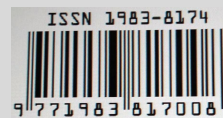


# VII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA – XXV

## Semana de Iniciação Científica da URCA e VIII Semana de Extensão da URCA

12 a 16 de dezembro de 2022

Tema: “DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA, INDEPENDÊNCIA E SOBERANIA NACIONAL”



### DESENVOLVIMENTO DE NANOCÁPSULAS DE PLGA CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE *Croton zehntneri* PARA CONTROLE DE PRAGAS DO MILHO (*Zea mays*)

José Jonas Ferreira Viturino<sup>1</sup>, Cicera Janaine Camilo<sup>2</sup>, Carla de Fatima Alves Nonato<sup>3</sup>, Débora Odília Duarte Leite<sup>4</sup>, Natália Kelly Gomes de Carvalho<sup>5</sup>, Johnatan Wellisson da Silva Mendes<sup>6</sup>, Joice Barbosa do Nascimento<sup>7</sup>, Emanuely Gonçalves dos Santos<sup>8</sup> e José Galberto Martins da Costa<sup>9</sup>

#### Resumo:

O uso de pesticidas sintéticos é considerado um fator importante para manutenção e aumento da produção agrícola mundial, contudo, o seu uso de forma indiscriminada tem promovido impactos negativos ao meio ambiente e ao homem. No Brasil, a produção do milho (*Zea mays* L.) é considerada de grande importância socioeconômica para a região Nordeste, especialmente para o Estado do Ceará. Porém, podem ser observadas algumas limitações na produção desse cereal, entre estas destacam-se o recorrente ataque de pragas como a lagarta-de-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) e fungos como o *Aspergillus flavus* e *Fusarium verticillioides*. Considerando esta problemática, o uso de produtos naturais como bioinseticidas tem sido uma alternativa viável para o controle de pragas que afetam diferentes culturas.

**Palavras-chave:** nanoformulação, *Croton zehntneri*, óleo essencial, praguicida, fungicida, controle alternativo.

#### 1. Introdução

O uso indiscriminado de pesticidas sintéticos para manutenção da produção agrícola traz diversos impactos negativos ao meio ambiente e ao homem. Dentre estes, está a contaminação de reservatórios aquáticos e a toxicidade direta em humanos e animais. No Brasil o milho (*Zea mays* L.) é considerado de grande importância socioeconômica para a região Nordeste, especialmente para o Estado do Ceará. No entanto, existem algumas limitações para produção desse cereal dentre estes, está o ataque recorrente de pragas como a lagarta-de-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) e fungos como o *Aspergillus flavus* e *Fusarium verticillioides* (SULONG et al., 2019).

Os óleos essenciais estão envolvidos em diferentes mecanismos de defesa contra insetos e microrganismos, sendo considerados boa alternativa para o

<sup>1</sup> Universidade Regional do Cariri, e-mail: [jonas.ferreira@urca.br](mailto:jonas.ferreira@urca.br)

<sup>2</sup> Universidade Federal Rural do Pernambuco, e-mail: [janainecamilo@hotmail.com](mailto:janainecamilo@hotmail.com)

<sup>3</sup> Universidade Regional do Cariri, e-mail: [carlaalvesbio@hotmail.com](mailto:carlaalvesbio@hotmail.com)

<sup>4</sup> Universidade Regional do Cariri, e-mail: [biodeboraleite@yahoo.com.br](mailto:biodeboraleite@yahoo.com.br)

<sup>5</sup> Universidade Regional do Cariri, e-mail: [nataliakellygc@gmail.com](mailto:nataliakellygc@gmail.com)

<sup>6</sup> Universidade Regional do Cariri, e-mail: [johnatansmendes@outlook.com](mailto:johnatansmendes@outlook.com)

<sup>7</sup> Universidade Regional do Cariri, e-mail: [joicenascimento2010@live.com](mailto:joicenascimento2010@live.com)

<sup>8</sup> Universidade Regional do Cariri, e-mail: [emanuely.goncalves@urca.br](mailto:emanuely.goncalves@urca.br)

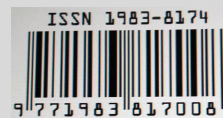
<sup>9</sup> Universidade Regional do Cariri, e-mail: [galberto.martins@gmail.com](mailto:galberto.martins@gmail.com)

# VII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA – XXV

## Semana de Iniciação Científica da URCA e VIII Semana de Extensão da URCA

12 a 16 de dezembro de 2022

Tema: “DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA, INDEPENDÊNCIA E SOBERANIA NACIONAL”



desenvolvimento de biopesticidas (RIBEIRO et al., 2020). O interesse no encapsulamento de óleos essenciais em sistemas nanométricos está relacionado a capacidade de que essas estruturas têm de proporcionar maior estabilidade dos compostos presentes nesses produtos, além de evitar a volatilização, melhorar a biodisponibilidade e promover a entrega controlada (MATOS et al., 2019).

A espécie *Croton zehntneri* (Euphorbiaceae) é uma planta aromática nativa do Nordeste brasileiro. Seu óleo essencial apresenta atividade larvica, antimicrobiana, anticâncer entre outras. Na sua composição está presente o estragol, que possui atividade fumigante, antifúngica e antimicrobiana (ANDRADE et al., 2015; WANG et al., 2021). Assim, esse projeto tem como perspectiva o desenvolvimento de nanocápsulas ricas em óleo essencial de *Croton zehntneri*, capaz de controlar pragas que afetam diretamente a produção e o armazenamento do milho.

## 2. Objetivo

### 2.1 Objetivo geral

- Desenvolver nanocápsulas de PLGA ricas em óleo essencial de *Croton zehntneri* para o combate à pragas que afetam a cultura e armazenamento do milho.

### 2.2 Objetivos específicos

- Obter e determinar a composição química do óleo essencial de *Croton zehntneri* por técnicas de cromatografia gasosa GC/MS e GC/FID;
- Desenvolver nanocápsulas de PLGA contendo diferentes concentrações do óleo essencial de *Croton zehntneri*;
- Avaliar a capacidade inseticida das nanocápsulas ricas em óleo essencial frente a *Spodoptera frugiperda*;
- Avaliar a capacidade fungicida, fungistática e de liberação de micotoxinas das nanocápsulas ricas em óleo essencial frente aos fungos *Aspergillus flavus* e *Fusarium verticillioides*;
- Determinar a fitototoxicidade das nanocápsulas em relação ao desenvolvimento do milho;
- Elaboração e publicação de artigos científicos.

## 3. Metodologia

### 3.1 Coleta, obtenção e análise química do óleo essencial

O material vegetal será coletado no horto de plantas medicinais da Universidade Regional do Cariri-Urca com coordenadas latitudinais 7°14'20.1" S e longitudinais de 39°24'53.1 W, e será identificado de acordo com as técnicas convencionais de herborização e, posteriormente, incorporado ao Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima da Universidade Regional do Cariri– URCA.

O óleo essencial será obtido das folhas de *C. zehntneri* por hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger por um período de 4 h. A análise química será por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (GC/MS). Os

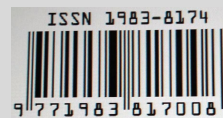
# VII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA – XXV

## Semana

## de Iniciação Científica da URCA e VIII Semana de Extensão da URCA

12 a 16 de dezembro de 2022

Tema: “DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA, INDEPENDÊNCIA E SOBERANIA NACIONAL”



constituintes serão identificados por pesquisa de computador usando bibliotecas digitais de dados espectrais de massa (NIST 08) e por comparação de seus espectros de massa autênticos (ADAMS,2001).

### 3.2 Preparação das nanocápsulas poliméricas

As nanocápsulas (NC) serão preparadas pelo método de deposição interfacial de polímero pré-formado (FESSI et al. 1989), a partir da mistura de duas fases. Uma mistura orgânica contendo o polímero poli (ácido láctico-co-ácido glicólico) PLGA 50:50 (0,150mg), fosfatidilcolina de soja (0,150mg), Span 80 (0,100mg) e óleo essencial nas concentrações de 0,5, 1 e 2%, solubilizados em acetona (15ml) será introduzida lentamente na fase aquosa constituída de Tampão Fosfato pH 7,4 (30ml) e Tween 80 (0,150 mg) sob agitação magnética por 10 min. Na sequência o solvente orgânico deve ser eliminado em evaporador rotativo a 60 rpm em 30-35 °C (FLORES et al., 2011). Nanocápsulas vazias serão preparadas seguindo o mesmo método, sem a incorporação do óleo essencial (NCV) e utilizadas como controle negativo.

### 3.3 Ensaio com *S. frugiperda*

Neste ensaio, folhas de milho serão selecionadas, lavadas com água destilada e sequencialmente serão pulverizadas dos dois lados com concentrações variadas das NCs e água destilada como controle. Cada folha será transferida para placas de acrílico (6,5 cm x 2 cm) e infestada com 10 lagartas recém-eclodidas e pesadas, as placas serão cobertas com plástico filme para impedir a fuga das lagartas. Cada tratamento será realizado com 50 lagartas, sendo colocados 10 indivíduos por folha. Todos os ensaios serão realizados em triplicata com o óleo essencial isolado e as nanocápsulas contendo diferentes concentrações do óleo. Os parâmetros avaliados serão: mortalidade, estrutura e peso das larvas nos tempos de 24 h, 48 h e 72 h. (SOUZA, 2009).

### 3.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Para determinação da CIM das NCs e do óleo essencial isolado, será utilizada a técnica de microdiluição em caldo. As diluições do teste serão preparadas contendo 1350 µL de CSD (Sabouraud Dextrose Broth) duplamente concentrado e 150 µL do inóculo contendo os fungos *A. flavus* e *F. verticillioides* (correspondente a 10% da solução total). As microdiluições serão realizadas em quadruplicata. As placas serão levadas à estufa por 24 horas a 37 ° C (JAVADPOUR, et al., 1996). Após serão realizadas leituras espectrofotométricas no aparelho de ELISA com comprimento de onda de 630 nm e os resultados serão utilizados para obtenção de uma curva de viabilidade celular e IC50.

### 3.5 Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM) e análise de liberação de micotoxinas

Para a determinação da concentração fungicida mínima será utilizada a metodologia proposta por Ernest et al (1999), com modificações. A partir do teste da CIM será homogeneizado o meio contido em cada poço com haste

# VII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA – XXV

## Semana de Iniciação Científica da URCA e VIII Semana de Extensão da URCA

12 a 16 de dezembro de 2022

Tema: “DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA, INDEPENDÊNCIA E SOBERANIA NACIONAL”



estéril e subcultivado em placa de Petri contendo meio de cultura ASD (Sabourand Dextrose Ágar). As placas serão incubadas a 37° C por 24 horas onde será verificado o crescimento ou supressão de colônias fúngicas.

As análises de micotoxinas serão conduzidas por métodos eletroanalíticos desenvolvidos em potenciostato/galvanostato (Autolab PGSTAT 128N/FRA32M, Metrohm-Autolab), conectado a uma célula eletroquímica equipada com um sistema de três eletrodos: (i) sensor eletroquímico de trabalho, (ii) eletrodo auxiliar de platina e (iii) Ag/AgCl/KCl (3,0 mol L<sup>-1</sup>) como eletrodo de referência. As medidas serão feitas por técnicas voltamétricas e cronoamperométricas, que permitem obter informações mecanísticas, cinéticas e termodinâmicas acerca dos eventos ocorridos na interface eletrodo/solução, após a otimização dos parâmetros experimentais e operacionais que influenciam a performance do método. Todos os ensaios serão feitos em triplicata e apresentados como média aritméticas das medidas.

### 3.6 Análise fitotóxica das nanocápsulas

Para cada concentração do produto, serão usadas 4 plantas de milho em um experimento inteiramente casualizado com 6 tratamentos (3 concentrações da nanocápsula contendo o óleo essencial e o óleo isolado) e 3 repetições, totalizando 12 plantas por tratamento. As aplicações dos produtos serão feitas a partir da terceira semana de crescimento (período vegetativo do milho), sendo realizada a pulverização 2 vezes ao dia a cada 72 horas durante 15 dias, utilizando um vidro de spray previamente testado para o trabalho.

As avaliações de fitotoxicidade serão feitas a cada 3 dias após a aplicação dos produtos, no qual serão avaliados os parâmetros, altura da planta e dano, sendo aplicado as seguintes notas:

Nota 0 - Planta como um todo (ramos e folhas) sem nenhum sintoma de dano, manchas, queimaduras ou pontos amarelos.

Nota 1 – Planta com, no máximo, dois pontos amarelos e sem sintoma aparente de manchas ou queima nas folhas

Nota 2 – Planta com folhas com bordas queimadas e mais de dois pontos amarelos sobre as folhas.

Nota 3 – Planta com folhas manchadas e de bordas queimadas e já com um sintoma de morte aparente.

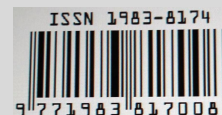
## 4. Resultados

O projeto tem como perspectiva a avaliação da capacidade inseticida de um produto natural, com características químicas elucidadas, alto grau de estabilidade, determinação de seu perfil fitotóxico e com potencial para o desenvolvimento de um bioproduto. A formulação em nanoestrutura obtida visa viabilizar a utilização do óleo essencial por diferentes veículos, o que permitirá um maior espectro de ação do bioproduto. Outro benefício atrelado a esta formulação é a não acumulação do fitoinseticida no meio ambiente, por se tratar de um produto natural, biodegradável e não tóxico. É importante destacar

**VII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA – XXV**  
**Semana**  
**de Iniciação Científica da URCA**  
**e VIII Semana de Extensão da URCA**

12 a 16 de dezembro de 2022

Tema: “DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA, INDEPENDÊNCIA E SOBERANIA NACIONAL”



que a elaboração das nanocápsulas terá o menor custo possível, sendo totalmente viável a sua produção em larga escala.

### **5. Conclusão**

Espera-se que a realização desta pesquisa possa contribuir com o aumento da produtividade agrícola da região, reduzir o uso de pesticidas sintéticos, proteção do meio ambiente, além da valorização da biodiversidade brasileira.

### **6. Referências**

- ADAMS, R.P., 2001. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Quadrupole Mass Spectroscopy. **Allured Pub. Corp**, Illinois.
- ANDRADE, T. C. B.; LIMA, S. G.; FREITAS, R. M.; ROCHA, M. S.; ISLAM, T.; SILVA, T. G.; MILITÃO, G. C. G. Isolation, characterization and evaluation of antimicrobial and cytotoxic activity of estragole, obtained from the essential oil of croton zehntneri (euphorbiaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. v. 87, n. 1, p.173-182.
- ERNST, E. J.; KLEPSE, M. E.; ERNST, M. E.; MESSER, S. A.; PFALLER, M. A. In vitro pharmacodynamic properties of MK-0991 determined by time-kill methods. **Diagn microbiol infect dis**. v. 33, p. 75-80, 1999.
- FLORES, F. C.; RIBEIRO, R. F.; OURIQUE, A. F.; ROLIM, C. M. B.; SILVA, C. B.; POHLMANN, A. R.; BECK, R. C. R.; GUTERRES, S. S. Nanostructured systems containing an essential oil: protection against volatilization. **Química Nova**. v. 34, n. 6, p. 968-972, 2011.
- JAVADPOUR, M. M.; Juban, M. M.; Lo, W. C.; Bishop, S. M.; Alberty, J. B.; Cowell S. M.; Becker, C. L.; McLaughlin, M. L. De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. **Journal of Medicinal Chemistry**. v.39, p. 107–3113, 1996.
- MATOS, S. P.; TEIXEIRA, H. F.; LIMA, A. A. N.; VEIGA-JUNIOR, V. F.; KOESTER, L. S. Essential Oils and Isolated Terpenes in Nanosystems Designed for Topical Administration: A Review. **Biomolecules**. v. 9, n. 138, p. 1-19, 2019.
- RIBEIRO, I. A. T. A.; SILVA, R.; SILVA, A. G.; MILET-PINHEIRO, P.; PAIVA, P. M.G.; NAVARRO, D. M. A. F.; SILVA, M. V.; NAPOLEÃO, T. H.; CORREIA, M. T. S. Chemical characterization and insecticidal effect against Sitophilus zeamais (maize weevil) of essential oil from Croton rudolphianus leaves. **Crop Protection**. v. 129, p.105043, 2020.
- SULONG, Y.; ZAKARIA, A. J.; MOHAMED, S.; SAJILI, M. H.; NGAH, N. Survey on Pest and Disease of Corn (Zea Mays Linn) grown at BRIS Soil Area. **Journal of Agrobiotechnology**. v.10; n.1S; p. 75-87, 2019.
- WANG, Z.; XIE, Y.; SABIER, M.; ZHANG, T.; DENG, J.; SONG, X.; LIAO, Z.; LI, Q.; YANG, S.; CAO, Y.; LIU, X.; ZHOU, G. Trans-anethole is a potent toxic fumigant that partially inhibits rusty grain beetle (Cryptolestes ferrugineus) acetylcholinesterase activity. **Industrial Crops & Products**. v. 161, p. 113207, 2021.