products in crop protection.** *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 17, n. 12, p. 4022-4034, 2009.

DUKE, S. O. et al. **Natural products as sources of herbicides: current status and future trends.** *Weed Research, Oxford*, v. 40, n. 1, p. 99-111, 2000.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Brasília: **Embrapa Hortaliça.** Catálogo Brasileiro de Hortaliças, 60 p., 2010.

EVERT, R.F., EICHHORN, S.E. **Raven: biologia vegetal.** 8. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 876 p., 2014.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV. p.402, 2000.

GAMA, J. **Ecotoxicology: methods for ecotoxicology**. R package version 1.0.1, 2015.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. **Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários**. Química Nova, 30, p. 374-381, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Dados da produção de couve no Brasil, 2017**. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/couve/br>. Acesso em: 22 de outubro de 2022.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (INMET). **[Normais Climatológicas do Brasil]**. Brasília, 2022. Disponível em: <https://portal.inmet.gov.br/dadoshistoricos>. Acesso em: 12 dezembro. 2022.

IRAC Susceptibility Test Methods Series. **Method nº 19**. Version: 3.4. Disponível em: <https://irac-online.org/test-methods/>. Acesso em 14/07/2022

ISMAN, M.B. **Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world**. Annu Rev Entomol.; 51: p. 45-66, 2006.

JIMÉNEZ-ARELLANES A.; LUNA-HERRERA J.; RUIZ-NICOLAS R.; CORNEJO-GARRIDO J.; TAPIA A.; YEPEZ-MULIA L. **Antiprotozoal and antimycobacterial activities of *Persea Americana* seeds**. BMC Complement Altern Med 13: p.109–114, 2013.

JÚNIOR, C.V. **Terpenos com atividade inseticida: uma alternative para o controle químico de insetos**. Química Nova. Sociedade Brasileira de Química, v. 26, n.3, p. 390 – 400, 2003.

LEITE J.J.G.; BRITO E.H.S.; CORDEIRO R.A., BRILHANTE R.S.N.; SIDRIM J.J.C.; BERTINI L.M.; MORAIS S.M.; ROCHA M.F.G. **Chemical composition, toxicity and**

larvicidal and antifungal activities of *Persea Americana* (avocado) seed extracts. Rev Soc Bras Med Trop 42: p.110–113, 2009.

LEITE S.A.F, LEITE B.S, CARRIÇO C.S, ROSA Y.G, Figueiredo M.T.D. **Biopolyol and Foam Production From Lemon Bagasse Liquefaction.** 65: p.376-381, 2018.

LIU, T. X.; SPARKS JR., ALTON N. **Aphids on Cruciferous Crops Identification and Management,** 2001.

MARINGONI, A. C. **Doenças das crucíferas.** In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Org.). Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, p. 297-306, 2005.

MARTINEZ, S. S.; VAN ENDEM, H. F. **Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) caused by Azadirachtin.** Neotropical Entomology, v. 30, n. 1, p. 113-124, 2001.

MARTINEZ, S. S. **O nim, *Azadiractina indica* – Natureza, usos múltiplos, produção.** Londrina: IAPAR, p.142, 2002.

MELO, RAC; VENDRAME, LPC; MADEIRA, NR; BLIND, AD; VILELA, NJ. **Caracterização e diagnóstico de cadeia produtiva de brássicas nas principais regiões produtoras brasileiras.** Brasília: Embrapa Hortaliças, 100p. (Embrapa Hortaliças. Documentos, 157), 2017.

MORDUE (LUNTZ) A. J.; BLACKWELL, A. **Azadirachtin: a update.** Journal of Insect Physiology, 39: p. 903-924, 1993.

NÉEMAN I.; LISFSHITZ A.; KASHMAN Y. **New antibacterial agent isolated from the avocado pear.** Appl Microbol 1:470-473, 1970.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/> (Acessado em maio de 2023)

REMBOLD, H.; SHARMA, G. H.; CZOPPELT, C. H.; SCHUMUTTERER, H. **Azadirachtin: a potent insect growth regulator of plant origin**. Zoological Angew Entomology, Humburg, v. 93, p. 12-17, 1982.

REMBOLD, H. **Inseticidas de origem vegetal** (Arnason, JT, Philogene, BJ, Morand, P., eds.). Série de Simpósios ACS 387. Washington, p. 150, 1989.

RODRIGUES-SAONA, C.; TRUMBLE, J.L. **Biologically active aliphatic acetogenins from specialized idioblast oil cells**. Curr Org Chem 4: 1249-1260, 2000.

RODRIGUEZ-SAONA C.; MILLAR J.G.; MAYNARD D.F.; TRUMBLE J.T. **Novel antifeedant and insecticidal compounds from avocado idioblast cell oil**. Chem Ecol 24: p. 867–889, 1998.

RONDELLI, VM, PRATISSOLI, D., GONÇALVES DOS SANTOS JUNIOR, HJ, ZAGO, HB, CONTARINI MACHADO, L., RODRIGUES, H. de S. e VALBON, WR. **Atividade inseticida de Beauveria bassiana e óleo de mamona contra *Plutella xylostella* em casa de vegetação**. Bioscience Journal, vol. 29, não. 5, pp. 1187–1193, 2013.

RUSCOE, G. N. E. **Growth disruption effects of an insect antifeedant**. Nature New Biology, New York, v. 236, p.159-160, 1972.

SAITO, M. L.; LUCCHINI, F. **Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA (Documento 12), 46 p., 1998.

SALERNO, R.A.; SOBRINHO, T.G.; COCARELLI, V. **Avaliação do efeito inseticida do extrato etanólico de pimenta do reino (*Piper nigrum* L.) em pulgões *Brevicorne brassicae* (Homoptera: Aphidae)**. Academia insecta. Viçosa, v. 2, n. 1, p. 9-12, 2002.

SALVADORI, J. R.; PEREIRA, P. R. V. S.; SILVA, M. T. B. **Manejo de pulgões**. Revenue Culture, v. 75, n. 1, p. 32-34, 2005.

SANTA-CECÍLIA L.V.C.; SANTA-CECÍLIA F.V.; PEDROSO E.C.; SOUZA M.V.; ABREU F.A.; OLIVEIRA D.V.; CARVALHO G.A. **Extratos de plantas no controle de**

***Planococcus citri* (Risso, 1813) (Hemiptera: Pseudococcidae) em cafeeiro.** Coffee Sci 5: p. 283–293, 2010.

SILVA, E.E.; POLLI, H.; GUERRA, J.G.M.; AGUIAR-MENEZES, E.L.; RESENDE, A.L.S.; OLIVEIRA, F.L.; RIBEIRO, R.L.D. **Sucessão entre cultivos orgânicos de milho e couve consorciados com leguminosas em plantio direto.** Horticultura Brasileira, v.29, n.1, p.57-62, 2011.

SILVA, M.B.; MORANDI, M.A.B.; JÚNIOR, T.J.P.; VENZON, M.; FONSECA, M.C.M. **Extratos de plantas e seus derivados no controle de doenças e pragas.** In: Venzon, M.; Júnior, T.J.P.Pallini, A. Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica, 2010. p. 33-53, 2010.

SOARES, C. G.; LEMOS, R. N. S.; CARDOSO, S. R. S.; MEDEIROS, F. R.; ARAÚJO, J. R. G. **Efeito de óleos e extratos aquosos de *Azadirachta indica* A. Juss e *Cymbopogon winterianus* Jowitt sobre *Nasutitermes corniger* Motschuls (Isoptera: Termitidae).** Revista de Ciências Agrárias, Belém, n. 50, p. 107-116, 2008.

SOLÓRZANO, F.; MIRANDA M. G. **Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agentes.** Current Opinion in Biotechnology, v. 23, p. 136-141, 2012.

SOUZA, A.P.; VENDRAMIM, J.D. **Atividade ovicida de extratos aquosos de meliáceas sobre a mosca branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo b em tomateiro.** Scientia Agricola, 57: p. 403-406, 2000.

STEIN U.; KLINGAUF F. **Insecticidal effect of plant extracts from tropical and subtropical species. Traditional methods are good as long as they are effective.** J Appl Entomol 110: p. 160–166, 1990.

STONE, R. **A biopesticidal tree begins to blossom: neem seed oil has insect toxicologists buzzing about its potential as a source of natural insecticides.** Science, v. 255, n. 5048, p. 1070-1071, 1992.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 954 p., 2013.

VAN EMDEN, H. F. **Handbook of agricultural entomology.** Wiley-Blackwell. p. 311, 2013.

VAN EMDEN, H. F.; HARRINGTON, R. **Aphids as crop pests**. Wallingford: CAB International. 717p, 2007.

ZAMORA-NATERA, F.; GARCÍA-LÓPEZ, P.; RUIZ-LÓPEZ, M.; SALCEDO-PÉREZ, E. **Composition of alkaloids in seeds of *Lupinus mexicanus* (Fabacea) and antifungal and allelopathic evaluation of the alkaloid extract**. *Agrociencia*, Montecillo, v.42, n.2, p. 185-192, 2008.

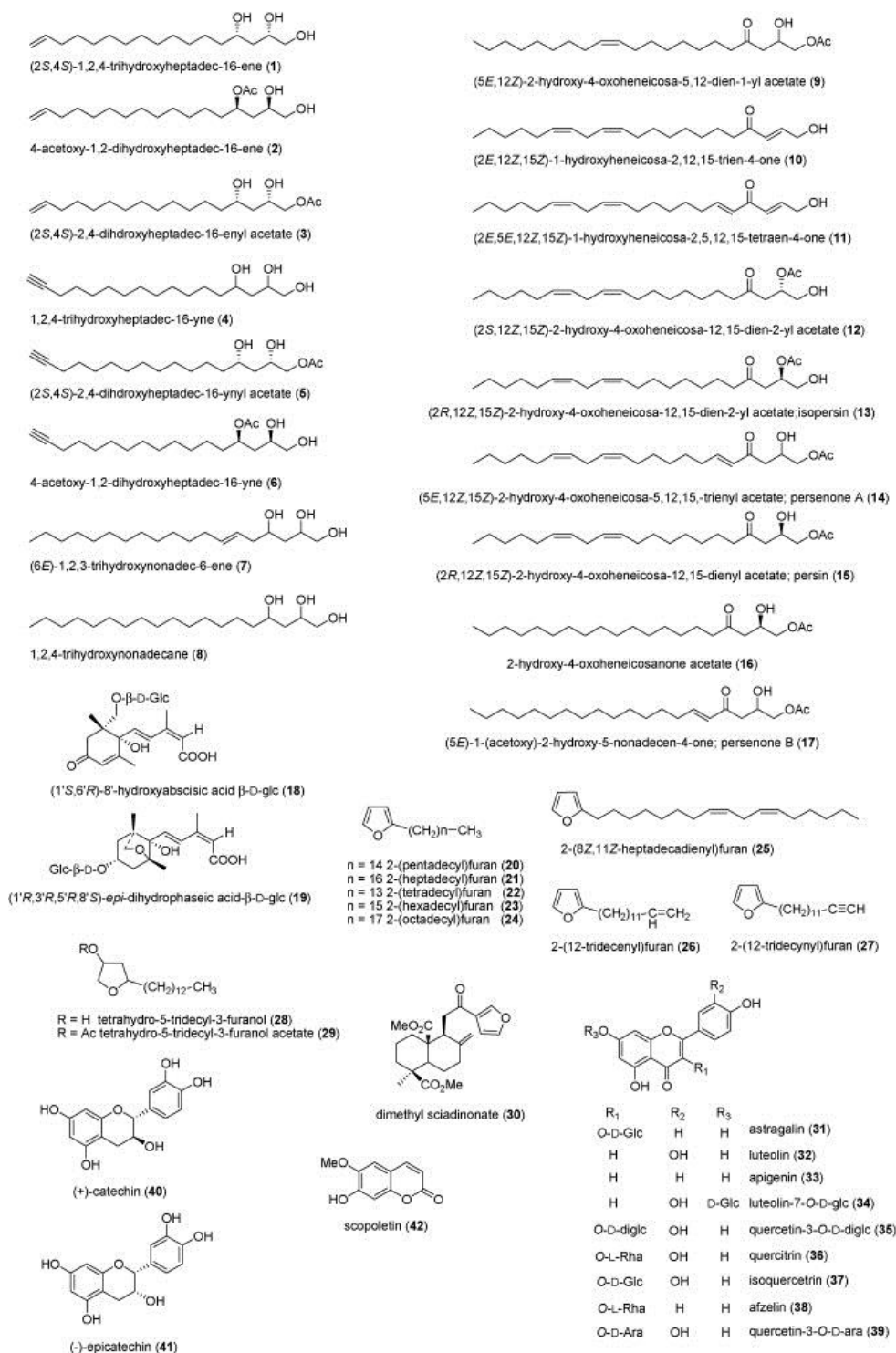
3. CONCLUSÕES GERAIS

A exploração e valorização de um resíduo oriundo do processamento agroindustrial como o processamento das frutas como a semente do abacate pode ser explorada amplamente, por meio da aplicação das mais variadas técnicas como a liquefação explorada neste trabalho. Os resultados apontaram que a biomassa da semente de abacate, pode ser uma fonte promissora de compostos bioativos, e que mediante a aplicação da técnica de liquefação, foi possível sintetizar biocompostos os quais apresentaram atividade inseticida sobre pulgões. Neste contexto a exploração do potencial inseticida de produtos sintetizado de plantas como o biocomposto, pode ser uma alternativa interessante a ser explorada para o controle alternativo de pragas agrícolas, podendo se tornar uma ferramenta adicional ao Manejo Integrado de Pragas (MIP). Pois o biocomposto sintetizado da semente de abacate apresentou resultados satisfatórios no que se refere ao efeito letal e repelente sobre ninfas de pulgões em condições de laboratório, e ainda foi capaz de reduzir a abundância de populações de pulgões em cultivo de couve em condições de campo. No entanto há muito a se investigar sobre atividade inseticida observada, antes que este seja recomendado para uso, como por exemplo: espectro de ação; modo de ação a diferentes pragas e culturas; efeito letais e subletais aos inimigos naturais e a insetos não alvo; avaliações toxicológicas; e sua biodegradabilidade no ambiente.

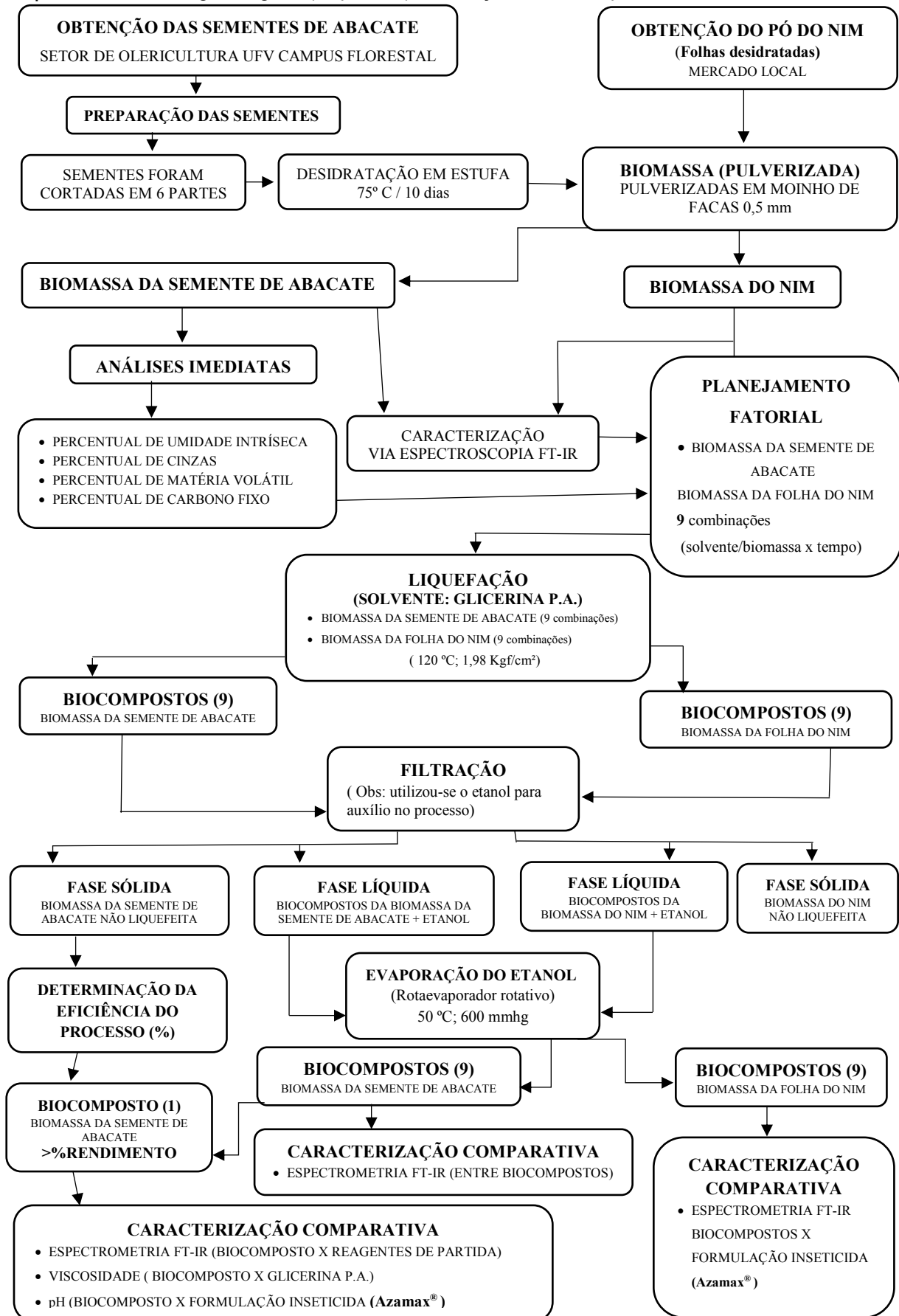
Para o futuro a técnica de liquefação e outras dentro do conceito de biorrefinaria, devem ser avaliadas como um todo, e assim serem adaptadas quando necessário para torná-las economicamente viáveis para exploração e valorização de bioamassas. Por outro lado, os produtos obtidos mediante aplicação das mais variadas técnicas podem ser testados e aplicados aos mais variados seguimentos, não com intuito único de substituição dos produtos de uso convencional, mas como complementar.

APÊNDICES

Apêndice A: Estruturas dos constituintes químicos do metabólito secundário de várias partes da planta do abacateiro (*Persea Americana* Mill.) (Lauraceae) que apresentaram bioatividade até 2007. Acetogeninas alifáticas (**1-17**); glicosídeos terpenóides (**18,19**); avocadofuranos (**20-30**); flavonóides (**31-41**); cumarina (**42**). Fonte: H. Ding et al. 2007 / *Seminars in Cancer Biology* 17 p. 386–394.



Apêndice B: Fluxograma geral (Capítulo 1) - Obtenção de biocompostos



Apêndice C: Tabela de dados utilizado para cálculo de percentagem de umidade intrínseca (Pulverizado da semente de abacate)

Cadinho	M_{cadinho} (g)	M_{biomassa} (g)	M_{final} (g)	% de Umidade
1	35,1987	1,0378	36,1656	6,83
2	38,6966	1,0002	39,6329	6,39
3	38,9859	1,0933	39,9998	7,26
4	36,7296	1,0137	37,6767	6,57
5	37,7336	1,0237	38,7002	5,58
6	38,7714	1,0893	39,8061	5,28
7	31,3956	1,0440	32,3814	5,57
8	41,4219	1,0167	42,3889	4,89

Legenda: Massa do cadinho (**M_{cadinho}**), Massa do Pulverizado (biomassa) inicial (**M_{biomassa}**), Massa da biomassa final + Massa do cadinho (**M_{final}**)

Apêndice D: Tabela de dados utilizado para cálculo de percentagem de matéria volátil (Pulverizado da semente de abacate)

Cadinho	M_{cadinho} (g)	M_{biomassa} (g)	M_{final} (g)	% de Umidade
1	24,5051	1,0231	24,5975	90,97
2	18,4082	1,0123	18,5335	87,62
3	24,9492	1,0152	25,0512	89,95
4	25,6443	1,0115	25,8209	82,54
5	24,0172	1,0122	24,1253	89,32
6	24,5067	1,0564	24,6199	89,28
7	24,5571	1,0164	24,6898	86,94
8	28,0388	1,0285	28,1897	85,33

Legenda: Massa do cadinho (**M_{cadinho}**), Massa do Pulverizado (biomassa) inicial (**M_{biomassa}**), Massa da biomassa final + Massa do cadinho (**M_{final}**)

Apêndice E: Tabela de dados utilizado para cálculo de percentagem de cinzas (Pulverizado da semente de abacate)

Cadinho	M_{cadinho} (g)	M_{biomassa} (g)	M_{final} (g)	% de Cinza
1	25,6889	1,0018	25,7097	2,08
2	24,5141	1,0004	24,5319	1,78
3	35,1516	1,0024	35,1793	2,76
4	38,6249	1,0081	38,6469	2,18
5	38,1096	1,0071	38,1303	2,52
6	37,6769	1,0077	37,7003	2,54
7	35,4688	1,0214	35,4712	2,79
8	36,4566	1,0578	36,5111	2,67

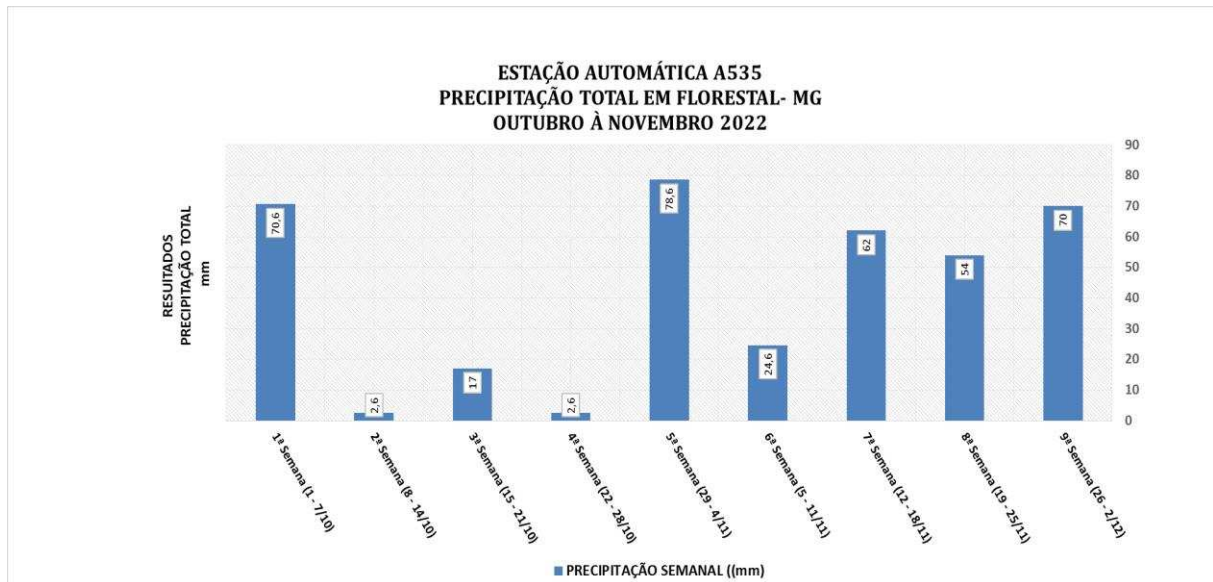
Legenda: Massa do cadinho (**M_{cadinho}**), Massa do Pulverizado (biomassa) inicial (**M_{biomassa}**), Massa da biomassa final + Massa do cadinho (**M_{final}**)

Apêndice F: Tabela de dados do processo de liquefação da biomassa da semente de abacate

Amostras	Repetição	Mbiomassa (g)	Msolvente* (g)	Mvidro (g)	Mpapel (g)	Mfinal (g)	Rendimento (Y)%
AAA	1	5,0582	10,0689	36,9104	1,0978	40,0254	60,12
AAA	2	5,0217	10,4029	34,7845	1,0796	37,8563	60,32
AAA	3	5,0505	10,0692	35,8344	1,0626	38,9583	59,19
AAA	4	5,0321	10,0541	36,3245	1,0673	39,3561	60,96
AAA	5	5,0245	10,0456	35,9997	1,0783	38,9962	61,82
AAA	6	5,0341	10,0679	36,0783	1,0871	39,2112	59,36
AAB	1	5,0294	10,0623	34,448	1,0659	37,8451	53,65
AAB	2	5,0066	10,1411	26,0424	1,053	29,2567	56,83
AAB	3	5,0247	10,1221	27,3523	1,0945	30,7543	54,08
AAB	4	5,0954	10,0834	33,9567	1,0843	37,1875	57,87
AAB	5	5,0012	10,0678	35,0983	1,0771	38,2231	59,06
AAB	6	5,0743	10,1012	37,0621	1,0689	40,3856	55,57
AAC	1	5,0414	10,0576	14,1917	1,0723	17,832	49,06
AAC	2	5,1428	10,4816	14,3587	1,0757	18,0871	48,42
AAC	3	5,0399	10,1684	13,595	1,0736	17,5922	41,99
AAC	4	5,0232	10,233	15,0324	1,0623	18,8231	45,68
AAC	5	5,0567	10,0892	16,6793	1,0755	20,0978	53,67
AAC	6	5,0133	10,0444	15,4561	1,0711	19,2577	45,53
ABA	1	5,0598	15,2389	36,0232	1,0452	39,6451	49,07
ABA	2	5,0038	15,1368	34,7184	1,1055	37,8999	58,51
ABA	3	5,0205	15,077	35,4134	1,0798	38,7854	54,34
ABA	4	5,0552	15,0643	35,0043	1,0459	38,9079	43,47
ABA	5	5,1098	15,7423	35,0033	1,0551	39,0147	42,14
ABA	6	5,0006	15,3245	34,8875	1,0647	38,0341	58,37
ABB	1	5,0328	15,0395	28,9175	1,0822	32,7651	45,05
ABB	2	5,0313	15,1557	28,2249	1,0599	31,8972	48,08
ABB	3	5,0025	15,0265	29,3497	1,0767	32,8897	50,76
ABB	4	5,1156	15,1201	34,0231	1,0677	37,3244	56,34
ABB	5	5,0027	15,0379	33,0174	1,0727	36,9933	41,97
ABB	6	5,0176	15,0355	34,0231	1,0613	37,4741	52,37
ABC	1	5,1068	15,5317	13,4829	1,0833	17,5355	41,86
ABC	2	5,1361	15,0812	29,3453	1,0578	32,6471	56,31
ABC	3	5,0973	15,1112	34,9217	1,0649	38,5449	49,81
ABC	4	5,1119	15,0772	35,0018	1,0477	38,7733	46,72
ABC	5	5,0799	15,0335	33,9988	1,0871	37,3212	56,00
ABC	6	5,0766	15,0033	28,9753	1,0543	33,0132	41,23
ACA	1	5,0114	25,1076	41,6666	1,0817	44,9929	55,21
ACA	2	5,0069	25,1779	35,4949	1,103	39,0252	51,52
ACA	3	5,028	25,078	33,9771	1,0834	37,6774	47,95
ACA	4	5,0998	25,1043	34,9423	1,0498	38,9511	41,98
ACA	5	5,0771	25,0034	34,0899	1,0612	37,7666	48,48
ACA	6	5,0444	25,1967	33,9911	1,0844	37,7779	46,43
ACB	1	5,0322	25,0616	34,7145	1,0521	38,7755	40,21
ACB	2	5,0545	25,2084	34,9676	1,1253	38,9091	44,28
ACB	3	5,1996	25,0331	35,4245	1,0926	39,8021	36,82
ACB	4	5,0078	25,0034	33,5521	1,0478	37,3632	44,82
ACB	5	5,124	25,2201	35,6641	1,0933	39,9063	38,55
ACB	6	5,0091	25,1097	33,7771	1,0644	38,0002	36,94
ACC	1	5,0754	25,1086	34,9235	1,0921	38,9999	41,20
ACC	2	5,0308	25,0405	37,6316	1,0762	41,6933	40,66
ACC	3	5,0283	25,1042	34,7489	1,0412	38,7784	40,57
ACC	4	5,1978	25,0556	31,4773	1,0739	35,9591	34,44
ACC	5	5,0055	25,0091	29,3995	1,0488	33,5944	37,15
ACC	6	5,144	25,0143	34,5437	1,0899	38,9231	36,05

Legenda: Pulverizado da biomassa de abacate (**A¹**), Proporção 2:1 solvente/biomassa (**A²**), Proporção 3:1 solvente/biomassa (**B²**), Proporção 5:1 solvente/biomassa (**C²**), Tempo de liquefação 30 minutos (**A³**), Tempo de liquefação 60 minutos (**B³**), Tempo de liquefação 90 minutos (**C³**), * Glicerina P.A. (99,5 %), Massa da biomassa inicial (**Mbiomassa**), Massa do vidro de relógio (**Mvidro**), Massa do papel filtro (**Mpapel**), Massa do vidro de relógio + Massa do papel filtro + Massa da biomassa final (**Mfinal**).

Apêndice G: Gráfico de precipitações pluviométricas semanais de outubro a novembro de 2022 em Florestal –MG, Estação Automática A535. Fonte: <https://portal.inmet.gov.br/dadoshistoricos>. Acesso em: 12 de dezembro de 2022.



Apêndice H: Fluxograma geral (Capítulo 2) – Investigação do potencial inseticida dos biocompostos

