

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES À BASE DE D-LIMONENO
PARA O CONTROLE DA MOSCA-BRANCA (*Bemisia tabaci*)

Rodrigo Tavares Marques*

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE PROFISSIONAL EM QUÍMICA, área de concentração QUÍMICA TECNOLÓGICA.

Orientador: Prof. Dr. Felipe Christoff Wouters
***Vínculo Empregatício: Albaugh Brasil**

São Carlos - SP
2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Química

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Rodrigo Tavares Marques, realizada em 25/02/2021.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Felipe Christoff Wouters (UFSCar)

Prof. Dr. Moacir Rossi Forim (UFSCar)

Prof. Dr. Giuliano Pauli (Superbac)

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

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Química.

Faça o teu melhor na condição que você tem, enquanto
você não tem condições melhores, para fazer melhor
ainda.
(Mário Sérgio Cortela).

AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, à Nossa Senhora, que sempre passou na frente de problemas e angústia se fazendo sempre presente na minha vida e da minha família. Família esta que abriu mão de tempos significativos da minha presença, dando suporte e apoio para que eu pudesse buscar esta conquista.

Agradeço ao meu Pai Assis e à minha mãe Fátima, por serem exemplo em minha vida.

À minha esposa Lys, que segurou as pontas na minha ausência e não me deixou desistir nas diversas vezes que não me senti capaz de ir adiante.

Minha filha Letícia e meu filho Gustavo, espero que este trabalho os inspire de que nunca é tarde para buscar seus objetivos e sonhos.

Ao amigo Dr. Giuliano Pauli, que foi o maior incentivador para que eu iniciasse o aprofundamento de meus estudos, sempre incentivando e motivando para ir adiante.

À FMC Química do Brasil e Albaugh, empresas que apoiaram e incentivaram meu aprofundamento dos estudos, prestando todo o apoio necessário para que eu tivesse êxito nesta conquista.

Agradecimento especial ao meu orientador Dr. Felipe Christoff Wouters, que sempre com muita atenção e paciência, guiou-me durante este mestrado, sempre me desafiando a buscar fazer melhor. Assim como ao professor Dr. Moacir Rossi Forim, que, desde a validação do projeto, buscou torná-lo algo de valor. Meu muito obrigado!

RESUMO

DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES À BASE DE D-LIMONENO PARA O CONTROLE DA MOSCA-BRANCA (*Bemisia tabaci*)

A espécie *Bemisia tabaci* da mosca-branca possui relevância comercial na agricultura, devido ao seu potencial de prejuízo à produtividade das diferentes culturas hospedeiras desta praga, como soja, feijão e tomate. O uso de inseticidas naturais apresenta-se como uma importante estratégia no controle dessas pragas, com destaque para os óleos essenciais. Neste trabalho, três formulações à base de D-limoneno foram desenvolvidas para o controle da mosca-branca. Os tipos de formulações testadas foram: concentrado emulsionável, microemulsão e pó molhável. As três formulações apresentaram boa estabilidade e eficácia similar em todos os testes de eficiência agrônômica. Em relação ao controle de adultos da mosca-branca, as formulações desenvolvidas apresentaram resultados compatíveis aos de dois inseticidas disponíveis no mercado (Talstar® e Sperto®). No entanto, quando usadas de forma pura, apresentaram resultados insatisfatórios para o controle de ninfas da mosca-branca. Baseado nos experimentos realizados, no custo e na flexibilidade de produção, a formulação mais indicada é a do tipo concentrado emulsionável. É importante mencionar que, de modo a ter eficácia no controle de adultos e ninfas, esta deve ser empregada em conjunto com Bifentrina (Talstar®).

Palavras-chaves: D-limoneno. Óleos essenciais. Mosca-branca. Formulações agroquímicas.

ABSTRACT

FORMULATIONS DEVELOPMENT BASED ON D-LIMONENE TO WHITEFLY CONTROL (*Bemisia tabaci*)

The species *Bemisia tabaci* of whitefly presents commercial relevance in agriculture due to its potential damage to productivity of the different host crops for this pest, like soybean, bean, and tomato. The use of natural insecticide is an important strategy in the control of this pest, with emphasis on essential oils. In this work, three formulations based on D-limonene were developed aiming the control of whitefly. The types of formulations tested were: emulsifiable concentrate, microemulsions, and wet powder. The three formulations presented good stability and similar effectiveness in all agronomic efficiency test. Regarding adult whitefly control, the formulations developed showed results compatible with those of two insecticides available on the market (Talstar® and Sperto®). However, when used in pure form, they presented unsatisfactory results for the control of whitefly nymphs. Based on the performed experiments, on the cost, and flexibility of production, the most suitable formulation was the emulsifiable concentrate type. It is important to mention that, to have effectiveness in controlling adults and nymphs, it must be used with Bifenthrin (Talstar®).

Keywords: D-limonene. Essential oils. Whitefly. Agrochemical formulations.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2.1 - Número de anos entre a descoberta da molécula e sua introdução no mercado.	13
FIGURA 2.2 - Número de moléculas avaliadas para gerar um produto viável comercialmente.	14
FIGURA 2.3 - Custo de desenvolvimento de uma nova molécula sintético.	14
FIGURA 2.4 - D-limoneno (R), óleo essencial da laranja e L-limoneno (S), óleo essencial do limão.	15
FIGURA 2.5 - Possibilidades de desenvolvimento de formulações.	19
FIGURA 2.6 - Desafios típicos do desenvolvimento de formulações do tipo EC.	22
FIGURA 2.7 - Tipos de microemulsão.	23
FIGURA 2.8 - Formulações WP formam suspensões quando aplicadas em água. ..	24
FIGURA 2.9 - Tempo de registro de uns biológicos nas diferentes regiões.	26
FIGURA 2.10 - Ciclo de vida da mosca-branca (<i>Bemisia tabaci</i>).	26
FIGURA 3.1 - Ensaio de eficiência agrônômica do D-limoneno. Experimento realizado em parceria com a Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ).	34

LISTA DE TABELAS

TABELA 2.1 - Terminologia aplicada às formulações agroquímicas.....	18
TABELA 2.2 - Inseticidas recomendados para o controle de químico de B. Tabacci.	28
TABELA 3.1 - Normas ABNT para defensivos agrícolas.....	30
TABELA 3.2 - Caracterização da amostra de D-limoneno utilizada neste trabalho...	32
TABELA 3.3 - Protocolo para teste de eficácia de D-limoneno, isolado e em mistura com inseticidas sintéticos padrões de mercado.	33
TABELA 3.4 - Fórmulas usadas para correção de mortalidade aplicadas aos resultados obtidos.	35
TABELA 4.1 - Formulação do tipo EC (Terpeno 50 EC-R).	37
TABELA 4.2 - Teste de estabilidade: Terpeno 50 EC-R.	37
TABELA 4.3 - Formulação do tipo microemulsão (Terpeno 50 ME).....	39
TABELA 4.4 - Teste de estabilidade: Terpeno 50 ME.....	39
TABELA 4.5 - Formulação do tipo pó molhável desenvolvida (Terpeno 50 WP).	40
TABELA 4.6 - Teste de estabilidade: Terpeno 50 WP.	40
TABELA 4.7 - Média do número de adultos de Bemisia tabaci mortos 24 h após contato com resíduos dos tratamentos.	42
TABELA 4.8 - Média do número de adultos de Bemisia tabaci mortos 48 h após contato com resíduos dos tratamentos.	42
TABELA 4.9 - Média do número de adultos de Bemisia tabaci mortos 72 h após contato com resíduos dos tratamentos.	43
TABELA 4.10 - Média do número de adultos de <i>Bemisia tabaci</i> mortos 5 dias após contato com resíduos dos tratamentos.	43
TABELA 4.11 - Média do número de adultos de Bemisia tabaci mortos 7 dias após contato com resíduos dos tratamentos.	44
TABELA 4.12 - Média do número de ninfas de Bemisia tabaci descendentes dos adultos que entraram contato com resíduos dos tratamentos por 7 dias.	44
TABELA 4.13 - Média do número de ninfas vivas antes da pulverização (dia 0) e 7 dias após pulverização dos tratamentos.....	46

SUMÁRIO

RESUMO	IV
ABSTRACT	V
LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	vii
1 INTRODUÇÃO	10
1.1 A indústria brasileira de defensivos agrícolas	10
1.1 Potencial ação inseticida de produtos de origem natural.....	12
1.2 Desenvolvimento de novos ingredientes ativos	13
1.3 Óleos essenciais como alternativa aos sintéticos	15
1.4 O D-limoneno como agente de controle.....	16
1.5 Desenvolvimento de formulações agroquímicas	17
1.6 Tipos de Formulações desenvolvidas	21
1.6.1 Concentrado emulsionável (EC)	21
1.6.2 Microemulsão (ME)	22
1.6.3 Pó molhável (WP)	23
1.7 Regulamentação de produtos biológicos e/ou naturais	25
1.8 Relevância do controle da mosca-branca (<i>B. tabaci</i>).....	26
3.0 Objetivo do trabalho	29
4.0 METODOLOGIA.....	29
4.1 Preparação das formulações	29
4.2 Teste de envelhecimento acelerado	30
4.3 Desenvolvimento das formulações	32
4.4 Teste de eficiência agrônômica.....	33
4.4.1 Mortalidade de adultos.....	34
4.4.2 Mortalidade de ninfas	35
4.5 Tratamento estatístico	35
5.0 RESULTADOS.....	36
5.1 Desenvolvimento das formulações	36
5.1.1 Concentrado emulsionável.....	36
5.1.2 Microemulsão.....	38
5.1.3 Pó molhável.....	40

5.2	Eficiência agronômica.....	41
5.2.1	Bioensaio com adultos da mosca-branca.....	41
5.2.2	Bioensaio com ninfas da mosca-branca	45
6.0	CONCLUSÃO	47
7.0	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

1 INTRODUÇÃO

1.1 A indústria brasileira de defensivos agrícolas

Em 2019, a soma de bens e serviços gerados no agronegócio brasileiro chegou a R\$ 1,55 trilhão, o que equivale a 21,4% do PIB do país. Vale ressaltar que 68% correspondem ao segmento agrícola, enquanto os 32% restantes estão relacionados às atividades pecuárias. (CNA, 2020).

Nas últimas décadas, a indústria de defensivos agrícolas passou por uma longa e profunda transformação. A produtividade na colheita de grãos no Brasil, por exemplo, aumentou de 17,2 milhões de toneladas em 1960 para 257,7 milhões em 2020. Vale ressaltar que, na década de 60, a área plantada no país era de cerca 22 milhões de hectares, enquanto em 2020 foi de aproximadamente 66,8 milhões. Uma vez que um aumento de 3 vezes na área plantada foi seguido por um acréscimo de 15 vezes na produtividade, conclui-se que a eficiência do setor agrícola brasileiro teve um incremento de 500%, considerando o período mencionado. (IBGE, 2011).

Além da utilização de tecnologias sofisticadas nos processos envolvidos no setor agrícola, outro fator importante para o aumento da produção é o controle das pragas que podem atacar as culturas – prejudiciais em todas as etapas (semeadura, fases vegetativas e reprodutivas das plantas e pós-colheita), podendo imprimir danos até mesmo aos grãos armazenados (MAGALHÃES e CARVALHO, 1998). Por exemplo, YOKOYAMA (2006) estima que as perdas por pragas do feijoeiro estão entre 33 e 86%.

Por ser um país tropical, o Brasil apresenta altas taxas de umidade e temperaturas elevadas, o que favorece a proliferação de pragas agrícolas. Além disso, o país não apresenta invernos rigorosos – como nos Estados Unidos e na Europa –, que contribuem na diminuição da reprodução das pragas. (EMBRAPA, 2017).

A mosca-branca (*Bemisia tabaci*) é um dos insetos-praga que causam maiores perdas econômicas no Brasil, haja vista suas culturas-alvo serem de grande relevância para a economia brasileira (soja, milho, algodão, feijão e tomate). Por conta de sua alimentação direta no floema, esta praga causa danos diretos na planta, além dos danos indiretos causados por sua excreção açucarada, que favorecem a

reprodução do fungo *Capnodium* (fumagina), impedindo assim as trocas gasosas, o que ocasiona a diminuindo da reprodução da planta. (LIMA et al., 2001).

Além disso, a mosca-branca é responsável pela transmissão de vírus, como o mosaico-dourado-do-feijoeiro, considerado um dos principais problemas na cultura por provocar perdas econômicas que podem variar de 30% a 100%, a depender do cultivo, estágio da planta, população do vetor, presença de hospedeiros alternativos e condições ambientais. (SALGUEIRO, 1993).

O controle da mosca-branca e outras pragas é o fator determinante para o aumento da produtividade agrícola. Dentre as principais formas destacam-se o uso dos defensivos agrícolas, popularmente chamados de agrotóxicos. Podendo ser de origem natural ou sintética, os pesticidas são uma ferramenta efetiva para o controle da população de diferentes pragas, como plantas daninhas, insetos e fungos. (MARTINELLI JÚNIOR, 2005).

A fabricação de defensivos teve início com o lançamento de inseticidas orgânicos clorados, já o emprego de fungicidas ocorreu posteriormente, devido à doença conhecida por ferrugem do café. Os primeiros defensivos utilizados no Brasil foram BHC (Hexaclorobenzeno), Parathion e DDT (Dicloro-Difenil-Tricloroetano), agentes químicos altamente tóxicos, que foram substituídos por compostos de menor toxicidade e que requerem menores doses de aplicação por hectare, como as diamidas. (BULL e HATHAWAY, 1986).

Outro fator relevante no controle de pragas agrícolas é a resistência desenvolvida por esses organismos aos defensivos agrícolas utilizados. O número de agroquímicos que apresentam alguma forma de perda de eficácia em determinado controle tem-se tornado cada vez maior. (YUDELMAN et al., 1998). Neste sentido, as empresas de defensivos agrícolas financiam continuamente pesquisas para o desenvolvimento de novos compostos químicos capazes de combater pragas específicas nas lavouras e que apresentem um potencial de comercialização, de modo a representarem investimentos atrativos. (HARTNELL, 1996).

No Brasil, para um produto agrícola ser comercializado, ele precisa passar pela avaliação dos seguintes órgãos federais: IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis), MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), além do cadastro

estatual. Atualmente, o tempo médio desta avaliação é de 5 anos para produtos pós-patente (genéricos) e de até 11,3 anos para novas moléculas.

Neste contexto, a busca por soluções naturais efetivas ganha força e relevância dentro do setor, uma vez que é esperado uma menor toxicologia, boa disponibilidade e um fluxo regulatório mais favorável para sua apreciação por órgãos reguladores.

1.1 Potencial ação inseticida de produtos de origem natural

No passado era comum o uso de inseticidas de origem natural. Um dos primeiros inseticidas botânicos empregado pelo homem foi a nicotina, extraída da *Nicotiana tabacum*. No entanto, com o surgimento dos inseticidas sintéticos, os naturais perderam espaço, uma vez que este novo mecanismo era de maior e mais rápido controle. (LAGUNES e RODRÍGUEZ, 1992).

A taxa de perda de ingredientes ativos é maior do que a de criação. (MCDOUGALL, 2016). As principais causas dessas perdas são: novas regulamentações, toxicologia desfavorável, limitações de matéria-prima, custos de fabricação e comercialização pouco atrativos e, mais recentemente, a perda de eficácia ou surgimento de resistência. Neste contexto, as atenções para uso e desenvolvimento de produtos naturais aumentaram nos últimos anos. Diversas empresas surgiram focadas em soluções biológicas e grandes multinacionais estão criando portfólios, mas também adquirindo empresas como forma a acelerar sua penetração e manutenção de mercado. (BERENBAUM, 1988; CHIU, 1988; CLOUGH et al. 1994, THACKER, 2002).

Além de geralmente serem menos onerosos, produtos naturais também possuem um fluxo de registro mais favorável, uma vez que as agências reguladoras estão incentivando sua adoção e registro. No Brasil, um inseticida sintético pode demorar até 11,3 anos para ser registrado, enquanto um de origem natural pode ser registrado em até dois anos (MCDOUGALL, 2016).

1.2 Desenvolvimento de novos ingredientes ativos

Por conta do número e complexidade de legislações para aprovação da utilização de novos defensivos agrícolas, o investimento e o tempo de retorno são cada vez maiores. A Figura 2.1 apresenta a crescente do valor investido para o desenvolvimento de uma nova substância com potencial eficácia para manejo de pragas. (MCDOUGALL, 2016).

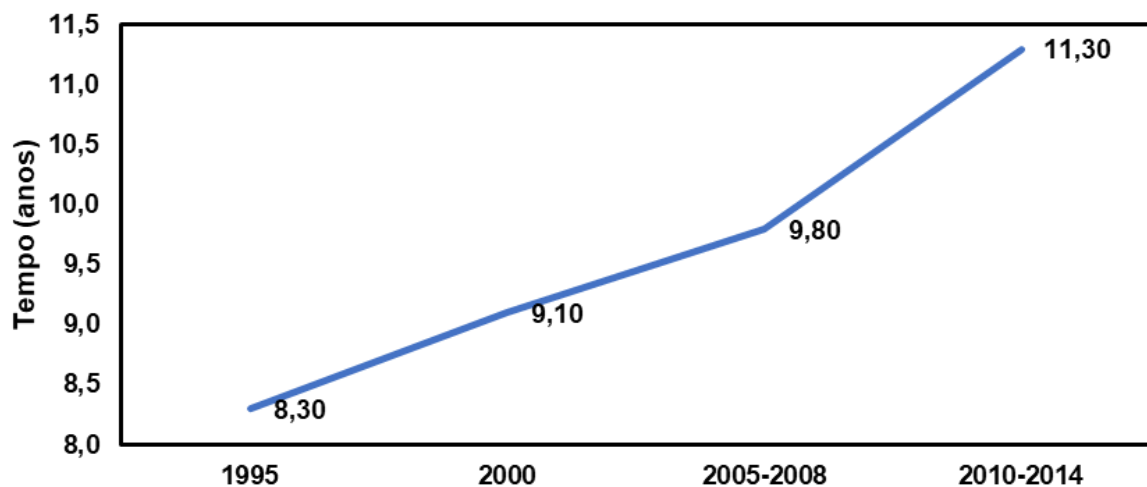


FIGURA 1.1 - Número de anos entre a descoberta da molécula e sua introdução no mercado.
Fonte: MCDOUGALL (2016).

O número de moléculas avaliadas para obter uma solução com potencial agrônômico pode chegar a 160 mil, conforme apresentado na Figura 2.2. Além disso, como pode ser observado na Figura 2.3, o investimento realizado em pesquisa e desenvolvimento de novos agroquímicos chegou em torno de US\$ 280 milhões no ano de 2014. (MCDOUGALL, 2016). Portanto, identificar soluções mais sustentáveis, eficazes e que apresentem, além do manejo integrado de pragas, a mitigação da evolução da resistência é uma tarefa onerosa que apresenta bastantes incertezas e demanda muito tempo.

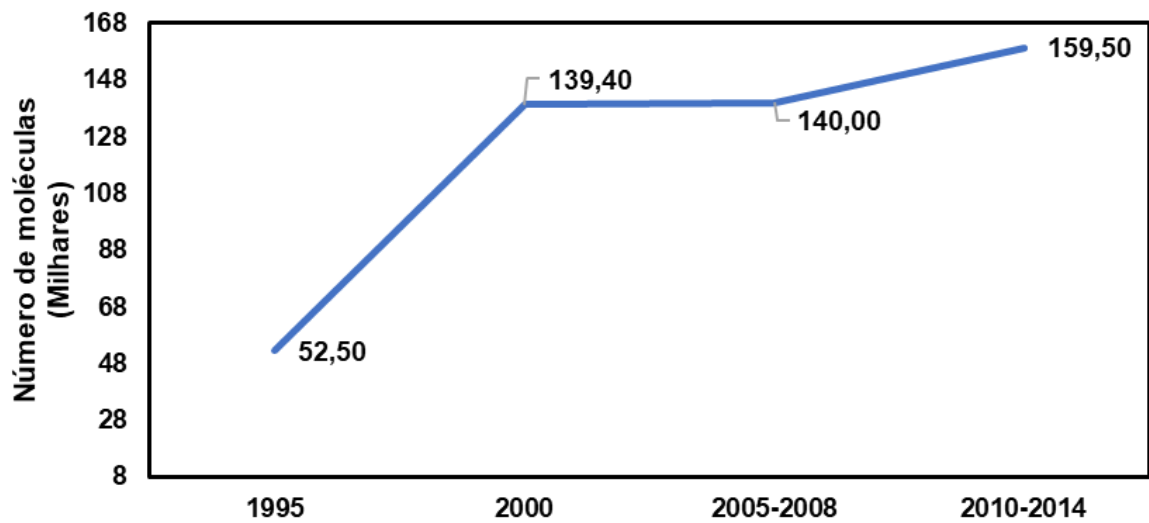


FIGURA 1.2 - Número de moléculas avaliadas para gerar um produto viável comercialmente.
Fonte: MCDOUGALL (2016).

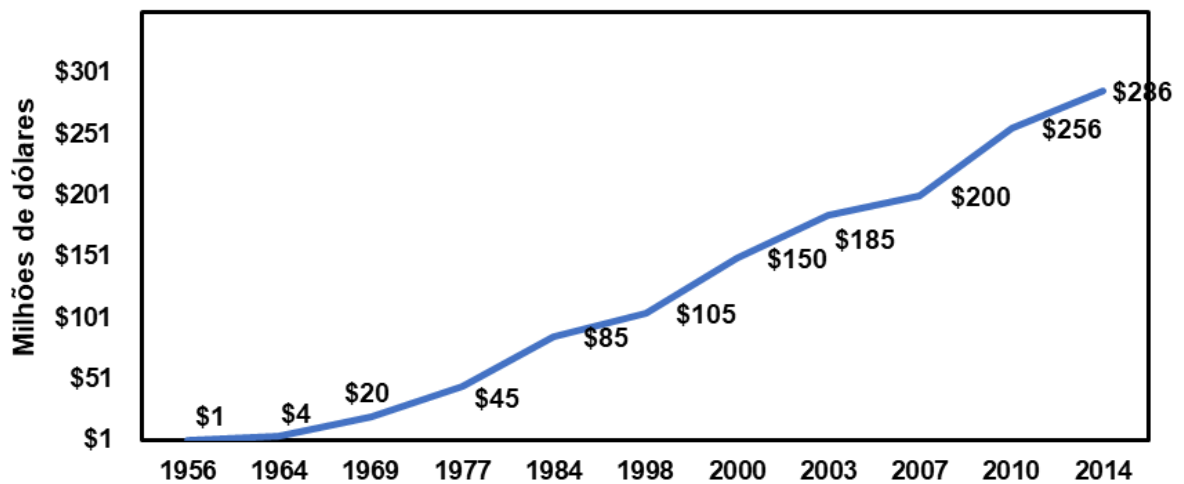


FIGURA 1.3 - Custo de desenvolvimento de uma nova molécula sintético.
Fonte: MCDOUGALL (2016).

Além de apresentarem eficácia no controle de pragas, serem mais baratos e apresentarem menor tempo de registro, os produtos naturais ganharam bastante notoriedade. Neste sentido, o principal desafio das empresas tem sido identificar os produtos naturais que sejam efetivos, tenham escala, baixo custo e constância de resultados satisfatórios no controle de pragas.

1.3 Óleos essenciais como alternativa aos sintéticos

Devido à presença de compostos como alcaloides, flavonoides, saponinas, terpenoides e fitohormônio em sua constituição, os extratos e óleos essenciais de plantas podem apresentar ação inseticida. O óleo essencial de plantas cítricas, como a laranja e o limão, tem-se apresentado como um promissor agroquímico nos últimos anos. No caso da laranja, aproximadamente 90% do seu óleo essencial é constituído de limoneno. (BICAS et al., 2009). No óleo da casca da laranja, o limoneno apresenta-se majoritariamente na forma do enantiômero R-(+)-limoneno, também conhecido como D-limoneno, enquanto que na terebintina, por exemplo, ele está presente na forma de S-(-)-limoneno. Ambas as moléculas são apresentadas na Figura 2.4.

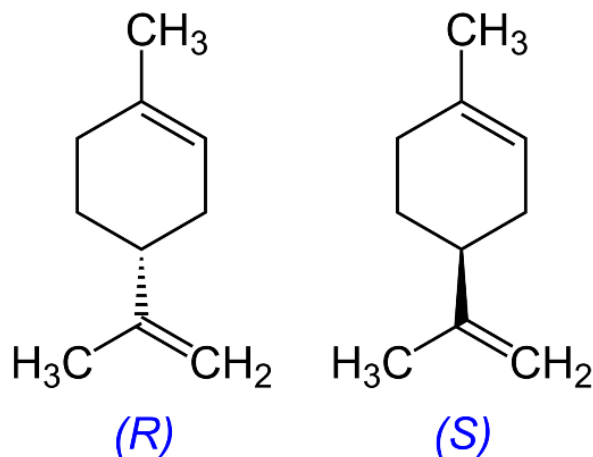


FIGURA 1.4 - D-limoneno (R), óleo essencial da laranja e L-limoneno (S), óleo essencial do limão. Fonte: Wikipedia. Disponível em: <https://pt.wikipedia.org/wiki/Limoneno>. Acesso em: 29 abr. 2021.

Os enantiômeros têm praticamente todas as propriedades físicas idênticas, no entanto, comportam-se de maneira diferente quando expostos à luz polarizada. Essa diferença também se manifesta a nível biológico e os compostos apresentados na Figura 2.4, além de apresentarem aromas diferentes, apresentam também aplicações diversas. (DE CARVALHO e DA FONSECA, 2006).

1.4 O D-limoneno como agente de controle

Por ser de origem vegetal, de baixa toxicologia, ambientalmente amigável, não demandar período de carência de aplicação, ser livre de resíduos, não persistir por muito tempo na natureza, o D-limoneno apresenta-se como potencial inseticida. (SCHICK e SCHICK, 1986).

O D-limoneno é um inseticida de contato, evapora rapidamente a partir das superfícies tratadas e tem período residual muito curto. Apesar de seu modo de ação não ser muito bem entendido, uma das hipóteses é que o D-limoneno dissolve os lipídios da cutícula do exoesqueleto do inseto, causando sua desidratação e morte, conforme observado em pulgas (SCHICK e SCHICK, 1986).

As principais vantagens da aplicação de inseticidas botânicos são (BUSS e PARK-BROWN, 2002; KATHRINA e ANTONIO, 2004; WIESBROOK, 2004):

- **Livre de resíduos:** inseticidas naturais degradam rapidamente quando expostos aos seguintes fatores: luz solar, ar, umidade, chuva e enzimas desintoxicantes. Esta característica permite que a aplicação seja feita próximo à colheita do alimento, por ter baixo ou nenhum poder residual.
- **Ação rápida:** embora tenham ação mais lenta que os inseticidas tradicionais, estes inseticidas reduzem o dano por herbivoria tão logo sejam aplicados.
- **Baixa ou moderada toxicidade:** são seguros e de baixo ou nenhum impacto à saúde humana, o que torna sua aplicação segura.
- **Seletividade:** em geral, não são prejudiciais a organismos não-alvo, além de não ser esperada fitotoxicidade sobre a cultura.

Entre as principais desvantagens dos inseticidas botânicos destacam-se:

- **Sensibilidade à luz e/ou temperatura:** rápida degradação em presença de luz ou temperatura. Exigem da formulação uma maior estabilização para inibir ou mitigar este efeito.

- **Baixa persistência:** embora seja uma vantagem possuir pouco residual em relação ao resíduo na cultura, também é uma desvantagem dada a necessidade de aplicações mais constantes.

Neste contexto, o D-limoneno foi selecionado como potencial agente de controle, dado a sua disponibilidade em nosso ecossistema, fácil obtenção e custo-benefício.

1.5 Desenvolvimento de formulações agroquímicas

Em geral, extratos botânicos são de difícil aplicação quando não estão inseridos em uma matriz, principalmente, miscível ou emulsionável em água. Para esta compatibilização de propriedades faz-se necessário o uso de componentes ou aditivos que permitam não só sua aplicabilidade, mas também sua estabilidade numa faixa de tempo aceitável, de modo a permitir sua utilização com as especificações de fabricação definidas no seu desenvolvimento. (KATHRINA e ANTONIO, 2004; BUSS e PARK-BROWN, 2002).

Uma formulação agroquímica é uma combinação de diferentes substâncias (inertes) que visam a estabilidade do princípio ativo (substância com potencial agrônomo de origem sintética ou natural) para uma aplicação segura e eficiente.

No Brasil, o desenvolvimento dessas formulações é normatizado pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), que, além de definir os diferentes tipos de formulação, define os padrões mínimos de qualidade para cada tipo de formulação. Para que seja possível a compreensão do estudo das formulações agroquímicas, os termos apresentados na Tabela 2.1 devem ser conhecidos.

TABELA 1.1 - Terminologia aplicada às formulações agroquímicas.

Abreviação	Definição
Ingrediente ativo ou princípio ativo (AI)	Agente químico, físico ou biológico que confere eficácia aos agrotóxicos afins.
Produto técnico (TC)	Produto obtido diretamente de matérias-primas por processo químico, físico ou biológico, destinado à obtenção de produtos formulados ou de pré-misturas, e cuja composição contenha teor definido de ingrediente ativo e impurezas.
Suspensão de encapsulado (CS)	Formulação constituída por uma suspensão estável de cápsulas, contendo o(s) ingrediente(s) ativo(s), em um líquido, para aplicação após diluição em água.
Concentrado emulsionável (EC)	Formulação líquida e homogênea para aplicação após diluição em água, sob a forma de emulsão.
Dispersão de óleo ou suspensão concentrada em óleo (OD)	Formulação constituída de uma suspensão estável de ingrediente(s) ativo(s) em fluido imiscível em água, que pode conter outro(s) ingrediente(s) ativo(s) dissolvidos, para aplicação após diluição em água.
Suspoemulsão (SE)	Formulação líquida e heterogênea, constituído de uma dispersão estável de ingredientes ativos, na forma de partículas sólidas e de finos glóbulos, na fase aquosa, para aplicação após diluição em água.
Granulo dispersível (WG)	Formulação sólida constituída de grânulos, para aplicação sob a forma de suspensão, após desintegração e dispersão em água.
Concentrado solúvel (SL)	Formulação líquida e homogênea para aplicação após diluição em água, sob a forma de solução verdadeira dos(s) ingrediente(s) ativo(s).
Microemulsão (ME)	Formulação líquida contendo óleo em água, variando de límpida a opaca, para ser aplicada diretamente ou após diluição em água, contendo o(s) ingrediente(s) ativo(s), em uma fase orgânica contínua.
Suspensão concentrada (SC)	Formulação constituída de uma suspensão estável de ingrediente(s) ativo(s) em um veículo líquido, que pode conter outro(s) ingrediente(s) ativo(s) dissolvido(s), para aplicação após diluição em água.

Fonte: ABNT (2017).

A escolha por determinado tipo de formulação está diretamente relacionada às propriedades físico-químicas do ingrediente ativo escolhido, conforme apresentado no fluxograma da Figura 2.5.

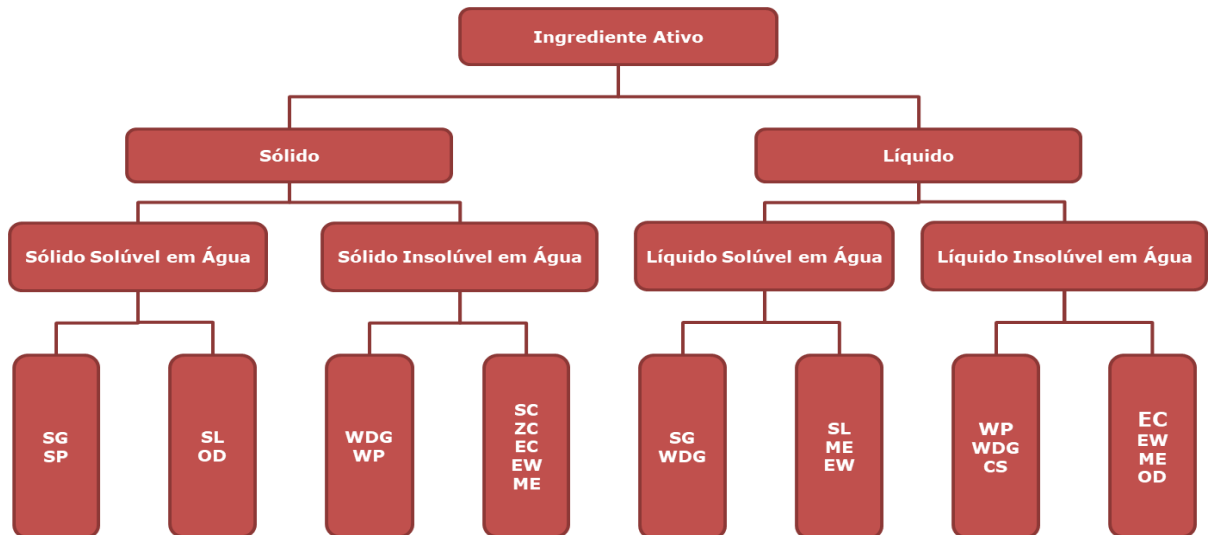


FIGURA 1.5 - Possibilidades de desenvolvimento de formulações.

Legenda: SG (Granulo Solúvel), SP (Pó Solúvel), SL (Concentrado Solúvel), OD (Dispersão em Óleo), WDG (Granulo Dispersível), WP (Pó Molhável), SC (Suspensão Concentrada), ZC (Formulação mista SC+CS), EC (Concentrado Emulsionável), EW (Concentrado Aquoso), ME (Microemulsão) e CS (Microencapsulado).

Cada tipo de formulação confere ao seu ingrediente ativo uma propriedade ou aplicabilidade distinta. A escolha por determinada tecnologia, além de estar relacionada às propriedades físico-químicas, também está relacionada à aplicabilidade do produto, buscando sempre maximizar sua eficiência agronômica e mitigar as desvantagens associadas à determinada propriedade do ingrediente ativo, como alta volatilidade, fitotoxicidade, rápida degradação e baixa eficiência. (VOLGAS et al., 2003). Basicamente, os principais fatores que direcionam a escolha por determinado tipo de formulação são:

- propriedade físico-química dos ingredientes ativos;
- viabilidade econômica;
- modo de ação do ingrediente ativo;
- modo de aplicação do produto;
- toxicidade;
- segurança.

Segundo VOLGAS et al. (2003), os principais desafios na busca por otimizar os fatores mencionados durante o desenvolvimento de uma formulação são:

- **sedimentação:** comum em suspensões concentradas (SC), ocorrem quando a viscosidade, tamanho de partícula e sistema de tensoativos não estão bem balanceados, ocasionando o depósito do ingrediente ativo no fundo do frasco, algumas vezes, de forma irreversível mesmo com agitação.
- **floculação:** comum em diversos tipos de formulação, ocorre quando o sistema de tensoativos não está bem balanceado e o ingrediente ativo flocula na calda. Este problema, quase sempre, ocasiona obstrução dos pulverizadores não permitindo a aplicação do produto.
- **maturação de Ostwald (*Ostwald Ripening*):** fenômeno associado às formulações que possuem ingredientes ativos com solubilidade parcial na água. O problema está associado ao crescimento dos tamanhos de partículas ao longo do tempo, ocasionando sedimentação do produto ou mesmo obstrução dos pulverizadores.
- **gelificação/aumento de viscosidade:** pode ocorrer quando uma formulação não estabilizada é submetida a alta temperatura, onde o líquido passa a não se comportar como fluido newtoniano. Quando isso ocorre, ao invés de reduzir a viscosidade com o aumento de temperatura, passa a aumentar sua viscosidade, muitas vezes de forma irreversível mesmo com agitação, ocasionando a não viabilidade da aplicação.
- **crystalização:** ocorre principalmente em formulações de concentrado emulsionável (EC), onde o solvente associado ao sistema emulsionante não mantém o ingrediente ativo (constituído de partículas sólidas) solubilizado no meio. Este ingrediente ativo migra para fase aquosa, ocasionando obstrução dos pulverizadores. Este fenômeno também é comum quando utilizados solventes muito polares, o que favorece a migração do ingrediente para fase aquosa.

1.6 Tipos de Formulações desenvolvidas

1.6.1 Concentrado emulsionável (EC)

Pelo fato de o D-limoneno apresentar natureza hidrofóbica (baixa afinidade com água), a formulação do tipo concentrado emulsionável (EC) requer o uso de tensoativos, substâncias cuja função é baixar a tensão interfacial entre compostos. Isso ocorre devido à presença de uma extremidade hidrofóbica e outra hidrofílica em suas moléculas.

Este tipo de formulação se caracteriza por apresentar um ingrediente ativo insolúvel, que pode estar solubilizado ou disperso em uma fase apolar (afinidade em óleo). O nome remete à necessidade do uso de tensoativos para formação de emulsão em água, a qual pode ser do tipo água em óleo ou óleo em água, a depender da forma de estabilização utilizada. (VOLGAS et al., 2003).

Ainda segundo VOLGAS et al. (2003), para a obtenção de emulsões com maior estabilidade, é importante que a formulação apresente as seguintes características:

- baixa tensão superficial;
- filme mecanicamente estável;
- barreira eletrostática;
- barreira estérica;
- baixa fração volumétrica de fase dispersa;
- alta viscosidade da fase contínua; e
- gotas pequenas e uniformes.

As características mencionadas são obtidas a partir da combinação e balanço correto dos tensoativos. De forma geral, a combinação de dois ou mais características que confirmam estabilidades estérica (copolímeros de bloco de alto peso molecular) e eletrostática (tensoativos aniônicos e não-iônicos) compõe uma forma efetiva de estabilizar uma emulsão. (VOLGAS et al., 2003).

Dentre os principais requisitos deste tipo de formulação destacam-se a necessidade da estabilidade da emulsão por, no mínimo, 24 horas e a ausência de

cristais em temperaturas baixas ou amenas. Uma vez que os concentrados emulsionáveis são termodinamicamente instáveis, tais características não são fáceis de serem obtidas. (VOLGAS et al., 2003).

Como ilustrado na Figura 2.6, os principais problemas encontrados para emulsões desta natureza são: coalescência, floculação, quebra da emulsão (formação de gotículas de óleo), maturação de Ostwald (*Ostwald ripening*) e cristalização.

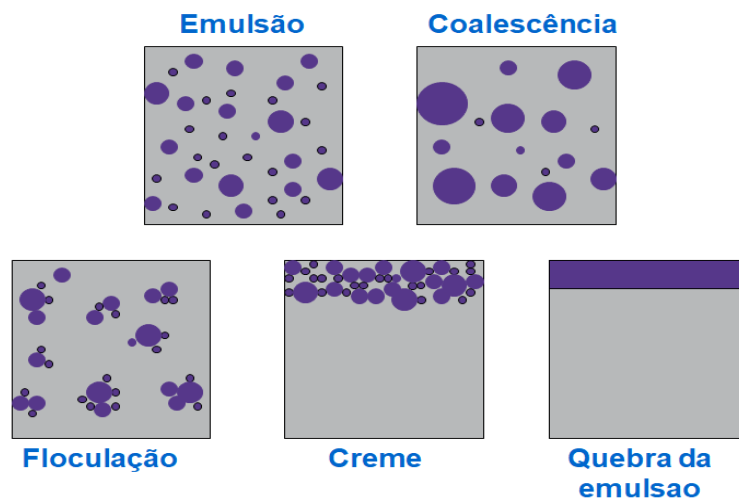


FIGURA 1.6 - Desafios típicos do desenvolvimento de formulações do tipo EC.

1.6.2 Microemulsão (ME)

Assim como os concentrados emulsionáveis (EC), as microemulsões possuem uma fase orgânica em sua composição. A principal diferença entre as duas é que esta possui tanto uma fase orgânica (afinidade em óleo) quanto uma inorgânica (afinidade em água), as quais são popularmente conhecidas como fase apolar e fase polar, respectivamente. (VOLGAS et al., 2003).

A depender de qual é a fase contínua da emulsão, as microemulsões podem ser classificadas em dispersão de óleo em água (quando a fase contínua é a água) ou dispersão de água em óleo (quando a fase contínua é a orgânica), conforme ilustrado na Figura 2.7. Vale ressaltar que esse tipo de emulsão é termodinamicamente estável em amplas faixas de temperatura e condições de pH. Seus principais constituintes são: ingrediente ativo, tensoativo, anticongelante, antiespumante e água. (VOLGAS et al., 2003).

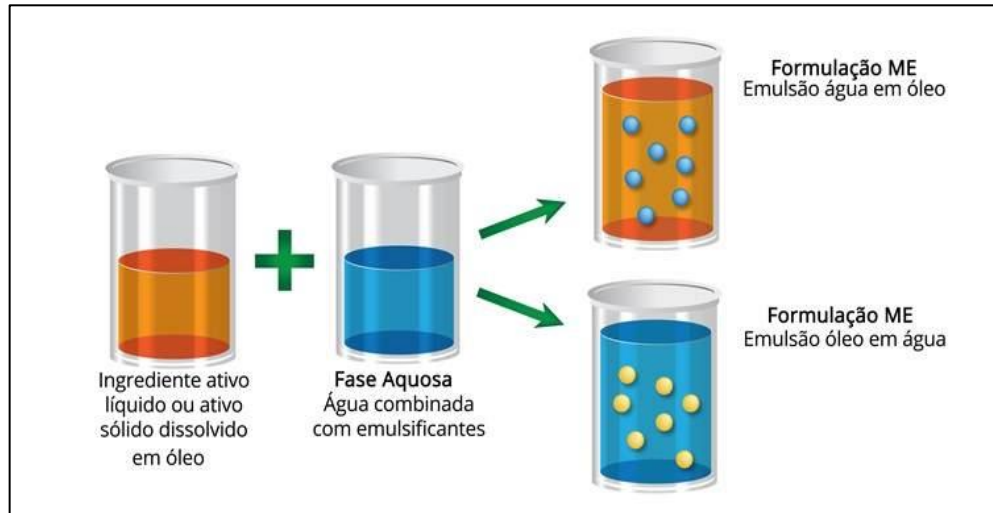


FIGURA 1.7 - Tipos de microemulsão.

Por apresentar um número maior de substâncias em sua composição e da concentração de tensoativos requerido, as microemulsões apresentam um maior custo de formulação e, a depender do processo empregado, um maior custo de produção. (VOLGAS et al., 2003)

De forma semelhante aos concentrados emulsionáveis, a estabilidade da emulsão por 24 horas e a ausência de cristais em temperaturas baixas e amenas são as principais características que devem ser apresentadas pelas microemulsões. Os principais problemas são os mesmos apresentados na Figura 2.6, a saber: coalescência, floculação, quebra da emulsão (formação de gotículas de óleo), maturação de Ostwald (Ostwald ripening) e cristalização. (VOLGAS et al., 2003).

1.6.3 *Pó molhável (WP)*

Por definição, são formulações em que um ingrediente está disperso ou adsorvido em uma fase sólida, a qual, em diluição em água, forma uma suspensão. Por apresentarem ausência de solvente e possuírem maiores tamanhos de partículas, em geral, apresentam eficácia inferior às demais formulações. Somados aos tensoativos, os solventes aumentam a eficácia dos agroquímicos, pois dissolvem a camada cerosa das plantas, gerando uma maior penetração ou mesmo aderência do produto na folha. Já o menor tamanho de partícula colabora principalmente com

inseticidas ou fungicidas, conferindo à molécula maior mobilidade. (VOLGAS et al., 2003).

Conforme ilustrado na Figura 2.8, os constituintes típicos deste tipo de formulação são: ingrediente ativo, agente molhante (ou umectante), dispersante, veículo (ou matriz sólida), além de outros aditivos, como antiespumante. (VOLGAS et al., 2003).



FIGURA 1.8 - Formulações WP formam suspensões quando aplicadas em água.

As formulações do tipo “pó molhável” são as mais simples de serem desenvolvidas, pois envolvem poucos componentes e demandam apenas uma linha de produção apropriada à característica do produto. Uma das principais vantagens desta tecnologia é a sua versatilidade, por ser possível incorporar ingredientes ativos líquidos e sólidos. Por outro lado, a maior desvantagem está na poeira que pode ser formada durante o seu manuseio e na não-uniformidade das partículas do meio. (VOLGAS et al., 2003).

Por ser um ingrediente ativo líquido, o D-limoneno é adsorvido em sílica, sendo possível alcançar a mesma concentração atingida nos concentrados emulsionáveis e microemulsões. Como já mencionado, este composto não é solúvel em água, assim, os materiais selecionados têm, entre outras funções, de permitir a sua dispersão. Neste sentido, a utilização do umectante é necessária aliada ao uso do dispersante para fazer com que a matriz sólida se espalhe bem na água e se mantenha disperso, evitando a deposição do produto no fundo do tanque pulverizador e aglomeração de partículas. (VOLGAS et al., 2003).

1.7 Regulamentação de produtos biológicos e/ou naturais

A regulamentação dos produtos biológicos é de grande importância para a garantia da qualidade dos produtos comercializados, além do cumprimento de medidas que acarretem menores impactos ao meio ambiente e à saúde dos diferentes agentes que direta e indiretamente se relacionam com estes produtos. (MCDOUGALL, 2016). O termo “produto biológico” é utilizado para classificar um determinado ingrediente ativo de origem natural. Geralmente, são de baixa toxicidade e conseguem eliminar ou reduzir a praga-alvo sem agredir o meio ambiente, permitindo a manutenção de insetos benéficos à lavoura. Além disso, necessitam menos de outros produtos e permitem aplicações mais próximas à colheita, por serem, quase sempre, livres de resíduos. (MCDOUGALL, 2016).

De forma similar aos ingredientes ativos sintéticos, os produtos biológicos necessitam de regulamentação, passando pelos mesmos ritos burocráticos, a depender do país em que serão comercializados. No Brasil, a avaliação e registro de biopesticidas é controlada por três agências governamentais, a saber: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) e o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Os produtos biológicos são regulamentados pela Lei de Agrotóxicos (BRASIL, 1989), além de decretos e especificações de referências para essa classe de defensivos.

As diferenças entre as legislações adotadas em cada país influenciam o tempo em que um novo produto biológico leva para ser registrado. Conforme ilustrado na Figura 2.9, na União Europeia, um novo biodefensivo pode levar 7 anos para ser aprovado, enquanto na Índia esse intervalo é de aproximadamente 3 anos. Já nos EUA, na China e no Brasil, o registro ocorre, em geral, após 2 anos.

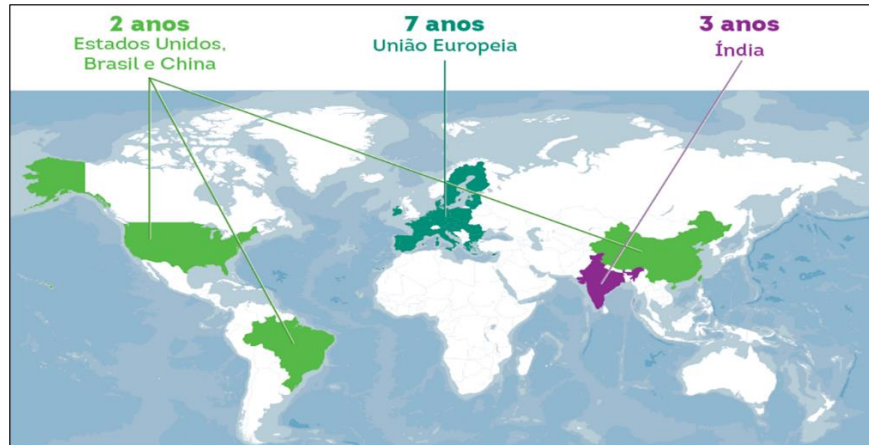


FIGURA 1.9 - Tempo de registro de uns biológicos nas diferentes regiões.
Fonte: Adaptado de MCDOUGALL (2016).

1.8 Relevância do controle da mosca-branca (*B. tabaci*)

Segundo ALVES (2019), até o momento, há catalogados mais de 40 biótipos de mosca-branca (*B. tabaci*). Em termos de severidade e dificuldade de controle, os biótipos B e Q são os que merecem maior atenção.

Como pode ser observado na Figura 2.10, a metamorfose deste inseto é incompleta, sendo suas fases: ovo, ninfa, “pupa” (ou pseudo-pupa) e adulto. As ninfas e os adultos têm aparelho bucal do tipo picador-sugador. São seres que apresentam alta fecundidade. Dependendo do biótipo da planta hospedeira e de fatores climáticos, como temperatura e umidade relativa, as fêmeas podem ovipositar entre 100 e 300 ovos. (ALVES, 2019).



FIGURA 1.10 - Ciclo de vida da mosca-branca (*B. tabaci*).
Fonte: ALVES (2019).

O ciclo desse inseto ocorre, preferencialmente, na parte inferior das folhas. Inicialmente, ocupam as folhas do baixeiro da planta e, à medida que a população cresce e as folhas do baixeiro ficam mais velhas, os adultos migram para as folhas superiores para iniciar um novo ciclo. Clima quente e seco é o ideal para o desenvolvimento da praga. (ALVES, 2019).

Os danos da mosca-branca são causados pela sucção da seiva e injeção de toxinas, realizadas tanto pelas ninfas quanto pelos adultos. Essas toxinas provocam alterações no desenvolvimento e na reprodução da planta, podendo causar anomalias, como o amadurecimento irregular dos frutos. (ALVES, 2019).

Atualmente, existem pelo menos 11 grupos para o controle químico desta praga, que podem ser utilizados isolados ou em associação. Por reduzir a pressão de seleção e apresentar maior eficácia, o uso de inseticidas associados é o mais indicado. Desenvolvimento de casos de resistência a alguns desses grupos foram relatados em estudos de monitoramento, sendo os principais: organofosforados, carbamatos, piretroides e alguns ingredientes ativos do grupo dos neonicotinoides. (ALVES, 2019).

De modo a otimizar o manejo da resistência, deve-se monitorar e respeitar a curva de dose-resposta, a qual é desenvolvida e definida pela empresa detentora do registro. O aumento desta dosagem de forma arbitrária pode acelerar o aumento da resistência e a perda de eficácia dos diferentes princípios ativos, portanto, de modo a reduzir a pressão de seleção sobre determinado controle, recomenda-se o uso de diferentes técnicas e práticas de controle. O manejo integrado de pragas (MIP) é uma das principais alternativas para o controle de pragas, além de ser a mais segura. (ALVES, 2019).

Na Tabela 2.2 são listados os principais inseticidas aplicados no controle da mosca-branca, além de seus respectivos grupos químicos. Dado a relevância de sua eficácia e controle, neste estudo, os seguintes grupos foram selecionados para serem comparados ao D-limoneno no controle da referida praga: piretroide (bifentrina) e a mistura de piretroide (bifentrina) com neonicotinoide (acetamiprido).

TABELA 1.2 - Inseticidas recomendados para o controle de químico de *B. Tabacci*.

Sítio de ação primário	Grupo Químico (Classificação IRAC*)	Ingrediente Ativo
Inibidores de acetilcolinesterase	Carbamato (1A)	Carbofurano
		Carbosulfano
	Organofosforado (1B)	Acefato
		Clorpirifós
		Dimetoato
		Malationa
		Metamidofós
		Pirifantiona
		Profenofós
		Terbufós
Moduladores de canais de sódio	Piretroides (3A)	Bifentrina
		Beta-ciflutrina
		Beta-cipermetrina
		Deltametrina
		Efenvalerato
		Fenpropatrina
	Éter difenílico	Etofenproxi
Agonistas de receptores nicotínicos da acetilcolina	Neonicotinoide (4A)	Acetamiprido
		Clotiadina
		Imidacloprido
		Tiametoxam
		Tiacloprido
Mímicos do hormônio juvenil	Piriproxifem (7C)	Piriproxifem
Bloqueadores seletivos da alimentação	Pimetrozina (9B)	Pimetrozina
Inibidor de ATP sintase mitocondrial	Diafentiurom (12A)	Diafentiurom
Desacopladores da fosforilação oxidativa via distupção do gradiente de próton H	Clorfenapir (13)	Clorfenapir
Inibidores da formação de quitina	Buprofezona (16)	Buprofezona
Agonistas de ecdisteroides	Azadiractina (18B)	Azadiractina
Inibidor da síntese de lípidos	Cetoenol (23)	Spiromesifeno
Moduladores dos receptores de rianidina	Dimamidas (28)	Ciantraniprole

* Insecticide Resistance Action Committee.

Fonte: ALVES (2019).

3.0 Objetivo do trabalho

A partir do exposto, o objetivo deste estudo consistiu no desenvolvimento de formulações agroquímicas à base de D-limoneno para composição do manejo e controle da mosca-branca (*B. Tabacci*).

Dentre as principais etapas do desenvolvimento do trabalho destacam-se;

- **Estudo de viabilidade econômica e comercial** das propostas – Baseado no custo de componentes inertes
- **Viabilidade industrial** – Baseado nas capacidades industriais da empresa e potenciais *tollings*/terceirização.
- **Determinação do prazo de validade** – De acordo com nomas CIPAC e FAO
- **Ensaio de eficiência agrônômica** - Conduzidos em casa de vegetação tendo como cultura foco o tomate, variedade Santa Clara.

4.0 METODOLOGIA

4.1 Preparação das formulações

Para ser comercializada, uma formulação de defensivo agrícola deve estar em conformidade com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), que recomenda certos testes para cada tipo de formulação, além de determinar um resultado mínimo que o agroquímico deve apresentar. A descrição da forma de execução dos testes, assim como materiais, segurança e procedimento estão descritos em cada norma. De forma geral, um novo defensivo agrícola deve passar pelos testes listados na Tabela 3.1.

TABELA 4.1 - Normas ABNT para defensivos agrícolas.

Norma	Teste
NBR 13241 (ABNT, 1994)	Determinação da tensão superficial
NBR 13828 (ABNT, 2006)	Determinação da granulometria, faixa granulométrica e teor de pó por peneiramento via seca
NBR 13313 (ABNT, 2007)	Determinação da suspensibilidade
NBR 13450 (ABNT, 2013)	Determinação da aderência em sementes por via seca
NBR 13242 (ABNT, 2014a)	Determinação da molhabilidade
NBR 13827 (ABNT, 2014b)	Determinação da estabilidade da dispersão
NBR 13451 (ABNT, 2016a)	Determinação da espuma persistente
NBR 13452 (ABNT, 2016b)	Determinação da estabilidade da emulsão
NBR 13237 (ABNT, 2017)	Determinação do resíduo por peneiramento úmido
NBR 8510 (ABNT, 2018)	Características físicas
NBR 13229 (ABNT, 2020)	Determinação da mobilidade

4.2 Teste de envelhecimento acelerado

Um dos objetivos durante o desenvolvimento de uma nova formulação agroquímica é certificar-se que o produto apresenta as características necessárias para maximizar a eficiência agrônômica dos pesticidas. No entanto, uma das principais dificuldades enfrentadas na etapa de pesquisa e desenvolvimento de uma nova formulação é adequar o produto aos ensaios normatizados pela ABNT dentro das condições de envelhecimento acelerado, comumente praticados para prever o comportamento físico-químico destas formulações em condições de comercialização.

Os ensaios de estabilidade são normatizados pela FAO (*Food and Agriculture Organization*) e pela CIPAC (*Collaborative International Pesticides Analytical Council*). Dentre os diferentes métodos requeridos pela CIPAC destaca-se o “MT-46”, que prevê a metodologia aplicável para envelhecimento acelerado de formulações agroquímicas. As condições mais comuns para avaliação são:

- 14 dias a 54 ± 2 °C;
- 2 semanas a 50 ± 2 °C;
- 6 semanas a 45 ± 2 °C;
- 8 semanas a 40 ± 2 °C.

A escolha do intervalo de tempo e faixa de temperatura está relacionada à sensibilidade térmica do ingrediente ativo, ou seja, quão suscetível o material é à degradação por temperatura. Como o D-limoneno é estável em uma ampla faixa de temperatura, a metodologia de avaliação selecionada foi a mais tradicional, 14 dias à 54 °C.

Com o intuito de garantir uma formulação ainda mais robusta, ensaios em baixa temperatura (14 dias à 0 °C) também foram realizados, certificando-se da estabilidade do produto em uma ampla faixa térmica, confirmando assim se o produto ficaria livre de congelamento ou cristalização.

Os produtos de referência selecionados não foram submetidos ao teste de estabilidade devido já apresentarem qualidade e estabilidade amplamente consolidadas. Os inseticidas selecionados foram:

- **Talstar 100 EC (Bifentrina FMC)**

Empresa: FMC Química do Brasil (Registro: MAPA sob o nº 01578899)

Classe: inseticida e acaricida de contato e ingestão

Grupo químico: Piretroide (Bifentrina)

Concentração: 100 g/L

Tipo de formulação: concentrado emulsionável (EC)

- **Sperto (Bifentrina + Acetamiprido UPL)**

Empresa: UPL (Registro: MAPA sob o nº 014617)

Classe: inseticida sistêmico de contato e ingestão

Grupo químico: Piretroide (Bifentrina) e Neonicotinoide (Acetamiprido)

Concentração: 250 g/L de Bifentrina e 250 g/L de Acetamiprido

Tipo de formulação: grânulo dispersíveis em água (WDG)

4.3 Desenvolvimento das formulações

O D-limoneno foi fornecido pela empresa parceira do projeto, a Cutrale. Os dados de caracterização da amostra utilizada como referência são apresentados na Tabela 3.2.

TABELA 4.2 - Caracterização da amostra de D-limoneno utilizada neste trabalho.

Fornecedor	Cutral (Unidade Conchal-SP)
Nome (IUPAC)	(4 <i>R</i>)-4-Isopropenil-1-metilciclohexeno
Nome comum	D-limoneno
CAS Number	5989-27-5
Formula Molecular	C ₁₀ H ₁₆
Massa Molar (g/mol)	136,2
Densidade (g/cm³)	0,8
Teor (%w/w)	96,0
Pressão de Vapor (mmHg 25°C)	1,5
Ponto de ebulição (mmHg 25°C)	175,4
Solubilidade em água (mg/L 25 °C)	4,581

Conforme já mencionado no Capítulo 2, um pesticida que seja líquido e insolúvel em água possui alta viabilidade técnica para ser desenvolvido sob os seguintes tipos de formulações: WP (Pós Molhável), WDG (Grânulo Dispersível), CS (Microencapsulado), EC (Concentrado Emulsionável), EW (Concentrado Aquoso), ME (Microemulsão) ou OD (Suspensão Concentrada em Óleo).

Das opções possíveis, foram selecionadas as formulações ME, EC e WP. O principal motivo para as escolhas foram os atributos que cada tipo de formulação confere ao produto formulado, a saber:

- EC: baixo custo de produção, de formulação e mais fácil estabilização. A desvantagem está relacionada a não-redução da volatilidade do ingrediente ativo, que é um ponto-chave para o baixo residual.

- ME: apesar do baixo custo de produção, apresenta alto custo de formulação, devido à carga de tensoativos demandada. Formulação menos volátil por apresentar água em sua composição.
- WP: alto custo de produção, mas baixo custo de formulação. Formulação menos volátil que as demais por adsorver o material líquido em uma matriz sólida.

4.4 Teste de eficiência agrônômica

O principal objetivo deste teste é confirmar a eficácia das formulações desenvolvidas, isoladas ou em misturas com inseticidas sintéticos, no controle de ninfas e adultos da mosca-branca (*B. tabaci*).

As três formulações desenvolvidas foram submetidas à avaliação de eficácia frente ao protocolo descrito na Tabela 3.4. Os testes focaram em três das quatro fases da mosca-branca, sendo estes concentrados em ninfa, ovos e adultos.

TABELA 4.3 - Protocolo para teste de eficácia de D-limoneno, isolado e em mistura com inseticidas sintéticos padrões de mercado.

Tratamento	Inseticida	Tipo de Formulação e Concentração	Dose* (L/200 L)
1	Controle (água destilada)	–	–
2	Terpeno 50 WP	500 g/L – WP	2,5
3	Terpeno 50 ME	500 g/L – ME	2,5
4	Terpeno 50 EC-R	500 g/L – EC	2,5
5	Bifentrina (Talstar-FMC)	100 g/L – EC	0,5
6	Acetamiprido + Bifentrina (Sperto-UPL)	250:250 g/L – WDG	0,15
7	Terpeno 50 WP + Bifentrina	–	2,5 + 0,5
8	Terpeno 50 ME + Bifentrina	–	2,5 + 0,5
9	Terpeno 50 EC-R + Bifentrina	–	2,5 + 0,5
10	Terpeno 50 WP + Acetamiprido + Bifentrina	–	2,5 + 0,15
11	Terpeno 50 ME + Acetamiprido + Bifentrina	–	2,5 + 0,15
12	Terpeno 50 EC-R + Acetamiprido + Bifentrina	–	2,5 + 0,15

* Quantidade, em litros, de inseticida para cada 200 L de água, a serem pulverizada em 1 hectare.

4.4.1 Mortalidade de adultos

Foram pulverizadas quatro mudas de tomate variedade Santa Clara com cada tratamento nas doses indicadas na Tabela 3.4. As folhas foram pulverizadas até o ponto de escorrimento, cobrindo suas superfícies superior e inferior. Em seguida, as mudas foram alocadas individualmente dentro de copos plásticos descartáveis transparentes de 400 ml com fundo recortado, mantendo o lado recortado para cima, o qual foi coberto com tecido voil, com o intuito de permitir a troca gasosa entre o interior do copo e o ambiente, conforme apresentado na Figura 3.1.

Após a secagem das folhas, foram transferidos dez adultos de *B. tabaci* para o interior de cada copo, sendo mantidas em condições controladas de laboratório ($T = 25 \pm 2$ °C, umidade relativa = 75 ± 15 %, fotofase de 12 horas). Este procedimento foi realizado quatro vezes.

As avaliações foram realizadas 1, 2, 3, 5 e 7 dias após a liberação dos adultos, contando o número de adultos de *B. tabaci* mortos. Foram considerados mortos os insetos imóveis dentro dos copos. Após os 7 dias, os adultos remanescentes foram retirados dos copos e contou-se o número de ninfas presente em três folhas de cada muda para avaliar a descendência dos adultos.



FIGURA 4.1 - Ensaio de eficiência agrônômica do D-limoneno. Experimento realizado em parceria com a Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ).

4.4.2 Mortalidade de ninfas

Para o experimento com ninfas, 48 mudas de tomate variedade Santa Clara foram alocadas individualmente dentro de copos descartáveis, como descrito no experimento anterior, sendo liberados 10 adultos de *B. tabaci* em cada copo, para oviposição nas folhas de tomate, as quais foram mantidas nas condições controladas de laboratório citadas anteriormente.

Após uma semana, os adultos foram retirados dos copos e foram contadas as ninfas resultantes da oviposição presentes em três folhas de cada muda de tomate, estas folhas foram marcadas para a próxima avaliação. Na sequência, quatro mudas foram pulverizadas com um dos doze tratamentos, totalizando quatro repetições.

Após 7 dias, foram contabilizadas as ninfas presentes nas folhas de tomate marcadas, acessando assim a mortalidade. Ninfas secas ou deformadas foram consideradas mortas.

4.5 Tratamento estatístico

Os resultados obtidos no ensaio agrônômico foram submetidos ao teste de média de Scott-Knott, visando eliminar ou reduzir o erro estatístico proveniente da morte natural da espécie. Para correção da mortalidade foram utilizados os seguintes critérios e métodos descritos na Tabela 3.4.

TABELA 4.4 - Fórmulas usadas para correção de mortalidade aplicadas aos resultados obtidos.

Dados coletados	População Não-Uniforme	População Uniforme
Insetos Vivos (Infestação)	Henderson-Tilton	Abbot
Insetos Mortos (Mortalidade)	Sun-Shepard	Schneider-Orelli

5.0 RESULTADOS

Conforme descrito na metodologia, os ensaios físico-químicos realizados para a caracterização das formulações desenvolvidas seguiram as normas da ABNT, enquanto os estudos de estabilidade, cujo objetivo era prever o envelhecimento acelerado das formulações, basearam-se nas diretrizes da CIPAC. A seguir, os principais resultados obtidos para cada formulação são apresentados.

5.1 Desenvolvimento das formulações

5.1.1 Concentrado emulsionável

Testes foram realizados para a escolha do tensoativo mais adequado à formulação em desenvolvimento, em que componentes com características aniônicas (Dodecil Benzeno Sulfonato de Cálcio – DDBS-Ca) e não-iônicas (Óleo de Mamona Etoxilado e Copolímero de Bloco etoxilado(EO)/propoxilado(PO)) confeririam os melhores resultados de estabilidade.

Além do tensoativo, utilizou-se um co-solvente com o intuito de completar a formulação. Esta escolha foi baseada em três fatores: custo, disponibilidade e toxicologia. O éster metílico de soja foi o componente escolhido para esta finalidade. Destaca-se que este composto apresenta natureza similar à do D-limoneno, tendo aspectos similares a um solvente orgânico nas mesmas condições.

A Tabela 4.1 apresenta a formulação desenvolvida e detalhes acerca de seus componentes. Observa-se na mesma tabela valores de concentração em duas unidades, massa-massa (%) e g/L, a conversão entre estas foi feita da seguinte forma:

$$C_i = w_i \times P_i \times \rho \times \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} \quad 4.1$$

em que: C_i é a concentração do composto i , em g/L; w_i é a fração mássica do composto i ; P_i é a pureza do composto i , em fração; e ρ é a massa específica da formulação, em g/mL.

TABELA 5.1 - Formulação do tipo EC (Terpeno 50 EC-R).

Componentes	Nome químico (Fornecedor)	%m/m	g/L
D-limoneno	D-limoneno (Cutrale), 96% (m/m)	57,87	520,83
Surfom EMS 2000	Éster Metílico de Soja (Cargil)	31,53	283,77
Surfom R400	Óleo de Soja Etoxilado (Oxiten)	2,80	25,20
Ultrac 5000	Copolímero de bloco EO/PO (Oxiten)	2,20	19,80
Ninate 70 B	Dodecilbenzenosulfonato de Cálcio (Oxiten)	5,60	50,40
TOTAL		100,00	900,00

De modo a organizar a condução dos experimentos, esta formulação recebeu a denominação “Terpeno 50 EC-R”. Após o seu desenvolvimento, realizou-se o seu teste de estabilidade, cujos resultados estão na Tabela 4.2. Os resultados obtidos confirmam uma formulação estável em todos os parâmetros, o que garante sua estabilidade por um tempo de prateleira de pelo menos 2 anos.

TABELA 5.2 - Teste de estabilidade: Terpeno 50 EC-R.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS	NORMA ABNT	ESPECIFICAÇÃO	14 DIAS 0 °C	14 DIAS 54 °C
Aparência	-	Líquido Límpido	Cumpre	Cumpre
Cor	-	Amarelo - Âmbar	Âmbar	Âmbar
Separação de Fase (%)	-	0,0	0,0	0,0
Cristalização da Calda	-	0,0	0,0	0,0
Teor de D-limoneno (g/L)	*	475,0 – 525,0	508,90	508,52
Densidade (g/mL)	-	0,80 – 0,90	0,84	0,84
Estabilidade da Emulsão @ 20 ppm após 1 hora	13452:2016	< 1,00	0,0	0,0
Estabilidade da Emulsão @ 20 ppm após 2 horas	13452:2016	< 1,00	0,0	0,0
Estabilidade da Emulsão @ 20 ppm após 24 horas	13452:2016	< 1,00	0,0	0,0
Espuma Persistente (cm)	13451:2016	< 3,00	2,5	2,5

* Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Método interno (Confidencial).

5.1.2 Microemulsão

Um dos principais desafios na formulação de microemulsões é o balanço entre a quantidade de tensoativo e solvente utilizados. Caso o solvente selecionado seja altamente polar, após diluição, este pode vir a migrar para a fase aquosa, o que pode gerar a cristalização do ingrediente. Este tipo de fenômeno gera o entupimento dos bicos pulverizadores e inviabiliza a aplicação do pesticida.

Para formulações do tipo microemulsão, além da estabilidade da emulsão em água, é necessário a incorporação de uma quantidade significativa de água em sua composição. Essa tecnologia foi explorada com o intuito de utilizar a água como estratégia para os seguintes objetivos: baixar o custo final da formulação, ter um produto não-inflamável e clarificar o efeito do tipo de formulação na eficácia agronômica do D-limoneno.

De modo a ter maior controle sobre as variáveis a serem analisadas no estudo da eficácia sobre o controle da mosca-branca, nesta formulação, buscou-se manter, na medida do possível, os mesmos compostos utilizados na formulação EC.

Devido à quantidade de água utilizada ser maior, esta formulação requereu uma concentração maior de tensoativos. Além disso, empregou-se antiespumante em sua formulação, de modo a evitar dificuldades de envases durante seu processo produtivo.

Outro composto incorporado foi a ureia, cuja finalidade é agir como anticongelante, para manter a formulação estável a baixas temperaturas. Vale menção que compostos como propilenoglicol e éteres de glicóis poderiam ser utilizados para este fim, no entanto, escolheu-se a ureia por esta também apresentar um efeito fertilizante sobre o solo e diferentes cultivos.

A emulsão desenvolvida foi do tipo água em óleo, sendo o D-limoneno a fase contínua. As informações de todos os compostos da formulação do tipo ME desenvolvida, aqui denominada de "Terpeno 50 ME", são apresentadas na Tabela 4.3.

TABELA 5.3 - Formulação do tipo microemulsão (Terpeno 50 ME).

Componentes	Nome químico (Fornecedor)	%m/m	g/L
D-limoneno	D-limoneno (Cutrale)	56,00	520,80
Água	Água0020	10,97	102,02
Uréia	Diaminometanal (Merck)	2,30	21,4
Ácido Bórico	Ácido Bórico (Merck)	0,60	5,6
Silfoan SER	Polidimetilsiloxano (Wacker)	0,11	1,00
Surfom R400	Óleo de Soja Etoxilado (Oxiten)	6,51	60,5
Ultraric 5000	Copolímero de bloco EO/PO (Oxiten)	10,00	93
Ninate 70 B	Dodecilbenzenosulfonato de Cálcio (Oxiten)	13,51	125,6
TOTAL		100,00	930,00

Posteriormente, realizou-se o teste de estabilidade da formulação, cujos resultados constam na Tabela 4.4. Assim como no caso anterior, esta formulação apresentou-se estável em todos os parâmetros, garantindo assim um tempo de prateleira de pelo menos 2 anos.

TABELA 5.4 - Teste de estabilidade: Terpeno 50 ME.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS	NORMA ABNT	ESPECIFICAÇÃO	14 DIAS 0 °C	14 DIAS 54 °C
Aparência	-	Líquido Límpido	Cumpre	Cumpre
Cor	-	Amarelo - Âmbar	Amarelo	Amarelo
Separação de Fase (%)	-	0,0	0,0	0,0
Cristalização da Calda 1% - Peneira 75 micras/200 MESH	-	0,0	0,0	0,0
Teor de D-limoneno (g/L)*	*	475,0 – 525,0	502,40	503,90
Densidade (g/mL)	-	0,90 – 1,00	0,93	0,93
Estabilidade da Emulsão @ 20 ppm após 1 hora	13452:2016	< 1,00	0,0	0,0
Estabilidade da Emulsão @ 20 ppm após 2 horas	13452:2016	< 1,00	0,0	0,0
Estabilidade da Emulsão @ 20 ppm após 24 horas	13452:2016	< 1,00	0,0	0,0
Espuma Persistente (cm)	13451:2016	< 3,00	0,0	0,0

* Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Método interno (Confidencial).

5.1.3 Pó molhável

Para este tipo de formulação, o D-limoneno foi adsorvido em sílica, por conta de sua alta capacidade de adsorção. Devido à baixa solubilidade da sílica em água, utilizou-se o agente umectante Morwet® EFW, da empresa europeia Akzo Nobel. Para evitar a sedimentação do produto da calda ou aglomeração seguida do entupimento dos bicos de pulverização, empregou-se o Morwet® D-425, da Akzo Nobel, um segundo tensoativo com propriedades dispersantes. Na Tabela 4.5 constam as informações da formulação do tipo pó molhável desenvolvida neste trabalho, a qual foi intitulada de Terpeno 50 WP.

TABELA 5.5 - Formulação do tipo pó molhável desenvolvida (Terpeno 50 WP).

Componentes	Nome químico (Fornecedor)	%p/p	g/L
Tixosil 333	Dióxido de Silício (Solvay)	35,92	359,20
D-limoneno	D-limoneno (Cutrale)	52,08	520,83
Morwet D-425	Naftaleno condensado de Sódio (Akzo)	10,00	100,00
Morwet EFW	Sulfonato Alquilnaftaleno de Sódio (Akzo)	2,00	20,00
TOTAL		100,00	1000,00

Os resultados do teste de estabilidade para a formulação em questão apresentam-se na Tabela 4.6, os quais confirmam que se trata de uma formulação estável, com um tempo mínimo de prateleira de 2 anos.

TABELA 5.6 - Teste de estabilidade: Terpeno 50 WP.

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS	NORMA ABNT	ESPECIFICAÇÃO	14 DIAS 0 °C	14 DIAS 54 °C
Aparência	-	Líquido Límpido	Cumpre	Cumpre
Cor	-	Amarelo - Âmbar	Âmbar	Âmbar
Cristalização da Calda 1% - Peneira 75 micras/200 MESH	-	0,0	0,0	0,0
Teor de D-limoneno (g/L)*	*	475,0 – 525,0	502,60	502,10
Densidade (g/mL)	-	0,80 – 0,90	0,84	0,84
Tamanho de Partícula (micras)	-	3,0 – 10,0	3,79	3,85
Suspensibilidade (%)	13313:2018	> 85,0	94,2	92,5
Molhabilidade (s)	13242:2016	< 60	30,0	40,0

ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS	NORMA ABNT	ESPECIFICAÇÃO	14 DIAS 0 °C	14 DIAS 54 °C
Granulometria Via Úmida (%)	13237:2018	> 99,0	99,9	99,9
Espuma Persistente (cm)	13451:2016	< 3,00	0,0	0,0

* Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Método interno (Confidencial).

5.2 Eficiência agrônômica

5.2.1 Bioensaio com adultos da mosca-branca

A partir dos resultados apresentados nas Tabelas 4.7 a 4.12, observa-se que os tratamentos em que foram utilizados apenas as formulações desenvolvidas (Terpeno 50 EC-R, Terpeno 50 ME e Terpeno 50 WP) diferiram significativamente do sistema-controle, no qual utilizou-se exclusivamente água, em todos os intervalos de tempo analisados.

Como pode ser observado na Tabela 4.9, no terceiro dia após a aplicação, a mortalidade estava cerca de 50% em relação ao tratamento-controle. Entretanto, com o aumento da morte natural dos insetos na testemunha, a mortalidade corrigida aos 5 e 7 dias após as pulverizações caiu, ficando em torno de 40%, como apresentado nas Tabelas 4.10 e 4.11, respectivamente.

Mesmo causando mortalidade dos adultos da mosca-branca, os tratamentos contendo apenas terpeno, nas diferentes formulações, apresentaram resultados estatisticamente semelhantes aos do tratamento-controle, quanto aos descendentes dos adultos que entraram em contato com os resíduos, conforme apresentado na Tabela 4.12. No entanto, houve uma redução no número de ninfas pelos tratamentos contendo terpeno, variando de 42 a 47%, dependendo da formulação estudada. Portanto, mesmo não reduzindo drasticamente a produção de ninfas, como nos tratamentos com inseticidas, o número foi inferior ao tratamento sem controle nenhum, reforçando o efeito de terpeno sobre a mosca-branca.

A partir da análise da Tabela 4.7, o tratamento contendo apenas Bifentrina (Talstar) inicialmente diferiu dos tratamentos contendo terpenos. Porém, a partir do

segundo dia de avaliação, não houve diferenças significativas entre Bifentrina e os tratamentos contendo terpeno (Tabelas 4.8 a 4.11).

TABELA 5.7 - Média do número de adultos de *B. tabaci* mortos 24 h após contato com resíduos dos tratamentos.

Tratamento	^a Mortos 24 h	^b Ma 24 h(%)
Controle	1,34 ± 0,93 a	-
Terpeno 50 WP	4,25 ± 0,81 b	33,6
Terpeno 50 ME	4,75 ± 0,81 b	39,4
Terpeno 50 EC-R	5,25 ± 0,81 b	45,2
Bifentrina (Talstar)	7,00 ± 0,81 c	65,4
Acetamiprido + Bifentrina	9,00 ± 0,81 c	88,5
Terpeno 50 WP + Bifentrina	8,25 ± 0,81 c	79,8
Terpeno 50 ME + Bifentrina	8,25 ± 0,81 c	79,8
Terpeno 50 EC-R + Bifentrina	9,00 ± 0,81 c	88,5
Terpeno 50 WP + Acetamiprido + Bifentrina	10,00 ± 0,00 c	100,0
Terpeno 50 ME + Acetamiprido + Bifentrina	9,50 ± 0,81 c	94,2
Terpeno 50 EC-R + Acetamiprido + Bifentrina	9,75 ± 0,81 c	97,1

^aMédias (n=10) com a mesma letra não se diferem estatisticamente entre si pelo teste de médias Scott-Knott ($p < 0,001$).

^bMa: valores médios da porcentagem de mortalidade (%) corrigidos pela fórmula de Schneider-Orelli.

TABELA 5.8 - Média do número de adultos de *B. tabaci* mortos 48 h após contato com resíduos dos tratamentos.

Tratamento	^a Mortos (48 h)	^b Ma (48 h)
Controle	1,34 ± 0,96 a	-
Terpeno 50 WP	5,50 ± 0,83 b	48,0
Terpeno 50 ME	5,75 ± 0,83 b	50,9
Terpeno 50 EC-R	5,50 ± 0,83 b	48,0
Bifentrina (Talstar)	8,00 ± 0,83 b	76,9
Acetamiprido + Bifentrina	10,00 ± 0,00 c	100,0
Terpeno 50 WP + Bifentrina	9,00 ± 0,83 c	88,5
Terpeno 50 ME + Bifentrina	8,25 ± 0,83 c	79,8
Terpeno 50 EC-R + Bifentrina	9,25 ± 0,83 c	91,3
Terpeno 50 WP + Acetamiprido + Bifentrina	10,00 ± 0,00 c	100,0
Terpeno 50 ME + Acetamiprido + Bifentrina	10,00 ± 0,00 c	100,0
Terpeno 50 EC-R + Acetamiprido + Bifentrina	10,00 ± 0,00 c	100,0

^aMédias (n=10) com a mesma letra não se diferem estatisticamente entre si pelo teste de médias Scott-Knott ($p < 0,001$).

^bMa: valores médios da porcentagem de mortalidade (%) corrigidos pela fórmula de Schneider-Orelli.

TABELA 5.9 - Média do número de adultos de *B. tabaci* mortos 72 h após contato com resíduos dos tratamentos.

Tratamento	^a Mortos (72 h)	^b Ma (72 h)
Controle	2,34 ± 0,96 a	-
Terpeno 50 WP	6,25 ± 0,83 b	51,0
Terpeno 50 ME	6,50 ± 0,83 b	54,3
Terpeno 50 EC-R	6,00 ± 0,83 b	47,8
Bifentrina (Talstar)	8,00 ± 0,83 b	73,9
Acetamiprido + Bifentrina	10,00 ± 0,00 c	100,0
Terpeno 50 WP + Bifentrina	9,00 ± 0,83 c	86,9
Terpeno 50 ME + Bifentrina	9,00 ± 0,83 c	86,9
Terpeno 50 EC-R + Bifentrina	9,50 ± 0,83 c	93,5
Terpeno 50 WP + Acetamiprido + Bifentrina	10,00 ± 0,83 c	100,0
Terpeno 50 ME + Acetamiprido + Bifentrina	10,00 ± 0,00 c	100,0
Terpeno 50 EC-R + Acetamiprido + Bifentrina	10,00 ± 0,00 c	100,0

^aMédias (n=10) com a mesma letra não se diferem estatisticamente entre si pelo teste de médias Scott-Knott ($p < 0,001$).

^bMa: valores médios da porcentagem de mortalidade (%) corrigidos pela fórmula de Schneider-Orelli.

TABELA 5.10 - Média do número de adultos de *B. tabaci* mortos 5 dias após contato com resíduos dos tratamentos.

Tratamento	^a Mortos (5 dias)	^b Ma (5 dias)
Controle	3,40 ± 0,85 a	-
Terpeno 50 WP	6,25 ± 0,73 b	43,0
Terpeno 50 ME	6,00 ± 0,73 b	39,4
Terpeno 50 EC-R	6,00 ± 0,73 b	39,4
Bifentrina (Talstar)	8,50 ± 0,73 b	77,3
Acetamiprido + Bifentrina	10,00 ± 0,00 c	100,0
Terpeno 50 WP + Bifentrina	9,00 ± 0,73 c	84,8
Terpeno 50 ME + Bifentrina	9,50 ± 0,73 c	92,4
Terpeno 50 EC-R + Bifentrina	9,50 ± 0,73 c	92,4
Terpeno 50 WP + Acetamiprido + Bifentrina	10,00 ± 0,00 c	100,0
Terpeno 50 ME + Acetamiprido + Bifentrina	10,00 ± 0,00 c	100,0
Terpeno 50 EC-R + Acetamiprido + Bifentrina	10,00 ± 0,00 c	100,0

^aMédias (n=10) com a mesma letra não se diferem estatisticamente entre si pelo teste de médias Scott-Knott ($p < 0,001$).

^bMa: valores médios da porcentagem de mortalidade (%) corrigidos pela fórmula de Schneider-Orelli.

TABELA 5.11 - Média do número de adultos de *B. tabaci* mortos 7 dias após contato com resíduos dos tratamentos.

Tratamento	^a Mortos (7 dias)	^b Ma (7 dias)
Controle	3,40 ± 0,85 a	-
Terpeno 50 WP	6,25 ± 0,73 b	43,0
Terpeno 50 ME	6,00 ± 0,73 b	39,4
Terpeno 50 EC-R	6,00 ± 0,73 b	39,4
Bifentrina (Talstar)	8,75 ± 0,73 b	81,1
Acetamiprido + Bifentrina	10,00 ± 0,00 c	100,0
Terpeno 50 WP + Bifentrina	9,00 ± 0,73 c	84,8
Terpeno 50 ME + Bifentrina	9,75 ± 0,73 c	96,2
Terpeno 50 EC-R + Bifentrina	9,50 ± 0,73 c	92,4
Terpeno 50 WP + Acetamiprido + Bifentrina	10,00 ± 0,00 c	100,0
Terpeno 50 ME + Acetamiprido + Bifentrina	10,00 ± 0,00 c	100,0
Terpeno 50 EC-R + Acetamiprido + Bifentrina	10,00 ± 0,00 c	100,0

^a Médias (n=10) com a mesma letra não se diferem estatisticamente entre si pelo teste de médias Scott-Knott ($p < 0,001$).

^b Ma: valores médios da porcentagem de mortalidade (%) corrigidos pela fórmula de Schneider-Orelli.

TABELA 5.12 - Média do número de ninfas de *B. tabaci* descendentes dos adultos que entraram contato com resíduos dos tratamentos por 7 dias.

Tratamento	^a Ninfas	^b Ma (Ninfas)
Controle	39,00 ± 7,9 a	--
Terpeno 50 WP	20,50 ± 7,9 a	47
Terpeno 50 ME	21,00 ± 7,9 a	46
Terpeno 50 EC-R	22,75 ± 7,9 a	42
Bifentrina (Talstar)	7,75 ± 7,9 b	80
Acetamiprido + Bifentrina	0,75 ± 7,9 b	98
Terpeno 50 WP + Bifentrina	8,25 ± 7,9 b	79
Terpeno 50 ME + Bifentrina	1,50 ± 7,9 b	96
Terpeno 50 EC-R + Bifentrina	3,00 ± 7,9 b	92
Terpeno 50 WP + Acetamiprido + Bifentrina	0,00 ± 0,0 b	100
Terpeno 50 ME + Acetamiprido + Bifentrina	0,00 ± 0,0 b	100
Terpeno 50 EC-R + Acetamiprido + Bifentrina	0,00 ± 0,0 b	100

^a Médias com a mesma letra não se diferem estatisticamente entre si pelo teste de médias Scott-Knott ($p < 0,001$).

^b Ma: valores médios da porcentagem de mortalidade (%) corrigidos pela fórmula de Abbott.

Baseado nos dados das Tabelas 4.7 a 4.11, o controle proporcionado pela Bifentrina foi superior aos tratamentos com terpeno, com mortalidade variando entre

65 e 81%. Quando avaliada a descendência no tratamento com bifentrina, houve redução do número de ninfas em 80%, o que foi significativamente diferente, tanto do tratamento-controle como dos tratamentos com terpeno, independente da formulação (Tabela 4.12).

Os demais tratamentos diferiram significativamente do tratamento-controle e dos realizados com apenas um componente, considerando o período de 2 dias após a aplicação. Os tratamentos que utilizaram acetamiprido e bifentrina, isolados ou em mistura com terpeno, causaram elevada mortalidade dos adultos de *B. tabaci*, desde o primeiro dia de avaliação, sendo de 100% após 48 h.

No tratamento realizado com acetamiprido e bifentrina isolados houve o desenvolvimento de uma pequena quantidade de ninfa (média de 0,75 ninfa), enquanto nos tratamentos desses componentes em mistura com terpeno não foi verificado nenhuma ninfa, conforme pode ser constatado na Tabela 4.12.

5.2.2 Bioensaio com ninfas da mosca-branca

Plantas infestadas com ovos e ninfas de *B. tabaci* foram avaliadas antes da pulverização com os tratamentos. Na avaliação prévia (dia 0), os tratamentos realizados com Terpeno 50 WP e Terpeno 50 EC-R não diferiram estatisticamente do tratamento-controle, como pode ser observado na Tabela 4.13.

Ainda baseado nos dados da Tabela 4.13, nas aplicações em que apresentavam terpenos em sua composição, houve um aumento no número de ninfas, indicando que o terpeno não é efetivo para redução de ninfas presentes durante a aplicação ou provenientes dos ovos que estavam nas plantas.

Para diminuir o efeito de diferença estatística na avaliação prévia, a mortalidade foi calculada baseada no método de Henderson & Tilton, no qual compara-se o número de indivíduos antes (0 dia) e após a aplicação (7 dias), além de comparar com o desenvolvimento da praga no tratamento-testemunha. Neste caso, como o aumento de ninfas foi maior nos tratamentos com terpeno, a mortalidade foi de 0% (Tabela 4.13).

TABELA 5.13 - Média do número de ninfas vivas antes da pulverização (dia 0) e 7 dias após pulverização dos tratamentos.

Tratamento	Dia 0	Dia 7	^b Ma no dia 7
Controle	30,00 ± 5,4 a	46,5 ± 8,7 b	--
Terpeno 50 WP	30,33 ± 6,3 a	74,00 ± 10,1	0
Terpeno 50 ME	14,25 ± 5,4 b	36,30 ± 8,7 b	0
Terpeno 50 EC-R	22,50 ± 5,4 a	53,25 ± 8,7 b	0
Bifentrina (Talstar)	12,25 ± 5,4 b	5,50 ± 4,7 c	71
Acetamiprido + Bifentrina	3,50 ± 2,4 b	0,25 ± 0,2 c	95
Terpeno 50 WP + Bifentrina	11,00 ± 5,4 b	3,25 ± 2,7 c	81
Terpeno 50 ME + Bifentrina	14,25 ± 5,4 b	10,50 ± 8,7 c	52
Terpeno 50 EC-R + Bifentrina	16,25 ± 5,4 b	14,75 ± 8,7 c	41
Terpeno 50 WP + Acetamiprido + Bifentrina	3,50 ± 3,4 b	0,25 ± 0,2 c	95
Terpeno 50 ME + Acetamiprido + Bifentrina	5,00 ± 4,4 b	0,25 ± 0,2 c	97
Terpeno 50 EC-R + Acetamiprido + Bifentrina	5,75 ± 0,0 b	0,25 ± 0,2 c	97

* Médias com a mesma letra, nas colunas, não se diferem estatisticamente entre si pelo teste de médias Scott-Knott ($p < 0,001$).

^b Ma: valores médios da porcentagem de mortalidade (%) corrigidos pela fórmula de Henderson & Tilton.

Os tratamentos realizados com inseticidas, isolados e misturados com terpenos, causaram redução no número de ninfas após 7 dias de pulverização, apresentando-se significativamente diferentes do tratamento-controle e dos contendo somente terpeno. A adição de terpeno à mistura de Acetamiprido + Bifentrina, assim como para adultos, não aumentou a eficácia no combate às ninfas. Para Bifentrina, a adição de terpeno aumentou a eficácia apenas quando utilizada a formulação WP.

6.0 CONCLUSÃO

Neste trabalho, três formulações agroquímicas para o controle da mosca-branca (*B. tabaci*) à base de D-limoneno foram desenvolvidas: concentrado emulsionável, microemulsão e pó molhável. As caracterizações de todas seguiram as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas para defensivos agrícolas.

Todas as formulações propostas apresentaram boa estabilidade, indicando a permanência de suas propriedades físico-química por pelo menos 2 anos, além de poderem ser aplicadas nas atuais práticas agrícolas. Os ensaios de estabilidade foram baseados nas normas sugeridas pela FAO e CIPAC.

A partir dos estudos de eficiência agrônômica, verificou-se que a eficácia no controle da mosca-branca foi similar para as três formulações desenvolvidas. No entanto, considerando outras características como custo, facilidade e flexibilidade de produção, a formulação do tipo concentrado emulsionável apresentou-se como a melhor opção para comercialização.

No tocante ao controle de adultos da mosca-branca, os tratamentos realizados com as formulações à base de D-limoneno mostraram resultados similares aos que utilizaram inseticidas comerciais. O controle de ninfas dessa praga foi praticamente inexistente para todas as formulações desenvolvidas, sendo a aplicação não recomendada de forma isolada. Porém, quando aplicadas em conjunto com a Bifentrina, foram observados resultados similares aos do tratamento realizado com a mistura de Bifentrina com Acetamiprido. A partir dos resultados apresentados, quando empregado em conjunto com a Bifentrina, a formulação à base de D-limoneno do tipo concentrado emulsionável apresenta-se como uma estratégia promissora no combate à mosca-branca.

7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E. B. Mosca-branca: uma praga polífaga e de difícil controle. **Promip**. 26 jul. 2019. Disponível em: <https://promip.agr.br/mosca-branca-praga-polifaga-dificil-controle/>. Acesso em: 1 maio 2021.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 13241**: agrotóxicos e afins: determinação da tensão superficial: método de ensaio. Rio de Janeiro: ABNT, 1994.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 13828**: agrotóxicos e afins: determinação da granulometria, faixa granulométrica e teor de pó por peneiramento via seca. Rio de Janeiro: ABNT, 2006.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 13313**: agrotóxicos e afins: determinação da suspensibilidade. Rio de Janeiro: ABNT, 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 13450**: agrotóxicos e afins: determinação da aderência em sementes por via seca: método de ensaio. Rio de Janeiro: ABNT, 2013.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 13242**: agrotóxicos e afins: determinação da molhabilidade. Rio de Janeiro: ABNT, 2014a.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 13827**: agrotóxicos e afins: determinação da estabilidade da dispersão. Rio de Janeiro: ABNT, 2014b.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 13451**: agrotóxicos e afins: determinação da espuma persistente. Rio de Janeiro: ABNT, 2016a.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 13452**: agrotóxicos e afins: determinação da estabilidade da emulsão. Rio de Janeiro: ABNT, 2016b.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 13237**: agrotóxicos e afins: determinação do resíduo por peneiramento úmido. Rio de Janeiro: ABNT, 2017.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 8510**: agrotóxicos e afins: características físicas. Rio de Janeiro: ABNT, 2018.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 13229**: agrotóxicos e afins: determinação da mobilidade. Rio de Janeiro: ABNT, 2020.

BERENBAUM, M. R. North American ethnobotanicals as sources of novel plant-based insecticides. *In*: ARNASON, J. T.; PHILOGÈNE, B. J. R.; MORAND, P.

Insecticides of plant origin. Washington, DC: American Chemical Society, 1988. p. 44-58.

BICAS, J. L.; DIONÍSIO, A. P.; PASTORE, G. M. Bio-oxidation of terpenes: an approach for the flavor Industry. **Chemical Reviews**, v. 109, n. 9, p. 4518–4531, 2009.

BRASIL. **Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989.** Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Brasília, DF: Presidência da República, [1989]. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l7802.htm. Acesso em: 29 abr. 2021.

BULL, D.; HATHAWAY, D. **Pragas e venenos:** agrotóxicos no Brasil e no terceiro mundo. Petrópolis, RJ: Vozes/OXFAN/FASE, 1986.

BUSS, E. A.; PARK-BROWN, S. G. **Natural products for insect pest management.** Gainesville, FL: UF/IFAS, 2002. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/IN197>. Acesso em: 29 abr. 2005.

CHIU, S. Recent advances in research on botanical insecticides in China. *In*: ARNASON, J. T.; PHILOGÈNE, B. J. R.; MORAND, P. **Insecticide of plant origin.** Washington, DC: American Chemical Society, 1988. p. 69-77.

CLOUGH, J. M. et al. Role of Natural Products in Pesticide Discovery: the β -methoxyacrylate fungicides. *In*: CLOUGH, J. M. et al. (Ed.). **Natural and engineered pest management agents.** Washington, DC: American Chemical Society, 1994. p. 37-53.

CNA. **Panorama do Agro.** [Brasília, DF], jun. 2020. Disponível em: https://www.cnabrazil.org.br/cna/panorama-do-agro#_ftn1. Acesso em: 26 abr. 2021.

DE CARVALHO, C. C. C. R.; DA FONSECA, M. M. R. Biotransformation of terpenes. **Biotechnology Advances**, v. 24, n. 2, p. 134–142, 2006.

EMBRAPA. **Brasil lista 20 pragas agrícolas mais importantes que ainda não chegaram ao país.** [Brasília, DF], 3 out. 2017. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/28666392/brasil-lista-20-pragas-agricolas-mais-importantes-que-ainda-nao-chegaram-ao-pais>. Acesso em: 28 abr. 2021.

HARTNELL, G. The innovation of agrochemicals: regulation and patent protection. **Research Policy**, v. 25, n. 3, p. 379-395, 1996.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Produção agrícola municipal:** culturas temporárias e permanentes. Brasília, DF: IBGE, 2011.

v. 38. Disponível em:

https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/66/pam_2011_v38_br.pdf .

Acesso em: 30 abr. 2021.

KATHRINA, G. A.; ANTONIO, L. O. J. Controle biológico de insectos mediante extractos botánicos. *In*: CARBALL, M.; GUAHARAY, F. (Ed.). **Control biologico de plagas agrícolas**. Managua: CATIE, 2004. p. 137-160.

LAGUNES, T. A.; RODRÍGUEZ, M. J. C. Los extractos acuosos vegetales con actividad insecticida: el combate de la conchuela del frijol. *In*: LAGUNES, T. A.; RODRÍGUEZ, M. J. C. (Ed.). **Temas selectos de manejo de insecticidas**. Texcoco, México: USAIDCONACYT-SME-CP, 1992. v. 3.

LIMA, A. C. S.; LARA, F. M.; SANTOS, J. M. Morfologia da mosca branca, *Bemisia tabaci* biótipo "B" (Hemiptera: Aleyrodidae), encontrada em Jaboticabal, SP, com base em eletron-micrografías de varredura. **Boletín de Sanidad Vegetal**, v. 27, p. 315-322, 2001.

MAGALHÃES, B. P.; CARVALHO, S. M. **Insetos associados à cultura do feijoeiro: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba, SP: FEALQ, 1998.

MARTINELLI JÚNIOR, O. **Relatório setorial final: setor de agroquímicos**. Diretório de Pesquisa Privada/FINEP. 35p. São Paulo, 2005.

MCDUGALL, P. **The cost of new agrochemical product discovery, development and registration in 1995, 2000, 2005-8 and 2010-2014: R&D expenditure in 2014 and expectations for 2019**. Midlothian, UK: Croplife, 2016. Disponível em: <https://croplife.org/wp-content/uploads/2016/04/Cost-of-CP-report-FINAL.pdf>. Acesso em: 26 abr. 2021.

SALGUEIRO, V. Perspectivas para el manejo del complejo mosca blanca-virosis. *In*: HILJE, L.; ARBOLEDA, Q. (Ed.). **Las moscas blancas (Homoptera: Aleyrodidae) em America Central y Caribe**. Turrialba: CATIE, 1992. p. 20-26.

SCHICK, M. P.; SCHICK, R. O. Understanding and implementing safe and effective flea control. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 22, p. 421-434, 1986.

THACKER, J.R.M. **An introduction to arthropod pest control**. Cambridge: Cambridge University, 2002.

VOLGAS, G. C.; DOWNER, R.; LOPEZ, H. **Pesticide formulations and application systems: 23rd volume**. West Conshohocken, PA: ASTM, 2003.

WIESBROOK, M. L. Natural indeed: are natural insecticides safer and better than conventional insecticides? **Illinois Pesticide Review**, v. 17, n. 3, 2004. Disponível em: <https://www.ideals.illinois.edu/bitstream/handle/2142/993/v17n304.pdf>. Acesso em: 29 abr. 2021.

YOKOYAMA, M. 12 pragas. *In*: VIEIRA, C., DE PAULA JR., J.; BORÉM, A. **Feijão**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2006. p. 341-357.

YUDELMAN, M.; RATTA, A.; NYGAARD, D. **Pest management and food production**: looking to the future. Washington, D.C.: International Food Policy Institute, 1998.