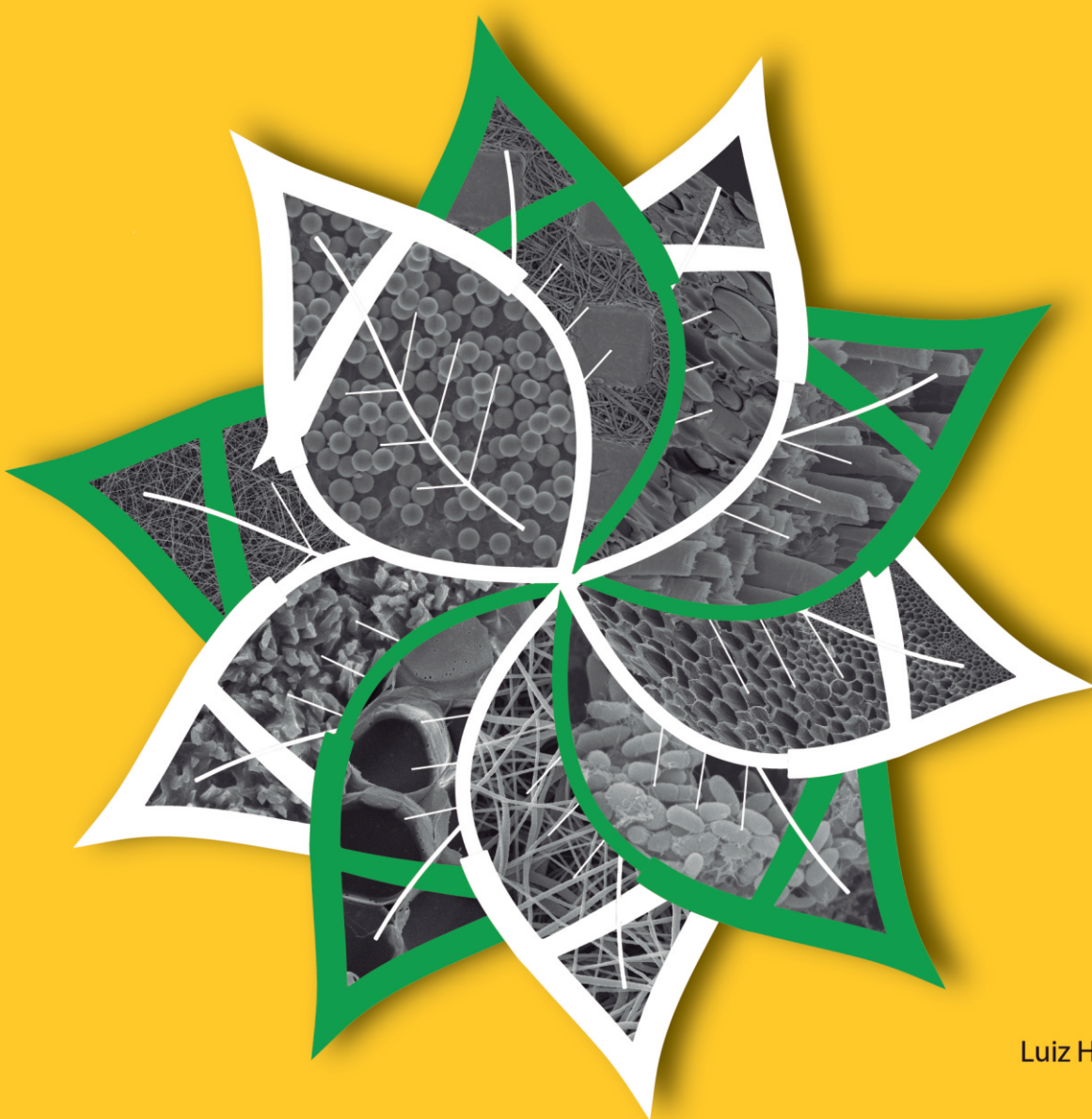


Rede de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio Anais do IX Workshop 2017



Editores

Caue Ribeiro de Oliveira
Elaine Cristina Paris
Luiz Henrique Capparelli Mattoso
Marcelo Porto Bemquerer
Maria Alice Martins
Odílio Benedito Garrido de Assis

ISSN 2175-8395

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Instrumentação
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

**ANAIS DO IX WORKSHOP DE NANOTECNOLOGIA
APLICADA AO AGRONEGÓCIO**

Caue Ribeiro
Elaine Cristina Paris
Luiz Henrique Capparelli Mattoso
Marcelo Porto Bemquerer
Maria Alice Martins
Odílio Benedito Garrido de Assis

Editores

Embrapa Instrumentação

São Carlos, SP

2017

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Instrumentação

Rua XV de Novembro, 1452

Caixa Postal 741

CEP 13560-970 - São Carlos-SP

Fone: (16) 2107 2800

Fax: (16) 2107 2902

www.embrapa.br/instrumentação

E-mail: www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Wilson Lopes da Silva

Secretária executiva: Maria do Socorro Gonçalves de Souza Monzane

Membros:

Carlos Renato Marmo

Cíntia Cabral da Costa

Cristiane Sanchez Farinas

Elaine Cristina Paris

Maria Alice Martins

Paulo Renato Orlandi Lasso

Capa - Desenvolvimento: NCO; criação: Letícia Longo

Editoração eletrônica: Valentim Monzane

1ª edição

1ª impressão (2017): tiragem 300

As opiniões, conceitos, afirmações e conteúdo desta publicação são de exclusiva e de inteira responsabilidade dos autores, não exprimindo, necessariamente, o ponto de vista da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), vinculada ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados internacionais de catalogação (CIP)

Embrapa Instrumentação

Anais do IX Workshop da rede de nanotecnologia aplicada ao agronegócio – 2017 – São Carlos: Embrapa Instrumentação, 2017.

ISSN 2175-8395

1. Nanotecnologia – Evento. I. Ribeiro, Caue. II. Paris, Elaine Cristina. III. Mattoso, Luiz Henrique Capparelli. IV. Bemquerer, Marcelo Porto. V. Martins, Maria Alice. VI. Assis, Odílio Benedito Garrido de. VII. Embrapa Instrumentação.

O USO DE NANOPARTÍCULAS PARA A LIBERAÇÃO CONTROLADA DE SEMIOQUÍMICOS DE INSETOS E PLANTAS.

Hassemer, M.J.^{1,4}, Blassioli-Moraes, M.C.¹, Borges, M.¹, Laumann, R.A.¹, Bemquerer, M.², Rodrigues, M.³, Costa, E.S.⁵, Vaz Jr., S.⁵, Magalhães, D. M.¹, Michereff, M.F.F.¹

¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Laboratório de Semioquímicos

²Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Laboratório de Espectrometria de massas

³Instituto de Química-Universidade de São Paulo

⁴Universidade de Brasília – Departamento de Zoologia.

⁵Embrapa Agroenergia

E-mail: carolina.blassioli@embrapa.br

Classificação: Novos materiais e processos em nanotecnologia e suas aplicações no agronegócio

Resumo

Semioquímicos de plantas e de insetos foram formulados em septos de borracha, que é o método amplamente utilizado para produtos comerciais na liberação controlada de semioquímicos. Foram formulados diferentes compostos com diferentes características físico-químicas nos septos de borrachas. Pretende-se formular esses mesmos compostos em partículas de sílica preparadas em escala nanométrica obtidas através da metodologia de sol-gel. Com o intuito de avaliar a aplicabilidade dessas partículas para liberação controlada de semioquímicos, inicialmente utilizou-se o composto *cis*-jasmona. Os resultados mostraram que os septos de borracha apresentam discriminação na liberação de compostos, dependendo da pressão de vapor dos mesmos. Compostos como os monoterpenos (*R*)-limoneno e (*E*)-ocimeno apresentaram liberação de 10 a 20 % da massa total impregnada, já compostos com maior afinidade pelo substrato e maior peso molecular como o sesquiterpeno (*E,E*)- α -farneseno liberou somente 0.7% da massa total impregnada. Quando utilizou-se as nanopartículas de sílica calcinadas, a adsorção do composto foi alta, sendo menos de 1% da massa total impregnada perdida nos primeiros 12 dias de liberação. Já nas partículas de lignina essa perda em torno de 1% ocorreu nos nove dias avaliados.

Palavras-chave: feromônio, liberação controlada, lignina, sílica, septos de borracha.

NANOPARTICLES FOR CONTROLLED RELEASE OF SEMIOCHEMICALS OF INSECTS AND PLANTS.

Abstract

Semiochemicals of plants and insects have been formulated into rubber septa, which is the method widely used in commercial products for the controlled release of semiochemicals. Different compounds with different physical and chemical characteristics were formulated in order to evaluate the applicability of nanoparticles to controlled release of semiochemicals, the compound *cis*-jasmone was used as model in particles of silica and lignin. The results showed that the rubber septa present discrimination in the release of compounds depending on their vapor pressure. Compounds such as monoterpenes (*R*)-limonene and (*E*)-ocimene showed a release of 10 to 20% of the total impregnated mass, on the other hand compounds with higher affinity for the substrate and higher molecular weight as the sesquiterpene (*E,E*)- α -farnesene released only 0.7% of the total mass impregnated. When the calcined silica nanoparticles were used, the adsorption of *cis*-jasmone was high, with less than 1 % of the total impregnated mass being lost on the 12 days of release. In the lignin particles, this loss was also low by around 1% in the nine days evaluated.

Keywords: Pheromone, Release control, Lignin, Silica, Rubber septa.

1 INTRODUÇÃO

Os semioquímicos, como os feromônio sexuais dos insetos e os compostos orgânicos voláteis das plantas, vem sendo cada vez mais utilizados como ferramenta de controle no manejo integrado de pragas (MIP). Os semioquímicos são moléculas naturais, produzidas pelos organismos, que são

capazes de provocar uma mudança no comportamento ou fisiologia de outro organismo. Os semioquímicos podem ser divididos em feromônios, de ação intraespecífica, e aleloquímicos, que tem ação interespecífica (Borges e Blassioli-Moraes, 2017). Os mais conhecidos e utilizados em diferentes sistemas agrícolas são os feromônios sexuais. Por exemplo, o feromônio sexual do percevejo da soja *Euchistus heros* (Borges et al., 2011), que está sendo usado na cultura da soja e o da mariposa *Cydia pomonella*, que é usado há mais de 20 anos no MIP da cultura da maçã no sul do Brasil para seu monitoramento. Os feromônios são importantes aliados no manejo das pragas, por que são específicos, não são tóxicos, são moléculas que se degradam facilmente na presença de radiação UV, reduzindo a exposição de outros organismos, e são altamente eficientes na atração de insetos. O desenvolvimento de ferramentas para aplicação de semioquímicos na natureza, para um manejo de pragas mais sustentável e menos tóxico ao homem e ao meio ambiente, é de grande interesse para a sociedade. Um dos principais gargalos do uso de feromônio no campo é a sua formulação; a eficiência dos feromônios depende das taxas de liberação que precisam mimetizar a liberação dos insetos na natureza. Para a aplicação destes feromônios, as moléculas são sintetizadas em laboratório e formuladas em substratos que farão a liberação controlada, sendo usados no geral os septos de borracha. Quando os componentes da mistura feromonal apresentam moléculas com características físico-químicas diferentes, como pressão de vapor, por exemplo, o procedimento geralmente adotado para garantir a proporção de liberação dos componentes, é formular cada componente em um septo de borracha diferente. Os sistemas existentes no mercado atual funcionam muito bem quando se trabalha com um único componente ou com misturas complexas de moléculas com características físico-químicas semelhantes, mas não apresentam bons resultados quando essas moléculas apresentam características físico-químicas distintas. Assim, se faz necessário desenvolver sistemas inteligentes capazes de controlar de forma eficiente a liberação dos compostos. Neste trabalho serão apresentados estudos de taxa de liberação de semioquímicos com diferentes características físico-químicas usando septos de borracha, bem como os trabalhos conduzidos pelo grupo usando substratos de nanopartículas de sílica e lignina para a liberação controlada de semioquímicos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Liberação controlada de semioquímicos a partir de septos de borracha.

Quatro compostos (*R*)-limoneno, (*E*)-ocimeno, (*R*)-dauceno e (*E,E*)- α -farneseno foram impregnados juntos em único septo ou separados, um em cada septo. Foi utilizada a seguinte quantidade de cada composto: (*R*)-limoneno 230 μ g, (*E*)-ocimeno 160 μ g, (*R*)-dauceno 80 μ g e (*E,E*)- α -farneseno 230 μ g. A taxa de liberação ao longo de nove dias foi avaliada usando 50 mg de adsorvente Tenax GR (Altech). O adsorvente foi eluído com hexano, concentrado a 50 μ L e um padrão interno (β -cariofileno, concentração final de 0,01 mg/mL), foi adicionado à solução para análise quantitativa. Os extratos foram analisados por GC-FID e as áreas dos picos usadas para a quantificação.

Síntese das nanopartículas de sílica

As nanopartículas de sílica lamelar (NSL) foram preparadas sob agitação usando 0,13 g de brometo de hexadecil-trimetil-amônio dissolvidos em 12 mL de água, agitação por 1 min. Após esse período 1 g do composto *cis*-jasmona foi adicionado, antes da polimerização da partícula. Após 3 minutos de homogeneização foi adicionado o reagente de polimerização, 1,5 g de ortosilicato de tetraetila e após mais 3 minutos adicionou-se 2,5 mL de hidróxido de amônio. A mistura ficou sob agitação por 12 horas à temperatura ambiente. Desta reação obteve-se 668,8 mg de partícula impregnada com *cis*-jasmona. As partículas foram calcinadas antes da impregnação, para retirada de água. Cada 1 mg de partícula foi impregnada com 2 mg de *cis*-jasmona.

Taxa de liberação do *cis*-jasmona da partícula de sílica

Para avaliar a taxa de liberação foram preparados liberadores contendo aproximadamente 2 mg de partícula e os voláteis liberados da partícula foram capturados através da técnica de aeração. Os voláteis foram coletados a cada 24 horas através da coleta de voláteis em polímero adsorvente Tenax Gr (Altech) e os extratos obtidos da aeração analisados por CG-DIC para quantificação da taxa

de liberação usando o método do padrão interno (16-hexadecanolactona, concentração final de 0,01 mg/mL).

Preparo nanopartículas de lignina

A lignina (798 g/mol) foi lavada em banho de ultrassom com acetona e depois de seca foi novamente redissolvida em acetona contendo o composto *cis*-jasmona. Impregnou-se 1mg de *cis*-jasmona em 8 mg de lignina. A mistura foi deixada por 12 horas na solução, o excesso de solvente foi rotaevaporado, e o solvente restante foi evaporado por 12 horas à temperatura ambiente. Após esse período as partículas de lignina impregnadas com *cis*-jasmona foram submetidas à aeração como descrito acima e os extratos foram analisados por CG-DIC para quantificação de *cis*-jasmona sendo liberada, usando o método do padrão interno (16-hexadecanolactona, concentração final de 0,01 mg/mL).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Liberação de septos de borracha

A liberação dos compostos dos septos de borracha apresentou um perda inicial em torno de 10% da massa dos monoterpenos (*E*)-ocimeno e (*R*)-limoneno (Figura 1, Tabela 1); já para o composto (*E,E*)- α -farneseno a perda foi menor que 1%. Isso foi observado tanto quando os compostos foram impregnados juntos em um único septo (Tabela 2), quanto individualmente em septos separados (Tabela 1). Os sesquiterpenos (*E,E*)- α -farneseno e (*R*)-dauceno têm cinco carbonos a mais que os monoterpenos e apresentam menor pressão de vapor e maior afinidade pelo material do substrato. Estes compostos foram liberados de forma mais lenta e uniforme ao longo dos nove dias avaliados do que os dois monoterpenos, tanto nos septos impregnados com compostos individualmente (Figura 2), como quando foram impregnados juntos (Figura 3).

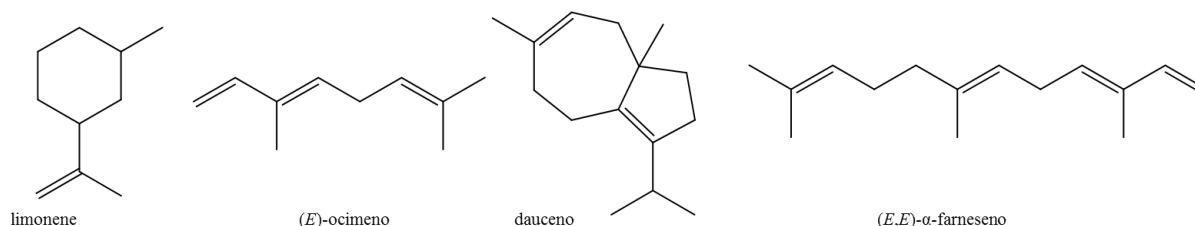


Figura 1. Estrutura química dos quatro compostos impregnados nos septos de borracha.

Tabela 1. Taxa de liberação de 4 semioquímicos impregnados individualmente em septo de borracha

Compostos	Quantidade μg	Dia 1	Dia 2	Dia 3
(<i>R</i>)-limoneno	230	$9.82 \pm 1.15\text{a}^*$	$8.10 \pm 0.63\text{ab}$	$6.83 \pm 0.75\text{b}$
(<i>E</i>)-ocimeno	160	$10.07 \pm 0.74\text{a}$	$7.26 \pm 0.27\text{b}$	$5.94 \pm 0.61\text{b}$
(<i>R</i>)-dauceno	80	$1.63 \pm 0.08\text{a}$	$1.31 \pm 0.07\text{ab}$	$1.18 \pm 0.12\text{b}$
(<i>E,E</i>)- α -farneseno	230	$0.37 \pm 0.24\text{a}$	$0.81 \pm 0.19\text{a}$	$0.51 \pm 0.29\text{a}$

Tabela 2. Taxa de liberação de 4 semioquímicos impregnados juntos em septo de borracha

Compostos	Quantidade μg	Dia 1	Dia 2	Dia 3
(<i>R</i>)-limoneno	230	$10.54 \pm 0.87\text{a}$	$9.51 \pm 1.04\text{ab}$	$6.66 \pm 0.47\text{b}$
(<i>E</i>)-ocimeno	160	$9.59 \pm 0.75\text{a}$	$7.11 \pm 0.78\text{ab}$	$4.90 \pm 0.33\text{b}$
(<i>R</i>)-dauceno	80	$1.89 \pm 0.09\text{a}$	$1.59 \pm 0.22\text{a}$	$1.31 \pm 0.08\text{a}$
(<i>E,E</i>)- α -farneseno	230	$1.86 \pm 0.41\text{a}$	$1.13 \pm 0.09\text{a}$	$1.33 \pm 0.22\text{a}$

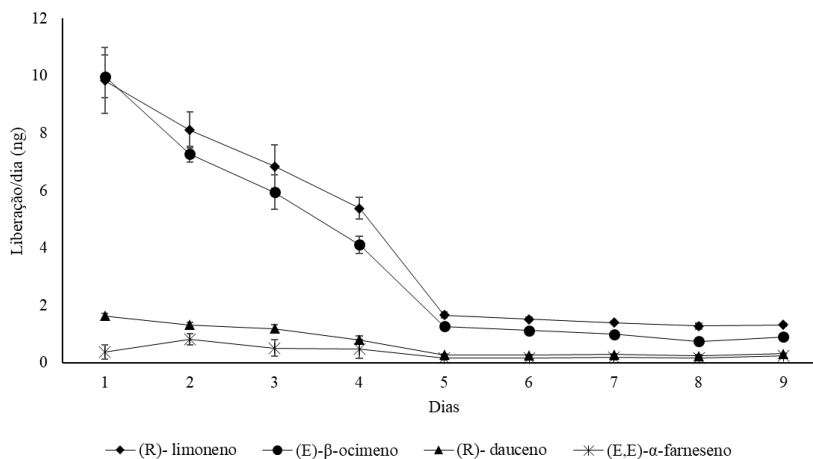


Figura 2. Taxa de liberação de semioquímicos (µg/dia) impregnados individualmente em septo de borracha ao longo de nove dias.

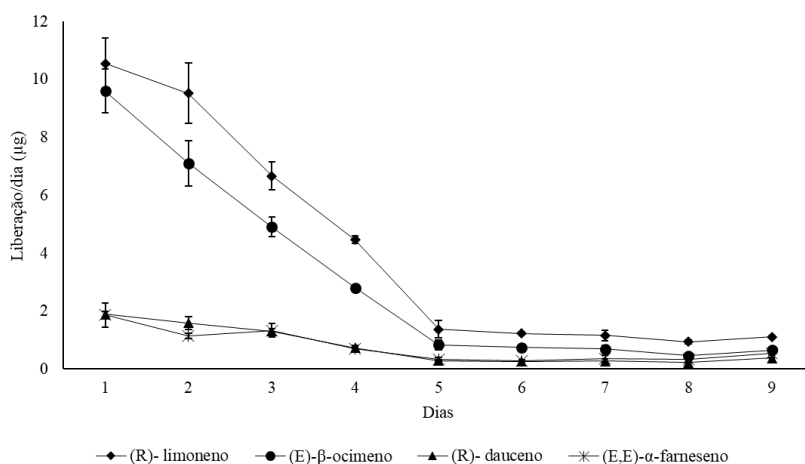


Figura 3. Taxa de liberação de semioquímicos (µg/dia) impregnados juntos em septo de borracha ao longo de nove dias.

3.2 Nanopartículas de sílica

A taxa de liberação das partículas foi avaliada ao longo de 23 dias consecutivos, o composto *cis*-jasmona foi identificado em todos os extratos. Nos quatro primeiros dias de coleta a quantidade média liberada foi alta (Figura 4) mostrando um decaimento exponencial até o vigésimo terceiro dia. A liberação foi lenta com perda de menos de 1 % de todo material impregnado nos primeiros 15 dias.

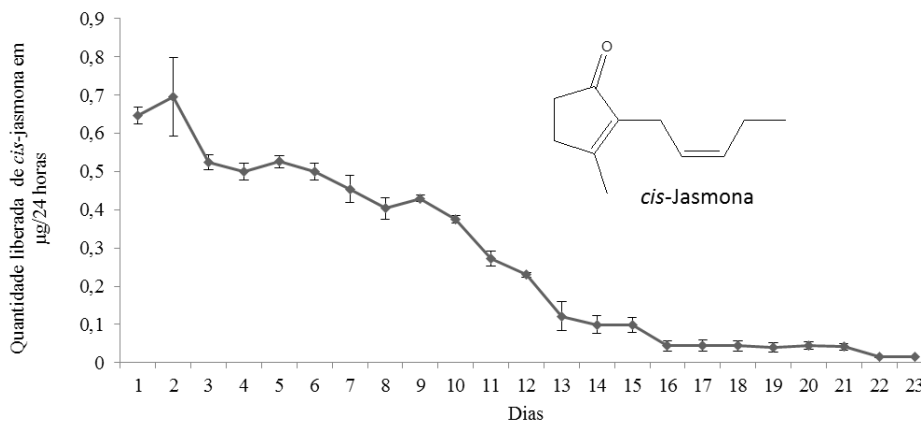


Figura 4. Taxa de liberação em mg/24 horas do *cis*-jasmona da partícula de sílica, ao longo dos 23 dias avaliados.

3.3 Nanopartículas de lignina

A taxa de liberação das partículas foi avaliada ao longo de 10 dias consecutivos, o composto *cis*-jasmona foi identificado em todos os extratos. Nos quatro primeiros dias de coleta a quantidade média liberada foi em torno de 1% massa total (Figura 5) mostrando um decaimento exponencial e uniforme até o décimo dia.

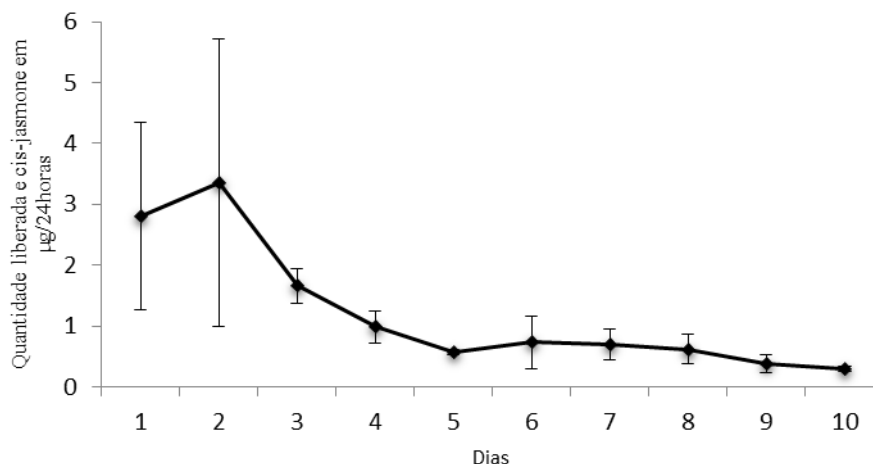


Figura 5. Taxa de liberação em mg/24 horas do *cis*-jasmona da partícula de lignina ao longo dos 10 dias avaliados

4 CONCLUSÃO

As nanopartículas de lignina mostraram um comportamento de liberação do composto contínuo e uniforme e com menor perda inicial do material impregnado quando comparado aos septos de borracha e às partículas de sílica. Novos compostos e misturas complexas serão testadas para avaliar a viabilidade da lignina para liberação controlada de semioquímicos. As partículas de sílica calcinadas também mostraram uma liberação lenta dos semioquímicos, com perda uniforme ao longo dos dias avaliados. Comparando as duas nanopartículas, estas mostraram ser bem mais eficiente do que o septo de borracha, apresentando uma liberação mais lenta do composto. Nos septos de borracha a perda de material nos primeiros dias ocorre provavelmente devido a não adsorção ao substrato.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, Finep, Capes e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa. Bolsa de doutorado da CAPES para Marla Juliane Hassemer, e CAPES_EMBRAPA para Eveline Costa.

REFERÊNCIAS

BORGES, M.; M. C. B. MORAES; M. F. PEIXOTO; C. S. S. PIRES; E. R. SUJII; R. A. LAUMANN. Monitoring the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) with Pheromone baited traps in soybean fields. *Journal of Applied Entomology* 135: 68-80, 2011.

BLASSIOLI-MORAES, M. C. M. BORGES, R. A. LAUMANN. The application of chemical cues in arthropod pest management for arable crops, pp. 225-244. *In* E. Wajnberg and S. Colazza (Eds.), *Chemical Ecology of Insect Parasitoids*. Wiley-Blackwell, UK. 2013, p 225-239.

BORGES M. e BLASSIOLI-MORAES, M.C. Semiochemistry of stink bugs in Stink Bugs Biorational control based on communication processes A. Cokl and M.Borges0 Eds.. CRC Press. 2017 . p. 95-124