

**Ensino Médio com Habilitação Profissional de  
TÉCNICO EM QUÍMICA**

Aimê Fabiane de Jesus Silva Carvalho

Ana Clara Longatto Alves

Maria Eduarda Gonçalves Ferraz

Sara Vitória da Silva Mira

**PRODUÇÃO DE UM BIODEFENSIVO A PARTIR DA EXTRAÇÃO DA  
ALICINA E DA PIPERINA**

**Piracicaba – SP**

**2024**

Aimê Fabiane de Jesus Silva Carvalho

Ana Clara Longatto Alves

Maria Eduarda Gonçalves Ferraz

Sara Vitória da Silva Mira

**PRODUÇÃO DE UM BIODIFENSIVO A PARTIR DA EXTRAÇÃO DA  
ALICINA E DA PIPERINA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Técnico em Química da escola ETEC Cel. Fernando Febeliano da Costa, orientado pela Professora Ana Paula Jacobasso, como requisito parcial para obtenção do título de técnico em química.

**Piracicaba – SP**

**2024**

Aimê Fabiane de Jesus Silva Carvalho

Ana Clara Longatto Alves

Maria Eduarda Gonçalves Ferraz

Sara Vitória da Silva Mira

## **PRODUÇÃO DE UM BIODEFENSIVO A PARTIR DA EXTRAÇÃO DA ALICINA E DA PIPERINA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Técnico em Química da escola ETEC Cel. Fernando Febeliano da Costa, orientado pelo professor Ana Paula Jacobasso, como requisito parcial para a obtenção do título de Técnico em Química.

### **APROVAÇÃO DA BANCA EXAMINADORA**

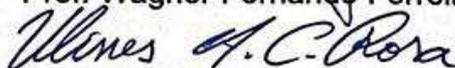


Profª. Ana Paula Jacobasso

Coordenadora da Área e Presidente da Banca Examinadora



Prof. Wagner Fernando Ferreira – Examinador



Prof. Ulisses Rosa – Examinador

**Piracicaba – SP**

**2024**

## RESUMO

A busca por métodos de cultivo mais sustentáveis tem se feito cada vez mais necessária, considerando a situação atual de degradação ambiental. Nesse âmbito, a agricultura não se exclui, visto que os defensivos agrícolas têm compostos tóxicos e nocivos ao meio ambiente em geral e também à saúde humana. Estas substâncias nocivas não afetam somente os produtos agrícolas e seus consumidores, mas contaminam também os solos e aquíferos, afetando pelo menos duas esferas que compõe o ecossistema. Diante desse fato, o presente trabalho de conclusão de curso foi desenvolvido, visando a produção de um biodefensivo agrícola de baixo custo e também que não agredisse o meio ambiente, para isso foi utilizado como matérias-primas substâncias naturais, sendo elas compostos presentes no alho (*Allium sativum*) e na pimenta do reino (*Piper nigrum*), que detêm propriedades fungicidas. A expectativa é que este biodefensivo atinja um resultado semelhante ao de um agrotóxico convencional, porém de maneira que não cause danos ao meio ambiente e atenda às necessidades de pequenos agricultores.

**Palavras-chave:** Alho (*Allium sativum*); Biodefensivo agrícola; Controle de fungos; Pequenos agricultores; Pimenta-do-reino (*Piper nigrum*); Propriedades fungicidas; Sustentabilidade.

## **ABSTRACT**

The pursuit of more sustainable agricultural practices has become increasingly imperative in light of the prevailing issues associated with environmental degradation. In this regard, agriculture is not exempt from scrutiny, as agricultural pesticides are comprised of compounds that are both toxic and detrimental to the environment as well as to human health. These hazardous substances adversely impact agricultural products and their consumers, while simultaneously contaminating soils and aquifers, thereby influencing at least two critical components of the ecosystem. In response to this pressing concern, this capstone project was initiated with the objective of developing a low-cost agricultural biodefensive that would not compromise environmental integrity. To this purpose, natural substances were employed as raw materials, including compounds derived from garlic (*Allium sativum*) and black pepper (*Piper nigrum*), both of which possess fungicidal properties. It is anticipated that this biodefensive will yield results comparable to those of conventional pesticides, yet in a manner that safeguards the environment and fulfills the requirements of small-scale farmers.

**Keywords:** Garlic (*Allium sativum*); agricultural biopesticide; fungus control; small farmers; black pepper (*Piper nigrum*); fungicidal properties; sustainability.

## Lista de figuras

Figura 1 – Estrutura molecular da piperina .....	14
Figura 2 – Estrutura molecular da alicina .....	15
Figura 3 – Extração por Dean-Stark da Alicina.....	23
Figura 4 – Extrato da alicina.....	23
Figura 5 – Extração por Soxhlet da piperina .....	25
Figura 6 – Destilação simples do extrato contendo piperina .....	25
Figura 7 – Autoclave utilizada no processo .....	27
Figura 8 – Fungo após a primeira aplicação .....	35
Figura 9 – Fungo após a última aplicação.....	35
Figura 10 – Planta 1 com ferrugem após a primeira aplicação .....	37
Figura 11 – Planta 2 com ferrugem após a primeira aplicação.....	37
Figura 12 – Planta 1 com ferrugem após a última aplicação.....	38

## **Lista de tabelas**

Tabela 1 – Custo dos materiais para produzir 200 mL de biodefensivo.....	25
--	----

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>1.1. Justificativa</b> .....	11
<b>1.2. Problemas de Pesquisa</b> .....	11
<b>1.3. Hipótese</b> .....	11
<b>1.4. Objetivo Geral e Objetivos Específicos</b> .....	11
1.4.1. Objetivo Geral.....	11
1.4.2. Objetivos Específicos .....	12
<b>2. DESENVOLVIMENTO</b> .....	13
<b>2.1. Fundamentação teórica</b> .....	13
2.1.1. Biodefensivos: Definição e Composição.....	13
2.1.2. Comparação Entre Herbicidas Tradicionais e Biodefensivos .....	13
2.1.3. Uso de Plantas Medicinais e Fitoterápicos em Defensivos Naturais .....	14
2.1.4. Propriedades da Piperina e da Alicina .....	14
2.1.5. A Doença “Antracnose” no Morangueiro.....	17
2.1.6. A Doença “Ferrugem” em Plantas .....	17
2.1.7. Método de extração por Soxhlet.....	18
2.1.8. Processo de Extração utilizando o método Dean-Stark.....	19
2.1.9. Procedimentos de Isolamento de Fungos patogênicos .....	19
<b>2.2. Metodologia</b> .....	22
2.2.1. Extração da alicina .....	22
2.2.1.1. Materiais e reagentes .....	22
2.2.1.2. Procedimento .....	22
2.2.2. Extração da piperina.....	24
2.2.2.1. Material e reagentes.....	24
2.2.2.2. Procedimento .....	24
2.2.3. Preparação do Meio de Cultura e Isolamento do fungo.....	26

2.2.3.1. Materiais e reagentes .....	26
2.2.3.2. Procedimento .....	27
2.2.4. Preparo e Aplicação do Biodefensivo à Base de Alicina e Piperina.....	28
2.2.4.1. Materiais e reagentes .....	28
2.2.4.2. Procedimento .....	29
<b>2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>30</b>
2.3.1. Concentração dos compostos ativos no biodefensivo.....	30
2.3.2. Análise da eficácia do biodefensivo.....	35
2.3.3. Cálculo do custo de produção de defensivo biológico.....	39
<b>3. CONCLUSÃO .....</b>	<b>41</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>44</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Os agrotóxicos, também chamados de pesticidas, praguicidas ou produtos fitossanitários, foi desenvolvido durante a Segunda Guerra Mundial, com o objetivo de ser uma arma química, que no pós-guerra tornou-se um defensivo agrícola. Segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) (2006), agrotóxico é qualquer composto manufaturado utilizado na agricultura com o intuito de controlar pragas e doenças, além de impedir o desenvolvimento de plantas daninhas.

Com o aumento da população mundial, tornou-se necessário elevar os níveis de produção de alimentos, o que acabou por revolucionar as técnicas utilizadas na agricultura. Uma das mais importantes mudanças que ocorreram foi o início da utilização de agrotóxicos (STEFFEN, et al. 2011). De acordo com SILVA (2017), a exorbitante aplicação destes defensivos agrícolas tem ocasionado a contaminação e poluição da biota, água e ar, recursos indispensáveis para a sobrevivência humana e animal no Planeta. Mais da metade dos agrotóxicos usados no Brasil hoje são banidos em países da União Europeia e nos Estados Unidos. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que, entre os países em desenvolvimento, os agrotóxicos causam, anualmente, 70.000 intoxicações agudas e crônicas (ROSSI, 2015), principalmente os processos neurológicos, reprodutivos e respiratórios. A conscientização dos produtores para maneiras menos agressivas de controlar as pragas é o que garante um desenvolvimento mais sustentável da agricultura.

Como alternativa, foram desenvolvidos os bio defensivos, que fazem parte do grupo dos bioinsumos. Segundo o Programa Nacional de Bioinsumos (PNB), os bioinsumos são definidos como produtos, processos ou tecnologias de origem animal, vegetal ou microbiana, usados para produzir, armazenar e beneficiar produtos agropecuários (BRASIL, 2020).

Os bio defensivos oferecem várias vantagens em relação aos agrotóxicos tradicionais, como a redução dos impactos ambientais e dos custos, maior produtividade e qualidade do solo, e a ausência de resíduos nas colheitas, o que aumenta a segurança alimentar (BRASIL, 2019). Existem dois principais grupos de bio defensivos, os agentes biológicos de controle, que são executados a partir de bactérias, fungos, vírus, ácaros e nematoides e as substâncias químicas naturais,

como hormônios reguladores de crescimento e semioquímicos, que utilizam feromônios de insetos para o controle de pragas (ELEVAGRO, 2022).

### **1.1. Justificativa**

A ingestão de alimentos que contém substâncias tóxicas presentes em defensivos agrícolas, vem causando diversos impactos negativos relacionados tanto à saúde das pessoas, quanto ao meio ambiente. Em consideração a isso, este trabalho será desenvolvido a fim de sintetizar um biodefensivo agrícola buscando a mesma eficiência, porém sem a toxicidade apresentado pelos defensivos tradicionais presentes no mercado.

### **1.2. Problemas de Pesquisa**

Qual é a eficácia de um biodefensivo produzido a partir da alicina e da piperina no controle de Antracnose no morangueiro e da “ferrugem”, doença comum em plantas, causada por fungos?

### **1.3. Hipótese**

A hipótese deste trabalho é que a alicina presente no alho, quando concentrada e misturada com a piperina existente na pimenta-do-reino, apresente boa eficiência no combate a pulgões, lagartas e fungos, tornando-se uma prática menos agressiva comparada aos produtos químicos utilizados para a eliminação dessas pragas.

### **1.4. Objetivo Geral e Objetivos Específicos**

#### **1.4.1. Objetivo Geral**

O objetivo deste trabalho é verificar a eficácia das propriedades biodefensivas da alicina, presente no alho, e da piperina, presente na pimenta-do-reino, com o intuito de substituir os pesticidas agrícolas que causam malefícios ao meio ambiente.

#### 1.4.2. Objetivos Específicos

Identificar, a partir de pesquisas, os principais métodos de extração da alicina proveniente do alho e da piperina presente na pimenta-do-reino.

Com base nas pesquisas sobre o método de extração, determinar a concentração ideal dos compostos para a ação defensiva e verificar a eficiência do produto.

## 2. DESENVOLVIMENTO

### 2.1. Fundamentação teórica

#### 2.1.1. Biodefensivos: Definição e Composição

Os biodefensivos são produtos naturais compostos por microrganismos como bactérias, fungos, vírus e nematóides (vermes microscópicos), utilizados para controlar pragas e doenças de forma natural, diferentemente dos pesticidas químicos, que não causam danos ao meio ambiente ou à saúde humana. Segundo a Masterplanti (2023), quimicamente, os biodefensivos podem conter compostos bioquímicos que induzem respostas comportamentais nos alvos, como hormônios reguladores de crescimento e enzimas. Além disso, compostos semioquímicos de origem natural, como os aleloquímicos e feromônios, exercem um papel essencial no controle biológico. Os aleloquímicos, por exemplo, são substâncias liberadas por plantas que podem afetar o desenvolvimento de outras espécies, enquanto os feromônios, especialmente o hormônio sexual de insetos, são usados como método natural para evitar infestações.

#### 2.1.2. Comparação Entre Herbicidas Tradicionais e Biodefensivos

Análises comparativas entre os herbicidas tradicionais e aqueles originários de substâncias químicas naturais, produzidos tanto por plantas como fungos, bactérias ou mesmo algas, mostram que o tempo de permanência dos produtos naturais é menor e sua toxicidade é também menor. (Embrapa, 2015). Estudos comparativos indicam que os defensivos biológicos tendem a permanecer menos tempo no solo e na água, devido à sua maior biodegradabilidade. Os bioherbicidas, por exemplo, são mais sistêmicos e se decompõem mais facilmente do que os herbicidas sintéticos, (Rizvi et al., 1980). Isso se deve ao fato de que as toxinas naturais são produzidas por processos enzimáticos que facilitam sua decomposição microbiana, (Cutler, 1988). Essa característica reduz significativamente os riscos de contaminação ambiental e de acúmulo de resíduos tóxicos, beneficiando a rotação de culturas e a saúde dos ecossistemas.

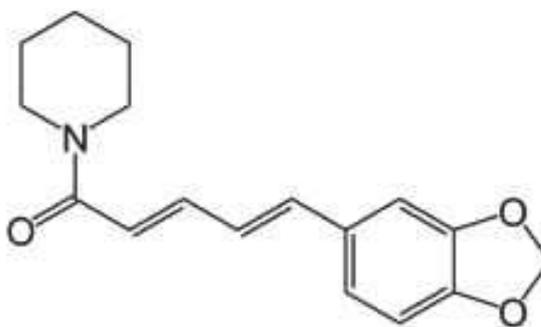
### 2.1.3. Uso de Plantas Medicinais e Fitoterápicos em Defensivos Naturais

De acordo com a ANVISA (2022), as plantas medicinais e os fitoterápicos são compostos por inúmeras substâncias com diferentes efeitos, que agem em conjunto para obtenção da ação terapêutica. A busca por esse método vem crescendo ao longo de várias gerações, pois muitas pessoas acreditam nos benefícios do tratamento natural, além disso, o uso desses medicamentos vem a ser uma terapia menos agressiva quando comparadas a aquelas de composição química industrializada devido ao seu baixo custo e fácil acesso. Isso faz com que essa alternativa seja buscada como método de cura e prevenção. Porém, é importante que sejam manipulados e/ou fabricados do modo mais apropriado para obtenção dos efeitos desejáveis e redução de possíveis efeitos tóxicos, que podem aparecer imediatamente, ou após longo tempo de uso do produto.

### 2.1.4. Propriedades da Piperina e da Alicina

A família Piperaceae contém aproximadamente 2000 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais. Muitas dessas espécies são utilizadas como alimento, condimento, cosmético, fármaco e no controle de pragas na agricultura. A presença das amidas piperazina (hexa-hidropiperazina) e piperidina (hexa-hidropiperidina) faz com que a pimenta-do-reino (*P. nigrum*) seja utilizada no combate de parasitoses intestinais por *Ascaris* e oxiúros desde a Idade Média, além de apresentar ação antimicrobiana e inseticida (DELEITO, 2008 apud PELCZAR et al., 1996). A pimenta-do-reino apresenta boa eficiência quando concentrada e misturada com outros defensivos naturais no combate aos pulgões, vaquinhas, grilos e lagartas, devido ao efeito tóxico dos alcaloides e das amidas lipofílicas insaturadas presentes em seus frutos (DELEITO, 2008 apud FONSECA, 2004).

Figura 1 – Estrutura molecular da piperina



Fonte: Dreamstime

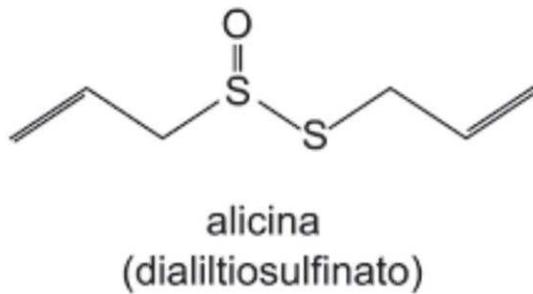
Segundo Deleito (2008) apud Scott et al. (2004), o extrato de pimenta-do-reino a 0,2% pode ser usado em áreas residenciais para controlar algumas pragas como besouros e lepidópteros, por não apresentar efeito tóxico para mamíferos e invertebrados benéficos. Apesar disso, o extrato contém um alto teor de amidas isobutílicas, compostos que atuam como neurotoxinas para insetos, provocando efeito repelente e morte por ingestão.

Assim, extratos aquosos de frutos de pimenta-do-reino também têm mostrado eficácia no controle de outras pragas. Em concentração de 20%, apresentam efeito repelente e/ou inseticida contra *Callosobruchus maculatus*, o gorgulho do feijão (Su, 1977), e na concentração de 2,0% são capazes de provocar até 6,3% de mortalidade sobre adultos de *Ceratomyxa tingomarianus*, a vaquinha-do-feijoeiro (DELEITO, 2008 apud FAZOLIN et al., 2002).

Em bioensaios com *Brevicoryne brassicae* (pulgão da couve) realizados por Salerno et al. (2002), não foi comprovado o efeito inseticida do extrato etílico diluído de sementes de pimenta-do-reino sobre esses insetos, apenas sua ação repelente, ocasionada pelo forte odor e/ou pela diminuição da palatabilidade quando aplicado sobre o substrato alimentar dos insetos.

O alho (*Allium sativum*) é uma especiaria pertencente à família Liliaceae, cujo principal composto bioativo é a alicina (SILVA, 2015). Esse composto apresenta propriedades químicas importantes na resposta contra microrganismos, atuando no retardo ou inibição da multiplicação de bactérias (CRUZ, 2015).

Figura 2 – Estrutura molecular da alicina



Fonte: Organik

Portanto, a maioria dos componentes sulfurados não está presente nas células intactas. Apenas quando as células do bulbo são rompidas, a aliina é convertida em alicina pela ação da enzima alinase (SCHULZ; HANSEL; TYLER, 2002).

Por meio de análises bioquímicas, observa-se que o alho contém substâncias derivadas do enxofre, como aliina, alicina e ajoeno, que influenciam o metabolismo de microrganismos, conferindo propriedades antimicrobianas e antifúngicas (ALMEIDA et al., 2013). Além dessas propriedades, o alho pode atuar como agente antineoplásico e apresenta efeitos anti-helmínticos, antioxidantes e imunológicos (KATZUNG, 2005; MARCHIORI, 2005).

O *Allium sativum* é utilizado principalmente como planta aromática e condimento. Contudo, seus constituintes ativos também conferem propriedades medicinais benéficas à saúde humana (SOUZA et al., 2007). Além disso, pode ser empregado na agricultura como substituto de agrotóxicos prejudiciais ao meio ambiente, atuando como antifúngico natural e inibidor de pragas em espécies vegetais de interesse agrônômico, sendo amplamente utilizado em diversos países como defensivo natural (SOUZA et al., 2007).

Sendo assim, os impactos negativos que os agrotóxicos causam nas plantações e no meio ambiente serão reduzidos se forem substituídos por biodefensivos.

### 2.1.5. A Doença “Antracnose” no Morangueiro

Uma das principais doenças do morangueiro no Brasil é a Antracnose, que é causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. A Antracnose também atinge diversas outras culturas, como: o cafeeiro, a macieira, a mangueira e videira. A doença pode afetar a base das folhas, provocando manchas escuras e pequenas que podem levá-la à queda. Na haste, o fungo provoca lesões profundas, desfolha intensa e morte dos ponteiros (REIS et al., 2011). Dentro do campo, a doença é disseminada por gotas de água, seja de chuva ou de irrigação por aspersão e a longa distância, a doença é disseminada pelas mudas. Em condições favoráveis, temperatura amena e alta umidade, pode-se observar sobre as lesões uma massa rósea ou alaranjada característica do fungo (REIS et al., 2011). Sob tais condições, ela pode acarretar prejuízos de até 100% (LOPES; ÁVILA, 2003), e por conta disso o fungo possui elevado interesse econômico. Os sintomas podem aparecer ou intensificar-se na fase de pós-colheita, o que aumenta ainda mais os prejuízos, devido ao fato de os frutos já estarem preparados para a comercialização (FERNANDES et al., 2002).

A presente pesquisa teve como objetivo desenvolver um manejo adequado da Antracnose, visando melhorar a produtividade das culturas, especialmente a do morangueiro, além de contribuir para a melhoria das condições socioeconômicas dos produtores e para a proteção do meio ambiente. A proposta busca reduzir a poluição e a deterioração ambiental causadas pelo uso excessivo e exclusivo de fungicidas no controle da doença.

### 2.1.6. A Doença “Ferrugem” em Plantas

Além da antracnose, outra doença que também afeta diferentes tipos de culturas no Brasil é a ferrugem (GALLI, 1980). Ela é causada por fungos da família *Pucciniaceae* e representa um grande problema para diversas culturas, como a cana-de-açúcar (AMORIM, 1987), o trigo (FERNANDES, 2021), e plantas frutíferas da família *Mitraceae*, como o guaraná (*Paullinia cupana*), a goiaba e a uvaia (*Eugenia uvalha*), a pitanga (*Stenocalys pitanga*) e a jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) (APARECIDO, 2001). Essas culturas estão frequentemente localizadas em regiões de clima quente e úmido, características que favorecem tanto o desenvolvimento do fungo quanto a disseminação da doença (FERNANDES, 2021; CHAVES, 2022).

A ferrugem pode causar sérios prejuízos, como redução da capacidade fotossintética das plantas devido ao aparecimento de lesões nas folhas, perda de vigor, diminuição da produtividade e qualidade dos produtos agrícolas e, em casos mais graves, morte das plantas. Esses danos resultam em impactos econômicos negativos, afetando a cadeia produtiva e a sustentabilidade dos sistemas agrícolas (FERNANDES, 2021; CHAVES, 2022).

Com isso em mente, este trabalho de conclusão de curso tem como objetivo desenvolver um manejo adequado da ferrugem, visando melhorar a produtividade das culturas afetadas. O teste foi realizado em uma plantação de eucalipto, pertencente à família *Mitraceae*, com o objetivo de avaliar práticas sustentáveis de controle. Além disso, busca-se contribuir para a melhoria das condições socioeconômicas dos produtores e para a proteção do meio ambiente. A proposta pretende reduzir a poluição e a deterioração ambiental causadas pelo uso excessivo e exclusivo de agrotóxicos, incentivando o manejo integrado de doenças, a utilização de cultivares resistentes e o monitoramento contínuo das condições ambientais e epidemiológicas

#### 2.1.7. Método de extração por Soxhlet

Por muitos, um dos métodos mais comuns para realizar separações analíticas em amostras complexas, como ambientais, farmacêuticas, de alimentos e de petróleo, baseia-se na extração dessas amostras com solventes orgânicos clorados ou hidrocarbonetos, utilizando o extrator de Soxhlet (SKOOG et al., 1998, p. 343). Este aparelho foi desenvolvido por Franz Von Soxhlet em 1879 e destacou a importância do grau de trituração da amostra para a duração e eficácia do processo. Durante o procedimento de extração, três fases principais são consideradas: a penetração do solvente no tecido; a formação de uma mistura intracelular; e a difusão do extrato na mistura externa. O processo consiste no tratamento contínuo e intermitente da amostra em um solvente puro, como éter de petróleo, éter dietílico ou n-hexano, por meio de sifonagem e posterior condensação do solvente aquecido no balão localizado na base do aparelho (BRUM et al., 2004).

Conforme Brum et al. (2004), os principais benefícios do método Soxhlet incluem: a constante renovação da amostra em contato com o solvente, a temperatura do sistema, que permanece relativamente elevada devido ao calor utilizado no processo de evaporação, a simplicidade do método, que não exige treinamento

especializado, a possibilidade de extrair um volume superior de óleo em comparação com outros métodos, sem a necessidade de filtrar a mistura após a extração, já que a amostra permanece no cartucho durante todo o processo. Trata-se de um método que permite extrações completas e contínuas sem a necessidade de substituir o solvente manualmente.

No entanto, os principais inconvenientes do método Soxhlet incluem o tempo prolongado necessário para a extração e o uso excessivo de solvente, o que acarreta custos elevados e pode ser prejudicial tanto à saúde quanto ao meio ambiente.

#### 2.1.8. Processo de Extração utilizando o método Dean-Stark

O método de extração pelo aparelho Dean Stark é amplamente utilizado em química analítica e em processos de separação em laboratórios químicos e industriais. Ele permite uma separação eficiente de líquidos imiscíveis e na extração de água ou outros líquidos de uma mistura orgânica.

O aparelho Dean-Stark foi criado em 1920 pelos químicos americanos, Ernest Woodward Dean e David Dewey Stark com o objetivo de determinar o teor de água no petróleo.

O aparelho é constituído por um tubo de vidro cilíndrico vertical, desenvolvido para possibilitar a medição volumétrica precisa de líquidos. Sua extremidade inferior é equipada com uma torneira de precisão, semelhante a uma bureta, permitindo a condução controlada do líquido coletado. Para armadilhas projetadas para medir quantidades muito pequenas, a estrutura pode ser fechada, sem a necessidade de um torneamento. Esse design facilita a coleta e separação do líquido em reações químicas, garantindo eficiência no processo e permitindo precisão do volume removido.

#### 2.1.9. Procedimentos de Isolamento de Fungos patogênicos

Para conseguir provar a eficiência de nosso produto em eliminar/controlar fungos, em destaque o *Colletotrichum gloeosporioides*, foi coletado uma amostra desse fungo para realizar o seu cultivo em um meio de cultura adequado. Nesse contexto, é necessário o conhecimento do preparo de diversos tipos de meios e suas respectivas funções, para que assim possa-se definir a metodologia mais apropriada.

Consoante a isso, o documento disponibilizado pela empresa Kasvi (2018) diz que é possível separar seus tipos da seguinte forma:

**Meio sintético:** quando a mistura é quimicamente definida, ou seja, todos seus constituintes (carboidratos, aminoácidos e sais) são conhecidos e devidamente quantificados;

**Meio complexo:** definidos pelo desconhecimento de sua constituição. A qual possui extratos moídos ou digeridos de órgãos animais (corações, fígados, cérebros), peixes, leveduras e vegetais. Dessa forma, o meio fornece os nutrientes, vitaminas e minerais necessários para o desenvolvimento microbiano;

**Meio sólido:** o qual é preparado pela adição de ágar, um polissacarídeo complexo extraído de algas marinhas vermelhas, ao meio líquido. Após o preparo, o meio é armazenado em tubos de ensaio ou placas de Petri, onde se solidifica. Por conseguinte, as bactérias e fungos crescem, na superfície.

**Meio líquido:** também conhecido como “caldo”, esse tipo de meio é desprovido de quaisquer agentes solidificadores, sendo constituído somente por água, sais e nutrientes. Ademais, seu acondicionamento é geralmente efetuado em tubos de ensaio.

**Meio enriquecido:** possuintes do acréscimo de substâncias como sangue para o desenvolver de microrganismos com exigências nutritivas de maior complexidade.

**Meio seletivo:** para formá-lo, são postos inibidores que tornam inviável o crescimento de certos microrganismos, sem inibir o cultivo do analito.

**Meio diferencial:** é usado para determinar qualitativamente a presença de certos microrganismos através da adição de substâncias que provocam reações específicas.

**Meio de enriquecimento:** montado com a adição de certos compostos que favorecem o crescimento de determinados microrganismos somente.

A partir do estudo do documento acima, optou-se por realizar o procedimento utilizando o meio de cultura sólido, por diversos motivos, como a melhor visualização do resultado da cultura do fungo, por conta desse meio facilitar a visualização dos testes de eficiência do caldo antifúngico e o custo-benefício desse meio. Em conjunto com essa escolha, também se escolheu a técnica de semeadura.

Tortora (2012), em *Microbiologia - 10ª edição*, descreve diversos tipos de técnicas de semeadura que podem ser realizadas tanto em meios sólidos, depositados em uma lateral de tubos de ensaio, quanto em placas de Petri. O autor destaca as particularidades e finalidades de cada método, indicando suas aplicações conforme os objetivos do estudo.

As placas de Petri são amplamente utilizadas devido à sua superfície ampla e plana, que facilita a visualização de colônias isoladas e a realização de análises morfológicas. Além disso, são ideais para manipulações diretas e subculturas. Em contrapartida, os tubos de ensaio são mais adequados para a conservação e o transporte de culturas, devido ao formato fechado que protege contra contaminações e à estrutura compacta que facilita o deslocamento seguro. Assim, ambos os formatos são escolhidos conforme as necessidades específicas do experimento.

No contexto desta pesquisa, em que era necessária uma visualização clara do fungo isolado, optou-se pelo uso de placas de Petri. Segundo Tortora (2012), uma das técnicas adequadas para meios sólidos em placas de Petri é o método de esgotamento por estrias, utilizado para isolar colônias puras de micro-organismos provenientes de amostras mistas. Esse processo envolve a aplicação de uma pequena quantidade da amostra na superfície do meio sólido, seguida do uso de uma alça bacteriológica esterilizada para distribuir os micro-organismos em estrias por movimentos precisos.

Além disso, a técnica de semeadura quantitativa foi descrita como útil para estimar a densidade de micro-organismos na amostra. Esse método utiliza diluições seriadas, com volumes conhecidos inoculados nas placas. Após o crescimento das colônias, a contagem original de micro-organismos é calculada com base no número de colônias em placas viáveis.

Com base nessas características, foi decidido o uso do meio de cultura sólido em placa de Petri para uma melhor visualização do fungo isolado, implementando especificamente a técnica de semeadura por esgotamento de estrias. Essa abordagem possibilitou maior precisão e eficácia na análise dos micro-organismos.

## 2.2. Metodologia

A produção do biodefensivo foi realizada na ETEC Cel. Fernando Febeliano da Costa, com o objetivo de facilitar as atividades agrícolas de pequenos produtores rurais. Por se tratar de um produto de origem natural, busca-se evitar danos ao meio ambiente e à saúde humana. Dentre os diferentes tipos de defensivos agrícolas, foi escolhida uma calda composta por alicina, proveniente do alho, e piperina, extraída da pimenta-do-reino, devido às suas propriedades fungicidas e pesticidas. Portanto, utilizou-se o método de extração por Soxhlet e Dean-Stark, e os testes foram aplicados para avaliar a eficácia do produto no controle de fungos patogênicos.

### 2.2.1. Extração da alicina

#### 2.2.1.1. Materiais e reagentes

Alho;	Filtro de café;
Álcool absoluto;	Manta de aquecimento;
Hexano;	Condensadores;
Almofariz;	Suporte universal;
Pistilo;	Garras;
Balão de fundo redondo;	Frasco de vidro com tampa;
Bécker de vidro de 250 mL;	Extrator de Soxhlet;
Algodão;	Dean-Stark.

#### 2.2.1.2. Procedimento

A princípio, a extração da alicina foi realizada utilizando o método de Soxhlet, porém, como foi utilizado etanol absoluto, sendo um solvente inadequado, não foi possível obter a alicina de maneira eficaz. O solvente não foi capaz de isolar corretamente o composto ativo do alho, o que levou à necessidade de revisar a técnica e os materiais empregados.

Em seguida, a extração da alicina foi realizada utilizando o método de Dean-Stark, amplamente conhecido por sua eficiência na separação de compostos voláteis.

Para o processo, foi separado 32,26 g de alho fresco que foram macerados para aumentar a superfície de contato e liberar os compostos ativos, como a alicina.

O material triturado foi misturado em um balão de fundo redondo contendo 250 mL de hexano, um solvente orgânico adequado para a separação do óleo essencial. O sistema foi montado com uma manta de aquecimento, o balão, o aparelho de Dean-Stark e o condensador.

Figura 3 – Extração por Dean-Stark da Alicina



Fonte: A autoria própria

A mistura foi aquecida até o ponto de ebulição, e o condensado foi coletado ao longo de 2 horas. Após o término do processo, a fase aquosa foi separada da fase orgânica, isolando 21mL de alicina. O extrato concentrado de alicina foi armazenado em frasco transparente com tampa e mantido sob refrigeração até sua utilização.

Figura 4 – Extrato da alicina



Fonte: Autoria própria

## 2.2.2. Extração da piperina

### 2.2.2.1. Material e reagentes

Pimenta-do-reino;	Manta de aquecimento;
Álcool absoluto;	Condensadores;
Almofariz;	Suporte universal;
Pistilo;	Garras;
Balão de fundo redondo;	Frasco de vidro com tampa;
Bécker de vidro de 250 mL;	Cacos de cerâmica;
Algodão;	Extrator de Soxhlet;
Filtro de Café;	Dean-Stark.

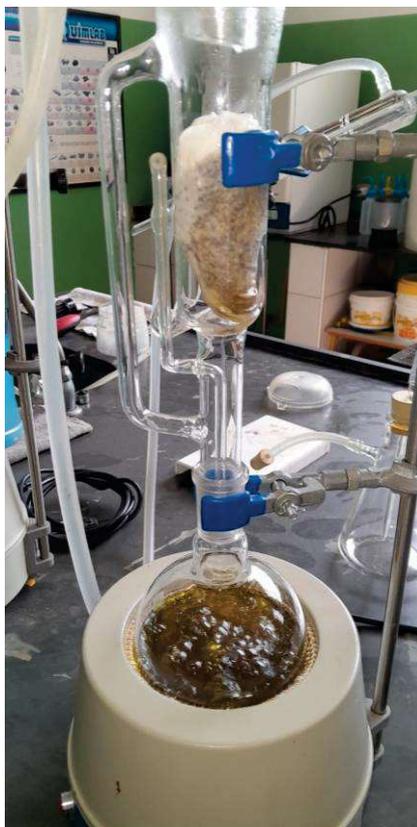
### 2.2.2.2. Procedimento

Para a extração da piperina, presente na pimenta-do-reino (*Piper nigrum*), foram utilizados dois métodos distintos: o método de Soxhlet (refluxo) e o método de Dean-Stark, com o objetivo de comparar a eficiência de ambos.

Inicialmente, 35,28 g de pimenta-do-reino moída foram submetidos ao sistema de Soxhlet, utilizando 250 mL de etanol absoluto como solvente. O processo foi

realizado por 3 horas em ciclo contínuo de refluxo, visando à extração dos compostos ativos. No entanto, não foi possível obter a separação eficaz da piperina do extrato alcoólico, pois o composto não se separou adequadamente do solvente.

Figura 5 – Extração por Soxhlet da piperina



Fonte: Autoria própria

Posteriormente, foi testado o método de Dean-Stark, também com etanol absoluto como solvente. Foram utilizados 57,45 g de pimenta-do-reino com 250 mL de solvente. O material foi aquecido e condensado por 3 horas. Assim como no procedimento anterior, a separação da piperina não foi bem-sucedida, uma vez que o composto se mostrou solúvel em etanol.

Ambos os métodos não resultaram na extração eficiente da piperina, o que levou à busca de alternativas, como a destilação simples.

Figura 6 – Destilação simples do extrato contendo piperina



Fonte: Aatoria própria

Para realizar a destilação simples, monta-se um sistema composto por um balão de fundo redondo, um condensador com circulação de água e um bécker para coletar o destilado. O líquido com o álcool e o extrato contendo a piperina é colocado no balão junto com cacos de cerâmica. Após ligar a circulação de água no condensador, aquece-se o balão gradualmente até que o líquido comece a ferver. O vapor gerado sobe, passa pelo condensador, onde é resfriado e transformado novamente em líquido, sendo coletado no recipiente. O processo é finalizado quando ocorre a obtenção de um extrato mais concentrado.

### 2.2.3. Preparação do Meio de Cultura e Isolamento do fungo

#### 2.2.3.1. Materiais e reagentes

Autoclave;	Jornal;
Estufa esterilizadora;	Fita adesiva;
Fluxo laminar;	Tesoura;
Placa de Petri;	Erlenmeyer;
Papel alumínio;	Balança;

Algodão;

Cotonetes estéreis;

Gaze;

Morango.

Nutriente Ágar;

#### 2.2.3.2. Procedimento

Para iniciar o processo de isolamento do fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, os cotonetes foram envolvidos em papel alumínio, aplicando ao menos uma camada dupla. As placas de Petri, no entanto, foram envolvidas em papel jornal, que foi preso com fita adesiva.

Após isso, os materiais foram levados para a esterilização em autoclave.

Figura 7 – Autoclave utilizada no processo



Fonte: A autoria própria

Para esse processo, foi utilizado o meio de cultura Nutriente Ágar (NA), previamente preparado em um Erlenmeyer. A preparação envolveu a dissolução de 23 g de Nutriente Ágar em 1 L de água destilada, seguida de esterilização em autoclave, com o Erlenmeyer tampado com uma boneca de algodão e papel alumínio. Após a esterilização, o meio foi resfriado para conservação. Posteriormente, o meio foi levado novamente à autoclave, junto aos demais materiais, para uma nova esterilização e liquefação, devido à solidificação anterior.

Após a autoclavagem, o Erlenmeyer contendo o meio de cultura foi transferido para o fluxo laminar, equipamento utilizado em laboratórios para manter um ambiente controlado e estéril, protegendo os materiais de trabalho e os operadores contra

contaminações externas. Antes da utilização, o fluxo laminar foi higienizado com álcool 70% e a lâmpada UV foi ativada por um período de aproximadamente 15 minutos, para esterilizar sua área interna e o conteúdo armazenado.

Passados os 15 minutos, o fluxo laminar foi ligado e iniciou-se a passagem do meio de cultura líquido NA presente dentro do Erlenmeyer para as placas de Petri, completando até aproximadamente a metade de sua altura. Em seguida, as placas foram deixadas semiabertas, para evitar formação de gotículas de água na tampa, aguardando até que o meio se solidificasse.

Com o meio de cultura preparado, foram coletadas amostras de um morango adquirido em uma feira, o qual foi armazenado em um recipiente com tampa, permitindo o desenvolvimento do fungo. Uma das amostras foi obtida por meio da transferência direta, esfregando levemente o fungo presente no morango sobre a superfície de uma placa de Petri. A outra amostra foi coletada utilizando um cotonete estéril, que foi passado delicadamente na área afetada pelo fungo e, em seguida, estriado na superfície da placa de Petri.

A placa de Petri contendo as amostras foram armazenadas na estufa incubadora para que os organismos se proliferassem. Após sete dias, a placa foi retirada da estufa para que se verificasse a proliferação do fungo.

#### 2.2.4. Preparo e Aplicação do Biodefensivo à Base de Alicina e Piperina

##### 2.2.4.1. Materiais e reagentes

Frasco borrifador;	Bico de Bunsen;
Extrato da alicina;	Papel filtro;
Extrato da piperina;	Funil técnico;
Detergente neutro;	Suporte universal;
Tripé de ferro;	Anel de ferro com mufa;
Manta de aquecimento;	Bécker 250 mL e 600 mL.

#### 2.2.4.2. Procedimento

Após a realização da extração da alicina e da obtenção do concentrado de piperina, os quais foram combinados para fazer a formulação do biodefensivo a mistura passou por uma filtração simples para remover impurezas. Simultaneamente, 12,4 g de detergente foram dissolvidos em 250 mL de água aquecida, uma vez que o detergente atua como agente surfactante, facilitando a aplicação uniforme do produto.

Após a solução atingir temperatura ambiente, a mistura de alicina e piperina foi incorporada. A solução final foi transferida para um frasco spray, a fim de facilitar a aplicação direta sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* presente nos morangueiros. O tratamento foi aplicado de maneira uniforme sobre o fungo isolado na placa de Petri.

Foi estabelecido cinco dias como o tempo de ação do biodefensivo, sendo o intervalo necessário entre as reaplicações para evitar o excesso de produto e garantir sua eficácia. Após esse período, foi realizada uma análise da resposta do fungo ao tratamento, observando-se qualquer redução ou alteração no crescimento do patógeno. Em seguida, o procedimento de pulverização foi repetido para reforçar o tratamento.

Esse processo foi replicado até que os resultados fossem satisfatórios, assegurando a eficácia do biodefensivo no controle do fungo.

## 2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.3.1. Concentração dos compostos ativos no biodefensivo

Para determinar a concentração real dos compostos, foi realizado o cálculo da massa final obtida a partir da densidade de cada composto.

**Dados:**

- Alho:  
Volume do extrato obtido: 21 mL;  
Densidade: 1,11 g/mL.

O cálculo da massa foi feito utilizando a fórmula:

$$d = \frac{m}{v} \text{ ou } m = v * d$$

Alterando os valores:

$$m = 21 * 1,11 \rightarrow m = 23,31 \text{ g de extrato de alho}$$

**Dados:**

- Pimenta-do-reino:  
Volume do extrato obtido: 45 mL;  
Densidade: 1,19 g/mL.

Alterando os valores conforme a fórmula para realizar o cálculo da massa:

$$m = 45 * 1,19 \rightarrow m = 53,55 \text{ g de extrato de pimenta-do-reino}$$

Com esse cálculo, foi possível determinar o rendimento das extrações utilizando os cálculos apresentados a seguir:

Rendimento do alho:

**Dados:**

- Alho:

Massa Teórica ( $M_{Ta}$ ) = 32,26 g

Massa Real ( $M_{Ra}$ ) = 23,31 g

Os rendimentos foram calculados utilizando a seguinte fórmula:

$$R = \frac{M_R}{M_T} * 100$$

Alterando os valores:

$$R = \frac{23,31}{32,26} * 100 \rightarrow R \cong 72,26\%$$

Assim, o rendimento do extrato de alho foi de aproximadamente 72,26%.

Rendimento da pimenta-do-reino:

**Dados:**

- Pimenta-do-reino:

Massa Teórica ( $M_{Tp}$ ) = 57,45 g

Massa Real ( $M_{Rp}$ ) = 53,55 g

Alterando os valores de acordo com a fórmula de rendimento apresentada anteriormente:

$$R = \frac{53,55}{57,45} * 100 \rightarrow R \cong 93,21\%$$

A partir disso, o rendimento do extrato de pimenta-do-reino foi de aproximadamente 93,21%.

Para determinar as massas reais dos compostos ativos extraídos e das concentrações deles, foram utilizados como parâmetros, artigos correspondentes sobre cada composto.

Para a alicina, foi utilizado como parâmetro a tabela de composição química do alho, disponibilizada pela nutricionista Tatiana Zanin (ZANIN, 2024). Segundo Zanin, a cada 100g de alho estão presentes 225 mg de alicina. A partir disso foi realizado o seguinte cálculo:

100 g de alho -----> 225 mg de alicina

23,31 g de alho -----> x mg de alicina

$$x = \frac{23,31 \cdot 225}{100} = \frac{5244,75}{100} \cong 52,45 \text{ mg de alicina}$$

Já para realizar o cálculo da piperina, utilizou-se como parâmetro os estudos de Santos (SANTOS, 2009), que definiu que a média de piperina extraída de 50g de pimenta-do-reino pelo método de Dean-Stark é de 84mg. A partir disso foi realizado o seguinte cálculo:

50 g de pimenta-do-reino -----> 84 mg de piperina

53,55 g de pimenta-do-reino -----> x mg de piperina

$$x = \frac{53,55 \cdot 84}{50} = \frac{4498,2}{50} = 89,96 \text{ mg de piperina}$$

A partir dos dados calculados a cima é possível calcular a concentração de cada composto ativo, assim como a concentração total deles no biodefensivo produzido.

A concentração da alicina foi realizada utilizando a seguinte fórmula:

$$C = \frac{m}{v}$$

C = Concentração de alicina

m = Massa real obtida de alicina

V = Volume obtido da extração de alho

Alterando os valores:

$$C = \frac{52,45}{21} \cong 2,49 \text{ mg/mL de alicina}$$

Para calcular a concentração da piperina foi utilizado a mesma fórmula da alicina, alterando os valores:

C = Concentração de piperina

m = Massa real obtida de piperina

V = Volume obtido da extração de pimenta-do-reino

$$C = \frac{89,96}{45} \cong 1,99 \text{ mg/mL de piperina}$$

Para determinar a concentração total dos compostos ativos no biodefensivo, somamos a massa real de alicina e a massa real de piperina, realizando o cálculo com base em 200 mL, que corresponde à quantidade total de calda produzida.

Conforme a fórmula de concentração, os valores foram ajustados:

$$C = \frac{89,96+52,45}{200} = 0,71205 \text{ mg/mL dos compostos ativos}$$

Para determinar a concentração teórica total dos compostos ativos no biodefensivo, foram feitos os seguintes cálculos:

Massa de alicina teórica extraída:

100 g de alho -----> 225 mg de alicina

32,26 g de alho -----> X = 72,59 mg de alicina

Massa de piperina teórica extraída:

50 g de pimenta-do-reino -----> 84 mg de piperina

53,45 g de pimenta-do-reino -----> X = 96,52 mg de piperina

Somamos a massa teórica de alicina e a massa teórica de piperina, realizando o cálculo com base em 200 mL, que corresponde à quantidade total de calda produzida.

Conforme a fórmula de concentração, os valores foram ajustados:

$$C = \frac{96,52+72,59}{200} = 0,84555 \text{ mg/mL}$$

A partir disso, para determinar se a concentração do caldo produzido foi resultado de uma boa execução do método de extração, realizamos o cálculo de Erro relativo, que se dá pela seguinte formula:

$$E_R = \frac{C_R - C_T}{C_T} * 100$$

$E_R$ = Erro Relativo

$C_R$ = Concentração Real

$C_T$ = Concentração Teórica

Alterando os valores:

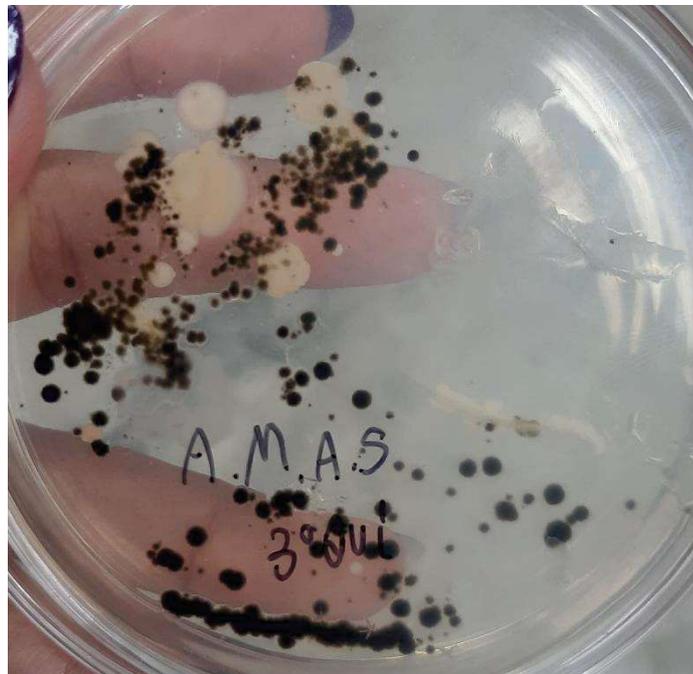
$$E_r = \frac{0,71205 - 0,84555}{0,84555} * 100 = -15,789\%$$

De acordo com os cálculos, o resultado da extração de compostos ativos do nosso grupo foi de 0,71 mg/mL. Esse resultado indica uma extração razoável dos compostos, pois o erro da nossa análise foi de -15,789%.

### 2.3.2. Análise da eficácia do biodefensivo

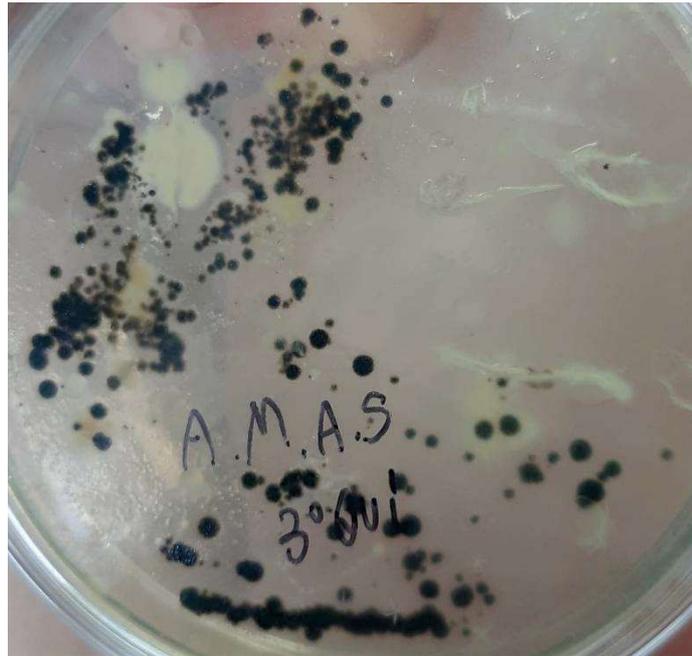
Foram realizados 2 tipos de testes para a verificação da eficácia do produto. O primeiro teste foi realizado no fungo isolado, a fim de averiguar se o produto era capaz de agir como um fungicida. O teste se deu num período de 20 dias, onde realizou-se a aplicação de 5 borrifadas do spray que armazena o produto em 4 dias diferentes, com uma pausa de 5 dias entre as aplicações para que ocorresse a completa ação do caldo. O resultado não foi favorável, visto que o fungo não foi eliminado, como comprovam as fotos abaixo.

Figura 8 – Fungo após a primeira aplicação



Fonte: Autoria própria

Figura 9 – Fungo após a última aplicação



Fonte: Autoria própria

Existem vários possíveis fatores contribuintes para a ineficácia do produto em eliminar o fungo como:

Erro no armazenamento dos compostos ativos: após a junção da alicina com a piperina, o frasco foi armazenado em refrigeração, mas quando ele foi retirado para ser adicionado à água e sabão neutro, constatou-se a presença de uma suspensão na solução dos compostos, que acredita-se ter se formado pela temperatura em que se foi armazenado.

A Baixa concentração dos compostos ativos (Alicina e Piperina): a baixa concentração desses produtos na solução utilizada nos testes pode nos ter comprometido a ação do biodefensivo.

Os solventes ou os métodos de extração usados: podem não ter sido adequados para maximizar a disponibilidade e estabilidade dos compostos extraídos.

Tempo insuficiente para avaliar os resultados: o tempo pode não ter sido suficiente para mostrar a eficácia do biodefensivo. Talvez experimentos mais longos demonstrasse alguma alteração.

O segundo teste, foi realizado em 2 plantas: um eucalipto e uma romãzeira que mantinham um contato direto com a natureza e que apresentavam marcas de infecção por bactérias e fungos e/ou marcas provenientes de ataques de pragas. Como no

teste anterior, o caldo também foi depositado com 5 borrifadas do spray e só foi reaplicado após um intervalo de 5 dias de descanso, num período de 20 dias.

As duas plantas manifestavam “ferrugem” nas folhas, doença muito comum causada por fungos do gênero *Puccinia*. Essa doença afeta plantas expostas a ambientes com alta umidade, manifestando-se através de pústulas com esporos de coloração amarelo-escuro a marrom que surgem na superfície das folhas. Essas lesões comprometem a fotossíntese e a respiração das plantas. Devido à sua aparência, que lembra a ferrugem causada pela oxidação do ferro, a doença recebeu esse nome (NAITO, Laura).

Figura 10 – Planta 1 com ferrugem após a primeira aplicação



Fonte: Autoria própria

Figura 11 – Planta 2 com ferrugem após a primeira aplicação



Fonte: Autoria própria

Para realizar o tratamento dessa doença, utilizam-se fungicidas difenoconazol registrados na Anvisa que tem ação curativa. Porém, esse fungicida é um agrotóxico classificado como muito perigoso para o ambiente e extremamente tóxico, podendo causar danos à saúde, como irritação nos olhos e na pele, e problemas no fígado.

Finalizado o período de experimento, constatou-se uma melhora da doença em ambas as plantas, o que comprovou que o biodefensivo desenvolvido tem ação curativa e, que pode substituir o difenoconazol.

Figura 12 – Planta 1 com ferrugem após a última aplicação



Fonte: Autoria própria

Apesar do resultado ter sido positivo, não é possível afirmar se o caldo composto por alicina e piperina apresenta a mesma eficácia que o agrotóxico anteriormente citado. Para que esse teste fosse realizado seria necessário utilizar métodos e pesquisas mais profundas sobre como esse caldo atua nas células do fungo. Por conta de o tempo ser curto e pela baixa verba que tínhamos, não foi possível realizar essa pesquisa.

### 2.3.3. Cálculo do custo de produção de defensivo biológico

O custo do biodefensivo foi determinado com base em uma pesquisa de mercado para os materiais utilizados e os cálculos realizados considerando a quantidade necessária de cada componente para a produção de 200 mL do produto. A seguir, detalha-se o custo unitário de cada ingrediente e o custo total:

Custo dos materiais para produzir 200 mL de biodefensivo			
Ingrediente	Preço unitário	Quantidade Utilizada	Custo proporcional
Pimenta-do-reino	1000 g – R\$ 88,40	57,45 g	R\$ 5,07
Alho	1000 g – R\$ 30,00	33,36 g	R\$ 1,01
Detergente	500 mL – R\$ 3,00	6,25 mL	R\$ 0,04
Álcool absoluto	1000 mL – R\$ 16,00	250 mL	R\$ 4,00
Hexano	1000 mL – R\$ 60,00	250 mL	R\$ 15,00

Custo total (200 mL): R\$ 25,12

O custo total para 1 litro foi calculado a partir do custo proporcional para 200 mL, conforme segue:

200mL -----> R\$ 25,12

1000mL -----> x

$$x = \frac{1000 \cdot 25,12}{200} = \text{R\$ } 125,60$$

O custo para 1 L de biodefensivo foi de R\$125,60.

Foi realizado outro cálculo do custo total para 1 litro, considerando a utilização de 500 mL de álcool absoluto como substituto do hexano. Assim, o custo total para 1 litro, com base no custo proporcional para 200 mL, foi de:

200mL -----> R\$ 14,12

1000mL -----> x

$$x = \frac{1000 \cdot 14,12}{200} = \text{R\$ } 70,60$$

Desta forma o preço desse biodefensivo diminuirá 43,79%, passando a custar R\$70,60.

### 3. CONCLUSÃO

Este trabalho teve como objetivo desenvolver um biodefensivo agrícola, utilizando compostos naturais extraídos do alho e da pimenta-do-reino, como uma alternativa sustentável aos agrotóxicos convencionais, sendo uma opção inofensiva ao meio ambiente e à saúde humana, especialmente em um cenário global que exige soluções mais responsáveis e alinhadas aos princípios da sustentabilidade. Desta forma, foi realizado um estudo sobre os principais compostos ativos desses produtos, que demonstraram o potencial fungicida da alicina e da piperina.

Apesar dos desafios enfrentados, como a necessidade de melhorar a extração dos compostos ativos e atingir concentrações ideais, os achados experimentais apontam para uma redução considerável dos danos provocados por enfermidades como a ferrugem. Isso evidencia a capacidade do biodefensivo à base de alicina e piperina como uma opção viável aos agrotóxicos convencionais, auxiliando na diminuição dos efeitos no meio ambiente e incentivando práticas de agricultura mais seguras. No entanto, uma das maiores dificuldades enfrentadas foi a falta de pesquisas mais detalhadas sobre a seleção do solvente correto, o que limitou a eficácia da extração e a concentração dos compostos ativos. Portanto, é crucial prosseguir com as pesquisas sobre os métodos de extração, focando na escolha dos solventes e na otimização das condições experimentais, como temperatura e tempo de extração, para maximizar a eficiência do produto.

É possível observar também que, nos cálculos para concentração, utilizamos um método muito impreciso, visto que o cálculo das massas reais dos extratos foi feito a partir da densidade dos componentes, não permitindo uma conclusão exata dos valores. Além disso, não se pode garantir que as densidades utilizadas sejam exatamente as que encontramos, considerando que a água, principal componente no biodefensivo, pode alterar tanto os valores quanto a concentração final.

Para uma identificação mais precisa das massas e concentrações, seria ideal a utilização de um cromatógrafo. Entretanto, enfrentamos limitações quanto a isso, já que a escola não pôde disponibilizar o equipamento devido à falta de uma coluna apropriada. Além disso, ao procurarmos outros locais, eles também não puderam realizar as análises para nós. Esses obstáculos reforçam a importância de

investimentos em infraestrutura laboratorial, que viabilizem a execução de análises mais avançadas e precisas.

Outro aspecto importante foi a concentração reduzida dos compostos ativos na formulação final, o que prejudicou a eficácia do biodefensivo. Para resolver esse problema, pesquisas futuras poderiam focar na otimização da concentração dos ingredientes ativos e na análise de variados métodos de armazenamento para evitar mudanças químicas, como a criação de suspensões indesejadas.

Por fim, o período disponível para a análise do produto pode não ter sido suficiente para apresentar resultados conclusivos. Pesquisas mais longas, experimentando diferentes condições ambientais e com uma maior variedade de espécies-alvo, podem oferecer informações mais sólidas sobre a efetividade do biodefensivo. Com essas modificações, espera-se que o produto criado possa alcançar a meta de ser uma opção sustentável e eficaz em relação aos pesticidas tradicionais.

Em relação ao meio ambiente, o avanço da agricultura sustentável é uma demanda cada vez mais urgente frente aos desafios ambientais e à necessidade de reduzir os impactos negativos causados pelo uso intensivo de agrotóxicos. O trabalho demonstra ter alcançado seu objetivo, já que os compostos utilizados, a alicina (proveniente do alho) e a piperina (proveniente da pimenta-do-reino), podem ser obtidos através de fontes naturais e conseguem agir quase da mesma forma que agrotóxicos.

Por esse motivo, o defensivo biológico produzido se apresenta como uma alternativa mais segura em comparação aos agrotóxicos amplamente utilizados no mercado. Enquanto os agrotóxicos são conhecidos por seus efeitos prejudiciais ao meio ambiente e à saúde humana, o defensivo biológico se destaca por reduzir esses impactos. Ao serem aplicados nas plantações, os agroquímicos podem contaminar o ar, a água e o solo, e uso indiscriminado dessas substâncias pode resultar na degradação do ecossistema local, causando a morte de plantas e animais e comprometendo a biodiversidade.

Além de sua eficácia no controle de pragas e doenças, os defensivos agrícolas desempenham um papel fundamental na preservação ambiental. Por serem produzidos com compostos naturais, eles são sustentáveis e significativamente

menos agressivos ao meio ambiente. Isso contribui para a redução das emissões de poluentes e para a manutenção da qualidade do solo e dos recursos hídricos. Outra vantagem é a segurança alimentar, uma vez que os bio defensivos não deixam resíduos tóxicos nos alimentos. Adicionalmente, seu uso pode promover uma agricultura mais alinhada com as exigências de mercados que priorizam a sustentabilidade, valorizando práticas agrícolas ambientalmente responsáveis.

Vale ressaltar que o valor do bio defensivo desenvolvido é resultado de um processo aprimorado, que alia qualidade, inovação e atenção às necessidades do meio ambiente. Cada etapa de seu desenvolvimento foi planejada para garantir a eficácia e a sustentabilidade ao utilizar o defensivo biológico. Além disso, o produto foi concebido para proporcionar benefícios que vão além do uso, oferecendo um custo acessível, com um valor de aproximadamente R\$70,60 o litro, que foi definido através de dados da pesquisa de mercado e os cálculos realizados em relação ao custo em conjunto.

Considerando que, os agrotóxicos utilizados na indústria têm um valor que varia entre R\$ 136,00 a R\$ 179,99 o litro e tem seus impactos negativos ao meio ambiente e à saúde humana, o bio defensivo produzido tem seus benefícios, não apenas pelo baixo custo, mas também, por apresentar uma alternativa mais segura e com os requisitos de mercados que priorizam a sustentabilidade.

Sendo assim, com seu custo-benefício, suas vantagens em relação ao meio ambiente e o método de produção economicamente viável, o defensivo biológico criado pode ser utilizado primeiramente para pequenos negócios e hipoteticamente seria propagado ao mercado e teria como propósito mitigar os impactos negativos ao meio ambiente.

Dessa forma, conclui-se que a implementação de bio defensivos agrícolas não só beneficia o meio ambiente e a saúde humana, como também contribui para o fortalecimento de práticas agrícolas mais inovadoras, alinhadas às demandas de um mercado que cada vez mais valoriza a sustentabilidade. O uso dessas tecnologias contribui para um futuro melhor, protegendo o planeta para futuras gerações.

## REFERÊNCIAS

AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; SANGUINO, A.; CARDOSO, C. O. N.; MORAES, V. A.; FERNANDES, C. R. **Metodologia de avaliação da ferrugem da cana-de-açúcar ( Puccinia melanocephala)**. Boletim Técnico Copersucar, v. no 1987, n. 39, p. 13-6, 1987. < <https://repositorio.usp.br/item/000769437> > Acesso em: 25 de nov. de 2024.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **ORIENTAÇÕES SOBRE O USO DE FITOTERÁPICOS E PLANTAS MEDICINAIS**. 2022. 29p. <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/medicamentos/publicacoes-sobre-medicamentos/orientacoes-sobre-o-uso-de-fitoterapicos-e-plantas-medicinais.pdf>> Data de acesso: 20 de mai. de 2024.

APARECIDO, C.C. **Estudos ecológicos sobre Puccinia psidii Winter – Ferrugem das Mirtáceas**. Botucatu - SP. 2001. 66p. [Dissertação (Mestrado), Uniuersidade Estadual Paulista, Botucatu]. < <http://hdl.handle.net/11449/97238> > Data de acesso: 16 de out. de 2024.

BAGUEIRA, R. **Extração e quantificação de fluidos**. 2017. - UFFLAR - <[http://www.lar.uff.br/?page\\_id=20](http://www.lar.uff.br/?page_id=20)>. Data de acesso: 20 de out. de 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Mercado de biodefensivos cresce mais de 70% no Brasil em um ano**, 2019. <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/feffmercado-de-biodefensivos-cresce-em-mais-de-50-no-brasil>> Data de acesso: 19 de mai. de 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Conceitos**: Conheça a base conceitual do Programa Nacional de Bioinsumos, 2020. <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioinsumos/o->

[programa/conceitos#:~:text=bioinsumo%20%2D%20o%20produto%2C%20o%20processo,crescimento%2C%20no%20desenvolvimento%20e%20no>](#) Data de acesso: 20 de ago. de 2024.

BRUM, A. A. S.; DE ARRUDA, L. F.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. **Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de Matérias-primas de origem vegetal e animal**. Química Nova, Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba - SP, Vol. 32, No. 4, 849-854, fev., 2009. Disponível em: [<scielo.br/j/qn/a/bVRjZz6Qz7DRHhGksbrfVt/?format=pdf&lang=pt>](#). Data de acesso: 21 de out. de 2024.

BUENO, G. N.; DIAS, G. F.; SOUZA, E. L.; OLIVEIRA, R. S. R.; SILVA, N. C. de S. **Extração e caracterização de óleos essenciais do cravo-da-índia**. 2023. 3p. Journal of Exact Sciences – JES – [<https://www.mastereditora.com.br/periodico/20230505\\_191254.pdf>](#). Data de acesso: 20 de out. 2024.

GALLI, F. **Doenças da goiabeira**. In: **Manual de Fitopatologia - Doenças das Plantas Cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres. 1980. p. 335-7. Data de acesso: 16 de out. De 2024.

CHAVES, M. S.; COSTAMILAN, L. M.; LIMA, M. I. P. M.; MACIEL, J. L. N.; SANTANA, F. M. **Ferrugem-da-folha**. 2022. [<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/trigo/producao/doencas/ferrugem-da-folha#:~:text=Ferrugem%2Dda%2Dfolha%20%C3%A9%20uma,%C3%A1rea%20fotossint%C3%A9tica%20e%20aumentando%20a>](#) Data de acesso: 16 de out. de 2024.

COSTA, H.; REIS, A. **Principais doenças do morangueiro no Brasil e seu controle**. 2011. 9p. Circular Técnica 96 – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

(EMBRAPA), Brasília – DF, 2011.  
<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/57207/1/CT-96.pdf>> Data de acesso: 20 de jun. de 2024;

DA SILVA. W. B. **Os riscos no uso indiscriminado de agrotóxicos: uma contaminação invisível. INTESA – Informativo Técnico do Semiárido.** (Pombal-PB), v. 11, n. 1, p 52 – 66, Jul - dez, 2017.  
<<https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/INTESA/article/download/8271/7831>>  
Data de acesso: 20 de ago. de 2024;

DELEITO, C. S. R. **Inseticidas alternativos no controle de moscas sinantrópicas.** 2008. 123p. Tese (Doutorado em Biologia Animal). Instituto de Biologia, Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2008.  
<<https://rima.ufrj.br/jspui/bitstream/20.500.14407/9187/3/2008 - CI%c3%a1udia Say%c3%a3o Ramirez Deleito.pdf>> Data de acesso: 19 de mai. de 2024;

DE SOUSA, L. F. **Ação da aplicação de bio defensivos microbiológicos nos aspectos hidráulicos, fisiológicos, bioquímicos e anatômicos de soja exposta à seca.** 2023. 89p. (Tese) Doutorado em Ciências Agrárias-Agronomia - Área de Concentração em Produção Vegetal Sustentável no Cerrado – Agronomia, Stricto sensu, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde, Goiás, 2023  
<[https://repositorio.ifgoiano.edu.br/bitstream/prefix/3965/1/tese\\_Leticia\\_Sousa.pdf](https://repositorio.ifgoiano.edu.br/bitstream/prefix/3965/1/tese_Leticia_Sousa.pdf)>  
Data de acesso: 19 de mai. de 2024;

ELEVAGRO. **Biodefensivos.** 2022. Porto Alegre – RS.  
<<https://elevagro.com/blog/biodefensivos/>> Data de acesso: 20 de mai. de 2024;

FERNANDES, I. **Ferrugem do trigo: principais tipos, sintomas e formas de controle**. 2021. < <https://agropos.com.br/ferrugem-do-trigo/> >. Acesso em: 23 de out de 2024.

FERNÁNDEZ, E.; JUNIOR, O. P.; DE PINHO, A. C. **Extração pelo dean-stark**. Disponível em: <<https://dicionariopetroleogas.com.br/dictionary/extracao-pelo-dean-stark-dean-stark>>. Data de acesso: 20 out. 2024.

FERREIRA, J. C.; DA SILVA, M. M.; DA ROCHA, J. L. C.; IZABEL, T. dos S. S. **Ação antimicrobiana do Allium sativum L. frente as cepas de Staphylococcus aureus e Escherichia coli: uma revisão da literatura**. 2021. 13p. Unidade de Ensino Superior de Feira de Santana – UNEF, Campus de Feira de Santana – BA, Feira de Santana, BA, Brasil, 2021. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/359164564\\_ACAO\\_ANTIMICROBIANA\\_D\\_O\\_Allium\\_sativum\\_L\\_FRENTE\\_AS\\_CEPAS\\_DE\\_Staphylococcus\\_aureus\\_E\\_Escherichia\\_coli\\_UMA\\_REVISAO\\_DE\\_LITERATURA\\_ANTIMICROBIAL\\_ACTION\\_OF\\_Allium\\_sativum\\_L\\_AGAINST\\_Staphylococcus\\_aureus\\_AND](https://www.researchgate.net/publication/359164564_ACAO_ANTIMICROBIANA_D_O_Allium_sativum_L_FRENTE_AS_CEPAS_DE_Staphylococcus_aureus_E_Escherichia_coli_UMA_REVISAO_DE_LITERATURA_ANTIMICROBIAL_ACTION_OF_Allium_sativum_L_AGAINST_Staphylococcus_aureus_AND)>. Data de acesso: 19 de mai. de 2024;

JÚNIOR, H. J. T.; MELLO, M. B. A.; JÚNIOR, N. S. M. **Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de Colletotrichum sp. causadores de antracnose em solanáceas**. 2004. 9p. Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba – SP, 2004. <<https://www.scielo.br/j/sp/a/DchfVywzm9LsjMHwkS8F6tc/?format=html#>> Data de acesso: 20 de jun. de 2024.

JÚNIOR, R. P. S. **Pesticidas, Agricultura e Recursos Hídricos**. 2006. 12p. Circular Técnica 12 – EMBRAPA, Dourados – MS, 2006. <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/38751/1/CT200612.pdf>> Data de acesso: 19 de jun. de 2024;

MAIS VIDA NOS MORROS. **Fungicida natural de alho**. 2021. Recife – PE.  
<<https://maisvidanosmorros.recife.pe.gov.br/fungicida-natural-de-alho/>> Data de acesso: 20 de mai. de 2024;

MASTERPLANTI. **Biodefensivos agrícolas, o que são?**. 2023. Curitiba – PR.  
<<https://masterplanti.com.br/biodefensivos-agricolas-o-que-sao/>> Data de acesso: 20 de ago. de 2024;

NAITO, L.; ALCANTARA, A. **Ferrugem nas plantas: o que é, como evitar e tratar a doença**. 29 jun. 2024  
<<https://revistacasaejardim.globo.com/paisagismo/noticia/2024/06/ferrugem-nas-plantas-o-que-e-como-evitar-e-tratar-a-doenca.ghtml>> Data de acesso: 12 de out. de 2024:

ONCOCENTRO. **Você sabe o que é alicina?**. 2024. Curitiba – PR.  
<<https://www.oncocentrocuritiba.com.br/blog/voce-sabe-o-que-e-alicina>> Data de acesso: 20 de mai. de 2024;

ROSSI, M. **O “alarmante” uso de agrotóxicos no Brasil atinge 70% dos alimentos**. El país, São Paulo, 30 abr. 2015.  
<[https://brasil.elpais.com/brasil/2015/04/29/politica/1430321822\\_851653.html](https://brasil.elpais.com/brasil/2015/04/29/politica/1430321822_851653.html)> Data de acesso: 20 de ago. de 2024;

SANTOS, A. J. **EXTRAÇÃO DA PIPERINA DE PIMENTA-DO-REINO**. 2009. 49° CBQ  
< <https://www.abq.org.br/cbq/2009/trabalhos/7/7-208-5853.htm> > Data de acesso: 16 de out. de 2024

SANTOS, A. S.; ALVES, S. M.; FIGUEIRÊDO, F. J. C.; NETO, O. G. da R. 2004. 6p.  
**Descrição de Sistema e de Métodos de Extração de Óleos Essenciais e Determinação de Umidade de Biomassa em Laboratório.**

<<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/402448/1/com.tec.99.pdf>>.

Data de acesso: 20 de out. 2024.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Principles of Instrumental Analysis**. 5 ed. Australia: Brooks/Cole, 1998. 960 p. Disponível em: <<https://archive.org/details/skoogprincipiosdeanaliseinstrumental/page/n343/mode/2up?q=soxhlet>>. Data de acesso em: 21 de out. de 2024.

STEFFEN, G. P. K.; STEFFEN, R. B.; ANTONIOLLI, Z. I. **Contaminação do solo e da água pelo uso de agrotóxicos. Tecno-Lógica**, v. 15, n. 1, p. 15-21, 21 jan. 2011. <<https://online.unisc.br/seer/index.php/tecnologica/article/view/2016#:~:text=Uma%20das%20mais%20importantes%20mudan%C3%A7as,prejudicam%20o%20desenvolvimento%20das%20culturas>> Data de acesso: 20 de ago. de 2024;

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10 Porto Alegre: ArtMed, 2012, 934 p. <<https://cursaueducacao.com.br/blog/metodos-de-semeadura/>> Data de acesso: 17 de out. de 2024;

VENTUROSO, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; CONUS, L. A.; PONTIM, B. C. A.; SOUZA, F. R. **Inibição do crescimento in vitro de fitopatógenos sob diferentes concentrações de extratos de plantas medicinais**. 2011. 7p. Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Agrárias, Dourados – MS, 2011. <<https://www.scielo.br/j/aib/a/BdL8qm8drR9mGktjWMsJMfh/>> Data de acesso: 21 de jun. de 2024;

VILELA, G. B.; REZENDE, H. A.; DE PAULA, E. M. N.; VIEIRA, G. H. da C.; GUIMARÃES, J. P. N. Q. **Principais aspectos das propriedades antifúngicas do óleo essencial de alho (allium sativum)**. 2022. UNIFIMES – MG. <<https://publicacoes.unifimes.edu.br/index.php/anais-semana-universitaria/article/download/1910/1620/7867>> Data de acesso: 22 de mai. de 2024;

ZAMBRANO, C. A. C.; MEDINA, M. L. B.; GONZOLEZ, S. C. S.; ISIDRO, C. A. **Evaluación a nivel de laboratorio del efecto de 7 extractos vegetales para el control de Colletotrichum sp agente causal de la antracnosis en el cultivo de tomate de árbol.** 2013. 30 – 35p. Universidad de Santander – UDES, Bucaramanga – Colombia, 2013. <<https://revistas.udes.edu.co/innovaciencia/article/download/1833/2000>> Data de acceso: 20 de jun. de 2024;

ZANIN, T. **7 beneficios do alho para a saúde (e como usar).** 2024. <<https://www.tuasaude.com/alho/>> Data de acesso: 16 de out. de 2024