

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

NANOENCAPSULAMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS
FOLHAS E FRUTOS DE *Xylopiya aromatica* Lamm. E SUA
ATIVIDADE FRENTE A OVIPOSIÇÃO DE *Bemisia*
tabaci(Genn.) (HEMIPTERA: ALEROYDIDAE) BIÓTIPO B

Autor: Marília Cristina Peres
Orientador: Dr.^a Cristiane de Melo Cazal

RIO VERDE – GO
Fevereiro -2015

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

NANOENCAPSULAMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS
FOLHAS E FRUTOS DE *Xylopia aromatica* Lamm. E SUA
ATIVIDADE FRENTE A OVIPOSIÇÃO DE *Bemisia tabaci*
(Genn.) (HEMIPTERA: ALEROYDIDAE) BIÓTIPO B

Autor: Marília Cristina Peres
Orientador: Dr.^a Cristiane de Melo Cazal

Dissertação apresentada como parte das
exigências Para obtenção do título em
MESTRE em Agroquímica, no Programa de
Pós-Graduação em Agroquímica do Instituto
Federal de Educação, Ciência e Tecnologia
Goiano – Campus Rio Verde – Área de
Concentração Química Orgânica

RIO VERDE – GO
Fevereiro -2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).
Josefa de Paula - CRB1/ 2968

Peres, Marília Cristina

P434n Nanoencapsulamento do óleo essencial das folhas e frutos de *Xylopia aromatica* Lamm. e sua atividade frente a oviposição de *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera: Aleroydidae) biótipo B / Marília Cristina Peres. --Rio Verde. – 2015.

76f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, 2015.

Orientador: Dra. Cristiane de Melo Cazal.

Moscas brancas. 2. Óleo essencial. 3. Produtos naturais. I. Título. II. Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde.

CDD:632.96

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA

NANOENCAPSULAMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS
FOLHAS E FRUTOS DE *Xylopia aromatica* Lamm. E SUA
ATIVIDADE FRENTE A OVIPOSIÇÃO DE *Bemisia tabaci*
(Genn.) (HEMIPTERA: ALEROYDIDAE) BIÓTIPO B

Autor: Marília Cristina Peres
Orientador: Dr.^a Cristiane de Melo Cazal

TITULAÇÃO: Mestre em Agroquímica

APROVADA em 27 de fevereiro de 2015

Prof.^a Dr.^a Liliane Nebo
Avaliadora externa
UFG – *campus* Jataí

Prof.^a Dr.^a Daline Benites Bottega
Avaliadora interna
IF Goiano/Iporá

Prof.^a Dr.^a Cristiane de Melo Cazal
Presidente da Banca (Orientadora)
IF Goiano/ Iporá

*A Deus que sempre caminhou comigo;
Aos meus filhos, Larissa e Bruno, por serem a minha melhor
parte... e por toda a minha ausência,*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me deu forças para caminhar e seguir em frente, por me proteger nessa trajetória em que inúmeras viagens se fizeram necessárias na busca dos meus objetivos. Agradeço-Lhe, ainda, por colocar em meu caminho anjos para segurarem em minha mão, todas as vezes que estremei.

Ao IF Goiano campus Rio Verde, pela possibilidade de realização deste curso e ao campus Iporá, pela realização da parte prática em seus laboratórios.

A Universidade Federal de São Carlos e Universidade Federal de Goiás, pela realização das análises de cromatografia gasosa com espectrometria de massas e análises de potencial zeta, diâmetro de partículas e PDI, respectivamente.

Aos meus pais, José Ribamar e Maria Amujaci, de vocês recebi o dom mais precioso do universo: a vida. Só por isso seria infinitamente grata. Mas, vocês não se contentaram em me presentear apenas com ela. Revestiram minha existência de amor, carinho e dedicação incondicionais. Abriram as portas do meu futuro iluminando meu caminho com a luz mais brilhante que puderam encontrar: o estudo. Sacrificaram seus sonhos em favor dos meus, não foram apenas pais, mas, amigos e companheiros, mesmo nas horas em que meus ideais pareciam distantes e inatingíveis e o estudo um fardo pesado demais diante dos meus filhos pequenos... mas vocês tornaram isso possível. A garra e a submissão de vocês em detrimento aos meus sonhos me incentivaram a prosseguir. Muito obrigada!

José Flávio, meu irmão, meu amigo... não tenho palavras para expressar o quanto você é importante para mim... e nunca poderei agradecer tudo que tem feito!!! muito obrigada por proporcionar a realização desse sonho.

Ao Aparecido Pedro, por estar ao meu lado nos momentos mais difíceis, aceitando minha ausência mesmo quando presente e por lutar ao meu lado por dias melhores.

A minha querida orientadora, exemplo de profissional, pela confiança, paciência, companheirismo, dedicação e principalmente por ter me aceitado como aluna, mesmo sabendo que meu bebê iria nascer durante o mestrado, muito obrigada!

A todos os professores do Programa de pós-graduação em Agroquímica, não teria acontecido se não fosse por vocês;

A minha amiga Silvânia, pelas longas conversas durante as viagens para espantar o sono e que nas nossas horas de descanso em Rio Verde me ajudou com o pequeno Bruno, aguentando choros e fraldas sujas;

A Marcela, pela amizade já de longa data e principalmente por toda a ajuda;

Aos meus colegas da primeira e segunda turma do mestrado em Agroquímica por aceitar e aguentar meu filho pequeno ir para a sala de aula comigo;

As queridas companheiras de Laboratório de Química Orgânica, principalmente à Géssica Carla e Lidiane, vocês foram fundamentais para essa realização;

Aos técnicos Gabriel, João Wilson e Wesley, pelo auxílio nas análises;

A Pâmella, que de todas as formas tentava tornar as exigências burocráticas do programa o mais simples possível;

Inúmeras são as pessoas que me ajudaram nessa jornada... para que eu pudesse ter tranquilidade para estudar, viajar, ir ao laboratório tive a ajuda de vários anjos que cuidaram de meus filhos por mim... não caberia aqui os agradecimentos à vocês...

Agradeço a todas as dificuldades que enfrentei. Elas foram adversárias dignas e tornaram minhas vitórias muito mais saborosas.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Marília Cristina Peres - filha de José Ribamar Peres e Maria Amujaci Peres, nascida a 4 de janeiro de 1984 em Iporá – Goiás. Bacharel e Licenciada em Biologia pela Universidade Católica de Goiás em 2005. Especializada em Perícia e Auditoria Ambiental pela Pontífice Universidade Católica de Goiás em 2006, especializada em Gestão e Conservação do Meio Ambiente pela Faculdade de Montes Belos em 2010.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABELAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS, SIGLAS E UNIDADES	xiv
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xviii
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	04
2.1 Biodiversidade brasileira	04
2.1.1. O Cerrado Brasileiro	05
2.2 Produtos naturais bioativos com ação inseticida	07
2.2.1 Óleos Essenciais	08
2.3. Da família Annonaceae a espécie <i>Xylopia aromatica</i>	10
2.3.1. Gênero <i>Xylopia</i>	11
2.3.2. <i>Xylopia aromatica</i>	12
2.4. <i>Bemisia tabaci</i>	14
2.4.1 Controle da <i>Bemisia tabaci</i>	17
2.5. Nanotecnologia	19
3. OBJETIVOS	21
4. METODOLOGIA	22

4.1. Coleta do material vegetal	22
4.2. Obtenção do óleo essencial	22
4.2.1. Otimização das condições de extração de óleo essencial	22
4.3. Análise química do óleo essencial	23
4.4. Quantificação do óleo essencial	23
4.4.1. Validação do método analítico	23
4.5. Preparo das nanopartículas	25
4.6. Caracterização das nanopartículas	28
4.6.1. Determinação da eficiência de encapsulação do óleo essencial	28
4.6.2. Determinação do pH	28
4.6.3. Determinação do Potencial Zeta das partículas	29
4.6.4. Determinação do diâmetro das partículas	29
4.6.5. Estudos de liberação gradual	29
4.6.6. Degradação acelerada pela luz UV	29
4.7. Ensaio Biológicos	30
4.7.1. Criação e Manutenção de <i>Bemisia tabaci</i>	30
4.7.2. Instalação dos experimentos	30
4.7.3. Teste de repelência dos óleos essenciais contra <i>B. tabaci</i> em feijoeiro	31
4.7.3.1. Teste de repelência com chance de escolha	31
4.7.3.2. Teste de repelência sem chance de escolha	31
4.7.4. Estatística	33
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1. Determinação do teor de óleo essencial	33
5.2. Análises químicas dos óleos essenciais	36
5.2.1. Composição química dos óleos essenciais	36
5.3. Quantificação do óleo essencial das folhas e frutos de <i>X. aromatica</i>	40

5.3.1. Validação do método analítico desenvolvido para a quantificação do óleo essencial das folhas de <i>X. aromatica</i>	40
5.3.2. Validação do método analítico desenvolvido para a quantificação do óleo essencial dos frutos de <i>X. aromatica</i>	42
5.4. Caracterização das Nanopartículas.....	44
5.4.1. Análise físico-química das nanopartículas.....	44
5.4.2. Liberação gradual <i>in vitro</i>	52
5.4.3. Degradação acelerada por UV.....	54
5.5. Ensaio Biológicos.....	56
6. CONCLUSÃO.....	63
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Fatores e níveis escolhidos para o planejamento fatorial 2^3 aplicado no preparo das nanopartículas poliméricas do óleo essencial dos frutos de <i>X. aromatica</i>	27
Tabela 2. Matriz do planejamento fatorial 2^3 aplicado no preparo das nanopartículas poliméricas do óleo essencial dos frutos de <i>X. aromatica</i>	27
Tabela 3. Formulação da nanoesfera do óleo essencial das folhas de <i>X. aromatica</i>	27
Tabela 4: Rendimento do óleo essencial obtido por hidrodestilação das folhas de <i>X. aromatica</i> com 4 h de extração.....	35
Tabela 5: Rendimento do óleo essencial obtido por hidrodestilação dos frutos de <i>X. aromatica</i> com 2 h de extração	35
Tabela 6. Composição química do óleo essencial das folhas de <i>X. aromatic</i>	38
Tabela 7. Composição química do óleo essencial dos frutos de <i>X. aromatica</i>	39
Tabela 8. Média das absorbâncias, precisão e exatidão obtidas na construção da curva de calibração por padronização externa.....	41
Tabela 9. Resultados de precisão obtidos pelo método desenvolvido.....	42
Tabela 10. Resultados de exatidão obtidos pelo método desenvolvido.	42
Tabela 11. Média das absorbâncias, precisão e exatidão obtidas na construção da curva de calibração por padronização externa.....	43
Tabela 12. Resultados de precisão obtidos pelo método desenvolvido.....	43
Tabela 13. Resultados de exatidão obtidos pelo método desenvolvido.....	44
Tabela 14. Resultados de pH, DP, PZ, PDI e EE(%) para as formulações de nanocápsulas (NC) e nanoesferas (NS) (\pm Desvio Padrão) do óleo essencial dos	45

frutos de <i>X. aromatica</i>	
Tabela 15. Resultados de pH, DP, PZ, PDI e EE(%) para a formulação nanoesfera (NS) (\pm Desvio Padrão) do óleo essencial das folhas de <i>X. aromatica</i>	52
Tabela 16. Média do número de ovos de <i>Bemisia tabaci</i> e eficiência de controle (E%) em razão da aplicação de diferentes concentrações dos óleos essenciais das folhas e dos frutos de <i>Xylopi aromatica</i>	58
Tabela 17. Média do número de ovos de <i>Bemisia tabaci</i> e eficiência de controle (E%) em razão da aplicação de diferentes concentrações de nanoesferas os óleos essenciais das folhas (NSfo) e dos frutos (NS2) de <i>Xylopi aromatica</i>	61

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Distribuição do Cerrado brasileiro.....	06
Figura 2. Árvore de <i>Xylopiã aromãtica</i>	12
Figura 3. Flores e frutos de <i>Xylopiã aromãtica</i>	13
Figura 4. Ovos e adultos de <i>Bemisia tabaci</i>	14
Figura 5. Ninfas de <i>Bemisia tabaci</i> . A – 1- Ninfas de 1º ínstar; 2- Ninfas de 2º ínstar; 3- Ninfas de quarto ínstar e 4- Pupa. B – Ninfa de 3º ínstar.....	16
Figura 6. Estrutura química de poli- ϵ -caprolactona (PCL).....	20
Figura 7. Esquema representando nanocápsulas (A) e nanoesferas (B).....	25
Figura 8. Esquema do método de nanoprecipitação na formação das nanopartículas	26
Figura 9. Gaiola de tecido <i>voil</i> em que foram conduzidos os testes	32
Figura 10. Teste sem escolha com <i>Bemisia tabaci</i> em plantas de <i>Phaseolus vulgaris</i>	33
Figura 11. Rendimento (%) de óleo essencial em função do tempo de hidrodestilação. A- Rendimento do óleo essencial das folhas de <i>X. aromãtica</i> ; B- Rendimento do óleo essencial dos frutos de <i>X. aromãtica</i>	34
Figura 12. Cromatograma obtido em CG-EM para óleo essencial das folhas de <i>Xylopiã aromãtica</i> . Condições: Gás de arraste Hélio (He); temperatura inicial de 60° C, a temperatura da coluna aumentou de 3° C/min até 280°.....	37
Figura 13. Ampliação da primeira parte do cromatograma obtido em CG-EM para óleo essencial das folhas de <i>Xylopiã aromãtica</i> com indicação dos picos referentes aos compostos majoritários. Condições: Gás de arraste Hélio (He); temperatura inicial de 60° C, a temperatura da coluna aumentou de 3° C/min até 280°.....	37

Figura 14. Ampliação da segunda parte do cromatograma obtido em CG-EM para óleo essencial das folhas de <i>Xylopia aromatica</i> com indicação dos picos referentes aos compostos majoritários. Condições: Gás de arraste Hélio (He); temperatura inicial de 60° C, a temperatura da coluna aumentou de 3° C/min até 280°.....	37
Figura 15. Cromatograma obtido em CG-EM para óleo essencial dos frutos de <i>Xylopia aromatica</i> . Condições: Gás de arraste Hélio (He); temperatura inicial de 60° C, a temperatura da coluna aumentou de 3° C/min até 280°.....	39
Figura 16. Espectros de varredura por espectroscopia UV/VIS dos óleos essenciais A- das folhas de <i>X. aromatica</i> ; B- dos frutos de <i>X. aromatica</i>	40
Figura 17. Curva de calibração do óleo essencial das folhas de <i>X. aromatica</i>	41
Figura 18. Curva de calibração do óleo essencial dos frutos de <i>X. aromatica</i>	43
Figura 19. Efeito dos fatores sobre o pH das nanopartículas de óleo essencial dos frutos de <i>X. aromatica</i>	46
Figura 20. Efeito dos fatores sobre o diâmetro de partículas das nanopartículas de óleo essencial dos frutos de <i>X. aromatica</i>	47
Figura 21. Efeito dos fatores sobre Potencial Zeta das nanopartículas de óleo essencial dos frutos de <i>X. aromatica</i>	48
Figura 22. Efeito dos fatores sobre o índice de polidispersão das nanopartículas de óleo essencial dos frutos de <i>X. aromatica</i>	49
Figura 23. Efeito dos fatores sobre a eficiência de encapsulação das nanopartículas de óleo essencial dos frutos de <i>X. aromatica</i>	50
Figura 24. Liberação gradual <i>in vitro</i> do óleo essencial das folhas de <i>X. aromatica</i> presente nas nanoesferas (NSfo).	52
Figura 25. Liberação gradual <i>in vitro</i> do óleo essencial dos frutos de <i>X. aromatica</i> presente nas nanoesferas (NS2).	52
Figura 26. Degradação do óleo essencial <i>in natura</i> (OE FL) e nanoesferas (NSfo) contendo óleo essencial das folhas de <i>X. aromatica</i> pela luz.....	54
Figura 27. Degradação do óleo essencial <i>in natura</i> (OE FT) e nanoesferas (NS2) contendo óleo essencial dos frutos de <i>X. aromatica</i> pela luz.....	54
Figura 28. Quantidade de ovos de <i>Bemisia tabaci</i> em relação aos tratamentos impostos aos feijoeiros com diferentes concentrações do óleo essencial <i>in natura</i> das folhas de <i>Xylopia aromatica</i> nos testes com e sem chance de escolha.....	55
Figura 29. Quantidade de ovos de <i>Bemisia tabaci</i> em relação aos tratamentos impostos aos feijoeiros com diferentes concentrações do óleo essencial <i>in natura</i>	56

dos frutos de *Xylopiya aromatica* nos testes com e sem chance de escolha.....

Figura 30. Quantidade de ovos de *Bemisia tabaci* em relação aos tratamentos impostos aos feijoeiros com diferentes concentrações da solução de nanoesferas contendo óleo essencial das folhas de *Xylopiya aromatica* nos testes com e sem chance de escolha..... 58

Figura 31. A – Secagem precoce ocasionada pelo óleo essencial *in natura* das folhas de *X. aromatica* na concentração de 2% após 48h após a aplicação. B – Planta de feijão tratada com nanoesferas de PCL contendo óleo essencial das folhas de *X. aromatica* na concentração 2% após 48h após a aplicação 59

Figura 32. A – Secagem precoce ocasionada pelo óleo essencial *in natura* das folhas de *X. aromatica* na concentração de 2% após 48h após a aplicação. B – Planta de feijão tratada com nanoesferas de PCL contendo óleo essencial das folhas de *X. aromatica* na concentração 2% após 48h após a aplicação..... 60

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS, SIGLAS E UNIDADES

μL	Microlitro
μm	Micrometro
CG-EM	Cromatografia Gasosa Acoplado a Espectrometria de Massas
DP	Diâmetro das partículas
E%	Eficiência de controle
e.V	Eletron Volt
EE	Eficiência de encapsulação
EHL	Equilíbrio hidrófilo-lipófilo
h	Hora
IE	Impacto eletrônico
IF	Instituto Federal
IK	Índice de Kovats
L	Litro
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
m	Metro
mg	Miligrama
min	Minutos
mL	Mililitro
mm	milimetro
mV	miliVolt
NC	Nanocápsula
nm	Nanômetro
NS	Nanoesfera

O.E.	Óleo essencial
PCL	Poli- ϵ -caprolactona
PDI	Índice de polidispersão
PZ	Potencial zeta
r.p.m.	Rotações por minuto
UV	Ultravioleta
UV-VIS	Ultravioleta Visível
v/v	Volume por volume
λ	Comprimento de Onda

RESUMO

PERES, MARÍLIA CRISTINA. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, fevereiro/2015. Nanoencapsulamento do óleo essencial das folhas e frutos de *Xylopia aromatica* Lamm. e sua atividade frente a oviposição de *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera - Aleroydidae) biótipo B. Orientador: Cristiane de Melo Casal. Co-orientador: Cássia Cristina Fernandes Alves.

A *Bemisia tabaci*, popularmente conhecida como mosca branca, é uma das pragas agrícolas de mais destaque na agricultura mundial devido a sua grande distribuição geográfica e também pela quantidade de problemas que ela provoca às lavouras. Responsáveis pela transmissão de diversos vírus, tais como o Vírus do Mosaico Dourado do Feijoeiro, essa praga chega a provocar danos de até 100% na produção agrícola. Além do mais, a mosca branca possui um pequeno ciclo de vida o que lhe permite uma grande adaptabilidade aos princípios ativos e o desenvolvimento de resistências, sendo utilizado muito agrotóxico no seu controle. Para diminuir os efeitos deletérios dos agrotóxicos, há uma crescente busca por produtos naturais com atividade inseticida. Adicionalmente os produtos naturais nanoencapsulados protegem o princípio ativo contra ações de degradações ambientais, além de diminuir as doses aplicadas. Neste contexto, esse trabalho visou o estudo da atividade inseticida apresentada pelos óleos essenciais *in natura* e nanoencapsulados das folhas e frutos da *Xylopia aromatica* frente à mosca branca em plantas de feijão. Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação em Clevenger tendo um rendimento médio de 0,05% e 0,8% para folhas e frutos respectivamente. As análises químicas revelaram os compostos majoritários como sendo γ -elemeno (38,7%), sabineno (21,46%), α -pineno (7,12%), β -pineno (6,70%) e limoneno (2,88%) para os óleos essenciais das folhas e o sabineno (69,7%) para os frutos. O método de nanoprecipitação de polímero pré-formado para obtenção das nanopartículas de PCL contendo os óleos essenciais se mostrou eficiente, apresentando uma eficiência de encapsulação com média de 95%, as análises do planejamento fatorial indicaram como melhor resposta as nanoesferas, sendo mais viável econômica e ambientalmente. Os testes de liberação *in vitro* demonstraram que com 72 horas de ensaio 75% e 81% do óleo essencial das nanoesferas das folhas e frutos, respectivamente de *X. aromatica* sofreu difusão. Nos estudos de degradação acelerada por UV, observa-se que as nanoesferas protegem consideravelmente o óleo essencial da degradação. Os testes biológicos mostraram que o óleo essencial *in natura* e nanoencapsulado induzem a diminuição da oviposição da *Bemisia tabaci* em feijoeiros

tanto no teste com escolha quanto no sem escolha, a medida que a concentração dos tratamentos aumentou, tendo nas mais altas concentrações até 98% de eficiência. Dessa forma, os resultados sugerem que os óleos essenciais *in natura* e nanoencapsulados das folhas e frutos da *X. aromatica* podem ser uma alternativa no controle de *Bemisia tabaci*, adicionalmente a utilização da nanotecnologia garante uma dispersão em meio aquoso, protegem contra degradação ambiental, além de prolongar o efeito do inseticida por meio da liberação gradual, ademais, pode garantir a ação em sítio ativo específico podendo assim diminuir o desenvolvimento de resistências.

PALAVRAS-CHAVE: moscas brancas, óleo essencial, produtos naturais, nanotecnologia.

ABSTRACT

PERES, MARÍLIA CRISTINA. Instituto Federal Goiano – Câmpus Rio Verde, fevereiro/2015. Nanoencapsulamento do óleo essencial das folhas e frutos de *Xylopia aromatica* Lamm. e sua atividade frente a oviposição de *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera - Aleroydidae) biótipo B. Orientador: Cristiane de Melo Casal. Co-orientador: Cássia Cristina Fernandes Alves.

Bemisia tabaci, popularly known as whitefly, is one of the most important agricultural pests worldwide due to its wide geographic distribution and the numerous problems it causes in crops. The whitefly is responsible for the transmission of several viruses, such as the bean golden mosaic virus, and can cause damage of up to 100% of the crop in agricultural production. Moreover, *B. tabaci* has a short life cycle, which allows it to have great adaptability to insecticide active ingredients and to develop resistance; thus, a high amount of insecticide is used to control this pest. To reduce the harmful effects of pesticides, there is increasing interest in natural products with insecticidal properties. Natural products that are nanoencapsulated protect the active ingredient against environmental degradation in addition to reducing the doses used. In this context, the current study aimed to evaluate the insecticidal activity of natural and nanoencapsulated essential oils extracted from leaves and fruits of *Xylopia aromatica* against whitefly in bean plants. The essential oils were extracted by hydrodistillation in a Clevenger apparatus, with average yields of 0.05% and 0.8% for leaves and fruits, respectively. According to the chemical analysis, the major compounds of the leaf essential oils were γ -elemene (38.7%), sabinene (21.46%), α -pinene (7.12%), β -pinene (6.70%) and limonene (2.88%), whereas the major compound of the fruit essential oils was sabinene (69.7%). The nanoprecipitation of a preformed polymer to obtain PCL nanoparticles containing essential oils proved to be effective, with a mean encapsulation efficiency of 95%. The factorial planning analysis indicated the nanospheres as the best option because they were more economically and environmentally viable. The *in vitro* release tests showed that after 72 h, 75% and 81% of the essential oils of *X. aromatica* leaves and fruits, respectively, diffused. In studies of accelerated degradation caused by UV light, it was observed that the nanospheres substantially protected the essential oil from degradation. The bioassays showed that natural and nanoencapsulated essential oils reduced *B. tabaci* oviposition in bean plants both in the free-choice and the no-choice tests as the concentrations increased. The higher concentrations had up to 98% efficacy. Thus, the results suggest that both natural and nanoencapsulated essential oils from *X.*

aromatica leaves and fruits can be used as an alternative for *B. tabaci* control. Additionally, nanotechnology ensures dispersion in an aqueous medium, protects against environmental degradation, prolongs the insecticidal effect through gradual release and may guarantee insecticide activity at a specific active site, thus reducing the development of resistance.

Keywords: whitefly, essential oil, natural products, nanotechnology

1. INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa um lugar de destaque no cenário mundial no que se refere à produção agrícola, sendo, portanto o controle de pragas exóticas e nativas um desafio que se tem agravado ao longo dos últimos anos (ROEL, 2001). O aumento indiscriminado do desmatamento e consequente desaparecimento dos predadores naturais desta entomofauna, juntamente com a grande explosão demográfica da população humana fizeram surgir uma competição por território e alimento entre o homem e o inseto (VIEGAS JR, 2003; MARANGONI *et al.* 2012).

Segundo IBGE (2014), no ano de 2014 foram plantados no Brasil 56,8 milhões de hectares, que proporcionou a safra em torno dos 192,3 milhões de toneladas de grãos. Devido a essa realidade, a grande produtividade agrícola brasileira está aliada ao uso de defensivos agrícolas para o controle de pragas (insetos e doenças) e a cada ano há aumento considerável na quantidade de agrotóxicos lançados no ambiente. Segundo SINDIVEG (2014), no ano de 2014 o valor gasto com agrotóxicos deve ser 6% maior que 2013, podendo atingir mais de US\$12 bilhões.

A ampla utilização destes produtos, o desconhecimento dos riscos associados ao seu uso, consequente desrespeito às normas de segurança e a fácil aquisição no mercado, aliados aos problemas sociais encontrados no meio rural, constituem importantes causas que levam ao alto grau de contaminação da água, solo, ar, fauna e flora (OLIVEIRA-SILVA *et al.*, 2000). A esses fatores se soma a falta de fiscalização e assistência técnica ao homem do campo, consolidando assim um quadro de impacto ambiental decorrente do uso indiscriminado de agrotóxico (MOREIRA *et al.*, 2002).

Mesmo sendo nocivo, tanto ao homem quanto ao meio ambiente, a utilização dos agrotóxicos ainda é uma prática muito comum na agricultura. E o contato direto com esses produtos desde sua fabricação e aplicação, até mesmo o consumo dos

alimentos oferece risco de intoxicação, que dependendo do princípio ativo utilizado pode ser até fatal (PRIMEL *et al.*, 2005).

As grandes quantidades de agrotóxico aplicado para compensar as perdas naturais (tais como lixiviação, evaporação, degradação entre outras) aumentam ainda mais a poluição ocasionada por estes produtos que possuem alto grau de toxicidade (PRIMEL *et al.*, 1995). Todos esses fatores põem em risco a saúde de produtores e consumidores e ainda favorece a seleção de linhagens de pragas e patógenos mais resistentes além de afetar a entomofauna benéfica, os inimigos naturais (que faria um controle natural da praga) e dos polinizadores (BEZERRA, 2009).

Dentre as pragas que desenvolvem resistência pelo uso indiscriminado destes defensivos, destaca-se a *Bemisia tabaci* que atualmente está disseminada em todas as regiões do Brasil e ocasiona perdas na produção agrícola que vão de 30 a 100% (OLIVEIRA & FARIA, 2000). Uma das causas da grande área de proliferação da *Bemisia tabaci* e alta infestação são as grandes lavouras, principalmente as de soja, uma das hospedeiras referenciais do inseto, também contribuem para esse fato a ampliação da época de semeadura e os cultivos sucessivos e escalonados com o uso de pivô central (VIEIRA *et al.*, 1998).

Essa praga também conhecida como mosca-branca, destaca-se por ser um inseto cosmopolita, polífago que gera diversas desordens fitotóxicas ocasionadas pela sucção da seiva e ainda transmite o Begomovírus inoculado à planta no momento da sucção (ANDERSON, 1993). Estas desordens resultam em graves problemas para a agricultura principalmente aquela de valor econômico, como ocorre com a cultura de grãos, destacando-se o feijão.

O feijão é uma das principais fontes proteicas da dieta do brasileiro, e faz do Brasil um dos maiores produtores e consumidores de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) (GUSMAN-MALDONADO *et al.*, 1996; JANINI. *et al.*, 2011). O feijão é uma cultura tradicional que está tomando cada vez mais espaço no agronegócio brasileiro, e, já é produzido em quase 100% do território nacional. Em 2013, somente no Centro-Oeste foram colhidas mais de 633 mil toneladas deste grão, e Goiás colheu 273,7 mil toneladas (IBGE, 2014).

Existem várias pragas que afetam a cultura de grãos no Brasil, porém a grande maioria destas pragas atacam os grãos armazenados. Neste contexto, a proliferação da *B. tabaci* merece destaque visto que atacam as folhas das plantas. Além disso, o

feijoeiro possui várias características que facilita a sua infestação tais como: sucessivos plantios, área plantada, irrigação, dentre outros (VIEIRA *et al.*, 1998).

De acordo com Costa e Carvalho citado por Yokoyama (1998), a principal desordem ocasionada pela mosca-branca no feijão é o Vírus do Mosaico Dourado que ocasiona amarelecimento foliar brilhante e intenso ou dourado, iniciando nas primeiras folhas trifoliadas (FARIA, 2000; YOKOYAMA & FARIA, 2008). Pode ocasionar ainda rugosidade e enrolamento foliar, nanismo e superbrotamento e abortamento das flores, e as vagens quando conseguem desenvolver se mostram deformadas com tamanho reduzido e sementes subdesenvolvidas, afetando assim a qualidade e o valor comercial (YOKOYAMA & FARIA, 2008).

O controle da *B. tabaci*, exige a aplicação de grandes quantidades de agrotóxicos, porém pelo seu rápido ciclo de vida, o princípio ativo dos agrotóxicos se torna um agente de seleção natural ocasionando linhagens resistentes ao princípio ativo. Desta forma, o uso de pesticidas, embora seja a forma de combate mais comum, (VILLAS-BÔAS, 1997; VENDRAMIN *et al.*, 2009; SOUZA-SILVA, 2012; BALDIN *et al.*, 2013; LIMA & LARA, 2004) torna-se um dos métodos menos eficientes no controle da *B. tabaci* (BACCI *et al.*, 2007).

Sendo assim, métodos alternativos de controle têm sido buscados (SOUZA & VENDRAMIN, 2005) na tentativa de melhor controle da *B. tabaci* e também visando a conservação ambiental e a qualidade de vida dos produtores. Uma alternativa atraente seria o uso de substâncias naturais no intuito de produzir alimentos utilizando menos agrotóxicos. Dessa forma, o uso de substâncias naturais tais como óleo essencial e extratos botânicos no controle de pragas, torna-se um grande aliado no combate a mosca-branca (CHRISTOFOLI, 2014).

Neste cenário vem se destacando os óleos essenciais, compostos por terpenos voláteis como monoterpenos e sesquiterpenos (AHN *et al.*, 1998). Esses óleos essenciais podem ser utilizados como método de controle eficaz, com redução de custos, preservação do ambiente e dos alimentos, contra a contaminação química promovida pelos agrotóxicos, tornando uma prática adequada à agricultura sustentável (KEITA *et al.*, 2001; ROEL, 2001; MARANGONI, 2012)

Óleos essenciais são substâncias obtidas normalmente por hidrodestilação de diferentes partes de plantas e seus contribuintes são complexos e variáveis. Possuem características muito peculiares: odoríferas, lipofílica, líquida e volátil e por isso também são chamados de óleos voláteis ou mesmo essências que se apresentam sempre

em diferentes concentrações, ocorrendo normalmente um ou mais compostos majoritários seguidos por compostos menos abundantes (SIMÕES & SPITZER, 2000). As plantas que possuem alto teor de óleo essencial são denominadas de plantas aromáticas (MILHOMEN DE ABREU, 2006).

Dentre as plantas ditas aromáticas, destacam-se as da família Annonaceae, que possui aproximadamente 130 gêneros (CHATROU *et al.*, 2012). Dentre estes, o gênero *Xylopi*a possui a maior distribuição (DIAS, 1988), sendo 70 espécies na África, 40 na Ásia e Oceania e 50 nas Américas, das quais 32 ocorrem no Brasil (MAAS *et al.*, 2013).

O gênero *Xylopi*a que apresenta diversas atividades biológicas, tais como antimicrobiana, citotóxica, acaricida, antibactericida, anti-inflamatória, antifúngica, fumigante, antitumoral e hipolipidêmica (FERRAZ *et al.*, 2003; VIEIRA, 2010; PONTES, 2007; WOGUEM *et al.*, 2014; OLIVEIRA *et al.*, 2014a). No Brasil, a espécie mais comum é a *X. aromática*, entretanto não há estudos sobre o efeito de óleos essenciais desta planta sobre pragas agrícolas.

Devido a alta volatilidade dos óleos essenciais e da pouca quantidade produzida pela planta há dificuldade de sua viabilização para aplicação em campo (NASCIMENTO *et al.*, 2007), porém esse problema pode ser atenuado empregando a nanotecnologia, que favorece o sistema de controle de insetos promovendo a gradual liberação e fotoproteção do princípio ativo. Esse fato implica na consequente redução da quantidade de inseticida aplicado, impedindo o reconhecimento do inseto e assim diminuindo o efeito de seletividade, além de direcionar o efeito do princípio ativo reduzindo a volatilidade e perda por fatores externos (KUMAR *et al.*, 2014).

Neste contexto, objetivou-se com este trabalho desenvolver nanopartículas dos óleos essenciais de folhas e frutos de *X. aromática*, bem como avaliar a atividade de repelência destes óleos essenciais *in natura* e nanoencapsulados frente a praga agrícola *B. tabaci*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Biodiversidade brasileira

O Brasil é considerado um dos países de maior biodiversidade do planeta por abrigar aproximadamente 10% da diversidade biológica mundial (MYERS *et al.*, 2000).

Toda essa riqueza está distribuída em diversos ecossistemas florestais, não florestais aquáticos, costeiros e marinhos existentes no país (MMA, 2002).

Deste modo, o Brasil se torna alvo de inúmeras discussões sobre a utilização econômica destes bens naturais, uma vez que sua biodiversidade é tida por muitos como fonte de riqueza (GOTTLIEB *et al.*, 1998; SANTOS, 2001). De acordo com Silva (2008), o Brasil abriga mais de 13% das espécies viventes descritas pela ciência e possui aproximadamente 40% das florestas tropicais em seu território.

O Brasil possui características territoriais muito mais marcantes frente aos países industrializados, pois atua na maior parte das vezes como celeiro para a busca por novas substâncias bioativas (PINTO *et al.*, 2002). Ao todo, o Brasil detém 55 mil espécies vegetais, que corresponde a 22% do total do planeta. Toda essa grande biodiversidade faz com que o número de endemismo seja alto. Por esse fato se justifica a necessidade de conhecer, conservar e promover o uso sustentável desse imenso patrimônio (MAINERI, 2012).

Em levantamento realizado sobre a biodiversidade do planeta, Myers e colaboradores (2000) levantaram 25 hotspots que são lugares de alto endemismo e em estado avançado de degradação. Estas áreas vêm sendo exploradas incorretamente sendo necessária a intensificação dos estudos antes que espécies desapareçam sem serem catalogadas ou investigadas e princípios ativos se percam antes mesmo de serem descobertos (MMA, 2002). No Brasil, apenas o Cerrado e a Mata Atlântica fazem parte deste quadro, sendo reconhecidos como áreas de maior risco de extinção, reforçando ainda mais a grande necessidade de estudos nessas áreas. Desta forma, estudos que envolvem recursos naturais têm ganhado grande destaque na busca e identificação de novas moléculas bioativas (VIEGAS JR. *et al.*, 2006).

2.1.1. O Cerrado Brasileiro

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, compreende a faixa de terra do litoral maranhense até o Centro-Oeste, ocupando grande parte do Distrito Federal e dos estados de Goiás e Tocantins, além de parcelas do Maranhão, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, São Paulo, Bahia, Rondônia, Ceará, Piauí e em forma de enclaves nos estados de Roraima, Amapá, Pará e Paraná. O Cerrado é um mosaico de formações vegetais que variam desde campos abertos até formações de florestas com árvores podendo chegar a 30 metros de altura (RIBEIRO & WALTER, 1998).

Ocupa aproximadamente 21% do território brasileiro (cerca de 1,8 milhão de Km²), cortando o país diagonalmente (Figura 1). O Cerrado é um complexo vegetacional que possui relações ecológicas e fisionômicas com outras savanas da América Tropical e de continentes como África e Austrália (AGUIAR & CAMARGO, 2002), seu clima possui duas estações bem definidas: uma seca e outra chuvosa.

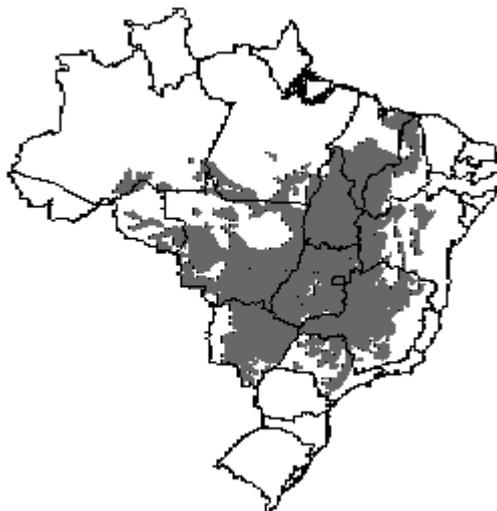


Figura 1. Distribuição do Cerrado brasileiro (Fonte: Ministério de Meio Ambiente).

O Cerrado brasileiro está entre os biomas de maior biodiversidade florística com aproximadamente 7000 espécies de plantas vasculares (SHEPHERD, 2000), porém esse número pode chegar a 10.000 com índice de 44% de endemismo (MYERS *et al.*, 2000). Toda essa riqueza pode ser explicada pela presença de um mosaico natural e de ecossistemas que compartilham a paisagem do Cerrado (SOUZA-AGUIAR *et al.*, 2004).

A flora do Cerrado é característica e diferenciada dos demais biomas brasileiros, embora muitas de suas fitofisionomias tenham espécies similares com outros biomas (OLIVEIRA-FILHO & RATTER, 1995; AGUIAR & CAMARGO, 2002). Sua vegetação apresenta fisionomias que englobam formações florestais, savânicas e campestres. Toda essa diversidade se manifesta na grande quantidade de espécies potencialmente econômicas que vão de espécies alimentícias, medicinais, apícolas, produtoras de óleo, tanino, material para artesanato entre outras evidenciando sua grande importância no desenvolvimento regional (AGUIAR & CAMARGO, 2002).

2.2. Produtos naturais bioativos com ação inseticida

Considerado uma das maiores biodiversidades do planeta e fonte de substâncias bioativas, o Brasil vem despertando o interesse para a área dos Produtos Naturais. Por este fato, a pesquisa e a descoberta de novos compostos bioativos além de proporcionar o avanço da pesquisa multidisciplinar, contribui também com o desenvolvimento tecnológico nacional, porém apenas uma pequena parte da flora brasileira é explorada (BARREIRO & BOLZANI, 2009).

A prática de usar derivados botânicos na agricultura remonta de pelo menos dois milênios atrás, com os primeiros registros no Antigo Egito, China, Grécia e Índia (TRACKER, 2002). Philogène e colaboradores (2005) relatam o uso do óleo de *neem* como inseticidas naturais na proteção de cultivos em um manuscrito datado de 400 anos atrás escrito em sânscrito arcaico. Shaalan e colaboradores (2005) cita que Roark em 1947 já descrevia cerca de 1200 espécies de plantas apresentando atividades inseticidas. Desta forma se torna difícil datar exatamente o início da utilização de plantas na defesa da agricultura, e ao longo do tempo a integração entre a observação empírica e pesquisas científicas tem levado ao desenvolvimento de possíveis pesticidas naturais (PHILOGÈNE *et al.*, 2005; EL-WAKEIL, 2013).

Um dos requisitos para a seleção de novos inseticidas botânicos é que estes sejam eficazes e seletivos, e essas informações podem ser encontradas pelo estudo dos mecanismos de defesa da planta (MARANGONI *et al.*, 2012). Segundo estes autores, a interação de insetos e outros microrganismos com as plantas resultam na produção de metabólitos secundários, já que muitas vezes estes produtos são a resposta à ataques patogênicos.

Um inseticida botânico pode possuir inúmeras vantagens, comparando-se ao uso dos tradicionais ou sintéticos, tais como seletividade contra inimigos naturais, baixa toxicidade contra mamíferos, ser um bem renovável, além de ser viável economicamente (VIEIRA *et al.*, 2001). Dessa forma, é evidente que os produtos de origem botânica são alternativas promissoras no controle biológico, sendo adequado à agricultura sustentável (KEITA *et al.*, 2001; ROEL, 2001; MARANGONI *et al.* 2012).

Os produtos à base de plantas, apresentam grande diversidade de compostos bioativos que agem sozinhos ou sinergicamente podendo apresentar atividades atraentes, desalojantes ou repelentes, possibilitando que o produto final seja utilizado em sistemas de manejo integrado de pragas (NAVARRO-SILVA *et al.*, 2009). O emprego de vegetais, na forma de extratos, pós ou óleos essenciais, vem aumentando

crescentemente no Brasil principalmente em virtude de sua rica flora. Todo produto natural que atua no controle de insetos é chamado “Pesticida Verde” e sua utilização tem sido amplamente solicitada em virtude de muitas vezes apresentar ausência da toxicidade para mamíferos, solos e água (KEITA *et al.*, 2001).

No entanto, poucas são as espécies de plantas utilizadas comercialmente como inseticidas, destacando basicamente as que contêm piretrinas, rotenoides e alcaloides (VIEGAS JR. *et al.*, 2003). Segundo este autor, economicamente o grupo mais importante de inseticidas natural é o da piretrina, que é extraído das flores do *Chrysanthemum cinerariaefolium*. A rotenona e os rotenoides são muito utilizados no meio rural como anestésico temporário que auxiliava na captura de peixes e também no combate a ectoparasitas, onde suas raízes e folhas eram colocadas dentro dos ninhos de galinha a fim de se evitar piolho. E por fim, os alcaloides têm como principal representante a nicotina e a nor-nicotina (VIEGAS JR., 2003; MARANGONI *et al.*, 2012).

Adicionalmente, segundo Koul e colaboradores (2008), os óleos essenciais têm sido amplamente utilizados em pesquisas para desenvolvimento do chamado de “Pesticida Verde”. Ademais, apresentam inúmeras vantagens sob o produto sintético, tais como obtenção de matéria-prima em recursos renováveis, são rapidamente degradados, não deixando resíduos nos alimentos e nem no meio do ambiente (SOARES *et al.*, 2011).

2.2.1. Óleos Essenciais

Os óleos essenciais são misturas naturais de grande complexidade de hidrocarbonetos (terpenos e sesquiterpenos) e compostos oxigenados (álcoois, éteres, aldeídos, cetonas, lactonas e fenóis) (NERIO *et al.*, 2010). Podem conter vários componentes em diferentes concentrações e normalmente as propriedades biológicas apresentadas pelos óleos essenciais são determinadas pela sinergia de seus componentes e nem sempre são ditadas pelos compostos majoritários (KOUL *et al.*, 2008).

De acordo com Simões e Spitzer (2000) os óleos essenciais são substâncias voláteis, lipofílicas, odoríferas e líquidas que possui aparência oleosa em temperatura ambiente. Normalmente sua extração se faz por hidrodestilação, porém existem variados métodos como, por exemplo, extração em micro-ondas, dióxido de carbono líquido dentre outras. O método de extração influencia quantitativa e qualitativamente, sendo que então o método de extração deve ser definido de acordo

com a finalidade da avaliação (BAKKALI, *et al.* 2008). Outros fatores que afetam a composição química do óleo essencial são o tipo do solo, disponibilidade hídrica, sazonalidade, estação do ano, clima, idade da planta, fase do ciclo vegetativo (ANGIONI *et al.*, 2006; PAVARINI *et al.*, 2012).

Comercialmente, os óleos essenciais são usados na indústria farmacêutica, alimentícia, cosmética e como inseticidas (SHAALAN *et al.*, 2005). Eles são reponsáveis pelo odor característico das plantas, autodefesa, atração e proteção contra perda de água e aumento de temperatura foliar (CASTRO, 2004). Os óleos essenciais são amplamente estudados como potenciais agentes biológicos antimicrobianos, representando, de certo modo, sua própria função nas plantas. Por causa da grande diversidade química de seus componentes, outras importantes funções biológicas e fisiológicas são atribuídas a estas substâncias (IBRAHIM *et al.*, 2001), dentre as quais, pode-se destacar a atividade inseticida, podendo ser utilizada no controle de pragas com a aplicação *in natura* do óleo essencial ou de seu princípio ativo isolado.

Exemplificando a ação inseticida de óleos essenciais, Tellez *et al.* (2002) investigaram a ação do óleo essencial de *Lepidium meyenii* (Walp.) (Brassicaceae) contra cupins (*Coptotermes formosanus*) (Insecta: Isoptera) e este demonstrou ser inibidor de alimentação para estes insetos. Em 2003, Carvalho e colaboradores analisaram o óleo essencial de brotos de *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) em larvas de *Aedes aegypti* conseguindo 100% de mortalidade das larvas com concentração de 0,017% de timol, princípio ativo encontrado na composição química do óleo desta planta.

Soares e outros autores (2012) investigaram a ação do óleo essencial de *Illicium verum* e de *Piper hispidinervum* sobre o pulgão em roseiras de jardim, sendo que os dois óleos essenciais apresentaram efeito tóxico para os pulgões, apresentando maior efeito de contato nos folíolos das roseiras que em papel filtro. Lima e colaboradores (2010) adicionando óleo essencial de mentrasto (*Ageratum conyzoides*), em concentração de 0,5%, à dieta de *Spodoptera frugiperda* proporcionou mortalidade em 70% dos insetos.

Os óleos essenciais das plantas *Artemesia vulgaris*, *Melaleuca leucadendron*, *Pelargonium roseum*, *Lavandula angustifolia*, *Mentha piperita* e *Juniperus virginiana* também são eficazes contra vários insetos e fungos (KORDALI *et al.*, 2005). Estudos comprovaram que óleo essencial de espécies de *Mentha* são altamente eficazes contra

Callosobruchus maculatus e *Tribolium castanum*, pragas comuns de grãos armazenados (TRIPATHI *et al.*, 2000).

Pontes e outros autores (2007) testaram a atividade dos óleos essenciais da *Xylopiya sericea* da restinga de Pernambuco por ação fumigante em ácaros rajados (*Tetranychus urticae*), os estudos indicaram que o óleo essencial das folhas foi muito mais ativo que o óleo essencial dos frutos obtendo a concentração de 4,08 µL/L de ar e de 20,6µL/L de ar respectivamente. Souza (2012) obteve valores acima de 80% de mortalidade para imaturos de *Aedes aegypti* com o óleo essencial de *Xylopiya leviagata* nas concentrações de 275 e 500 ppm em condições de laboratório.

A utilização de óleos essenciais e de seus constituintes no controle de insetos tem aumentado significativamente nos países industrializados, inclusive no Brasil que, por ser um país com uma flora rica e diversa, este tipo de estudo vem se desenvolvendo.

2.3. Da família Annonaceae a espécie *Xylopiya aromatica*

Atualmente muitas famílias de angiospermas vêm sendo estudadas visando a extração de moléculas bioativas com potencial ação inseticida e/ou repelentes. Dentre as Angiospermas se destacam a família Annonaceae que possui distribuição pantropical, sendo a América Central e a do Sul, a África e Ásia os principais centros de diversidade deste grupo (KRINSKI *et al.*, 2014).

A família Annonaceae Juss. compreende uma larga família da ordem Magnoliales, possui cerca de 2.500 espécies e 135 gêneros (CHATROU *et al.*, 2012). Somente no Brasil ocorrem 29 gêneros e 386 espécies, sendo que no Cerrado ocorrem 10 gêneros e 47 espécies e nenhuma destas é endêmica e algumas plantas desta família são bastante comum e possuem ampla distribuição, como é o caso da *Xylopiya aromatica* (MAAS *et al.*, 2013).

Esta família é considerada de grande valor econômico pelos seus frutos serem comestíveis (MOREIRA *et al.*, 2013), alguns exemplares bem conhecidos são: a graviola (*Annona muricata*), o araticum (*Annona crassiflora*) a fruta-pinha (*Annona reticulata*), fruta-do-conde (*Annona squamosa*) e a ata (*Annona coriacea*). As árvores são lenhosas, de porte arbóreo ou arbustivo, com grande importância farmacológica, sendo empregada em cosméticos, perfumaria, medicina natural e ainda apresenta grande atividade inseticida, pois a maioria das plantas desse grupo possuem acetogeninas, substância que atua na mitocôndria dos insetos causando sua morte (ZAFRA-POLO *et al.*, 1996).

Segundo Krinski e colaboradores (2014) são relatadas 42 espécies distribuídas em 14 gêneros de Annonaceae com potencial inseticida, neste cenário se destaca a *Annona muricata* (graviola) e *Annona squamosa* (fruta-do-conde) que atualmente são as duas espécies mais exploradas com potencial inseticida. Segundo estes mesmos autores, o gênero *Xylopi*a se destaca no controle do *Aedes aegypti* (Diptera) e a espécie *Xylopi*a *aromatica* também tem relatos de uso de seu extrato contra *A. aegypti* e *Dipetalogaster máx*ima (Hemiptera) (RODRIGUES *et al.*, 2006; COELHO *et al.*, 2009).

2.3.1. Gênero *Xylopi*a

O gênero *Xylopi*a, da tribo Xylopieae, constitui um dos mais numerosos gêneros das Annonaceae contendo entre 100 a 160 espécies, além de possuir a mais ampla distribuição desta família, sendo presente na África, Ásia, Oceania e Américas (MAAS *et al.*, 2013).

Em reclassificação recente deste gênero, somente no Brasil são encontradas 35 espécies que são distribuídas nas cinco regiões do país (MAAS *et al.*, 2013). A espécie mais comum do Brasil é a *X. arom*atica, ocorrendo do Amazonas ao Paraná, em regiões de Cerrado, nas matas ciliares, campinas e capoeiras (DIAS, 1988).

Plantas do gênero *Xylopi*a são árvores que podem variar de 5 até 30 m de altura, ou arbustos com 1,5 a 3 m de altura (MOREIRA *et al.*, 2013).

Existem vários estudos quanto a composição química de plantas deste gênero, relatando a presença de alcaloides, compostos voláteis, flavonoides, terpenoides e esteróis (PONTES *et al.*, 2007; MOREIRA *et al.*, 2013). Estudos também demonstram o grande potencial medicinal deste gênero destacando as atividades antimicrobiana, citotóxica, hipolipidêmica (FERRAZ *et al.*, 2013; VIEIRA, 2010; PONTES *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2014a).

Com a crescente busca por produtos naturais com atividade inseticida, espécies do gênero *Xylopi*a vêm sendo estudadas quanto ao seu potencial acaricida, inseticida e nematocida, avaliando assim a eficácia de plantas deste gênero no controle de pragas agrícolas (PONTES *et al.*, 2007; KRINSKI *et al.*, 2014). Porém segundo Ekundayo (1989) as espécies de *X. aethi*opica, *X. bras*iliensis e *X. frutescens* são plantas mais estudadas que a *X. arom*atica sob o ponto de vista químico e biológico.

2.3.2. *Xylopia aromatica*

A *Xylopia aromatica* é conhecida popularmente como pimenta-de-macaco, pindaíba, pindaíba-do-campo e pindaíba-de-macaco (Figura 2) (DIAS, 1988). Possuem como sinônimos, o nome de *Uvaria aromatica* Lam. e *Xylopia grandiflora* A. St. Hill. (MAAS *et al.*, 2013).



Figura 2. Árvore de *Xylopia aromatica*. Fonte: Arquivo pessoal.

É uma espécie pioneira e ocorre geralmente em regiões perturbadas, como beira de estradas e clareiras, sendo comum em áreas com alta luminosidade (MELO *et al.*, 2007).

É uma árvore nativa do cerrado e de fácil reconhecimento, com altura que varia de 2 a 8 metros. Apresenta ramos e folhas pendentes e flores com pétalas brancas e cálice vermelho-pardo. As flores, quando abertas, lembram estrelas, com pedicelos muito curtos e voltados para cima. Os frutos são comestíveis e se apresentam vermelhos por ocasião da deiscência e amarronzados ou pretos quando secos (Figura 3). As sementes são ovoides e quando maduras apresentam coloração escura. Em média, são

encontradas duas a oito sementes por carpídio. Os frutos podem ser coletados em todos os meses do ano (DIAS, 1988).

Os frutos da *X. aromatica* são usados na medicina popular pelas suas propriedades carminativas, estimulantes e afrodisíacas (SUFFREDINI *et al.*, 2007). Alguns frutos de espécies de *Xylopi*a, inclusive a *X. aromatica*, são usados popularmente também como condimento, principalmente no tempero de carnes, e como substituto da pimenta do reino (*Piper nigrum* L.) por apresentarem odor semelhante, porém mais suave (MAIA *et al.*, 2005).

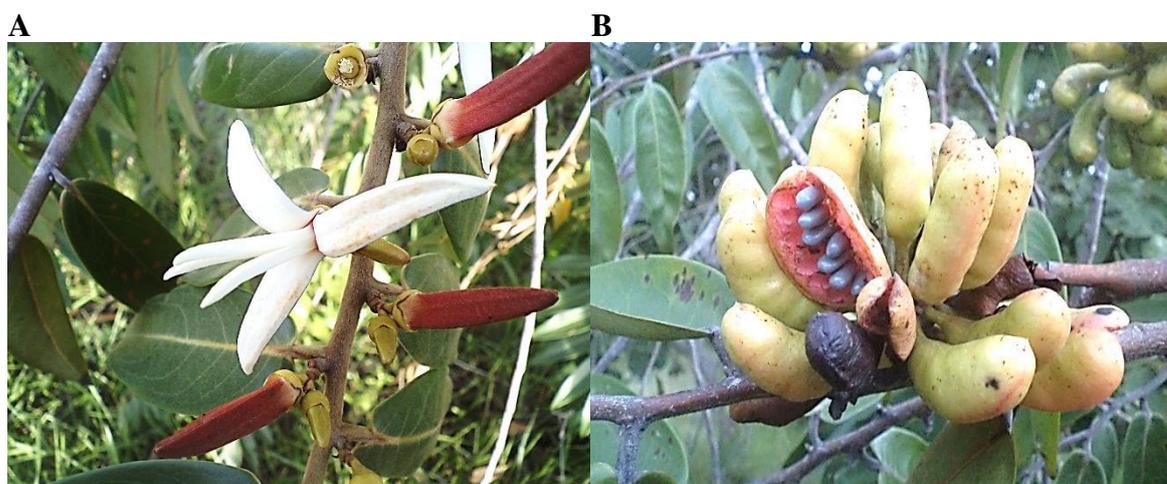


Figura 3. Flores (A) e frutos (B) de *Xylopi aromatica*. Fonte: Arquivo pessoal.

Estudos de caracterização química já identificaram a presença de alcaloides, esteroides, flavonoides, óleos essenciais, diterpenos e saponinas em frutos de *Xylopi*a e, por isso, pode-se dizer que plantas deste gênero representam uma fonte promissora de substâncias bioativas (ELHASSAN *et al.*, 2009; SILVA & ROCHA, 1981).

Apesar da grande variedade de substâncias bioativas descritas, os constituintes químicos predominantes e mais investigados nos frutos desta espécie são os óleos essenciais, responsáveis pelo aroma suave que apresentam (SILVA & ROCHA, 1981).

Do óleo essencial das folhas de *X. aromatica* foram extraídos biciclogermacreno, espatulenol, limoneno, α -felandreno, α -mirceno, p -menta-1(7),8-dieno e p -cimeno, além de α e β -pineno (MAIA *et al.*, 2005), que são compostos que apresentam grande atividade biológica, por exemplo o limoneno e α e β -pineno apresentam comprovadamente atividade inseticida (VIEGAS JR, 2003; MOREIRA *et al.*, 2013)

Estudos que avaliaram quimicamente o óleo essencial dos frutos de *X. aromatica* originária do Brasil identificaram a presença de α -pineno, β -pineno, mirceno, ocimeno, limoneno, citronelol e carvona, sendo o limoneno, o citronelol, e α e β -pineno os componentes majoritários (SILVA & ROCHA, 1981; ANDRADE *et al.*, 2004). Já a composição química dos frutos de *X. aromatica* originária da Colômbia foi diferente, nestes foram identificados como compostos majoritários o β -felandreno, seguido de mirceno, α -pineno, α -felandreno e p-cimeno, respectivamente (STASHENKO *et al.*, 2004).

2.4. *Bemisia tabaci*

B. tabaci pertence à família Aleyrodidae da ordem Hemiptera. Esta família possui cerca de 126 gêneros e 1.500 espécies descritas. O gênero *Bemisia* possui aproximadamente 37 espécies conhecidas (GERLING *et al.*, 2002). A *B. tabaci*, conhecida popularmente como mosca branca, foi descrita por Gennadius em 1889, na Grécia em uma lavoura de fumo (*Nicotiniana* sp.) (COCK, 1996) (Figura 4).

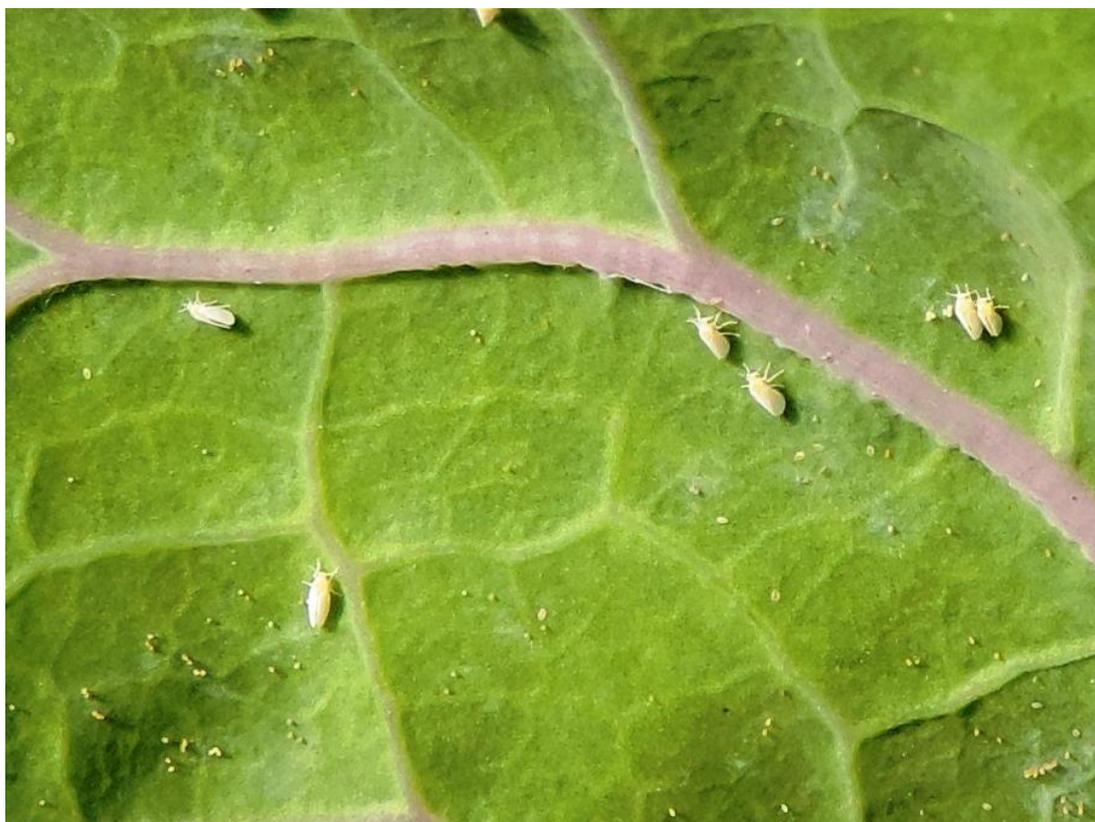


Figura 4. Ovos e adultos de *Bemisia tabaci*. Fonte: Arquivo pessoal.

A caracterização do biótipo B como nova espécie *B. argentifolli* (Bellows & Perring) foi feita conforme consta em Bellows *et al.* (1994) com base nos danos característicos nas plantas hospedeiras, e na morfologia do inseto, mas atualmente, considera-se que *B. argentifolli* é o biótipo B da *B. tabaci*. (SOUZA, 2004).

A crescente importância do complexo *B. tabaci* tem sido associada à introdução e dispersão do biótipo B, que se distingue por apresentar maior fecundidade, maior gama de hospedeiros, desenvolver mais resistência a produtos inseticidas, e além de transmitir vírus como o begomovírus, também se alimenta mais da seiva das plantas, produzindo assim maior quantidade de “*honeydew*” (substância açucarada que atrai fungos para a planta), além de ser mais tolerante ao frio (BROWN *et al.*, 1995; COSTA & BROWN, 1990).

São insetos sugadores de seiva, caracterizados por desenvolvimento hemimetábolo, passando pela fase de ovo, ninfa (I, II, III, e IV ínstar) e adulto. Esse mesmo autor descreve que sua reprodução é partenogenética haploide facultativa e arrenótica, sendo que a fêmea pode ovipositar ovos fertilizados com os espermatozoides armazenados em sua espermateca, que originarão fêmeas ou machos diploides ou ainda por ovos não fertilizados, que originarão machos haploides (LARA, 2008).

Os ovos são periformes, com cerca de 0,18 a 0,21 mm de comprimento por 0,06 a 0,09 mm de largura. Assim que a fêmea deposita seus ovos estes apresentam coloração branca-amarelada e a medida de sua maturação vão se tornando castanho-escuro até a eclosão que ocorre em média entre 5 a 7 dias após a oviposição (OLIVEIRA & LIMA, 1997; SOUZA, 2004).

As ninfas de primeiro ínstar são móveis, medindo cerca de 0,24 a 0,27 mm de comprimento e 0,12 a 0,18 mm de largura, com coloração branco-esverdeada, com forma ventral plana e dorsalmente convexa). As ninfas de segundo ínstar é oval e apresenta olhos brilhantes, e as de terceiro ínstar tem formato elíptico, olhos vermelhos brilhantes, havendo pouca diferença morfológica entre esses dois ínstars. A Figura 3 demonstra ninfas no 3º ínstar. A ninfa de quarto ínstar pouco se alimenta e já apresenta nítida divisão em cabeça, tórax e abdome, chegando a medir 0,85mm de comprimento por 0,60 mm de largura; os adultos são amarelo-pálido com asas brancas, medindo de 1 a 2 mm de comprimento e 0.36 a 0,51 mm de largura, sendo as fêmeas maiores que os machos (SOUZA, 2004).

A duração do ciclo de vida da *B. tabaci* varia de acordo com a planta hospedeira e a temperatura (VILLAS-BÔAS *et al.*, 1997). A temperatura tem influência direta

sobre o período de incubação dos ovos e sobre o ciclo completo da *B. tabaci*. Até certo limite, temperaturas mais elevadas e baixa umidade favorecem seu desenvolvimento e dispersão, em tempos de estiagem os ciclos de vida são menores e o número de insetos aumenta muito provocando surtos em muitas lavouras (LEITE *et al.*, 2002). A época das chuvas a população é bastante reduzida, mostrando esta ser um dos fatores mais adversos para o desenvolvimento da mosca branca (VILLAS-BÔAS *et al.*, 1997)

A seleção dos locais de alimentação e depósito de ovos pela fêmea da *B. tabaci* pode ocorrer por vários fatores, tais como a coloração da folha (predileção por folhas mais verdes), morfologia da planta, idade das folhas e densidade de tricomas (ORIANI *et al.*, 2005; JESUS *et al.*, 2011).

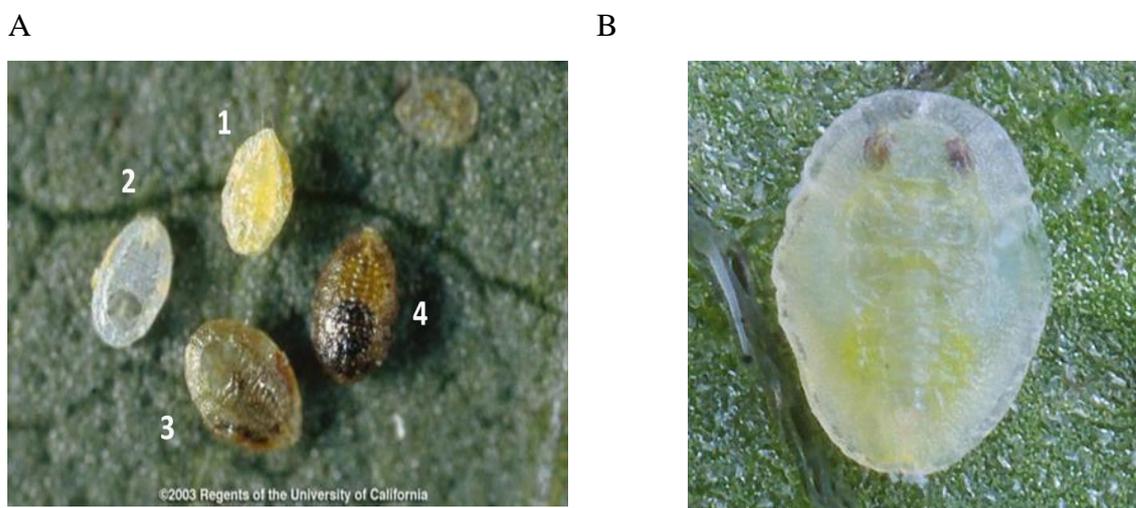


Figura 5. Ninfas e exúvias de *Bemisia tabaci*. A – 1- Ninfas de I ínstar; 2- Exúvia de II ínstar; 3- Ninfa de III ínstar e 4- Ninfa de IV ínstar. (Fonte: ucanr.edu/sites/cotton, acessado em 03/11/2014). B – Ninfa de III ínstar (Fonte: tamagaro.net/whitefly/, acessado em 03/11/2014).

Na agricultura mundial, a *B. tabaci* causa um impacto devastador acarretando percas econômicas que são da ordem de bilhões de dólares (OLIVEIRA & FARIAS, 2000). No Brasil, desde 1995, esses prejuízos superam a cifra de US\$ 5 bilhões sendo os prejuízos principalmente nas lavouras de soja, feijão, tomate, algodão, melão e outras hortaliças, e as percas podem variar entre 20 e 100% (LIMA *et al.*, 2003).

Schuster e colaboradores (1996) classificaram os danos ocasionados pela mosca branca como sendo diretos ou indiretos. Nos danos diretos, ao se alimentar, a *B. tabaci* insere toxina que enfraquece as plantas e provoca o crescimento desuniforme, tornando-as amarelas e enrugadas e ocasionando a queda das folhas podendo até causar a morte

da planta hospedeira. Os danos indiretos, estão relacionados a transmissão de vírus e ao desenvolvimento de fungos (fumagina) nas folhas devido por causa da excreção da substância açucarada “*honeydew*”. Esses fungos oportunistas escurecem a superfície foliar dificultando a realização da fotossíntese (ZUCCHI *et al.*, 1993, LOURENÇÃO & NAGAI, 1994; SOUZA & VENDRAMIM, 2005).

Atualmente, são descritos mais de 100 begomovírus transmitidos pelo complexo *Bemisia tabaci* a mais de 20 espécies de importância econômica (MORALES, 2001). Pode-se destacar a transmissão de *Bean golden mosaic virus* (BGMV) também chamado de Vírus do Mosaico Dourado do Feijoeiro (VMDF) em feijoeiros, o *Tomato yellow vein streak virus* (TYVSV) em tomateiros e também na batata que também é atacada por *Potato leaf roll virus* (PLRV) (SOUZA-DIAS *et al.*, 2005).

Grande quantidade de agrotóxicos é utilizada no controle dessa praga, principalmente em culturas de feijão, soja e tomate, porém não muito eficaz, tendo em vista que os ovos, ninfas e insetos adultos se localizam na face inferior das folhas e apresentam rápido desenvolvimento de resistência (HOROWITZ & ISHAAYA, 1995). Neste cenário, a busca por compostos naturais tem estimulado pesquisas sobre espécies vegetais que atuem no controle de pragas, sem as reações indesejáveis ao ambiente.

2.4.1. Controle da *Bemisia tabaci*

Atualmente um dos maiores problemas para o controle da praga *B. tabaci* no ciclo produtivo é a não eliminação dos restos das lavouras infestadas após a colheita, permitindo a maturação das ninfas e ovos e conseqüente migração destes para a próxima lavoura. Portanto essa praga necessita ser controlada dentro do ciclo produtivo com ação de todos os produtores que compõem a cadeia agrícola do país (CZEPACK, 2010).

Uma dos métodos de controle dessa praga é o manejo integrado, porém muito pouco ou quase nunca utilizado. Esse método envolve diversas etapas iniciando já no tratamento preventivo das sementes e/ou mudas antes mesmo de serem plantadas na lavoura. Táticas como eliminação de restos de culturas e de plantas contaminadas, a adoção de barreiras vivas (barreiras de árvores, as chamadas cercas vivas) contra o vento que é o maior dispersante desta praga, impedindo o vento de entrar na plantação contaminada, evita-se que a mosca branca “pegue carona” no vento indo para a próxima lavoura; monitoramento visual da lavoura para evitar o alastramento em caso de contaminação, são necessárias para um bom resultado em caso de manejo integrado no

controle da *B. tabaci*. Nesse tipo de controle teria que haver a integração entre todos os produtores em ação conjunta (CZEPACK, 2010).

Ainda dentro do manejo integrado, há o controle biológico. Através da utilização de inseticidas seletivos preserva-se os insetos predadores da mosca branca, ou até mesmo da soltura de grandes quantidades desses predadores nas lavouras para combate às formas jovens de *B. tabaci* (VILLAS-BÔAS *et al.*, 1997). Dentre os insetos predadores da *B. tabaci* estão sendo identificados como sendo das ordens Hemiptera, Neuróptera, Coleoptera e Diptera, com destaque para os parasitoides *Encarsia* sp., *Eretmocerus* sp. e *Amitus* sp. que são facilmente encontrados (LACERDA & CARVALHO, 2008).

O complexo *B. tabaci* apresenta grande capacidade reprodutiva, adaptabilidade às condições adversas, alta capacidade de desenvolvimento de resistência aos inseticidas, possui grande número de plantas hospedeiras e ainda é vetor do geminivírus, devido a ação sinérgica de todas essas características dessa praga, o método mais utilizado para seu controle ainda é o químico (LOURENÇÃO, 2002). Para tanto são utilizados óleos, detergentes e inseticidas (NORMAN *et al.*, 1996) organofosforados, carbamatos, piretroides, neonicotinoides e reguladores de crescimento. Ademais é de grande importância a identificação do grau de infestação e da fase do inseto para determinação do agente químico a ser utilizado (JESUS, 2007). Segundo Lima e Lara (2001) se a infestação é alta e ocorrem todas as fases do inseto simultaneamente, são necessárias várias aplicações de inseticida. Horowitz e Ishaaya (1995) relatam que apesar das várias aplicações o controle com inseticidas convencionais não é muito eficaz por causa da localização das ninfas e ovos na parte abaxial das folhas e do rápido desenvolvimento de resistência.

Apesar desse fato, existem na literatura vários inseticidas recomendados para o controle da *B. tabaci*. Na categoria dos neonicotinoides incluem-se acetamiprid, clotianidina, imidacloprid, thiacloprid e thiamethoxam (CZEPACK, 2010; HOROWITZ E ISHAAYA, 1995; JESUS, 2007), como inibidor de quitina tem o buprofezim, como um análogo do hormônio juvenil o piriproxifen e como inibidores da biossíntese de lipídios o spirotetramat e espiromesifeno (CZEPACK, 2010), e todos esses autores preconizam a alternância destes produtos dentro de um programa de manejo de pragas para diminuição do efeito da seleção natural que resulta no surgimento de indivíduos resistentes.

Segundo Basu (1995), a ênfase do controle químico da *B. tabaci* tem sido dada a produtos que induzem mudanças comportamentais principalmente como a repelência ou irritação.

Nesse contexto, torna-se evidente a dificuldade do controle da mosca branca com inseticidas convencionais e a necessidade de se buscar produtos alternativos e que apresentem um sinergismo de princípios ativos dificultando assim o desenvolvimento de resistências.

2.5. Nanotecnologia

Nos últimos anos, a nanotecnologia tem provocado revolução na ciência e na tecnologia nos seus mais diversos setores pelo seu grande potencial de aplicação e ao desenvolvimento tecnológico por ela ocasionado (DURÁN *et al.*, 2006). Essa nova ciência, tem caráter multidisciplinar e está sendo aplicada nas mais diversas áreas da pesquisa científica com gigantesco potencial de aplicação tecnológico em vários setores industriais (TOMA, 2005).

Nano é derivado da palavra grega que significa anão, e este termo deu origem a unidade de medida, o nanômetro, e que deu nome a essa tecnologia e equivale a bilionésima parte de 1 metro ($1 \text{ nm} = 1/1.000.000.000 \text{ m}$). Os produtos nanométricos que possuem dimensões medindo 100 nm são chamados na literatura científica mundial de nanoparticulados e segundo o *Food and Drug Administration* - FDA, nanopartículas são as “partículas com dimensões menores que $1 \mu\text{m}$ que exibem propriedades não reconhecidas em partículas maiores” (SCOTT & CHEN, 2012).

A nanotecnologia pode interferir em quase todos os tipos de materiais, sejam eles naturais ou sintéticos, de modo a formar nanoblocos tais como: nanopartículas, nanocompósitos, nanoesferas, nanotubos, nanofibras que além de apresentar novas propriedades pela escala, apresentam maior desempenho nos produtos resultantes. Do ponto de vista tecnológico, essas nanoestruturas podem ser trabalhadas quimicamente pela modificação de suas superfícies como a utilização de polímeros, ampliando ainda mais o campo de suas aplicações (DURAN *et al.*, 2006).

A aplicação destas nanoestruturas na nanobiotecnologia torna possível não só a manipulação em escala atômica do material genético, mas também a incorporação de materiais sintéticos em estruturas biológicas, além de permitir a conjugação de biomoléculas às nanopartículas para aplicação na liberação de substâncias (ABDI,

2010). Essa última característica é de grande importância nas indústrias farmacêutica e agroquímica, pois permite o encapsulamento de princípios ativos facilitando sua administração. Adicionalmente, as nanopartículas biodegradáveis liberam de forma gradual o princípio ativo a elas incorporado através de sua lenta degradação.

O termo nanopartículas se refere a dois tipos de nanoestruturas: as nanocápsulas (NC) e as nanoesferas (NS). Segundo Azevedo (2008), nanoesferas são aquelas em que o princípio ativo está disperso de modo homogêneo no interior da matriz polimérica, não sendo possível diferenciar um núcleo. Já as nanocápsulas constituem um sistema semelhante a um reservatório, e o princípio ativo está envolto por uma membrana polimérica.

Uma grande quantidade de trabalhos que reportam sobre a liberação gradual ressalta a utilização de polímeros biodegradáveis (CAZAL, 2011; CHRISTOFOLI, 2014; AZEVEDO, 2008; BARBANTI *et al.*, 2006; FRIEDRICH *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2012; CAZO *et al.*, 2012). Uma das principais classes de polímeros biodegradáveis são os poliésteres alifáticos sintéticos, dos quais fazem parte o poli- ϵ -caprolactona (PCL) (Figura 6). Na presença de água, sua degradação se inicia pela hidrólise das ligações ésteres originando oligômeros ou monômeros solúveis e não tóxicos, que posteriormente sofrem ação de algum mecanismo biológico ou por clivagem hidrolítica (BARBANTI *et al.* 2006).

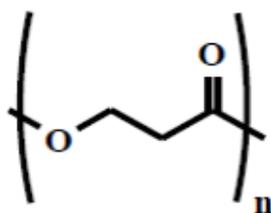


Figura 6. Estrutura química de poli- ϵ -caprolactona (PCL). Fonte: Christofoli, 2014.

Existem na literatura diversos métodos de preparo das nanopartículas, porém a escolha deste método varia de acordo com o polímero utilizado e também com a substância que vai ser encapsulada. Independente deste método, o resultado é uma solução coloidal contendo as nanopartículas (SCHAFFAZICK & GUTERRES, 2003).

Várias são as técnicas utilizadas para o preparo de nanopartículas, sendo que uma das técnicas mais simples e de mais baixo custo foi proposta por Fessi e colaboradores em 1989 (CAZO *et al.*, 2012). Este método se baseia na deposição

polimérica interfacial seguida pelo deslocamento de solvente semipolar e miscível em água, também é conhecida como nanoprecipitação. Esta técnica permite que a formação das nanopartículas seja instantânea e reproduzível (FESSI *et al.*, 1989).

A degradação das nanopartículas depende em sua maioria da estrutura do polímero, da radiação, peso molecular e tratamentos químicos. Agentes biológicos como bactérias, fungos e suas enzimas são importantes biodegradadores, pois estes consomem a matriz polimérica (CHANDRA & RUSTGI, 1998).

A nanotecnologia beneficia o desenvolvimento de práticas limpas, não tóxicas e ambientalmente aceitáveis dentro da Química Verde, pois na agricultura, uma de suas principais finalidades é a de prolongar o tempo de ação, reduzir a toxicidade, diminuir a quantidade de agrotóxico utilizado sem diminuição da eficácia através da liberação gradual (SOUZA, 1999). Através da diminuição da lixiviação e da proteção do ingrediente ativo contra percas por causa da fotodegradação, as nanopartículas visam amenizar os problemas apresentados pelas formulações convencionais, sendo menos tóxicos e mais eficazes por um tempo maior através do sistema de liberação gradual (SOUZA, 1999).

Muitos estudos têm demonstrado a eficiência da nanopartículas associada ao uso de agrotóxicos. Nguyen e colaboradores (2012) observaram a fotoproteção da deltametrina promovida pelo seu encapsulamento em quitosana. Souza e colaboradores (2012) através do encapsulamento com PCL obtiveram sistemas mais seguros para aplicação do herbicida atrazina.

O uso de produtos naturais como compostos bioativos principalmente contra insetos pragas tem ganhado nova vertente de pesquisa, aliada ao sistema de liberação gradual. Da-Costa e demais autores (2014) encapsularam o óleo de *neem* obtendo maior estabilidade térmica, fotoproteção além de melhorar seu desempenho biológico pela entrega otimizada ao sítio ativo específico. Paula e colaboradores (2010) encapsulando o óleo de *Lippia sidoides* com quitosana e goma de caju obtiveram um perfil de liberação *in vitro* da substância bioativa mais lenta, potencializando e prolongando o efeito do óleo essencial.

3. OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi desenvolver nanopartículas poliméricas (PCL) contendo os óleos essenciais das folhas e frutos de *Xylopiya aromatica* e verificar o

efeito de repelência destes óleos essenciais *in natura* e nanoencapsulados em *Bemisia tabaci*.

4. METODOLOGIA

4.1. Coleta do material vegetal

As folhas e frutos de *Xylopiya aromatica* (Annonaceae) foram coletadas no município de Iporá-GO. A área de coleta é caracterizada como área de borda entre mata ciliar e de área típica de brejo (16°21'19.31''S, 51°1'0.12''O). O material coletado foi acondicionado em sacos plásticos e levemente umidecido na tentativa de manter o material mais fresco possível até o momento da extração no laboratório de Química Orgânica do IF Goiano *campus* Iporá. A identificação foi realizada no laboratório de Ecologia Vegetal do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – IF Goiano - *campus* Rio Verde e a excicata está preservada no herbário com o número 472.

4.2. Obtenção do óleo essencial

O material vegetal fresco foi triturado e para cada 100 gramas de massa vegetal foram adicionados 300 mL de água deionizada e levados à hidrodestilação em aparelho tipo clewenger. Após o intervalo de tempo determinado pela otimização da extração, foi retirado o hidrolato e extraído a fase orgânica com dicloro-metano, que posteriormente foi seca com sulfato anidro de sódio. Parte do solvente foi retirado em rota-evaporador, por pressão reduzida e levado à capela para sua completa evaporação. Os frascos com o óleo essencial foram identificados, datados e acondicionados no congelador a temperatura de -5° C.

4.2.1. Otimização das condições de extração de óleo essencial

Na otimização das condições de extração, foi observado o rendimento do óleo essencial em função do tempo em que o material botânico foi submetido a hidrodestilação. Para tanto, realizou-se extrações de 100 gramas de massa vegetal nos intervalos de 1, 2 e 4 horas de hidrodestilação conforme descrito no item 4.2. O rendimento do óleo essencial foi calculado tendo o teor de óleo essencial extraído com 4 horas de hidrodestilação como o 100%. Todo o procedimento foi realizado em triplicata.

4.3. Análise química do óleo essencial

As análises para identificação dos compostos químicos dos óleos essenciais foram realizadas em cromatógrafo gasoso acoplado a espectômetro de massas utilizando o aparelho Shimadzu GC – 17A, equipado com coluna capilar DB - 5 (30 m x 0,25 mm) filme = 0,25 μm , ionizado por impacto eletrônico (IE 70 e.V) e utilizando como gás de arraste o hélio. A temperatura do forno foi de 60° a 280° C, com acréscimo de 3° C/min. Foi injetado 1 μL de solução de óleo essencial diluído em acetona.

Para a identificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais, o tempo de retenção linear (IK) foi calculado pela relação entre o tempo de retenção do composto em análise e o tempo de retenção da série homóloga de n-alcanos, também foi observado o padrão de fragmentação de cada espectro de massas. Ambos os dados foram comparados com a biblioteca do equipamento (NIST08) e literatura.

4.4. Quantificação do óleo essencial

4.4.1. Validação do método analítico

A quantificação de óleo essencial foi realizada por espectroscopia UV/VIS (UV/VIS Spectrometer Lambda 35, PerkinElmer) (MAJI *et al.*, 2007; PAULA *et al.*, 2011; ABREU *et al.*, 2012; CRHISTOFOLI, 2014).

Inicialmente foi realizada varredura em UV/VIS para os óleos essenciais das folhas e dos frutos *in natura*, diluído em hexano. Uma vez determinada a absorvância, 231 nm e 232 nm para os óleos essenciais de folhas e frutos de *X. aromatica* respectivamente, foram pré-definidas seis concentrações de cada um dos óleos essenciais. Para tal, foi preparada uma solução estoque diluindo 160 mg de óleo essencial em 400 mL de hexano, fornecendo a solução estoque de concentração de 0,4 mg mL⁻¹.

A partir desta solução estoque (0,4 mg mL⁻¹), por diluição foram preparadas as concentrações 0,01; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 e 0,1 mg mL⁻¹ para o óleo essencial das folhas e 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05 e 0,06 mg mL⁻¹ para o óleo essencial dos frutos de *X. aromatica*. Todos os pontos da curva de calibração foram preparadas e analisadas em triplicata.

Após a determinação da curva de calibração (linearidade), foi realizada a validação do método de quantificação do óleo essencial. Os parâmetros analíticos utilizados para validação foram a linearidade (curva de calibração), seletividade,

sensibilidade, exatidão, precisão, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).

A exatidão demonstra o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro. É expressa pela Equação 01

$$E = \frac{A}{B} \times 100, \text{ sendo } n = 3 \quad (01)$$

Em que, A representa a média da concentração e B a concentração nominal (concentração admitida como verdadeira).

A precisão é a capacidade do método em repetir o mesmo resultado, é representada pela Equação 02.

$$DPR (\%) = \frac{DP}{C} \times 100, \text{ sendo } n = 3 \quad (02)$$

É dado pela porcentagem do Desvio Padrão Relativo (DPR), em que DP é o desvio padrão e C é representado pela média das absorbâncias.

Para a determinação da exatidão e precisão do método analítico foram preparados soluções em três diferentes concentrações abrangendo toda a faixa linear de trabalho. A primeira com concentração 120% do menor ponto da curva, a segunda com concentração entre 40 e 60% do maior ponto da curva e o terceiro ponto com concentração entre 90 e 100% do último ponto (ou o maior ponto) da curva. Seguindo este parâmetro, foram definidas as concentrações de 0,012 mg mL⁻¹, 0,05 mg mL⁻¹ e 0,09 mg mL⁻¹ e de 0,012 mg mL⁻¹, 0,024 mg mL⁻¹ e de 0,054 mg mL⁻¹ para os óleos essenciais das folhas e frutos de *X. aromatica*, respectivamente. Dessa forma os valores selecionados não fazem parte dos pontos da curva, porém fazem parte da faixa linear trabalhada e para a determinação da precisão e exatidão da curva, as análises destas três soluções foram realizadas em dias alternados (inter-dia) e em três horários diferentes (intra-dia). Todo o processo foi realizado em triplicata.

O Limite de Detecção (LD) representa a menor concentração presente na amostra que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, enquanto o Limite de Quantificação (LQ) corresponde a menor concentração que pode ser

determinada quantitativamente com aceitável precisão e exatidão. A sensibilidade do método foi avaliada pela definição de LD e LQ calculados a partir de parâmetros da curva analítica (Equações 03 e 04).

$$LD = 3,3 \times \frac{S}{S} \quad (03)$$

$$LQ = 10 \times \frac{S}{S} \quad (04)$$

Em que s é o desvio padrão da resposta e S é o coeficiente angular (*Slope*) da curva de calibração.

4.5. Preparo das nanopartículas

As nanopartículas foram preparadas segundo o método de nanoprecipitação (Fessi *et al.*, 1989). Nanopartículas se referem a nanocápsulas e a nanoesferas que diferem entre si pela presença ou ausência do óleo em sua composição. O óleo quando presente forma um núcleo oleoso onde o princípio ativo fica disperso e é envolto por uma fina membrana polimérica, são as nanocápsulas (NC). Já as nanoesferas (NS), não possuem óleo em sua composição e o princípio ativo fica disposto em uma matriz polimérica (Figura 7).

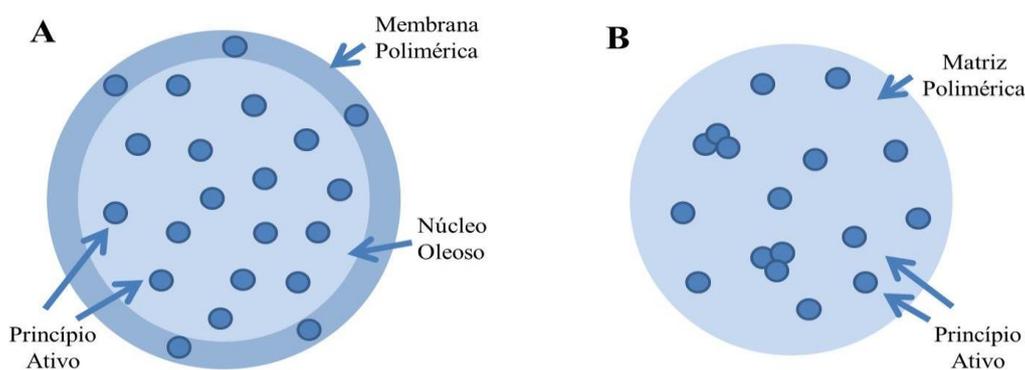


Figura 7. Esquema representando nanocápsulas (A) e nanoesferas (B). (Adaptado de Schaffazick *et al.*, 2003.)

O preparo das nanopartículas constituiu em verter a mistura de uma fase orgânica em outra fase aquosa. Primeiramente foi preparada a fase orgânica, contendo o polímero PCL (poli- ϵ -caprolactona), o princípio ativo (óleo essencial), miristato de

isodecila (nanocápsulas), tensoativo de baixo equilíbrio hidrofílico-lipofílico (EHL, Span60[®]) e o solvente orgânico (acetona) misturados sob agitação constante a temperatura de 25° C. A fase aquosa foi composta pelo tensoativo de elevado equilíbrio hidrofílico-lipofílico polissorbato 80 (EHL, Tween[®] 80) e água ultra pura. Após a dissolução dos constituintes, verteu-se a fase orgânica na fase aquosa. A solução coloidal resultante foi mantida sob agitação constante por 10 min e em seguida, retirado todo o solvente e reduzido ao volume final de 15 mL com auxílio do evaporador rotativo (Figura 8).

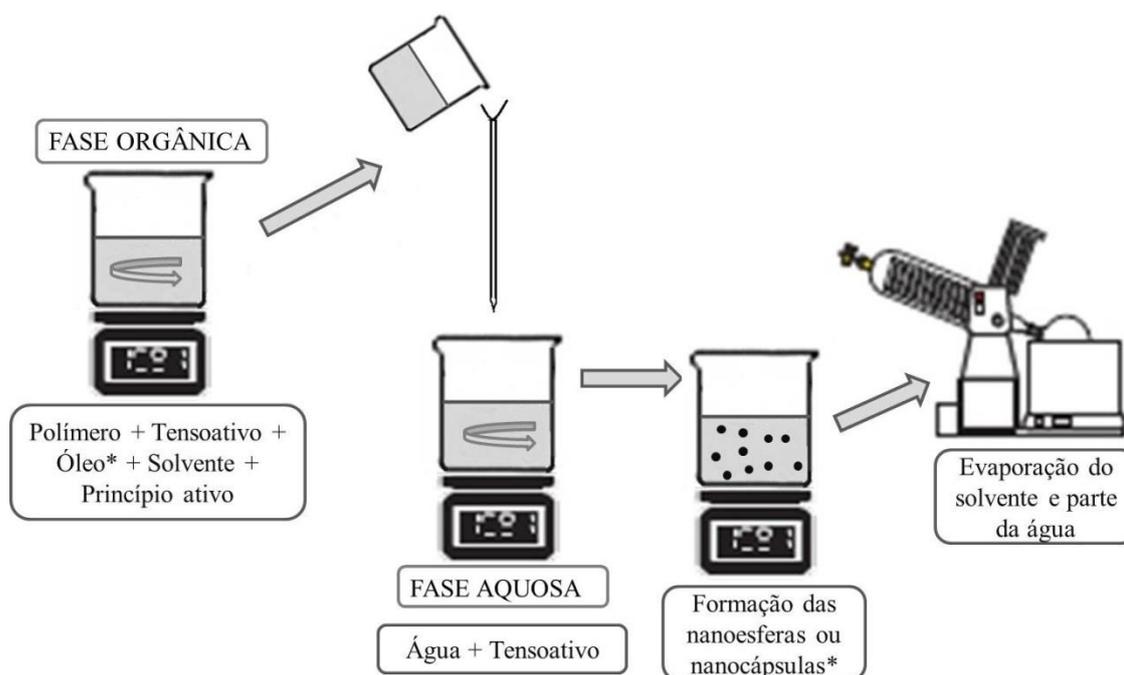


Figura 8. Esquema do método de nanoprecipitação na formação das nanopartículas.

A fim de determinar a melhor formulação para preparação das nanopartículas, foi realizado um planejamento fatorial para determinar a influência de fatores sobre as respostas de interesse (Souza *et al.*, 2012). Segundo estes autores, para analisar o efeito de qualquer fator sobre a resposta é necessário variar o nível do fator, observando sempre o resultado que ele impõe à resposta. Nesse sentido, foi preparado um planejamento fatorial 2^3 variando três variáveis em dois níveis no intuito de se encontrar as melhores concentrações de polímero PCL, óleo (Miristato de Isodecila) e princípio ativo (óleo essencial de folhas e frutos de *X. aromatica*). Os níveis escolhidos para cada variável podem ser observados nas Tabelas 1 e 2, onde todas as amostras foram preparadas em triplicatas.

Tabela 1. Fatores e níveis escolhidos para o planejamento fatorial 2^3 aplicado no preparo das nanopartículas poliméricas do óleo essencial dos frutos de *X. aromatica*.

Fatores	Níveis	
	-1	+1
O. E. (mg)	50	250
PCL (mg)	50	150
MIRISTATO (mg)	0	500

Legenda: O.E.: óleo essencial

Tabela 2. Matriz do planejamento fatorial 2^3 aplicado no preparo das nanopartículas poliméricas do óleo essencial dos frutos de *X. aromatica*.

Formulações	O. E.	PCL	MIRISTATO
NS.1	-	-	-
NS.2	+	-	-
NS.3	-	+	-
NS.4	+	+	-
NC.1	-	-	+
NC.2	+	-	+
NC.3	-	+	+
NC.4	+	+	+

Legenda: O.E.: óleo essencial

As massas de Span60[®] e do polissorbató Tween80[®] foram mantidas constantes em 100mg, o volume de água foi o dobro do volume do solvente orgânico acetona, sendo 20 mL e 10 mL, respectivamente.

De acordo com as respostas obtidas das análises físico-químicas das nanopartículas formuladas segundo o planejamento fatorial para o óleo essencial dos frutos foram definidas as formas de trabalho para o óleo essencial das folhas de *X. aromatica*, conforme apresentado na Tabela 3. As massas e volumes dos demais componentes foram mantidos os mesmos.

Tabela 3. Formulação da nanoesfera do óleo essencial das folhas de *X. aromatica*.

Formulação	Componentes		
	O.E(mg)	PCL(mg)	Miristato (mg)
NSfo	250	50	0

Legenda: NSfo: nanoesfera do óleo essencial das folhas de *X. aromatica*; O.E.: óleo essencial

4.6. Caracterização das Nanopartículas

As nanopartículas de óleo essencial de folhas e frutos de *X. aromatica* foram analisadas por espectroscopia UV/VIS à $\lambda=231$ e $\lambda=232\text{nm}$ respectivamente.

4.6.1. Determinação da eficiência de encapsulação do óleo essencial

Para determinação da eficiência de encapsulação foi utilizada a técnica de filtração-centrifugação. Foram adicionados 1mL de solução coloidal de nanopartículas em Tubos Spin-X (Corning[®], tubos semelhante a um *ependorf* contendo um compartimento revestido de acetato de celulose com poros de $0,22\mu\text{m}$) que foram levados à centrífuga refrigerada por 1 hora a 20°C em 8.000 rpm.

Após uma hora na centrífuga foi reirado o ultra-filtrado e extraído o óleo essencial por extração líquido-líquido com 2 mL de hexano. O óleo essencial em hexano foi analisado no UV/VIS. A concentração de óleo essencial presente no ultrafiltrado foi calculada de acordo com a equação da curva de calibração do método desenvolvido (item 4.4).

A eficiência de encapsulação (EE%), em porcentagem, foi determinada pela diferença entre a quantidade total de óleo essencial utilizada no preparo da amostra (concentração nominal) e a quantidade total de óleo essencial presente no ultrafiltrado através do uso da Equação 05:

$$EE\% = \frac{B - A}{B} \times 100 \quad (05)$$

Em que A é a concentração total de óleo essencial no ultrafiltrado (mg mL^{-1}) e B é a concentração total na suspensão (mg mL^{-1}).

4.6.2. Determinação do pH

Os valores de pH das suspensões coloidais foram determinados diretamente nas suspensões através de pHmetro (Medidor de pH mPA 210, MS Tecnopon Instrumentação), previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e pH 7,0 logo após o preparo das soluções.

4.6.3. Determinação do Potencial Zeta das partículas

O potencial zeta (PZ) foi medido por aparelho Zeta Sizer Nano Z-S (Malvern) na Central Analítica Multiusuário do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás para observação da estabilidade das suspensões. Para tal, as amostras foram diluídas em água ultra pura na proporção de 1/10. As análises foram realizadas em triplicata.

4.6.4. Determinação do diâmetro das partículas

O diâmetro das partículas em suspensão foi determinado em Zeta Sizer Nano Z-S (Malvern) na Central Analítica Multiusuário do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás. As amostras foram diluídas em água ultra pura para a concentração final de 1/10 (v/v) e analisadas em triplicata.

4.6.5. Estudos de liberação gradual

O estudo do perfil de liberação das nanopartículas foi realizado através da técnica de diálise inversa conforme Magenheimer & Benita (1991). Para tal, foram adicionados 10 mL de suspensão das nanoesferas (NS2 ou NSfo) em 100 mL de água ultra pura levando a concentração teórica de 12,5 mg mL⁻¹. Nessa suspensão, foi adicionado dez sacos de diálise (membrana de celulose MM 12000D, Sigma-Adrich Química, Sintra, Portugal) contendo 1,0 mL de solução aquosa Tween 80 a 0,5%. O sistema foi mantido sob agitação magnética em temperatura constante de 20 °C. Todo o procedimento foi realizado em triplicata.

Em intervalos de tempo previamente estabelecidos (0, 30 min, 1, 2, 3, 6, 9, 12, 24, 48 e 72h), os sacos de diálise foram retirados e o óleo essencial liberado foi separado por extração líquido-líquido utilizando 2 mL de hexano e a quantificação do óleo essencial liberado foi realizada por espectroscopia UV/VIS.

4.6.7. Degradação acelerada pela luz UV

Os estudos de degradação acelerada pela luz UV das substâncias encapsuladas foram realizados em câmara de envelhecimento acelerado por Ultravioleta construída com conjunto de quatro lâmpadas especiais (Philipps 40 cm, 15 W, quartzo) que simulam a radiação no espectro do UV-A e UV-B com comprimentos de onda entre 400-320 e 320-280 nm, respectivamente.

Para tanto foram colocados na câmara 1 mL/*vial* da suspensão de nanoesferas contendo 12,5 mg mL⁻¹ de óleo essencial (NS2 ou NSfo) ou da solução de óleo essencial *in natura* (12,5 mg mL⁻¹ em solução aquosa Tween 80 a 0,5%). Além destes, foi adicionado 1 mL/*vial* do controle negativo contendo solução de óleo essencial *in natura* (12,5 mg mL⁻¹ em aquosa Tween 80 a 0,5%), cujo *vial* foi revestido com papel alumínio para evitar a fotodegradação.

Em intervalos de tempos estabelecidos (0, 30 min, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9 e 12 h), foram retirados do sistema uma alíquota (1 mL) de cada amostra e realizada a extração líquido-líquido com hexano (2 mL). Em seguida foi feita a quantificação de óleo ainda presente por espectroscopia UV/VIS.

4.7. Ensaios Biológicos

4.7.1. Criação e Manutenção de *Bemisia tabaci*

Os indivíduos de *B. tabaci* biótipo B utilizados nos bioensaios, foram oriundos da Casa de Criação do laboratório de Entomologia do IF Goiano-*campus* Rio Verde, onde os espécimes são provenientes de doação da Embrapa Arroz e Feijão. A criação de moscas-brancas foi realizada em casas de criação tipo gaiola teladas com tecido *voil* (1,8m altura x 0,8m largura x 1,5m comprimento) e alimentadas com couve (*Brassica oleraceae*), feijão (*Phaseolus vulgaris.*) e soja (*Glycine max*). Quinzenalmente foram introduzidas plantas novas em substituição as senescentes. Sempre que necessário, foi introduzido esterco bovino e água nos vasos.

4.7.2. Instalação dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos em Casa de Vegetação, localizada na fazenda – escola do IF Goiano *campus* Iporá. Os experimentos de teste de repelência com e sem chance de escolha foram realizados nos meses de novembro e dezembro de 2014 e janeiro de 2015.

Iporá está situado na região denominada Centro-Oeste Goiano na microrregião de Iporá, no Estado de Goiás, localizado a 16° 28' Latitude Sul e 31° 06' Longitude Oeste (IPORÁ, 2001), e seu clima regional se caracteriza pela existência de período seco marcado por 5 meses, e período chuvoso, entre os meses de outubro e março (total pluviométrico correspondente a 87% do total anual) com índices mensais superiores a 100 mm, destacando os meses de novembro a março com precipitação mensal

superiores a 200 mm, sendo que em janeiro as chuvas ultrapassam os 300 mm (SEMARH, 2006).

Para realização dos ensaios biológicos dos óleos essenciais das folhas e frutos de *X. aromatica*, foram utilizadas plantas de feijão cultivar Ouro Vermelho (*Phaseolus vulgaris*.), cuja sementes foram provenientes da Universidade Federal de Viçosa cedidas gentilmente pelo Eng. Agrônomo Estênio Moreira. As sementes foram plantadas em vasos de 1,5 L, contendo como substrato uma parte de esterco bovino e outra de terra vermelha devidamente corrigida conforme indicação de prévia análise. Em cada vaso, foi plantada apenas uma semente. A irrigação era realizada diariamente uma vez ao dia, as mudas foram utilizadas 40 dias após o plantio. As mudas de feijão foram mantidas dentro de casa de vegetação até o momento do bioensaio.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados para o teste de repelência com chance de escolha e inteiramente ao acaso para os testes de repelência sem chance de escolha.

4.7.3 Teste de repelência dos óleos essenciais contra *B. tabaci* em feijoeiro

4.7.3.1. Teste de repelência com chance de escolha

Para os testes com chance de escolha, foram definidas as concentrações de 0,1; 0,25; 0,5; 1,0 e 2,0% de óleo essencial (*in natura* e nanoencapsulado) das folhas e dos frutos de *X. aromatica*. Para melhor dispersão do óleo essencial em água, foi utilizado Tween 80[®] a 0,5%. Foi utilizado como controle positivo o defensivo Piryproxifen a 1% (Tiger[®]) e como controles negativos foram utilizados água ultrapura e uma solução aquosa de Tween 80[®] a 0,5%. Todos os tratamentos foram aplicados ao feijoeiro com auxílio de um pincel de cerdas macias.

Foi considerada uma planta por tratamento sendo que foram escolhidas quatro folhas como repetições. No total, para cada um dos óleos essenciais, das folhas e dos frutos de *X. aromatica*, foram utilizadas cinco plantas, uma para cada concentração e outras três plantas receberam os tratamentos controles.

As plantas foram devidamente identificadas e dispostas em um grande círculo ao centro de uma gaiola (1,8m de altura x 0,8m de largura x 1,5m de comprimento) coberta com tecido *voil*. As moscas brancas foram capturadas com auxílio de um sugador entomológico e liberadas ao centro deste círculo, equidistantes das mudas de feijão, 200 moscas por tratamento, totalizando 2.600 indivíduos de *B. tabaci* (Figura 9). Os

feijoeiros foram mantidos expostos a oviposição pelo período de 24h e após esse período as plantas foram isoladas do contato com a mosca branca. Posteriormente, passadas mais 24h foi realizada a contagem dos ovos com auxílio de um microscópio estereoscópico com aumento de 20x.



Figura 9. Gaiola de tecido *voil* onde foram conduzidos os testes.

4.7.3.2. Teste de repelência sem chance de escolha

No teste sem escolha foram utilizadas as mesmas concentrações e controles que no teste com escolha, bem como a forma de aplicação das soluções no feijoeiro. Após receber os tratamentos das soluções e dos controles, a planta que recebeu o tratamento foi vestida com sacos de tecido *voil* 0,3 X 0,38m infestado com 200 indivíduos de *B. tabaci* que foram previamente capturados com ajuda do sugador entomológico. O saco foi obstruído com barbante de algodão prendendo-o ao vaso de plantio, para que as moscas não fugissem durante o período da exposição (Figura 10). Após 24 h de exposição aos indivíduos adultos para oviposição os sacos de tecido *voil* foram retirados e as plantas isoladas do contato com as moscas brancas e foi realizada a contagem conforme item 4.7.3.1.



Figura 10. Teste sem escolha com *B. tabaci* em plantas de *Phaseolus vulgaris*.

4.7.4. Estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado constituído de oito tratamentos com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância, realizada no programa computacional SASM-Agri, sendo a comparação entre médias feita pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Determinação do teor de óleo essencial

Tendo como rendimento de 100% a extração realizada no tempo de 4 horas, os demais tempos foram calculados por regra de três. Desta forma, as folhas apresentaram rendimento de 100% com 4 hora de extração e rendimento de 36,7% e 40% com 1 e 2 horas respectivamente, conforme demonstrado na Figura 11-A. Já na extração do óleo essencial dos frutos, foi observado rendimento de 97,89% com 1h de extração e 99,29% com duas horas de extração (Figura 11-B). Esses resultados indicam que o tempo ideal para a extração do óleo essencial dos frutos é de 2 horas, já que neste tempo foi possível extrair 99,29% do óleo essencial, tendo assim economia de tempo de 2h/extração. Já a extração das folhas tem seu rendimento máximo com 4 horas de extração, já que nos outros tempos avaliados a diferença em rendimento foi mais de 50%.

Segundo Ehlert e colaboradores (2006), pouco se sabe sobre a influência do tempo na extração do óleo essencial, sendo que há extensa variabilidade nos tempos utilizados, tendo registros de uma hora até oito horas de hidrodestilação, entretanto há grande uniformidade para o uso de quatro horas. Os dados demonstram que se deve fazer avaliação prévia do tempo de extração antes de se iniciar um trabalho visando a obtenção de óleo essencial a fim de se evitar o desperdício e elevar os custos.

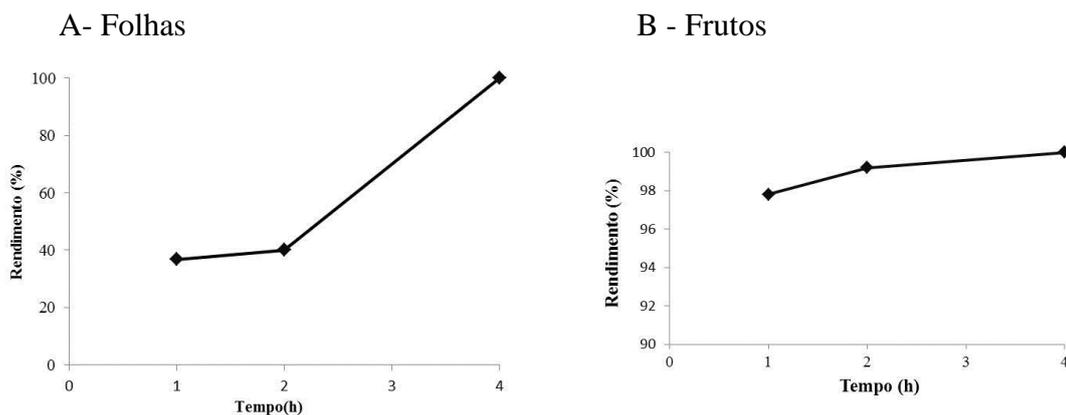


Figura 11. Rendimento (%) de óleo essencial em função do tempo de hidrodestilação. A- Rendimento do óleo essencial das folhas de *X. aromatica*; B- Rendimento do óleo essencial dos frutos de *X. aromatica*.

O óleo essencial das folhas apresentou coloração levemente amarela e rendimento de 0,05% (Tabela 4) com 4 h de extração. Já os frutos, apresentaram óleo essencial incolor e rendimento médio de 0,87 % com 2 h de extração (Tabela 5). Andrade e colaboradores (2004) analisando o teor de óleo essencial das folhas e frutos de *X. aromatica* no Estado do Pará, obtiveram teor de 0,2% e 0,8% respectivamente com 4 horas de extração. Lago e colaboradores (2003) obtiveram o teor de 0,08% de óleo essencial das folhas de *X. aromatica*.

Nota-se que há variação no rendimento do óleo essencial das folhas no decorrer do ano e/ou região de coleta. Essa variação pode ocorrer por vários fatores, dentre eles, a sazonalidade, a idade da parte da planta que está sendo utilizada, o ritmo circadiano entre outros fatores que afetam não só a quantidade, mas também na qualidade deste óleo essencial (GOBBO-NETO & LOPES, 2007).

Tabela 4: Rendimento do óleo essencial obtido por hidrodestilação das folhas de *X. aromatica* com 4 h de extração

Mês das extrações	Massa (g) folhas frescas	Massa (g) do óleo essencial	Rendimento (%)
Setembro (2013)	254,6	0,0776	0,03
Outubro (2013)	305,8	0,084	0,03
Janeiro (2014)	2375,70	1,47	0,06
Fevereiro (2014)	1518,4	0,921	0,06
Julho (2014)	256,3	0,1051	0,04
Agosto (2014)	451,9	0,2162	0,05
Setembro (2014)	518,4	0,2656	0,05
Outubro (2014)	762,5	0,4918	0,06
	6443,6	3,6355	0,05

Tabela 5: Rendimento do óleo essencial obtido por hidrodestilação dos frutos de *X. aromatica* com 2 h de extração

Mês das extrações	Massa(g) fruto fresco	Massa (g) do óleo essencial	Rendimento (%)
Fevereiro (2014)	4598,33	25,078	0,55
Março (2014)	1697,63	20,13	1,19
	6295,96	45,208	0,87

Os frutos de *Xylopiya aromatica* apresentaram alto teor de óleo essencial, e foi observado que a maturação dos frutos aumenta o rendimento, o que é comprovado pelo alto rendimento do óleo essencial no mês de março onde os frutos já estavam bem maduros. Este resultado corrobora com o afirmado por Gobbo-Neto e Lopes (2007), que afirma que a idade da parte planta é um dos fatores de influência sobre o óleo essencial.

5.2. Análises químicas dos óleos essenciais

5.2.1. Composição química dos óleos essenciais

Um dos métodos utilizados para identificar um componente de um óleo essencial, é a análise cromatográfica gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM), pela determinação do seu índice de Kovats (IK) pelo cálculo do índice de retenção linear pela equação de Van Den Doll e Kratz (Equação.06). Este índice é determinado através da injeção de uma mistura de n-alcanos conhecido. Neste trabalho, a

composição química do óleo essencial das folhas e frutos da *X. aromatica* foi determinada pelo cálculo do IK de cada componente e pela comparação de seus espectros de massas com os existentes na literatura (ADAMS, 2007; GOODNER, 2008; ARAÚJO, *et al.*, 2003).

$$IR = 100i \times \frac{TRa - TRha}{TRhp - TRha} + 100N \quad (06)$$

Sendo que *TRa* corresponde ao tempo de retenção do composto problema, *TRha* é o tempo de retenção do hidrocarboneto anterior, *TRhp* corresponde ao tempo de retenção do hidrocarboneto posterior e *N* é o número de carbonos do hidrocarboneto posterior.

A Figura 12 traz o cromatograma obtido da análise em CG-EM do óleo essencial das folhas de *X. aromatica*. Pela análise deste, foi detectada a presença de 42 compostos dos quais foram identificados apenas 85,7%. Os compostos identificados estão dispostos na Tabela 6, sendo que os mais evidentes, os chamados majoritários são: γ -elemeno (38,63%), sabineno (21,39%), α -pineno (7,05%), β -pineno (6,63%) e limoneno (2,81%).

Em uma análise fitoquímica realizada no óleo essencial das folhas de *X. aromatica* da região Amazônica foram encontrados 27 compostos e os majoritários foram o biciclogermacreno (36%), o espatulenol (20%) e limoneno (5%), os compostos γ -elemeno, sabineno, α -pineno, β -pineno, também estavam presentes, porém em concentrações menores (ANDRADE, *et al.*, 2004). Já Lago e colaboradores (2003) encontraram como majoritários, α -pineno (26,1%), limoneno (22,3%), biciclogermacreno (20,4%) e β -pineno (19,0%) num total de 12 compostos em análise do óleo essencial das folhas da *X. aromatica* da Mata Atlântica.

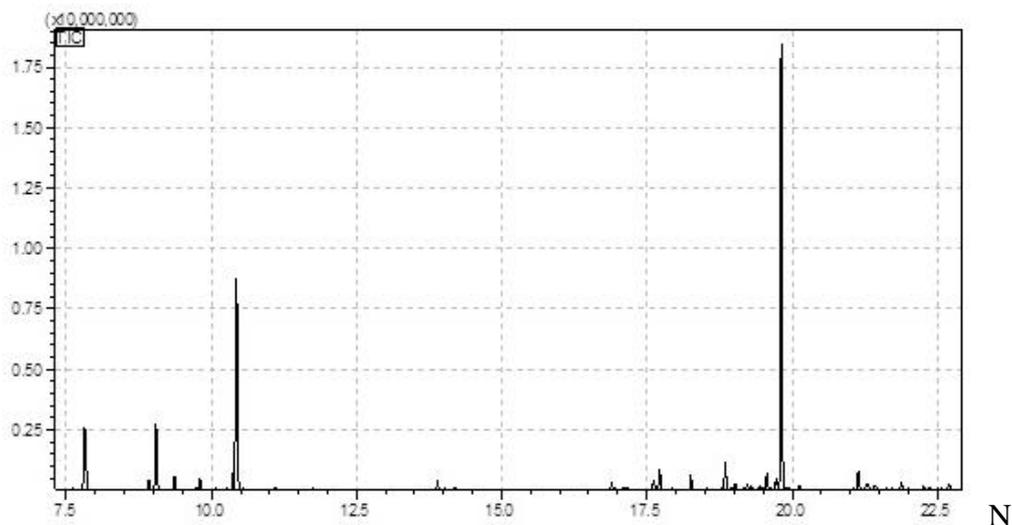


Figura 12. Cromatograma obtido em CG-EM para óleo essencial das folhas de *Xylopiá aromaticá*. Condições: Gás de arraste Hélio (He); temperatura inicial de 60° C, a temperatura da coluna aumentou de 3° C/min até 280°.

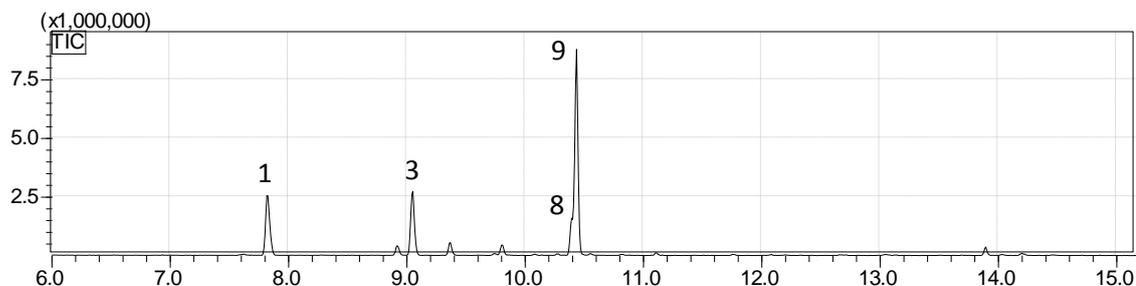


Figura 13. Ampliação da primeira parte do cromatograma obtido em CG-EM para óleo essencial das folhas de *Xylopiá aromaticá* com indicação dos picos referentes aos compostos majoritários. Condições: Gás de arraste Hélio (He); temperatura inicial de 60° C, a temperatura da coluna aumentou de 3° C/min até 280°.

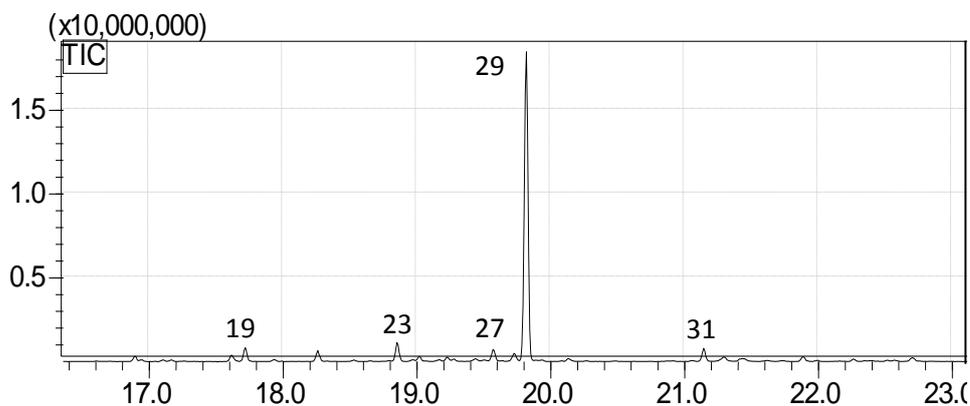


Figura 14. Ampliação da segunda parte do cromatograma obtido em CG-EM para óleo essencial das folhas de *Xylopiá aromaticá* com indicação dos picos referentes aos compostos majoritários. Condições: Gás de arraste Hélio (He); temperatura inicial de 60° C, a temperatura da coluna aumentou de 3° C/min até 280°.

Esse fato se deve a grande influência exógena na produção de metabólitos secundários, o fato de cada planta ser de uma região do país com condições climáticas, solos, disponibilidade hídrica e incidência de luz diferentes, faz com que o teor e a composição química dos óleos essenciais sejam diferentes embora sejam da espécie.

Tabela 6. Composição química do óleo essencial das folhas de *X. aromatica*.

PICO	TR (min)	COMPOSTO	ÁREA (%)	IK
1	7.821	α -pineno	7.05	934
2	8.918	β -tujeno	0.95	946
3	9.047	β -pineno	6.63	955
4	9.363	β -mirceno	1.24	978
5	9.737	pseudolimoneno	0.13	1003
6	9.804	α -felandreno	0.95	1006
7	10.269	<i>p</i> -cimeno	0.14	1025
8	10.395	limoneno	2.81	1030
9	10.433	sabineno	21.39	1031
10	10.550	β - <i>trans</i> -ocimeno	0.13	1036
11	11.107	γ -terpineno	0.25	1059
12	13.891	4-terpineol	0.69	1183
13	14.200	α -terpineol	0.24	1197
14	16.892	elixeno	0.51	1337
15	16.936	δ -elemeno	0.20	1339
16	17.101	citronelol	0.19	1348
17	17.163	α -cubebeno	0.20	1352
18	17.614	acetato de nerilo	0.87	1376
19	17.716	α -copaeno	1.70	1382
20	17.933	β -elemeno	0.24	1394
21	18.257	α -gurjuneno	1.21	1413
22	18.527	isocariofileno	0.20	1428
23	18.852	alloaromadendreno	2.24	1448
24	19.017	α -guaiano	0.61	1457
25	19.225	aromadendreno	0.55	1470
26	19.436	α -neoclevono	0.46	1482
27	19.569	germacreno-D	1.52	1490
28	19.726	viridifloreno	1.30	1499
29	19.815	γ -elemeno	38.63	1505
30	20.132	δ -cadineno	0.42	1525
31	21.142	espatulenol	1.54	1587
32	21.293	viridiflorol	0.84	1597
33	21.408	guaiol	0.12	1704
34	21.432	cubenol	0.66	1705
35	21.616	elemol	0.19	1717
36	22.701	Andrographolide	0.54	1785

¹TR- tempo de retenção;

²IK – índice de Kovats calculado pela equação Van Den Doll e Kratz.

A Figura 15 traz o cromatograma do óleo essencial dos frutos de *X. aromatica*, obtido em CG-EM equipado com coluna capilar DB-5. Através da análise dos espectros dos picos chegou-se ao total de oito compostos químicos (Tabela 7).

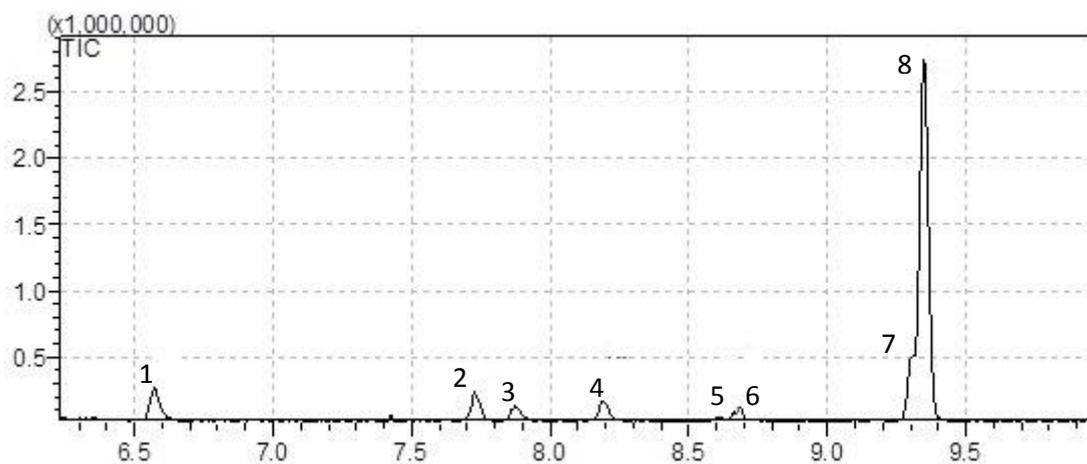


Figura 15. Cromatograma obtido em CG-EM para óleo essencial dos frutos de *Xylopiá aromática*. Condições: Gás de arraste Hélio (He); temperatura inicial de 60° C, a temperatura da coluna aumentou de 3° C/min até 280°.

As análises indicaram como composto majoritário o sabineno (69,72%), seguido por limoneno (7,09%), 1R- α -pineno (6,85%), α -tujeno (5,12%), β -mirceno (3,69%), α -pineno (3,39%), α -felandreno (2,91%) e por último cis- β -ocimeno (0,22%).

Tabela 7. Composição química do óleo essencial dos frutos de *X. aromática*.

PICO	TR (min)	COMPONENTES	ÁREA (%)	IK
1	6,573	1R- α -Pineno	6,85	-
2	7,727	α -tujeno	5,12	930
3	7,876	α -pineno	3,39	935
4	8,19	β -mirceno	3,69	947
5	8,601	cis- β -ocimeno	0,22	962
6	8,675	α -felandreno	2,91	964
7	9,308	limoneno	7,09	987
8	9,348	sabineno	69,72	989

¹TR- tempo de retenção;

²IK – índice de Kovats calculado pela equação Van Den Doll e Kratz.

Diferentemente foram encontrados 33 compostos no óleo essencial dos frutos da *X. aromática* da região da Amazônia, sendo que os compostos limoneno (36,4%), α -pineno (19,2%) e β -pineno (13,3%) compreendem mais de 68% do total dos componentes químicos do óleo essencial dos frutos (ANDRADE *et al.*, 2004).

5.3. Quantificação do óleo essencial das folhas e frutos de *X. aromatica*

Atualmente, cada vez mais é necessário mostrar qualidade nas medições químicas e isso se dá através de sua comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade. Dados analíticos não confiáveis podem resultar em sérios problemas induzidos por análises errôneas, gerando prejuízos irreparáveis, tanto para a ciência quanto financeiro (RIBANI *et al.*, 2004). Segundo a ANVISA (2013) a validação deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados.

Os óleos essenciais foram quantificados por espectroscopia UV/VIS de acordo com a absorbância encontrada na varredura previamente realizada. A varredura dos óleos essenciais indicou o comprimento de onda de máxima absorbância obtida, sendo $\lambda=231\text{nm}$ e $\lambda=232\text{nm}$ para o óleo essencial das folhas e frutos, respectivamente. As Figuras 16 A e B trazem os espectros de varreduras dos óleos essenciais.

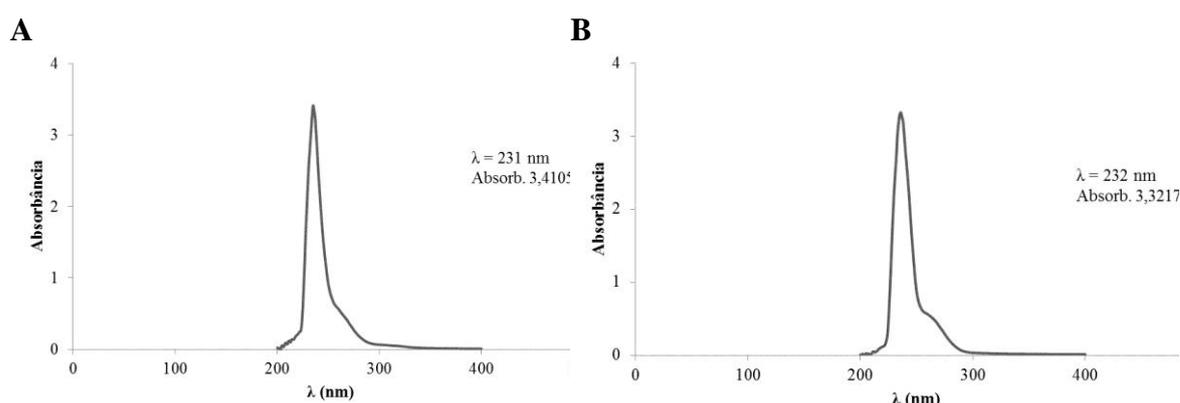


Figura 16. Espectros de varredura por espectroscopia UV/VIS dos óleos essenciais A- das folhas de *X. aromatica*; B- dos frutos de *X. aromatica*.

5.3.1. Validação do método analítico desenvolvido para a quantificação do óleo essencial das folhas de *X. aromatica*.

As curvas de calibração foram obtidas em função das absorbâncias máxima ($\lambda_{\text{max}}=231\text{nm}$) das bandas cromatográficas, relativas às concentrações 0,01, 0,02, 0,04, 0,06, 0,08 e 1,0 mg mL^{-1} .

A curva de calibração do óleo essencial das folhas de *X. aromatica* foi obtida por regressão linear, e a equação da reta foi $y=16,681x+0,02$, em que y é absorbância máxima obtida e x é a concentração do óleo essencial das folhas de *X. aromatica* em mg mL^{-1} e o coeficiente de correlação linear (R^2) foi 0,9968 (Figura 17).

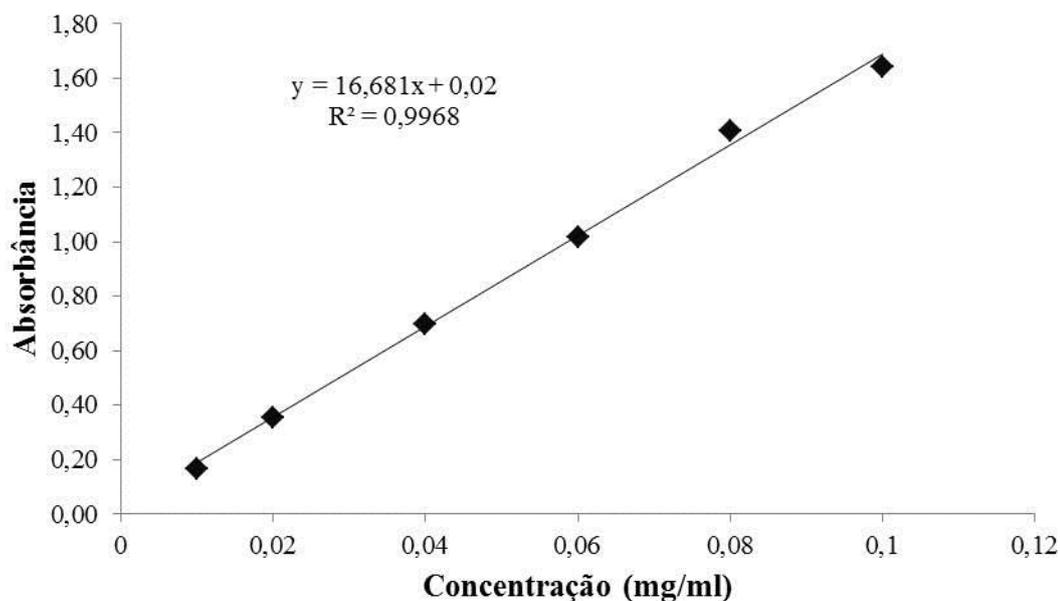


Figura 17. Curva de calibração do óleo essencial das folhas de *X. aromatica*.

A Tabela 8 demonstra os valores médios das absorbâncias, desvio padrão, precisão e exatidão das amostras da curva de calibração.

Tabela 8. Média das absorbâncias, precisão e exatidão obtidas na construção da curva de calibração por padronização externa.

Conc. Nominal (mg mL ⁻¹)	Média Abs.	Desvio Padrão	Precisão (%)	Exatidão
0,01	0,17	0,04	23,39	90,47
0,02	0,36	0,05	12,83	101,03
0,04	0,70	0,03	4,95	99,01
0,06	1,02	0,04	4,29	97,57
0,08	1,41	0,05	3,48	99,08
0,1	1,64	0,06	3,90	93,17

Para determinação da precisão, foi calculado o desvio padrão relativo, DPR (%) que é a porcentagem do quociente do desvio padrão pela média, sendo n=9. A precisão é a capacidade que um método tem e repetir os mesmos resultados e é dada pela porcentagem do quociente da média da concentração pela concentração nominal, com n=9. As Tabelas 9 e 10 demonstram os valores de precisão e exatidão da validação do método analítico.

Tabela 9. Resultados de precisão obtidos pelo método desenvolvido.

Conc. Nominal (mg mL ⁻¹)	Intra-dia 1 (n=3)	Intra-dia 2 (n=3)	Intra-dia 3 (n=3)	Inter-dia n=9	DP
0,012	0,2	0,1	0,1	0,13	0,06
0,05	0	0	0	0	0
0,09	0	0	0	0	0

Tabela 10. Resultados de exatidão obtidos pelo método desenvolvido.

Conc. Nominal (mg mL ⁻¹)	Intra-dia 1 (n=3)	Intra-dia 2 (n=3)	Intra-dia 3 (n=3)	Inter-dia n=9	DP
0,012	100,52	100,64	100,58	100,6	0,1
0,05	100,31	100,69	100,20	100,40	0,3
0,09	101,20	101,04	101,14	101,1	0,1

Sendo o valor do desvio padrão do intercepto de 0,016 e o desvio padrão do coeficiente angular de 0,324, pode-se calcular os LQ e LD da curva de calibração do óleo essencial das folhas de *X. aromatica*, 0,0091 mg mL⁻¹ e 0,0030 mg mL⁻¹, respectivamente. Neste caso, o LQ (0,0030 mg mL⁻¹) teve valor menor que o primeiro ponto a curva que foi de 0,01 mg mL⁻¹, provando que o método é exato e preciso em toda a sua faixa de trabalho.

5.3.2. Validação do método analítico desenvolvido para a quantificação do óleo essencial dos frutos de *X. aromatica*.

A curva de calibração foi obtida em função das absorbâncias relativas às seis concentrações (0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05 e 0,06 mg mL⁻¹). A média das absorbâncias foi analisada com regressão linear e plotadas em gráfico do Excel, gerando a curva analítica com equação de $y = 52,414x + 0,029$ e o coeficiente de correlação linear (R^2) foi igual a 1. A Figura 18 ilustra estes resultados.

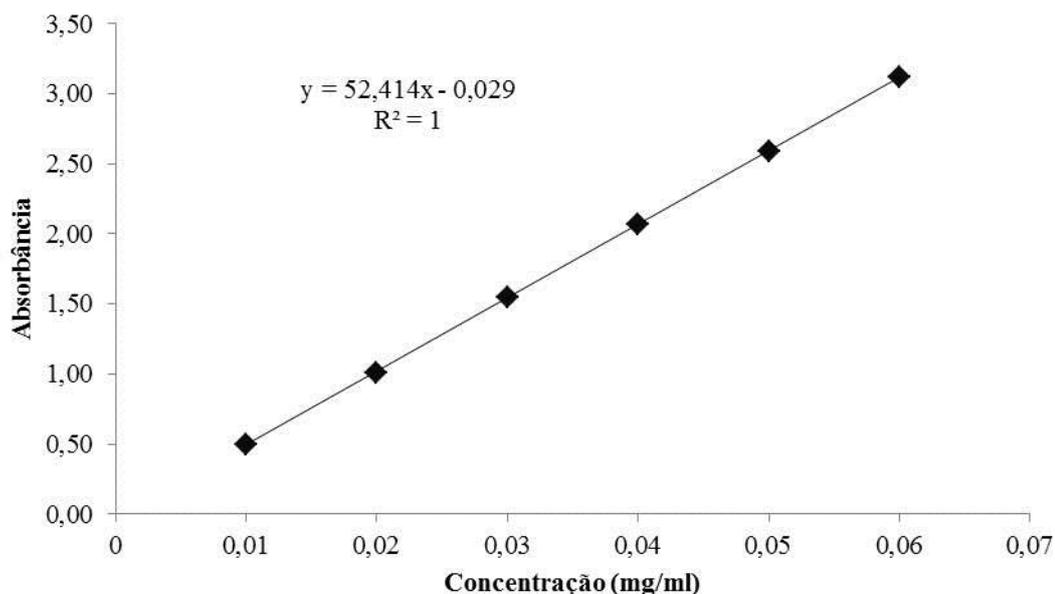


Figura 18. Curva de calibração do óleo essencial dos frutos de *X. aromatica*.

A Tabela 11 traz a média das absorbâncias, desvio padrão, precisão e exatidão da curva de calibração obtidos por padronização externa.

Tabela 11. Média das absorbâncias, precisão e exatidão obtidas na construção da curva de calibração por padronização externa.

Conc. Nominal (mg mL ⁻¹)	Média Abs.	Desvio Padrão	Exatidão	Precisão (%)
0,01	0,50	0,00	99,96	0,35
0,02	1,01	0,00	99,37	0,21
0,03	1,55	0,00	100,63	0,26
0,04	2,07	0,00	100,23	0,11
0,05	2,59	0,00	99,80	0,12
0,06	3,12	0,00	99,97	0,13

As Tabelas 12 e 13 trazem a exatidão e a precisão (%), respetivamente do método validado.

Tabela 12. Resultados de precisão obtidos pelo método desenvolvido.

Conc. Nominal (mg mL ⁻¹)	Intra-dia 1 (n=3)	Intra-dia 2 (n=3)	Intra-dia 3 (n=3)	Inter-dia n=9	DP
0,012	0	0	0	0	0
0,024	0	0	0	0	0
0,054	0,20	0,20	0,00	0,13	0,12

O desvio padrão do coeficiente angular foi e 0,220 e o desvio padrão do intercepto foi de 0,007 estes dados permitiram o cálculo do LQ e LD. Os valores para LQ foram de 0,0005 mg mL⁻¹ e LQ foram de 0,0014 mg mL⁻¹, indicando que todo o método avaliado foi linear, exato e preciso, pois o LQ está abaixo que o primeiro ponto da curva de calibração do óleo essencial dos frutos de *X. aromatica* 0,01 mg mL⁻¹.

Tabela 13. Resultados de exatidão obtidos pelo método desenvolvido.

Conc. Nominal (mg mL ⁻¹)	Intra-dia 1 (n=3)	Intra-dia 2 (n=3)	Intra-dia 3 (n=3)	Inter-dia n=9	DP
0,012	101,60	101,60	101,60	101,60	0,00
0,024	100,89	100,89	100,89	100,89	0,00
0,054	102,67	102,55	102,79	102,67	0,12

5.4. Caracterização das Nanopartículas

5.4.1. Análise físico-química das nanopartículas

A tecnologia de nanopartículas tem grande importância no que tange a liberação gradual do princípio ativo. A taxa na qual o ingrediente ativo é liberado a partir de formulações convencionais está intimamente relacionada com altas quantidades, pois para atingir o esforço necessário se utiliza altas concentrações, que muitas das vezes acarretam em efeitos tóxicos (SOUZA *et al.*, 2012). Neste sentido, há a crescente necessidade de criação de novos meios de liberação desses princípios ativos. Como grande exemplo se tem o agrotóxico, pois a cada ano, para atender a grande demanda de produção de alimentos aumenta-se o uso destes produtos a fim de alcançar as metas de produtividade. A grande necessidade de encontrar métodos de utilização de pesticidas menos agressivos ao meio ambiente traz a tona a associação entre o uso de uma liberação gradual destes agrotóxicos com a nanotecnologia (KHOT *et al.*, 2014; KUMAR *et al.*, 2014)

Em um sistema de liberação gradual, o princípio ativo é liberado independentemente dos fatores externos e com uma cinética bem estabelecida oferecendo assim, maior eficácia com prolongamento do seu tempo de vida, diminuição da toxicidade, administração segura com menor quantidade utilizada e menor número de doses, diminui os riscos de intemperismos (lixiviação e escoamento), não age sobre organismos não alvos, reduzindo assim a quantidade de pesticidas lançadas no meio

ambiente e consequentemente reduzindo os impactos ambientais e promovendo maior qualidade aos alimentos (FERNÁNDEZ-PÉREZ *et al.*, 1999).

Segundo Kah e colaboradores (2014), os polímeros utilizados nas formulações das nanopartículas tem grande influência sobre a forma de liberação do princípio ativo, e muitos têm grande destaque no meio científico pela sua aplicabilidade na saúde e atualmente na agricultura, pois são biodegradáveis, não tóxicos e biocompatíveis com a natureza. Deste modo, a nanotecnologia oferece a perspectiva de grandes avanços, principalmente no campo da agricultura, que permitem melhorar a qualidade de vida e ajudar a preservar o meio ambiente. Fato este que pode ser ainda mais melhorado quando se utiliza produtos naturais com ação inseticida aliado à liberação gradual das nanopartículas.

Neste sentido foram preparadas oito formulações de nanopartículas de óleo essencial dos frutos de *X. aromatica*, de acordo com os níveis máximo e mínimo dos fatores conforme o planejamento fatorial. Todas as formulações foram preparadas em triplicata. Os fatores variados em dois níveis (superior e inferior) foram o princípio ativo (óleo essencial dos frutos de *X. aromatica*), PCL e óleo (miristato de isodecila que variou entre 0 mg e 250 mg, formando assim nanocápsulas – NC - e nanoesferas - NS).

Os efeitos dos fatores foram avaliados sobre cinco respostas: pH, potencial zeta (PZ), diâmetro de partículas (DP), índice de polidispersão (PDI) e eficiência de encapsulação (EE%). Todos os parâmetros foram avaliados logo após o preparo das formulações, e são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14. Resultados de pH, DP, PZ, PDI e EE(%) para as formulações de nanocápsulas (NC) e nanoesferas (NS) (\pm Desvio Padrão) do óleo essencial dos frutos de *X. aromatica*.

	A ¹	B ²	C ³	pH	DP ⁴ (nm)	PZ ⁵ (mV)	PDI ⁶	EE ⁷ %
NS1	-	-	-	5,79 \pm 0,1	101,62 \pm 4,3	-22,15 \pm 1,1	0,20 \pm 0,1	97 \pm 1,1
NS2	+	-	-	5,12 \pm 0,3	124,57 \pm 17,8	-22,51 \pm 8,8	0,27 \pm 0,1	99 \pm 0,0
NS3	-	+	-	5,51 \pm 0,1	116,61 \pm 16,7	-25,64 \pm 3,7	0,21 \pm 0,1	99 \pm 0,0
NS4	+	+	-	5,26 \pm 0,2	159,32 \pm 25,3	-25,16 \pm 8,8	0,30 \pm 0,1	99 \pm 0,0
NC5	-	-	+	5,72 \pm 0,6	741,19 \pm 44,1	-23,40 \pm 4,7	0,84 \pm 0,1	97 \pm 1,0
NC6	+	-	+	5,93 \pm 0,4	1059,8 \pm 307	-28,00 \pm 5,5	0,80 \pm 0,1	96 \pm 1,7
NC7	-	+	+	6,01 \pm 0,4	514,09 \pm 64,6	-26,69 \pm 3,0	0,78 \pm 0,1	98 \pm 1,0
NC8	+	+	+	5,60 \pm 0,3	939,85 \pm 60,3	-23,49 \pm 2,9	0,81 \pm 0,1	99 \pm 0,0

¹A: óleo essencial; ²B: PCL; ³C: miristato de isodecila; ⁴DP: Diâmetro de partícula; ⁵PZ: Potencial zeta; ⁶PDI: Índice de polidispersão; ⁷EE: Eficiência de Encapsulação.

Para cada parâmetro analisado, foi elaborado um Gráfico de Pareto demonstrando a influência que cada fator exerceu sobre as respostas obtidas no planejamento fatorial.

Através dos valores de pH obtidos em análises de nanopartículas, pode-se acompanhar a estabilidade das suspensões coloidais, pois a medida que há degradação do polímero, há decréscimo nos valores do pH da solução. As 24 soluções de nanopartículas preparadas segundo o planejamento fatorial obtiveram como resposta pH entre 5,0 e 6,01. Resultados de pH semelhante foram encontrados em nanopartículas poliméricas de PCL contendo óleo essencial de duas árvores do gênero *Zanthoxilum* (CHRISTOFOLI, 2014). Casal (2011) em nanopartículas poliméricas de PCL contendo rauanina e xantiletina também encontraram valores de pH próximos a estes.

Conforme demonstra a Figura 19, o pH das suspensões de nanopartículas contendo óleo essencial dos frutos de *X. aromatica* é influenciado de forma negativa pela variação nos teores de PCL (polímero) e de óleo essencial, já o miristato de isodecila presente apenas nas nanocápsulas apresenta influência positiva, porém nenhuma destas variações são significativas estatisticamente.

Outro parâmetro analisado foi o diâmetro de partícula. Nota-se uma diferença entre os valores de diâmetro de partículas das nanoesferas (NS) em torno de 160 nm, enquanto nas nanocápsulas (NC) obtiveram valores médios entre 500 e 1100 nm. Essa alta diferença de tamanho se deve a presença do fator óleo (miristato de isodecila), presente nas NC e ausente nas NS.

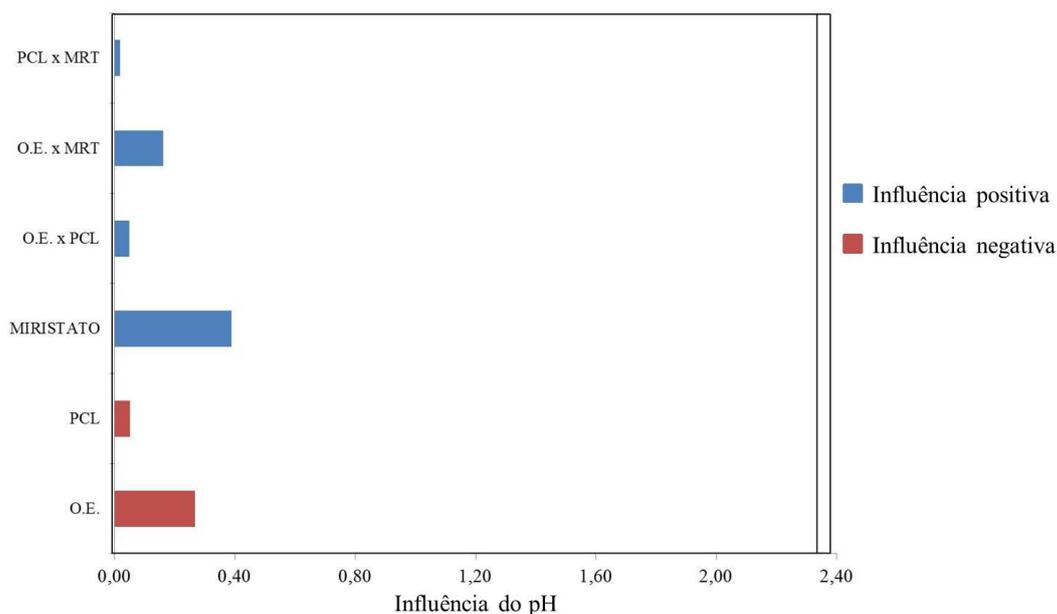


Figura 19. Efeito dos fatores sobre o pH das nanopartículas de óleo essencial dos frutos de *X. aromatica*.

Pode-se notar que os valores mais altos de diâmetro foram referentes às formulações de nanocápsulas carregadas com o nível máximo (250 mg) de óleo essencial de frutos de *X. aromatica*. Em nanopartículas poliméricas de PCL contendo o herbicida atrazina, Souza e colaboradores (2012) encontraram valores entre 250 a 350 nm. Abreu e colaboradores (2012) encapsulando óleo essencial de *Lippia sidoides* com nanogel de goma de caju e quitosana obtiveram valores entre 335 a 560 nm. Resultados semelhantes foram encontrados por Christofoli (2014), em que as nanocápsulas poliméricas de PCL carregadas de óleo essencial ficaram na ordem de 550 nm.

As análises das respostas obtidas pelo planejamento fatorial demonstram que o diâmetro de partícula não sofre interferência estatisticamente significativa, conforme demonstra a Figura 20. Entretanto é possível notar maior influência positiva do fator miristato de isodecila sobre a resposta diâmetro de partícula, ou seja, aumentando a quantidade de miristato de isodecila, aumenta também o diâmetro das partículas.

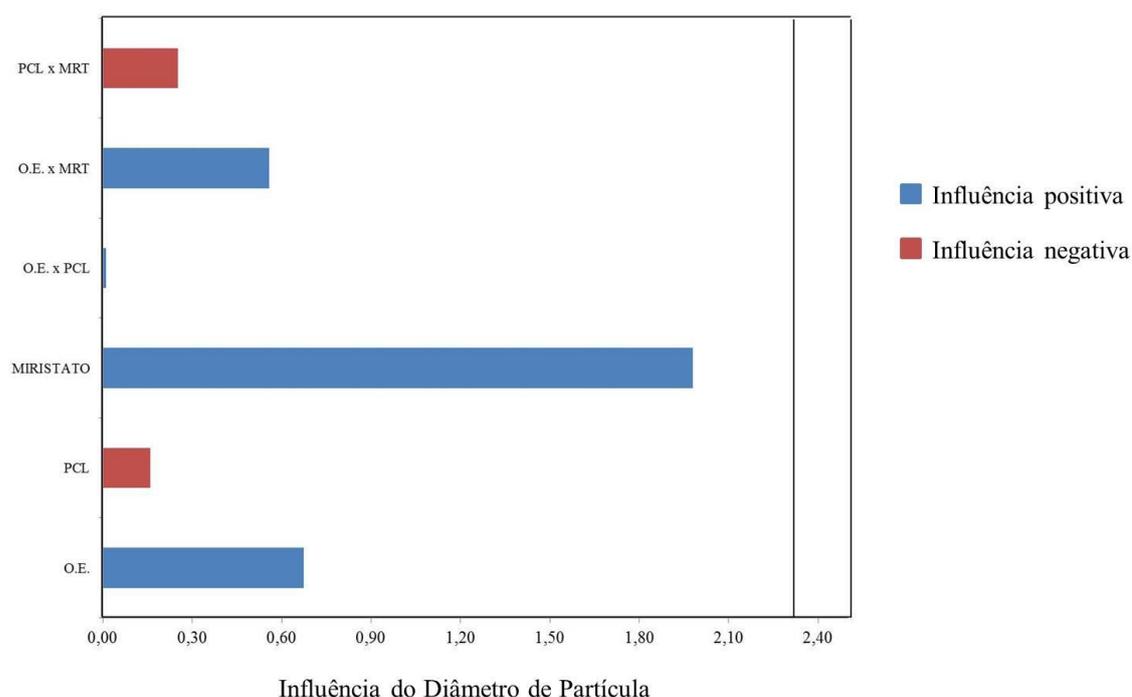


Figura 20. Efeito dos fatores sobre o diâmetro de partículas das nanopartículas de óleo essencial dos frutos de *X. aromatica*.

Quase todos os materiais em contato com um líquido adquirem carga elétrica em sua superfície, e esta desaparece pela adsorção diferencial de íons da solução, formando assim, uma dupla camada elétrica na interface da partícula com o líquido. Essa dupla camada se divide em uma região interna fortemente ligada a superfície da partícula e uma externa em que a distribuição de íons é determinada pelo equilíbrio entre

eletrostática e movimento térmico. Em campo elétrico, cada partícula e os íons fortemente ligados se movem como unidade, e o potencial medido entre essa unidade e o meio circundante é denominado potencial zeta. Este valor está intimamente ligado à estabilidade da solução e com a morfologia das partículas (TAVARES, 2011).

Os valores de potencial zeta encontrados para as nanopartículas ficaram na ordem dos -20 mV, e pode-se notar que tanto nos níveis máximo quanto no mínimo do planejamento fatorial os valores de PZ não variaram significativamente. O gráfico de Pareto demonstra que todos os fatores variados tiveram influência positiva sobre o potencial zeta das NP de óleo essencial dos frutos de *X. aromatica* (Figura 21), porém nenhum apresentou significância estatística.

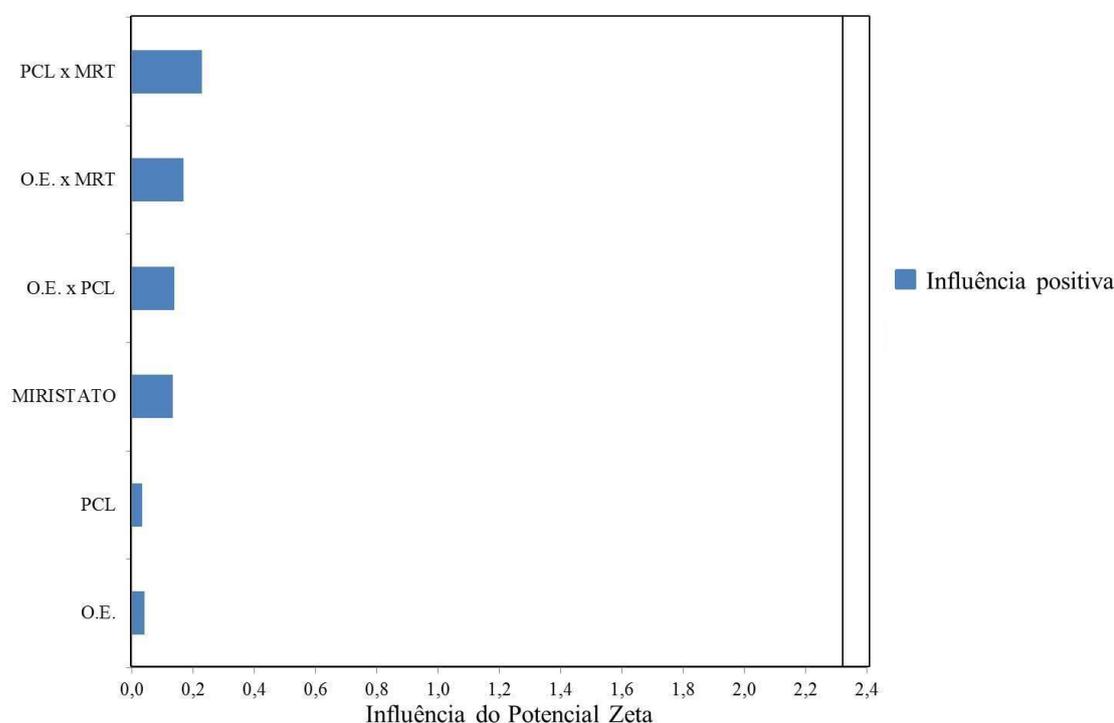


Figura 21. Efeito dos fatores sobre Potencial Zeta das nanopartículas de óleo essencial dos frutos de *X. aromatica*.

Valores mais altos em módulos de potencial zeta foram encontrados por Abreu e colaboradores (2012), ao analisar NP de goma de caju com quitosana encontraram valores na ordem de -30 mV. A encapsulação de óleo essencial com alginato e goma de caju realizada por Oliveira e colaboradores (2014b) demonstram potencial zeta em torno de -35 mV.

Outro parâmetro analisado para a obtenção de respostas com relação ao planejamento fatorial foi o índice de polidispersão (PDI) (Figura 22). A composição quali e quantitativa das nanopartículas poliméricas e também o método utilizado para

sua preparação está relacionado com os valores de diâmetro médio e de polidispersão das nanopartículas das suspensões coloidais e de modo geral, mesmo utilizando diferentes métodos para preparação destas nanopartículas, estas apresentam distribuição unimodal com baixo índice de polidispersão (GOVENDER *et al.*, 1999). Observando os dados expostos na Tabela 14 verificou-se que os valores de PDI para as NS foram menores que para as NC, de 0,2 a 0,3 e de 0,7 a 0,8 respectivamente.

Utilizando goma de angico e quitosana como agentes encapsulantes para óleo essencial de *Lippia sidoides*, Paula e colaboradores (2010) encontraram valores de PDI que variaram de 0,330 a 1,0. Esse mesmo grupo, em outro trabalho, encontraram valores que variavam de 0,365 a 0,554 para PDI de nanopartículas de quitosana com goma de caju (ABREU *et al.*, 2012).

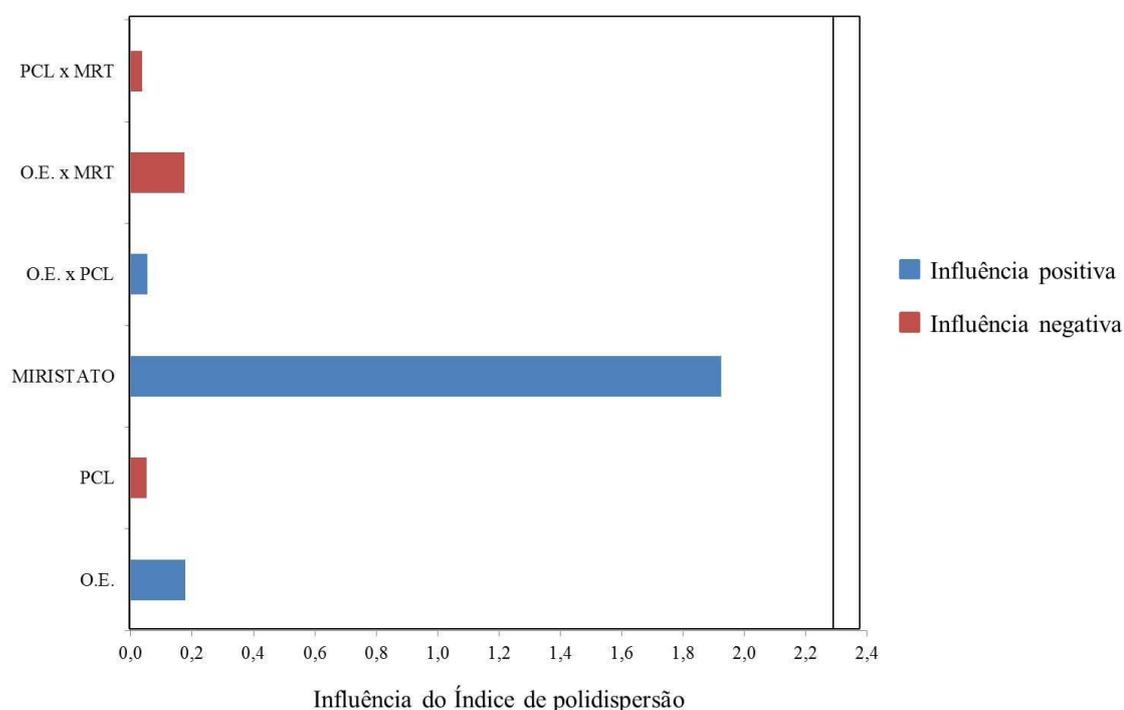


Figura 22. Efeito dos fatores sobre o índice de polidispersão das nanopartículas de óleo essencial dos frutos de *X. aromatica*.

Por último, foi analisada a eficiência de encapsulação do óleo essencial dos frutos de *X. aromatica*. Foram obtidas altas taxas de encapsulação tanto para as NS quanto para as NC, variando de 96 a 99%, não tendo diferença significativa entre NC e NS, entretanto nenhum fator analisado possui influência estatisticamente significativa (Figura 23).

Souza e colaboradores (2012) trabalhando com NP de PCL carregadas de atrazina, obtiveram eficiência de encapsulação variando de 89% a 94%. Christofoli (2014) obteve taxa de 98% tanto para as NC quanto para as NS.

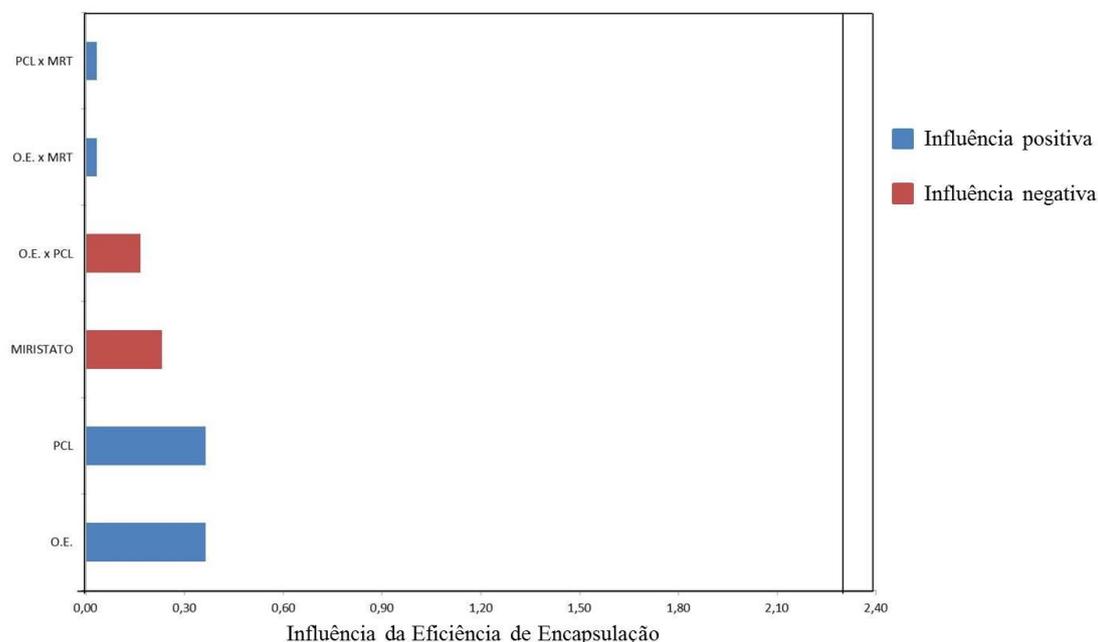


Figura 23. Efeito dos fatores sobre a eficiência de encapsulação das nanopartículas de óleo essencial dos frutos de *X. aromatica*.

De acordo com os resultados obtidos das análises das NP de óleo essencial dos frutos de *X. aromatica*, foi definida a utilização da formulação que apresentou as melhores respostas frente à variação do planejamento fatorial. Os dados indicam que a presença do óleo (miristato de isodecila) não interfere no padrão de respostas das características físico-químicas, portanto não há diferença estatística entre NS e NC. A variação de PCL também não demonstrou significância estatística. Estas duas respostas levam a formulação mais econômica, pois, pode-se utilizar a menor quantidade de PCL e não é necessária a utilização do óleo, e ambientalmente correta. Diante destes resultados, uma formulação de nanoesfera, a NS2, foi considerada a formulação mais econômica, pois pode-se utilizar a menor quantidade de PCL e não é necessária a utilização do óleo (miristato de isodecila), ou seja, apresenta as características físico-químicas apropriadas e é ambientalmente correta.

Dessa forma, para o óleo essencial das folhas de *X. aromatica* foi preparada a formulação de nanoesferas (NSfo) semelhante a NS2 e os resultados estão dispostos na Tabela 15, e estão dentro do esperado para a formulação de acordo com os resultados obtidos nessa mesma formulação para o óleo essencial dos frutos.

Tabela 15. Resultados de pH, DP, PZ, PDI e EE(%) para a formulação nanoesfera (NS) (\pm Desvio Padrão) do óleo essencial das folhas de *X. aromatica*.

	A ¹	B ²	C ³	pH	DP ⁴ (nm)	PZ ⁵ (mV)	PDI ⁶	EE ⁷ %
NSfo.1	+	-	-	5,71	119,3	-13,5	0,137	83
NSfo.2	+	-	-	5,69	117,7	-18,4	0,118	89
NSfo.3	+	-	-	4,98	123,1	-21,2	0,121	87
Média				5,46 \pm 0,4	120 \pm 2,77	-17,7 \pm 3,9	0,13 \pm 0,01	86 \pm 3,06

¹A: óleo essencial; ²B: PCL; ³C: miristato de isodecila; ⁴DP: Diâmetro de partícula; ⁵PZ: Potencial zeta; ⁶PDI: Índice de polidispersão; ⁷EE: Eficiência de Encapsulação.

5.4.2. Liberação gradual *in vitro*

A liberação do princípio ativo de nanopartículas poliméricas se dá por diferentes métodos, tais como a dessorção do princípio ativo na superfície das nanopartículas; a difusão do princípio ativo através da matriz das nanoesferas; a difusão através da membrana polimérica das nanocápsulas, da erosão físico-química ou por ação microbiana da matriz polimérica, ou mesmo da junção de dois ou mais processos (SOPPIMATH *et al.*, 2001).

Os perfis de liberação tidos como resposta permitem determinar a associação do princípio ativo (CAZAL, 2011). As Figuras 24 e 25 demonstram os perfis de liberação *in vitro* das nanoesferas contendo óleo essencial das folhas e frutos de *X. aromatica*, respectivamente. Pode-se observar que nas primeiras horas há intensa liberação do princípio ativo, após esta rápida liberação o sistema se manteve nas demais horas analisadas com liberação lenta, essa característica foi observada para os dois óleos essenciais analisados. É possível observar que a liberação do óleo essencial das folhas de *X. aromatica* após duas horas de experimento foi de 50%, e a partir daí, verificou-se uma diminuição da velocidade de difusão, sendo que com 72 horas observou a difusão de apenas 75% deste óleo essencial.

Para o óleo essencial dos frutos, 50% de difusão do óleo essencial ocorreu com aproximadamente 6 horas de ensaio e ao final de 72 horas foi observada a difusão de 81% do óleo essencial. Schaffazick e outros autores (2003) analisando a cinética de liberação de fármacos a partir de nanoesferas concluíram que esta se dá na forma exponencial (primeira ordem), isso ocorre provavelmente pela difusão do fármaco da matriz polimérica para o meio e/ou à ruptura desta matriz liberando o fármaco (SOPPIMATH *et al.*, 2001)

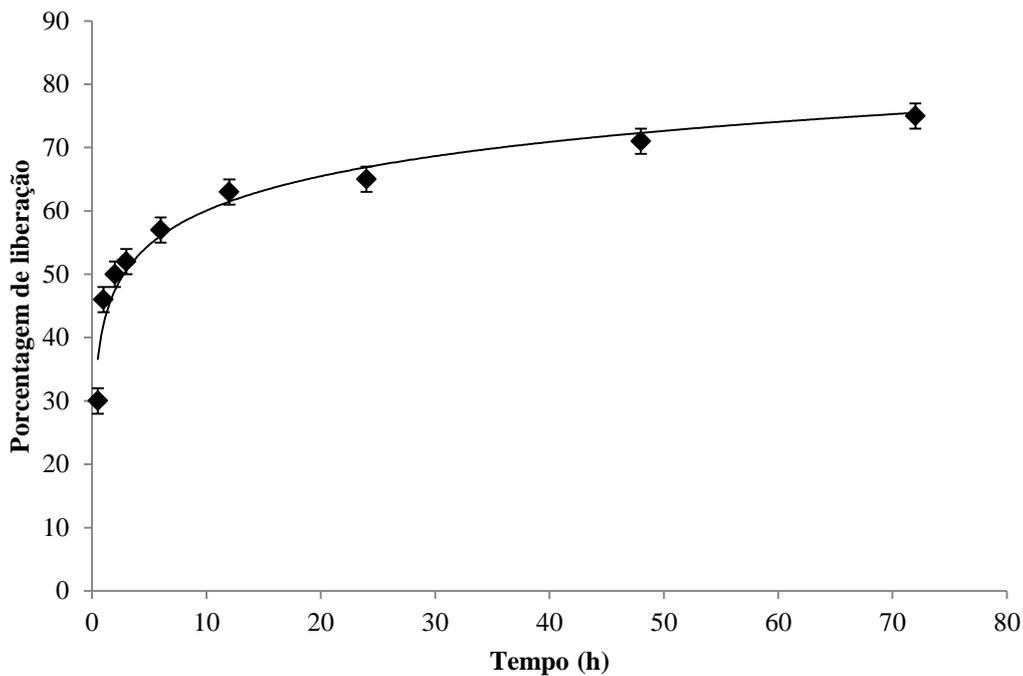


Figura 24. Liberação gradual *in vitro* do óleo essencial das folhas de *X. aromatica* presente nas nanoesferas (NSfo).

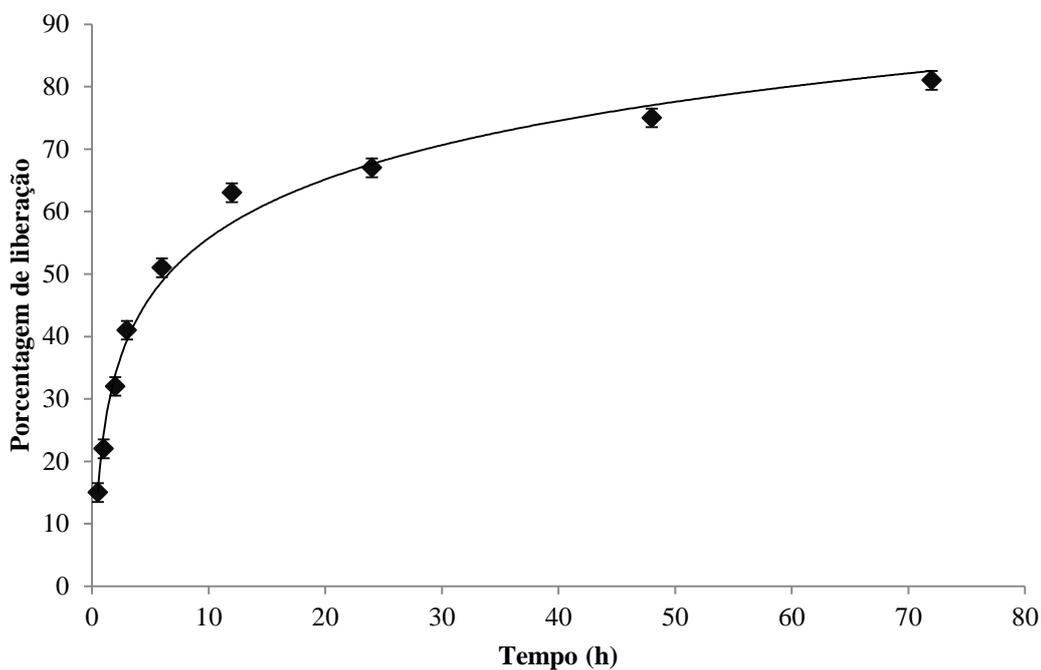


Figura 25. Liberação gradual *in vitro* do óleo essencial dos frutos de *X. aromatica* presente nas nanoesferas (NS2).

Resultados semelhantes foram encontrados por Paula e colaboradores (2011) utilizando nanopartículas preparadas com quitosana e goma de caju obtiveram 67% de difusão do óleo essencial de *Lippia sidoides* em 24 horas de ensaio. Em 2011, Abreu e colaboradores observaram 74% de liberação do óleo essencial em 24 horas utilizando nanogel de quitosana e goma de caju. Christofoli (2014) analisando nanoesferas de PCL com óleo essencial de *Zanthoxylum rhoifolium* e *Z. riedelianum* obtiveram aproximadamente 81% e 80%, respectivamente, de difusão em 72 horas de ensaio.

5.4.3. Degradação acelerada por UV

Uma das grandes desvantagens do uso de produtos naturais é a sua alta degradação. Para melhorar seu uso se faz necessário o encapsulamento em nanocápsulas ou nanoesferas para lhe fornecer maior proteção contra a fotodegradação (KAH & HOFFMAN, 2014). A degradação pode alterar quimicamente o óleo essencial podendo modificar sua propriedade biológica.

A Figura 26 mostra o perfil de degradação do óleo essencial *in natura* e nanoencapsulado das folhas de *X. aromatica* (NSfo). É possível observar que as amostras de óleo essencial *in natura* mantidas protegidas da radiação (controle) não houve degradação. Já o óleo essencial das folhas de *X. aromatica* degradou aproximadamente 96% em 12 horas de exposição a irradiação ultravioleta, enquanto que o óleo essencial contido em nanoesferas degradaram cerca de 57% no mesmo tempo, demonstrando que as nanoesferas protegem o óleo essencial da fotodegradação.

O óleo essencial *in natura* dos frutos teve 91% de degradação com 12 horas de experimento, enquanto o óleo essencial nanoencapsulado degradou 66% (Figura 27).

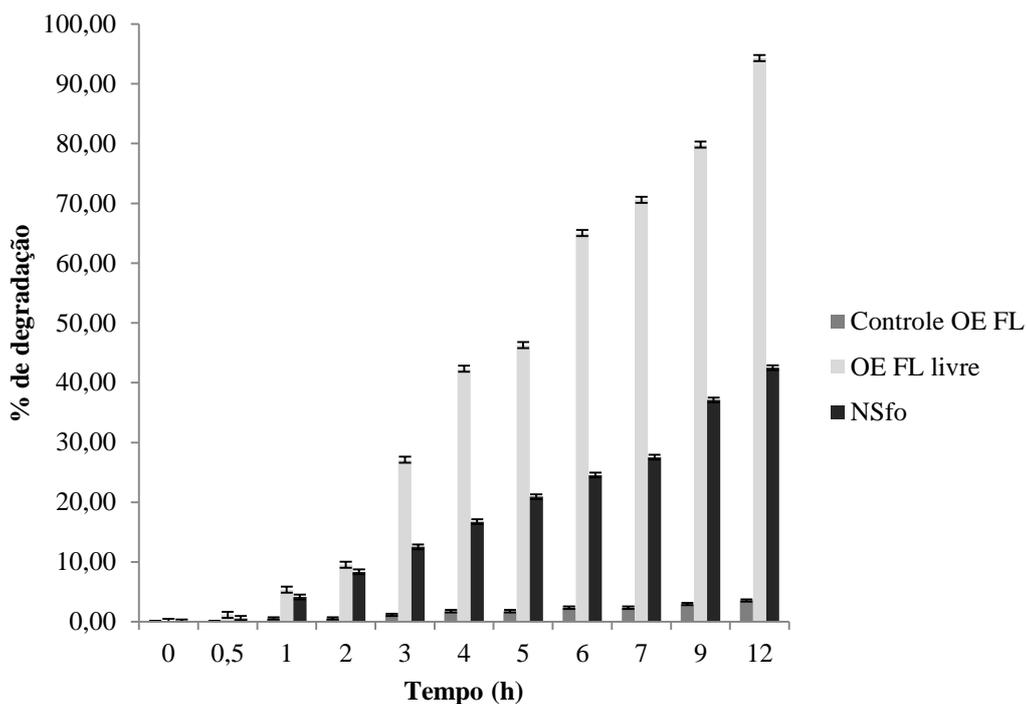


Figura 26. Degradação do óleo essencial *in natura* (OE FL) e nanoesferas (NSfo) contendo óleo essencial das folhas de *X. aromatica* pela luz.

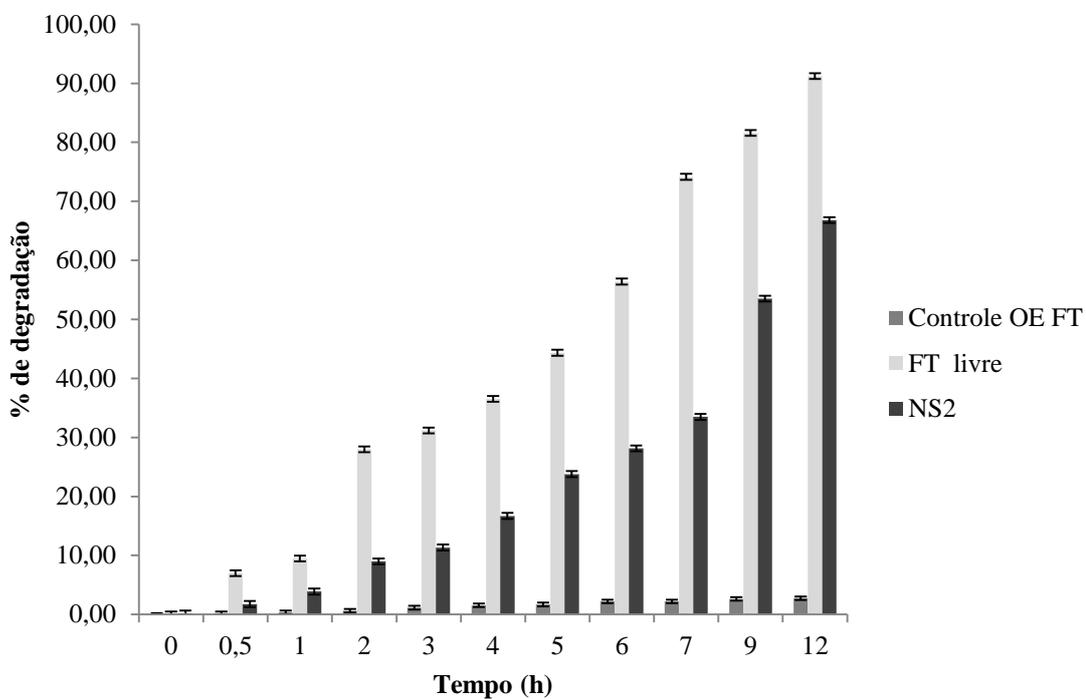


Figura 27. Degradação do óleo essencial *in natura* (OE FT) e nanoesferas (NS2) contendo óleo essencial dos frutos de *X. aromatica* pela luz.

Lobo e colaboradores (2014) tiveram resultados semelhantes analisando o óleo essencial de *Thymus vulgaris* quanto a degradação pela luz UV analisando as mudanças das bandas de absorção do óleo essencial. Cipriano e Lobo (2013) analisando a degradação da luz no óleo essencial de *Artemisia dracunculus* também obtiveram rápida degradação do óleo essencial pela ação da irradiação. Esses resultados corroboram com o encontrado no presente estudo, para a degradação do óleo essencial *in natura*, indicando a ação fotoprotetora das nanoesferas ao óleo essencial nanoencapsulado.

5.5. Ensaios Biológicos

A contagem dos ovos foi realizada após 24 h da retirada de contato da planta com a mosca branca. A Figura 28 demonstra o número de ovos de *B. tabaci* em plantas de feijão Ourinho Vermelho (*Phaseolus vulgaris*) em relação às diferentes concentrações do óleo essencial das folhas de *X. aromatica* e controles nos testes com chance de escolha e sem chance de escolha.

Os resultados do presente estudo demonstraram eficiente redução na oviposição de *B. tabaci* em folhas de feijoeiro tratadas com os óleos essenciais das folhas e frutos da *X. aromatica*.

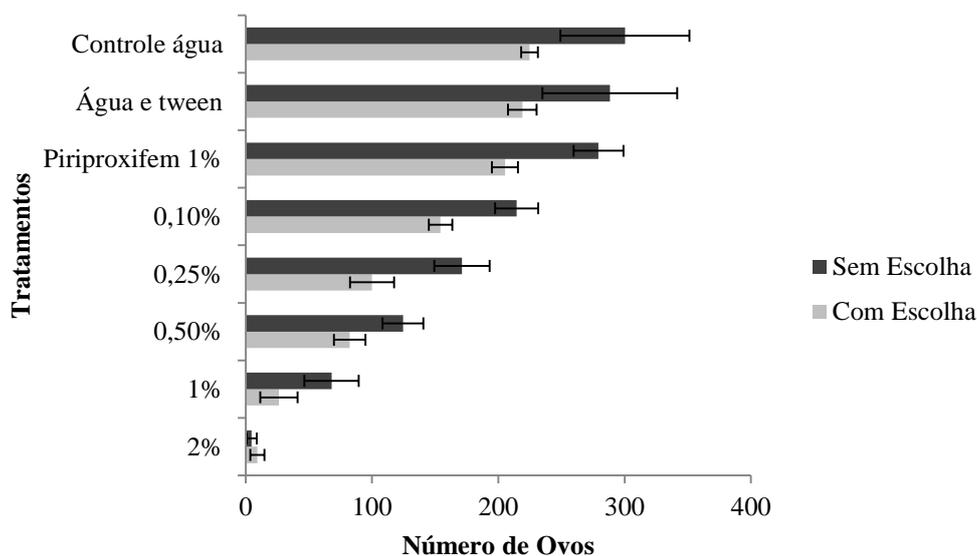


Figura 28. Quantidade de ovos de *B. tabaci* em relação aos tratamentos impostos aos feijoeiros com diferentes concentrações do óleo essencial *in natura* das folhas de *X. aromatica* nos testes com e sem chance de escolha.

Os dois testes com o óleo essencial das folhas apresentaram resultado semelhante indicando diminuição na postura de ovos de *B. tabaci* a medida que aumentou a concentração do óleo essencial aplicado, com relação aos controles. No teste sem chance de escolha, a concentração 0,1% de óleo essencial demonstrou diminuição da quantidade de ovos em relação aos controles, totalizando 28% de eficiência. A concentração 2% obteve eficiência acima de 98% para o teste sem escolha (Tabela 16).

O óleo essencial dos frutos de *X. aromatica* também apresentou uma diminuição da postura dos ovos em relação aos controles a medida que aumenta a concentração do óleo essencial (Figura 29). Conforme apresentado na Tabela 16, para o teste sem escolha a concentração de 0,1% apresentou eficiência de 38%, enquanto a concentração de 2% aumentou para 96% essa eficiência. No teste com chance de escolha, a eficiência da concentração 2% foi de 94%.

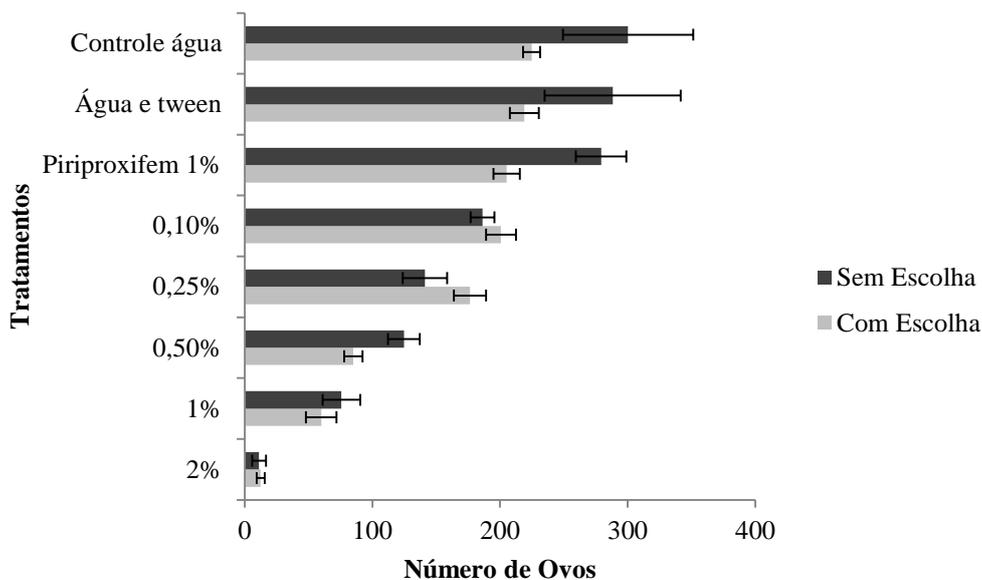


Figura 29. Quantidade de ovos de *B. tabaci* em relação aos tratamentos impostos aos feijoeiros com diferentes concentrações do óleo essencial *in natura* dos frutos de *X. aromatica* nos testes com e sem chance de escolha.

As fêmeas de *B. tabaci* depositaram significativamente menos ovos nas plantas tratadas com óleo essencial se comparadas aos controles, tanto no teste com escolha quanto no teste sem escolha. Embora, a quantidade de ovos presente nos controles tenha sido maior que a quantidade de ovos presente nas plantas tratadas com as diferentes concentrações dos óleos essenciais, o número de ovos presentes nos controles também

pode ter sido afetado pelos componentes voláteis dos óleos essenciais, que podem funcionar como impedimento para a oviposição (YANG *et al.*, 2010; PASCOAL-VILLALOBOS & BALLESTRA-ACOSTA, 2003).

Tabela 16. Média do número de ovos de *B. tabaci* e eficiência de controle (E%) em razão da aplicação de diferentes concentrações dos óleos essenciais *in natura* das folhas e dos frutos de *X. aromatica*.

TRATAMENTO	NÚMERO DE OVOS					
	SEM ESCOLHA			COM ESCOLHA		
	MÉDIA		E%*	MÉDIA	E%	
Controle água	300,25	a	-	224,75	a	-
Controle água e tween	288,25	ab	-	219	a	-
Piriproxifem 1%	279,25	ab	-	205,25	a	-
FOLHA 0,1%	214,5	bc	28,6	154,25	b	31,4
FOLHA 0,25%	171,25	cd	43,0	100	c	55,5
FOLHA 0,5%	124,5	de	58,5	82,25	c	63,4
FOLHA 1%	68	ef	77,4	26,25	d	88,3
FOLHA 2%	4,75	f	98,4	9,25	d	95,9
FRUTO 0,1%	186,25	b	38,0	200,75	ab	10,7
FRUTO 0,25%	141,25	bc	53,0	176,5	b	21,5
FRUTO 0,5%	124,75	bc	58,5	85	c	62,2
FRUTO 1%	75,75	cd	74,8	60	c	73,3
FRUTO 2%	11,25	d	96,3	12,5	d	94,4

*E% - Eficiência de controle

A diminuição da quantidade de ovos pode ser ocasionada pelo efeito de repelência ou por algum distúrbio no inseto (MARQUES *et al.*, 2014). Segundo Martinez (2002), os insetos possuem quimiorreceptores nos tarsos, podendo assim detectar a presença do óleo essencial na planta tratada. Esse fato pode provocar inquietabilidade nas moscas brancas, que ao detectarem a presença de uma substância estranha não param em um ponto fixo para ovipositar e se alimentar (YANG *et al.*, 2010), sugerindo um efeito de repelência. Estudos realizados por Kumar e colaboradores (2005) indicaram que a baixa oviposição das plantas tratadas com óleos essenciais é devido a agitação das moscas brancas, e sugere que essa mudança constante de local é porque os compostos do óleo essencial formam uma barreira protetora nas folhas dificultando a sucção da seiva no floema.

Cubillo e colaboradores (1999) demonstraram que os produtos à base *neem* não repeliram e nem mataram as moscas brancas, mas reduziram significativamente a

quantidade de ovos, sugerindo que os produtos do *neem* impedem por algum motivo as moscas brancas fêmeas de ovipositar. Em 2014, Ahmad e colaboradores relatam que a aplicação do *neem* resulta em significativa redução de fecundidade para os insetos, corroborando com os resultados de Cubillo e colaboradores em estudo realizado em 1999. Yang e colaboradores (2010) também sugerem que os óleos essenciais causam diminuição na capacidade reprodutiva das fêmeas. Um estudo realizado com óleo essencial da *Artemisia anua* demonstrou que este diminui o desenvolvimento ovariano de fêmeas de insetos, sugerindo a ação direta do óleo essencial na produção de ovos (RAO *et al.*, 1999).

O ensaio biológico com as nanoesferas contendo óleo essencial das folhas e frutos de *X. aromatica* apresentou significativa redução da oviposição da *B. tabaci* em folhas do feijão Ourinho Vermelho (*Phaseolus vulgaris*), semelhante a ação do óleo essencial *in natura*. De acordo com as Figuras 30 e 31, entre os controles, não houve diferença significativa entre o controle água e o controle nano vazia, demonstrando assim que os produtos utilizados na nanoencapsulação não interferem na oviposição da *B. tabaci*. A Figura 30 demonstra o número de ovos de *B. tabaci* em plantas de feijão Ourinho Vermelho (*Phaseolus vulgaris*) em relação às diferentes concentrações da solução de nanoesferas contendo o óleo essencial das folhas de *X. aromatica* e controles nos testes com chance de escolha e sem chance de escolha.

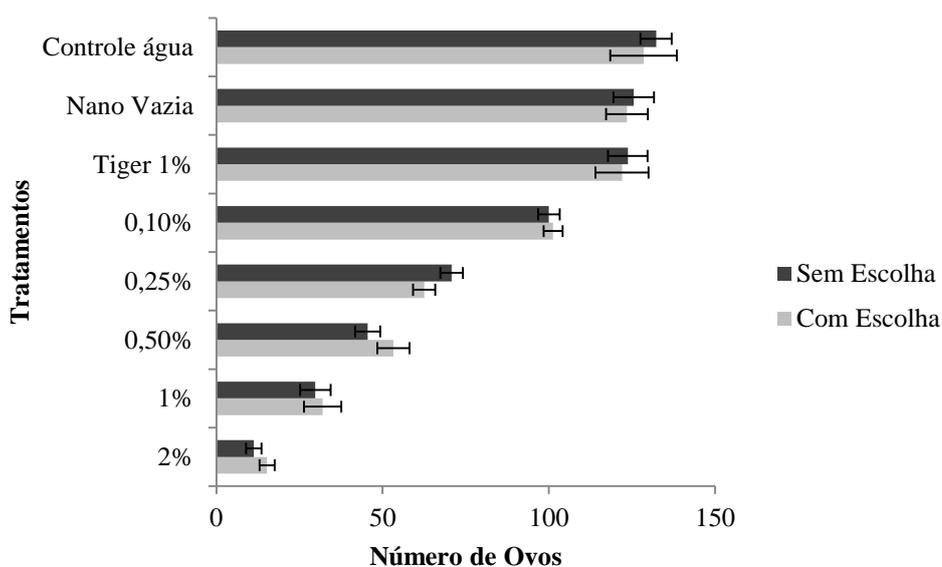


Figura 30. Quantidade de ovos de *B. tabaci* em relação aos tratamentos impostos aos feijoeiros com diferentes concentrações da solução de nanoesferas contendo óleo essencial das folhas de *X. aromatica* nos testes com e sem chance de escolha.

Semelhante à resposta obtida com as nanoesferas contendo o óleo essencial das folhas, as nanoesferas contendo o óleo essencial dos frutos de *X. aromatica* apresentou decréscimo na quantidade de ovos de *B. tabaci* à medida que se aumentou a concentração utilizada (Figura 31).

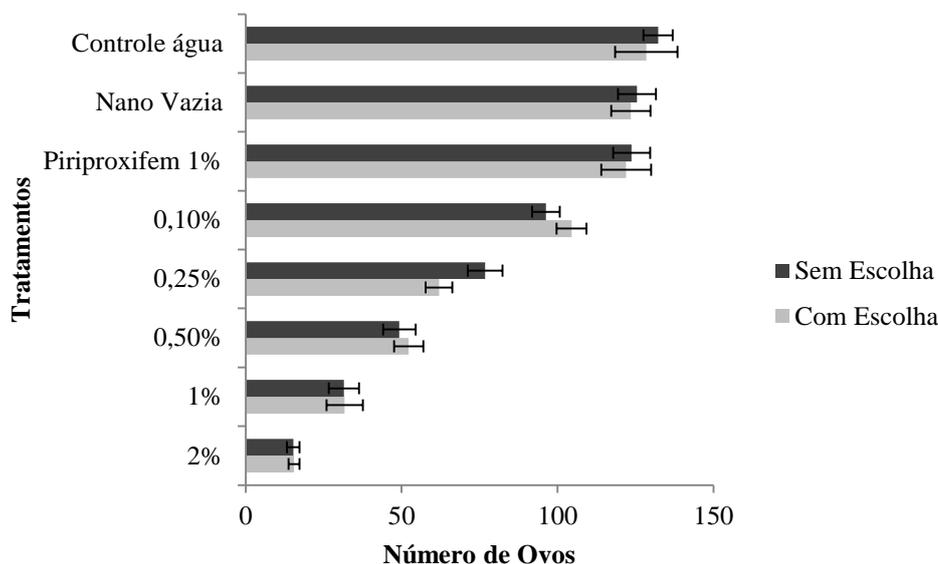


Figura 31. Quantidade de ovos de *B. tabaci* em relação aos tratamentos impostos aos feijoeiros com diferentes concentrações da solução de nanoesferas contendo óleo essencial dos frutos de *X. aromatica* nos testes com e sem chance de escolha.

Através da Tabela 17, pode-se observar que para a concentração de 0,1% de nanoesferas contendo óleo essencial das folhas, foi obtido 21% de eficiência de controle. Na concentração de 2% para as nanoesferas contendo óleo essencial das folhas de *X. aromatica* a eficiência de controle foi de 91%

Para as nanoesferas com óleo essencial dos frutos, a eficiência de controle para a concentração de 0,1% foi de 27% no teste sem escolha, enquanto na concentração de 2% a eficiência foi de 88% para os dois testes realizados.

Tabela 17. Média do número de ovos de *B. tabaci* e eficiência de controle (E%) em razão da aplicação de diferentes concentrações de nanoesferas os óleos essenciais das folhas (NSfo) e dos frutos (NS2) de *X. aromatica*.

TRATAMENTO	NÚMERO DE OVOS					
	SEM ESCOLHA			COM ESCOLHA		
	MÉDIA		E%	MÉDIA		*E%
Controle água	132,25	a	-	128,5	a	-
Controle nano vazia	125,5	a	-	123,5	a	-
Piriproxifem 1%	123,75	a	-	122	a	-
NSfo 0,1%	100	b	24	101,25	b	21
NSfo 0,25%	70,75	c	47	62,5	c	51
NSfo 0,5%	45,5	d	66	53,25	c	59
NSfo 1%	29,75	de	78	32	d	75
NSfo 2%	11,25	e	91	15,25	e	88
NS2 0,1%	96,25	b	27	104,5	b	19
NS2 0,25%	76,75	c	42	62	c	52
NS2 0,5%	49,25	d	63	52,25	c	59
NS2 1%	31,5	e	76	31,75	d	75
NS2 2%	15,25	e	88	15,5	d	88

*E% - Eficiência de controle

Os resultados dos ensaios com óleo essencial *in natura* e nanoesferas contendo óleo essencial de folhas e frutos de *X. aromatica* foram semelhantes, ambos diminuíram significativamente a quantidade de ovos de *B. tabaci* à medida que se aumentou a concentração. No entanto, mesmo que o nanoencapsulamento não tenha potencializado o efeito do óleo essencial, o uso das nanopartículas pode ser justificado pela liberação gradual, da foto proteção, da solubilidade em água sem a necessidade de adição de solventes, além de diminuir consideravelmente o contato do homem com o princípio ativo (GRUPO ETC, 2005).

Foi observado que nos testes com o óleo essencial *in natura* das folhas de *X. aromatica*, na concentração de 2% ocorre uma precoce secagem das folhas, ou seja, essa concentração de óleo foi fitotóxica. No entanto, observou-se que esse óleo essencial nanoencapsulado à 2% não produziu a secagem precoce das folhas de *P. vulgaris*, provavelmente isso ocorreu pela liberação gradual do óleo essencial (Figura 31). Evidenciando assim outra vantagem da liberação controlada.

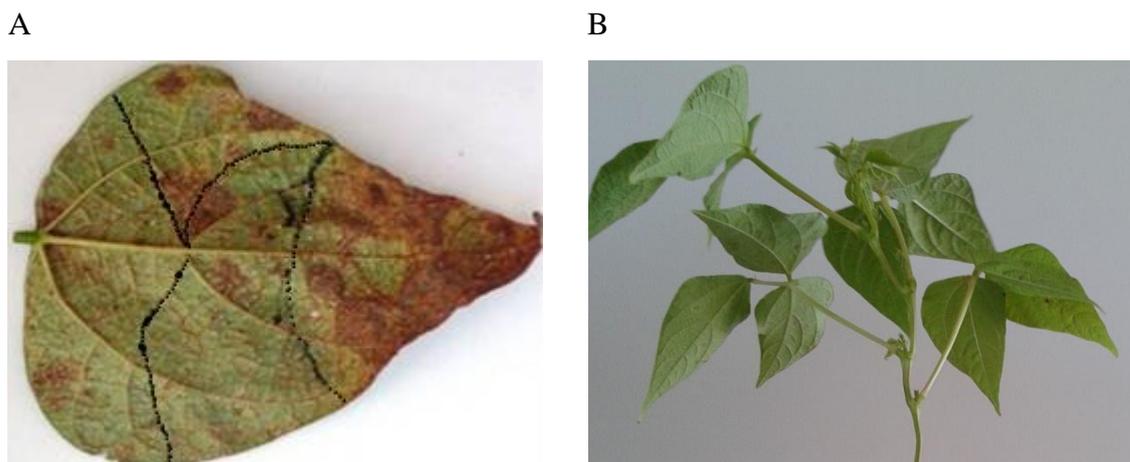


Figura 32. A – Secagem precoce ocasionada pelo óleo essencial *in natura* das folhas de *X. aromatica* na concentração de 2% após 48h após a aplicação. B – Planta de feijão tratada com nanoesferas de PCL contendo óleo essencial das folhas de *X. aromatica* na concentração 2% após 48h após a aplicação.

Óleos essenciais são em sua maioria compostos por terpenos voláteis como monoterpenos e sesquiterpenos (AHN *et al.*,1998), estes compostos já possuem importância ecológica como defensivos de plantas. Compostos como α -pineno, β -pineno e limoneno que ocorrem nos óleos essenciais da *X. aromatica*, apresentam efeito inseticida comprovado (VIEGAS JR, 2003). Assim sendo, os óleos essenciais são uma mistura natural de vários compostos bioativos, fato este que pode dificultar o desenvolvimento de resistência pela *B. tabaci*. Inseticidas comerciais são fabricados com apenas um princípio ativo facilitando o surgimento de linhagens resistentes (YANG *et al.*, 2010; ISMAN, 2006).

Atualmente, grande parte da classe científica tem se dedicado para descobrir um modo de mitigar a toxicidade dos pesticidas, nesse campo vem sendo difundida a ideia da liberação gradual à base de nanoformulações poliméricas. Aliada a técnica de liberação gradual, atendendo aos princípios da Química Verde, a utilização de compostos naturais bioativos que possuem atividade inseticida se torna mais eficaz, uma vez que o encapsulamento protege esse princípio ativo da degradação prematura (KAH & HOFFMAN, 2014) e diminui o desenvolvimento à resistência. No caso do óleo essencial das folhas de *X. aromatica*, o nanoencapsulamento deste óleo essencial evitou a possível atividade fitotóxica apresentada na concentração de 2% com o óleo essencial *in natura*, onde provavelmente a liberação gradual tenha evitado a fitotoxicidade e conseqüente secagem precoce das folhas de *P. vulgaris*.

6. CONCLUSÃO

O método de nanoprecipitação se mostrou eficiente para a encapsulação dos óleos essenciais das folhas e frutos de *X. aromatica*, não apresentando diferença significativa entre nanocápsulas e nanoesferas, entretanto a formulação de nanoesferas se apresentam econômica e ambientalmente mais viável.

Os ensaios biológicos demonstraram que os óleos essenciais das folhas e dos frutos da *X. aromatica* inibem ou reduzem a oviposição de *B. tabaci* em feijão Ourinho Vermelho (*P. vulgaris*), bem como as nanoesferas de PCL contendo estes óleos. Em todos os ensaios a eficiência foi de acima de 88%. Entretanto os óleos essenciais nanoencapsulados são mais vantajosos, uma vez que o estudo de degradação pela luz demonstrou o efeito fotoprotetor, sugerindo assim maior estabilidade do princípio ativo. Outra vantagem é que a maioria dos pesticidas bem como o óleo essencial *in natura* não é solúvel em água, e as nanoesferas são dispersas em meio aquoso, aumentando sua solubilidade, além de prolongar o efeito residual através da liberação gradual. As nanoesferas também evitaram a possível atividade fitotóxica apresentada pelo óleo essencial *in natura* das folhas de *X. aromatica* na concentração de 2%, provavelmente pela liberação gradual.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDI – Agência Brasileira do Desenvolvimento Industrial. Estudo prospectivo nanotecnologia. Série Cadernos da Indústria. Brasília 2010. Disponível em <<http://www.abdi.com.br>> acessado em julho, 2014.

ABREU, F. O. M. S.; OLIVEIRA, E. F.; PAULA, H. C. B.; PAULA, R. C. M. Chitosan/ cashew gum nanogels for essential oil encapsulation. **Carbohydrate Polymers**, 89: 1277-1282, 2012.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/ quadrupole mass spectroscopy**. 4. ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 804 p, 2007.

AGUIAR, L. M. S.; CAMARGO, A. J. A. **Cerrado ecologia e caracterização**. Embrapa, Brasília, 2002.

AHMAD, S.; ANSARI, M. S.; MUSLIN, M. Toxic effects of neem based insecticides on the fitness of *Helicoverpa armigera* (Hubner). **Crop Protection**, article in press, 2014.

AHN, Y. J.; LEE, S. B.; KIM, G. H. Insecticidal and acaricidal activity of carvacrol and beta-thujaplicine derived from *Thujopsis dolabrata* var. *hondai* sawdust. **J. Chem. Ecol.**, 24: 81-90, 1998.

ANDERSON, P.K. Un modelo para la investigación en mosca blanca, *Bemisia tabaci* (Gennadius). *In*: Hilje, L.; Arboleda, O. Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) en America Central e El Caribe, Turrialba: **CATIE. Serie Técnica. Informe Técnico**, p. 27-33. 1993.

ANDRADE, E. H. A.; SILVA, A. C. M.; CARREIRA, L. M. M.; OLIVEIRA, J.; MAIA, J. G. S. Essential Oil Composition from Leaf, Fruit and Flower of *Xylopia aromatica* (Lam.) Mart. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, 7: 151-154, 2004.

ANGIONI, A.; BARRA, A.; CORONEO, V.; DESSI, S.; CABRAS, P. Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. **J. Agric. Food Chem.**, 54: 4364–4370, 2006.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RE n.899** de 29/05/2003.

ARAÚJO, E. C. C.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A. S.; ANDRADE-NETO, M.; ANDRADE, I. L.; LIMA, M. A. A. Insecticidal activity and chemical composition of volatile oils from *Hyptis martiusii* Benth. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51: 3760-3762, 2003.

AZEVEDO, M. M. M. **Nanoesferas e a liberação controlada de fármacos**. Monografia, Laboratório de Química d Estado Sólido, UNICAMP, 2008. Disponível em <<http://lqes.iqm.unicamp.br>> acessado em julho, 2014.

BACCI, L.; CRESPO, A. L. B.; GALVAN, T. L.; PEREIRA, E. J. G.; PICANÇO, M. C.; SILVA, G. A.; CHEDIAK, M. Toxicity of insecticides of the sweet potato white-fly (Hemiptera-Aleyrodidae) and its natural enemies. **Pest. Manage. Sci.**, 63: 699-706, 2007.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, 6: 446-475, 2008.

BALDIN, E. L. L.; CROTTI, A. E. M.; WAKABAYASHI, K. A. L.; SILVA, J. P. G. F.; AGUIAR, G. P.; SOUZA, E. S.; VENEZIANE, R. C. S.; GROppo, M. Plant-derived essential oils affecting settlement and oviposition of *Bemisia tabaci* (Genn.) biotype B on tomato. **J. Pest. Sci.**, 86: 301-308, 2013.

BARBANTI, S. H.; ZAVAGLIA, C. A. C.; DUEK, E. A. R. Degradação acelerada de suportes poli-ε-caprolactona e poli(D,L,-ácido láctico-co-ácido glicólico) em meio alcalino. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, 6: 141-148, 2006.

BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. **Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos**. *Química nova*, 32: 679-688, 2009.

BASU, A. N. *Bemisia tabaci* (Gennadius) crop pest and principal whitefly vector of plant viruses. **Westview Press**, San Francisco, 117-142, 1995.

BELLOWS JUNIOR, T. S.; PERRING, T. M.; GILL, R. J.; HEADRICK, D. H. Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae). **Annals of the Entomological Society of America**, 87: 195-206, 1994.

BEZERRA, C. G. D. **Efeito de extrato bruto e frações meliáceas (Rutales: Meliaceae) na sobrevivência e no comportamento de *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B (Hemiptera : Aleyrodidae) em tomateiro.** Tese (doutorado em Ciências) à escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

BROWN, J. K.; FROHLICH, D. R.; ROSELL, R. C. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex? **Annual Review of Entomology**, 40: 511-534, 1995.

CARVALHO, A. F. U.; MELO, V. M. M.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L.; BATIM, M. B.; RABELO, E. F. Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham against *Aedes aegypti* Linn. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 98: 569-571, 2003.

CASTRO, D. P. **Atividade inseticida de óleos essenciais de *Achilles millefolium* e *Thymus vulgaris* sobre *Spodoptera frugiperda* e *Schizaphis graminum*.** Dissertação (Mestrado em Agroquímica) apresentada à Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2004.

CAZAL, C. M. **Nanopartículas poliméricas associadas ao controle de formigas cortadeiras e busca de novas substâncias naturais com atividade antitumoral.** Tese (Doutorado em Ciências) apresentada à Universidade de Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.

CAZO, N. A.; PEREIRA-FILHO, E. R.; SILVA, F. G. F.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; PUHL A. C.; POLIKARPOV, I.; FORIM, M. R. Nanopartículas de poli-ε-caprolactona carregadas com hidrocortisona: preparação usando planejamento fatorial e sua avaliação. **Orbital The electronic journal of Chemistry**, 4: 54-76, 2012.

CHANDRA, R.; RUSTG, R. Biodegradable polymers. **Progress on Polymer Science**, 23: 1273-1335, 1998.

CHATROU, L. W.; PIRIE, M. D.; ERKENS, R. H. J.; COUVEUR, T. L. P.; NEUBIG, K. M. J.; ABBOTT, R.; MOLS, J. B.; MASS, J. W.; SAUNDERS, R. M. K.; CHASE, M. W. A new subfamilial and tribal classification of pantropical flowering plant family Annonaceae informed by molecular phylogenetics. **Botanicals Journal of the Linnean Society**, London, 169: 5-40, 2012.

CHRISTOFOLI, M. **Efeito dos óleos essenciais de *Zanthoxylum rhoifolium* e *Zanthoxylum riedelianum* nanoencapsulados em *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B.** Dissertação de Mestrado, Programa de pós Graduação em Ciências Agrárias, IF Goiano campus Rio Verde, 2014.

CIPRIANO, F. T.; LOBO, V. Análise do comportamento fotoquímico do óleo essencial de estragão (*Artemisia dracunculus*) em solventes com polaridades diferentes. Anais 53º Congresso Brasileiro de Química, Rio de Janeiro/RJ, 14 a 18 outubro 2013.

COCK, M. J. W. (Ed.). *Bemisia tabaci – a literature survey on the cotton whitefly with an annotated bibliography*. Ascot: FAO/CAB, p. 121, 1986.

COELHO, A. A. M.; PAULA, J. E.; ESPÍNDOLA, L. S.; Efeito de extrato de plantas do Cerrado em *Dipetalogaster maxima* (Uhler) (Hemiptera), **Rev. Bras. Entomologia**, Curitiba, 53: 444-453, 2009.

COSTA, A. S.; CARVALHO, A. M. B. Comparative studies between abutilon and euphorbia mosaic viroses. *Phytopathology*, 38: 128-152, 1960. In: Yokoyama, M. Pragas. In: Vieira, C.; Paula Júnior, T. J.; Borém, A. (Ed.). **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, p. 357-374, 1998.

COSTA, H. S.; BROWN, J. K. Variability in biological characteristics, isozyme patterns and virus transmission among populations of *Bemisia tabaci* Genn. in Arizona. **Phytopathology**, 80: 888-993, 1990.

CUBILLO, D.; SANABRIA, G.; HILJE, L. Evaluación de la repelencia y mortalidad causada por insecticidas comerciales y extractos vegetales sobre *Bemisia tabaci*. **Man. Integr. Plagas**, 3: 65-71, 1999.

CZEPAK, C. Reação em cadeia. **Revista Cultivar Hortaliças e Frutas**, 61: 22-25, 2010.

DA-COSTA, J. T.; FORIM, M. R.; COSTA, E. S.; DE-SOUZA, J. R.; MONDEGO, J. M.; BOIÇA JR. A. L.. Effects of diferente formulations of nem oil-based products on control *Zabrotes subfasciatus* (Boheman, 1833) (Coleoptera: Bruchidae) on beans. **Journal of Stored Products Research**, 56: 49-53, 2014.

DIAS, M. C. **Estudos taxonômicos do gênero *Xylopia* L. (Annonaceae) do Brasil extra-amazônico**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas do Instituto de Biologia da UNICAMP, 1988.

DURÁN, N.; MATTOSO, L. H. C.; MORAIS, P. C.; **Nanotecnologia: Introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação**. Artliber Editora Ltda.: São Paulo, 2006.

EHLERT, P. A. D.; BLANK, A. F.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; PAULA, J. W. A.; CAMPOS, D. A.; ALVIANO, C. S. Tempo de hidrodestilação na extração de óleo essencial de sete espécies de plantas medicinais. **Rev. Bras. Med. Botucatu**, 8: 79-80, 2006.

EKUNDAYO, O. A review of the volatiles of the Annonaceae. **J. Essent. Oil. Res.**, 1: 223-245, 1989.

ELHASSAN, I. A.; ELAMIN, E. E.; AYOUB, S. M. H. Characterization of Lipid Compounds of the Dried Fruits of *Xylopi aethiopica* (Dunal) A. Rich Growing in Sudan. **Pakistan J. Nutr.**, 8: 1592-1595, 2009.

EL-WAKEIL, N. E. Botanicals pesticides and their mode of action. **Gesunde Pflazen**, 65: 129-149, 2013.

FARIA, J. C.; BEZERRA, I. C.; ZERBINI, F. M.; RIBEIRO, S. G.; LIMA, M. F. Situação atual das geminiviroses no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, 25: 125-137, 2000.

FERNÁNDEZ-PÉREZ, M.; VILLAFRANCA-SÁNCHEZ, M. GONZÁLES-PRADAS, E.; FLORES-CÉSPERES, F. Controlled release of diuron from na alginate-bentonite formulation: water release kinetics and soil mobility study. **J.Agric. Food Chem.**, 47, 791-798, 1999.

FERRAZ, R.P.C.; CARDOSO, G.M.B.; DA SILVA, T.B.; FONTES, J. E.N.; PRATA, A. P. DO N.; CARVALHO, A. A.; MORAES, M.O.; COSTA, C. P.E.V.; BEZERRA, D. Antitumour properties of the leaf essential oil of *Xylopi a frutescens* Aubl. (Annonaceae). **Food Chemistry** 141 196–200, 2013.

FESSI, H.; PUISIEUX, F.; DEVISSAGUET, J. P.; AMMOURY, N. BENITA, S. Nanocapsule formation by interfacial deposition following solvent displacement. **International Journal of Pharmaceutics**, 55: R1-R4, 1989.

FRIEDRICH, R. B.; FONTANA, M. C.; BECK, R. C. R. Development and physicochemical characterization of dexamethasone-loaded polymeric nanocapsule suspensions. **Química Nova**, 31: 1131-1136, 2008.

GERLING, D.; HOROWITZ, A. R.; BAUMGAERTNER, J. Una reinterpretación sobre las moscas blancas. **Manejo integrado de plagas**, 63: 13-21, 2002.

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

GOODNER, K. L. Practical retention index models of OV-101, DB-1, DB-5 and DB-Wax for flavor and fragrance compounds. **Scient Direct LWT**, 41: 951-958, 2008.

GOTTLIEB, O. R.; BORIN, M. R. M. B.; PAGOTTO, C. L. A. C., ZOCHER, D. H. T. Biodiversidade: o enfoque interdisciplinar brasileiro. **Ciênc. saúde coletiva**, Rio de Janeiro, 3: 97-102, 1998.

GOVENDER, T.; STOLNIK, S.; GARNETT, M. C.; ILLUM, L.; DAVIS, S. S. PGLA nanoparticles prepared by nanoprecipitation: drug loading and release studies of a water soluble drug. **J. Controlled Rel.**, 57: 171-185, 1999.

GRUPO ETC (Action Group on Erosion Technology and Concentration). PEDROZO, J. F.; BORGHETTI, F. Nanotecnologia os riscos da tecnologia do futuro. L&PM, 2005.

GUSMÁN-MALDONADO, S. H.; MARÍN-JARILLO, A.; CASTELLANOS, J. Z.; GONZÁLEZ DE MEJÍA, E.; ACOSTA-GALLES GOSC, J. A. Relationship between physical and chemical characteristics and susceptibility to *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae) and *Acanthoscelides obtectus* (Say) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. **Journal of Stored Products Research**, 32: 53-58, 1996.

HOROWITZ, A. R.; ISHAAYA, I. Chemical control of Bemisia-management e application. In: Gerling, D. & Richard, T. M. (Eds.) **Bemisia: Taxonomy, biology, damage, control and management**. Intercept, 537-556, 1995.

IBGE (a) – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola, 2014**. Disponível:

<ftp://ftp.ibge.gov.br/ProducaoAgricola/IBGE/> acessado em janeiro 2015.

IBRAHIM, M. A.; P. KAINULAINEN, A.; AFLATUNI, K.; TIILIKKALA, AND J. K. HOLOPAINEN. Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: with special reference to limonene and its suitability for control of insect pests. **Agric. Food Sci. Finland**, 10: 243-259, 2001.

IPORÁ, Prefeitura Municipal. **Plano de Coleta e Disposição Final dos Resíduos Sólidos de Iporá**, 2001.

ISMAN, M.B. Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, 51: 45-46. 2006.

JANINI, J. C.; BOIÇA JR., A. L.; JESUS, F. G.; SILVA, A. G.; CARBONELL, S. A.; CHIORATO, A. F. Effects of bean genotypes insecticides and natural products on the control of *Bemisia tabaci* (Genn.) Biotipo B (Hemiptera: Aleroydidae) and *Caliothrips phaseoli* (Hood)(Thysanoptera: Thripidae). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, 33: 445-450, 2011.

JESUS, F. G. **Resistência de genótipos de feijoeiro ao ataque de *Bemisia tabaci* biótipo B (Genn.) (Hemiptera: Aleroydidae) e *Caliothrips phaseoli* (Hood.) (Thysanoptera: Thripidae)**. Dissertação de Mestrado apresentada Programa de Pós Graduação da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, 2007.

JESUS, F. G.; BOIÇA JR., A. L.; PITTA, R. M.; CAMPOS, A., P.; TAGLIARI, S., R., A. Fatores que afetam a oviposição de *Bemisia tabaci* (Genn.) Biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em feijoeiro. **Biosci. J. Uberlândia**, 27: 190-195, 2011.

KAH, M.; HOFMANN, T. Nanopesticide research: current trends and future priorities. **Environment international**, 63: 224-235, 2014.

KEITA, S. M.; VINCENT, C.; SCHMIT, J. P.; ARNASON, J. T.; BELANGER, A. Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae). **J. Stored Prod. Res.** 37: 339-349, 2001.

KHOT, L. R.; SANKARAN, S.; MAJA, J. M.; EHSANI, R.; SCHUSTER, E. W. Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: a review. **Crop protection**, 35: 64-70, 2014.

KORDALI, S.; ÇAKIR, A.; MAVI, A.; KILIC, H. and YILDIRIM, A. Screening of chemical composition and antifungal activity of essential oils from three Turkish *Artemisia* species. **J. Agric. Food Chem.**, 53: 1408–1416, 2005.

KOUL, O.; WALIA, S.; DHALIWAL, G.S. Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints. **Biopestic. Int.**, 4: 63-84, 2008.

KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Rev. Brasi. Fruti.**, Jaboticabal., 36: 141-146, 2014.

KUMAR, P.; POEHLING, H. M.; BORGEMEISTER, C. Effects of different application methods of azadirachtin against sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* Gennadius on tomato plants. **J. Appl. Entomol.** 129: 489-497, 2005.

KUMAR, S.; BHANJANA, G.; SHARMA A.; SIDHU, M. C.; DILBAGHI, N. Synthesis, characterization and field evaluation of pesticide loaded sodium alginate nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, 101: 1061-1067, 2014.

LACERDA, J. T.; CARVALHO, R. A. Descrição e Manejo Integrado da mosca-branca (*Bemisia* spp.) transmissora de gemmivírus em culturas econômicas. **Tecnol. & Ciên. Agropec.**, João Pessoa, 2: 15-22, 2008.

LAGO, J. H. G.; ÁVILA JR., P.; MORENO, P. R. H.; LIMBERGER, R. P.; APEL, M. A.; HENRIQUES, A. T. Analysis, comparison and variation on the chemical composition from the leaf volatile oil of *Xylopiya aromatica* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, 31: 669-672, 2003.

LARA, V. C. D. **Desenvolvimento de nanocápsulas contendo ácido retinóico para tratamento tópico da acne.** Dissertação (Ciências Farmacêuticas) apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2008.

LEITE, G. L. D.; PIKANÇO, M. C.; ZANUNCIO, J. C.; MOREIRA, M. D.; PEREIRA, P. R. Fatores que influenciam o ataque de mosca-branca em jiloeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 37: 1033-1037, 2002.

LIMA, A. C. S.; LARA F. M. Resistência de genótipos de soja à mosca branca *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera-Aleroydidae) Biótipo B. **Neotropical Entomol.**, 33: 71-75, 2004.

LIMA, A. C. S.; LARA, F. M. **Mosca branca (*Bemisia tabaci*): morfologia, bioecologia e controle.** Jaboticabal: FUNEP, 2001.

LIMA, L. H. C.; QUEIROZ, P.R.; MORETZSOHN, M. de C.; LAGO, W. N. M.; CAMPOS, L.; OLIVEIRA, M. R. V. Estudos da variabilidade genética da mosca branca

Bemisia tabaci raça B (Hemiptera, Aleyrodidae) no Brasil. **Documentos 109. EMBRAPA - Recursos Genéticos e Biotecnologia**. Brasília, 2003.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; ANDRADE, M. A.; MELO, B. A.; RODRIGUES, V. G. Caracterização química e atividade inseticida do óleo essencial de *Ageratum conyzoides* L. sobre a lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Biosci. J.**, 26: 1-5, 2010.

LOBO, V.; CIPRIANO, F. T.; ROSA, M. F. Análise do comportamento fotoquímico do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) em solventes de diferentes polaridades. Anais do 54º Congresso Brasileiro de Química, Natal/RN, 3 a 7 de novembro 2014.

LOURENÇÃO, A. L.; NAGAI, H. Surtos populacionais de *Bemisia tabaci* no Estado de São Paulo. **Bragantia**, 53: 53-59, 1994.

LOURENÇÃO, A. L. Situação atual da mosca branca no Brasil – medidas de controle. **O Biológico**, São Paulo, 64: 153-155, 2002.

MAAS, P.; LOBÃO, A.; RAINER, H. Annonaceae. *In: Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB110555>>. Acesso em: 8 de fevereiro de 2013.

MAGENHEIM, B. & BENITA, S. Nanoparticle characterization: a comprehensive physicochemical approach. **Pharma Sciences**, 1: 221-241, 1991.

MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; SILVA, A. C.; OLIVEIRA, J.; CARREIRA, L. M. M. ARAÚJO, J. S. Leaf volatile oils from four Brazilian *Xylopia* species. **Flav. Frag. J.**, 20: 474-747, 2005.

MAINERI, M. M. **Avaliação do potencial citotóxico da peçonha de *Caudisona durissa collilineata* em células mononucleadas do sangue periférico humano**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação e Pesquisa da PUC-GO, Ciências Ambientais e Saúde, 2012.

MAJI, T., BARUAH, I., DUBE, S., HUSSAIN, M.R. Microencapsulation of *Zanthoxylum limonella* oil (ZLO) in glutaraldehyde crosslinked gelatin for mosquito repellent application. **Bioresource Technology**, 98: 840–844. 2007.

MARANGONI, C.; DE MOURA, N. F.; GARCIA, F. R. M. Utilização de óleos essenciais e extratos de plantas no controle de insetos. **Revista de Ciências Ambientais**, Canoas, 6: 95-112. 2012.

MARQUES, M. A.; QUINTELA, E. D.; MASCARIN, G. M.; FERNANDES, P. M.; ARTHUS, S. P.. Management of *Bemisia tabaci* biotype B with botanical and mineral oils. **Crop Protection**, 66: 127-132, 2014.

MARTINEZ, S. S. **Ação do nim *Azadirachta indica* – natureza, usos múltiplos, produção**. Instituto Agrônomo do Paraná, IAPAR, Londrina, PR, p.31-57, 2002.

MELO, A. A. M.; MARTINS, F. R.; SANTOS, F. A. M. Estrutura populacional de *Xylopia aromatica* (Lam.) Mart. e de *Roupala montana* Aubl. em fragmentos de cerrado no estado de São Paulo. **Revista Brasil. Bot.**, 30: 501-507, 2007.

MILHOMEN DE ABREU, C. L. **Controle de *Alternaria solani* em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com óleos essenciais.** Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação da Faculdade de Ciências Agrônômicas UNESP - Botucatu, 2006.

MMA – Ministério do Meio Ambiente. **Avaliação e Identificação das áreas e ações prioritárias para conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade dos biomas brasileiros**, Brasília, 2002.

MORALES, F.J. Conventional breeding for resistance to *Bemisia tabaci* - transmitted geminiviruses. **Crop Protection.**, 20: 825-834, 2001.

MOREIRA, I. C.; ROQUE, N. F.; VILEGAS, W.; ZALEWSKI, C.; LAGO, J. H. G.; FUNASAKI, M. Genus *Xylopia* (Annonaceae): Chemical and Biological Aspects. **Chemistry & Biodiversity**, 10: 1921-1943, 2013.

MOREIRA, J. C.; JACOB, S. C.; PERES, F.; LIMA, J. S.; MEYER, A.; OLIVEIRA-SILVA, J. J.; SARCINELLI, P. N.; BATISTA, D. F.; EGLER, M.; FARIA, M. V. C.; ARAÚJO, A. A.; KUBOTA, A. H.; SOARES, M. O.; ALVES, S. R.; MOURA, C. M.; CURTI, R. Avaliação integrada do impacto do uso do agrotóxico sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo/RJ. **Ciência e Saúde coletiva**, 7: 299-311, 2002.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A. B., KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, 403: 853-858, 2000.

NASCIMENTO, P. F. C.; NASCIMENTO, A. C.; RODRIGUES, C. S.; ANTONIOLLI, A. A.; SANTOS, P. O.; BARBOSA JUNIOR, A. M.; TRINDADE, R. C. Antimicrobial activity of the essential oils: a multifactor approach of the methods. **Rev Bras Farmacogn**, 17:108-113, 2007.

NAVARRO-SILVA, M. A.; MARQUES, F. A.; DUQUE, J. E. L. Review of semiochemicals that mediate the oviposition of mosquitoes: a possible sustainable tool for the control and monitoring of Culicidae. **Revista Brasileira de Entomologia**, 53: 1-6, 2009.

NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. Repellent activity of essential oils: A review. **Bioresource Technology**, 101: 372-378, 2010.

NGUYEN. H. M.; HWANG, I. PARK, J.; PARK, H. Photoprotection for deltamethrin using chitosan coated beeswax solid lipid nanoparticles. **Pest. Management Science**, 68: 1062-1068, 2012.

NORMAN, J. W. JR.; RILEY, D. G.; STANSLY, P. A.; ELLSWORTH, P. C.; TOSCANO, N. C. **Management of Silverleaf Whitefly**: a comprehensive on the manual on the biology, economic impact and control tactics. College Station, 1996.

OLIVEIRA FILHO, A. T.; RATTER, J. A. A study of the origin of central Brazilian forests by the analysis of plant species distribution patterns. **Edinb. J. Bot.** 52: 141-194, 1995.

OLIVEIRA, M. R. V.; FARIA, M. R. **Mosca-branca do complexo *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae): bioecologia e medidas de controle.** Embrapa – Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2000.

OLIVEIRA, M. R. V.; LIMA, L. H. C. Padrões isoenzimáticos de *Trialeurodes vaporariorum* e *Bemisia tabaci* (Homoptera, Aleyrodidae) e de *Encarsia formosa* e *E. lycopersici* (Hymenoptera, Aphelinidae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 32: 683-687, 1997.

OLIVEIRA, V. B.; FERREIRA, A. V.M.; OLIVEIRA, M. C.; TEIXEIRA, M. M.; BRANDÃO, M. G. L.; Effects of *Xylopiia aromatica* fruit on metabolic and inflammatory dysfunction induced by high refined carbohydrate-containing diet in mice. **Food Research Internacional**, 62: 541-550, 2014a.

OLIVEIRA, E. F.; PAULA, H. C. B.; PAULA, R. C. M. Alginate/cashew gum nanoparticles for essential oil encapsulation. **Colloids and surfaces B: Biointerfaces**, 113: 146-151, 2014b.

OLIVEIRA-SILVA, J. J.; MEYER, A.; MOREIRA, J. C. Cholinesterase activities determination in frozen blood samples: an improvement to the occupational monitoring in developing countries. **Human and Environmental Toxicology**, 19: 173-177, 2000.

ORIANI, M. A. G.; VENDRAMIM, J. D.; BRUNHEHOTTO, R. Influência dos tricomas na preferência para oviposição de *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em genótipos de feijoeiro. **Neotropical Entomology**. 34: 97-103, 2005.

PASCOAL-VILLALOBOS, M. J.; BALLESTRA-ACOSTA, M. C. Chemical variation in an *Ocimum basilicum* germplasm collection and activity of the essential oil on *Calosobruchus maculatus*. **Biochem. Syst. Ecol.**, 31: 673-679, 2003.

PAULA, H. C. B.; SOMBRA, F. M.; ABREU, F. O. M. S.; PAULA, R. C. M. *Lippia sidoides* essential oil encapsulation by angico gum/ chitosan nanoparticles. **J. Braz. Chem. Soc.**, 21: 2359-2366, 2010.

PAULA, H. C.B., SOMBRA, F. M., CAVALCANTE, R.F., ABREU, F.O.M.S., PAULA, R.C.M. Preparation and characterization of chitosan/cashew gum beads oaded with *Lippia sidoides* essential oil. **Materials science and engineering**, 31: 173-178, 2011.

PAVARINI, D. P.; PAVARINI, S. P.; NIEHUES, M.; LOPES, N. P. Exogenous influences on plant secondary metabolite levels. **Animal Feed Science and Technology** 176: 5-16, 2012.

PHILOGÈNE, B. J. R.; REGNAULT-ROGER, C.; VINCENT, C. Botanicals: yesterday's and today's promises. *In*: Regnault-Roger, C.; Philogène, B. J. R.; Vincent, C. (eds) **Biopesticides of plant origin**. Lavoisier and Andover, UK, 1–15, 2005.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos Naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, 25: 45-61, 2002.

PONTES, W. J. T.; OLIVEIRA, J. C. S.; CÂMARA, C. A. G.; GODIM JR., M. G. C.; OLIVEIRA, J. V.; SCHWARTZ, M. O. E. Atividade acaricida dos óleos essenciais de folhas e frutos de *Xylopiya sericea* sobre o ácaro rajado (*Tetranychus urticae* KOCH). **Química Nova**, 30: 838-841, 2007.

PRIMEL, E. D.; ZANELLA, R.; KURS, M. H. S.; GONÇALVES, E. F. MACHADO, S. O. MARCHEZAN, E. Poluição das águas por herbicidas utilizados no cultivo de arroz irrigado na região Central do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil: predição teórica e monitoramento. **Química Nova**, 28: 605-609, 2005.

RAO, P. J.; KUMAR, K. M.; SINGH, S.; SUBRAHMANYAM, B. Effects of *Artemisia annua* oil on development and reproduction of *Dysdercus kounigii* F. **J. Appl. Entomol.**, 123: 315-318, 1999.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; COSTA-MELO, L. F. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, 27: 771-780, 2004.

RIBEIRO, J.F.; WALTER, B. M. T. **Fitofisionomias do Cerrado**. *In*: Sano, S. M.; Almeida, S. P. (Eds.). Cerrado: ambiente e flora. p. 89-166. Embrapa, Planaltina – DF, 1998.

RODRIGUES, A. M. S.; PAULA, J. E.; DEGALLIER, N.; MOLEZ, J. F.; ESPÍNDOLA, L. S. Larvicidal activity of some Cerrado plants extract against *Aedes aegypti*. **Journal of the American mosquito control association**, 22: 314-317, 2006.

ROEL, A. R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, 1: 43-50, 2001.

SANTOS, A. S. R. dos. **Biodiversidade, Bioprospecção, Conhecimento Tradicional e o Futuro da Vida**, 2001 Disponível em: <<http://www.ccuec.unicamp.br/revista/infotec>>, acessado em junho 2013.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; FREITAS, L. L.; POHLMANN, A. R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para a administração de fármacos. **Química Nova**, São Paulo, 26: 726-737, 2003.

SCHUSTER, D. J.; STANSLY, P. A.; POLSTON, J. E. Expressions of plant damage by Bemisia. *In*: Gerling, D. & Mayer, R.T. (eds). **Bemisia: Taxonomy, Biology, Damage, Control and Management**. Andover: Intercept Ltd, cap.13, p.153-166, 1996.

SCOTT, N.& CHEN, H. Nanoscale Science and engineering for agriculture and food systems. **Industrial Biotechnology**, 8: 340-343, 2012.

SEMARH - GO. **Estudo de Bacias Hidrográficas sub bacia 24 do Alto Araguaia**. CD-Room-2006.

SHAALAN, E. A. S.; CANYON, D.; YOUNES, M. W. F.; ABDEL-WAHAB, H. & MANSOUR, A. H. A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. **Environment International**, 31: 1149-1166, 2005.

SHEPHERD, G. J.; **Conhecimento e diversidade de plantas terrestres do Brasil**. Banco do Brasil,- Brasília, 2000.

SILVA, J. B.& ROCHA, A. B. Oleorresina do fruto de *Xylopia aromatica* (Lamarck) Martius. **Rev. Ciênc. Farm.**, 3: 33-40, 1981.

SILVA, M. *Prefácio*. **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**. 1. ed. Volume I. Ministério do Meio Ambiente – MMA. Biodiversidade 19. Brasília, DF – 2008.

SIMÕES, C. M. O. & SPITZER, V.. Óleos voláteis. *In*: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A. & Petrovick, P. R. (ed.) **Farmacognosia**. Editora da Universidade Federal de Santa Catarina, 2ª edição. 387-416, 2000.

SINDIVEG, Sindicato Nacional Da Indústria De Produtos Para Defesa Vegetal. Defensivos agrícolas deve ter crescimento de 6% em 2014. Disponível em: <<http://www.sindiveg.org.br/noticiaonline.php?cod=2453>>. Acesso em dezembro 2014.

SOARES, C. S. A.; SILVA, M.; COSTA, M. B.; BEZERRA, C. E. S.; Ação inseticida dos óleos essenciais sobre a lagarta desfolhadora *Thyrinteina arnobia* (Stoll.). **Revista Verde**, 6: 154-157, 2011.

SOARES, C. S. A.; SILVA, M.; COSTA, M. B.; BEZERRA, C. E. S.; CARVALHO, L. M.; SOARES, A. H. V. Atividade de óleos essenciais sobre *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (Hemiptera: Aphididae) em roseira. **Revista Brasileira de Agroecologia**, 7: 169-175, 2012.

SOPPIMATH, K. S.; AMINABHAVI, T. M.; KULKARNI, A. R.; RUDZINSKI, W. E.; Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. **J. Controlled Release**, 70: 1-20, 2001.

SOUZA, L. M. B. **Avaliação da ação inseticida de extratos vegetais e óleo essencial e substâncias sobre imaturos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) em condições de laboratório**. Dissertação apresentada ao Programa de pós-graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

SOUZA, A. P. **Atividade inseticida e modo de ação de extratos de meliáceas sobre *Bemisia tabaci* (Genn., 1889) biótipo B**. Tese (Doutorado em Ciências) apresentada à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2004.

SOUZA, A. P.; VENDRAMIN, J. D. Efeito translaminar, sistêmico e de contato de extrato aquoso de sementes de nim sobre *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B em tomateiro. **Neotropical Entomology**, 34: 83-87, 2005.

SOUZA, J. A. **Estudo da biodegradação do ácido 2,4-diclorfenoxiacético em formulações de liberação controlada**. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Universidade de Campinas, 1999.

SOUZA, P. M. S.; LOBO, F. A.; ROSA, A. H.; FRACETO, L. F. Desenvolvimento de nanocápsulas de Poli- ϵ -caprolactona contendo o herbicida atrazina. **Quim. Nova**, 35: 132-137, 2012.

SOUZA-AGUIAR, L. M. MACHADO R. B.; MARINHO FILHO. **A diversidade biológica do Cerrado**. Embrapa – Cerrado. 2004.

SOUZA-DIAS, J. A. C.; SAWASAKI, H. E.; SILVA, M. S.; GIUSTO, A. B. Mosca branca (*Bemisia tabaci*) x viroses na bataticultura: Não bastava o mosaico amarelo deformante (geminivírus – TYVSV) e agora também o enrolamento da folha (luteovírus – PLRV)? **Batata Show, ABBA**, ano 5, nº 12, p.13, agosto, 2005.

SOUZA-SILVA, K. F. A. **Resistência de genótipos de tomates à *Bemisia tabaci* (genn) (Hemiptera-Aleroydidae) biótipo B**. Dissertação apresentada a Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.

STASHENKO, E. E.; JARAMILLO, B. E.; MARTÍNEZ, J. R. Analysis of volatile secondary metabolites from colombian *Xylopiia aromatica* (Lamarck) by different extraction and headspace methods and gas chromatography. **J. chromatogr. A.**, 1025: 105-113, 2004.

SUFFREDINI, I. B.; PACIENCIA, M. L. B.; VARELLA, A.D.; YOUNES, R.N. *In vitro* cytotoxic activity of Brazilian plant extracts against human lung, colon and CNS solid cancers and leukemia. **Fitoterapia**, 78: 223–226, 2007.

TAVARES, I. S. **Obtenção e caracterização de nanopartículas de quitosana**, Dissertação de Mestrado apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.

TELLEZ, M. R.; KHAN, I. A.; KOBISY, M.; SCHRADER, K. K.; DAYAN, F. E. & OSBRINK, W. Composition of the essential oil of *Lepidium meyenii* (Walp.). **Phytochemistry** 61: 149-155, 2002.

TOMA, H. E. Interfaces e organização da pesquisa no Brasil: da Química à nanotecnologia. **Química Nova**, 28: 48-51, 2005.

TRACKER, J. M. R. **An introduction to arthropod pest control**. Cambridge University Press Cambridge, 2002.

TRIPATHI, A. K.; PRAJAPATI, V.; AGGARWAL, K. K.; SUSHIL KUMAR; PRAJAPTI, V.; KUMAR, S.; KUKREJA, A. K.; DWIVEDI, S. AND SINGH, A. K.

Effects of volatile oil constituents of *Mentha* species against stored grain pests, *Callosobrunchus maculatus* and *Tribolium castanum*. **J. Med. Arom. Plant Sci.**, 22: 549–556, 2000.

VENDRAMIN, J. D.; SOUZA, A. P.; ONGARELLI, M. G.; Comportamento de oviposição da mosca branca *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hemiptera-Aleroydidae) biótipo B em tomateiro. **Neotrop. Entomol.**, 38: 126-132, 2009.

VIEGAS JR., C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, 26: 390-400, 2003.

VIEGAS JR., C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química nacional moderna. **Química Nova**, 29: 326-337, 2006.

VIEIRA, C.; PAULA JR., T. J.; BORÉM, A. **Feijão: aspectos gerais e cultura no estado de Minas**. UFV, 1998.

VIEIRA, M. G. S. **Estudo químico de *Xylopia nitida* dunal (Annonaceae)**. Dissertação de mestrado em Química da Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2010.

VIEIRA, P. C.; MAFEZOLI, J.; BIAVATTI, M. W. **Inseticidas de origem vegetal**. In.: Ferreria: T. T.B.; Correa, A. G.; Vieira, P. C. Produtos Naturais no controle de insetos. Ed. Especial; 2001.

VILLAS-BÔAS, G. L.; FRANÇA, F. H.; ÁVILA, A. C.; BEZERRA, I. C. manejo integrado da mosca-branca *Bemisia argentifolli*. Embrapa – CNPH, **Circular Técnica** n.9, 1997.

WOGUEM, V.; FOGANG, H.P. D.; MAGGI, F.; TAPONDJOU, L. A.; WOMENI, H. M.; QUASSINTI, L.; BRAMUCCI, M.; VITALI, L. A.; PETRELI, D.; LUPIDI, G.; PAPA, F.; VITTORI, S.; BARBONI, L.; Volatile oil from striped African pepper (*Xylopia parviflora*, Annonaceae) possesses notable chemopreventive, anti-inflammatory, and antimicrobial potential. **Food Chemistry**, 149: 183-189, 2014.

YANG, N.W.; LI, A.L.; WAN, F.H.; LIU, W.X.; JOHNSON, D. Effects of plant essential oils on immature and adult sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* biotype B. **Crop Protection**, 29: 1200-1207, 2010.

YOKOYAMA, M. Pragas. In: Vieira, C.; Paula Júnior, T. J.; Borém, A. (Ed.). **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, p. 357-374, 1998.

YOKOYAMA, M. & FARIA, J. C. Integração da avaliação de danos causados pelo Mosaico Dourado do Feijoeiro: o papel de culturas hospedeiras do vetor do vírus e manejo da praga e doença. **Séries Documentos Embrapa Arroz e Feijão**, Santo Antônio de Goiás. Documento 230, 28 p., 2008.

ZAFRA-POLO, M. C.; GONZÁLES, M. C.; ESTORNELL, E.; SAHPAZ, S.; CORTEZ, D. Acetogenins from Annonaceae, inhibitor of mitochondrial complex. **Phytochemistry**, 43: 253-271, 1996.

ZUCCHI, R. A.; SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O. **Guia de identificação de pragas agrícolas**. FEALQ, Piracicaba, p. 110-111, 1993.