



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA, COMÉRCIO E SERVIÇOS
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

CARTA PATENTE Nº BR 102018008313-9

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito: BR 102018008313-9

(22) Data do Depósito: 25/04/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 05/11/2019

(51) Classificação Internacional: A01N 65/08; A01N 25/28; A01P 7/02; A01P 7/04.

(52) Classificação CPC: A01N 65/08; A01N 25/28.

(54) Título: PROCESSO DE OBTENÇÃO DE UMA FORMULAÇÃO INSETICIDA/ACARICIDA MICROENCAPSULADA POR SPRAY DRYER DE ANNONA SQUAMOSA E ANNONA MURICATA

(73) Titular: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS, Instituição de Ensino e Pesquisa. CGC/CPF: 24464109000148. Endereço: AV. LOURIVAL MELO MOTA, S/N, TABULEIRO DO MARTINS, MACEIÓ, AL, BRASIL(BR), 57072-970, Brasileira

(72) Inventor: ROSEANE CRISTINA PREDES TRINDADE; ANILDE DA GRAÇA SOUSA MACIEL; EURICO EDUARDO PINTO DE LEMOS; ANTÔNIO EUZÉBIO GOULART SANT'ANA; IRINALDO DINIZ BASÍLIO JÚNIOR; ALICE MARIA NASCIMENTO DE ARAÚJO; JOSÉ PEDRO DA SILVA; LEONARA EVANGELISTA DE FIGUEIROA; FERNANDA EMANUELLE MENDONÇA DE MORAIS.

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 25/04/2018, observadas as condições legais

Expedida em: 18/07/2023

Assinado digitalmente por:
Alexandre Dantas Rodrigues

Diretor Substituto de Patentes, Programas de Computador e Topografias de Circuitos Integrados

PROCESSO DE OBTENÇÃO DE UMA FORMULAÇÃO INSETICIDA/ACARICIDA MICROENCAPSULADA POR SPRAY DRYER DE ANNONA SQUAMOSA E ANNONA MURICATA

[001] Trata-se do processo de obtenção de um inseticida/acaricida comercial natural à base da microencapsulação do extrato hexânico da semente de pinha e extrato etanólico de graviola para ser utilizado no controle de pragas agrícolas.

PROBLEMA QUE A INVENÇÃO SE PROPOE A RESOLVER

[002] O extrato hexânico de sementes de pinha (*Annona squamosa*) e o extrato etanólico de sementes de graviola (*Annona muricata*) são muito oleosos e quando se faz a solução aquosa para pulverização como inseticida/acaricida, os dois extratos não apresentam uma boa solubilidade. Dessa forma, não se obtém uma boa cobertura de aplicação e, consequentemente, um bom efeito da atividade inseticida/acaricida dos extratos de sementes de pinha e de graviola. Como também, o hexano é um solvente tóxico e que não seria liberado para uso regular pelos agricultores, e com a encapsulação, é perdido o resíduo de hexano pela alta temperatura que o equipamento utiliza. Assim, o preparo de uma formulação microencapsulada com polímeros biodegradáveis resolve esse problema tornando o produto homogêneo, atóxico e de fácil aplicação e cobertura.

[003] Outro importante problema que o produto irá resolver é a questão da persistência do inseticida/acaricida após a aplicação, pois a encapsulação faz com que o princípio ativo seja liberado gradativamente adquirindo um efeito residual maior diminuindo o número de aplicações e consequentemente, custos de aplicação.

CAMPO DE ATUAÇÃO

[004] Está direcionada a agricultura como uma formulação natural de controle de insetos e ácaros praga.

ESTADO DA TÉCNICA

[005] O uso de plantas com ação inseticida/acaricida constitui-se num campo de investigação aberto, amplo e contínuo. A diversidade de substâncias presentes na flora continua sendo um enorme atrativo na área de controle de insetos, levando-se

em consideração que apenas uma pequena parcela das plantas foi investigada com tal finalidade (SCHMALTZ, C.; SANTOS, J.V.; GUTERRES, S.S. Nanocápsulas como uma tendência promissora na área cosmética: a imensa potencialidade deste pequeno grande recurso. *Infarma*, v.16, p.80. 2005).

[006] Entre uma diversidade de plantas com potencial inseticida/acaricida destaca-se as espécies da família Annonaceae, distribuídas em 14 gêneros com destaque para *Annona muricata* L. (graviola) e *Annona squamosa* L. (fruta-do-conde, pinha, ata) (KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 36, p. 225-242, 2014).

[007] A família Annonaceae apresenta distribuição predominantemente tropical (PINHEIRO, M. L. B. et al. Acanthoic acid and other constituents from the stem of *Annona amazonica* (Annonaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 20 n. 6, p. 1095-1102, 2009). Na literatura, alguns autores mostram que existem distinções entre a quantidade de gêneros, com relatos de 130, até aproximadamente 200 gêneros, e cerca de 2.500 espécies descritas (SAUQUET, H. et al. Phylogenetic analysis of Magnoliales and Myristicaceae based on multiple data sets: implications for character evolution. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 142, p. 125–186, 2003).

[008] Na literatura, são relatadas 42 espécies de Annonaceae com potencial inseticida, distribuídas em 14 gêneros (*Annona*, *Artobotrys*, *Asimina*, *Cardiopetalum*, *Dennettia*, *Duguetia*, *Guatteria*, *Monodora*, *Mkilua*; *Oxandra*, *Polyathia*, *Rollinia*, *Unonopsis* e *Xylopia*) com destaque para as espécies *A. muricata* e *A. squamosa* que atualmente são as espécies mais utilizadas para estudos de potencial inseticida (KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 36, p. 225-242, 2014).

[009] A *A. squamosa*, conhecida popularmente como ata, fruta-do-conde ou pinha, é nativa das Antilhas, onde era chamada de “anón” pelos espanhóis no século XVI. Chegou ao Brasil por meio do Conde de Miranda que plantou o primeiro exemplar da árvore na Bahia, em 1626, originando daí um de seus nomes vulgares, fruta-do-conde (BRITO, H. O. et al. Análise da composição fitoquímica do extrato etanólico das folhas da *Annona squamosa* (ATA). *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 89, n. 3, p. 180-184,

2008). É conhecida na língua inglesa com “sugar apple” ou “sweet sop”, “rinon” em espanhol e “ata” em francês (BRAGA SOBRINHO, R.; MESQUITA, A. L. M.; HAWERROTH, F. J. Manejo integrado de pragas na cultura da ata. Circular técnica. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, 2012. 25p).

[010] No Google Patents foram encontradas 248 patentes referente a pinha, nenhuma no INPI e 86 patentes no Espacenet, mas principalmente com isolamentos de acetogeninas, a parte de processamento da fruta e com ação antitumoral.

[011] A graviola (*A. muricata*) é uma planta originária da América Central, podendo ser encontrada em quase toda faixa equatorial do planeta, essa planta foi introduzida no Brasil pelos portugueses no século XVI, e os maiores produtores dessa planta são Bahia e São Paulo (BRAGA SOBRINHO, R. Potencial de exploração de annonaceas no Nordeste do Brasil. EMBRAPA Agroindústria Tropical. XII Agroflores – 17ª Semana Internacional da Fruticultura, Floricultura e Agroindústria, 2010). No século XXI, a graviola despontou-se nos estados de Alagoas, Bahia, Ceará e Pernambuco como uma opção atraente para a pequena agroindústria de polpas congeladas e de outros produtos industrializados, tais como: sorvetes, sucos, néctares, bebidas lácteas, etc. Seu cultivo ampliou-se para outras regiões do Brasil e passou a ser uma opção interessante para inúmeros produtores (LEMOS, E.E.P. A produção de anonáceas no Brasil. Palestra Anonáceas - V Congresso Internacional & Encontro Brasileiro sobre Annonaceae: do gene à exportação, Edição especial, v. 36. p. 077-085, 2014).

[012] No Google Patents foi encontrado 119 resultados de buscas com graviola, dois resultados no INPI com fitoterápicos e 29 no Espacenet, também a maioria com resultados de isolamentos de acetogeninas e aproveitamento do fruto.

[013] Uma das vantagens da utilização dessas duas espécies de anonáceas para o preparo da formulação microencapsulada é que são plantas cultivadas economicamente no Brasil e as sementes são resíduos no momento do processamento das frutas para a indústria de polpas, sucos industrializados e sorvetes.

[014] Do ponto de vista fitoquímico, a família Annonaceae se destaca pelos variados tipos de metabólitos secundários. Dados quimiotaxonômicos caracterizam esta família pela presença de alcaloides, flavonoides e terpenoides. Além da presença das

acetogeninas, principais constituintes bioativos encontrados em gêneros específicos de anonáceas, que são uma classe de compostos com ampla atividade biológica, tais como citotóxica, imunossupressora, inseticida, antitumoral, antiparasitária, antimicrobiana e antioxidante (BERMEJO, A. et al. Acetogenins from Annonaceae: recent progress in isolation, synthesis and mechanisms of action. Natural Product Reports, v. 22, p. 269-303, 2005; SILVA, M. S. et al. Alkaloids and other constituents from *Xylopia langsdorffiana* (Annonaceae). Química Nova, v. 32, n. 6, p. 1566-1570, 2009; LIMA, L. A. R. S.; PIMENTA, L. P. S.; BOAVENTURA, M. A. D. Acetogenins from *Annona cornifolia* and their antioxidant capacity. Food Chemistry, v.122, n. 4, p. 1129-1138, 2010; MATSUMOTO, R. S. et al. Allelopathic potential of leaf extract of *Annona glabra* L. (Annonaceae). Acta Botanica Brasilica, v. 24, n. 3, p. 631-635, 2010; MIAO, Y. et al. Metabolomics study on the toxicity of *Annona squamosa* by ultraperformance liquid-chromatography high-definition mass spectrometry coupled with pattern recognition approach and metabolic pathways analysis. Journal of Ethnopharmacology, v. 184, p. 87-195, 2016).

[015] Com relação às propriedades inseticidas são inibidoras do transporte de elétrons mitocondrial, afetando a ação do NADH-ubiquinona oxireduktase (ÁLVARES COLOM, O. et al. Toxic effects of annonaceous acetogenins from *Annona cherimolia* (Magnoliales: Annonaceae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Pest Science, v. 80, p. 63-67, 2007).

[016] As acetogeninas são caracterizadas por apresentarem uma cadeia longa alifática com 32 a 34 átomos de carbono e um anel γ -lactônico terminal insaturado ou saturado. Ao longo da cadeia podem apresentar um número variável de anéis tetrahidrofuranos (THF) ou tetraidropiranos (THP), e grupos funcionais oxigenados (hidroxilas, cetonas ou epóxidos) (ALALI, F. Q.; LIU, X. X.; MCLAUGHLIN, J. L. Annonaceous acetogenins: recent progress. Journal of Natural Products, v. 62, p. 504-540, 1999).

[017] Em mais de 30 anos de estudo, o número de acetogeninas isoladas já passa de 500 (LIAW, C. C. et al. Historic perspectives on annonaceous acetogenins from the chemical bench to preclinical trials. Planta Medica, v.76, p. 1390-1404, 2010). Podem ser extraídas das cascas, ramos, folhas, sementes e frutos verdes de anonáceas,

através de solventes orgânicos, como o etanol, metanol, hexano e diclorometano (MAIRESSE, L. A. S. Avaliação da bioatividade de extratos de espécies vegetais, enquanto excipientes de aleloquímicos. 2005. 330 f. Tese (Doutorado em Produção vegetal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005).

[018] Das poucas patentes existentes com plantas da família Annonaceae, as que são encontradas são com isolamento de moléculas, principalmente as acetogeninas, para *A. squamosa* e *A. muricata* com ação inseticida, citotóxica e anti tumoral, como:

[019] A patente nº 4,689,232 de 25 de agosto de 1987, referente a isolamento da acetogenina Annonina oriunda de *A. squamosa* (pinha) para uso como inseticida. A patente nº 5,955,497 de 21 de setembro de 1999, de acetogeninas bioativas com ação citotóxica para células tumorais de humanos a partir de *A. squamosa*. A patente nº US 6,991,818 B2 de 31 de janeiro de 2006, referente a isoesquamocina isolada de *A. squamosa* com fins de ação inseticida. E a patente nº US 7,223,792 B2 de 29 maio de 2007, de acetogeninas de ação citotóxica oriundas de *A. muricata* (graviola).

[020] A annonina IV, annonina VIII, annonina XIV e annonina XVI foram isoladas das sementes de *A. squamosa*, através de métodos como ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono e espectrometria de massas (NONFON et al., 1990), além da esquamocina-O (1) e esquamocina-O (2), utilizando métodos semelhantes (ARAYA, H. et al. Squamocin-O (1) and squamocina-O (2), new adjacent bis tetrahydrofuran acetogenins from the seeds of *Annona squamosa*. Phytochemistry, v. 8, p. 999-1004, 2002).

[021] Várias pesquisas sobre o efeito inseticida de extratos de diferentes espécies de anonáceas têm sido realizadas, comprovando sua ação inseticida e estes resultados justificam o fato de pesquisadores utilizarem extratos de semente de plantas, como CHIEN-YIH LIN. et al. Control of Silverleaf Whitefly, Cotton Aphid and Kanzawa Spider Mite with Oil and Extracts from Seeds of Sugar Apple. **Neotropical Entomology**, v.38, n.4, p.531-536, 2009, que demonstraram a eficiência do óleo de sementes da *A. squamosa*, cuja concentração de 0,5 % apresentou controle de 90 % nos testes realizados, para o manejo de *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring, 1994 (Hemiptera: Aleyrodidae), *Aphis gossypii* Glover, 1877 (Hemiptera: Aphididae) e *Tetranychus kanzawai* Kishida, 1927 (Acari: Tetranychidae).

[022] SILVA, A.P. T.; PEREIRA, M. J. B.; BENTO, L. F. Extrato metanólico da semente de araticum (*Annona coriacea*) (Mart.) sobre a mortalidade da traça-dotomateiro (*Tuta absoluta*). Revista Brasileira de Agroecologia, v. 2, n. 2, p. 1150-1153, 2007, ao avaliarem o efeito do extrato de *Annona coriacea* Mart. sobre a traça-dotomateiro *Tuta absoluta* Meyrick, 1917 (Lepidoptera: Gelechiidae) nas concentrações de 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0% observaram que a menor concentração causou uma mortalidade de 86,4% e que as demais concentrações causaram mortalidade de 100%.

[023] O extrato etanólico de sementes de *A. coriacea* é capaz de interromper o desenvolvimento de ninhas e adultos de *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 (Hemiptera: Reduviidae). As concentrações de 25, 50, 100 e 200 mg/mL causaram de 90 a 100% de mortalidade em adultos. Para as ninhas, as concentrações maiores de 100 e 200 mg/L causaram mortalidade de 80,0 e 93,3%, respectivamente. Nas concentrações mais baixas as ninhas apresentaram anormalidades morfológicas (CARNEIRO, A. P.; PEREIRA, M. J. B.; GALBIATI, C. Biocide activity of *Annona coriacea* seeds extract on *Rhodnius neglectus* (Hemiptera: Reduviidae). Revista de Biología Tropical, v. 61, n. 1, p. 419-427, 2013).

[024] Investigações científicas mostraram que as acetogeninas bis-THF-tri-hidroxidados extratos de *A. cherimoia* (Annonaceae) são capazes de exibir efeitos tóxicos sobre lagartas em 50 µg/g de dieta, provocando a morte de mais de 80% das pupas e adultos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) (ÁLVAREZ, O. et al. Toxic effects of annonaceous acetogenins from *Annona cherimolia* (Magnoliales: Annonaceae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Journal Pesticide Science, v.80. p.63-67, 2007) e sobre ninhas de *Oncopeltus fasciatus* (Dallas, 1852) (Hemiptera: Lygaeidae) (ÁLVAREZ, O. et al. Toxic effects annonaceous acetogenins on *Oncopeltus fasciatus*. Journal Pesticide Science, v.81. p.85-89, 2008) mostraram que as acetogeninas anonacina, anonacina-A, e cis-anonacin-10-ona, provocou a morte de mais de 50% das ninhas podendo variar as concentração entre 0,1 a 15µg /dieta.

[025] ASMANIZAR, A. D.; IDRIS, A. B. Evaluation of *Jatropha curcas* and *Annona muricata* seed crude extracts against *Sitophilus zeamais* infesting stored rice. Journal

of Entomology, v.9, n.1, p.13-22, 2012, avaliaram o extrato de *A. muricata* e *Jatropha curcas* (Linnaeus) (Euphorbiaceae) nas concentrações de 0,5; 1,0; 5,0; 10,0 e 20,0% contra o coleóptero de grãos armazenados *Sitophilus zeamays* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae), porém, somente as maiores concentrações dos extratos (5,0; 10,0 e 20,0%) obtiveram mortalidade elevada entre 70 a 100%.

[026] ÁLVAREZ, M.B. et al. Efecto bioinsecticida del extracto etanólico de las semillas de *Annona cherimolia* Miller (chirimoya) y *A. muricata* Linnaeus (guanábana) sobre larvas dell'Vestadio de *Anopheles* sp.. **Revista Peruana de Biología**, Lima, v.22, n.2, p.64-73, 2002, também demonstraram o efeito bioinseticida de dois extratos etanólicos de sementes de *A. muricata* e *A. cherimolia* sobre larvas de estágio IV de *Anopheles* sp. (Diptera: Culicidae) em que ocorreu 100% de mortalidade de larvas com o uso dos dois extratos, as avaliações eram realizadas 24 horas depois da aplicação das concentrações, que foram 0,8 e 1,20 mL / 100 mL.

[027] A atividade inseticida do extrato hexânico de sementes de *A. muricata* também foi demonstrada por LLANOS, C.A.H. et al. Actividad insecticida de extractos de semilla de *Annona muricata* (Anonaceae) sobre *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). Revista Colombiana de Entomología, Bogotá, v.34, p.76-77, 2008, sobre a mortalidade de *S. zeamays*, cuja concentração testada foi de 5000 ppm e causou 77% de mortalidade dos insetos. Já Rodrigues et al. (2014) encontraram resultados com extrato hexânico da semente de *A. muricata* na concentração 0,5% apresenta eficiência de 98% para o manejo do pulgão-preto do feijão-caupi, *Aphis craccivora* Koch, 1854 (Hemiptera: Aphididae) em condições de laboratório.

[028] Como também, GONZÁLEZ-ESQUINCA, A. R. et al. In Vitro larvicidal evaluation of *Annona muricata* L., *A. diversifolia* Saff. and *A. lutescens* Saff. extracts against *Anastrepha ludens* larvae (Diptera, Tephritidae). Interciencia, v. 37, n. 4, p. 284-289, 2012, que observaram, a ação de extratos de *A. muricata*, *A. diversifolia* Saff. e *A. lutescens* Saff. (Annonaceae) em *Anastrepha ludens* Loew, 1873 (Diptera: Tephritidae), *in vitro* e que após 72 horas de exposição, observaram mortalidade de 87,0 a 94,0% com os extratos de *A. lutescens*, 70,0 a 90,0% com *A. diversifolia* e 63,0 a 74,0% com *A. muricata*, em quatro concentrações 1, 10, 100 e 1000 µg·ml⁻¹.

- [029] TRINDADE; R. C. P. et al. Larvicidal activity and seasonal variation of *Annona muricata* (Annonaceae) extract on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Revista Colombiana de Entomología, v. 37, n. 2, p. 223-227, 2011, também avaliaram o extrato etanólico de *A. muricata* (5 mg.mL) cujo resultado causou 100% de mortalidade em lagartas de *P. xylostella*, quando expostas por até 12 dias. Nas concentrações mais baixas, também se observou que a viabilidade foi reduzida.
- [030] MACIEL, A. G. S.; RODRIGUES, J.S.; TRINDADE, R.C.P.; SILVA, E.S.; SANT'ANA, A.E.G.; LEMOS, E.E.P. Effect of *Annona muricata* L. (1753) (Annonaceae) seeds extracts on *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae), **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 48, p. 4370-4375, 2015, avaliaram efeito de extratos de sementes de *A. muricata* para controlar o ácaro *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) e concluíram maior toxicidade para o extrato etanólico (CL_{50} em torno de 1,77 mg mL⁻¹), seguidos dos extratos hexânicos e aquosos das sementes (CL_{50} 3,29 e 151,74 mg mL⁻¹), respectivamente. As concentrações de 0,61, 0,88 e 1,77 mg mL⁻¹, bem como a abamectina tiveram efeito neutro sobre *T. urticae* e as concentrações de 3,10, 5,11 e 12,07 mg mL⁻¹ foram repelentes. A viabilidade dos ovos quando pulverizados com extrato etanólico (CL_{99}), Abamectina e o controle foi de 9,5, 76,5 e 91,5%, respectivamente. O efeito residual do extrato etanólico foi de 120 h após a aplicação, (HAA) com taxas de mortalidade superiores a 80%; a abamectina apresentou efeito residual de 48 HAA com 33,3% de mortalidade. Desta forma, o extrato etanólico de *A. muricata* provou ser um produto promissor para o controle de *T. urticae*.
- [031] TRINDADE, R. C. P.; GOMES, I.B.; LEMOS, E.E.P.; SANT'ANA, A.E.G. Toxicity of soursop extracts to diamondback moth. Bioscience Journal, v. 34, n. 1, p. 104-111, 2018, estudaram a ação tóxica de três extratos (hexânico, etanólico e aquoso) de sementes de *A. muricata* sobre a *P. xylostella*, encontrando efeito inseticida do extrato etanólico para lagartas, diminuindo em 60% a viabilidade dessa fase e não afetando a pupa das lagartas remanescentes. Ainda causou efeito ovicida na concentração letal de 0,08% do extrato etanólico.
- [032] A principal vantagem relacionada ao uso de extratos vegetais em proteção de plantas, quando comparados aos produtos sintéticos, deve-se ao fato de gerar novos

compostos, os quais não se tornam capazes de inativar, além de serem menos tóxicos, serem degradados rapidamente pelo ambiente, possuírem um amplo modo de ação e serem derivados de recursos renováveis (FERRAZ, S.; LOPES, E. A.; AMORA, D. X. Controle de fitonematoides com o uso de extratos e óleos essenciais de plantas. In: POLTRONIERI, L. S.; ISHIDA, A. K. N. (Ed). Métodos alternativos de controle de insetos-praga, doenças e plantas daninhas. Panorama atual e perspectivas na agricultura. Belém: EMBRAPA Amazônia Oriental, 2008. 308 p).

[033] No entanto, a rápida degradação também é considerada uma desvantagem, pois a curta duração de persistência do efeito significa que sua aplicação deve ser repetida, o que aumenta os custos para o produtor (PAVELA, R.; BENELLI, G. Essential oils as eco-friendly biopesticides? Challenges and constraints. Trends in Plant Science, v. 21, p. 1000-1007, 2016). Uma alternativa para amenizar essa rápida degradação é o preparo de formulações, que venham apresentar características de estabilidade e liberação lenta, como por exemplo, formulações microencapsuladas.

[034] Existem duas grandes barreiras ao setor brasileiro de inseticidas botânicos que precisam ser vencidas. Primeiramente, há a necessidade de pesquisa e desenvolvimento de produtos estáveis e padronizados, com tempo de ação em campo prolongado e mantendo sua baixa toxicidade ao homem e aos organismos não-alvo. Em segundo, há necessidade de técnicas de enriquecimento e controle de qualidade nos produtos a serem disponibilizados no comércio assegurando a reproduzibilidade de sua eficácia (MARCOMINI, A. M. Bioatividade e efeito residual de nanoformulações de nim sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). 2009. 82f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, SP, 2009).

[035] O processo tecnológico de microencapsulação é responsável pela produção de micropartículas que consiste em envolver, com um fino filme de uma matriz qualquer, pequenas gotículas de uma substância ativa, sendo esta chamada de núcleo (GHARSALLAOUI, A. et al. Applications of spray drying in Microencapsulation of food ingredients: An overview. Food Research International, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007). A microencapsulação pode oferecer um sistema de liberação lenta e

controlada dos extratos como forma de diminuir a quantidade de ingrediente ativo aplicado no controle de pragas.

[036] Novas técnicas visando melhorar o desempenho de inseticidas/acaricidas estão sendo usadas por indústrias químicas apoiadas pelo conhecimento em nanotecnologia para encapsular as moléculas de ingrediente ativo. Tais aplicações, na agricultura podem aumentar a eficiência dos produtos químicos e naturais, diminuir seus problemas com fotodegradação, obter maior segurança no manuseio, reduzindo os riscos de toxicidade para o homem e contaminação do meio ambiente, além de proporcionar a liberação de ingredientes ativos de forma controlada (MATTOSO, L. H. C.; MEDEIROS, E. S.; MARTIN NETO, L. A revolução nanotecnológica e o potencial para o agronegócio. Revista de Política Agrícola, v. 14, n. 4, p. 38-48, 2005; PEREZ-DE-LUQUE, A. D.; RUBIALES, D. Nanotechnology for parasitic plant control. Pest Management Science, v. 65, n. 5, p. 540-545, 2009).

[037] O conceito da microencapsulação tem como base a idealização do modelo celular, no qual o núcleo é envolvido por uma membrana semipermeável que o protege do meio externo e, ao mesmo tempo, controla a entrada e saída de substâncias na célula (RÉ, M. I. Formulating drug delivery systems by *spray drying*. Drying Thecnology, v. 24, n. 4, p. 433-446, 2006). Assim, a microencapsulação compreende um processo em que ocorre a incorporação de substâncias de interesse, designado núcleo ou material ativo, em um sistema de revestimento, que é chamado de material de parede, agente encapsulante, ou membrana (GHARSALLAOUI, A. et al. Applications of spray drying in Microencapsulation of food ingredients: An overview. Food Research International, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007; OBEIDAT, W. N. Recent patents review in microencapsulation of pharmaceuticals using de emulsion solvent removal methods. Recent Patents on Drug Delivery & Formulation, v. 3, n. 3, p. 178-192, 2009; TIWARI, S. et al. Microencapsulation techniques and its application: a review. The Pharma Research, v. 3, n. 12, 2010).

[038] Nas buscas com o termo microencapsulação foram achados mais de 238 acessos de patentes nessa área, no INPI tem 19 patentes e no Espacenet 1894 resultados, sendo a maioria na área farmacêutica e cosmética.

[039] As substâncias que serão encapsuladas se apresentam, geralmente, no estado líquido ou sólido, podendo também ser um gás (FAVARO-TRINDADE, C. S. F.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Review: microencapsulation of food ingredients. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 11, n. 2, p. 103-109, 2008).

[040] A microencapsulação realizada pelo método de *spray drying* é conhecida há muitos anos, e é utilizada em diversos produtos tais como: pigmentos naturais, probióticos, vitaminas, fármacos em geral, inseticidas, aditivos naturais, aromas e produtos alimentícios, como leite, café, sopas e chás (FAVARO-TRINDADE, C. S. et al. *The use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysate*. *Food Hydrocolloids*, v. 24, n. 4, p. 336-340, 2010; OLIVEIRA, O. W.; PETROVICK, P. R. Secagem por aspersão (*spray drying*) de extratos vegetais: bases e aplicações. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 20, n. 4, p. 641-650, 2010; SINGH, S.; DIXIT, D. A review on spray drying: emerging technology in food industry. *International Journal of Applied Engineering and Technology*, v. 4, n. 1, p. 1-8, 2014; JOYE, I. J.; McCLEMENTS, D. J. Biopolymer-based nanoparticles and microparticles: Fabrication, characterization, and application. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, v. 19, n. 5, p. 417- 427, 2014; CHEN, H.; ZHANG, Y.; ZHONG, Q. Physical and antimicrobial properties of spray-dried zein-casein nanocapsules with co-encapsulated eugenol and thymol. *Journal of Food Engineering*, v. 144, p. 93–102, 2015).

[041] Na microencapsulação por *spray drying*, a substância a ser encapsulada é homogeneamente dispersa ou dissolvida em uma solução aquosa ou dispersão, contendo o agente encapsulante. Em seguida, o sistema é atomizado em uma corrente de ar quente que vai promover a evaporação do solvente, obtendo-se a rápida solidificação das gotículas que depois serão recolhidas no ciclone em forma de pó (NUNES, G. L. Microencapsulação por *spray drying* do extrato crioconcentrado de erva mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hill) empregando a maltodextrina como agente encapsulante. 2014. 92f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2014).

[042] A patente nº US 2003/0104076A1 de 5 de junho de 2003, descreve o processo de obtenção de extratos secos por Spray drying, mas de um modo geral, não só de extratos de plantas.

[043] Dentre os trabalhos mais próximos à pesquisa que resultou no presente pedido está o artigo por (GOMES, I. B.; TRINDADE, R.C.P.; SANT'ANA, A.E.G.; LEMOS, E.E.P.; BASÍLIO JÚNIOR, I.D. Bioactivity of microencapsulated soursop seeds extract on *Plutella xylostella*. Ciência Rural, v.46, n.5, p.771-775, 2016), ao testar microencapsulado de extrato de *A. muricata* em larvas de *P. xylostella* obtiveram CL₅₀ e CL₉₉ estimadas em 258 e 3081 mg L⁻¹, respectivamente. Mostrando eficiência do microencapsulado na mortalidade dessa praga. Foi observado também para *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), redução do peso médio quando utilizado em sua dieta artificial nanoformulações com nim (MARCOMINI, A. M. Bioatividade e efeito residual de nanoformulações de nim sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). 2009. 82f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP, 2009). Porém, esse trabalho utilizou outro polímero para confecção do microencapsulado.

[044] Ainda, os estudos com o óleo essencial e o nanoencapsulado de folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* (Rutaceae) apresentaram reduções de até 95% no número de ovos e ninfas de *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Aleyrodidae) (CHRISTOFOLI et al., 2015).

[045] O extrato de raiz de *S. officinalis* L. e as nanopartículas apresentaram toxicidade para ovos de *T. urticae* com CL₅₀ de 3,1 e 13,8 g L⁻¹ para as nanopartículas e extrato, respectivamente. E CL₉₀ de 13,1 e 18,8 g L⁻¹ (PAVELA, R. et al. Saponaria officinalis-synthesized silver nanocrystals as effective biopesticides and oviposition inhibitors against *Tetranychus urticae* Koch. Industrial Crops and Products, v. 97, p. 338-344, 2017).

[046] Outros autores observaram que nanopartículas de enxofre em comparação com o enxofre, tem efeitos mais significativos sobre adultos e ninhas de *T. urticae*, apresentando concentrações letais menores para as nanopartículas de enxofre, tanto nos bioensaios labororiais como em casa de vegetação (GAVANJI, S. et al.

Comparative acaricidal efficacy of sulfur and nano sulfur against *Tetranychus urticae*. International Journal of Scientific Research in Inventions and New Ideas, v. 1, n. 2, p. 23-28, 2013). Nanopartículas de prata também foram eficientes, causando mortalidade ao ácaro *T. urticae* em experimentos com metodologia de imersão, no entanto, quando pulverizado apresentou maior mortalidade (JALALIZAND, A. et al. The effect of Silver nanoparticles on *Tetranychus urticae*. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, v. 5, n. 8, p. 820-827, 2013).

[047] Existe um requerimento de patente do grupo da Esalq sob nº WO2014113860 A1 com data do depósito de 23 de janeiro de 2014 sobre “Processo de obtenção de nanopartículas biopoliméricas contendo óleo e extratos de Azadirachta indica A. Juss (neem), nanopartículas biopoliméricas e micropartículas em pó”, mas o processo não é por Spray drying e sim, por um processo apenas de misturar uma emulsão do óleo da semente da planta com os polímeros.

[048] Em relação à estrutura física, as micropartículas podem ser classificadas como microcápsulas ou microesferas. As microcápsulas consistem em micropartículas, onde o núcleo está envolvido por uma camada ou filme polimérico formando um sistema do tipo reservatório. Já nas microesferas, o polímero forma uma rede tridimensional onde o material a ser microencapsulado pode estar adsorvido, incorporado ou ligado covalentemente à matriz polimérica, formando sistemas de dissolução, dispersão ou sistemas porosos. Nestes sistemas, a área central consiste em um vazio resultante da expansão das partículas durante os estágios finais da secagem (JAFARI, S. M.; ASSADPOOR, E.; HE, Y. H.; BHANDARI, B. Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. Drying Technology, v. 26, p. 816-835, 2008).

[049] Os agentes encapsulantes são responsáveis pelo revestimento do material ativo, proporcionando proteção durante o armazenamento prolongado, evitando que ocorram alterações químicas e sensoriais no material encapsulado, além de conferir forma à microcápsula. Podem ser de origem natural, semissintética ou sintética, incluindo materiais poliméricos, hidrófilos, hidrófobos ou uma associação de ambos (GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. Trends in Food Science & Technology, v. 15, p. 330-347, 2004; AZEREDO,

H. M.C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. Alimentos e Nutrição, v. 16, n. 1, p. 89-97, 2005; GHARSALLAOUI, A. et al. Applications of spray drying in Microencapsulation of food ingredients: An overview. Food Research International, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007).

[050] Algumas características são necessárias para que o agente encapsulante seja considerado ideal, tais como apresentar baixa viscosidade em concentrações elevadas; ser fácil de manusear durante o processo de microencapsulação; apresentar baixa higroscopidez para evitar aglomerações; ter elevada capacidade de incorporar o material a encapsular; proteger o material que será encapsulado de circunstâncias adversas, como oxigênio, luz e pH; não reagir com o composto a encapsular; apresentar propriedades desejadas de liberação do material a encapsular, ter sabor agradável quando administrado por via oral; não possuir aroma (SANTOS, D. T.; MEIRELES, M. A. A. Carotenoids pigments encapsulation: Fundamentals, techniques and recent trends. The Open Chemical Engineering Journal, v. 4, p. 42-50, 2010).

[051] Os agentes encapsulantes ainda devem possuir a capacidade de formar película coesa com o material do núcleo, proporcionando compatibilidade química e física que vai conferir algumas propriedades desejadas às microcápsulas, tais como flexibilidade, resistência, impermeabilidade e estabilidade na preparação. Na prática, muitas vezes, pelo fato de um mesmo composto não englobar todas essas propriedades, usam-se misturas (VENKATESAN, P.; MANAVALAN, R.; VALLIAPPAN, K. Microencapsulation: a vital technique in novel drug delivery system. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, v. 1, n. 4, p. 26-35, 2009).

[052] Dentre os agentes encapsulantes mais estudados pelo método de *spray drying*, destacam-se os biopolímeros, provenientes de várias fontes como as gomas naturais (goma arábica, alginatos, carragenas), carboidratos (amido, dextrinas e sacarose), as celuloses (carboximetilcelulose, acetilcelulose, nitrocelulose); os lipídeos (parafina, mono e diglicerídeos, óleos e gorduras), proteínas (gelatina, derivados do leite, glúten e albumina) e materiais inorgânicos (sulfato de cálcio e silicatos) (GHARSALLAOUI et al., 2007; VEHRING, R. Pharmaceutical Particle Engineering via Spray Drying. Pharmaceutical Research, v. 25, n. 5, p. 999- 1022,

2008; SERVAT, L. et al. Microencapsulação: uma Alternativa Promissora para Preservação de Produtos Naturais. Revista Fitos, v. 5, n. 2, p. 52-57, 2010).

[053] Os grânulos de amido são formados por dois tipos de polímeros, a amilose e a amilopectina, ambos formados por unidade de *D*-glicose e que representam de 98 a 99% do seu peso seco, sendo que a relação dos dois polissacarídeos varia de acordo com a origem botânica do amido (TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch structure and digestibility enzyme substrate relationship. World's Poultry Science Journal, v. 60, n. 2, p. 186-195, 2004).

[054] O amido é um biopolímero, biocompatível, utilizado isolado ou em associação a outros polímeros, nos sistemas de liberação controlada. Sua principal propriedade é a gelatinização, capacidade de tornar-se viscoso em água com o aumento da temperatura (KRIEGER, K. M. et al. Thermal properties of corn starch extracted with different blending methods: micro blender and homogenizer. Cereal Chemistry, v. 74, n. 5, p. 553-555, 1997; WANG, Q. et al. Alginate/starch blend fibers and their properties for drug controlled release. Carbohydrate Polymers, v. 82, p. 842-847, 2010; CHAN, E. S. et al. Effects of starch filler on the physical properties of lyophilized calcium-alginate beads and the viability of encapsulated cells. Carbohydrate Polymers, v. 83, p. 225-232, 2011).

[055] Amidos e ingredientes à base de amido (amidos modificados, maltodextrinas, β -iclodextrinas) são amplamente utilizados na indústria de alimentos, com a funcionalidade de reter e proteger compostos voláteis (MADENE, A. et al. Flavour encapsulation and controlled release – a review. International Journal of Food Science and Technology, v. 41, p. 1–21, 2006). O amido tem sido amplamente estudado como potencial agente encapsulante, devido ao seu preço relativamente baixo e sua fácil aquisição (SPADA, J. C. Uso do amido de pinhão manso como agente encapsulante. 2011. 165f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2011). Além disso, é uma matéria-prima abundante, renovável, biodegradável e não tóxica que pode ser extraído com elevada pureza por meio de processos industriais relativamente simples e ser facilmente convertido em várias substâncias por processos químicos e bioquímicos. Esses fatores, somados, determinam o imenso potencial agrícola e industrial do amido

(LEONEL, M. et al. Extração e caracterização do amido de diferentes genótipos de bananeira. Revista Brasileira de Fruticultura, volume especial, E. 599-605, 2011).

[056] Maltodextrina, $[(C_6 H_{12} O_5)_n H_2O]$, é um carboidrato formado por hidrólise parcial, através da ação de ácidos ou enzimas e está disponível em diferentes níveis de dextrose equivalente, indicando o nível de hidrólise do polímero de amido. Apresenta elevada solubilidade em água, baixa viscosidade e produz soluções incolores (GIBBS, B. F. et al. Encapsulation in the food industry: a review. International Journal of Food Science and Nutrition, v. 50, p. 213–224, 1999; GHARSALLAOUI, A. et al. Applications of spray drying in Microencapsulation of food ingredients: An overview. Food Research International, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007).

[057] A maltodextrina vem sendo utilizada com sucesso na microencapsulação de compostos bioativos, atuando na sua proteção e melhorando sua estabilidade. Por exemplo, os compostos fenólicos presentes no extrato aquoso de erva mate possuem características de instabilidade frente à presença de luz, oxigênio e temperatura, sofrendo degradação por estes fatores. Assim, a tecnologia de microencapsulação, em que a maltodextrina é utilizada como agente encapsulante, aparece como alternativa de grande potencial para exercer efeito protetor nestes compostos (NEDOVIC, V. et al. An overview of encapsulation technologies for food applications. Procedia Food Science, v. 1, p. 1806-1815, 2011). Desta forma, a maltodextrina apresenta habilidade de proteção dos materiais encapsulados, sendo este fato atribuído à sua capacidade de formar filme, às suas propriedades plásticas e ao seu poder redutor (ELNAGGAR, Y.S.R. et al. Maltodextrin: a novel excipient used in sugar-based orally disintegrating tablets and phase transition process. American Association of Pharmaceutical Scientists PharmSciTech, v. 11, p. 645-651, 2010; BARRETO, A. R. et al. Materiais de revestimento utilizados na microencapsulação de Probióticos. Ciência e Natura, v.37. p. 164-174, 2015).

[058] A gelatina é uma proteína derivada da hidrólise parcial do colágeno, que é o principal constituinte de peles de animais, ossos, tendões e tecido conectivo. É composta por 18 aminoácidos diferentes que estão unidos por ligações peptídicas na formação da molécula de gelatina, cujo peso molecular médio varia entre 20.000 a 250.000, dependendo do grau de hidrólise do colágeno (VOGLER INGREDIENTES

LTDa. A Gelatina e seus benefícios para a saúde humana. Food ingredients Brasil, n. 18, 2011).

[059] É uma proteína solúvel em água relativamente barata, que tem sido selecionada para a construção de partículas de biopolímeros. É uma ótima opção para produção de microesferas devido às suas boas características de formação de películas, boas propriedades plastificantes e de aderência. Ela é o produto da dissociação térmica ou química das cadeias polipeptídicas do colágeno (ZUANON, L. A. C. Microencapsulação de oleoresina de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) em matrizes de gelatina, goma arábica e colágeno hidrolisado. 2012. 101 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", São José do Rio Preto, SP, 2012; JOYE, I. J.; McCLEMENTS, D. J. Biopolymer-based nanoparticles and microparticles: Fabrication, characterization, and application. Current Opinion in Colloid and Interface Science, v. 19, n. 5, p. 417- 427, 2014).

[060] O dióxido de silício coloidal de nome comercial Aerosil® é uma sílica pirogênica com elevada pureza, amorfa e de finíssima granulometria, com caráter hidrofílico, possui propriedade dessecante (KRYSZTAFKIEWICZ, A.; BINKOWSKI, S.; JESIONOWSKI, T. Adsorption of dyes on a silica surface. Applied Surface Science, v. 199, p. 31–39, 2002; FONTES, C. S.; CHIAVEGATTO, L. F.; ALVES, M. A. Avaliação dos efeitos de higroscopidade do cloridrato de cisteína nas cápsulas duras. Revista de Saúde, v. 3, n. 2, p. 4-13, 2012).

[061] É produzido por um processo contínuo de hidrólise de clorosilanos. Durante esse processo, o SiCl₄ é convertido a gás e depois reagido espontaneamente com o vapor d'água formado em uma atmosfera contendo oxigênio e hidrogênio com perda considerável de calor. O único subproduto dessa reação é o ácido clorídrico (gasoso), que é separado da sílica. Vários grupos podem ser ligados quimicamente à superfície da sílica como, por exemplo, compostos organosilícios para alteração das características superficiais (hidrofilicidade e hidrofobicidade) (CARVALHO, N. B.; LIMA, A. S.; SOARES, C. M. F. Uso de sílicas modificadas para imobilização de lipases. Química Nova, v. 38, n. 3, p. 399-409, 2015).

DESCRIÇÃO DA ABORDAGEM DO PROBLEMA TÉCNICO

Extrato de pinha e graviola	Produto microencapsulado
Oleoso e de difícil solubilidade em água	Solúvel em água
Fácil degradação com pouca persistência	Degrada-se lentamente e com maior efeito residual (persistência)
Pode ter resíduo de solvente orgânico	Ausente de solvente orgânico
Dependendo da concentração pode ser tóxico	Diminui a toxicidade pelo encapsulamento do princípio ativo
Pouca cobertura na planta	Cobertura homogênea na planta
Maior número de aplicações	Diminui o número de aplicações
Pode causar fitotoxicidade	Não apresenta fitotoxicidade

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[062] **Figura 1.** Viabilidade de ovos de *Tetranychus urticae* submetidos ao microencapsulado de *Annona squamosa* e ao Azamax®.

[063] **Figura 2.** Efeito residual do microencapsulado de *Annona squamosa* (CL₅₀ e CL₉₉) e Azamax® sobre *Tetranychus urticae* inoculado até 15 dias após pulverização em plantas na casa de vegetação.

[064] **Figura 3.** Efeito residual do microencapsulado de *Annona squamosa* (CL₅₀ e CL₉₉) e Azamax® sobre *Tetranychus urticae* inoculado até 15 dias após pulverização em plantas em condições de campo.

[065] **Figura 4.** Distribuição de tamanho de partícula do microencapsulado de *Annona squamosa* obtida por difração a laser.

[066] **Figura 5.** Fotomicrografias do microencapsulado de *Annona squamosa*.

[067] **Figura 6.** Fotomicrografias do microencapsulado de *Annona squamosa* com matriz compactada.

[068] **Figura 7.** Curvas de TGA do microencapsulado, do extrato hexânico de *Annona squamosa* e dos materiais de revestimento aplicados nos estudos de microencapsulação.

[069] **Figura 8.** Distribuição de tamanho de partícula do microencapsulado de *Annona muricata* obtida por difração a laser.

[070] **Figura 9.** Fotomicrografias do microencapsulado de *Annona muricata* e dos agentes microencapsulantes.

[071] **Figura 10.** A. Curvas de TGA do microencapsulado do extrato etanólico de *Annona muricata*; B. Curvas de TGA do microencapsulado do extrato etanólico de *Annona muricata* e dos materiais de revestimento aplicados nos estudos de microencapsulação

[072] **Figura 11** - Efeito residual do extrato etanólico e do microencapsulado *Annona muricata* sobre lagartas do 1º e 3ºístar de *Plutella xylostella* em condição de semi campo (Casa de vegetação) no ano de 2016.

[073] **Figura 12** - Efeito residual do extrato etanólico e do microencapsulado *Annona muricata* sobre lagartas de 1º e 3º ístar de *Plutella xylostella* em condição de semi campo (Casa de vegetação) no ano de 2016.

[074] **Figura 13** - Efeito residual do extrato etanólico e do microencapsulado *Annona muricata* sobre lagartas de 1º e 3º ístar de *Plutella xylostella* em condição de campo no ano de 2016.

DESCRIÇÃO DA TÉCNICA

OBTENÇÃO DO EXTRATO

[075] Sementes de *A. squamosa* foram retiradas de frutos coletados em área experimental do setor de fruticultura do CECA/UFAL e as sementes de graviola foram obtidas no município de Anadia/AL, em fábrica de processamento de polpa de frutas. As sementes (7,0 kg de pinha e 12,2kg de graviola) foram lavadas para retirada dos resíduos, colocadas em sacos de papel Kraft e levadas para secagem em estufa com circulação de ar a temperatura de 50°C por 72 horas. Em seguida, foram trituradas em forrageira do tipo TRAP para a obtenção do pó, que foi devidamente armazenado em recipientes de vidro hermeticamente fechados até o preparo dos extratos.

[076] Os extratos foram preparados no Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais da UFAL. O pó das sementes, foi submetido à extração a frio em percolador de aço inoxidável, primeiramente com hexano [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$], durante 2 horas, depois sobre a torta resultante após a filtração, foi acrescentado o etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$)

para a extração por três vezes, a cada 72 horas. O material foi filtrado e posteriormente concentrado em rotaevaporador a 50°C, à pressão reduzida.

[077] Os resíduos concentrados obtiveram rendimento de 1,0 kg e 2,0 L para o extrato hexânico e 0,700 kg e 3,2 L para o extrato etanólico de pinha e graviola, respectivamente, os quais foram colocados em frasco de vidro, vedados e armazenados em temperatura ambiente.

MICROENCAPSULAÇÃO DO EXTRATO DE *Annona squamosa*

[078] A microencapsulação foi realizada utilizando-se o aparelho de modelo BUCHI Mini Spray Dryer B-290, a uma temperatura de entrada de 200°C, fluxo de ar de 80 e velocidade de rotação de 26. Foram testados os encapsulantes: amido, gelatina, maltodextrina e aerosil em diversas proporções e selecionada a mais adequada para a formação da micropartícula. A seleção do percentual de cada um foi baseada no teor de matéria-seca, obtido através do método gravimétrico, por meio de balança eletrônica de umidade Shimadzu MOC-120H®, com precisão de 1 mg e ajustada com secador de infravermelho. Cerca de 1 mL do extrato foi seco sob temperatura de 150 ° C, até obter perda de umidade inferior a 0,01%. O teor de matéria-seca foi de 94,4 % e as porcentagens utilizadas foram: amido (19%); gelatina em pó sem sabor (19%); maltodextrina sem sabor (49%); aerosil (13%). A proporção utilizada de extrato/água destilada/álcool etílico absoluto P.A foi de 15/80/85 mL. A solução foi preparada utilizando água destilada à 40°C, com agitação constante.

MICROENCAPSULAÇÃO DO EXTRATO DE *Annona muricata*

[079] Utilizou-se o aparelho de modelo Buchi® Mini Spray Dryer B-290 (Switzerland), com bico atomizador de 1,0 mm, a uma temperatura de entrada de 200°C e temperatura de 100°C, taxa de alimentação de 10ml⁻¹. Foram testados para o microencapsulamento diferentes polímeros, em concentrações variadas.

[080] A escolha do percentual de cada polímero foi baseada no teor de matéria-seca, obtido pelo método gravimétrico, por meio de balança eletrônica de umidade Shimadzu MOC-120H®, com precisão de 1mg e ajustada com secador de infravermelho. Aproximadamente 1 mL do extrato foi seco sob temperatura de 145 °C, até obter perda de umidade inferior a 0,01%. O teor de matéria-seca utilizada foi de 84%. Os percentuais dos agentes encapsulantes utilizados foram: aerosil (5,55%),

amido (8,33%); gelatina em pó sem sabor (8,33%), maltodextrina sem sabor (22,22%), conforme Tabela 1. A emulsão foi preparada utilizando água destilada a uma temperatura de 40°C, seguido da adição dos agentes encapsulantes e incorporação do extrato. Após a uniformização, adicionou-se o dióxido de silício coloidal. Todo processo ocorreu em agitação magnética constante a 1700rpm. A proporção utilizada de extrato/água destilada/álcool etílico absoluto P.A foi de 50/200/200 mL.

EXPERIMENTOS COM O ÁCARO

Obtenção e criação do ácaro *Tetranychus urticae*

[081] Os ácaros foram provenientes de criação mantida no laboratório, a temperatura ambiente de $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $60 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotofase de 12 horas.

[082] A alimentação do ácaro foi efetuada em plantas de feijão-de-porco (*Canavalia ensifomis* L. DC) (Fabaceae) cultivadas em vasos de polietileno com capacidade de 5 L, contendo uma mistura de solo, bagaço de coco, adubo 10-10-10 e esterco bovino, em casa de vegetação. Vasos contendo plantas novas foram colocados próximos das plantas contendo a criação do ácaro, assim que a população da praga iniciava a formação de teias para se dispersar.

Toxicidade dos extratos sobre fêmeas *Tetranychus urticae*

[083] Foram realizados pré-testes com o microencapsulado em diferentes concentrações para determinar valores próximos do limite superior, com aproximadamente 100% de mortalidade, e próximos do limite inferior, com mortalidade quase nula. Em seguida, as concentrações a serem testadas foram obtidas através da fórmula de BLISS, C. I. The method of probits. Science, v. 79, p. 38-39, 1934: $q = (a_n \div a_1)^{1/n+1}$ onde: q = razão da progressão geométrica (pg); n = número de concentrações a extrapolar; an e a1 = limites superior e inferior, respectivamente, da pg. As concentrações testadas foram: 3,5; 5,1; 7,4; 10,8; 15,9 e 23,2 mg/ L. As soluções dos extratos foram solubilizadas em água destilada acrescentando-se o emulsificante Tween 80 (0,05%). O controle utilizado foi uma solução de água destilada e Tween 80 (0,05%) e o Azamax® na concentração comercial 200 mL/100 L, foi utilizado como controle positivo.

[084] Foram confeccionados discos de 5,0 cm de diâmetro com folhas de feijão-de-porco, (*C. ensifomis*) os quais foram pulverizados com os extratos em diferentes concentrações, utilizando-se torre de Potter (Burkard, Rickmansworth, UK). A aplicação foi realizada a uma pressão de 5 psi/pol² utilizando-se um volume de calda de 1,6 mL, correspondendo a um depósito de $2,0 \pm \text{mg/cm}^2$. Esta quantidade aplicada está de acordo com o recomendado pela IOBC/WPRS (International Organization for Biological Control of Noxious Animals and Plants/ West Palearctic Regional Section) e representa o que ocorrerá no campo (REIS, P. R. et al. Seletividade de agroquímicos ao ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, p. 265-274, 1998 et al., 1998).

[085] Em seguida, os discos foram colocados para secar sobre papel toalha à temperatura ambiente durante uma hora e transferidos para placas de Petri (8,5 cm de diâmetro) contendo água destilada para evitar a fuga dos ácaros. No centro de cada disco foi feito um orifício para passagem de um alfinete colado no fundo da placa de Petri por uma cola de silicone. Desta forma, os discos permaneceram sem tocar na parede da placa, deslocando-se apenas com o nível da água (REIS, P. R.; ALVES, E. B. Criação do ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark Muma (Acari: Phytoseiidae) em laboratório. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, v. 26, p. 565-568, 1997). Um total de 10 fêmeas do ácaro rajado foi transferido para cada disco (repetição), totalizando seis repetições por concentração.

[086] A mortalidade dos ácaros foi avaliada 72 horas após a pulverização, sendo considerados mortos quando não conseguiam se mover a uma distância equivalente ao comprimento de seu corpo (SATO, M. E. et al. Toxicidade diferencial de agroquímicos a *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae) e *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) em morangueiro. Neotropical Entomology, v. 31, n. 3, p. 449-456, 2002). As concentrações letais (CL_s) foram estimadas pelo programa estatístico SAS (SAS Institute, 2003). Para os testes seguintes foi utilizado apenas o extrato avaliado como mais eficiente, ou seja, com menor CL_s estimada para o *T. urticae*.

Repelência do extrato sobre *Tetranychus urticae*

[087] Discos (5,0 cm de diâmetro) de folhas de feijão-de-porco foram pulverizados com cada tratamento ou o controle (água), utilizando-se torre de Potter. Em seguida foram colocados lado a lado, e conectados por uma lamínula de vidro (18 x 18 mm). Esse conjunto foi disposto sobre papel de filtro saturado em água destilada no interior de placas de Petri (14 cm de diâmetro), segundo metodologia adaptada de Esteves Filho, A. B. et al. Biologia comparada e comportamento de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e *Phytoseiulus macropilis* (Banks) (Acari: Phytoseiidae) em Algodoxero BollgardTM e Isolinha não-Transgênica. **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 3, p. 338-344, (2010).

[088] As concentrações testadas foram aquelas obtidas na curva de concentração-resposta, equivalentes as CL_s 5, 25, 50, 75, 90 e 99 do extrato e o Azamax® (200 mL/100 L). Foram utilizadas 15 repetições por tratamento.

[089] Na porção mediana da lamínula foram liberadas dez fêmeas de *T. urticae*, obtidas da criação, e após duas horas foi avaliado o número de fêmeas em cada disco.

[090] O índice de Repelência (IR) foi calculado de acordo com a fórmula: IR = 2G/(G+P) de acordo com KOGAN, M.; GOEDEN, R. D. The host-plant range of *Lema trilineata daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae. Annals of the Entomological Society of America, v. 63, p. 1175-1180, 1970, onde G é o número de ácaros no tratamento e P é o número de ácaros no controle. O intervalo de segurança utilizado para considerar se o tratamento foi ou não repelente foi obtido a partir da média dos IR calculado e seu respectivo desvio padrão (DP). Seguindo-se os padrões para o índice em questão, como seguem: se a média do IR for menor que 1 – DP, o extrato é repelente. Se a média for maior que 1 + DP o extrato é atraente e se a média estiver entre 1 – DP e 1 + DP o extrato é considerado neutro.

Toxicidade do extrato sobre ovos de *Tetranychus urticae*

[091] Fêmeas de *T. urticae* foram transferidas para discos de folhas de feijão-de-porco de 3,0 cm de diâmetro dispostos em placas de Petri (14 cm de diâmetro), contendo algodão hidrófilo umedecido. Após 24 horas, as fêmeas foram retiradas e deixados 10 ovos por disco. Estes foram pulverizados com o microencapsulado (CL₅₀ e CL₉₉), Azamax® (200 mL/ 100 L) e controle (água + Tween 80), utilizando-se torre

de Potter, segundo metodologia adaptada de Schlesener D. C. H. et al. Efeitos do nim sobre *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e os predadores *Phytoseiulus macropilis* (Banks) e *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 1, p. 59-66, 2013.

[092] Foram utilizadas 20 repetições para cada tratamento. A avaliação da eclosão das larvas foi realizada diariamente até 144 h após a instalação do experimento. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, pelo Assistat 7.7 pt (SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. A. ASSISTAT, Assistência estatística. Versão 7.7 pt 2017).

Efeito residual do extrato sobre *Tetranychus urticae*

[093] Um total de 20 plantas de feijão-de-porco (12 dias após a germinação), cultivadas em vasos de polietileno com capacidade de 5L, contendo uma mistura de solo, bagaço de coco, adubo 10-10-10 e esterco bovino foram pulverizadas com a CL₅₀ e CL₉₉ do microencapsulado, água destilada + Tween 80 (controle) e Azamax® (200 mL/100 L) utilizando-se pulverizador manual (1,5 L de capacidade) até o molhamento total das folhas, depositando-se um volume de calda de aproximadamente 26 mL/planta. Após 24 h da aplicação e durante o período de 15 dias após aplicação (DAP) foram retirados dessas plantas discos foliares (5,0 cm de diâmetro), nos quais foram transferidas 10 fêmeas de *T. urticae*, segundo metodologia adaptada de Schlesener, D.C.H et al. Efeitos do nim sobre *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) e os predadores *Phytoseiulus macropilis* (Banks) e *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 1, p. 59-66, (2013). A mortalidade foi avaliada 72 horas após o confinamento.

[094] Os experimentos foram realizados em condições de telado, no qual as plantas foram mantidas à temperatura de $32 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e $42 \pm 3\%$ U.R e fotofase de 12 horas. E em condições de campo, no período (14/03/17 a 29/03/17) com temperatura de $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e $69 \pm 1\%$ U.R e fotofase de 12 horas. Os dados meteorológicos foram disponibilizados pela Estação Agrometeorológica do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Rio Largo-AL.

[095] Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, em arranjo fatorial (4x16), no programa Assistat 7.7 pt (SILVA,

F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. A. ASSISTAT, Assistência estatística. Versão 7.7 pt (2017).

EXPERIMENTOS COM *Plutella xylostella*

Criação de *Plutella xylostella*

[096] A criação e multiplicação de *P. xylostella* foram realizadas no Laboratório de Entomologia: Controle Alternativo de Pragas do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, sob condições de temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa do ar de 67 ± 2 % e fotofase de 12h. Os adultos foram liberados em gaiolas plásticas transparentes circulares (12cm de diâmetro x 15cm de altura) com abertura lateral fechada com tela antiafídeo, nas quais eram colocados um pote plástico coberto com espuma umedecida, sobre a qual, colocava-se um disco de folha de couve medindo 8 cm de diâmetro para servir de substrato à postura e uma esponja embebida com solução açucarada a 10%, na parte superior da gaiola, para alimentação dos adultos. Os discos de folhas de couve eram substituídos diariamente, e os discos retirados eram mantidos em placas de Petri de 8 cm de diâmetro até a eclosão das lagartas.

[097] Lagartas recém eclodidas eram transferidas para recipientes plásticos (20cm de comprimento x 10cm de largura x 5cm de altura) contendo duas folhas de couve. As folhas eram trocadas a cada 24 horas aproximadamente, até as lagartas atingirem a fase de pupa. As pupas foram transferidas para tubos de vidro de fundo chato (8,5cm de comprimento x 1,5 cm de diâmetro), fechados com filme plástico transparente. Em cada recipiente eram realizados pequenos furos para a renovação do ar. A cada 24 horas, após a emergência, os adultos eram transferidos para as gaiolas.

Estimativa da CL₅₀ e CL₉₉ do extrato etanólico e do microencapsulado de *Annona muricata* na mortalidade de *Plutella xylostella*

[098] Foram realizados pré-testes com os extratos etanólico de sementes de *A.muricata* e com o microencapsulado em diferentes concentrações para determinar valores próximos do limite inferior, com mortalidade quase nula, e próximos do limite superior, com aproximadamente 100% de mortalidade. Em seguida, as concentrações testadas foram obtidas pela fórmula de BLISS, C. I. The method of

probits. Science, v. 79, p. 38-39, 1934: $q = (a_n \div a_1)^{1/n+1}$ onde: q = razão da progressão geométrica (pg); n = número de concentrações a extrapolar; an e a1 = limites superior e inferior, respectivamente, da pg.

[099] As concentrações testadas para o extrato etanólico foram: 0,3; 0,6; 1,3; 2,7; 5,8 e 12,0 mL/L, e de 3,5; 5,1; 7,4; 10,8; 15,9 e 23,2 g/ L para o extrato microencapsulado. As soluções dos extratos e do microencapsulado foram solubilizadas em água destilada acrescentando-se o emulsificante Tween 80 (0,05%).

[100] Foram confeccionados discos de 8,0 cm de diâmetro com folhas de couve, os quais foram pulverizados com os extratos em diferentes concentrações, utilizando-se torre de Potter (Burkard, Rickmansworth, UK). A aplicação foi realizada a uma pressão de 5psi/pol² utilizando-se um volume de calda de 1,6 mL, correspondendo a um depósito de $2,0 \pm \text{mg/cm}^2$. Esta quantidade aplicada está de acordo com o recomendado pela IOBC/WPRS (International Organization for Biological Control of Noxious Animal sand Plants/ West Palearctic Regional Section) e representa o que ocorrerá no campo (REIS, P. R.; ALVES, E. B. Criação do ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark Muma (Acari: Phytoseiidae) em laboratório. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, v. 26, p. 565-568, 1997).

[101] Os discos tratados com extrato etanólico e tratados com os controles foram distribuídos sobre uma superfície coberta com papel toalha, onde permaneceram ao ar livre para evaporação do excesso de água. Lagartas recém-eclodidas foram colocadas em placas de Petri de 15cm de diâmetro, contendo um disco tratado sobre papel de filtro umedecido com água destilada, para manutenção da umidade, mantidos em laboratório (temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12h). Um total de 10 lagartas recém ecloididas foram transferidas para cada placa (repetição), totalizando 5 repetições por concentração. No terceiro dia da montagem do experimento avaliou-se a mortalidade larval. As concentrações letais (CL_s) foram estimadas através da análise de Probit pelo programa estatístico SAS (SAS® Satistical Analysis System, SAS Institute Inc., 2003).

Efeito letal do extrato etanólico e do microencapsulado da semente de *Annona muricata* para o controle de lagartas de 1º e 3º ínstaques de *Plutella xylostella* em semi campo e em campo

[102] Os ensaios foram realizados em casa de vegetação e em condições de campo em dois anos agrícolas, avaliando-se lagartas no 1º e 3º instar. Os bioensaios contou com 7 tratamentos: a testemunha (com a água destilada); CL₅₀ com 0,418mL do extrato etanólico; CL₉₉ com 11,35 mL do extrato etanólico; CL₅₀ com 0,228mg do extrato Microencapsulado; CL₉₉ com 8,332mg do Microencapsulado; Azamax® com 0,006mL do diluído na dose comercial recomendada pelo Agrofit (300 mL/100L de água) e o Decis 25EC (Deltametrina) com 0,006mL dose comercial recomendada pelo Agrofit (300 mL/100L de água).

[103] As plantas de couve cultivadas em copos descartáveis quando atingiram 8 a 10 folhas definitivas foram pulverizadas com 200 mL de calda através de pulverizador manual e após duas horas foram inoculadas com dez lagartas de 1º e 3º instar de *P. xylostella* por planta em cada experimento, tanto em semi campo como em condições de campo e em seguida, protegidas com sacos de “voil” para evitar a fuga das lagartas. Para a realização do teste em condições de campo foi usada a mesma metodologia do teste em semi campo, com exceção das plantas de couve que ficaram em canteiros expostos as condições ambientais, as plantas utilizadas no presente estudo foram plantadas em copos descartável. A mortalidade foi submetida a análise estatística e as médias comparadas pelo teste de Tukey usando o programa estatístico SAS (SAS® Satatistical Analysis System, **SAS Institute Inc.**, 2003).

CARACTERIZAÇÃO DO MICROENCAPSULADO DE PINHA E GRAVIOLA

Análise de tamanho de partículas do microencapsulado

[104] As distribuições granulométricas das micropartículas obtidos por atomização em *Spray Dryer* foram analisadas por difração a laser em aparelho Malvern Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, Inglaterra) no Instituto Tecnológico de Pernambuco (ITEP). Pequenas quantidades do microencapsulado foram dispersos em água com auxílio de ultra-som até atingirem o índice de obscuração requisitado pelo aparelho e analisadas na faixa de 0.020 – 2000 µm. O tamanho médio foi determinado considerando-se o diâmetro médio de uma esfera de mesmo volume (Diâmetro de De Brouckere D[4,3]). A polidispersidade foi dada pelo índice span o qual é calculado por $(D_{0.9} - D_{0.1}) / D_{0.5}$, onde D_{0.9}, D_{0.5} e D_{0.1} são respectivamente os diâmetros das partículas correspondentes a 90, 50 e 10% da distribuição amostral.

Caracterização morfológica do microencapsulado através do microscópio eletrônico de varredura (MEV)

[105] Uma pequena quantidade do microencapsulado foi fixada com fita metálica adesiva de dupla face e montada sobre o *stubs* do microscópio com altura de 1,0 cm de altura e diâmetro de 1,0 cm. Este material foi transferido para um metalizador QUORUM Q150R ES para ser recoberto com uma camada de ouro. Foi aplicado uma corrente de 70 mA por 30 segundos. O material foi analisado em MEV no Laboratório de Química do Instituto Federal de Alagoas, com aceleração de voltagem igual a 20 kV.

Estudos Termogravimétricos (TGA)

[106] As curvas termogravimétricas do microencapsulado e dos agentes encapsulantes (amido, gelatina e maltodextrina) foram obtidas em aparelho Shimadzu modelo TGA-50H, sob fluxo de ar sintético de 20 mL.min⁻¹ e razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹, até uma temperatura final de 900 °C, utilizando cadinho de alumina e massa da amostra igual a 5,0 ± 0,5 mg. O aerosil não foi avaliado, pois é pouco denso, sendo inviável esse procedimento. Os dados termoanalíticos foram analisados utilizando o software TA-60WS Collection Monitor.

RESULTADOS OBTIDOS

EXPERIMENTOS COM O ÁCARO

Toxicidade do microencapsulado sobre fêmeas de *Tetranychus urticae*

[107] O microencapsulado de *A. squamosa* apresentou CL₅₀ e CL₉₉ estimadas em 5,37 e 45,26 mg/L, respectivamente, para o ácaro *T. urticae* (Tabela 1). O Azamax®, utilizado como controle positivo, na dosagem comercial indicada de 200 mL/100L, causou mortalidade de 73,33% dos ácaros.

Tabela 1. Concentração letal (CL) do microencapsulado do extrato hexânico de *Annona squamosa* sobre *Tetranychus urticae*.

Tratamentos	n ¹	GL ²	Inclinação ± EP	CL ₅₀ (mg/L) (IC 95%)	CL ₉₉ (mg/L) (IC 95%)	X ^{2 3}	P
Microencapsula ⁴	36	4	2,51 ± 0,29	5,37 (4,47-6,20)	45,26 (31,85- 78,15)	7,56	0,1
		0					0

¹Número de ácaros utilizados em cada experimento.

² Grau de liberdade do qui-quadrado

³ Qui-quadrado

Repelência do microencapsulado sobre *Tetranychus urticae*

[108] As concentrações testadas: 1,19 e 2,90 mg/L, equivalentes as CL₅ e CL₂₅ respectivamente, o Azamax® e o Branco (micropartículas apenas com os materiais de revestimento, na concentração equivalente a CL₅₀ do microencapsulado) apresentaram efeito neutro sobre o *T. urticae*, ou seja, a média do IR dos referidos tratamentos encontra-se entre 1 – DP e 1 + DP. E as concentrações 5,37; 9,97; 17,38 e 45,25 mg/L, equivalentes as CL₅₀, CL₇₅ CL₉₀ e CL₉₉, respectivamente, apresentaram efeito repelente sobre o *T. urticae*, ou seja, a média do IR dos referidos tratamentos é menor que 1 – DP, de acordo com KOGAN, M.; GOEDEN, R. D. The host-plant range of *Lema trilineata daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 63, p. 1175-1180, (1970) (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito repelente do Azamax® e do microencapsulado do extrato hexânico de *Annona squamosa* sobre *Tetranychus urticae*.

Tratamentos	Concentração	Média (\pm DP ²) dos Índice de Repelência ¹	Efeito
Azamax®	200 ml/100L	1,20 \pm 0,40	Neutro
Branco ³	5mg/L	0,97 \pm 0,38	Neutro
	CL ₅	1,24 \pm 0,34	Neutro
	CL ₂₅	0,82 \pm 0,43	Neutro
Microencapsulado	CL ₅₀	0,57 \pm 0,41	Repelente
	CL ₇₅	0,41 \pm 0,32	Repelente
	CL ₉₀	0,41 \pm 0,30	Repelente
	CL ₉₉	0,21 \pm 0,19	Repelente

¹Índice de Repelência calculado de acordo com a fórmula descrita por Kogan & Goeden (1970).

²DP = Desvio Padrão.

³ Microencapsulado sem o extrato

[109] No tratamento Branco foi observado seu efeito neutro. Neste tratamento foi utilizada a concentração equivalente à CL₅₀, concentração que apresentou IR com

efeito repelente. Comprovando, portanto que a repelência foi causada pelo material ativo e não por seu material de revestimento.

[110] Além do efeito letal, o microencapsulado de *A. squamosa* possui atividade repelente, observada a partir da CL₅₀, sendo considerada uma adição ao seu efeito no controle do ácaro *T. urticae*, pois mesmo em concentrações abaixo daquela capaz de causar 99% de mortalidade na população do ácaro, o extrato pode causar repelência em populações que possam ter sobrevivido ao seu efeito tóxico.

Toxicidade do microencapsulado sobre ovos de *Tetranychus urticae*

[111] A viabilidade dos ovos de *T. urticae* foi afetada, após a aplicação do microencapsulado de *A. squamosa*. Apenas $7,5 \pm 2,7\%$ dos ovos foram viáveis, ao aplicar a CL₉₉. Houve diferença significativa em relação aos tratamentos ($F = 142,82$; $P < 0,001$; CV% = 23,02). Apesar do Azamax® ter diferido da testemunha, ainda apresentou uma viabilidade de ovos considerada alta, igual a $78,5 \pm 3,2\%$, semelhante à da CL₅₀ do extrato com viabilidade de ovos de $71,0 \pm 5,1\%$. A testemunha apresentou $99 \pm 0,7\%$ de ovos viáveis (Figura 1).

[112] O uso de produtos que controlam o estágio inicial de uma praga é uma propriedade relevante a se considerar, pois retarda o aumento da população, diminuindo ou inviabilizando a eclosão de larvas, consequentemente reduz as injúrias causadas pela praga (ESTEVES FILHO, A. B.; OLIVEIRA, J. V.; GONDIM JÚNIOR, M. G.C. Toxicidade de acaricidas sobre diferentes estágios de vida de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) em Mamoeiro. **BioAssay**, v. 3, n. 6, p. 1-6, 2008).

Efeito residual do microencapsulado sobre *Tetranychus urticae*

[113] No experimento realizado em casa de vegetação, foi observado que houve diferença significativa entre os tratamentos: microencapsulado hexânico de pinha (CL₅₀ e CL₉₉), Azamax® e testemunha em relação aos dias após a pulverização (DAP) a 5% de probabilidade ($F = 4,97$; $p < 0,001$) pelo teste de Tukey.

[114] Do dia “zero” (24 h após a pulverização) até o 2º DAP, o microencapsulado na CL₉₉ e o Azamax® foram semelhantes entre si. Para o microencapsulado na CL₉₉ foi observado mortalidade de $92,5 \pm 1,6\%$; $80,0 \pm 5,9\%$ e $75,0 \pm 7,1\%$, no dia “zero”, 1º DAP e 2º DAP, respectivamente. E o Azamax® apresentou mortalidade de $82,0 \pm 3,6$

%; $83,7 \pm 5,3$ % e $87,5 \pm 5,6$ %, no dia no dia “zero”, 1º DAP e 2º DAP, respectivamente (Figura 2).

[115] A CL₅₀ do microencapsulado apresentou mortalidade de $72,5 \pm 5,9$ % e a testemunha $13,7 \pm 4,2$ % no dia “zero”, apresentando diferença entre si. A eficiência do microencapsulado na CL₅₀ foi até o 2º DAP, nos dias seguintes sua mortalidade foi semelhante à testemunha.

[116] O Azamax® apresentou uma queda brusca a partir do 3º DAP, com $42,5 \pm 12,1$ % de mortalidade e foi estatisticamente igual ao microencapsulado na CL₅₀, com $27,5 \pm 7,2$ % de mortalidade, que por sua vez, foi semelhante à testemunha com $6,2 \pm 1,8$ %.

[117] O microencapsulado na CL₉₉ foi eficiente até o 8º DAP com mortalidade de $61,2 \pm 10,4$ % e no 15º DAP apresentou $25,0 \pm 3,7$ % de mortalidade. Do 8º ao 10º DAP, foi observado aumento de mortalidade para o Azamax®, no entanto, a mortalidade volta a diminuir no 11º DAP, esse fato pode ser explicado por diferença na idade dos ácaros selecionados ou por outro fator externo, visto que a tendência do percentual de mortalidade foi mantida de $11,2 \pm 3,5$ % no 15º DAP.

[118] Os percentuais de mortalidade no 15º DAP, não apresentaram diferença significativa para o microencapsulado na CL₉₉, na CL₅₀, Azamax® e testemunha, com valores iguais a $25,0 \pm 3,7$; $13,75 \pm 5,3$; $11,25 \pm 3,5$ e $5 \pm 3,7$ %, respectivamente.

[119] No experimento realizado em condições de campo, houve diferença significativa entre os tratamentos: microencapsulado hexânico de pinha (CL₅₀ e CL₉₉), Azamax® e testemunha em relação aos dias após a pulverização (DAP) a 5% de probabilidade ($F = 5,32$; $p < 0,001$) pelo teste de Tukey.

[120] Do dia “zero” (24 h após a pulverização) até o 2º DAP, o microencapsulado na CL₉₉ e o Azamax® foram semelhantes entre si. Para o microencapsulado na CL₉₉ foi observado mortalidade de $88,7 \pm 3,5$ %; $78,7 \pm 6,4$ % e $60,0 \pm 8,6$ %, no dia “zero”, 1º DAP e 2º DAP, respectivamente. E o Azamax® apresentou mortalidade de $81,2 \pm 11,8$ %; $76,2 \pm 4,6$ % e $76,2 \pm 4,2$ %, no dia no dia “zero”, 1º DAP e 2º DAP, respectivamente (Figura 3).

[121] Segundos dados obtidos pela Estação Agrometeorológica do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, houve índice de precipitação

pluvial igual a 6,1 mm no 2º DAP, foi observado que a precipitação ocorreu no período da tarde. Considerando que a montagem do experimento foi realizada no período da manhã, esse fato fez com que no 3º DAP ocorresse uma queda no percentual de mortalidade, o que se deu provavelmente com a “lavagem” das folhas, diminuindo a quantidade dos produtos e consequentemente, o seu efeito sobre os ácaros. Assim a mortalidade se manteve estatisticamente igual em cada tratamento, até o 2º DAP, diminuindo a partir daí.

[122] Desta forma, provavelmente devido à precipitação, no 3º DAP, o microencapsulado na CL₉₉ diferiu dos demais tratamentos com mortalidade de 57,5 ± 7,5 %. O Azamax® diminui bruscamente seu percentual de mortalidade, sendo semelhante ao microencapsulado na CL₅₀ com mortalidade de 15,0 ± 4,2 % e 31,2 ± 8,7 %, respectivamente. E a testemunha diferiu de todos os tratamentos com 8,7 ± 2,9 % de mortalidade (Figura 3).

[123] No 3º e 4º DAP, também houve precipitação pluvial de 2,0 e 1,5 mm, respectivamente. Sendo observada uma pequena queda na mortalidade para todos os tratamentos. No 4º DAP, a mortalidade foi de 46,2 ± 3,2; 25,0 ± 9,6; 20,0 ± 5,6 e 7,5 ± 2,5 %, para o microencapsulado na CL₉₉, na CL₅₀, Azamax e testemunha, respectivamente.

[124] A partir do 3º DAP, a mortalidade média para o Azamax® não ultrapassou 20%, apresentando valores estatisticamente iguais à testemunha, indicando que perdeu a sua eficiência.

[125] O maior índice de precipitação pluvial foi no 8º DAP, com 20,1 mm, no entanto, para o microencapsulado na CL₉₉ e CL₅₀ observou-se um pequeno aumento da mortalidade no 9º DAP, esse fato pode ter por algum fator externo, como por exemplo, referente a biologia dos ácaros selecionados, visto que a tendência do percentual de mortalidade foi mantida chegando no 15º DAP, com mortalidade de 28,7 ± 6,9; 20,0 ± 7,3; 1,2 ± 1,2 e 2,5 ± 1,6 %, para o microencapsulado na CL₉₉, na CL₅₀, Azamax® e testemunha, respectivamente.

EXPERIMENTOS COM *Plutella xylostella*

Estimativa das CL₅₀ e CL₉₉ do Extrato etanólico e microencapsulado de *Annona muricata* na mortalidade de *Plutella xylostella*

[126] O extrato etanólico da semente de *A. muricata* apresentou menor toxicidade para a *P. xylostella*, visto que requereu uma concentração maior da quantidade do extrato para causar mortalidade as larvas, apresentando CL₅₀ e CL₉₉ estimadas em 0,204 e 5,675 mL/L, respectivamente. Para o microencapsulado do extrato etanólico, as CL₅₀ e CL₉₉ estimadas foram 1,114 e 4,166 mL/L, respectivamente, apresentando menores concentrações (Tabela 3).

Tabela 3. Concentração letal (CL) dos extratos etanólico de *Annona muricata* e microencapsulados sobre *Plutella xylostella*.

Produto	N	Inclinação±(EP)	CL ₅₀ (95% IC)	CL ₉₉ (95%IC)	X ²
Extrato etanólico	35	1,61±0,15	0,204mL (0,158-	5,675mL (3,179-	4,27
	0		0,265mL)	12,906mL)	
Microencapsula do	35	1,49±0,13	0,114mL (0,091-	4,166mL (2,362-	8,68
	0		0,142mL)	9,216mL)	

N = Número de insetos, EP = erro padrão da média, IC = intervalo de confiança, CL = Concentração Letal, X² = Qui-quadrado (significativo ao nível de 5% de probabilidade).

Efeito letal do extrato etanólico e microencapsulado de semente de *Annona muricata* no controle de lagartas de 1º e 3º ínstars de *Plutella xislotella* em casa de vegetação

[127] De acordo com a análise, o teste F a 1% de probabilidade apresentou diferença significativa para todos os fatores, incluindo a interação tratamentos x anos, indicando que os tratamentos foram influenciados pelos anos. Por outro lado, o coeficiente de variação apresentou uma boa precisão experimental, segundo Ferreira, P.V. Estatística experimental aplicada a agronomia. 3º Ed. Maceió: ADUFAL, 2000. 422p.

[128] No ano 1 referente ao ano de 2016 para o 1º ínstar, a CL₉₉MICRO apresentou maior mortalidade, representando uma mortalidade de 100% e não diferindo estatisticamente do CL₉₉EXT que apresentou um valor de 88,75% de mortalidade. Mas, diferiram de todos os demais tratamentos. Já os outros tratamentos que apresentaram variações entre si. Dessa forma, o CL₅₀MICRO não diferiu da CL₅₀EXT.

e do Decis, mesmo apresentando uma média 81,25; 71,25 e 70,00% de mortalidade, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4. Média e comparação da mortalidade de larvas de 1º de *P. xylostella* em dois anos em casa de vegetação submetidas a Extrato etanólico e microencapsulado da semente de *A. muricata*.

Tratamentos (1º instar)	Ano 1(2016)		Ano 2(2017)	
	Mortalidade		Mortalidade	
Testemunha	5,00a		2,50a	
Decis	70,00bc		55,00b	
Azamax	62,50b		58,70b	
CL ₅₀ EXT.	71,25bc		53,70b	
CL ₅₀ MICRO.	81,25c		60,00b	
CL ₉₉ EXT	88,75d		100,00c	
CL ₉₉ MICRO	100,00d		100,00c	
*DP	1,00			
**EP	0,13			
Tratamentos (3º instar)	Ano 1(2016)		Ano 2(2017)	
	Mortalidade		Mortalidade	
Testemunha	8,70a		6,20a	
Azamax	61,20b		56,20b	
CL ₅₀ EXT.	61,20b		52,50b	
CL ₅₀ MICRO.	70,00b		58,70b	
CL ₉₉ EXT.	91,20c		91,20c	
CL ₉₉ MICRO.	96,20c		91,20c	
*DP	0,87			
**EP	0,21			

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P 0,05)

CL₅₀EXT. e CL₉₉EXT = Concentração letal de extrato bruto que mata 50% e 99% dos indivíduos, respectivamente

CL₅₀MICRO e CL₉₉MICRO = Concentração letal de extrato microencapsulado que mata 50% e 99% dos indivíduos, respectivamente

*DP = Desvio Padrão; **EP = Erro Padrão

[129] Ao comparar as médias da CL₅₀EXT com Decis e Azamax observa-se que não houve diferença significativa entre os referidos tratamentos. A testemunha a base de

água destilada apresentou a menor taxa de 5,00% de mortalidade, diferido assim, de todos os demais tratamentos (Tabela 4).

[130] No ano 2 no qual faz referência ao ano de 2017, o CL₉₉EXT e CL₉₉MICRO apresentaram as maiores mortalidades, ou seja, a mortalidade foi de 100% para ambas concentrações, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos que apresentaram mortalidades inferiores. Não houve diferença significativa para os tratamentos CL₅₀MICRO, CL₅₀EXT., Azamax e do Decis. A testemunha apresentou uma taxa de mortalidade de 2,50%, o que representa a menor mortalidade do experimento.

[131] Observando os resultados dos dois experimentos em dois anos, percebe-se que os tratamentos no ano 1 (2016) e no ano 2 (2017), identificamos que as médias na taxa de mortalidade de *P. xislotella* em condição de casa de vegetação, os resultados apresentaram valores diferentes. No primeiro experimento, no ano 1 a Testemunha, o Tratamento com Agroquímico comercial (Decis), o Inseticida Orgânico (Azamax), as Concentrações de CL₅₀EXT e CL₅₀MICRO apresentaram médias superiores na taxa de mortalidade quando comparadas com o experimento 2. Já a CL₉₉EXT. apresentou um valor inferior no primeiro ano e 100% de mortalidade no segundo ano. No entanto, a CL₉₉MICRO apresentou 100% de mortalidade em ambos os anos.

[132] De acordo com o teste F a 1% de probabilidade para lagartas de 3º ínstare, houve diferença significativa apenas para os tratamentos e para os anos, não havendo diferença significativa a 5% de probabilidade para a interação tratamentos x anos. Por outro lado, o coeficiente de variação apresentou um valor de 14,27%, o que indica uma boa precisão experimental.

[133] Nos dois anos, para lagartas de 3º instar, a CL₉₉MICRO e CL₉₉EXT apresentaram as maiores mortalidades em relação aos demais, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos, enquanto a testemunha apresentou os menores valores (Tabela 4).

[134] No experimento de 2016 as CL₉₉, tanto do Microencapsulado como o do Extrato Orgânico apontaram uma mortalidade de 96,20 e 91,20% para larvas de 3º ínstare de *P. xislotella*, respectivamente. Os demais tratamentos não demonstraram

diferenças significativas, com destaque para CL₅₀EXT. e Azamax que coincidentemente apresentaram uma mortalidade de 61,20% e a testemunha que evidenciou uma mortalidade de 8,70%.

[135] Em relação ao experimento de 2017, a CL₉₉MICRO e CL₉₉ EXT. apresentaram a mesma mortalidade de 91,20% para 3º ínstar de *P. xislotella*. Os tratamentos CL₅₀MICRO, CL₅₀EXT., AZAMAX e DECIS evidenciaram mortalidades de 58,70; 52,50; 56,20 e 50,00%, respectivamente, enquanto a testemunha, foi verificada uma mortalidade 6,20% (Tabela 4).

[136] Na comparação dos dois experimentos nos dois anos observa-se que a mortalidade de 3º ínstar de *P. xislotella* do ano 1(2016) foram não foram significativas, quando comparadas com a mortalidade do ano 2(2017). Pois, todas as concentrações, juntamente com a testemunha apresentaram os referidos valores: 96,2% para CL₉₉MICRO., 70,00% para CL₅₀MICRO, para 61,20% CL₅₀EXT., 61,20% para Azamax, 58,70% para Decis e 8,70% para a Testemunha para o ano 1. Enquanto, os valores: 91,2% para CL₉₉MICRO., 58,70% para CL₅₀MICRO, para 52,50% CL₅₀EXT., 56,20% para Azamax, 50,00% para Decis e 6,20% para a Testemunha para o ano 2. No caso da CL₉₉EXT. nos dois experimentos o valor da mortalidade foi de 91,20% para 3º ínstar de *P. xislotella*.

Eficiência de extrato etanólico e microencapsulado de semente de *Annona muricatana* controle de 1º e 3º ínstar de *Plutella xylostella* em condição de Campo.

[137] De acordo com a análise para o 1º ínstar, o teste F a 1% de probabilidade houve diferença significativa para os fatores individualmente, ou seja, houve diferença significativa para os tratamentos e para os anos. Bem como para a interação tratamentos x anos, indicando que os tratamentos apresentaram variação entre e nos anos. Já o coeficiente de variação do experimento apresentou um valor de 15,75%, o que represente uma boa precisão experimental (FERREIRA, P.V. Estatística experimental aplicada à Agronomia. 3º Ed-Maceió: ADUFAL, 2000. 422p.).

[138] No ano 1 a mortalidade das larvas de 1º ínstar para a CL₉₉MICRO e CL₉₉EXT. foi de 100,00% o que representou maior mortalidade, não diferindo estatisticamente da CL₅₀MICRO que apresentou uma mortalidade de 87,50%, esse sendo

estatisticamente semelhante para os tratamentos CL₅₀EXT e AZAMAX que tiveram 80,00 e 75,00% de mortalidade, respectivamente. Por sua vez diferiu do tratamento Decis que demonstrou uma mortalidade de 57,50%. A testemunha apresentou diferença significativa para todos os tratamentos com uma mortalidade de 6,25% (Tabela 5).

Tabela 5. Média e comparação da mortalidade de larvas de 1º e de 3º instar de *Plutella xylostella* em dois anos em campo com extrato etanólico e microencapsulado da semente de *Annona muricata*.

Tratamentos (1º instar)	Ano 1	Ano 2
	Mortalidade	Mortalidade
Testemunha	6,25a	7,50a
Decis	57,50b	57,50b
Azamax	75,00c	57,50b
CL ₅₀ EXT	80,00c	60,00b
CL ₅₀ MICRO	87,50cd	62,50b
CL ₉₉ EXT	100,00de	98,70c
CL ₉₉ MICRO	100,00de	100,005c
*DP	1,30	
**EP	0,13	
Tratamentos (3º instar)	Ano 1	Ano 2
	Mortalidade	Mortalidade
Testemunha	10,00a	3,75a
Decis	55,00b	62,50c
Azamax	57,50b	67,50c
CL ₅₀ EXT	52,50b	41,25b
CL ₅₀ MICRO	5,62b	61,25c
CL ₉₉ EXT	95,00c	97,50d
CL ₉₉ MICRO	97,50c	100,00d
*DP	0,72	
**EP	0,18	

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P 0,05)

CL₅₀EXT e CL₉₉EXT = Concentração letal de extrato bruto que mata 50% e 99% dos indivíduos, respectivamente

CL₅₀MICRO e CL₉₉MICRO = Concentração letal de extrato microencapsulado que mata 50% e 99% dos indivíduos, respectivamente

*DP = Desvio Padrão; **EP = Erro Padrão

[139] No ano 2 a CL₉₉MICRO apresentou maior mortalidade, com 100,00% de mortalidade, não diferindo estatisticamente para o CL₉₉EXT. que obteve 98,70% de mortalidade de larvas de 1º ínstas. O CL₅₀MICRO foi intermediário com 62,50% de mortalidade, não diferindo estatisticamente do CL₅₀EXT, AZAMAX e Decis, apresentando assim, os valores de 60,00, 57,50 e 57,50% de mortalidade, respectivamente. A testemunha diferiu de todos os demais tratamentos, apresentando a menor mortalidade de 7,50% (Tabela 5).

[140] Em condições de campo a comparação da eficiência das concentrações do extrato etanólico microencapsulado e do extrato etanólico bruto de semente de *A. muricata* apresentaram taxas de mortalidades superiores nos 2 anos agrícolas para larvas de 1º instares de *P. xislostella*. A CL₉₉MICRO teve 100% de mortalidade, o que demonstra que o extrato microencapsulado é mais eficiente na mortalidade de traças-das-crucíferas nos experimentos. O experimento realizado no ano 1 (2016) apresentou mais uma vez as maiores médias para a maioria das concentrações em relação ao experimento 2 (2017), exceto para o Decis que teve a mesma média de 57,5% nos dois anos e a testemunha que teve uma mortalidade de 6,25% no primeiro ano e 7,50% no segundo ano, mas, não diferiram de uma ano para o outro.

[141] De acordo com o teste F a 1% de probabilidade para lagartas do 3º ínstas, houve diferença significativa entre os tratamentos e para a interação tratamentos x anos. Para os anos não houve diferença significativa a 5% de probabilidade. Em relação ao coeficiente de variação o mesmo apresentou um valor de 11,90, o que represente uma boa precisão experimental.

[142] No ano 1, o CL₉₉MICRO apresentou maior mortalidade com um valor de 97,50%, não diferindo do CL₉₉EXT. que demonstrou uma mortalidade de 95,00%. A CL₅₀MICRO apresentou 56,20% de mortalidade e não houve diferença estatística do CL₅₀EXT, Azamax e Decis, que tiveram mortalidades de 52,50, 57,50 e 55,00%. A testemunha apresentou a menor mortalidade com um valor de 10,00%, diferindo de todos os demais tratamentos (Tabela 5).

[143] No ano 2, a CL₉₉MICRO apresentou a maior mortalidade com 100,00% de eficiência, não diferindo estatisticamente do CL₉₉EXT que por sua vez revelou a mortalidade 97,5%. O Decis entre os tratamentos foi o que apresentou mortalidade com um valor de 62,50%, não diferindo estatisticamente para o Azamax e CL₅₀MICRO que demonstraram uma mortalidade de 67,50 e 41,25%, respectivamente. A testemunha apresentou a menor mortalidade com um valor de 3,75%, diferindo de todos os demais tratamentos (Tabela 5).

[144] Em relação a comparação da eficiência das concentrações letais CL₉₉ do extrato etanólico microencapsulado e do extrato etanólico de semente de *A. muricata* em condição de campo, as taxas de mortalidades foram superiores nos 2 anos agrícolas para larvas de 3º ínstars de *P. xislostella*, Para o CL₉₉MICRO. no ano 1 teve 97,50% e para o ano teve uma média de 100,00%. Já para o CL₉₉EXTR. teve uma média de 95,00% para o primeiro ano e 97,50% de mortalidade para o segundo ano agrícola.

CARACTERIZAÇÃO DO MICROENCAPSULADO DE *Annona squamosa*

Análise de tamanho de partículas do microencapsulado de *Annona squamosa*

[145] As partículas apresentaram diâmetros variando de 0,55 a 79,43 µm sendo, portanto, classificadas como microcápsulas que podem variar de 0,2 a 5000 µm, segundo AZEREDO, H.M.C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. Alimentos e Nutrição, v. 16, n. 1, p. 89-97, 2005.

[146] De acordo com a Figura 4 e Tabela 6, as partículas mostraram uma distribuição bimodal, em função da apresentação de dois picos, que representam dois tamanhos de partículas predominantes. Este resultado é particularmente interessante quando se considera o armazenamento do pó, uma vez que a população de partículas menores pode penetrar nos espaços presentes entre as partículas maiores, ocupando menos espaço. A presença de partículas maiores pode ser atribuída a um começo do processo de aglomeração onde a formação de pontes de ligação irreversíveis para a produção de partículas com maior tamanho (TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influência da temperatura do ar de secagem e da concentração de agente carreador sobre as propriedades físico-químicas do suco de açaí em pó.

Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 29, n. 2, p. 444-450, 2009).

[147] O índice de polidispersidade foi igual a 5,872, quanto menor esse valor mais próximo estão o percentual de diâmetro das partículas, indicando menor variação de tamanho ao longo da amostra.

Tabela 6. Índice de Polidispersidade e diâmetro médio de partículas em volume D[4,3] do microencapsulado de *Annona squamosa*.

Índice de Polidispersidade	Tamanho (μm)			
	D (v,0,1)	D (v,0,5)	D (v,0,9)	D [4,3]
5,872				
	1,191	3,988	24,608	9,137

Caracterização morfológica do microencapsulado de *Annona squamosa*

[148] A microscopia eletrônica de varredura fornece informações sobre as características morfológicas das micropartículas, permitindo uma análise rápida e direta da eficiência do processo de encapsulação. Fornece informações do formato, tamanho e sobre a superfície da micropartícula, tais como a presença de fissuras e poros. A presença de fissuras e rachaduras na superfície pode comprometer a proteção oferecida ao encapsulado.

[149] As micropartículas apresentaram formato esférico com variedade em tamanho, o que é característico das partículas produzidas pelo processo de *spray drying* (Figura 5).

[150] As superfícies das micropartículas foram predominantemente lisas, sem fissuras ou rachaduras aparentes, o que é um ponto positivo, uma vez que essa característica representa menor permeabilidade das cápsulas a gases, aumenta a proteção e retenção do material ativo dentro da matriz encapsulante (CARNEIRO, 2011).

[151] Ao longo da amostra foi possível observar formação de matriz compactada “colada” (Figura 6). Esse fator ocorre pela presença da gelatina na composição da formulação, conforme observado em outros microencapsulados contendo gelatina (ZHAO, J.; WHISTLER, R. L. Spherical aggregates of starch granules as flavor carriers. *Food Technology*, v. 48, n. 7, p. 104-105, 1994; BASÍLIO JÚNIOR, I. D. **Desenvolvimento e validação de metodologias analíticas para produtos de**

***Mentha piperita L.* obtidos de diferentes tecnologias farmacêuticas.** 177f. 2009.

Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, 2009).

Estudos Termogravimétricos (TGA)

[152] Os estudos de estabilidade térmica do microencapsulado, do extrato hexânico de *A. squamosa* e dos materiais de revestimento foram realizados por TGA e os resultados são apresentados na Tabela 7 e na Figura 7, com dados das perdas de massas ocorridas e representadas nas curvas termogravimétricas.

[153] O processo de termodecomposição começa ao ser iniciado o aquecimento, é relativo à perda de água (umidade) ou perda de água de cristalização dos seus componentes (MACÊDO, R. O. **Controle de Qualidade de Formas Farmacêuticas Sólidas Através de Dados Termogravimétricos.** 1996. Tese do Concurso de Professor Titular- Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB, 1996).

[154] Os estudos termogravimétricos do microencapsulado de *A. squamosa* revelaram quatro processos de decomposição: o primeiro teve início a 27,32°C e término a 101,81°C com perda de massa de 2,99%, correspondente a umidade contida no microencapsulado. O segundo processo ocorreu num intervalo de temperatura entre 101,81°C e 239,72°C com perda de massa de 6,07 %. O terceiro teve início a 239,72°C e término a 329,53°C, com perda de massa de 21,41%. O quarto teve início a 329,53°C e término a 398,49°C, com perda de massa de 28,50% e o quinto processo teve início a 398,49 °C e término a 899,90 °C com perda de massa de 31,79%. A termodecomposição total correspondeu a perda de massa de 90,81% e resíduo mineral de 9,19% (Tabela 7 e Figura 7).

[155] A curva termogravimétrica do extrato hexânico de *A. squamosa* apresentou cinco processos de decomposição: o primeiro teve início a 20,71°C e término a 127,54°C com perda de massa de 0,63% corresponde a umidade contida no extrato e provavelmente uma pequena quantidade do hexano, o solvente utilizado na preparação do extrato. O segundo processo ocorreu no intervalo de 127,54°C e 274,76°C com perda de massa de 4,39. O terceiro teve início a 274,76°C e término a 409,52°C com perda de massa de 48,08%. O quarto processo teve início a 409,52°C e término 457,59°C com perda de massa de 37,89%. O quinto teve início a 457,59°C

e término a 899,93°C com perda de massa de 5,16%. A termodecomposição total correspondeu a perda de massa de 96,21% e resíduo mineral de 3,79% (Tabela 7 e Figura 7).

Tabela 7. Dados termogravimétricos do microencapsulado, do extrato hexânico de *Annona squamosa* e dos materiais de revestimento aplicados nos estudos de microencapsulação.

Amostra	Etapa	TG		
		^a T _i (°C)	^b T _f (°C)	^c %Δm
Microencapsulado	I	27,32	101,81	2,99
	II	101,81	239,72	6,07
	III	239,72	329,53	21,41
	IV	329,53	398,49	28,50
	V	398,49	899,90	31,79
	I-IV	27,32	899,90	90,81
Extrato hexânico	I	20,71	127,54	0,63
	II	127,54	274,76	4,39
	III	274,76	409,52	48,08
	IV	409,52	457,59	37,89
	V	457,59	899,93	5,16
	I-V	20,71	899,93	96,21
Amido	I	21,90	128,16	11,56
	II	128,16	316,59	27,86
	III	316,59	898,67	53,77
	I-III	21,95	898,67	93,58
Gelatina	I	24,24	205,69	14,01
	II	205,69	323,80	22,77
	III	323,80	632,34	38,59
	IV	632,34	899,80	12,64
	I-IV	24,24	899,80	88,27
Maltodextrina	I	22,79	157,93	6,12
	II	157,93	313,59	30,85
	III	313,59	899,90	56,97
	I-III	22,79	899,90	93,28

^aT_i: temperatura inicial; ^bT_f: temperatura final; ^c%Δm: perda de massa.

[156] A curva termogravimétrica do amido apresentou três processos de decomposição: o primeiro teve início a 21,90°C e término a 128,16°C com perda de massa de 11,56%. O segundo processo ocorreu num intervalo de temperatura entre 128,16°C e 316,59°C com perda de massa de 27,86 %. O terceiro teve início a

316,59°C e término a 898,67°C, com perda de massa de 53,77%. A termodecomposição total correspondeu a perda de massa de 93,58% e resíduo mineral de 6,42% (Tabela 7 e Figura 7).

[157] A curva termogravimétrica da gelatina apresentou quatro processos de decomposição: o primeiro teve início a 24,24°C e término a 205,69°C com perda de massa de 14,01%. O segundo processo ocorreu num intervalo de temperatura entre 205,69°C e 323,80°C com perda de massa de 22,77%. O terceiro teve início a 323,80°C e término a 632,34°C, com perda de massa de 38,59%. O quarto teve início a 632,34°C e término a 899,80°C, com perda de massa de 12,64. A termodecomposição total correspondeu a perda de massa de 88,27% e resíduo mineral de 11,73% (Tabela 7 e Figura 7).

[158] A curva termogravimétrica da maltodextrina apresentou três processos de decomposição: o primeiro teve início a 22,79°C e término a 157,93°C com perda de massa de 6,12%. O segundo processo teve início a 157,93°C e término a 313,59°C com perda de massa de 30,85%. O terceiro teve início a 313,59°C e término a 899,90°C, com perda de massa de 56,97%. A termodecomposição total correspondeu a perda de massa de 93,28% e resíduo mineral de 6,72% (Tabela 7 e Figura 7).

CARACTERIZAÇÃO DO MICROENCAPSULADO DE *Annona muricata*

Análise de tamanho de partículas do microencapsulado de *Annona muricata*

[159] As micropartículas de *A. muricata* secas por pulverização apresentaram distribuição de partícula com comportamento bimodal evidente, isto é, com dois picos e cada um com um tamanho predominante (Figura 8, Tabela 8). Esta característica é favorável para o microencapsulado, proporcionando a pequenas partículas penetrar em interstícios presentes entre partículas maiores, fazendo com que o material ocupe menos espaços.

[160] As partículas apresentaram diâmetros variando de 0,48 a 79,43 µm e diâmetro médio de partículas em volume D[4,3] de 10,838 µm (Tabela 8).

[161] O índice de polidispersidade do microencapsulado de extrato de *A. muricata* foi igual a 6,414, quanto menor esse valor mais próximo estão o percentual de diâmetro das partículas, indicando menor variação de tamanho ao longo da amostra, maior será a homogeneidade do diâmetro de partículas no sistema e vice-versa.

Tabela 8. Índice de Polidispersidade e diâmetro médio de partículas em volume D[4,3] do microencapsulado de *Annona muricata*.

Índice de Polidispersidade	Tamanho (μm)			
	D (v,0,1)	D (v,0,5)	D (v,0,9)	D [4,3]
6,414	1,135	4,516	30,102	10,838

Caracterização morfológica do microencapsulado de *Annona muricata* em MEV

[162] A secagem por pulverização do extrato de *A. muricata* com polímeros naturais resultou em um pó fino, de cor amarela e pálida. A Figura 9 mostra as fotomicrografias obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV das microcápsulas carregadas com *A. muricata* e microcápsulas formadas apenas pelos agentes encapsulantes.

[163] As micropartículas apresentaram tanto formato esférico, quanto irregular, com superfície lisa e rugosa/ondulada, contínua, homogênea e com tamanho variável, estando de acordo com a análise do tamanho de partículas e com as características das partículas inerentes ao processo de secagem por aspersão (Figura 9).

[164] A Figura 9A (encapsulantes) mostra partículas agregadas e onduladas em maior número quando comparado a Figura 9D (microcápsula de *A. muricata*), sugerindo que a maior viscosidade da formulação e os lipídios contido no extrato de *A. muricata* estão relacionados com maior número de partículas esféricas e lisas, uma vez que o pó apresentou maior teor de umidade ou hidratação. A Figura 9C e 9F mostram microencapsulados no estado de coalescência e agregação de particulado na superfície, favorecendo tamanho maior a partícula e menos agregados.

[165] Em geral, a superfície externa dos microencapsulados de *A. muricata* revelou continuidade nas paredes, não observado fissuras aparentes, rachaduras ou interrupções, na qual, é uma característica importante para garantir menor permeabilidade ao gás, melhor proteção contra oxidação e retenção do extrato.

[166] Neste sentido, a MEV vem mostrar que os agentes encapsulantes foi bem incorporado a formulação, ocasionado o aprisionamento do extrato na matriz polimérica, apresentando resultado satisfatório, uma vez que o extrato é oleoso e dificulta o processo de secagem.

[167] Ao analisar a amostra microencapsulada observa-se a formação de matriz compactada, esse fator ocorre pela presença da gelatina na composição final da formulação.

Estudos Termogravimétricos (TGA)

[168] O processo de termodecomposição começa ao ser iniciado o aquecimento, é relativo à perda de água (umidade) ou perda de água de cristalização dos seus componentes (MACÊDO, R. O. **Controle de Qualidade de Formas Farmacêuticas Sólidas Através de Dados Termogravimétricos**. 1996. Tese do Concurso de Professor Titular- Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – PB, 1996). As curvas termogravimétricas do extrato e do microencapsulado de *A. muricata* são mostradas na Figura 10 e tabela 9, revelando a perda de massa das amostras, proveniente da degradação térmica em múltiplos steps.

[169] O estudo termogravimétrico do extrato de *A. muricata* revelou quatro processos de decomposição a partir da avaliação de Tonset e Tendset em cada step. O primeiro teve início a 45,05°C e término a 93,87°C com perda de massa de 8,80%, correspondente à perda de umidade e do solvente etanol residual contido no extrato. O segundo step com Tonset de 216,74°C e Tendset de 277,48°C com perda de massa intermediária de 32,67 % proveniente da degradação térmica. O terceiro step na faixa de 373,49 - 421,83°C, com degradação ou decomposição térmica mais acentuada com perda de massa de 55,80%. O quarto e último step residual a 603,98 – 631,09°C, com perda de massa de 0,50%, derivado da perda de voláteis durante a combustão residual. A termodecomposição total correspondeu a perda de massa de 97,77% e resíduo mineral de 2,23% (Tabela 9 e Figura 10A).

[170] A curva termogravimétrica do microencapsulado da *A. muricata* apresentou múltiplos steps, com 3 etapas de decomposição, uma a menos quando comparado com o extrato etanólico (Figura 10).

[171] O primeiro step de 146,55 – 171,84°C com perda de massa de 3,77% derivado da desidratação causada pela umidade contida na matriz polimérica do microencapsulado, apresentando menor percentual de umidade devido ter passado por processo de secagem e microencapsulamento pela técnica de secagem Spray Dryer. A segunda etapa de decomposição ocorreu no intervalo de 280,20-388°C com

perda de massa 76,44%, caracterizando principal etapa de termodecomposição da amostra. O step final e residual teve início a 432,61°C e término a 582,93°C com perda de massa de 10,69%. A termodecomposição total correspondeu a perda de massa de 90,9% e resíduo mineral de 9,1% (Tabela 9 e Figura 10B).

Tabela 9. Dados termogravimétricos do Extrato Etanólico, Microencapsulado *Annona muricata* e dos polímeros encapsulantes.

Amostra	Etapa	TG		
		^a <i>T_i</i> (°C)	^b <i>T_f</i> (°C)	^c % $\square m$
Extrato Etanólico	I	45,05	93,87	8,8
	II	216,74	277,48	32,67
	III	373,49	421,83	55,80
	IV	603,96	631,09	0,5
	I-IV	45,05	631,09	97,7
Microencapsulado	I	146,55	171,84	3,77
	II	280,20	358	76,44
	III	432,61	582,93	10,69
	I-III	146,55	582,93	90,9
Amido	I	21,90	128,16	11,56
	II	128,16	316,59	27,86
	III	316,59	898,67	53,77
	I-III	21,95	898,67	93,58
Gelatina	I	24,24	205,69	14,01
	II	205,69	323,80	22,77
	III	323,80	632,34	38,59
	IV	632,34	899,80	12,64
	I-IV	24,24	899,80	88,27
Maltodextrina	I	22,79	157,93	6,12
	II	157,93	313,59	30,85
	III	313,59	899,90	56,97
	I-III	22,79	899,90	93,28

^a Tonset: temperatura de início de perda de massa; ^bTendset: temperatura final da perda de massa;

^c% $\square m$: perda de massa.

[172] A supressão de uma etapa de decomposição observada na curva termogravimétrica do microencapsulado, quando comparado com o extrato etanólico de *A. muricata*, permite inferir que a microencapsulação conferiu maior estabilidade térmica, podendo ser confirmada com a Tonset dos três steps do microencapsulado que foi maior do que a encontrada para o extrato.

Efeito residual do microencapsulado sobre *Plutella xylostella*

Efeito residual do extrato etanólico e do microencapsulado de *Annona muricata* sobre o 1º e 3º instares da *Plutella xylostella* em semi campo

[173] Os tratamentos apresentaram diferença significativa a 1% de probabilidade pelo teste F para todas as variáveis. Para os instares, houve diferença significativa a 1% de probabilidade para os dias 2 e 4, houve diferença significativa a 5% de probabilidade no dia 10 e 14, para os demais dias não houve diferença significativa a 5% de probabilidade. Para a interação tratamento x ínstares foram não significativos a 5% de probabilidade para todos os dias.

[174] Para o dia 0 a CL₉₉MICRO e a CL₉₉EXT apresentaram as maiores médias, com 100,0% de mortalidade, para ambas as concentrações diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. A CL₅₀MICRO apresentou a segunda posição, apresentando mortalidade de 72,0%, não diferindo estatisticamente do Azamax que apresentou 69,0% de mortalidade, que por sua vez não diferiu do Decis e da CL₅₀EXT que tiveram mortalidade de 61,0 e 62,0% de mortalidade, respectivamente. A testemunha apresentou uma mortalidade de apenas 2,0%, diferido de todos os outros tratamentos (Figura 11).

[175] Nos dias 2 e 4 a CL₉₉MICRO apresentou 100,0% de mortalidade, não diferindo estatisticamente da CL₉₉ EXT. que apresentou no dia 2 e 4 as mortalidades de 97,0 e 96,0%, respectivamente. A CL₅₀MICRO demonstrou uma mortalidade de 67,0% para o dia 2 e de 56,0% para o dia 4, não diferindo estatisticamente da CL₅₀EXT e do Azamax, que evidenciaram mortalidades de 57,0 e 60,0% para o dia 2 e de 49,0 e 48,0% para o dia 4, nesta ordem. Esse último não apresentou diferença significativa para o Decis, tanto no dia 2, que obteve uma mortalidade de 53,0%, como para o dia 4 que apontou uma mortalidade de 38,0%. Já a testemunha teve uma taxa de mortalidade de 4,0% para o dia 2 e uma taxa de 3,0% para o dia 4, respectivamente.

[176] Na avaliação dos dias 6 e 8 a CL₉₉MICRO apresentou uma maior mortalidade, com 100,0% para o dia 6 e de 90,0% para o dia 8, não diferindo estatisticamente da CL₉₉ EXT, que no dia 6 evidenciou uma mortalidade de 100,0% para o dia 6 e obteve uma mortalidade 80,00% para o dia 8. Mesmo não diferido estatisticamente, observa-se que a diferença de mortalidade entre as CIs para o dia 8 foi de 10,0% menor para a CL₉₉MICRO e de 20% menor para o CL₉₉EXT em relação ao dia 6. Os tratamentos

CL₅₀MICRO, CL₅₀EXT, Azamax e Decis foram os tratamentos secundários em termos de mortalidade, não diferindo estatisticamente entre si. Os mesmos se destacaram com as seguintes mortalidades para o dia 6 de 57,0; 50,00; 53,0 e 50,0%, nessa ordem. Em relação ao dia 8, a mortalidade para os mesmos foi de 52,0; 44,0; 48,0 e 38,0%, respectivamente.

[177] Para o dia 10, a CL₉₉MICRO apresentou a maior mortalidade com um valor de 79,0% diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. A CL₉₉EXT foi o tratamento que apresentou a segunda maior taxa de mortalidade com 63,0%, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos que demonstrou menores valores. Os tratamentos Cl₅₀MICRO, CL₅₀EXT, Azamax e Decis evidenciaram as seguintes taxas de mortalidade: 40,0; 40,0; 40,00 e 38,0%, respectivamente, e não diferiram estatisticamente entre si e foram os tratamentos menos eficientes. A testemunha se destacou por ter uma mortalidade de 4,0%.

[178] A CL₉₉MICRO apresentou a maior mortalidade aos 12 dias, com uma taxa de 64,0%, não diferindo estatisticamente da CL₉₉EXT, com uma taxa de mortalidade de 55,0%, essa última não diferindo estatisticamente da CL₅₀MICRO, com uma mortalidade de 48,0%, que por sua vez não diferiu estatisticamente do Azamax e Decis, que se destacaram por demonstrarem mortalidades de 35,0 e 36,0%. A menor mortalidade foi para a testemunha que apresentou apenas 3,0%.

[179] Aos 14 dias, a CL₉₉MICRO apresentou a maior mortalidade com uma taxa de 44,0%, não diferindo estatisticamente da CL₉₉EXT e CL₅₀MICRO, que apresentaram taxas de 36,0 e 31,0%, respectivamente. Essas não diferindo estatisticamente da CL₅₀EXT, Azamax e Decis, que demonstraram respectivamente, as seguintes mortalidades: 25,0; 25,0 e 21,0%. A testemunha teve uma taxa de mortalidade de apenas 6,0%.

[180] Aos 16 dias a CL₉₉MICRO apresentou a maior mortalidade com a mortalidade de 31,0%, não diferindo estatisticamente da CL₉₉EXT, que obteve uma mortalidade de 25,0%. Por sua vez, essa não diferindo estatisticamente da CL₅₀MICRO, que destacou uma mortalidade de 21,0%, por outro lado não diferiu da CL₅₀EXT que se destacou com uma mortalidade de 17,0% e Azamax com uma mortalidade de 16,0%,

esse último não diferindo estatisticamente para o Decis que obteve uma mortalidade de 13,0%. Já a testemunha apresentou uma mortalidade de 7,0%.

[181] Levando em consideração todos os experimentos da avaliação residual, desde o dia 0 até o dia 16, observa-se que o tratamento com a CL₉₉MICRO se destacou por apresentar mortalidades superiores em todos os dias avaliados. Isso que dizer que o Extrato etanólico microencapsulado de *A. muricata* é um produto eficiente e que mantém o princípio ativo do extrato por todo esse período em condições de semi campo.

[182] Ao observar as médias dos ístares do experimento, pode-se concluir:

[183] Para os dias 0, 2, 6, 8, 12, e 16 as médias das mortalidades do 1º e 3º ístares não diferiram estatisticamente entre si, mesmo o 1º ístar apresentando valores maiores de mortalidade de 67,4; 64,2; 58,8; 50,6; 40,6 e 19,7%, respectivamente e para o 3º ístar, os valores na taxa de mortalidade foram de 65,7; 60,9; 60,5; 50,6; 37,7 e 17,4%, respectivamente (Tabela 10).

[184] Em relação aos dias 4, 10 e 14, houve diferença significativa entre o 1º e o 3º ístares. Em todos os dias, o 1º se destacou com mortalidades médias maiores de 60,3; 45,4 e 29,7%, respectivamente, enquanto para o 3º ístar, tiveram mortalidades menores de 51,1; 41,7 e 25,0%, respectivamente (Tabela 10).

[185] A média geral para todos os dias e para os dois ístares foi de 66,6; 62,5; 55,7; 59,7; 50,6; 43,5; 39,1; 26,9 e 18,6% de mortalidade. Observa-se que de maneira geral, as taxas de mortalidades dos ístares mantiveram-se em ordem decrescente, exceto para o dia 6, que teve uma elevação na média, em relação ao dia 4 oscilando de 55,7% para um valor médio de 59,7% de mortalidade (Tabela 10).

Tabela 10 - Média do efeito residual da mortalidade de lagartas de 1º e de 3º instar de *Plutella xylostella* com extrato etanólico e microencapsulado da semente de *Annona muricata* em condição de semi campo.

Ístar	0	2	4	6	8	10	12	14	16
1º	67,40a	64,20a	60,30b	58,80a	50,60a	45,40b	40,60a	29,70b	19,70a
3º	65,70a	60,90a	51,10a	60,50a	50,60a	41,70a	37,70a	25,00a	17,40a
Média Geral	66,60	62,50	55,70	59,70	50,60	43,55	39,10	26,90	18,60

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P 0,05); CL₅₀EXT. e CL₉₉EXT = Concentração letal de extrato bruto que mata 50% e 99% dos indivíduos, respectivamente; CL₅₀MICRO e CL₉₉MICRO = Concentração letal de extrato microencapsulado que mata 50% e 99% dos indivíduos, respectivamente.

[186] Na avaliação dos instares, no dia 0, a CL₉₉MICRO e a CL₉₉EXT apresentaram as maiores mortalidades para o 1º e 3º ínstares com de 100,0%, diferindo estatisticamente para todos os demais tratamentos. A CL₅₀MICRO apresentou a segunda maior média de mortalidade para os dois instares, com 74,0% para o 1º e de 70,0% para o 3º ínstare. Sendo que para o 1º ínstare não apresentou diferença significativa para o Azamax que obteve a mesma mortalidade de 74,0%, mas, diferiu para CL₅₀EXT e Decis, ambos demonstraram a mesma mortalidade de 62,0%, e para o 3º não apresentou diferença significativa para a CL₅₀EXT, Azamax e Decis que se destacaram com mortalidades de 62,0; 64,0 e 60,0%, respectivamente. A testemunha apresentou para 1º e 3º ínstares, 0,0 e 4,0%, nessa ordem (Figura 12).

[187] Para o dia 2, nos dois ínstares a CL₉₉MICRO e CL₉₉EXT não apresentaram a maior mortalidade com 100,0% de eficiência, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos para o 1º instar, os tratamentos demonstraram 70,0; 62,0; 58,0 e 56,0% para CL₅₀MICRO, Azamax, CL₅₀EXT e Decis, respectivamente, e para o 3º instar não houve diferença significativa para a CL₅₀MICRO que apresentou 94,0% de mortalidade. Os demais tratamentos apresentaram médias secundárias para a mortalidade com valores de 50,0% para o Decis, 58,0% para o Azamax e de 56,0% para a CL₅₀EXT. Para o 3º ínstare a testemunha demonstrou mortalidade de 4,0% (Figura 12).

[188] No dia 4 a CL₉₉MICRO e a CL₉₉EXT apresentaram as maiores mortalidades para os dois instares, sendo que para a CL₉₉MICRO obteve-se 100,0% de mortalidade em ambos e para a CL₉₉EXT demonstrou 100,0% para o 1º e 92,0% para o 3º ínstare, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. A CL₅₀MICRO apresentou o segundo maior índice de mortalidade com taxa de 66,0 e 46,0% para o 1º e 3º ínstare, respectivamente, não diferindo estatisticamente para a CL₅₀EXT e Azamax, tanto em 1º e 3º ínstare, com mortalidade de 52,0 e 46,0%, com 52,0 e 44,0%, respectivamente. Por sua vez, o não diferiu do Decis com 46,0 e 30,0% para ambos ínstares. A

testemunha apresentou 6,0% de mortalidade para o 1º ínstare e para o 3º não houve indivíduos mortos (Figura 12).

[189] Para o dia 6, a CL₉₉MICRO e CL₉₉EXT apresentaram as maiores mortalidades, com valores de 100,0% para ambos os ínstares, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos para os dois instares. A CL₅₀MICRO apresentou a segunda maior mortalidade com 52,0 e 62,0% para ambos os ínstares, respectivamente, não diferindo estatisticamente da CL₅₀EXT, Azamax e Decis, que se destacaram com taxas de 48,0 e 52,0%, 54,0 e 52,0% e com 46,0 e 54,0% de mortalidade para ambos os ínstares, respectivamente. Em relação a testemunha, a mesma evidenciou 12,0 e 4,0% de mortalidades para o 1º e 3º ínstares, nessa ordem (Figura 12).

[190] No dia 8, a CL₉₉MICRO apresentou a maior mortalidade com 90,0% para os dois ínstares, não diferindo estatisticamente da CL₉₉EXT que apresentou 80,0%, para os dois ínstares. A CL₅₀MICRO apresentou a terceira maior mortalidade com 52,0%, para ambos ínstares, não diferindo estatisticamente para a CL₅₀EXT que obteve 44,0% para os dois ínstares, o Azamax com 48,0%, tanto para o 1º como para o 3º ínstare e em relação ao Decis evidenciou a mesma mortalidade para ambos, sendo de 38,0% a taxa de mortalidade. O mesmo aconteceu com a testemunha que apresentou apenas 2,0% de mortalidade para os dois ínstares (Figura 12).

[191] Para o dia 10, a CL₉₉MICRO apresentou a maior mortalidade para os dois ínstares, com 82,0 e 76,0% de mortalidade, diferindo estatisticamente da CL₉₉EXT que obteve a mortalidade, em ambos os ínstares de 66,0% para o 1º e de 60,0% para o 3º. A CL₉₉EXT apresentou a segunda maior mortalidade, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos para os dois ínstares. A CL₅₀MICRO apresentou 44,0 e 42,0%, representando a terceira maior mortalidade, não diferindo estatisticamente entre a CL₅₀EXT, Azamax e Decis, que demonstraram as referidas mortalidades: 38,0 e 42,0%, 44,0 e 36,0% e 40,0 e 32,0%, para os dois ínstares, respectivamente. Esse contexto a testemunha se destacou com 4,0% de mortalidade para ambos os ínstares (Figura 12).

[192] No dia 12, a CL₉₉MICRO apresentou uma taxa de mortalidade para os dois ínstares, representando a maior mortalidade, no entanto, não diferiu da CL₉₉EXT e CL₅₀MICRO, que por sua vez demonstraram 54,0 e 56,0% e 52,0 e 44,0% de

mortalidade para o 1º e 3º ínstars, nessa ordem. Por sua vez, a CL₅₀MICRO não diferiu do Decis que evidenciou uma mortalidade de 40,0% para o 1º ínstar e diferiu para o 3º ínstar, que evidenciou uma mortalidade de 32,0%. A CL₅₀MICRO diferiu da CL₅₀EXT e do Azamax, que se destacaram com a mortalidade de 34,0% para o 1º ínstar e mortalidade de 32,0 e 36,0% para o 3º ínstar. Já a testemunha apresentou 6,0 e 0,0% de mortalidade para os dois instares (Figura 12).

[193] Em relação ao dia 14, a CL₉₉MICRO apresentou mortalidades superiores a todos os demais tratamentos, diferido assim dos demais e apresentou valores de 48,0 e 40,0% para ambos os ínstars, respectivamente. Já para a CL₉₉EXT, CL₅₀MICRO, CL₅₀EXT e Azamax, os referidos tratamentos apresentaram 40,0 e 32,0%, 28,0 e 22,0%, 34,0 e 28,0% e 28,0 e 22,0 de mortalidades, para os dois instares. Azamax não diferiu do Decis e nem da testemunha, os mesmos, apresentaram 24,0 e 18,0% para ambos os ínstars e mortalidade 6,0% para testemunha nos dois instares (Figura 12).

[194] No dia 16, para os dois ínstars, a CL₉₉MICRO apresentou maior mortalidade, com 34,0 e 28,0%, diferido estatisticamente da CL₉₉EXT, que por sua vez apresentou mortalidades de 26,0 e 24,0% para ambos os ínstars. Todavia, a CL₉₉EXT não diferiu da CL₅₀MICRO, CL₅₀EXT e Azamax, que se destacaram com mortalidades de 22,0; 16,0 e 16,0% para o 1º ínstar e diferiu para o Decis, que obteve 18,0% de mortalidade. A CL₉₉MICRO não diferiu estatisticamente para o 3º ínstar, em relação a CL₉₉EXT. CL₅₀MICRO e CL₅₀EXT, que demonstraram 24,0; 20,0 e 18,0% de mortalidade. Em relação ao Decis e Testemunha, ambos, apresentaram mortalidades de 14,0 e 12,05 e de 1,0 e 4,0%, respectivamente (Figura 12).

Efeito residual de extrato etanólico e microencapsulado de *Annona Muricata* sobre o 1º e 3º ínstars de *Plutella xylostella* em condição de campo no ano de 2016.

[195] De acordo com o teste F a 1% de probabilidade houve diferença significativa da mortalidade para todos os dias de avaliação para a fonte de variação tratamentos. Para os Ínstars houve diferença significativa a 1% de probabilidade nos dias 0, 2, 8, 10 e 12; aos 4, 6, 14, 16 e 18 e não houve diferença significativa a 5% de

probabilidade. Para a interação Tratamentos x Ínstars não houve diferença significativa a 5% de probabilidade para nenhum dos dias avaliados (Figura 13).

[196] No dia 0, a CL₉₉MICRO apresentou a maior mortalidade com uma taxa de 100,0%, não diferindo estatisticamente da CL₉₉EXT, que por sua vez demonstrou uma mortalidade 96,0%, ambos diferiram dos demais tratamentos. Os tratamentos CL₅₀MICRO, CL₅₀EXT, Azamax, e Decis não diferiram estatisticamente, evidenciando as seguintes mortalidades: 65,0; 63,0; 64,0 e 61,0%. A testemunha apresentou uma mortalidade de 8,0% (Figura 13).

[197] No dia 2, a CL₉₉MICRO apresentou a maior mortalidade com taxa de 91,0%, não diferindo estatisticamente da CL₉₉EXT, que demonstrou mortalidade de 86,0%, as CL₉₉ diferiram de todos os outros tratamentos. Os tratamentos CL₅₀MICRO, CL₅₀EXT, Azamax, e Decis não diferiram estatisticamente entre si, evidenciando assim, as seguintes mortalidades: 68,0; 58,0; 61,0 e 56,0%. A testemunha apresentou uma mortalidade de 6,0% (Figura 13).

[198] No dia 4, a CL₉₉MICRO apresentou a mortalidade de 95,0%, não diferindo estatisticamente da CL₉₉EXT que obteve um valor de 88,0%. Esse por sua vez diferiu da CL₅₀MICRO que apresentou 72,0% de mortalidade. A CL₅₀MICRO não diferiu do Azamax e Decis que apresentaram mortalidade de 63,0%, para ambos. Estes por sua vez, não diferiram da CL₅₀EXT que apresentou uma mortalidade de 57,0%. A Testemunha apresentou 8,0% de mortalidade (Figura 13).

[199] No dia 6, a CL₉₉MICRO apresentou a mortalidade de 88,00%, não diferindo estatisticamente da CL₉₉EXT que obteve um valor de 75,0%. Esse por sua vez diferiu da CL₅₀MICRO que apresentou 59,0% de mortalidade. Já a CL₅₀MICRO não diferiu do Azamax e Decis que apresentaram mortalidade de 54,0 e 51,0%, respectivamente. Estes por sua vez, não diferiram da CL₅₀EXT que apresentou uma mortalidade de 45,0%. A Testemunha apresentou 6,0% de mortalidade (Figura 13).

[200] No dia 8, a CL₉₉MICRO apresentou maior mortalidade com a taxa de 85,0%, apresentando diferença significativa para os demais tratamentos. A CL₉₉EXT com mortalidade de 67,0% foram intermediárias, não diferindo estatisticamente da CL₅₀MICRO que apresentou 59,0% de mortalidade. Esse último, não diferiu do Azamax e Decis que se destacaram com mortalidades de 53,0 e 48,0%, não diferido

assim, da CL₅₀EXT de 40,0% de mortalidade. A testemunha apresentou uma menor mortalidade com valor de 7,00% (Figura 13).

[201] No dia 10, a CL₉₉MICRO apresentou maior mortalidade com 72,0%, apresentando diferença significativa para os demais tratamentos. A CL₉₉EXT foi intermediária com 50,0% de mortalidade, não apresentando diferença significativa para CL₅₀MICRO e Azamax, que apresentaram mortalidades de 44,0 e 42,0%, respectivamente. No entanto, não diferiram das CL₅₀EXT e Decis, que evidenciaram mortalidades de 34,0 e 35,0%, para ambos. A testemunha apresentou mortalide de 8,0% de mortalidade (Figura 13).

[202] Aos 12 dias, a CL₉₉MICRO apresentou a maior mortalidade com uma taxa de 62,0%, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Os tratamentos CL₉₉EXT, CL₅₀MICRO e Azamax apresentaram eficiência de 46,0; 36,0 e 37,0% de mortalidade e não apresentaram diferença significativa para CL₅₀EXT e Decis, com mortalidades de 28,0 e 30,0%, respectivamente. A taxa de mortalidade da testemunha foi de 3,0%, representando assim, a menor mortalidade (Figura 13).

[203] No dia 14, a CL₉₉MICRO apresentou a mortalidade de 48,0%, apresentando diferença significativa para todos os demais tratamentos. A CL₉₉EXT apresentou mortalidade intermediária com 36,0% e não diferiu estatisticamente da CL₅₀MICRO com mortalidade de 29,0%. Por sua vez, não diferiram da CL₅₀EXT, Azamax e Decis, que se destacaram com mortalidades de 23,0; 23,0 e 21,0%, respectivamente. A menor mortalidade foi conferida para testemunha com 8,0% (Figura 13).

[204] Aos 16 dias, a CL₉₉MICRO apresentou a maior mortalidade com mortalidade de 33,00%, apresentando diferença significativa para os demais tratamentos. A CL₉₉EXT apresentou 23,00% de mortalidade e não diferiu estatisticamente da CL₅₀MICRO que apresentou mortalidade intermediária no valor de 18,0%, não diferindo estatisticamente da CL₅₀EXT, Azamax e Decis, que apresentaram 13,0%, 14,0 e 14,0, respectivamente. Já para a testemunha a mortalidade foi de 9,0% (Figura 13).

[205] Aos 18 dias, a CL₉₉MICRO apresentou a maior mortalidade com 23,0%, apresentando assim, diferença significativa para os demais tratamentos. A CL₉₉EXT apresentou de 17,0% e não diferiu estatisticamente da CL₅₀MICRO, CL₅₀EXT,

Azamax e Decis, que apresentaram mortalidades de 17,0; 14,0; 58,0 e 13,0%, respectivamente. Para a testemunha, a mortalidade foi de 9,0%, Tabela.

[206] Observa-se que em condição de campo, mesmo com condições adversas, a CL₉₉MICRO, apresentou mortalidade superior em todos os períodos avaliados. Seguindo a mesma lógica, a CL₅₀MICRO obteve mortalidade superior a aos produtos comerciais, Azamax e Decis (Figura 13).

[207] Em relação aos instares, a maior mortalidade foi no 1º instar nos dias 0, 2, 6, 8, 10, 12, 14, 16 e 18, pois, diferiram estatisticamente do 3º ínstar e apresentaram médias para o 1º ínstar de 71,79; 66,50; 57,10; 55,40; 45,70; 39,79; 28,80; 18,20 e 15,70%, respectivamente. Já para o 3º ínstar tivemos as seguintes médias nas mortalidades de 58,80; 55,10; 50,80; 46,65; 35,70; 29,94; 24,80; 16,80 e 15,10%, respectivamente. Não apresentando diferença significativa apenas para o dia 4, que teve para o 1º ínstar, uma mortalidade de 64,80% e para o 3º ínstar uma mortalidade de 62,50%, respectivamente (Figura 13).

VANTAGENS DA PATENTE

[208] A obtenção de uma formulação microencapsulada é uma característica importantíssima, pois viabiliza a utilização desse tipo de formulação na prática pelo agricultor, pois não ocorrerá problema de solubilização durante a aplicação do produto no campo e nem de intoxicação para o aplicador. Como também, a formulação microencapsulada tratá uma liberação mais lenta e gradual do princípio ativo melhorando a questão da persistência do produto no campo.

REIVINDICAÇÕES

1. PROCESSO DE OBTENÇÃO DE UMA FORMULAÇÃO INSETICIDA/ACARICIDA MICROENCAPSULADA POR SPRAY DRYER DE ANNONA SQUAMOSA E ANNONA MURICATA, caracterizado por compreender as seguintes etapas:

- a) Preparação da formulação microencapsulada pela utilização de polímeros biodegradáveis constituídos de gelatina, maltodextrina, amido e aerosil;
- b) Secagem dos extratos de sementes pinha e graviola por spray-drying (Microencapsulamento);
- c) Liberação lenta do princípio ativo das espécies de Annonaceae;
- d) Solubilidade dos extratos de pinha e graviola após o processo de preparação do produto microencapsulado;
- e) Efeito residual em semi campo e campo do extrato microencapsulado e extrato bruto de sementes pinha e graviola sobre o ácaro e o microlepidóptero;
- f) Caracterização do extrato microencapsulado de sementes pinha e graviola.

2. PROCESSO DE OBTENÇÃO DE UMA FORMULAÇÃO INSETICIDA/ACARICIDA MICROENCAPSULADA POR SPRAY DRYER DE ANNONA SQUAMOSA E ANNONA MURICATA, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pela etapa “a” dos polímeros gelatina, maltodextrina, amido e aerosil serem biodegradáveis, baratos, atóxicos e sem restrições de uso, conferindo um produto de fácil obtenção;

3. PROCESSO DE OBTENÇÃO DE UMA FORMULAÇÃO INSETICIDA/ACARICIDA MICROENCAPSULADA POR SPRAY DRYER DE ANNONA SQUAMOSA E ANNONA MURICATA, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pela etapa “b” a secagem ser feita em aparelho de Spray dryer

que produz um composto uniforme com tamanho de partículas entre 0,48 a 80 µm e índice de polidispersidade variando de 5 a 7, livre de solvente e com boa solubilidade;

4. PROCESSO DE OBTENÇÃO DE UMA FORMULAÇÃO INSETICIDA/ACARICIDA MICROENCAPSULADA POR SPRAY DRYER DE ANNONA SQUAMOSA E ANNONA MURICATA, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pela etapa “c” por apresentar uma liberação lenta do princípio ativo pelo uso do polímero gelatina;

5. PROCESSO DE OBTENÇÃO DE UMA FORMULAÇÃO INSETICIDA/ACARICIDA MICROENCAPSULADA POR SPRAY DRYER DE ANNONA SQUAMOSA E ANNONA MURICATA, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pela etapa “d” por apresentar boa solubilidade dos extratos orgânicos de sementes pinha e de graviola após o processo de formulação do produto encapsulado;

6. PROCESSO DE OBTENÇÃO DE UMA FORMULAÇÃO INSETICIDA/ACARICIDA MICROENCAPSULADA POR SPRAY DRYER DE ANNONA SQUAMOSA E ANNONA MURICATA, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pela etapa “e” pela liberação lenta das microcápsulas do produto formulado, oferecendo uma boa cobertura de aplicação e ação contínua dos princípios ativos das espécies de Annonaceae, o produto apresenta um efeito residual acima de 15 dias.

DESENHOS

FIG.01

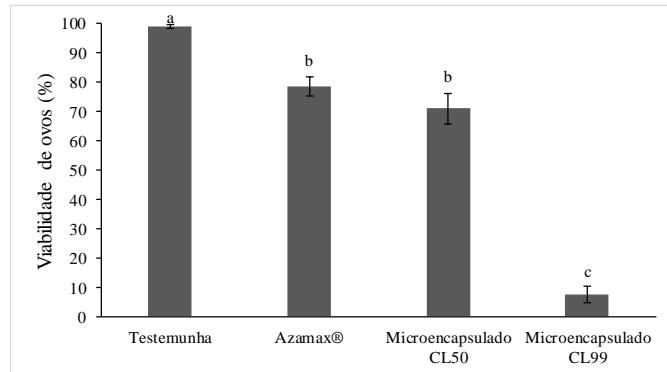


FIG.02

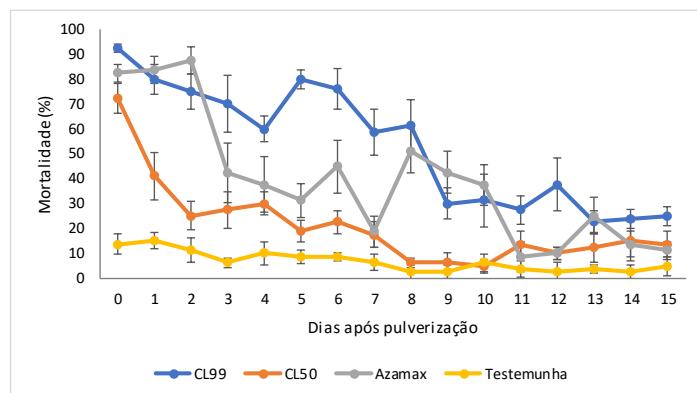


FIG.03

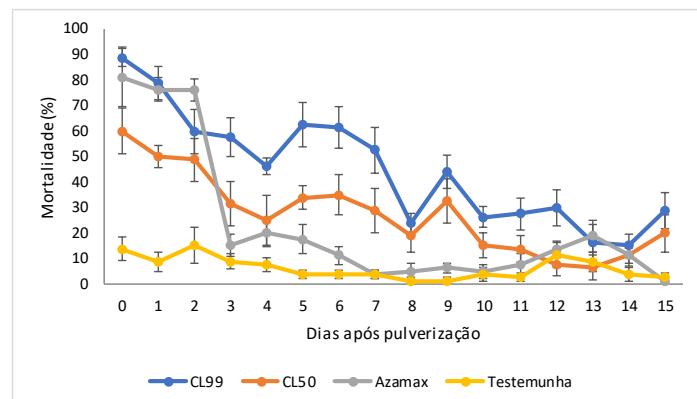


FIG.04

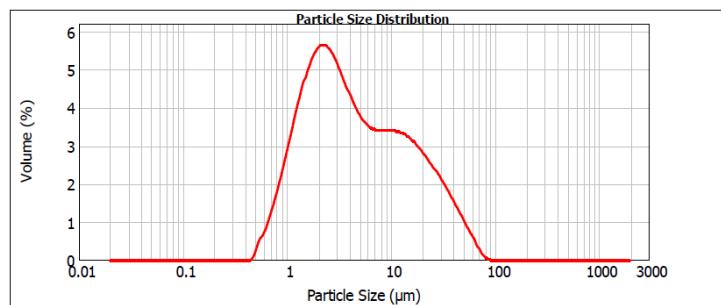


FIG. 05

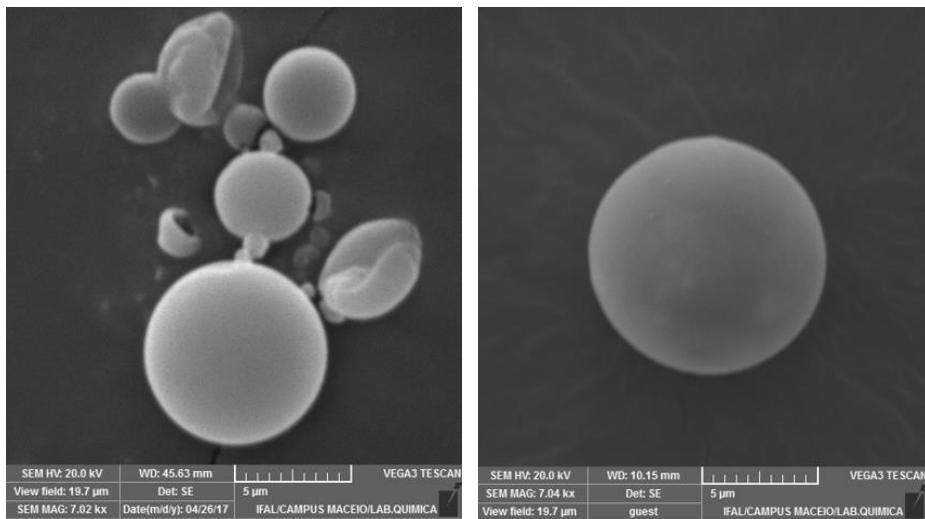


FIG.06

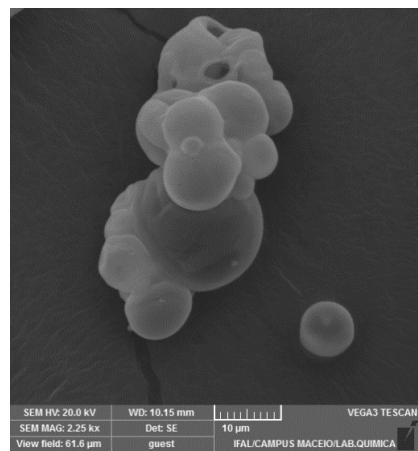


FIG.07

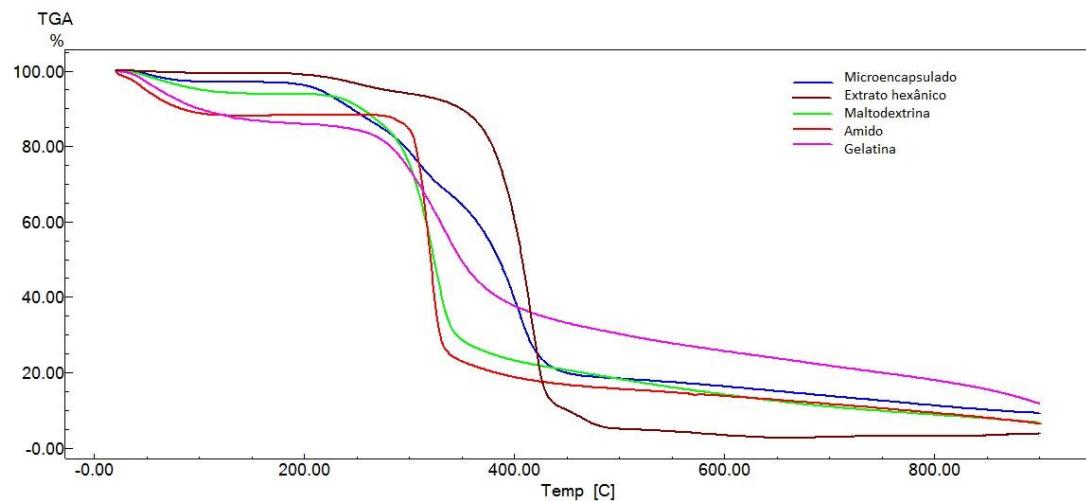


FIG.08

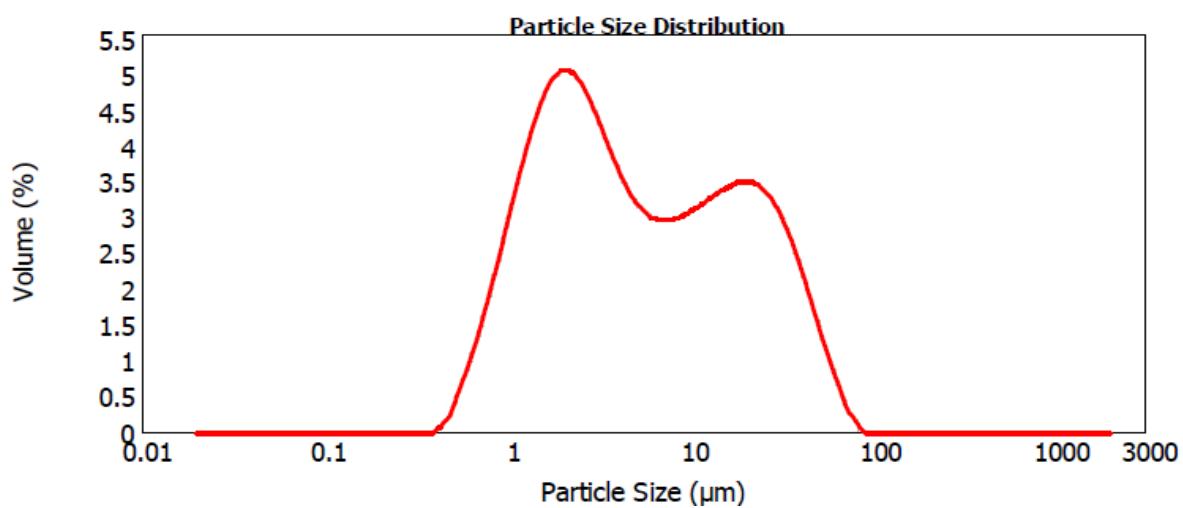


FIG.09

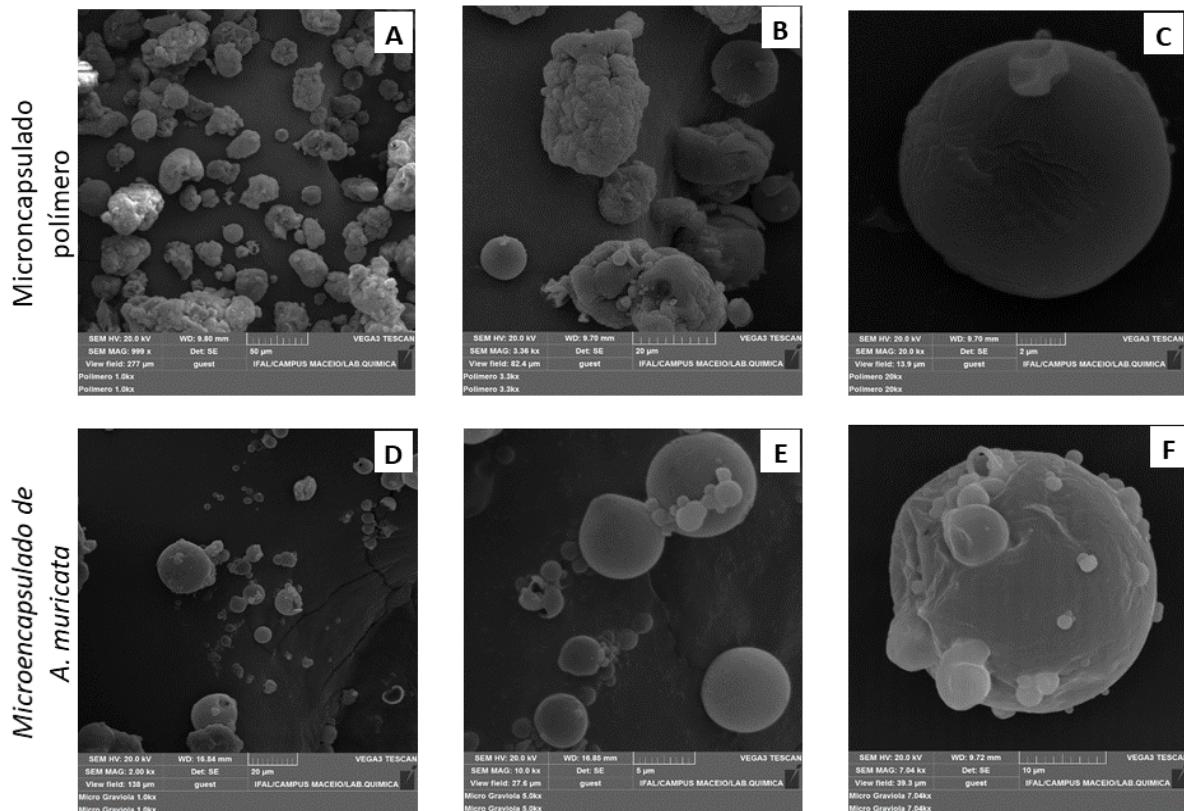


FIG.10

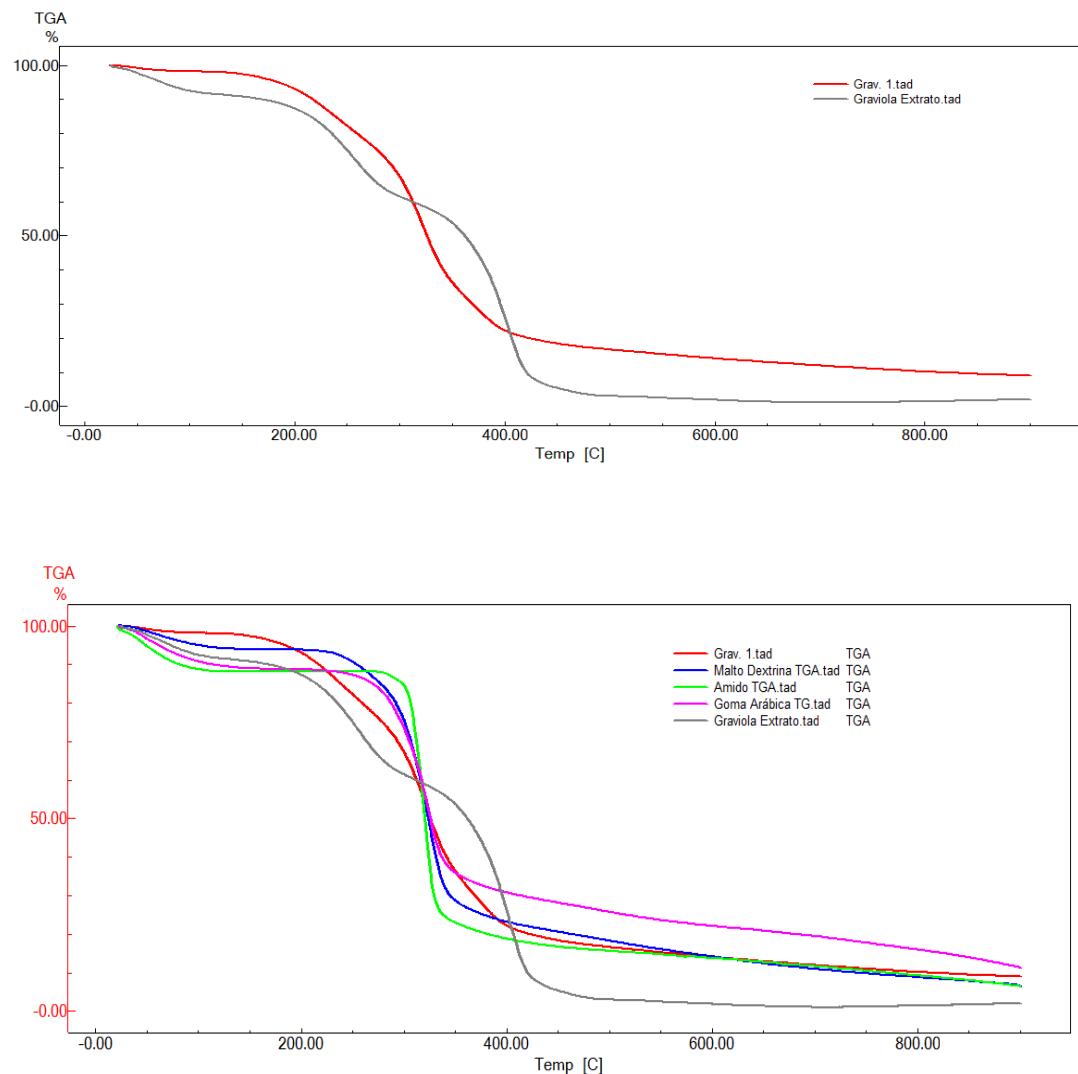


FIG.11

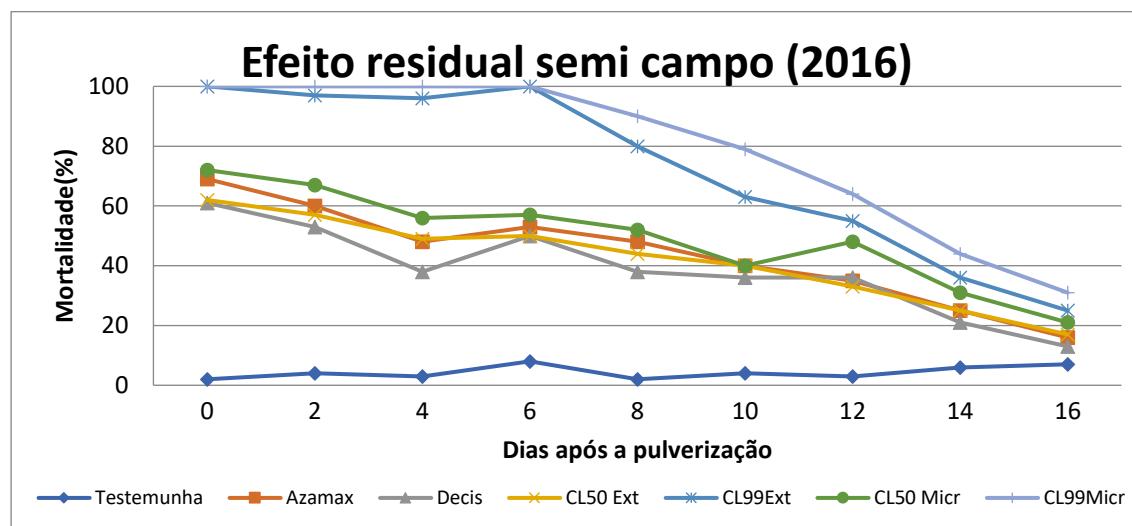


FIG.12

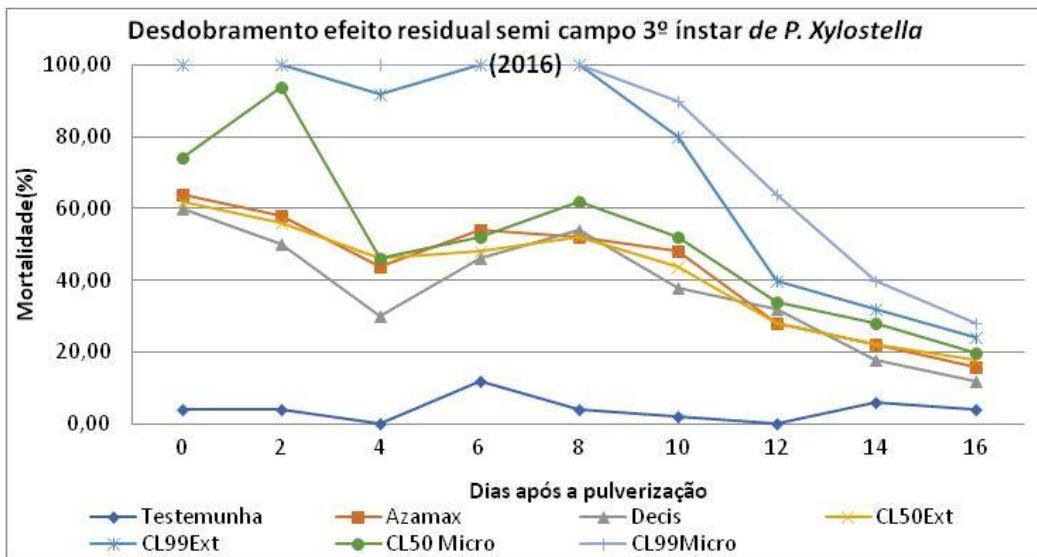
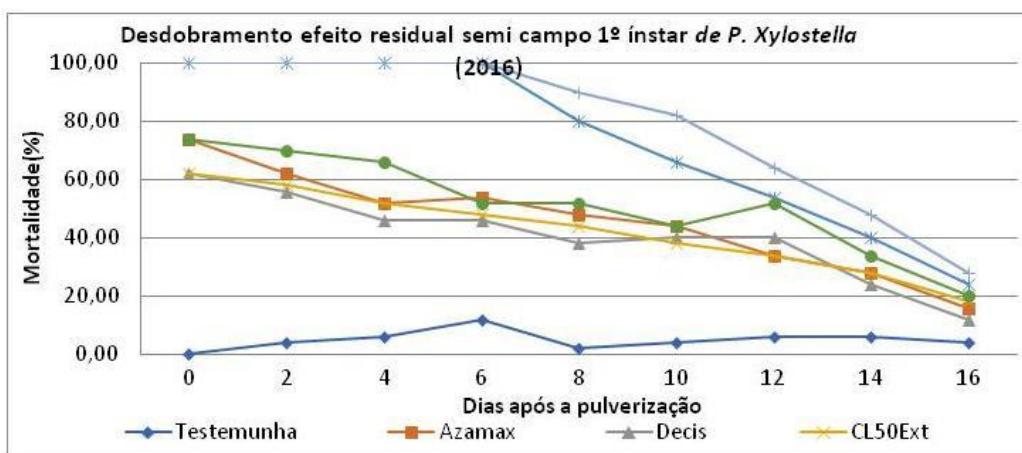


FIG.13

