

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

EXTRATOS DAS FOLHAS DE SANGRA D'ÁGUA (*CROTON  
URUCURANA* BAILLON): obtenção, caracterização fitoquímica,  
nanoencapsulamento e avaliação da atividade antifúngica

Autora: Lorena Lemes de Freitas.

Orientadora: Prof. Dra. Eloiza Nunes Viali.

Coorientadoras: Prof. Dra. Erika Crispim Resende e  
Prof. Dra. Cássia Cristina Fernandes Alves.

**RIO VERDE – GO**

**dezembro - 2020**

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

EXTRATOS DAS FOLHAS DE SANGRA D'ÁGUA (*CROTON  
URUCURANA* BAILLON): obtenção, caracterização fitoquímica,  
nanoencapsulamento e avaliação da atividade antifúngica

Autora: Lorena Lemes de Freitas.

Orientadora: Prof. Dra. Eloiza Nunes Viali.

Coorientadoras: Prof. Dra. Erika Crispim Resende e  
Prof. Dra. Cássia Cristina Fernandes Alves.

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

**RIO VERDE – GO**

**dezembro - 2020**

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP  
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

F866e Freitas, Lorena Lemes de  
Extratos das Folhas de Sangra D'Água (Croton urucurana Baillon): obtenção, caracterização fitoquímica, nanoencapsulamento e avaliação da atividade antifúngica. / Lorena Lemes de Freitas; orientadora Eloiza da Silva Nunes Viali; co-orientadora Erika Crispim Resende. -- Rio Verde, 2020.  
79 p.

Dissertação (Mestrado em Programa de Pós Graduação em Agroquímica) -- Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2020.

1. Antifúngico. 2. Biopolímeros. 3. Flavonoides. 4. CLAE-DAD. 5. Rutina. I. da Silva Nunes Viali, Eloiza, orient. II. Crispim Resende, Erika, co-orient. III. Título.

Responsável: Johnathan Pereira Alves Diniz - Bibliotecário-Documentalista CRB-1 n°2376

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

EXTRATOS DAS FOLHAS DE SANGRA D'ÁGUA (*CROTON  
URUCURANA* BAILLON): obtenção, caracterização fitoquímica,  
nanoencapsulamento e avaliação da atividade antifúngica

Autora: Lorena Lemes de Freitas

Orientadora: Prof. Dra. Eloiza Nunes Viali.

Coorientadoras: Prof. Dra. Erika Crispim Resende e

Prof. Dra. Cássia Cristina Fernandes Alves.

TITULAÇÃO: Mestre em Agroquímica

APROVADA: 21 de dezembro de 2020

---

---

---

---

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por ter proporcionado inúmeras conquistas e conduzido pelos melhores caminhos.

Aos meus pais e meu irmão, pelo apoio, amor, atenção, incentivo, paciência.

À professora Dra. Erika Crispim, por ter aceitado o convite para orientação, por ser sempre tão acolhedora, atenciosa, educada, paciente e por todos os ensinamentos.

À professora Dra. Eloiza Nunes, pelo acolhimento, paciência, por toda atenção, educação e por todos os ensinamentos.

À professora Dra. Cássia, por toda colaboração e ensinamentos.

A todos os colegas do Laboratório de Materiais e Eletroanalítica (LAME).

A CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior.

Ao Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde e ao Programa de Pós-Graduação

*Stricto sensu* em Agroquímica, pela oportunidade do Mestrado.

## **BIOGRAFIA DO AUTOR**

Lorena Lemes de Freitas, nascida em Diorama - GO no dia 28 de novembro de 1996. Filha de Vilmar Jesuíno de Freitas e Ana Luza Lemes de Freitas, residentes na Fazenda Rio dos Bois, município desta cidade. Concluiu o ensino fundamental na cidade de Diorama nas escolas Antônio Mendes e Dona Eva e o ensino médio na cidade de Iporá, no colégio Ariston Gomes da Silva. No ano de 2014 iniciou a graduação no curso superior de Licenciatura em Química pelo Instituto Federal Goiano - Campus Iporá. E, em 2018 iniciou a Pós-Graduação *Stricto sensu* em Agroquímica no Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde - GO.

## ÍNDICE GERAL

	Página
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>1.1 Espécie Vegetal - <i>Croton urucurana</i> Baill.</b> .....	2
<b>1.2 Compostos antioxidantes</b> .....	4
<b>1.3 Flavonoides</b> .....	6
<b>1.4 Nanopartículas Poliméricas</b> .....	8
<b>1.5 Fungos fitopatogênicos pós-colheita</b> .....	12
<b>2 Referências Bibliográficas</b> .....	13
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	24
<b>3.1 Geral</b> .....	24
<b>3.2 Específicos</b> .....	24
<b>4. CAPÍTULO I</b> .....	25
<b>4.2.1 Coleta do Material Vegetal</b> .....	27
<b>4.2.2 Preparo do Material Vegetal</b> .....	28
<b>4.2.3 Obtenção dos Extratos</b> .....	28
<b>4.2.5 Determinação de Compostos Fenólicos Totais, Carotenoides, Avaliação da atividade antioxidante</b> .....	29
<b>4.2.6 Quantificação de quercetina-3-O-rutinosídeo por CLAE-DAD-UV</b> .....	29

<b>4.2.7 Ensaio de Atividade Antifúngica</b> .....	30
<b>4.3.1 Preparo do Material Vegetal</b> .....	31
<b>4.3.3 Quantificação de quercetina-3-O-rutinosídeo por CLAE-DAD-UV</b> .....	33
<b>4.3.4 Ensaio de atividade antifúngica</b> .....	38
<b>4.4 CONCLUSÃO</b> .....	41
<b>5 CAPÍTULO II</b> .....	46
<b>5.1 INTRODUÇÃO</b> .....	47
<b>5.2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	48
<b>5.2.1 Preparação das nanopartículas vazias</b> .....	48
<b>5.2.2 Preparação de nanopartículas com quercetina-3-O-rutinosídeo</b> .....	50
<b>5.2.3 Determinação da eficiência de encapsulação</b> .....	50
<b>5.2.4 Determinação do tamanho hidrodinâmico e polidispersão das nanopartículas</b> .....	51
<b>5.2.5 Determinação do potencial zeta</b> .....	51
<b>5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	52
<b>5.3.1 Ensaios com as nanopartículas vazias</b> .....	52
<b>5.3.2 Ensaios com as nanopartículas contendo quercetina-3-O-rutinosídeo</b> .....	53
<b>5.3.3 Determinação da eficiência de encapsulação</b> .....	59
<b>5.4 CONCLUSÃO</b> .....	59
<b>5.5 REFERÊNCIAS</b> .....	60
<b>6 CONCLUSÃO GERAL</b> .....	63



## ÍNDICE DE TABELAS

	Página
<b>CAPÍTULO I</b> .....	25
TABELA 1. CONSTRUÇÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO DO ÁCIDO GÁLICO PARA DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS. ....	30
TABELA 2. ANÁLISES FITOQUÍMICAS DOS EXTRATOS OBTIDOS. ....	35
TABELA 3. ATRIBUIÇÕES SUGERIDAS DE IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES NO EXTRATO HIDROETANÓLICO DAS FOLHAS DE <i>CROTON URUCURANA</i> B..	38
TABELA 4. VALORES MÉDIOS ENCONTRADOS NAS INJEÇÕES PARA CONSTRUÇÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO (LINEARIDADE DO MÉTODO) E ANÁLISE ESTATÍSTICA. ....	39
TABELA 5. TESTE F DA ANOVA) MÉTODO DOS MÍNIMOS QUADRADOS PONDERADOS) CONFORME RDC N°166/2017 (BRASIL, 2017). ....	39
 <b>CAPÍTULO II</b> .....	 49
TABELA 1. DADOS DO EXPERIMENTO. ....	51
TABELA 2. FATORIAL PARA PREPARAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS VAZIAS. ....	52
TABELA 3. PLANEJAMENTO FATORIAL PARA PREPARAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS CONTENDO QUERCETINA-3-O-RUTINOSÍDEO. ....	53
TABELA 4. DADOS DA ANÁLISE DE ESPALHAMENTO DINÂMICO DE LUZ PARA AS AMOSTRAS QR3 E QR4. ....	58
TABELA 5. EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO DE QUERCETINA-3-O-RUTINOSÍDEO NAS NANOPARTÍCULAS DE ALGINATO. ....	62

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
<b>FIGURA 1.</b> SANGRA D'ÁGUA. A: FOLHAS VERDES; B: FOLHAS ALARANJADAS; C: FLORES; D: ÁRVORES; E: CAULE; F: FRUTOS. FONTE: A AUTORA. ....	3
<b>FIGURA 2.</b> FÓRMULA ESTRUTURAL QUÍMICA DA QUERCETINA-3-O-RUTINOSÍDEO. FONTE: LIN ET AL., 2012.....	4
<b>FIGURA 3.</b> ESTRUTURA QUÍMICA BÁSICA DE UM FLAVONOIDE. FONTE: A AUTORA.....	6
<b>FIGURA 4.</b> ESTRUTURA QUÍMICA DO FLAVONOIDE QUERCETINA. FONTE: A AUTORA. ....	7
<b>FIGURA 5.</b> REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS. A: NANOCÁPSULAS E B: NANOESFERAS FONTE: ADAPTADO DE RAO; GECKELER, 2011.....	9
<b>FIGURA 6.</b> DIAGRAMA DE PARETO DOS EFEITOS PADRONIZADOS. A RESPOSTA É EFICIÊNCIA DE ENCAPSULAÇÃO (%) DE QUERCETINA-3-O-RUTINOSÍDEO NAS NANOPARTÍCULAS COM EFEITOS DE VALORES ACIMA DA LINHA TRACEJADA (P=0,05) FORAM SIGNIFICATIVOS. LINEAR (ALGINATO, TWEEN E CTAB/ALGINATO) E INTERAÇÃO COM DOIS FATORES (ALGINATO*TWEEN, ALGINATO*CTAB/ALGINATO E TWEEN*CTAB/ALGINATO). TRATAMENTO DOS DADOS REALIZADO NO STATSOFT, INC. (2014). STATISTICA (DATA ANALYSIS SOFTWARE SYSTEM), VERSION 12. WWW.STATSOFT.COM. ....	60
<b>FIGURA 7.</b> GRÁFICOS DOS EXPERIMENTOS DAS SUPERFÍCIES RESPOSTAS RELACIONANDO AS VARIÁVEIS INDEPENDENTES E A ABSORBÂNCIA DAS NANOPARTÍCULAS NO TEMPO ZERO. A) ALGINATO X TWEEN; B) ALGINATO X CTAB/ALGINATO; C) TWEEN X CTAB/ALGINATO. TRATAMENTO DOS DADOS REALIZADO NO STATSOFT, INC. (2014). STATISTICA (DATA ANALYSIS SOFTWARE SYSTEM), VERSION 12. WWW. STATSOFT.COM. ....	61

## RESUMO

FREITAS, LORENA LEMES DE. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, dezembro de 2020. **Extratos das folhas de Sangra D'Água (*Croton urucurana* Baillon): obtenção, caracterização fitoquímica, nanoencapsulamento e avaliação da atividade antifúngica.** Orientadora: Prof. Dra. Eloiza Nunes Viali. Coorientadoras: Prof. Dra. Erika Crispim Resende e Prof. Dra. Cássia Cristina Fernandes Alves.

Extratos vegetais se destacam cada vez mais pelos benefícios apresentados, por exemplo atividade antioxidante. Dentre as fontes que podem ser utilizadas para extração de princípios ativos, encontra-se a planta *Croton urucurana* Baillon, uma Euphorbiaceae, popularmente conhecida por sangra d'água. Os extratos de partes desta planta apresentam diversas aplicabilidades, assim como medicina e agricultura. Mas, apresentam baixa biodisponibilidade e rápida degradabilidade, diante disso, pode-se utilizar como tecnologia alternativa as nanopartículas, elas auxiliam na elevação da biodisponibilidade, controlando a liberação do ativo e protegendo da degradação. Diante deste contexto, objetivou-se preparar extratos das folhas de *Croton urucurana* Baillon, avaliar sua atividade antioxidante, fenólicos totais e carotenoides; desenvolver método analítico para identificação e quantificação de quercetina-3-O-rutinosídeo por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD); realizar ensaio antifúngico com os extratos hidroetanólico e hexânico frente os fungos *Rhizopus stolonifer* e *Sclerotinia sclerotiorum*. Por fim, preparação de nanopartículas, acompanhar a estabilidade coloidal por espectroscopia de UV-visível e medidas de DLS e potencial zeta. Foram preparados cinco extratos/frações

em busca do método que proporcionasse melhor extração de quercetina-3-O-rutinosídeo. O método que apresentou melhor performance foi o hidroetanólico (etanol/água), perfazendo quantitativo de 34,559 mg.g<sup>-1</sup> deste composto no extrato. Para a atividade antioxidante foi observado que os extratos preparados com solventes polares favoreceram o processo de extração e apresentaram maior atividade antioxidante, destacando os extratos hidroetanólico, metanólico e etanólico. Para os fenólicos totais os extratos que se destacaram foram o metanólico, hidroetanólico e etanólico. Já para os carotenoides os solventes apolares favoreceram o processo de extração, sendo o extrato hexânico com maior concentração de carotenoides, seguido dos extratos acetato de etila, etanólico, hidroetanólico e metanólico. Para o ensaio antifúngico o extrato hidroetanólico e hexânico apresentaram mesma performance de inibição para o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* com máximo próximo de 40%, já para o fungo *Rhizopus stolonifer* o extrato hexânico demonstrou melhor performance de inibição com máximo próximo de 62%. O método analítico cromatográfico apresentou linearidade na faixa de concentração estudada. Os limites de detecção e quantificação (LD e LQ) foram 0,18 e 0,54µg/mL para quercetina-3-O-rutinosídeo. Para as nanopartículas de alginato contendo quercetina-3-O-rutinosídeo, observou-se que as amostras que permaneceram estáveis por oito meses, foram as QR3 e QR4. Resultando em nanopartículas de tamanhos 67,53 e 201,6 nm e potencial zeta de -22,9 e -25,3 mV, respectivamente. Os valores da eficiência de encapsulação de quercetina-3-O-rutinosídeo para as formulações preparadas ficaram entre 95,08 a 99,12%. Foi feito um planejamento fatorial 2<sup>3</sup> com ponto central e os efeitos dos componentes das formulações das nanopartículas foram avaliados e verificou-se que a eficiência de encapsulação de quercetina-3-O-rutinosídeo sofre influência positiva com o aumento da quantidade de alginato e CTAB/Alginato, e influência negativa com o aumento da quantidade de Tween.

**Palavras-chave:** antifúngico, biopolímeros, flavonoides, CLAE-DAD, rutina.

## ABSTRACT

FREITAS, LORENA LEMES DE. Goiano Federal Institute of Education, Science and Technology - Rio Verde Campus, December 2020. **Extracts of Sangra D'Água (*Croton urucurana* Baillon) leaves: production, phytochemical characterization, nanoencapsulation and Evaluation of antifungal activity.** Advisor: Dra. Eloiza da Silva Nunes Viali. Co-advisors: Dra. Erika Crispim Resende and Dra. Cássia Cristina Fernandes  
Alves.

Plant extracts stand out more and more due to their benefits presented, for example antioxidant activity. Among the sources that can be used to extract active ingredients, there is the *Croton urucurana* Baillon plant, an Euphorbiaceae, popularly known as bleeding water. Extracts from parts of this plant have several applications, as well as medicine and agriculture. However, they have low bioavailability and rapid degradability, so nanoparticles can be used as an alternative technology because they help to increase bioavailability, controlling the release of the asset and protecting it from degradation. Given this the objective was to prepare extracts of the *Croton urucurana* Baillon leaves, to evaluate their antioxidant activity, total phenolics and carotenoids; develop an analytical method for the identification and quantification of quercetin-3-O-rutinoside by high performance liquid chromatography (HPLC-DAD); perform an antifungal test with hydroethanolic and hexane extracts against the fungi *Rhizopus stolonifer* and *Sclerotinia sclerotiorum*. Finally, preparation of nanoparticles, monitoring colloidal stability by UV-Visible spectroscopy and DLS and zeta Potential measurements. Five extracts/fractions were prepared in search of method that would provide better extraction of quercetin-3-O-rutinoside. The method that showed the best performance was hydroethanolic

(ethanol/water), making up a quantity of 34,559 mg.g<sup>-1</sup> of this compound in the extract. For the antioxidant activity, it was observed that the extracts prepared with polar solvents favored the extraction process and showed greater antioxidant activity, highlighting the hydroethanolic, methanolic and ethanolic extracts. For total phenolics, the extracts that stood out were methanolic, hydroethanolic and ethanolic. For carotenoids, nonpolar solvents favored the extraction process, with the hexane extract having the highest carotenoids concentration, followed by ethyl acetate, ethanolic, hydroethanolic and methanolic extracts. For the antifungal assay, the hydroethanolic and hexane extract showed the same inhibition performance for the fungus *Sclerotinia sclerotiorum* with a maximum close to 40%, whereas for the fungus *Rhizopus stolonifer*, the hexane extract showed a better inhibition performance with a maximum close to 62%. The chromatographic analytical method showed linearity in the studied concentration range. The detection and quantification limits (LD and LQ) were 0.18 and 0.54 µg/mL for quercetin-3-O-rutinoside. For alginate nanoparticles containing quercetin-3-O-rutinoside, it was observed that the samples that remained stable for eight months were QR3 and QR4. Resulting in nanoparticles of sizes 67.53 and 201.6 nm and zeta Potential of -22.9 and -25.3 mV, respectively. The encapsulation efficiency values of quercetin-3-O-rutinoside for the prepared formulations were between 95.08 to 99.12%. A factorial design 2<sup>3</sup> was made with a central point and the effects of the nanoparticle formulations compounds were evaluated and it was found that the efficiency of quercetin-3-O-rutinoside encapsulation is positively influenced by the increase in the amount of alginate and CTAB/Alginate, and negatively influenced by the increasing amount of Tween.

**Keywords:** antifungal, biopolymers, flavonoids, HPLC-DAD, rutin.

## 1. INTRODUÇÃO

Produtos naturais oferecem diversos benefícios a saúde, ao longo do tempo estes benefícios se estenderam tanto para o ramo alimentício, aumentando o consumo de alimentos naturais, quanto para a agricultura (MARRELLI; STATTI; CONFORTI, 2020). Inúmeros estudos relatam pesquisas utilizando óleos essenciais, seivas e extratos vegetais de diversas plantas, abrangendo folhas, flores, frutos, caule, e outras partes das plantas (ALVES, 2018; JESUS et al., 2016; COELHO et al., 2016; REZENDE et al., 2020).

O número de pesquisas com plantas no decorrer do tempo está em crescente elevação, resultado dos variados benefícios apresentados em diversas áreas. Medicina (ENOGIERU et al., 2018), cosmética (SARAF; KAUR, 2010), agricultura (ISMAIL et al., 2016) e alimentícia, ainda com variadas aplicações. Por exemplo, Belaidi et al (2020) avaliaram o efeito fungicida do extrato vegetal de *Ephedra alata* frente ao fungo *Fusarium oxysporum*. Inferindo potencial atividade antifúngica aos seus extratos. Nishibori; Kishibuchi e Morita (2017) estudaram o efeito do extrato da polpa de soja, constatando que ele possui capacidade de reduzir a pressão arterial em pacientes hipertensos, sendo grande aliado na alimentação, contribuindo para prevenção a condições hipertensivas. Souza et al (2017) estudaram os efeitos causados por ingestão do extrato de *Croton urucurana* Baillon, durante a gravidez. Evidenciando que esta planta provoca o comprometimento no desenvolver do embrião. Alertam ainda, que seja evitado o uso durante esse período.

No entanto, a espécie *Croton urucurana* Baill., demonstra promissores resultados, em variadas áreas, utilizando diversas partes da planta. Amplamente empregada pelas atividades já apresentadas, bem como antioxidante (CORDEIRO et., 2016), antifúngica (GURGEL et al., 2005) entre outras. Entre os compostos que

contribuem para estas atividades, pode-se destacar a quercetina-3-O-rutinosídeo, um composto derivado do flavonoide quercetina. A quercetina-3-O-rutinosídeo, popularmente conhecida por rutina, já é utilizada por apresentar atividade antibacteriana (BHARATHI; BHUVANESHWARI, 2019), antioxidante (QIAN et al., 2020) entre inúmeras outras. Ao longo deste trabalho esse composto será denominado por rutina.

Nota-se que, diante dos estudos que apresentaram estas atividades, como antioxidante, antifúngica, desperta o interesse em analisar os compostos presentes nestes extratos, bem como os flavonoides. Podendo exemplificar a quercetina e seus derivados que apresentam grande potencial para estas e outras atividades. Com isso, também é importante estudar/avaliar o nanoencapsulamento destes ativos para inúmeras aplicações, aprimorando a forma de veiculação destes extratos, com potenciais na medicina, cosmética, agrícola e outras.

Diante disso, o intuito deste trabalho foi obter extratos das folhas de sangra d'água com diferentes solventes, quantificar o composto rutina pelo método CLAE-DAD, avaliar a atividade dos extratos frente aos fungos pós-colheita *Rhizopus stolonifer* e *Sclerotinia sclerotiorum* e obter nanoformulações contendo este ativo.

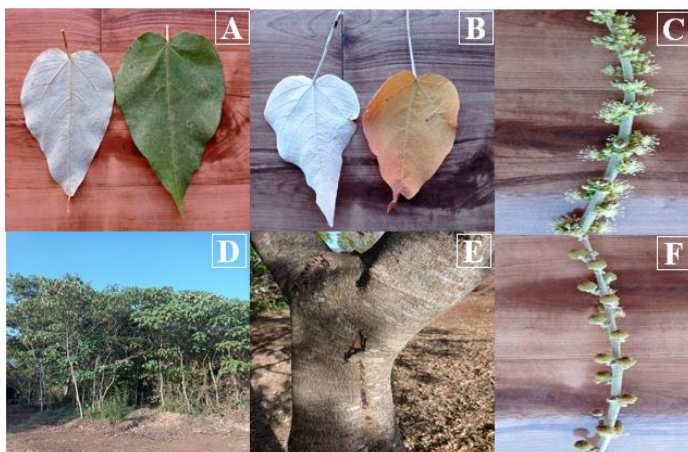
Neste sentido, este trabalho se encontra estruturado em dois capítulos, sendo: Capítulo I apresenta sobre a validação de método analítico para identificar e quantificar a rutina e avaliar o potencial antifúngico dos extratos das folhas de sangra d'água. Já o Capítulo II discorre sobre nanoencapsulamento de rutina.

## **1.1 Espécie Vegetal - *Croton urucurana* Baill.**

A família Euphorbiaceae é representada por 300 gêneros a cerca de 6000 espécies. Dentre elas se encontra o gênero *Croton*, no qual pode ser encontrada a espécie *Croton urucurana* Baill., popularmente conhecida por sangra d'água. Na medicina tradicional é utilizada no tratamento de reumatismo, dores, como cicatrizante e úlceras gástricas, entre outros (CORDEIRO et al., 2016). Sendo também utilizada pela atividade antioxidante relacionada ao conjunto de flavonoides presentes, os quais são relatados por vários trabalhos (SILVA et al., 2017; SIMIONATTO et al., 2007).

Esta espécie é amplamente utilizada para recuperação de zonas ripárias (LIMA et al., 2008; ALVARENGA et al., 2003). É uma árvore de porte médio a grande, com floração no período de janeiro a março (EMBRAPA, 2017) (Figura 1) e seus frutos podem ser coletados entre os meses de março a julho (OLIVEIRA et al., 2016).





**Figura 1.** Sangra d'água. A: folhas verdes; B: folhas alaranjadas; C: flores; D: árvores; E: caule; F: frutos. Fonte: a autora.

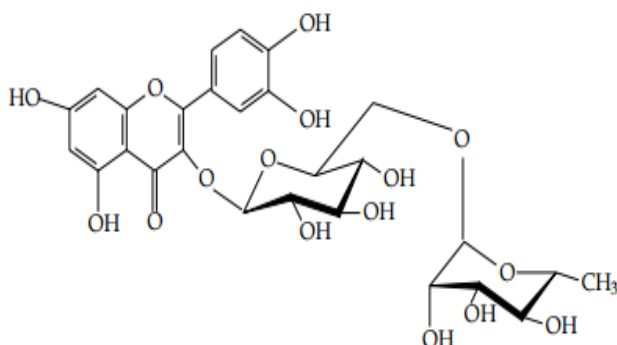
É uma espécie típica de mata ciliar, utilizada para controlar o excesso de água da chuva nos solos, evitando sua erosão, escoamento de terra, e contribui na mitigação da perda da água dos oceanos e rios entre outros. É uma planta de grande abundância em ambientes de matas ciliares e não apresenta risco de extinção (LORENZI, 2002; PEIXOTO et al., 2006). Tem ocorrências em Paraguai, Argentina, Uruguai e Brasil (RAO et al., 2007; ALVES et al., 2020). Esta espécie apresenta elevado potencial de regeneração, sendo este processo constante, pelo grande número de plantas jovens. Diante disso, áreas com alto quantitativo desta planta podem não sofrer com ações antrópicas (ALVES et al., 2008).

Diversos estudos já realizados com esta espécie e gênero constataram eficácia em variadas áreas. Por exemplo, Coelho et al (2016) concluíram que os flavonoides 5-hidroxi-7,4'-dimetoxiflavona, casticina e penduletina, extraídos de *Croton betulaster*, demonstraram atividade antitumoral de células de glioblastoma humano.

Jesus et al (2016) trabalhou com extrato vegetal etanólico da casca de sangra d'água, avaliando sua atividade antifúngica frente ao fungo *Fusarium oxysporium*. Os autores realizaram o método de doses, e como resultado notou que a partir da dose de 300 mg.L<sup>-1</sup>, o extrato inibiu 100% o crescimento micelial do fungo. Já Casão et al (2020) mostrou que o extrato etanólico da casca de *Croton urucurana*, pode também ser promissor como cicatrizante de feridas em camundongos.

Dentre os compostos presentes no extrato de sangra d'água, pode-se encontrar a rutina, um flavonoide, cuja fórmula estrutural é mostrada na Figura 2. Derivado do flavonoide quercetina, esta que é utilizada para fabricação de protetores solares, destacando a vantagem de utilização de um produto de origem vegetal (SARAF; KAUR, 2010). Sua estrutura apresenta o núcleo da quercetina com um grupo glicosilado ligado

ao oxigênio do anel pirano C formando a rutina. A rutina é um composto bastante utilizado na medicina e na alimentação, por apresentar atividades de interesse, por exemplo antioxidante (ENOGIERU et al., 2018), apresentando potenciais para desempenhar outras atividades.



**Figura 2.** Fórmula estrutural química da quercetina-3-O-rutinosídeo. Fonte: LIN et al., 2012.

A quercetina-3-O-rutinosídeo de fórmula molecular  $C_{27}H_{30}O_{16}$ , massa molar 610,52 g/mol, pó de cor amarelada solúvel em metanol, em piridina e solventes alcalinos, fracamente solúvel em acetona e insolúvel em clorofórmio, benzeno e éter. Pode ser encontrada em folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) (CHAHYADI; ELFAHMI, 2020), sangra d'água (*Croton urucurana* Baill.), vegetais, frutas, chás, vinhos (DAMIN et al., 2019).

Alves (2018) apresenta em seus estudos do extrato hidroetanólico das folhas de sangra d'água, que apresentam elevado teor de rutina. Apresentando quantitativo de 11,18 mg/g no extrato das folhas, em comparação com extratos de outras partes da planta, como galhos e periderme.

## 1.2 Compostos antioxidantes

Os compostos fenólicos são amplamente presentes na natureza, encontrados em plantas, em todas as partes. Sendo uma das classes de compostos mais comumente encontrados. Eles dispõem de elevada ação antioxidante, sendo assim bastante utilizados na medicina, cosmética e também na área alimentícia apresentando benefícios para a saúde (SILVA, 2015).

As plantas são responsáveis pela produção dos metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários estão relacionados com crescimento e metabolismo da planta. Já os metabólitos secundários são aqueles em que as plantas

possuem a capacidade de sintetizar e armazená-los, os quais contribuem na proteção contra patógenos, por exemplo (VIZZOTO; KROLOW; WEBER, 2010).

Os metabólitos secundários são os maiores contribuintes e também de maior valor atribuído, pois são eles os mais comumente utilizados na área cosmética, em medicamentos, agroquímicos e alimentos. Seus efeitos benéficos, podem estar diretamente relacionados com sua importância ecológica. Por exemplo, uma planta que apresenta defesa contra os herbívoros que tem atividade citotóxica, pode apresentar benefício a saúde e ser usado como sedativo, antidepressivo, entre outros (VIZZOTO; KROLOW; WEBER, 2010).

Os metabólitos secundários são divididos em três grupos: compostos nitrogenados, terpenos e compostos fenólicos. Os compostos nitrogenados-alcaloides, são compostos cíclicos orgânicos que apresentam em sua estrutura ao menos um átomo de nitrogênio. Estes compostos do metabolismo secundário são reconhecidos por efeito acentuado no sistema nervoso, podendo ser utilizados como alucinógenos ou veneno. Os terpenos, são a classe de produtos vegetais naturais mais variada existente. Eles são formados através do isopentenilpirofosfato, dando origem aos monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos e os tetraterpenos. Estes compostos são denominados óleos essenciais, por isso são amplamente utilizados em comércio de perfumes e sabores. Os compostos fenólicos são um grupo de compostos que se fazem presente no cotidiano de todos, seja agregando odor, coloração ou sabor. Eles podem ser sintetizados por meio de duas vias, a do ácido mevalônico e a do ácido chiquímico (VIZZOTO; KROLOW; WEBER, 2010). São divididos em subclasses, sendo elas: flavonas, flavonóis, flavanonas, flavanol, flavandiol, chalconas, antocianidina, biflavonoides, auronas, isoflavonoides, dihidrochalconas, proantocianidina e dihidroflavonol (CUI et al., 2016).

As plantas desenvolveram ainda compostos antioxidantes que foram desenvolvidos como meio de proteção e sobrevivência para elas. Os antioxidantes possuem a capacidade inibir ou retardar a oxidação de substratos oxidáveis (VIZZOTO; KROLOW; WEBER, 2010).

Morais et al (2009) avaliaram a ação antioxidante de um grupo de chás que são bastante consumidos pela população. Os extratos metanólicos dos chás que demonstraram mais expressiva capacidade antioxidante foram: chá verde (*Camelia sinensis* (não fermentado)); cravo (*Eugenia aromatica*); canela (*Cinnamomum zeylanicum*); louro (*Laurus nobilis*) e chá preto (*Camelia sinensis* (fermentado)). Os autores concluíram que

esta ação antioxidante está relacionada com a presença de certos compostos, como: compostos fenólicos, catequinas e flavonoides.

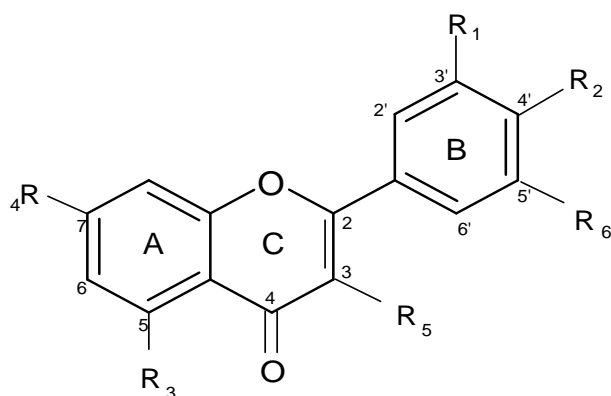
Sousa et al (2007) avaliaram a ação antioxidante dos extratos etanólicos das folhas e da casca do caule de cinco plantas medicinais, através do método de sequestro de radical livre de DPPH. As plantas que apresentaram mais elevada atividade foram: *Terminalia brasiliensis*, *Terminalia fagifolia*, *Cenostigma macrophyllum* e *Qualea grandiflora*. Já o extrato de *Copernicia prunifera* foi o que apresentou menor atividade. Os autores concluíram que há algum composto que contribui com que os extratos apresentem essa elevada atividade antioxidante, e serão necessários futuros estudos mais aprofundados para determinarem o composto ou o conjunto de compostos.

Silva et al (2017) avaliaram a atividade antioxidante através do método DPPH dos extratos aquoso, hidroalcolico e etanólico das folhas de sangra d'água. Através deste estudo puderam concluir que o extrato com maior atividade antioxidante foi o hidroalcolico e sugerem mais estudos para aprimorar a elucidação dos benefícios, antivirais, cicatrizante, anti-inflamatória e outros.

### 1.3 Flavonoides

Os flavonoides são um dos grupos de compostos fenólicos mais diversificados e importantes do reino vegetal. Podem ser encontrados em flores, folhas, frutos e raízes (GAI et al., 2020), em diferentes concentrações em diferentes partes da planta (LIU et al., 2019).

A estrutura química básica de um flavonoide (Figura 3) é constituída por 15 carbonos, que são arranjados em dois anéis aromáticos (anel A e anel B), que estão ligados por meio de um anel heterocíclico pirano (anel C) (ALSEEKH et al., 2020; SILVA et al., 2015).

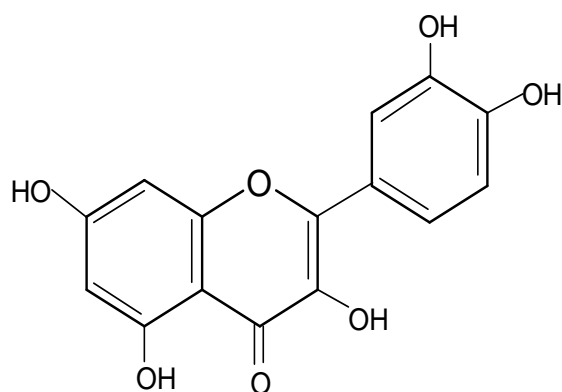


**Figura 3.** Estrutura química básica de um flavonoide. Fonte: a autora.

Os flavonoides fazem parte do grupo dos metabólitos secundários, atuando em relação a proteção a radiação UV, como antioxidantes e auxiliam na resistência das plantas a patógenos, tais como insetos e fungos (FERREIRA et al., 2016). Atuam também como atratores de polinizadores (NIJVELDT et al., 2001).

Pode-se destacar que o grupo dos polifenóis em geral, apresentam diferentes funções, entre elas, fungicida e bactericida (SIMÕES et al., 2016). Os flavonoides fazem parte desse grupo e além destes há também, as lignanas, ácidos fenólicos e estilbenzenos (RODRIGUEZ et al., 2014).

Dentre os diversos flavonoides que podem ser encontrados nas plantas, pode-se destacar a quercetina (Figura 4) e seus derivados, os quais são pertencentes à subclasse dos flavonols. Amplamente encontrados no reino vegetal, sendo utilizados em variadas áreas, desde cosmética para fabricação de protetores solares para humanos por possuir elevada atividade antioxidante, até seu uso na alimentação (CAPRA et al., 2014). São encontrados em maçã, morango, chá, tomate, cebola e uva (KANBEROGLU; YILMAZ; SOYLAK, 2019), entre outros alimentos.



**Figura 4.** Estrutura química do flavonoide quercetina. Fonte: a autora.

Entre os derivados da quercetina, destaca-se a rutina. Relatado em diversos estudos, esse composto apresenta promissores resultados em variadas áreas, como, agricultura (ISMAIL et al., 2016), medicina (ENOGIERU et al., 2019). Como exemplo, Oliveira et al (2016) realizaram ensaio antifúngico frente ao fungo *Cryptococcus neoformans*, com rutina sozinha e combinada com o fungicida anfotericina B. Com os resultados obtidos concluíram que a rutina apresenta potencial antifúngico para combinação com este fungicida.

Oliveira et al (2014) trabalharam testando diferentes doses de rutina, avaliando sua atividade sobre os níveis de colesterol total em coelhos machos e fêmeas. Eles

concluíram que nas condições trabalhadas, este composto mostrou eficácia na redução dos níveis de colesterol total em coelhos fêmeas.

Além do composto rutina puro apresentar atividades promissoras, ele pode ser encontrado também em plantas. Quando associados a outros compostos apresentam resultados benéficos, com promissores resultados. Por exemplo, extratos etanólico, hexânico e hidrometanólico das folhas de *Humulus lupulus* L., apresentaram alta atividade antioxidante e também elevado potencial terapêutico, sendo direcionado pelos autores pela presença de compostos fenólicos e flavonoides (SANTOS, 2018). A rutina também pode ser encontrada no extrato das folhas de *Ginkgo biloba* L. (BANOV et al., 2006) e em folhas, galhos e periderme de *Croton urucurana* B. (ALVES, 2018). A respeito desta última espécie, foi relatado que seu extrato hidroetanólico das folhas possuem efeito inibitório sobre crescimento de células tumorais humanas, nas linhagens NCI-H460, HeLa, HepG2 e MCF7. Os autores constataram ainda que, há maior quantidade deste composto nos extratos das folhas, se comparado aos extratos dos galhos e periderme.

Diante disso, a extração de flavonoides de plantas apresenta vantagens, pois desempenham atividades de amplo interesse. A indústria farmacêutica é um campo que oferece maior demanda por produtos de origem vegetal, mas além dela, a população em geral também (MONTANARI; BOLZANI, 2001). A abundância das plantas, a facilidade de encontrá-las, caracteriza-se como ponto importante na sua utilização. Quando utilizado folhas, galhos e caule, ressalta-se que estas partes são renováveis, quando a coleta é realizada de maneira sustentável, não prejudicando a planta.

Os flavonoides e outros compostos presentes em extratos podem ser extraídos por diferentes métodos. Seja por percolação, maceração, infusão, extração por soxhelt, decocção e outros, em distintas condições. Consistindo na capacidade de extração de diferentes solventes, sendo definido para os tipos de compostos desejados (ALVES, 2018; KHARBACH et al., 2020).

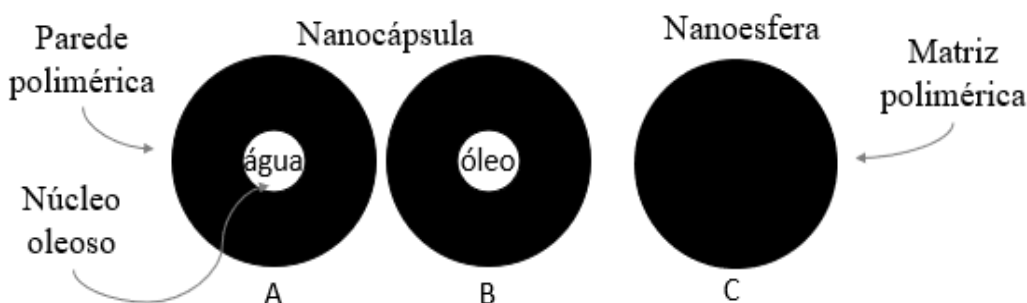
## **1.4 Nanopartículas Poliméricas**

A fim de aperfeiçoar a utilização dos extratos, melhorando a qualidade do produto final, o preparo de nanoformulações tem despertado o interesse de áreas como medicina, cosmética, alimentícia e a agroindústria. Esta classe de produtos é constituída por nanopartículas, que são carregadas com princípios ativos. Inúmeros estudos,

destacam o encapsulamento de extratos e princípios ativos, em geral, destacando a importância pela maior proteção dos compostos. Entre as vantagens, há a redução da degradação, decomposição e aumento do tempo disponível no mercado (KUMARI; YADAV; YADAV, 2010; RIVAS et al., 2017).

Nanoformulações consistem no encapsulamento de princípios ativos por meio de técnicas que envolvem a nanotecnologia. Consistindo na transformação de substâncias que se tornam carreadores, com diâmetro variando de 50 a 500 nm (MITTAL, 2011, p.16). Podendo ser na forma de microesferas, micelas poliméricas e nanopartículas poliméricas (KUMARI; YADAV; YADAV, 2010; RIVAS et al., 2017).

Nanopartículas poliméricas são classificadas de duas formas, nanoesferas e nanocápsulas, diferindo em relação à organização estrutural e composição. Nanocápsulas, são constituídas por um invólucro polimérico envolvendo o núcleo líquido, podendo conter água ou óleo. Já as nanoesferas são estruturas constituídas por uma matriz polimérica (VALENTE et al., 2012) (Figura 5).



**Figura 5.** Representação esquemática de nanopartículas poliméricas. A: nanocápsulas e B: nanoesferas Fonte: Adaptado de Rao; Geckeler, 2011.

Por sua vez, as nanopartículas poliméricas apresentam vantagens como, capacidade de incorporar substâncias tanto hidrofóbicas, quanto hidrofílicas, capacidade de transporte e estabilidade alta. Podendo ser aplicadas a medicina (TZENG et al., 2016), cosmética (DRAELOS, 2011) e agricultura (SAMPATHKUMAR; TAN; LOO, 2020). Administradas por diferentes vias, tais como nasal, oral (COSTA et al., 2021), ocular (MEZA-RIOS et al., 2020) e intravenosa/intramuscular (RIVAS et al., 2017). Na agricultura essas nanopartículas podem ser administradas por dispersão e pulverização por exemplo, de fertilizantes, herbicidas e pesticidas (BONATTO; SILVA, 2014).

Uma das maneiras que podem ser formadas as nanopartículas poliméricas é através do gotejamento sobre a solução de cálcio, o qual desempenha o papel de reticulante, uma solução contendo o polímero, o ativo e o surfactante. No momento do gotejamento acontece a formação das nanopartículas (RAO; GECKELER, 2011). Estas

nanopartículas poliméricas podem ser preparadas a partir de polimerização de monômeros ou por polímeros pré-formados. Através dos métodos de salting-out, evaporação de solvente, nanoprecipitação, tecnologia do fluido supercrítico e diálise (RAO; GECKELER, 2011).

A produção destas nanopartículas poliméricas é possível ser controlada mais facilmente com a utilização de polímeros pré-formados (SOUTO; SEVERINO; SANTANA, 2012), apresentando a longo prazo elevada estabilidade física (TADROS et al., 2004). Podem ser compostas por biopolímeros ou polímeros sintéticos. Biopolímeros são polímeros produzidos por organismos vivos e apresentam vantagens de biocompatibilidade, biodegradabilidade, por exemplo, polilactato, polímeros de amido, alginato entre outros. Os polímeros sintéticos são provindos de fontes não renováveis, como o petróleo, através de reações chamadas de polimerização, apresentam estabilidade mecânica e térmica, como exemplos, poliestireno (PS), polietileno (PE), poli (cloreto de vinila) (PVC) (PASSOS; GLASIUS; BILLER, 2020); LIMA; SOUZA, 2011).

O polissacarídeo alginato de sódio provém da metabolização do ácido algínico, e está presente em paredes celulares de algas marinhas marrons (SELLIMI et al., 2015). É um polímero natural biodegradável, que apresenta biocompatibilidade e disponibilidade alta, e não tóxico sendo desta forma utilizado em diversas áreas (HUIQIONG et al., 2020).

Quando o alginato entra em contato com cátions divalentes, por exemplo  $\text{Ca}^{2+}$ , ocorre a gelificação ionotrópica. Este processo leva a junção intercadeias gerando as nanopartículas, permitindo a encapsulação de ativos na matriz polimérica por meio de interações de van der Waals e eletrostáticas. Esta junção de cadeias faz com que o alginato deixe de ser solúvel em água, permitindo o nanoencapsulamento do ativo formando a nanopartícula (SILVA et al., 2010; SARMENTO et al., 2006; CHAVANPATIL et al., 2007).

Um dos fatores para a escolha do material que compõe as nanopartículas, é que sejam degradados com facilidade e produzam metabólitos que não sejam tóxicos, por isso, a procura para se obter formulações partindo de polímeros naturais biodegradáveis, como por exemplo, alginato e quitosana (SILVA et al., 2010). Nestes casos, busca-se a utilização por biopolímeros. Mas, não somente a utilização de biopolímeros, mas de polímeros que sejam provindos de fontes renováveis (BRIGODE et al., 2020).

A motivação para realizar o processo de nanoencapsulamento provém das vantagens apresentadas por esse sistema, assim como apresentado anteriormente. Melhorando a biodegradabilidade, protegendo o ativo da degradação e permitindo que a



nanopartícula com o ativo vá diretamente no lugar pretendido, no caso medicinal (BAI et al., 2020). Já voltado para a área agrícola, ressalta-se as vantagens de auxiliar no desenvolvimento, crescimento e produtividade das plantas (RASTOGI et al., 2019).

Nanopartículas poliméricas podem ser preparadas com ativos de plantas do cerrado, que já são utilizadas na agricultura no controle de pragas, detecção de vírus em plantas (BONATTO; SILVA, 2014), na medicina (INDORIA; SINGH; HSIEH, 2020), na cosmética em filtros solares e produtos para a pele (SARAF; KAUR, 2010), entre outras aplicações. Como existem ativos que são termicamente sensíveis, apresentam rápida degradação, as nanopartículas poliméricas vêm auxiliar nesta questão, aprimorando suas aplicações, sendo ecologicamente corretas.

Silva et al (2014) relataram encapsulamento de subprodutos de acerola, goiaba e maracujá utilizando nanopartículas de poli (DL-lactídeo-co-glicolídeo) (PLGA), um biopolímero. Testaram a atividade antimicrobiana contra as bactérias *Escherichia coli* K12 e *Listeria monocytogenes* Scott A. E, os subprodutos encapsulados apresentaram maior atividade antimicrobiana em relação aos subprodutos não encapsulados a menor concentração estudada.

Kirik e Kizilbey (2019) propuseram encapsular o flavonol rutina por sua baixa biodisponibilidade e solubilidade. Sintetizaram nanopartículas de PLGA contendo rutina, por diferentes métodos a fim de melhorar sua biodisponibilidade. Aluani et al., (2017) desenvolveram nanopartículas de quitosana/alginato carregadas com o flavonoide quercetina. Através dos ensaios concluíram que este sistema se apresenta promissor para transportar quercetina contra o estresse oxidativo relacionado a lesões.

Os trabalhos que relatam sobre nanopartículas de alginato, visam diminuir a solubilidade desse polímero, melhorar a compatibilidade com células humanas (JIANG et al., 2018), capacidade de separar vapor de água, serem biocompatíveis (SHIRKE et al., 2020), encapsulam os flavonoides quercetina e narigerina para tratamento de diabetes (MUKHOPADHYAY et al., 2017; MAITY et al., 2017). Observando maiores aplicações voltadas para área da saúde.

A encapsulação em nanopartículas poliméricas pode ser realizada com vasta gama de princípios ativos, dentre eles está a classe dos flavonoides, como citado anteriormente, sendo extraídos de produtos de origem vegetal (MANI; NATESAN, 2018). Encapsular esta classe de compostos pode proporcionar promissores resultados, diante dos estudos já apresentado. Não somente encapsular flavonoides de maneira isolada, mas também quando combinados com outros compostos dessa classe. Este

produto encapsulado final, pode contribuir tanto com desempenho de atividades nas áreas citadas anteriormente, quanto para melhorar a forma de veiculação deste composto (LIU et al., 2020).

Diante dos relatos apresentados, observa-se na literatura que há oportunidade de estudar/avaliar o encapsulamento de flavonoides, de rutina em matriz polimérica, com alginato. Proporcionando potencial para o encapsulamento de ativos extraídos de plantas em matrizes poliméricas.

## 1.5 Fungos fitopatogênicos pós-colheita

Os fungos podem contribuir tanto positivamente quanto negativamente com os ecossistemas e agroecossistemas, tais como animais, plantas e alimentos (FONES; FISHER; GURR, 2017). Correntemente os fungos são a principal causa de doenças nas lavouras. Por exemplo, o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* causa doença no cultivo de feijão (GOMES et al., 2011), o fungo *Rhizopus stolonifer* causa doença pós-colheita em framboesas, afetando armazenamento e venda (ZHANG et al., 2020). Eles são fortes responsáveis por grandes perdas na economia e acarretam malefícios pré e pós-colheita (NABI et al., 2017).

Diante das dificuldades encontradas pelos produtores e comerciantes, a principal está no armazenamento de seus produtos. Necessitando ser conduzido de maneira correta, caso contrário pode ocasionar danos e perdas, pela proliferação de fungos. A podridão causada para determinadas culturas está associada aos seguintes fungos, *Aspergillus flavus*, *Penicillium* spp presentes em culturas de arroz (SCHEIDT et al., 2020), *Sclerotinia sclerotiorum* em feijão (DILDEY et al., 2014), *Rhizopus stolonifer* causador da podridão do tubérculo do inhame após a colheita (SAMEZA et al., 2016), dentre outros.

O fungo fitopatogênico *Rhizopus stolonifer* é o agente causador da podridão mole em culturas como inhame (SAMEZA et al., 2016), framboesa (ZHANG et al., 2020), também morango (SILVA et al., 2020). Comumente observada em pós-colheita no armazenamento e durante o transporte, e pouco encontrada no campo (OLIVEIRA; SANOS-FILHO, 2007). Já o fungo fitopatogênico *Sclerotinia sclerotiorum* causador da doença conhecida por mofo branco, afeta culturas como tomate, feijão, soja (MBEDZI et al., 2019) e quiabo (PROVA et al., 2017). Podendo ser afetado todos os órgãos da planta, desde as raízes, sendo cobertas pelo micélio de cor branca, até frutos e folhas, tanto pré, quanto pós-colheita. Por este fungo é produzido os escleródios, estruturas resistentes e

reprodutivas (DILDEY et al., 2014). O Brasil está entre os maiores produtores de soja (MATEI et al., 2017), e estima-se que este fungo está presente em mais de seis milhões de hectares dessa cultura, causando redução em sua produtividade (JULIATTI et al., 2013).

Devido os efeitos causados pelos fungos na produção e economia como citado anteriormente, surge a necessidade de buscar alternativas que contribuem para o controle destes fitopatógenos (ABREU et al., 2008). Em campo como forma de controle, utiliza-se de fungicidas que são direcionados para cada cultura juntamente, com medidas preventivas no plantio, contribuindo para não proliferação dos fungos, assim como, espaçamento entre as plantas, adubação adequada, poda e outras medidas (GARRIDO; SÔNEGO, 2003).

A aplicação dos fungicidas comerciais apresentam vantagens como, fixação na planta logo após aplicação, tempo de proteção. Assim como desvantagens, resistência das plantas ao uso contínuo do fungicida e altos custos (TEDFORD et al., 2017; GU et al., 2019). A aplicação dos fungicidas pode acarretar danos ao meio ambiente e à saúde. Por exemplo no caso de frutas, pelo uso intenso para prevenção de fungos, o fungicida pode penetrar nos tecidos das frutas se fazendo presente na polpa e conseqüentemente no suco. Podendo causar desde pequenas alergias até câncer (LOZOWICKA et al., 2016).

Diante disso, surge as tecnologias alternativas as já existentes que contribuem com o controle ou inibição dos fungos, que podem ser através de extratos vegetais ou óleos essenciais que apresentam fitoquímicos bioativos capazes de fornecer proteção contra fungos. Estes produtos alternativos são formas que contribuem de maneira positiva, não causando danos igual os fungicidas sintéticos (BAÑOS; MOLINA; NECHA, 2014). Além da aplicação dos extratos vegetais brutos e óleos essenciais (OJAGHIAN; DAVOUDI, 2019), é possível aplicação em nanoformulações, sendo ecologicamente corretos e aprimorando a eficiência desses produtos (THIPE et al., 2020).

## 2 Referências Bibliográficas

ABREU, F.M.; LOURENÇO, S.A.; BASSETTO, E.; GONÇALVES, F.P.; MARTINS, M.C.; AMORIM, L. Effect of sanitizing products on the postharvest control of brown rot (*Monilinia fructicola*) and soft rot (*Rhizopus stolonifer*) in peaches. **Summa Phytopathologica**, v.34, n.1, 2008.

ALUANI, D.; TZANKOVA, V.; KONDEVA-BURDINA, M.; YORDANOV, Y.; NIKOLOVA, E.; ODZHAKOV, F.; APOSTOLOV, A.; MARKOVA, T.; YONCHEVA,

K. Evaluation of biocompatibility and antioxidant efficiency of chitosan-alginate nanoparticles loaded with quercetin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.103, p.771-782, 2017.

ALVARENGA, A.A.; CASTRO, E.M.; JUNIOR, E.C.L.; MAGALHÃES, M.M. Effects of different light levels on the initial growth and photosynthesis of *Croton urucurana* Baill. In southeastern Brazil. **Revista Árvore**, v.27, n.1, p.53-57. 2003.

ALVES, J.J.L, **Sangra D'Água (*Croton urucurana* Baill.):** cinética de secagem; separação, identificação, quantificação de compostos fenólicos e bioatividades em função da temperatura de secagem. 2018. 12p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias), Instituto Federal Goiano, Rio Verde.

ALVES, J.J.L.; DIAS, M.I.; BARREIRA, J.C.M.; BARROS, L.; RESENDE, O.; AGUIAR, A.C.R.; FERREIRA, I.C.F.R. Phenolic Profile of *Croton urucurana* Baill. Leaves, Stems and Bark: Pairwise Influence of Drying Temperature and Extraction Solvent. **Molecules**, v. 25, p.2-12, 2020.

ALVES, E.O.; MOTA, J.H.; SOARES, T.S.; VIEIRA, M.C. Crescimento e distribuição espacial de *Croton urucurana* BAILL. em Dourados-MS. **Revista Caatinga**, v.21, n.1, p.83-88, 2008.

ALSEEKH, S.; SOUZA, L.P.; BENINA, M.; FERNIE, A.R. The style and substance of plant flavonoid decoration; towards defining both structure and function. **Phytochemistry**, v.174, 2020.

BAI, X.; WANG, Y.; SONG, Z.; FENG, Y.; CHEN, Y.; ZHANG, D.; FENG, L. The basic properties of gold nanoparticles and their applications in tumor diagnosis and treatment. **International Journal of Molecular Sciences**, v.21, 2020.

BANOV, D.; BABY, A.R.; DEL BOSCO, L.M.; KANEKO, T.M.; VELASCO, M.V.R. Caracterização do extrato seco de *Ginkgo biloba* L. em formulações de uso tópico. **Acta Farmaceutica bonaerense**, v.25, n.2, p.219-224, 2006.

BELAIDI, H.; TOUMI-BENALI, F.; BENZOHRRA, I.E.; BOUMAAZA, B. Antifungal activity of plant extract of *Ephedra alata* sub.sp. *alenda* (Stapf) Trab., on mycelial growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Albedinis*, the causal agente of Bayoud disease on date palm (*Phoenix dactylifera* L.). **South Asian Journal of xperimental Biology**, v.10, p.192-197, 2020.

BAÑOS, S.B.; MOLINA, E.B.; NECHA, L.L.B. *Rhizopus stolonifer* (Soft Rot). **Postharvest Decay**, p.1-44, 2014.

BRIGODE, C.; HOBBI, P.; JAFARI, H.; VERWILGHEN, F.; BAETEN, E.; SHAVANDI, A. Isolation and physicochemical properties of chitin polymer from insect farm side stream as a new source of renewable biopolymer. **Journal of Cleaner Production**, v.275, 2020.

BLANCO, E.; HSIAO, A.; MANN, A.P.; LANDRY, M.G.; BERNSTAM, F.M.; FERRARI, M. Nanomedicine in cancer therapy: innovative trends and prospects. **Cancer Science**, v.102, n.7, p.1247-1252, 2011.

BHARATHI, D.; BHUVANESHWARI, V. Synthesis of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) using pure bioflavonoid rutin and their biomedical applications: antibacterial, antioxidant and cytotoxic activities. **Research on Chemical Intermediates**, v.45, p.2065-2078, 2019.

BONATTO, C.C.; SILVA, L.P. Higher temperatures speed up the growth and control the size and optoelectrical properties of silver nanoparticles greenly synthesized by cashew nutshells. **Industrial Crops and Products**, v.58, p.46-54, 2014.

CASÃO, T.D.R.L.; PINHEIRO, C.G.; SARANDY, M.M.; ZANATTA, A.C.; VILEGAS, W.; NOVAES, R.D.; GONÇALVES, R.V.; LEITE, J.P.V. *Croton urucurana* Baillon stem bark ointment accelerates the closure of cutaneous wounds-in knockout IL-10 mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v.261, 2020.

CAPRA, R.S.; GRATÃO, A.S.; FREITAS, G.B.; LEITE, M.N. Preparados homeopáticos e ambiente de cultivo na produção e rendimento de quercetina e carqueja [*Baccharis trimera* (Less) DC.]. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.16, n.3, p.566-573, 2014.

CARVALHO, S.S.; VENDRAMIM, J.D.; SÁ, I.C.G.; SILVA, M.F.G.F.; RIBEIRO, L.P.; FORIM, M.R. Efeito inseticida sistêmico de nanoformulações à base de nim sobre *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) biótipo B em tomateiro. **Fitossanidade**, v.74, n.3, p.298-306, 2015.

CORDEIRO, K.W.; FELIPE, J.L.; MALANGE, K.F.; PRADO, P.R.; FIGUEIREDO, P.O.; GARCEZ, F.R.; FREITAS, K.C.; GARCEZ, W.S.; KADRI, M.C.T. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Croton urucurana* Baillon bark. **Journal of Ethnopharmacology**, v.183, p.128-135, 2016.

COSTA, J.R.; XAVIER, M.; AMADO, I.R.; GONÇALVES, C.; CASTRO, P.M.; TONON, R.V.; CABRAL, L.M.C.; PASTRANA, L.; PINTADO, M.E. Polymeric nanoparticles as oral delivery systems for a grape pomace extract towards the improvement of biological activities. **Materials Science and Engineering: C**, v.119, 2021.

COELHO, P.L.C.; FREITAS, S.R.V.; PITANGA, B.P.S.; SILVA, V.D.A.; OLIVEIRA, M.N.; GRANGEIRO, M.S.; SOUZA, C.S.; EL-BACHÁ, R.S.; COSTA, M.F.D.; BARBOSA, P.R.; NASCIMENTO, I.L.O.; COSTA, S.L. Flavonoids from the Brazilian plant *Croton betulaster* inhibit the growth of human glioblastoma cells and induce apoptosis. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.26, p.34-43, 2016.

CUI, L.; LIU, X.; TIAN, Y.; XIE, C.; LI, Q.; CUI, H.; SUN, C. Flavonoids, Flavonoid Subclasses, and Esophageal Cancer Risk: A Meta-Analysis of Epidemiologic Studies. **Nutrients**, v.8, p.1-15, 2016.

CHAVANPATIL, M.D.; KHDAIR, A.; PATIL, Y.; HANDA, H.; MAO, G.; PANYAM, J. Polymer-Surfactant nanoparticles for sustained release of water-soluble drugs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.96, n.12, p.3379-3389, 2007.

CHAHYADI, A.; ELFAHMI. The influence of extraction methods on rutin yield of cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz). **Saudi Pharmaceutical Journal**, 2020.

DAMIN, F.; MEINHART, A.; CALDEIRÃO, L.; MILTON-FILHO.; SILVA, L.; CONSTANT, L.; TEIXEIRA-FILHO, J.; WAGNER, R.; GODOY, H. Determination of rutin in fruits and vegetables in natura. **Journal of Food and Nutrition Research**, v.58, n.4, p.328-338, 2019

DAUDT, R.M.; EMANUELLI, J.; GUERREIRO, I.C.K.; POHLMANN, A.R.; GUTERRES, S.S. A nanotecnologia como estratégia para o desenvolvimento de cosméticos. **Ciência e Cultura**, v.65, n.3, p.28-31, 2013.

DILDEY, O.D.F.; BARBIAN, J.M.; GONÇALVES, E.D.V.; BROETTO, L.; ETHUR, L.Z.; KUHN, O.J.; BONETT, L.P. Inibição do crescimento *in vitro* de *Sclerotinia sclerotiorum*, causador de mofo branco, por isolados de *Trichoderma* spp. **Brazilian Journal of Biosciences**, v.12, n.3, p.132-136, 2014.

DRAELOS, Z.D. Reinvigorating cosmetic dermatology with the nanoparticle Revolution. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v.10, p.251-252, 2011.

ENOGIERU, A.B.; HAYLETT, W.; HISS, BARDIEN, S.; EKPO, O.E. Rutin as a Potential Antioxidant: Implications for Neurodegenerative Disorders. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p.1-17, 2018.

ENOGIERU, A.B.; HAYLETT, W.L.; MILLER, H.C.; WESTHUIZEN, F.H.V.D.; HISS, D.C.; EKPO, O.E. Attenuation of Endoplasmic Reticulum Stress, Impaired Calcium Homeostasis, and Altered Bioenergetic Functions in MPP<sup>+</sup>-Exposed SH-SY5Y Cells Pretreated with Rutin. **Neurotoxicity Research**, v.36, p.764-776, 2019.

GARRIDO, L.R.; SÔNEGO, O.R. Uvas Viníferas para Processamento em Regiões de Clima Temperado. **Embrapa**, v.4, 2003.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2017. Disponível em:< [https://www.embrapa.br/documents/1355054/26025431/SITE+ARVORES\\_FICHA\\_21\\_Croton+urucurana.pdf/9e8719de-3ab1-658e-5a3c-39fa68f007fb](https://www.embrapa.br/documents/1355054/26025431/SITE+ARVORES_FICHA_21_Croton+urucurana.pdf/9e8719de-3ab1-658e-5a3c-39fa68f007fb) >. Acessado em: 24 jul 2019.

FERREIRA, T.S.; HELDWEIN, A.B.; SANTOS, C.O.; SOMAVILLA, J.C.; SAUTTER, C.K. Substâncias fenólicas, flavonoides e capacidade antioxidante em erva-de-são-paulo sob diferentes coberturas do solo e sombreamentos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.18, n.2, p.588-596, 2016.

FONES, H.N.; FISHER, M.C.; GURR, S.J. Emerging Fungal Threats to Plants and Animals Challenge Agriculture and Ecosystem Resilience. **Microbiology Spectrum Journal**, v.5, 2017.

GAI, Q.Y.; JIAO, J.; WANG, X.; LIU, J.; FU, Y.J.; LU, Y.; WANG, Z.Y.; XU, X.J. Simultaneous determination of toxoids and flavonoids in twigs and leaves of three *Taxus* species by UHPLC-MS/MS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.189, 2020.

GOMES, E.V.; NASCIMENTO, L.B.; FREITAS, M.A.; NASSER, L.C.B.; PETROFEZA, S. Microsatellite Markers Reveal genetic Variation within *Sclerotinia sclerotiorum* Populations in Irrigated Dry Bean Crops in Brazil. **Journal of Phytopathology**, v.159, p.94-99, 2011.

GURGEL, L.A.; SIDRIM, J.J.C.; MARTINS, D.T.; CECHINEL FILHO, V.; RAO, V.S. In vitro antifungal activity of dragon's blood from *Croton urucurana* against dermatophytes. **Journal of Ethnopharmacology**, v.97, p.409-412, 2005.

GU, K.X.; SONG, X.S.; XIAO, X.M.; DUAN, X.X.; WANG, J.X.; DUAN, Y.B.; HOU, Y.P.; ZHOU, M.G. A  $\beta_2$ -tubulin dsRNA derived from *Fusarium asiaticum* confers plant resistance to multiple phytopathogens and reduces fungicide resistance. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.153, p.36-46, 2019.

HUIQIONG, Y.; XIUQIONG, C.; CHAOLING, B.; JILING, Y.; MENGYUAN, L.; CHAORAN, K.; WEI, Z.; QIANG, L. Synthesis and assessment of CTAB and NPE modified organo-montmorillonite for the fabrication of organo-montmorillonite/alginate based hydrophobic pharmaceutical controlled-release formulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.191, 2020.

INDORIA, S.; SINGH, V.; HSIEH, M. Recent advances in theranostic polymeric nanoparticles for cancer treatment: A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v.582, 2020.

ISMAIL, H.; MAKSIMOVIC, J.D.; MAKSIMOVIC, V.; SHABALA, L.; ZIVANOVIC, B.D.; TIAN, Y.; JACOBSEN, S.E.; SHABALA, S. Rutin, a flavonoid with antioxidant activity, improves plant salinity tolerance by regulating K<sup>+</sup> retention and Na<sup>+</sup> exclusion from leaf mesophyll in quinoa and broad beans. **Functional Plant Biology**, v.43, p.75-86, 2016.

JESUS, J.M.I.; ROSA, E.V.; PESSOA, F.O.A.; SILVA, F.G. Eficácia *in vitro* do extrato etanólico de Sangra d'água sobre o fungo *Fusarium oxysporium*. **Caderno de Ciências agrárias**, v.8, n.2, p.66-71, 2016.

JIANG, R.; LIU, M.; HUANG, H.; MAO, L.; HUANG, Q.; WEN, Y.; CAO, Q.Y.; TIAN, J.; ZHANG, X.; WEI, Y. Ultrafast construction and biological imaging applications of AIE-active sodium alginate-based fluorescent polymeric nanoparticles through a one-pot microwave-assisted Dobner reaction. **Dyes and Pigments**, v.153, p.99-105, 2018.

JULIATTI, F.C.; CRATO, F.F.; JULIATTI, F.C.; COUTO, K.R.; JULIATTI, B.C.M. Escala diagramática para a avaliação da severidade de Mofo Branco em Soja. **Bioscience Journal**, v.29, n.3, p.676-680, 2013.

KANBEROGLU, G.S.; YILMAZ, E.; SOYLAK, M. Application of deep eutectic solvent in ultrasound-assisted emulsification microextraction of quercetin from some fruits and vegetables. **Journal of Molecular Liquids**, v.279, p.571-577, 2019.

KIRIK, T.; KIZILBEY, K. Rutin yuklu PLGA Nanopartikuller; Farkh Yontemler Kullanilarak Sentenzi ve Karakterizasyonu. **Journal of the Institute of Science and Tecnology**, v.9, p.922-932, 2019.

KHARBACH, M.; MARMOUZI, I.; JEMLI, M.E; BOUKLOUZE, A.; HEYDEN, Y.V. Recent advances in untargeted and targeted approaches applied in herbal-extracts and essential-oils fingerprinting - A review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.177, p.3-52, 2020.

KUMARI, A.; YADAV, S.K.; YADAV, S.C. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.75, p.1-18, 2010.

LIN, C.F.; LEU, Y.L.; AL-SUWAYEH, S.A.; KU, M.C.; HWANG, T.L.; FANG, J.Y. Anti-inflammatory activity and percutaneous absorption of quercetin and its polymethoxylated compound and glycosides: The relationships to chemical structures. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.47, p.857-864, 2012.

LIU, Y.; ZHAO, L.; SHEN, G.; CHANG, R.; ZHANG, Y.; YAN, X. Coordination self-assembly of natural flavonoids into robust nanoparticles for enhanced *in vitro* chemo and photothermal cancer therapy. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.598, 2020.

LOZOWICKA, B.; HRYNKO, I.; KACZYNSKI, P.; JANKOWSKA, M.; RUTKOWSKA, E.; Long-Term Investigation and Health Risk Assessment of Multi-class Fungicide Residues in Fruits. **Polish Journal of Environmental Studies**, v.25, n.2, p.681-697, 2016.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras-Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**, 4.ed.; Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002. 368p.

LIMA, E.C.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R.C.; SOARES, F.P.; EMRICH, E.B.; SILVA, A.A.N. Callus induction in leaf segments of *Croton Urucurana* Baill. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.1, p.17-22, 2008.

LIMA, R.M.F.; SOUZA, V.V. Polímeros Biodegradáveis: Aplicação na Agricultura e sua Utilização como Alternativa para a Proteção Ambiental. **Revista Agroambiental**, v.3, n.1, p.75-82, 2011.

LIU, Y.; QI, Y.; CHEN, X.; HE, H.; LIU, Z.; ZHANG, Z.; REN, Y.; REN, X. Phenolic compounds and antioxidant activity in red- and green-fleshed Kiwifruits. **Food Research International**, v.116, p.291-301, 2019.

MANI, R.; NATESAN, V. Chrysin: Sources, beneficial pharmacological activities, and molecular mechanism of action. **Phytochemistry**, v.145, p.187-196, 2018.



MARRELLI, M.; STATTI, G.; CONFORTI, F. A Review of Biologically Active Natural Products from Mediterranean Wild Edible Plants: Benefits in the Treatment of Obesity and Its Related Disorders. **Molecules**, v.25, p.1-20, 2020.

MATEI, G.; WOYANN, L.G.; MENEGUZZI, C.; TODESCHINI, M.H.; TREVIZAN, D.M.; ROSA, A.C.; BENIN, G. Profiling and genotype X environment interactions of seed sugar contents in Brazilian soybean genotypes. **Euphytica**, p.203-213, 2017.

MAITY, S.; MUKHOPADHYAY, P.; KUNDU, P.P.; CHAKRABORTI, A.S. Alginate coated chitosan core-shell nanoparticles for efficient oral delivery of naringenin in diabetic animals-Na in vitro and in vivo approach. **Carbohydrate Polymer**, 2017.

MEZA-RIOS, A.; NAVARRO-PARTIDA, J.; ARMENDARZ-BORUNDA, J.; SANTOS, A. Therapies Based on Nanoparticles for Eye Drug Delivery. **Ophthalmology and Therapy**, v.9, p.401-414, 2020.

MONTANARI, C.A.; BOLZANI, V.S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. **Química Nova**, v.24, n.1, 2001.

MORAIS, S.M.; CAVALCANTI, E.S.B.; COSTA, S.M.O.; AGUIAR, L.A. Antioxidant action of teas and seasonings more consumed in Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.1b, p.315-320, 2009.

MBEDZI, P.P.; HOVEN, L.V.D.; VORSTER, B.J.; WAALS, J.E.V.D. Screening for *Sclerotinia sclerotiorum* resistance using detached leaf assays and simple sequence repeat markers in soybean cultivars. **Crop Protection**, v.125, 2019.

MUKHOPADHYAY, P.; MAITY, S.; MANDAL, S.; CHAKRABORTI, A.S.; PRAJAPATI, A.K.; KUNDU, P.P. Preparation, characterization and *in vivo* Evaluation of pH sensitive, safe quercetin-succinylated chitosan-alginate core-shell-corona nanoparticles for diabetes treatment. **Carbohydrate Polymers**, 2017.

NABI, S.U.; RAJA, W.H.; KUMAWAT, K.L.; MIR, J.I.; SHARMA, O.C.; SINGH, O.C.; SHEIKH, M.A. Post harvest diseases of temperate fruits and their management strategies-A review. **International Journal of Pure & Applied Bioscience**, v.5, p.885-898, 2017.

NIJVELDT, R.J.; NOOD, E.V.; HOORN, D.E.V.; BOELEN, P.G.; NORREN, K.V.; LEEUWEN, P.A.V. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.74, p.418-425, 2001.

NISHIBORI, N.; KISHIBUCHI, R.; MORITA, K. Soy Pulp Extracts Inhibits Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE) Activity In Vitro: Evidence for Its Potential Hypertension-Improving Action. **Journal of Dietary Supplements**, v.14, p.241-251, 2017.

OJAGHIAN, S.; DAVOUDI, A.; Effect of crude extracts and Essential oils of medicinal plants against *Sclerotinia sclerotiorum* in potato fields. **Potato Journal**, v.46, p.24-29, 2019.

OLIVEIRA, A.A.R.; SANTOS-FILHO, H.P. Podridão de Rhizopus. **Embrapa**, 1.ed, n.26, 2007.

OLIVEIRA, M.C.; OGATA, R.S.; ANDRADE, G.A.; SANTOS, D.S.; SOUZA, R.M.; GUIMARÃES, T.G.; SILVA-JÚNIOR, M.C.; PEREIRA, D.J.S.; RIBEIRO, J.F. **Manual de Viveiro e Produção de Mudanças: Espécies Arbóreas Nativas do Cerrado**. 1.ed. Rede de Sementes do Cerrado: Brasília, 2016. 124p.

OLIVEIRA, V.M.; CARRARO, E.; AULER, M.E.; KHALIL, N.M. Quercetin and rutin as potential agents antifungal against *Cryptococcus* spp. **Brazilian Journal of Biology**, v.76, n.4, 2016.

OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J.; LOPES, R.M.; MORAES, G.H.K.; FERREIRA-JUNIOR, D.B.; SILVA, R.R.; MAIA, J.R.S. Different doses of the flavonoid rutin on the levels of serum lipids in male and female rabbits. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v.36, n.4, p.213-215, 2014.

OSONGA, F.J.; AKGUL, A.; MILLER, R.M.; ESHUN, G.B.; YAZGAN, I.; AKGUL, A.; SADIK, O.A. Antimicrobial Activity of a New Class of Phosphorylated and Modified Flavonoids. **ACS Omega**, v.4, p.12865-12871, 2019.

PASSOS, J.S.; GLASIUS, M.; BILLER, P. Screening of common synthetic polymers for depolymerization by subcritical hydrothermal liquefaction. **Process Safety and Environmental Protection**, v.139, p.371-379, 2020.

PEIXOTO, A.M.; SOUSA, J.S.I.; TOLEDO, F.F.; REICHARDT, K.; MOLINA-FILHO, J. **Enciclopédia Agrícola Brasileira**. Editora da Universidade de São Paulo: Fapesp, São Paulo, 2006. 508p.

PROVA, A.; AKANDA, A.B.; ISLAM, S.; HOSSAIN, M.M. First report of *Sclerotinia sclerotiorum* causing pod rot disease on okra in Bangladesh. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v.39, n.1, p.72-76, 2017.

QIAN, Y.; ZHANG, Y.; ZUH, A.A.; QIAO, W. New application of rutin: Repair the toxicity of emerging perfluoroalkyl substance to *Pseudomonas stutzeri*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.201, p.1-9, 2020.

RAO, V. S.; GURGEL, L. A.; LIMA-JÚNIOR, R. C. P.; MARTINS, D. T. O.; CECHINEL-FILHO, V.; SANTOS, F. A. Dragon's blood from *Croton urucurana* (Baill.) attenuates visceral nociception in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v.113, p.357-360, 2007.

RAO, J.P.; GECKELER, K.E. Preparation techniques and size-control parameters. **Progress in Polymer Science**, 2011.

RASTOGI, A.; TRIPATHI, D.K.; YADAV, S.; CHAUHAN, D.K.; ZIVCAK, M.; GHORBANPOUR, M.; EL-SHEERY, N.I.; BRESTIC, M. Application of silicon nanoparticles in agriculture. **Biotech**, p.1-11, 2019.

REZENDE, J.L.; FERNANDES, C.C.; COSTA, A.O.M.; SANTOS, L.S.; VICENTE NETO, F.; SPERANDIO, E.M.; SOUCHIE, E.L.; COLLI, A.C.; CROTTI, A.E.M.; MIRANDA, M.L.D. Antifungal potential of essential oils from two varieties of *Citrus sinensis* (lima Orange and bahia navel orange) in postharvest control of *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. **Food Science and Technology**, p.1-5, 2020.

RIVAS, C.J.M.; TARHINI, M.; BADRI, W.; MILADI, K.; GREIGE-GERGES, H.; NAZARI, Q.A.; RODRÍGUEZ, S.A.G.; ROMÁN, R.A.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Nanoprecipitation process: From encapsulation to drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v.532, p.66-68, 2017.

RODRIGUEZ, G.R.V.; PALAFOX, C.H.; MEDRANO, W.A.; ZAVALA, A.J.F.; CHEN, O.C.Y.; SÁNCHEZ, R.M.; GARCÍA, A.H.; PARRILLA, A.E.; AGUILAR, G.G.A. Phenolic Compounds: Their Journey After Intake. **Food & function**, v.5, p.189-197, 2014.

SABERNAVAEI, M.; KOBARFARD, F.; HADJIAKHOONDI, A.; AGHAAHMADI, M.; AMIN, M.; YASSA, N. Biological Evaluation of the Isolated Compounds from Methanol Fraction of *Leutea avicennia* Mozaf. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v.17, p.1386-1391, 2018.

SAMEZA, M.L.; MABOU, L.C.N.; TCHAMENI, S.N.; BEDINE, M.A.B.; TCHOUMBOUGNANG, F.; DONGMO, P.M.J.; FEKAM, F.B. Evaluation of Clove Essential Oil as a Mycobiocide Against *Rhizopus stolonifer* and *Fusarium solani*, Tuber Rot Causing Fungi in Yam (*Dioscorea rotundata* Poir.). **Journal of Phytopathology**, v.164, p.433-440, 2016.

SAMPATHKUMAR, K.; TAN, K.X.; LOO, S.C.J. Developing Nano-Delivery systems for agriculture and food applications with nature-derived polymers. **iScience**, v.23, 2020.

SANTOS, V.A. **Estudo fitoquímico e atividade antioxidante do extrato e frações das folhas de *Humulus lupulus* L. (Cannabaceae)**. 2018. 60p. Trabalho de curso (Farmácia) - Escola de farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto.

SARMENTO, B.; FERREIRA, D.; VEIGA, F.; RIBEIRO, A. Characterization of insulin-loaded alginate nanoparticles produced by ionotropic pre-gelation through DSC and FTIR studies. **Carbohydrate Polymers**, v.66, p.1-7, 2006.

SARAF, S.; KAUR, C.D. Phytoconstituents as photoprotective novel cosmetic formulations. **Pharmacognosy Reviews**, v.4, p.1-11, 2010.

SELLIMI, S.; YOUNES, I.; AYED, H. B.; MAALEJ, H.; MONTERO, V.; RINAUDO, M.; DAHIA, M.; MECHICHI, T.; HAJJIJ, M.; NASRI, M. Structural, physicochemical and antioxidant properties of sodium alginate isolated from a Tunisian brown seaweed. **International journal of biological Macromolecules**, v. 72, p. 1358-1367, 2015.

SILVA, P.P.M.; OLIVEIRA, J.; BIAZOTTO, A.M.; PARISI, M.M.; GLÓRIA, E.M.; SPOTO, M.H.F. Essential oils from *Eucalyptus staigeriana* F. Muell. ex Bailey and *Eucalyptus urograndis* W. Hill ex Maiden associated to carboxymethylcellulose coating

for the control of *Btrytis cinérea* Pers. Fr. and *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill. In strawberries. **Industrial Crops and Products**, v.156, p.1-10, 2020.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Artmed: Porto Alegre, 2016. 502p.

SIMIONATTO, E.; BONANI, V.F.L.; MOREL, A.F.; POPPI, N.R.; RAPOSO JÚNIOR, J.L.; STUKER, C.Z.; PERUZZO, G.M.; PERES, M.T.L.P.; HESS, S.C. Chemical composition and evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.18. n.5, p.879-885, 2007.

SCHEIDT, B.T.; BERGHETTI, J.; MARTINS, F.C.; CASA, R.T.; RECALCATTI, W.; ROSSAROLA, V.; VIEIRA-JUNIOR, J.A.L. Fungi on irrigated rice seeds produced in the pre-germinated system in the Alto Vale do Itajaí region, Santa Catarina state, Brazil. **Ciência Rural**, v.50, n.8, p.1-4, 2020.

SILVA, L.R.; MARTINS, L.V.; CALOU, L.B.F.; DEUS, M.S.M.; FERREIRA, P.M.P.; PERON, A.P. Flavonoids: Chemical composition, medical actions and toxicity. **Acta toxicológica Argentina**, v.23, n.1, 2015.

SILVA, M.S.; COCENZA, D.S.; MELO, N.F.S.; GRILLO, R.; ROSA, A.H.; FRACETO, L.F. Alginate nanoparticles as a controlled release system for clomazone herbicide. **Química Nova**, v.33, n.9, p.1868-1873, 2010.

SILVA, L.M.; HILL, L.E.; FIGUEIREDO, E.; GOMES, C.L. Delivery of phytochemicals of tropical fruit by products using poly (DL-lactide-co-glycolide) (PLGA) nanoparticles: synthesis, characterization, and antimicrobial activity. **Food Chemistry**, v.165, p.362-370, 2014.

SILVA, S.C.S.; ALVES, M.A.; SOUSA, S.A.; NOGUEIRA, J.R.S.; MARTINS, D.H.N.; FONSECA-BAZZO, Y.M.; GALDOS-RIVEROS, A.C. Perfil fitoquímico, susceptibilidade antibacteriana e capacidade antioxidante das folhas de *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae). **Infarma: Ciências Farmacêuticas**, v. 29, n.3, p.264-270, 2017.

SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA JÚNIOR, G.M.; AYRES, M.C.; COSTA, C.L.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v.30, n.2, 2007.

SOUZA, R.Q.M.; SOARES, T.S.; CARMO, N.O.L.; DAMASCENO, D.C.; CAMPOS, K.E.; VOLPATO, G.T. Adverse effects of *Croton urucurana* B. exposure during rat pregnancy. **Journal of Ethnopharmacology**, v.199, p.328-333, 2017.

SOUTO, E.B.; SEVERINO, P.; SANTANA, M.H.A. Preparação de nanopartículas poliméricas a partir de polímeros pré-formados – Parte II. **Polímeros**, v.22, n.1, p.101-106, 2012.

SHIRKE, Y.M.; ABOU-ELANWAR, A.M.; KWON, S.J.; CHOI, W.K.; HONG, S.U.; LEE, H.K.; JEON, J.D. Role of polymeric calcium-alginate particles to enhance the performance capabilities of composite membranes for water vapor separation. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 2020.

TADROS, T.F.; VANDAMME, A.; LEVECKE, B.; BOOTEN, K.; STEVENS, C.V. Stabilization of emulsions using polymeric surfactants based on inulin. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.108-109, p.207-226, 2004.

TEDFORD, E.C.; KRIS, A.B.; GEATER, C.; SAINI, M.; BATTLES, B.; SMELSER, R.B.; FITHIAN, W.A. Plot size can influence yield benefits from fungicides on corn. **Crop Protection**, v.91, p.66-73, 2017.

THIPE, V.C.; BLOEBAUM, P.; KHOOBCHANDANI, M.; KARIKACHERY, A.R.; KATTI, K.K.; KATTI, K.V. Green nanotechnology: nanoformulations against toxigenic fungi to limit mycotoxin production. **Nanomycotoxicology**, p.155-188, 2020.

TZENG, S.Y.; WILSON, D.R.; HANSEN, S.K. HINOJOSA, A.Q.; GREEN, J.J. Polymeric nanoparticle-based delivery of TRAIL DNA for cancer-specific killing. **Bioengineering & Translational Medicine**, v.1, p.149-159, 2016.

VALENTE, I.; CELASCO, E.; MARCHISIO, D.L.; BARRESI, A.A. Nanoprecipitation in confined impinging jets mixers: Production, characterization and scale-up of pegylated nanospheres and nanocapsules for pharmaceutical use. **Chemical Engineering Science**, v.77, p.217-227, 2012.

ZHANG, X.; GAO, Z.; ZHANG, X.; BAI, W.; ZHANG, L.; PEI, H.; ZHANG, Y. Control effects of *Bacillus siamensis* G-3 volatile compounds on raspberry postharvest diseases caused by *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer*. **Biological Control**, v.141, p.1-10, 2020.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A.C.; WEBER, G.E.B. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. 1.ed. Pelotas: Embrapa Clima temperado, 2010. 16p.

## 3. OBJETIVOS

### 3.1 Geral

Estudo do preparo de nanoformulações com extrato de sangra d'água (*Croton urucurana* Baill.) e avaliação da atividade antifúngica.

### 3.2 Específicos

- Obtenção dos extratos das folhas de sangra d'água através do método de maceração;
- Desenvolvimento de método analítico para identificação e quantificação de quercetina-3-O-rutinosídeo por CLAE-DAD;
- Avaliação da atividade antioxidante;
- Determinação de compostos fenólicos totais;
- Determinação de carotenoides;
- Preparação e caracterização de nanoformulações;
- Realização de ensaio antifúngico.

## 4. CAPÍTULO I

### REVISTA BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA

#### MÉTODO ANALÍTICO PARA IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE QUERCETINA-3-O-RUTINOSÍDEO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS EXTRATOS DAS FOLHAS DE *CROTON URUCURANA* BAILLON

Lorena L. Freitas<sup>1\*</sup>, Cássia C. F. Alves<sup>1</sup>, Jáliston J. Alves<sup>1</sup>, Celso M. Belisário<sup>1</sup>,  
Erika C. Resende<sup>2</sup>, Eloiza S. N. Viali<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Goiano, Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, Rio Verde-GO, 75909-120, Brasil.

<sup>2</sup>Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Goiano, Av. Oeste, 76200-000, Iporá-GO, Brasil.

Autor para correspondência: [eloiza.nunes@ifgoiano.edu.br](mailto:eloiza.nunes@ifgoiano.edu.br) (Eloiza S. N. Viali).

**Resumo:** *Croton urucurana* Baillon é uma planta amplamente empregada na medicina tradicional, comumente encontrada em zonas ripárias. O composto quercetina-3-O-rutinosídeo pertencente à subclasse dos flavonols é encontrado nos extratos de partes dessa planta. Estes extratos podem ser utilizados como tecnologia alternativa no controle de fungos fitopatogênicos pós-colheita, tais como *Rhizopus stolonifer* e *Sclerotinia sclerotiorum*. Diante disso, objetivou-se obter extratos de *Croton urucurana* Baillon, realizar análise fitoquímica e ensaio antifúngico dos extratos e desenvolver método analítico para quantificação de quercetina-3-O-rutinosídeo. Dos extratos obtidos, o que apresentou maior rendimento e maior concentração do composto quercetina-3-O-rutinosídeo foi o extrato hidroetanólico. Os extratos hidroetanólico e metanólico demonstraram alto poder antioxidante, apresentando percentual de inibição do radical DPPH• de 93,78 e 93,22%, respectivamente. O extrato hexânico apresentou 1603,03 µg.g<sup>-1</sup> de carotenoides. Para fenólicos totais, o extrato metanólico se destacou com 41,35 mg Equivalente Ácido Gálico/100g de extrato. O método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência apresentou linearidade na faixa de concentração estudada. Os limites de detecção e quantificação foram 0,18 e 0,54µg/mL, respectivamente, para quercetina-3-O-rutinosídeo. O extrato hexânico apresentou 62% de inibição de crescimento do fungo *Rhizopus stolonifer*. Já para o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* o extrato hidroetanólico e o extrato hexânico apresentaram atividade similar de inibição a cerca de 38%. Conclui-se que o método cromatográfico desenvolvido foi preciso, exato, linear e adequado para quantificar do composto quercetina-3-O-rutinosídeo. Os extratos Hexânico e

Hydroetanólico apresentaram moderada atividade antifúngica contra *Sclerotinia sclerotiorum* e o Hexânico demonstrou superior inibição para o fungo *Rhizopus stolonifer*.

**Palavras-chave:** CLAE-DAD-UV, flavonoides, rutina, *Rhizopus stolonifer*, Sangra d'água, *Sclerotinia sclerotiorum*.

## 4.1 Introdução

A Sangra d'água (*Croton urucurana* Baillon) é uma planta utilizada na medicina tradicional desde a antiguidade para o tratamento de reumatismo, dores, úlceras gástricas e como cicatrizante (Cordeiro et al., 2016). Esta espécie é caracterizada como uma árvore de médio a grande porte, com floração no período de janeiro a março (Embrapa, 2017) e seus frutos podem ser coletados entre os meses de março a julho (Oliveira et al., 2016). Por ser uma espécie típica de mata ciliar é utilizada para recuperação de zonas ripárias (Lima et al., 2008; Alvarenga et al., 2003) e no controle do excesso de água da chuva no solo. Desta forma, tem papel fundamental na redução do escoamento de terra, erosão do solo, contribuindo com a diminuição da perda da água dos oceanos e rios (Lorenzi, 2002; Peixoto et al., 2006). Ocorre na América do Sul, sobretudo nos países Paraguai, Argentina, Uruguai e no Brasil, onde, neste último, pode ser encontrada nas regiões norte, sul e centro-oeste (Rao et al., 2007; Alves et al., 2020).

Extratos vegetais do gênero *Croton* se destacam com resultados promissores em estudos relacionados à atividade antitumoral (medicina), antifúngica (agricultura) (Castro et al., 2012; Alves, 2018) entre outras. Tais atividades se devem, principalmente aos compostos denominados metabólitos secundários como os compostos fenólicos, terpenos e nitrogenados (Ullah; Bano; Janjua, 2020).

A quercetina-3-O-rutinosídeo, também conhecida como rutina, pode ser encontrada em extratos vegetais de folhas, galhos e periderme de *C. urucurana* B. (Alves et al., 2020). É derivada do flavonoide quercetina, pertencente à subclasse dos flavonols (Budzynska et al., 2019). Comumente utilizada na alimentação, por apresentar atividade antioxidante, também na medicina, para tratamentos como neuroprotetor (Budzynska et al., 2019), terapia natural para tratamento de Alzheimer (Habtemariam, 2016), entre outras aplicações. Portanto, a determinação de quercetina-3-O-rutinosídeo em extratos vegetais de *C. urucurana* B. apresenta importância por suas atividades já apresentadas. Assim, é relevante o desenvolvimento de metodologia analítica para identificação e



quantificação de compostos bioativos, para garantir resultados confiáveis e apropriados para o uso desejado (Raposo e Bianco, 2020).

Os fungos fitopatogênicos *Rhizopus stolonifer* e *Sclerotinia sclerotiorum* causam danos nas lavouras tanto pré quanto pós-colheita de inhame (Sameza et al., 2016), framboesa (Zhang et al., 2020), morango (Silva et al., 2020), feijão, soja (Mbedzi et al., 2019) e quiabo (Prova et al., 2017), ocasionando prejuízos na produção e economia. Buscando medidas de controlar a proliferação desses fungos, Baños et al. (2000) relatam a atividade antifúngica dos extratos vegetais de *Annona cherimola*, *Bromelia hemisphaerica* e *Carica papaya*, frente ao fungo *Rhizopus stolonifer*. Ojaghian e Davoudi (2019), discorrem sobre o potencial antifúngico apresentado pelo extrato de gengibre e canela frente ao fungo *Sclerotinia sclerotiorum* em cultura de batata. Grande potencial para atividade antifúngica é destacado por plantas do gênero *Croton*, apresentado por Kathiravan et al. (2015) e Alves (2018). Com isso, avaliou-se o potencial dos extratos de *C. urucurana* B. no controle desses fungos por meio de estudos *in vitro*, uma vez que há a necessidade de se desenvolver tecnologias alternativas que contribuam, amenizando ou evitando os problemas causados por *Rhizopus stolonifer* e *Sclerotinia sclerotiorum*.

Diante do que foi exposto sobre o potencial da planta e da necessidade de novas tecnologias que auxiliem no combate aos fungos, objetivou-se preparar extratos das folhas de *C. urucurana* B., realizar análise fitoquímica, desenvolver método de quantificação de quercetina-3-O-rutinosídeo por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD-UV) e avaliar a atividade antifúngica dos extratos frente aos fungos *Rhizopus stolonifer* e *Sclerotinia sclerotiorum*.

## **4.2 Material e Métodos**

### **4.2.1 Coleta do Material Vegetal**

Foram utilizadas partes aéreas de *C. urucurana* B., de árvores de porte médio, coletadas entre 8h00min e 8h30min da manhã no dia 07 de agosto de 2019, no município de Santo Antônio da Barra, Goiás (17°33'01" S 50°36'08" W). Sua exsicata foi realizada pela Bióloga Gisele Menino e se encontra depositada no herbário do Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde, de numeração 602.

#### 4.2.2 Preparo do Material Vegetal

O processo de desfolha, separação da folha do galho, seleção das melhores folhas, descarte das doentes e danificadas, higienização (somente para retirada de impurezas) e secagem, foram realizadas no laboratório de Pós-Colheita de Produtos Vegetais do Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde. A secagem foi conduzida em estufa (Marconi) com circulação e renovação de ar, a temperatura de 40°C e verificação até peso constante do material vegetal que ocorreu após seis dias (138 h).

Foi determinado o teor de água do material vegetal *in natura*, a  $103 \pm 2^\circ\text{C}$ , em estufa com circulação forçada de ar por 24 horas (Asabe, 2010), para determinar o percentual de água presente nas folhas de *C. urucurana* B.. Para o cálculo de determinação do teor de água foi utilizada a equação [1]. Como peso inicial ( $P_i$ ) de 90,51 g de folhas *in natura*.

$$\text{Teor de água (\%)}: \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100 \quad \text{Equação [1]}$$

Após secagem, as folhas foram trituradas em moinho de facas e passadas em peneira granulométrica aço inox 8''x2'' de abertura 500  $\mu\text{m}$ , obtendo um quantitativo final de 676,33 gramas de material vegetal.

#### 4.2.3 Obtenção dos Extratos

Três massas de 6,705g, 6,707g e 6,708g de material vegetal seco foram utilizadas para preparação dos seguintes extratos, através do método de maceração. 1° extrato (extrato hidroetanólico (E-Hidro)): a massa de 6,705g foi submetida a extração com mistura de álcool etílico 95% (160 mL) e água destilada (40 mL), sob agitação constante por 1 hora e repouso por 48 horas. Em sequência o extrato foi filtrado em papel de filtro qualitativo Unifil, e levado à estufa com circulação forçada de ar a 45°C para evaporação total dos solventes. Para preparo dos demais extratos os mesmos procedimentos foram seguidos.

O segundo extrato (extrato etanólico (E-Et)) foi obtido a partir de 6,707 g de material vegetal em 200 mL de álcool etílico 95%. O terceiro extrato (extrato hexânico (E-Hex)) foi preparado com 6,708 g de material vegetal e 200 mL de hexano. Após filtração, o resíduo do extrato hexânico foi recolhido e submetido novamente a extração com acetato de etila (4° extrato), sendo nomeado extrato acetato de etila (E-Acet). Após filtração, o resíduo do E-Acet foi submetido novamente a extração utilizando o solvente metanol (5° extrato), cujo nome extrato metanólico (E-Met). Para realização dos testes

antifúngicos, os extratos foram concentrados em evaporador rotativo (TE-210), pela dificuldade de resolubilização do extrato, após seco.

#### 4.2.4 Cálculo de Rendimento do extrato Hidroetanólico

Seguiu-se os mesmos procedimentos para preparação do extrato, realizado em triplicata para determinação do rendimento do E-Hidro. Os béqueres pesados antes da filtração e após total evaporação dos solventes. Para realização do cálculo, utilizou-se a equação [2]:

$$Re = \frac{P_{ext}}{P_{folhas}} \times 100 \quad \text{Equação [2]}$$

Em que  $R_e$  é o rendimento em porcentagem;  $P_{ext}$  o peso do extrato seco (g); e  $P_{folhas}$  o peso das folhas secas (g) de material vegetal seco e triturado (Rodrigues et al., 2011).

#### 4.2.5 Determinação de Compostos Fenólicos Totais, Carotenoides, Avaliação da atividade antioxidante

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada através do método de Folin-Ciocalteu, segundo metodologia de Singleton e Rossi (1995).

Para carotenoides, seguiu-se a metodologia de Rodriguez-Amaya (2001).

Para mensurar a atividade antioxidante dos extratos vegetais, realizou-se o ensaio de sequestro de radicais DPPH• (1,1-difenil-2-picril-hidrazila) de acordo com Mensor et al. (2001).

#### 4.2.6 Quantificação de quercetina-3-O-rutinosídeo por CLAE-DAD-UV

Foram preparadas soluções do padrão quercetina-3-O-rutinosídeo (lote: BCBN4628V; marca: Sigma; teor:  $\geq 94\%$ ) em diferentes concentrações diluídas em metanol. Um método analítico foi desenvolvido testando parâmetros cromatográficos para quantificação de quercetina-3-O-rutinosídeo por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD-UV).

Nesta etapa de desenvolvimento do método analítico, os extratos obtidos foram diluídos em metanol ( $5 \text{ mg.mL}^{-1}$ ) e filtrados em unidades filtrantes de nylon de  $0,45 \mu\text{m}$ . O filtrado foi analisado por Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de fotodiodos (CLAE-DAD - Shimadzu®) com injetor automático e bomba quaternária. A separação cromatográfica se deu através de uma coluna Supelcosil TML  $C_{18}$  (250 mm x 4,6 mm,  $5 \mu\text{m}$ ) Shimadzu® acoplada a pré-coluna Shim-pack GVP-ODS 10mm x 4,6,

fluxo de 1,0 mL.min<sup>-1</sup>, volume de injeção de 20 µL, temperatura de 30°C, varredura entre 190 nm-400 nm e quantificação em 254 nm. Os solventes utilizados na fase móvel foram: (A) água acidificada com 0,1% de ácido acético e (B) metanol. A eluição ocorreu de maneira linear, iniciando 10% B: 90% A (32 min), 66% B: 34% A (32 min), 10% B: 90% A (35 min), e reequilibrando a coluna com 10% B: 90% A (40 min).

Para quantificação de quercetina-3-O-rutinosídeo no extrato, pesou-se 66,7 mg de extrato e após preparada a solução, a amostra foi injetada em triplicata para posterior construção das curvas de calibração. Seis soluções do padrão (quercetina-3-O-rutinosídeo) em metanol a diferentes concentrações (500, 250, 125, 50, 25 e 10 µg.mL<sup>-1</sup>) foram preparadas. Para obtenção do limite de detecção (LD) e quantificação (LQ), foram preparadas soluções de quercetina-3-O-rutinosídeo nas concentrações (10; 5; 2,5; 1; 0,50; 0,25 e 0,10 µg mL<sup>-1</sup>). Para realização dos cálculos e obtenção dos valores de LD e LQ foram utilizadas as equações [3 e 4]:

$$LD = 3,3X \frac{s}{m} \text{ Equação [3]} \quad LQ = 10X \frac{s}{m} \text{ Equação [4]}$$

Em que "s" é o desvio padrão da resposta, e "m" coeficiente angular da curva analítica (Brasil, 2017).

Os limites de detecção (LD), quantificação (LQ) e a linearidade foram avaliados conforme preconizado pela RDC n° 166/2017 (Brasil, 2017). A exatidão foi avaliada por adição de padrão e recuperação. A precisão foi realizada pesando uma massa de 25,0 mg da amostra com seis soluções preparadas, injetadas no mesmo dia (intradia) e em dia alternado de análise (interdia) (Silva, 2012).

#### 4.2.7 Ensaio de Atividade Antifúngica

Para este ensaio, utilizou-se o E-Hidro e o E-Hex, nas concentrações 33,1 mg.mL<sup>-1</sup> e 25 mg.mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Adotou-se o delineamento inteiramente ao acaso com sete tratamentos: controle, água/etanol, e aplicada a metodologia de doses de 100 µL, 150 µL, 200 µL, 250 µL e 300 µL, com seis repetições cada. Os fitopatógenos utilizados foram o *Rhizopus stolonifer* isolado de morangos e *Sclerotinia sclerotiorum* isolado de campos de soja. As placas de petri foram previamente esterilizadas e em sequência adicionado a elas volume de aproximadamente 20 mL do meio de cultura ágar batata dextrose (BDA). Após solidificação do meio de cultura foi adicionado os volumes de cada tratamento nas placas e espalhado com auxílio de uma alça de Drigalski. Em seguida, adicionado discos a cerca de 5 mm de diâmetro de meio de cultura BDA contendo micélio

no centro da placa. Foram realizadas medições de diâmetro do crescimento micelial em dois sentidos após total crescimento micelial do fungo da placa controle (medições realizadas no terceiro dia após início do ensaio para o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* e no segundo dia para o fungo *Rhizopus stolonifer*). A média das repetições para cada tratamento foi determinada e com auxílio da equação [5], realizou-se o cálculo de porcentagem de inibição do crescimento (PIC), segundo a metodologia de Venturoso et al. (2011). As médias foram determinadas e comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, no *software* R i386 3.5.0 (Vieira et al., 2019):

$$PIC = \frac{DCM \text{ do fungo controle} - DCM \text{ do fungo tratamento}}{DCM \text{ do fungo controle}} \times 100 \text{ Equação [5]}$$

Em que: DCM - Diâmetro de crescimento micelial.

## 4.3 Resultados e Discussão

### 4.3.1 Preparo do Material Vegetal

Após os processos de secagem e moagem, obteve-se 676,33 g de material vegetal, perfazendo rendimento de 36,36%, havendo considerável redução no volume de água. O processo de secagem se torna de grande importância quando está relacionado a plantas medicinais, pois há certos constituintes presentes nelas que são sensíveis a temperatura. Portanto, recomenda-se que para tal fim, utilize temperaturas mais amenas, para conservar os princípios ativos. Durante este processo há redução do teor de água, da velocidade de degradação do material e a concentração dos ativos presentes (Silva & Casali, 2000; Rosado et al., 2011). As temperaturas 50°C, 60°C e 70°C, influenciam na quantidade de compostos fenólicos, mas há determinados compostos, assim como a quercetina-3-O-rutinosídeo e (epi) catequina dímero, que permanecem em elevado quantitativo, não havendo degradação significativa a estas temperaturas (Alves et al., 2020).

A secagem do material vegetal em ambiente natural pode favorecer o desenvolvimento de fungos e bactérias, por isso, é recomendada a secagem em estufa (Rosado et al., 2011). Segundo Borgo et al. (2010), quando o material é seco em estufa, pode acontecer da energia térmica que está envolvida neste processo permitir maior extração dos compostos químicos ativos durante o processo de extração, através da ruptura das estruturas internas. Diante deste contexto e pelo fato de as folhas de Sangra

d'água possuírem alto teor de água, no presente trabalho, optou-se por realizar a secagem em estufa.

O teor de água presente nas folhas foi de 61,57%. Se comparado com o percentual de rendimento do material final obtido na secagem a 40°C, nota-se que as folhas ainda permanecem com certo residual de água. Nota-se que as folhas de *C. urucurana* B. apresentam elevado percentual de água quando comparada com Braga et al. (2007) que obtiveram um percentual de 11,47% de umidade para folhas de *C. verticillata* subsp. V..

A massa média obtida para o E-Hidro foi de 0,8892 g com rendimento de 14,78%, que foi maior quando comparado com o encontrado por Dutra, Villanova e Severi (2016) que obtiveram rendimento do extrato etanólico das folhas de *C. urucurana* B., também através do método de maceração, de 9,15%.

#### **4.3.2 Determinação de compostos fenólicos totais, carotenoides e avaliação da atividade antioxidante**

O teor de compostos fenólicos totais de carotenoides e da atividade antioxidante dos extratos obtidos estão apresentados na Tabela 1. O E-Met apresentou o maior quantitativo de fenólicos, seguido do E-Hidro e E-Et (41,35; 18,94 e 6,11 mg EAG/100g, respectivamente).

Pelo teste de Tukey foi verificado que todos os tratamentos diferem entre si, sendo representados por letras diferentes (Tabela 1). A maior polaridade dos solventes utilizados na extração favoreceu a extração dos compostos fenólicos, uma vez que são mais solúveis em metanol, ou seja, em solventes mais polares (Pedreschi; Zevallos, 2006). Comparando com os resultados obtidos por Alves (2018) e Bezerra et al. (2020) que trabalharam com extratos das folhas de *C. urucurana* B. seus respectivos resultados, 4,16 mg/100g de extrato, 5,18 mg/100g de extrato, observa-se que os valores encontrados por eles foram inferiores aos encontrados no presente trabalho. Tal diferença pode ser, provavelmente pela coleta em períodos diferentes e metodologia utilizada para obtenção dos extratos. Ressalta-se que para o E-Hex e o E-Acet não foi possível realizar a quantificação tanto para fenóis totais, quanto atividade antioxidante, pelas concentrações estarem abaixo do limite de detecção.

Na avaliação da atividade antioxidante, os percentuais de inibição de oxidação foram crescentes de acordo com a polaridade dos solventes utilizados na extração. Sendo que todos os extratos apresentaram expressivo percentual de inibição de oxidação. O

maior percentual foi exibido pelo E-Hidro (93,78%), em segundo o E-Met (93,22%) os quais não diferem entre si pelo teste de Tukey, sendo representados pela letra 'a', por fim o E-Et (66,53%). Os dados encontrados estão em concordância com Silva et al. (2017) e Alves (2018), no qual o extrato hidroetanólico das folhas de Sangra d'água apresentou maior atividade antioxidante. Estes resultados corroboram com Abdalaziz, Ali e Kabbashi (2016), em seus extratos etanólicos da planta e frutos de *C. zambesicus*, o percentual de atividade antioxidante chegou a 72 e 81%, respectivamente, próximos dos valores encontrados neste estudo.

O elevado potencial de atividade antioxidante de extratos vegetais está comumente relacionado com a presença de compostos fenólicos, bem como, taninos, cumarinas e flavonoides (Silva et al., 2017; Fabri et al., 2015; Lopes et al., 2004; Santos; Rodrigues, 2017).

O E-Hex apresentou maior quantidade de carotenoides (1603,06  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ), seguido dos extratos E-Acet (1463,39  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ), E-Et (322,81  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ), E-Hidro (154,78  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) e E-Met (147,91  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Através do teste de Tukey, todos os extratos apresentaram diferenças significativas entre si, exceto o E-Hidro e E-Met que não diferem entre si. Nota-se que para solventes mais apolares há aumento na concentração de carotenoides, resultando no favorecimento do processo de extração desses compostos, sendo uma das características mais importantes dos carotenoides (Durán; Alvarez, 2000).

**Tabela 1.** Análises fitoquímicas dos extratos obtidos.

<b>Extratos</b>	<b>Fenólicos Totais (mg EAG/100g)</b>	<b>Atividade antioxidante (%)*</b>	<b>Carotenoides <math>\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}</math></b>
E-Hidro	18,94 b	93,78 a	154,78 d
E-Met	41,35 a	93,22 a	147,91 d
E-Et	6,11 c	66,53 b	322,81 c
E-Acet	-	-	1463,39 b
E-Hex	-	-	1603,06 a

\*Expressa em termos de percentual de inibição de oxidação. Traço (-): não foi determinada quantidade expressiva deste componente. Tratamentos seguidos de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey. Tratamentos seguidos de letras diferentes, diferem entre si pelo teste de Tukey.

Fonte: autor.

#### 4.3.3 Quantificação de quercetina-3-O-rutinosídeo por CLAE-DAD-UV

A importância de realizar o desenvolvimento de método analítico se deu por interesse de identificar e quantificar a quercetina-3-O-rutinosídeo nos diferentes extratos obtidos.

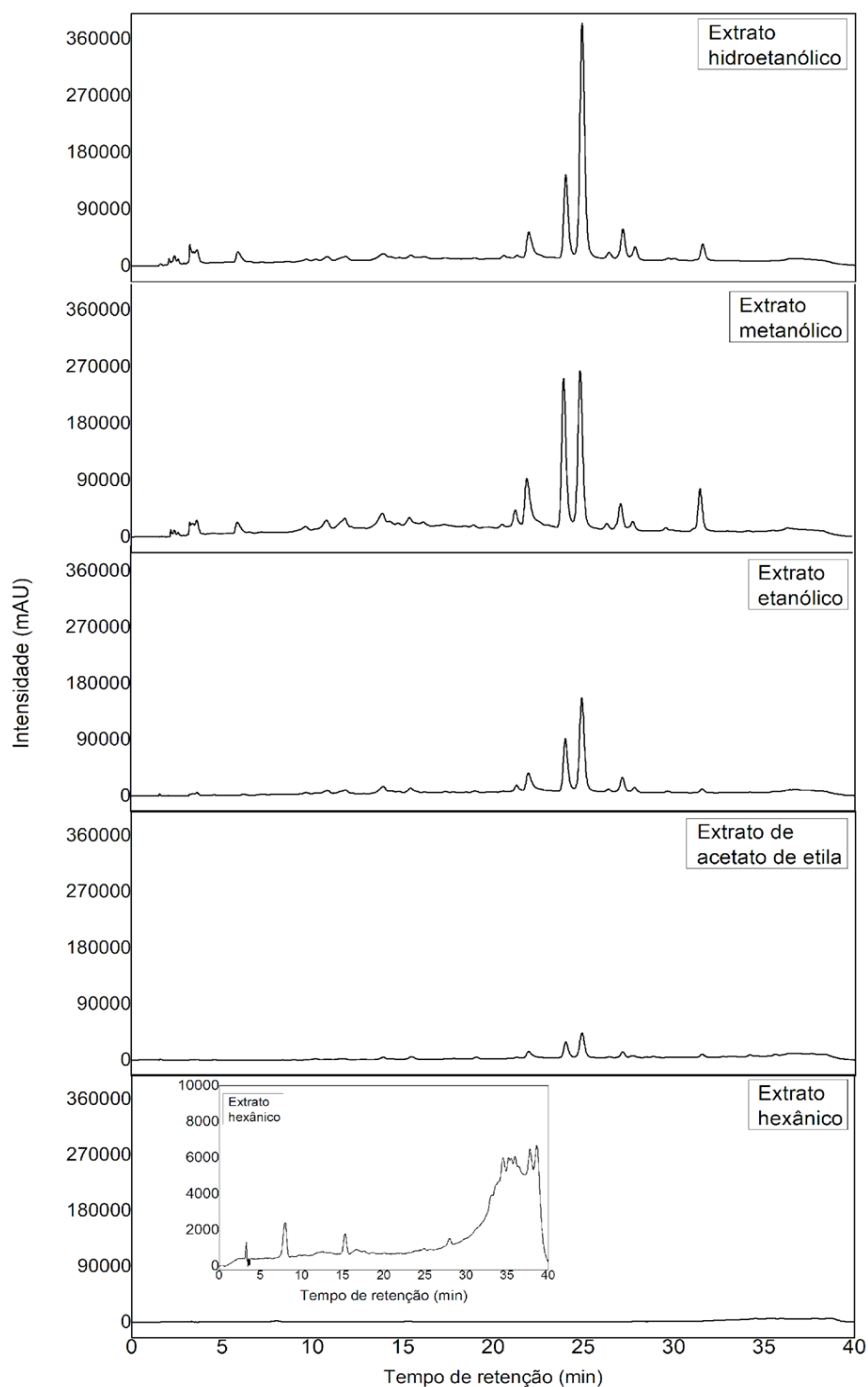
Na Figura 1 estão apresentados os cromatogramas dos extratos em ordem decrescente de polaridade dos solventes utilizados na extração. Observa-se que o aumento da polaridade do solvente favoreceu a extração do composto quercetina-3-O-rutinosídeo e demais compostos presentes nestes extratos. Para os solventes mais apolares houve redução na área dos picos pela menor concentração dos compostos extraídos. O pico mais intenso nos cromatogramas dos extratos E-Hidro, E-Met, E-Et e E-Acet (Figura 1A-D) se refere ao composto quercetina-3-O-rutinosídeo (tempo de retenção  $T_R = 24,83$  min). Não foi possível detectar picos dos referidos compostos na injeção do E-Hex (Figura 1E).

Para identificação dos picos, baseou-se no perfil cromatográfico e do espectrograma na região UV, comparando-os com padrões disponíveis, com Alves et al. (2020) e dados de outros padrões previamente injetados sob mesmas condições. As atribuições sugeridas de identificação dos compostos fenólicos presentes no E-Hidro das folhas de Sangra d'água estão apresentadas na Tabela 2.

Nota-se que os picos 1 a 8 identificados no E-Hidro também aparecem nos demais extratos, mas em concentrações menores. Por isso, para identificação dos compostos foi utilizado como base cromatograma do E-Hidro, por apresentar maior intensidade dos picos.

Observa-se nos cromatogramas, exceto no do E-Hex, em diferentes concentrações os picos referentes a apigenina-8-C-glucosídeo (pico 2), *quercetina dioxihexosídea-hexosídeo* (pico 3), quercetina-3-O-rutinosídeo (pico 4), *quercetina-O-hexosídeo* (pico 5) e kaempferol-3-O-rutinosídeo (pico 6). No E-Acet apresenta apenas os picos referentes à quercetina dioxihexosídea-hexosídeo e quercetina-3-O-rutinosídeo, os demais estão em concentração mínima, não sendo possível sua identificação e quantificação.





**Figura 1.** Cromatograma dos extratos vegetais. \*Escala 400000 mAU. Extrato hexânico com ampliação.

Os tempos de retenção e absorvâncias dos padrões apigenina-8-C-glucosídeo, quercetina-3-O-rutinosídeo e kaempferol-3-O-rutinosídeo correspondem às posições dos picos presentes nos extratos. Já para os demais picos, foram apresentadas hipóteses baseadas na literatura e em padrões injetados no mesmo equipamento sob condições similares. Diante disso, sugere-se para o pico 3 o composto quercetina dioxihexosídeo-hexosídeo, e o pico 5 a quercetina-3-O-hexosídeo, os quais apresentam  $T_R$  e absorvâncias em comprimentos de onda similares aos picos presentes no E-Hidro.

**Tabela 2.** Atribuições sugeridas para identificação dos compostos fenólicos presentes no extrato hidroetanólico das folhas de *Croton urucurana* B..

Pico	T <sub>R</sub>	λ máximo	Atribuições sugeridas	Referências
1	5,9 min	264 e 318 nm	-	
2	21,89 min	268 e 337 nm	Apigenina-8-C-glucosídeo	
3	23,93 min	270 e 337 nm	<i>Quercetina dioxihexosídeo-hexosídeo</i>	Alves (2018)
4	24,83 min	255 e 354 nm	Quercetina-3-O-rutinosídeo	
5	26,33 min	266 e 345 nm	<i>Quercetina-3-O-hexosídeo</i>	Alves (2018)
6	27,10 min	265 e 346 nm	Kaempferol-3-O-rutinosídeo	
7	27,76 min	253 e 353 nm	-	
8	31,50 min	267 e 314 nm	-	

Tempo de retenção (T<sub>R</sub>), comprimento de onda (λ).

Para a quantificação da quercetina-3-O-rutinosídeo no E-Hidro foram feitas curvas de calibração seguindo parâmetros descritos por Brasil (2017). A equação para a curva média foi  $y = 38376x - 138719$  e a linearidade foi confirmada pelo coeficiente de correlação  $R^2=0,9998$ . A quantidade encontrada de quercetina-3-O-rutinosídeo para o E-Hidro foi de 34,559 mg.g<sup>-1</sup>.

Em todas as concentrações utilizadas foram obtidos valores aceitáveis de desvio padrão relativo, estando dentro dos parâmetros exigidos por Brasil (2017). Na Tabela 3 observam-se os valores médios encontrados para as áreas dos picos cromatográficos para construção da curva de calibração da quercetina-3-O-rutinosídeo. Inicialmente foi aplicado o Método dos Mínimos Quadrados (MMQ) e, pelo cálculo do valor de C, verificou-se que o valor de C calculado foi maior do que o C tabelado. Quando  $C_{\text{calculado}} \geq C_{\text{tabelado}}$ , rejeita-se a hipótese nula (dados heterocedásticos), deve-se assim aplicar o Método dos Mínimos Quadrados Ponderados (MMQP). No teste F da ANOVA para o MMQP, conforme RDC n° 166/2017 (BRASIL, 2017), quando  $F_{\text{calculado}} \geq F(\alpha, 1, n-2)$ , rejeita-se a hipótese nula de que  $b=0$  e assume-se que y efetivamente varia em função de x, assim o método pode ser considerado linear.

**Tabela 3.** Valores médios encontrados nas injeções para construção da curva de calibração (linearidade do método) e análise estatística.

Concentração (µg/mL)	Área Média*	DPR %	Variância
10,00	356018,33	12,05	1839408692,33
25,00	880706,33	6,49	3264144146,33
50,00	1783580,33	1,95	1215266820,33
125,00	4510288,33	2,14	9355784150,33
250,00	9339257,33	3,28	94053469460,33
500,00	19138553,00	2,58	24322500297,00

<i>Soma da Variância</i>	352953076242,67
<i>Maior Variância</i>	243225002973,00
<i>C Calculado**</i>	<b>0,689114274</b>
<i>C Tabelado**</i>	<b>0,616</b>
<i>a</i>	38375,74766
<i>b</i>	-138719,0146
<i>r</i>	0,999894338

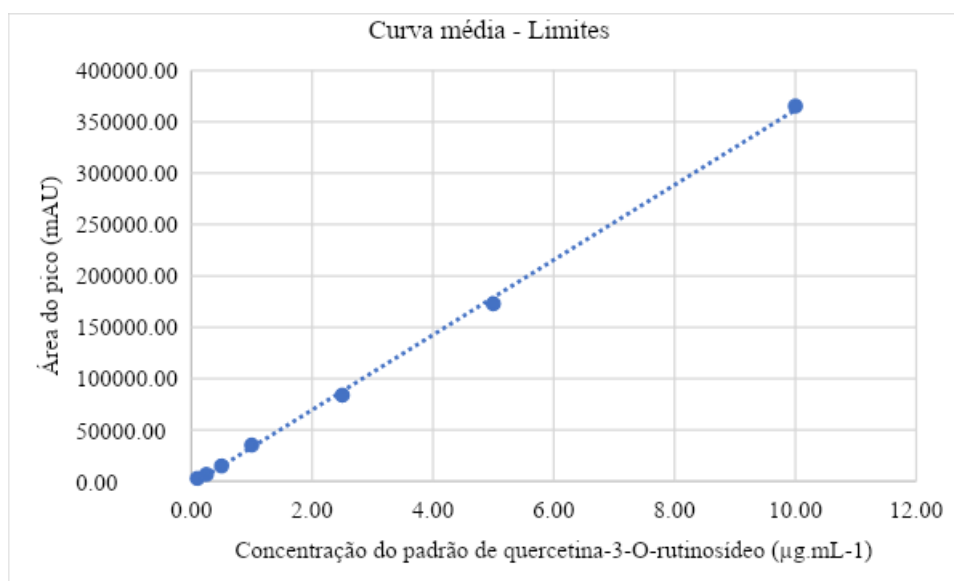
\*média de 3 determinações; \*\*Se C calculado  $\geq$  C Tabelado, rejeita-se a hipótese nula (dados heterocedásticos), deve-se aplicar o Método dos Mínimos Quadrados Ponderados (MMQP). Equação da reta para a curva de calibração:  $y = 38376x - 138719$ .

**Tabela 4.** Teste F da ANOVA (Método dos Mínimos Quadrados Ponderados) conforme RDC n° 166/2017 (BRASIL, 2017).

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrados médios	F calculado***	F tabelado***
Regressão	1,0	21,11x10 <sup>23</sup>	21,11x10 <sup>23</sup>	16,004	4,49
Resíduos	16,0	21,11x10 <sup>23</sup>	13,20x10 <sup>22</sup>		
Total	17,0	78,62x10 <sup>13</sup>	46,25x10 <sup>12</sup>		

\*\*\*Se F calculado  $\geq$  F ( $\alpha, 1, n-2$ )  $\Rightarrow$  rejeita-se a hipótese nula de que  $b=0$  e se assume que y efetivamente varia em função de x e que o método pode ser considerado linear. Dados tratados no *software* Microsoft® Excel® para Microsoft 365 versão 2010 para Windows®.

Para desenvolvimento dos parâmetros de validação, utilizou-se o E-Hidro, por ter apresentado maior concentração de quercetina-3-O-rutinosídeo. A curva média do limite para quercetina-3-O-rutinosídeo está apresentada na Figura 2. Os limites de detecção e quantificação encontrados foram LD 0,18  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  e LQ 0,54  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  os quais estão próximos aos valores encontrados por Sobrinho et al. (2008).



**Figura 2.** Curva com valores médios para a determinação dos limites (LD e LQ) de quercetina-3-O-rutinosídeo.

O método foi considerado preciso com CV de 1,47% para o padrão de quercetina-3-O-rutinosídeo e 6,5% para a amostra do extrato (E-Hidro). Quinteros et al. (2011) validaram método analítico cromatográfico utilizando rutina e extrato das folhas de *E. giganteum*, obtendo resultados nesta faixa de valores.

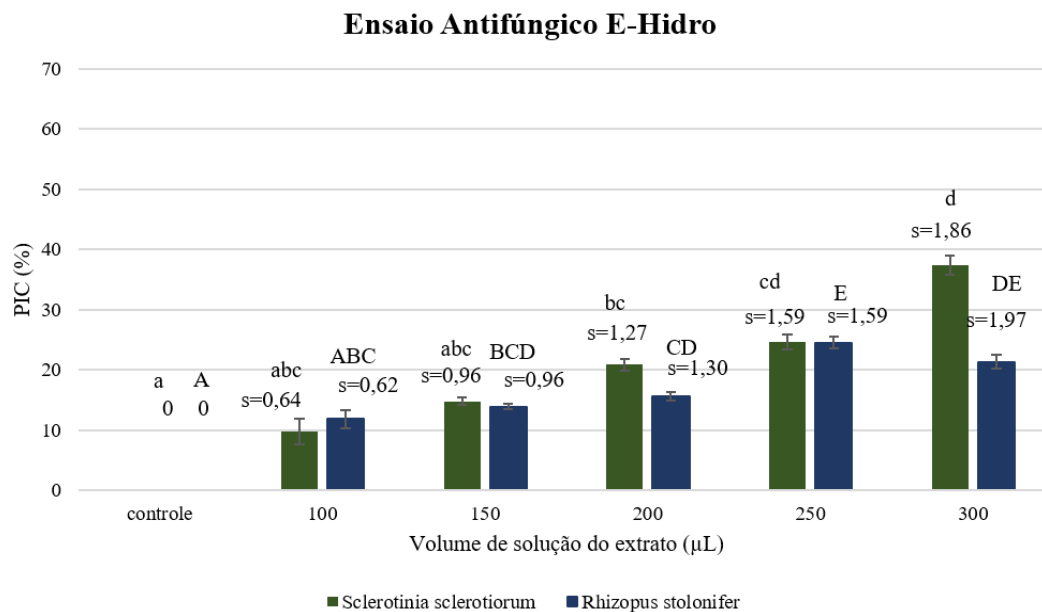
#### 4.3.4 Ensaio de atividade antifúngica

Para o ensaio de atividade antifúngica, objetivou-se avaliar a capacidade do E-Hidro e E-Hex, dois extratos em distintas polaridades, em inibir os fungos fitopatogênicos *Rhizopus stolonifer* e *Sclerotinia sclerotiorum*.

Para o E-Hidro, a inibição do crescimento micelial para o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* cresceu com o aumento das doses, atingindo inibição máxima na dose de 300 µL. Pelo teste de Tukey, pelo menos um tratamento difere dos demais.

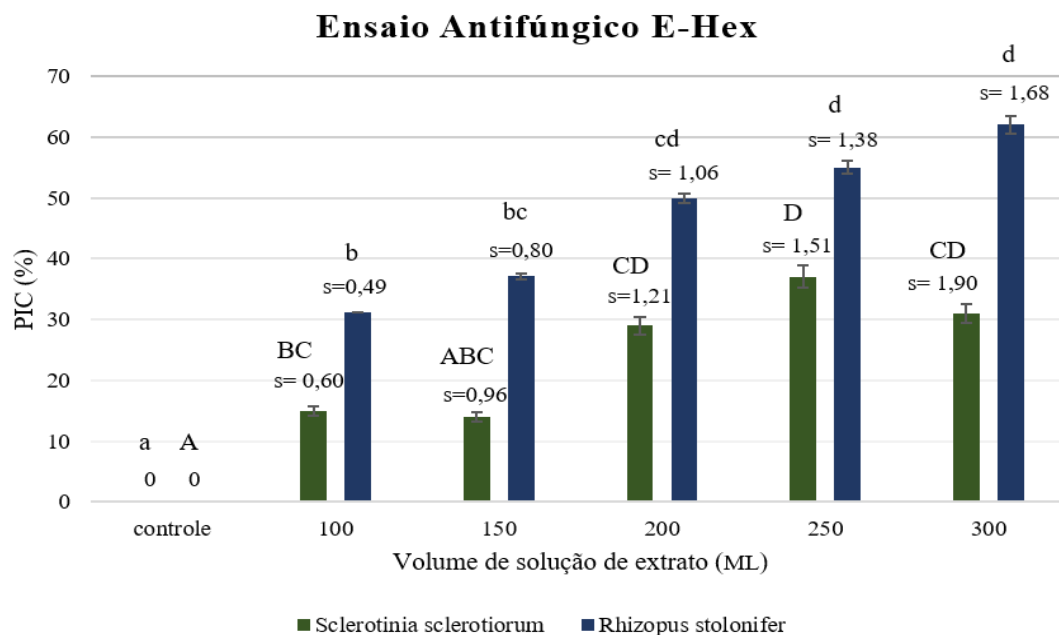
O E-Hidro apresentou resultados promissores de inibição antifúngica em maiores concentrações (Figura 3). Tal fato pode estar relacionado tanto ao composto quercetina-3-O-rutinosídeo que apresentou maior concentração nesse extrato, quanto aos demais compostos presentes. O extrato possui diversos componentes tais como os flavonoides e terpenos, os quais auxiliam na resistência das plantas contra patógenos, insetos e fungos (Rao et al., 2017; Ferreira et al., 2016).

Assim como neste trabalho, que apresentou atividade promissora com extratos vegetais de plantas do gênero *Croton*, outros trabalhos como de Arrais et al. (2014) e Alves (2018), que trabalharam com gênero *Croton*, com extratos hidroetanólicos e metanólicos também obtiveram resultados positivos frente às bactérias e fungos, *Bacillus subtilis*; *Staphylococcus aureus*; *Aspergillus versicolor*; *Aspergillus niger*; *Penicillium funiculosum*; *Penicillium ochrochloron*; *Penicillium verrucosum* var. *ciclopio* e *Trichoderma viride*.



**Figura 3.** Porcentagem de inibição micelial ocasionada pelo E-Hidro frente aos fungos *Rhizopus stolonifer* e *Sclerotinia sclerotiorum*. \*Tratamentos seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey.

Na Figura 4, observa-se a porcentagem de inibição micelial do E-Hex. O E-Hex apresentou maior percentual de inibição micelial para o fungo *Rhizopus stolonifer*, em ordem decrescente das doses. De acordo com o teste de Tukey, pelo menos um tratamento difere dos demais. Sendo que para as doses 300, 250 e 200 µL não houve diferença significativa. A dose de 150 µL não diferiu das doses de 100 µL e 200 µL. Já para o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, a dose que apresentou maior atividade foi 250 µL, e não demonstrou diferença significativa da dose de 300 µL e da dose de 200 µL. As doses de 100, 150, 200 e 300 µL não diferiram entre si e a dose de 100 µL e 150 µL não apresentaram diferença significativa entre si.



**Figura 4.** Porcentagem de inibição micelial provocada pelo E-Hex frente ao fungo *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizopus stolonifer*. \*Tratamentos seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey.

A melhor performance de inibição do fungo *Rhizopus stolonifer* pelo E-Hex pode ser explicada pela característica dos compostos extraídos com o solvente hexano. Solventes apolares possuem a capacidade de extrair terpenos, ceras e pigmentos, que são agentes antifúngicos (Azmir et al., 2013; Aguiar et al., 2014). Segundo Randal et al. (2014), os terpenoides são encontrados com predominância em raízes e folhas de plantas do gênero *Croton*, que, em consonância com outros estudos mostraram que compostos como os terpenos estão associados com a atividade antifúngica (Gurgel et al., 2001; Peres et al., 1997; Viriato, 2014). Os carotenoides que apresentam potencial antifúngico se destacaram no E-Hex em maior concentração, e, junto com os demais compostos do extrato contribuíram para melhor performance de inibição de crescimento para o fungo *Rhizopus stolonifer* (Maturino et al., 2015).

O E-Hidro e o E-Hex apresentam comportamento semelhante para o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, com atividade inibitória a cerca de 38%. A quercetina-3-O-rutinosídeo é um flavonoide com várias propriedades bioativas, entretanto, não apresenta atividade antifúngica. Já para o fungo *Rhizopus stolonifer* o E-Hex apresentou inibição próxima de 62%, podendo estar relacionado aos carotenoides e terpenos.

#### 4.4 CONCLUSÃO

O método de extração que foi capaz de extrair maior quantidade de compostos e de quercetina-3-O-rutinosídeo foi a extração feita com etanol e água. Os extratos E-Hidro e o E-Met demonstraram máxima atividade antioxidante, não apresentando diferença significativa pelo teste de Tukey. O E-Met apresentou maior concentração de compostos fenólicos totais e os E-Hex e E-Acet demonstraram maiores concentrações de carotenoides.

O método cromatográfico desenvolvido foi preciso, exato, linear e adequado para quantificar do composto quercetina-3-O-rutinosídeo.

O E-Hidro apresentou moderada performance de inibição em relação a ambos os fungos utilizados. Já o E-Hex apresentou mesma performance que o E-Hidro em relação ao fungo *Sclerotinia sclerotiorum* e demonstrou superior inibição para o fungo *Rhizopus stolonifer*.

#### 4.5 REFERÊNCIAS

ABDALAZIZ MN, ALI A, KABBASHI AS (2016) *In vitro* antioxidant activity and phytochemical screening of *Croton zambesicus*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, v.5, p.12-16.

ALVARENGA AA, CASTRO EM, JUNIOR ECL, MAGALHÃES MM (2003) Effects of different light levels on the initial growth and photosynthesis of *Croton urucurana* Baill. In southeastern Brazil. Revista Árvore, v.27, n.1, p.53-57.

ALVES JLL (2018) Sangra D'Água (*Croton urucurana* Baill.): cinética de secagem; separação, identificação, quantificação de compostos fenólicos e bioatividades em função da temperatura de secagem. 112p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias), Instituto Federal Goiano, Rio Verde.

ALVES JLL, DIAS MI, BARREIRA JCM, BARROS L, RESENDE O, AGUIAR ACR, FERREIRA ICFR (2020) Phenolic Profile of *Croton urucurana* Baill. Leaves, Stems and Bark: Pairwise Influence of Drying Temperature and Extraction Solvent. Molecules, v.25, p.2-12.

ARRAIS LG, LYRA HFS, BATISTA DCA, COUTINHO FN, SARAIVA AM, PEREIRA RCA, PISCIOTTANO MNC, XAVIER HS, MELO SJ (2014) Atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos da raiz, caule e folhas de *Croton pulegioides* Baill. (Zabelê). Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.16, n.2, p.316-322.

ASABE (2010) - American Society of Agricultural and Biological Engineers. Moisture measurement – Forages: Standard S358.2 DEC1988, R2008. In: American Society of Agricultural and Biological Engineers (Ed.). Standards, Engineering Practices, and Data. St. Joseph: ASABE, p.684-685.

BAÑOS SB, LÓPEZ MH, PÉREZ JCD, OCHOA CFC (2000) Evaluation of the fungicidal properties of plant extracts to reduce *Rhizopus stolonifer* of 'ciruela' fruit (*Spondias purpurea* L.) during storage. *Postharvest Biology and Technology*, v. 20, p.99-106.

BEZERRA FWF, SALAZAR MLAR, FREITAS LC, OLIVEIRA MS, SANTOS IRC, DIAS MNC, LEAL WG, ANDRADE EHA, FERREIRA GC, CARVALHO-JUNIOR RN (2020) Chemical composition, antioxidant activity, anti-inflammatory and neuroprotective Effect of *Croton matourensis* Aubl. Leaves extracts obtained by supercritical CO<sub>2</sub>. *The Journal of Supercritical Fluids*, v.165.

BITTENCOURT SC, CAPONI S, FALKENBERG MB (2002) O uso das plantas medicinais sob prescrição médica: pontos de diálogo e controvérsias com o uso popular. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.12, p.89-91.

BORGO J, XAVIER CAG, MOURA DJ, RICHTER MF, SUYENAGA ES (2010) Influência dos processos de secagem sobre o teor de flavonoides e na atividade antioxidante dos extratos de *Baccharis articulata* (Lam.) Pers., Asteraceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.20, n.1, p.12-17.

BRASIL (2017) Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). R. E, nº166 de 29 de maio - Guia para validação de métodos qualitativos e bioanalíticos. Disponível em:<[http://www.in.gov.br/materia/-/asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/19194581/do1-2017-07-25-resolucao-rdc-n-166-de-24-de-julho-de-2017-19194412](http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/19194581/do1-2017-07-25-resolucao-rdc-n-166-de-24-de-julho-de-2017-19194412)>. Acessado em: 01 out. 2019.

BRAGA TV, OLIVEIRA TT, PINTO JT, DORES RGR, NAGEM TJ (2007) Determinação de massa fresca, massa seca, água e cinzas totais de folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis subsp. *verticillata* e avaliação do processo de secagem em estufa com ventilação forçada. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v.28, n.3, p.287-290.

BUDZYNSKA B, FAGGIO C, KRUK-SLOMKA M, SAMEC D, NABAVI SF, SUREDA A, DEVI KP, NABAVI SM (2019) Rutin as Neuroprotective Agent: From Bench to Beside. *Current Medicinal Chemistry*, v.26, n.27, p.5152-5164.

CASTRO AJA, SÁNCHEZ EO, DOMÍNGUEZ F, TOLEDO GL, CHÁVEZ M, TELLO AJO, CARRANCÁ AG (2012) Antitumor Effect of *Croton lechleri* Mull. Arg. (Euphorbiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, v.140, p.438-442.

CORDEIRO KW, FELIPE JL, MALANGE KF, PRADO PR, FIGUEIREDO PO, GARCEZ FR, FREITAS KC, GARCEZ WS, KADRI MCT (2016) Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Croton urucurana* Baillon bark. *Journal of Ethnopharmacology*, v.183, p.128-135.

DUTRA JAP, VAILLANOVA JCO, SEVERI JA (2016) Obtenção do extrato das folhas de *Croton urucurana* Baill. (Euphorbiaceae) e desenvolvimento de emulsão. *Revista Univap*, v.22, n.40.



DURÁN MG, ALVAREZ MJM (2000) Evaluación de algunas mezclas de solventes en la extracción de carotenoides del pericarpio de Tamarillo (*Cyphomandra betacea* Sendt). *Ciencia y Tecnología de los Alimentos*, v.3, n.1, p.34-38.

EMBRAPA (2017) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em: <[https://www.embrapa.br/documents/1355054/26025431/SITE+ARVORES\\_FICHA\\_2\\_1\\_Croton+urucurana.pdf/9e8719de-3ab1-658e-5a3c-39fa68f007fb](https://www.embrapa.br/documents/1355054/26025431/SITE+ARVORES_FICHA_2_1_Croton+urucurana.pdf/9e8719de-3ab1-658e-5a3c-39fa68f007fb)>. Acessado em: 24 jul 2019.

FABRI RL, SÁ DS, PEREIRA APO, SCIO E, PIMENTA DS, CHEDIER LM (2015) Antimicrobial, antioxidante and cytotoxicity potential of *Manihot multifida* (L.) Crantz (Euphorbiaceae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v.87, n.1. p.303-311.

GURGEL LA, SILVA RM, SANTOS FA, MARTINS DTO, MATTOS PO, RAO VSN (2001) Studies on the Antidiarrhoeal Effect of Dragon's Blood from *Croton urucurana*. *Phytotherapy Research*, v.15, p.319-322.

HABTEMARIAM S (2016) Rutin as a natural therapy for Alzheimer's Disease: Insights into its Mechanisms of Action. *Current Medicinal Chemistry*, v.23, n.9, p.860-873.

KATHIRAVAN V, RAVI S, ASHOKKUMAR S, VELMURUGAN S, ELUMALAI K, KHATIWADA CP (2015) Green synthesis of silver nanoparticles using *Croton sparsiflorus* morang leaf extract and their antibacterial and antifungal activities. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v.139, p.200-205.

LIMA EC, PAIVA R, NOGUEIRA RC, SOARES FP, EMRICH EB, SILVA AAN (2008) Callus induction in leaf segments of *Croton Urucurana* Baill. *Ciência e Agrotecnologia*, v.32, n.1, p.17-22.

LORENZI H (2002) *Árvores Brasileiras-Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil*. 4.ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum. 368p.

LOPES MIL, SAFFI J, ECHEVERRIGARAY S, HENRIQUES JAP, SALVADOR M (2004) Mutagenic and antioxidant activities of *Croton lechleri* sap in biological systems. *Journal of Ethnopharmacology*, v.95, p.437-445.

MATURINO AR, ROJAS RT, ESTRADA AS, MENDOZA DG, SANCHEZ ER, BUSTILLOS RZ, DURAN CC, JUAREZ OG, MARIN MA (2015) Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*) em *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporium*. *Revista Argentina de Microbiología*, v.47, p.72-77.

MENSOR LL, MENEZES FS, LEITÃO GG, REIS AS, SANTOS TC, COUBE CS, LEITÃO SG (2001) Screening of brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research*, v.15, p.127-130.

OLIVEIRA MC, OGATA RS, ANDRADE GA, SANTOS DS, SOUZA RM, GUIMARÃES TG, SILVA-JÚNIOR MC, PEREIRA DJS, RIBEIRO JF (2016) *Manual de Viveiro e Produção de Mudanças: Espécies Arbóreas Nativas do Cerrado*. 1.ed. Rede de Sementes do Cerrado: Brasília.

OJAGHIAN S, DAVOUDI A (2019) Effect of crude extracts and Essential oils of medicinal plants against *Sclerotinia sclerotiorum* in potato fields. *Potato Journal*, v.46, p.24-29.

PEIXOTO AM, SOUSA JSI, TOLEDO FF, REICHARDT K, MOLINA-FILHO J (2006) Enciclopédia Agrícola Brasileira. 1.ed. Editora da Universidade de São Paulo: Fapesp, São Paulo.

PERES MTLP, MONACHE FD, CRUZ AB, PIZZOLATTI MG, YUNES RA (1997) Chemical composition and antimicrobial activity of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, v.56, p.223-226.

PEDRESCHI R, ZEVALLOS LC (2006) Antimutagenic and antioxidant properties of Phenolic fractions from andean purple corn (*Zea mays* L.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v.54, p.4557-4567.

QUINTEROS DA, FRANCESCATO LN, HENRIQUES AT, BASSANI VL (2011) Validação de método analítico para determinação de flavonoides totais em *Equisetum giganteum*. In: SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 23, 2011, Porto Alegre-RS. Anais Porto Alegre:UFRGS.

RAO VS, GURGEL LA, LIMA-JÚNIOR RCP, MARTINS DTO, CECHINEL-FILHO V, SANTOS FA (2007) Dragon's blood from *Croton urucurana* (Baill.) attenuates visceral nociception in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, v.113, p.357-360.

RAO DE, DIVYA K, PRATHYUSHA IVSN, KRISHMA CR, CHAITANYA KV (2017) Insect-Resistant Plants. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Crop Modification, Nutrition, and Food Production*, p.47-74.

RAPOSO F, BIANCO CI (2020) Performance parameters for analytical method validation: Controversies and discrepancies among numerous guidelines. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v.129.

RODRIGUES TS, GUIMARÃES SF, DÔRES RGR, GABRIEL JV (2011) Métodos de secagem e rendimento dos extratos de folhas de *Plectranthus barbatus* (boldo-da-terra) e *P. ornatos* (boldo-muído). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.13, p.587-590.

RODRIGUEZ-AMAYA DB (2001) A guide to carotenoid analysis in food. Washington: International Life Sciences Institute.

ROSADO LDS, PINTO JEBP, BOTREL PP, BERTOLUCCI SKV, NICULAU ES, ALVES PB (2011) Influence of leaf processing and type of drying on the content and Chemical composition of the essential oil of basil cv. Maria Bonita. *Ciência e Agrotecnologia*, v.35. n.2, p.29-296.

SANTOS DS, RODRIGUES MMF (2017) Atividades farmacológicas dos flavonoides: um estudo de revisão. *Estação Científica*, v.7, n.3, p.29-35.

SILVA PD (2012) Determinação de Compostos Fenólicos por HPLC. Dissertação (Mestrado em Química Industrial) - Universidade da Beira Interior, Covilhã.

SILVA F, CASALI VWD (2000) Plantas medicinais e aromáticas: pós-colheita e óleos essenciais. Viçosa: Arte e Livros. 135p.

SILVA SCS, ALVES MA, SOUSA SA, NOGUEIRA JRS, MARTINS DHN, FONSECA-BAZZO YM, GALDOS-RIVEROS AC (2017) Perfil fitoquímico, susceptibilidade antibacteriana e capacidade antioxidante das folhas de *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae). Infarma: Ciências Farmacêuticas, v. 29, n.3, p.264-270.

SINGLETON VL, ROSSI JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, Davis, v.20, p.144-58.

SOBRINHO TJSP, SILVA CHTP, NASCIMENTO JE, MONTEIRO JM, ALBUQUERQUE UP, AMORIM ELC (2008) Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonoides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v.44, n.4.

ULLAH A, BANO A, JANJUA HT (2020) Microbial Secondary Metabolites and Defense of Plant Stress. Microbial Services in Restoration Ecology, p.37-46.

VENTUROSIO LR, BACCHI LMA, GAVASSONI WL, CONUS LA, PONTIM BCA, BERGAMIN AC (2011) Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. Summa Phytopathologica, v.37, n.1, p.18-23.

VIRIATO A (2014) Terpenoides com atividade antifúngica para *Candida* Berkhout, causadoras de infecções hospitalares. O Mundo da Saúde, v.38, n.1, p.40-50.

VIEIRA VHC, VIEIRA ABR, PINHEIRO WBS, COSTA SPSE, PAIVA RS, RIBEIRO SMA (2019) Atividade antimicrobiana de fungos liquenizados ocorrentes no campus Belém da Universidade Federal do Pará, estado do Pará, Brasil. Revista Pan-Amazônica de Saúde, v.10, p.1-7.

## 5 CAPÍTULO II

### REVISTA DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS BÁSICA E APLICADA

#### NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS DE ALGINATO CONTENDO QUERCETINA-3-O-RUTINOSÍDEO

**Freitas, L.L.<sup>1\*</sup>, Resende, E.C.<sup>2</sup>, Alves, C.C.F.<sup>1</sup>, Viali, E.S.N.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Goiano, Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, Rio Verde-GO, 75909-120, Brasil.

<sup>2</sup>Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Goiano, Av. Oeste, 76200-000, Iporá, Brasil. \*lorenafreitas871@gmail.com

**Resumo:** Nanopartículas poliméricas são utilizadas na medicina, cosmética e agricultura pelas vantagens como, incorporar substâncias tanto hidrofóbicas quanto hidrofílicas, capacidade de transporte e outras, buscando por materiais constituintes que sejam biodegradáveis e biocompatíveis que não prejudiquem o meio ambiente. Como ativo pode-se destacar a quercetina-3-O-rutinosídeo, um flavonol derivado do flavonoide quercetina. Este composto é amplamente utilizado na alimentação por oferecer benefícios assim como, antioxidante. Pode ser encontrado em frutas, vegetais, chás, vinhos e plantas do cerrado. Apresenta grande potencial de uso, porém exibe baixa biodisponibilidade. Portanto, para isso, pode-se utilizar a nanotecnologia, por meio de nanopartículas carregadas com os ativos que podem contribuir com a melhor biodisponibilidade, degradação e liberação dos ativos. Diante disso, objetivou-se otimizar as condições de preparação de nanopartículas poliméricas aplicando análise fatorial 2<sup>3</sup> com ponto central para obtenção de nanopartículas vazias e nanopartículas contendo quercetina-3-O-rutinosídeo. A formação de nanopartículas e a estabilidade coloidal foram monitoradas por espectroscopia de UV-Visível e medidas de DLS e potencial zeta. Foi feito um planejamento fatorial 2<sup>3</sup> com ponto central e os efeitos dos componentes das formulações das nanopartículas foram avaliados e se verificou que a eficiência de encapsulação de quercetina-3-O-rutinosídeo sofreu influência positiva com o aumento da quantidade de alginato e CTAB/Alginato, e influência negativa com o aumento da quantidade de Tween. Após oito meses somente duas dispersões de nanopartículas permaneceram estáveis, sendo as amostras quercetina-3-O-ruti3 e QR4, que resultaram em nanopartículas de tamanho 67,53 e 201,6 nm e potencial zeta de -22,9 e -25,3 mV, respectivamente. Os valores da eficiência de encapsulação de quercetina-3-O-rutinosídeo para as formulações preparadas ficaram entre 95,08 a 99,12%. Pôde-se obter com os fatoriais duas dispersões

de nanopartículas de alginato contendo quercetina-3-O-rutinosídeo que permaneceram estáveis por oito meses. Esta estabilidade está ligada diretamente com alginato e tween, presentes na constituição das dispersões.

**Palavras-chave:** biopolímeros, DLS, flavonoides, potencial zeta, rutina

## 5.1 INTRODUÇÃO

Nanopartículas poliméricas são complexos carreadores de princípios ativos. Que através do desenvolvimento de nanoformulações que envolvem técnicas de emulsão, resultando na formação de micelas. As micelas são compartimentos que levam a formação de nanopartículas as quais se tornam carreadoras de ativos, com tamanho variando de 50 a 500 nm (MITTAL, 2011, p.16). Essas nanopartículas podem ser produzidas nas formas de microesferas, micelas poliméricas, nanopartículas poliméricas e cápsulas poliméricas (KUMARI; YADAV; YADAV, 2010; RIVAS et al., 2017).

Por sua vez, as nanopartículas poliméricas apresentam vantagens como, capacidade de incorporar substâncias tanto hidrofóbicas, quanto hidrofílicas, capacidade de transporte e elevada estabilidade coloidal. Elas podem ser aplicadas na agricultura (SAMPATHKUMAR; TAN; LOO, 2020), medicina (TZENG et al., 2016) e cosmética (DRAELOS, 2011), havendo esforços para o desenvolvimento de tecnologias novas buscando elevação da estabilidade coloidal e aperfeiçoamento na entrega dos princípios ativos (DESAI, 2017; PAN et al., 2019). Em aplicações relacionadas a seres humanos as nanoformulações podem ser administradas por diferentes vias, tais como ocular (MEZARIOS et al., 2020), nasal, oral (COSTA et al., 2021) e intravenosa/intramuscular (RIVAS et al., 2017). Na agricultura nanopartículas podem conter diferentes ativos por exemplo, de fertilizantes, herbicidas e pesticidas, sendo comumente administradas por pulverização (PRIFTI; MAÇI, 2015).

No entanto, a escolha do material constituinte de nanopartículas poliméricas é de suma importância, sendo os biodegradáveis e biocompatíveis mais vantajosos para o meio ambiente por serem facilmente degradados e não tóxicos à fauna e flora. Para isso, pode-se recorrer aos biopolímeros, que são produzidos através de organismos vivos, apresentando biodegradabilidade e biocompatibilidade, como exemplos, polímeros de amido, polilactato, alginato, dentre outros (SHOEVA et al., 2020; SAMROT et al., 2020). Dentre estes, o alginato merece destaque por oferecer fácil manipulação, baixo custo, biocompatível, biodegradável e versatilidade (HARIYADI; ISLAM, 2020).

O polissacarídeo alginato de sódio provém da metabolização do ácido algínico, e está presente em paredes celulares de algas marinhas marrons (SELLIMI et al., 2015). É um polímero natural biodegradável, que apresenta biocompatibilidade e disponibilidade alta, não tóxico, sendo desta forma utilizado em diversas áreas, assim como as já citadas (HUIQIONG et al., 2020).

Quando o alginato entra em contato com cátions divalentes, como  $\text{Ca}^{2+}$ , ocorre a gelificação ionotrópica. Este processo leva à junção intercadeias, gerando as nanopartículas, permitindo a encapsulação de ativos na matriz polimérica por meio de interações de van der Waals e eletrostáticas. Esta junção de cadeias faz com o que o alginato deixe de ser solúvel em água, formando nanopartículas e permitindo o encapsulamento dos ativos de interesse (SILVA et al., 2010; SARMENTO et al., 2006; CHAVANPATIL et al., 2007).

Nanopartículas poliméricas podem ser carregadas com diversos ativos, podendo destacar aqueles provindos de fontes vegetais. O ativo quercetina-3-O-rutinosídeo, também conhecido por rutina, é um flavonol glicosilado derivado do flavonoide quercetina, destaca-se por ser amplamente utilizado na alimentação e na medicina, recorrente de seus efeitos antioxidante, antimicrobiano, antitumoral, anti-inflamatório e contra doenças neurodegenerativas (BUDZYNSKA et al., 2019; Habtemariam, 2016). Este composto pode ser encontrado em banana (YINGYUEN; SUKRONG; PHISALAPHONG, 2020), tomate (PÉREZ et al., 2020) e outros.

Diante deste contexto, ressaltando a importância que a quercetina-3-O-rutinosídeo apresenta e as vantagens que as nanopartículas demonstram, o objetivo do estudo foi preparar nanopartículas de alginato contendo quercetina-3-O-rutinosídeo, através de um fatorial para otimização das condições de preparo das nanopartículas.

## 5.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.2.1 Preparação das nanopartículas vazias

Neste ensaio, objetivou-se a realização de fatoriais para obtenção de uma amostra estável. Na Tabela 1, encontra-se os dados do experimento, bem como o fatorial  $2^3$  com ponto central. Assim como, as combinações para análise da superfície resposta, em que o último tratamento significa o ponto central.

**Tabela 1.** Dados do experimento.

Variáveis	X1	X2	X3
-----------	----	----	----

		(Alginato mg.mL <sup>-1</sup> )	(Tween 80 - %m/v)	(CTAB/alginato- m/m)
Níveis	-	0,6	0,5	0,2:1
	+	1,8	1,5	1:1
Tratamento		X1	X2	X3
	---	0,6	0,5	0,2:1
	--+	0,6	0,5	1:1
	-+-	0,6	1,5	0,2:1
	-++	0,6	1,5	1:1
	+--	1,8	0,5	0,2:1
	++-	1,8	0,5	1:1
	+++	1,8	1,5	0,2:1
	000	1,2	1,0	0,6:1

Para este ensaio, utilizou-se soluções preparadas em água destilada dos seguintes reagentes: alginato (10 mg.mL<sup>-1</sup>), cloreto de cálcio (0,67 mg.mL<sup>-1</sup>), brometo de cetiltrimetilamônio (9 mg.mL<sup>-1</sup>) e tween 80 (50 mg.mL<sup>-1</sup>) (SORASITTHIYANUKARN et al., 2019; LERTSUTTHIWONG et al., 2009). A solução de cloreto de cálcio de trabalho utilizada de concentração 0,067 mg.mL<sup>-1</sup> foi preparada através da solução estoque de cloreto de cálcio (0,67 mg.mL<sup>-1</sup>). Na Tabela 2 se observa os volumes utilizados de cada solução para preparo das amostras.

**Tabela 2.** Fatorial para preparação das nanopartículas vazias.

Formulações		Solução A	Solução B	Solução C	Volume água (mL)
		VSE alginato/mL	VSE tween/mL	VSE CTAB/mL	
1	---	1,2	2	0,26	12,4
2	--+	1,2	2	1,3	12,4
3	-+-	1,2	6	0,26	8,4
4	-++	1,2	6	1,3	8,4
5	+--	3,6	2	0,8	8,4
6	+-+	3,6	2	4	8,4
7	++-	3,6	6	0,8	4,4
8	+++	3,6	6	4	4,4
9	000	2,4	4	1,6	8,4

VSE: volume de solução estoque.

Para esta preparação, seguiu-se os seguintes passos: adicionou-se em um béquer as soluções A e B e foi completado o volume com água destilada para 20 mL. Esta mistura foi colocada sob agitação magnética vigorosa e durante 30 minutos foi adicionado 4 mL da solução de CaCl<sub>2</sub>, gota a gota lentamente com auxílio de uma micropipeta. Em seguida, em um béquer foi adicionado o volume da solução C e completou o volume para 4 mL e seguindo o mesmo procedimento de adição descrito anteriormente. Ao final as dispersões foram reservadas em tubos cônicos.

Para todos os tratamentos após obtenção das amostras, realizou-se leituras em comprimento de onda 650 nm das amostras sem diluição utilizando o espectrofotômetro UV-Vis (BEL Photonics). As medidas de absorvância obtidas foram utilizadas para monitoramento da estabilidade coloidal das amostras.

### 5.2.2 Preparação de nanopartículas com quercetina-3-O-rutinosídeo

Para preparação das nanopartículas com quercetina-3-O-rutinosídeo denominadas por QR, utilizou-se o fatorial anterior com modificações das variáveis, conforme apresentado na Tabela 3. A concentração da solução de alginato foi fixado em 10 mg/mL, correspondendo o volume de 3,6 mL, que corresponde o nível máximo trabalhado na Tabela 1, os volumes de solução de tween transformados em 4 mL (para as formulações 1, 2, 5 e 6), 8 mL (para a formulação 9) e 12 mL (para as formulações 3, 4, 7 e 8), não foi adicionado água para esta preparação e permaneceu o volume de solução de CaCl<sub>2</sub>. Após o preparo das dispersões, foi realizado o acompanhamento da estabilidade destas amostras através de leituras em espectrofotômetro a 750 nm.

**Tabela 3.** Planejamento fatorial para preparação de nanopartículas contendo quercetina-3-O-rutinosídeo.

Formulações	VS quercetina-3-O-rutinosídeo /mL	VS tween/mL	VS CTAB/mL
QR1	1	4	0,26
QR2	1	4	1,3
QR3	1	12	0,26
QR4	1	12	1,3
QR5	3	4	0,8
QR6	3	4	4
QR7	3	12	0,8
QR8	3	12	4
QR9	2	8	1,6

### 5.2.3 Determinação da eficiência de encapsulação

Foi determinada a eficiência de encapsulação do ativo nas nanopartículas através do método de ultrafiltração/centrifugação. O método consistiu em submeter a suspensão de nanopartículas à centrifugação em dispositivos de ultrafiltração constituídos de celulose regenerada de 10 kDa (Microcon – Millipore) e à quantificação do ultrafiltrado posteriormente por cromatografia líquida (CLAE-DAD). Neste procedimento as nanopartículas ficaram retidas pela membrana, enquanto o meio de dispersão, a fase aquosa contendo o ativo não encapsulado, é filtrada. Os ultrafiltrados das formulações serão assim quantificados por CLAE-DAD utilizando a Equação [1].



$$EE (\%) = \frac{QT_{\text{inicial}} - QT_{\text{sobrenadante}}}{QT_{\text{inicial}}} \times 100$$

Equação [1]

Em que:

$QT_{\text{inicial}}$  = quantidade total de quercetina-3-O-rutinosídeo inicial;

$QT_{\text{sobrenadante}}$  = quantidade total de quercetina-3-O-rutinosídeo no sobrenadante.

O método analítico foi desenvolvido através de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de fotodiodos (CLAE-DAD Shimadzu<sup>®</sup>) com injetor automático e bomba quaternária. A injeção do padrão de quercetina-3-O-rutinosídeo se deu através de uma coluna Supelcosil TML C<sub>18</sub> (250 mm x 4,6 mm, 5 μm) Shimadzu<sup>®</sup> acoplada a pré-coluna Shim-pack GVP-ODS 10Lx4.6, fluxo de 1,0 mL.min<sup>-1</sup>, volume de injeção de 20 μL, temperatura de 30°C, varredura entre 190nm-400nm e quantificação em 254 nm. Os solventes utilizados na fase móvel foram: (A) água acidificada com 0,1% de ácido acético e (B) metanol. A eluição ocorreu em gradiente linear, iniciando 10% B: 90% A (32 min), 66% B: 34% A (32 min), 10% B: 90% A (35 min), e reequilibrando a coluna com 10% B: 90% A (40 min).

Para construção da curva de calibração foram preparadas seis soluções do padrão (quercetina-3-O-rutinosídeo) em metanol a diferentes concentrações (500, 250, 125, 50, 25 e 10 μg.mL<sup>-1</sup>). Após, foram injetados os meios de dispersão das amostras de nanopartículas de alginato contendo quercetina-3-O-rutinosídeo.

#### **5.2.4 Determinação do tamanho hidrodinâmico e polidispersão das nanopartículas**

O diâmetro hidrodinâmico e polidispersão das nanopartículas poliméricas foi determinado através da técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS). As medidas foram realizadas em equipamento Zetasizer Nano ZS da Malvern *Instruments*. Utilizou-se o valor de índice de refração para o alginato 1,33, absorção 0,01, viscosidade 0,8872 mPa.s para a amostra de QR4 e viscosidade 0,9308 cP para a amostra de QR3, a 25°C.

#### **5.2.5 Determinação do potencial zeta**

O potencial zeta foi obtido através das medidas de mobilidade eletroforética,

realizada em aparelho Zetasizer Nano ZS da Malvern *Instruments*. As leituras foram realizadas com as amostras puras, com viscosidade de 0,8872 e constante dielétrica do dispersante de 78,5.

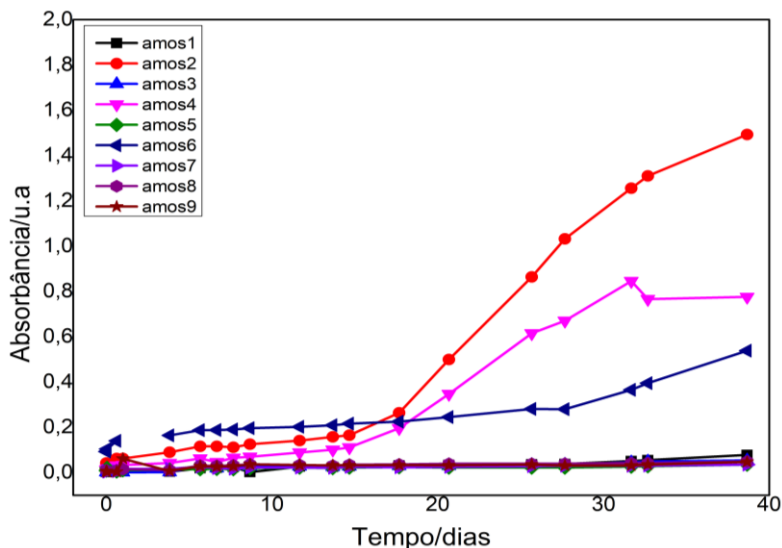
## **5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.3.1 Ensaio com as nanopartículas vazias**

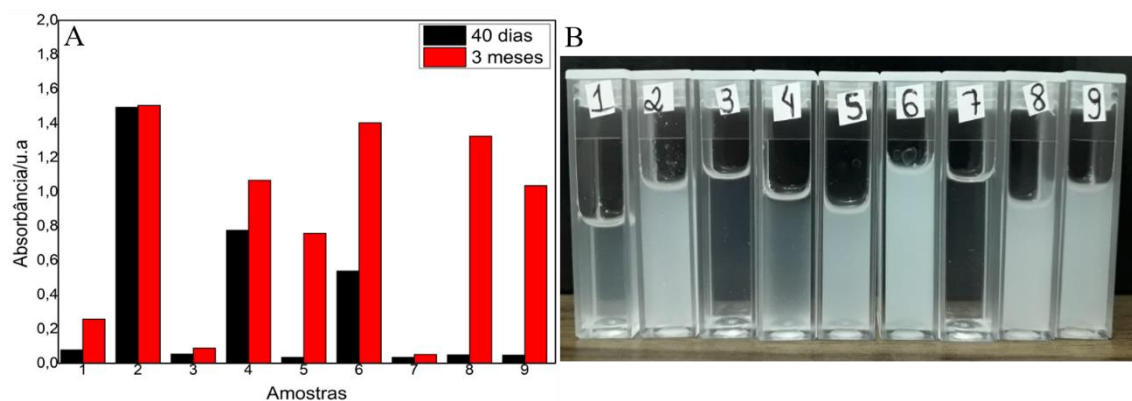
Neste ensaio foi acompanhado a estabilidade das nanopartículas poliméricas de alginato vazias, por meio de leituras em espectrofotômetro das nove amostras obtidas, em período de tempo iniciando em 0 hora, 1 hora, 15 horas, 24 horas e diariamente até 40 dias e após três meses.

Das nove amostras obtidas, inicialmente as que apresentaram aspecto turvo foram as amostras de número dois, quatro e seis, concordando com os valores de absorvância que foram superiores as demais amostras que apresentaram aspecto transparente. Já com o passar do tempo outras amostras também ficaram turvas. Essas amostras que estavam turvas são constituídas por maiores concentrações de CTAB, alginato e menor concentração de tween. Nota-se que a concentração de CTAB, de alginato e tween influenciam diretamente na estabilidade dessas amostras. Em consonância com o trabalho de Mirtic, Ilas e Kristl (2018), notando que a razão massa CTAB/alginato implica na estabilidade das nanopartículas. Destaca-se também que as amostras constituídas pelo volume de 3,6 mL de solução de alginato se apresentaram estáveis por 40 dias.

Através do acompanhamento das amostras foi elaborada a Figura 1, que apresenta a estabilidade das amostras durante 40 dias, podendo observar que as amostras de número dois, quatro e seis representadas pelas cores vermelho, lilás e azul escuro são as que diferenciam das outras amostras. Essas três amostras se mantiveram estáveis por um período, mas logo se desestabilizaram apresentando máximo de absorvância próximo de 1,6, sendo o ocorrido com a amostras dois. Na Figura 2A, observa-se a estabilidade das amostras a 40 dias e após três meses, em concordância com a Figura 2B, sendo observado o aspecto das amostras após três meses de síntese.



**Figura 1.** Absorbância (nm) versus tempo (dias) das amostras obtidas, leituras realizadas em comprimento de onda de 650nm durante 40 dias. Fonte: a autora.



**Figura 2.** A: Estabilidade das amostras a 40 dias e após três meses de síntese. B: Aspecto das amostras de nanopartículas vazias após três meses de síntese. Fonte: a autora.

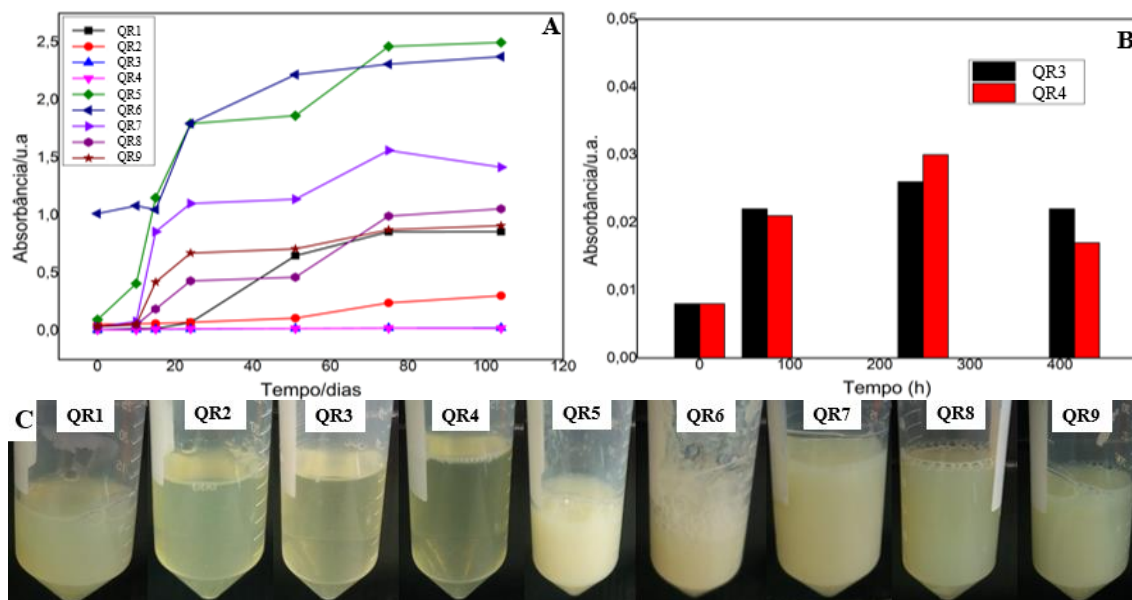
### 5.3.2 Ensaios com as nanopartículas contendo quercetina-3-O-rutinosídeo

Neste ensaio foi acompanhado a estabilidade das nanopartículas de alginato contendo quercetina-3-O-rutinosídeo, através de leituras em espectrofotômetro das nove amostras obtidas, em 0 hora, 1 hora, 15 horas, 24 horas e diariamente até completar 16 dias.

Das nove amostras obtidas, notou-se que inicialmente a amostra que apresentou o maior valor de absorbância foi a amostra QR6, com absorbância acima de 1, como pode ser observado na Figura 3A, sendo representada pela linha de cor azul escuro. Com o passar do tempo as demais amostras com exceção das amostras QR3 e QR4 que permaneceram transparentes, as demais estavam turvas e com aspecto leitoso (Figura 3C).

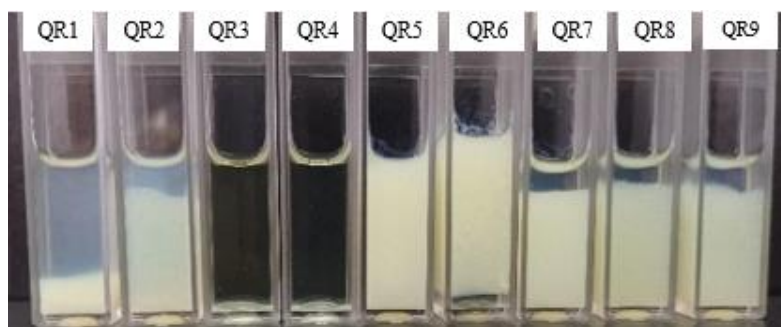
Na Figura 3B, observa-se o acompanhamento das amostras QR3 e QR4 desde o tempo inicial.

Com estes resultados, nota-se que as maiores concentrações de alginato e tween possibilitou que as amostras de nanopartículas QR1, QR2, QR3 e QR4 se mantiveram com valores de absorbância entre 0,017 e 0,834 por 13 dias com aspecto turvo. A amostra QR5 se manteve estável por 1 hora, após esse tempo já apresentou valor de absorbância acima de 1, e apresentou aspecto leitoso desde a síntese. A amostra QR7 se manteve com valor de absorbância de 0,857 até 15 horas, após já apresentou valor acima de 1, com aspecto leitoso. Já as amostras QR8 e QR9 demonstraram aspecto leitoso desde a síntese e valor de absorbância abaixo de um por quatro dias.



**Figura 3.** A: Absorbância versus tempo das nove amostras de nanopartículas de alginato contendo quercetina-3-O-rutinosídeo por 120 dias. B: Absorbância (nm) versus tempo (horas) das amostras contendo quercetina-3-O-rutinosídeo, leituras realizadas durante 16 dias. C: Imagem das amostras de nanopartículas de alginato contendo quercetina-3-O-rutinosídeo no dia da síntese. Fonte: a autora.

A Figura 4 apresenta a foto das amostras de nanopartículas de alginato contendo quercetina-3-O-rutinosídeo após oito meses de síntese. Observa-se que as amostras QR3 e QR4 continuaram estáveis, já as demais amostras coagularam e sedimentaram. Desta forma, as amostras QR3 e QR4 foram selecionadas para análise de DLS.



**Figura 4.** Amostras de nanopartículas de alginato contendo quercetina-3-O-rutinosídeo após oito meses de síntese. Fonte. a autora.

Na Figura 5A, observa-se a distribuição de tamanho por intensidade da luz espalhada para a amostra QR3 representada pela cor preta. Observa-se população de 83,9% de partículas com média de tamanho de 13 nm. Outra população na faixa de tamanho de 560 nm, e por fim pequena população na faixa de 5000 nm. Com estes dados, pode ser atribuída a esta última população a formação de agregados na amostra. A amostra QR3 se manteve estável por aproximadamente sete meses (dia da síntese - Figura 3C, após sete meses de síntese - Figura 4). Os dados de média de tamanho, índice de polidispersão, potencial zeta e as absorvâncias iniciais e finais dessas duas amostras são apresentados na Tabela 4.

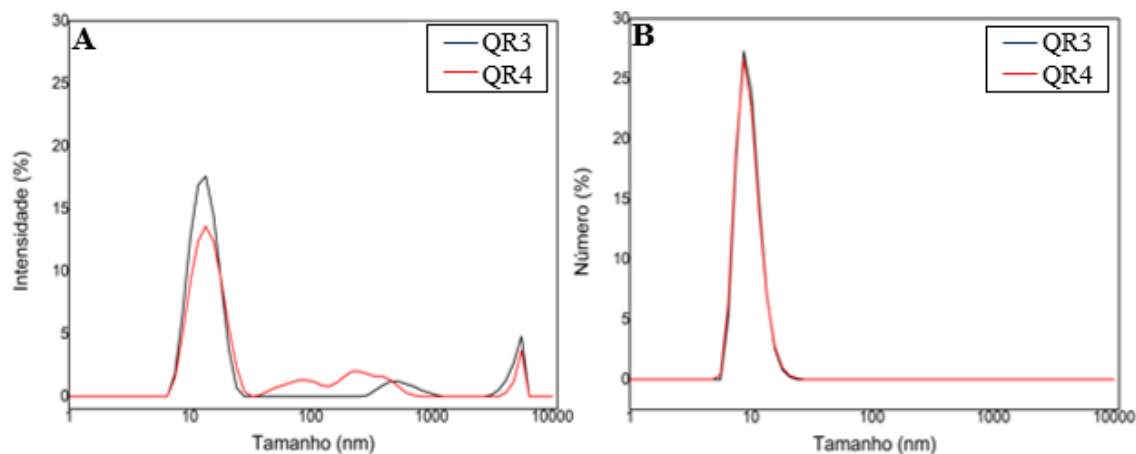
**Tabela 4.** Dados da análise de Espalhamento Dinâmico de Luz para as amostras QR3 e QR4.

Amostras	Absorbância (inicial)	Absorbância (final)	Média de tamanho (nm)	Índice de polidispersão (PDI)	Potencial zeta (mV)
QR3	0,008	0,022	67,53	0,259	-22,9
QR4	0,008	0,017	201,6	0,486	-25,3

Já a amostra QR4 apresentou média de tamanho de 201,6 nm e PDI de 0,486. Apresentou três populações, sendo a primeira com média de 14,30 nm, perfazendo 71,1%, outra população de 15% com tamanho médio de 301 nm, e por fim, uma população 8,8% com média 86,84 nm de tamanho. Seu potencial zeta foi de -25,3 mV. Se comparada com a amostra anterior, essa se apresenta mais polidispersa com maior tamanho médio das partículas. O fato da QR4 apresentar mais agregados está relacionado a sua composição, sendo seu diferencial na concentração de CTAB.

Nota-se que em ambos os casos apresentam população por volta de 13 nm, sendo esta a população majoritária, o fator mais variante entre elas são as populações de agregados na faixa de 50 a 1000 nm. Essas populações de agregados exercem maior intensidade de espalhamento na QR4 do que na QR3.

O valor negativo do potencial zeta, leva-se em consideração o pH da amostra sendo de neutro para básico, devido os grupos carboxilatos presentes apresentarem carga negativa, com isso, quando está em solução as nanopartículas irão apresentar valor negativo porque os grupos são carregados negativamente.



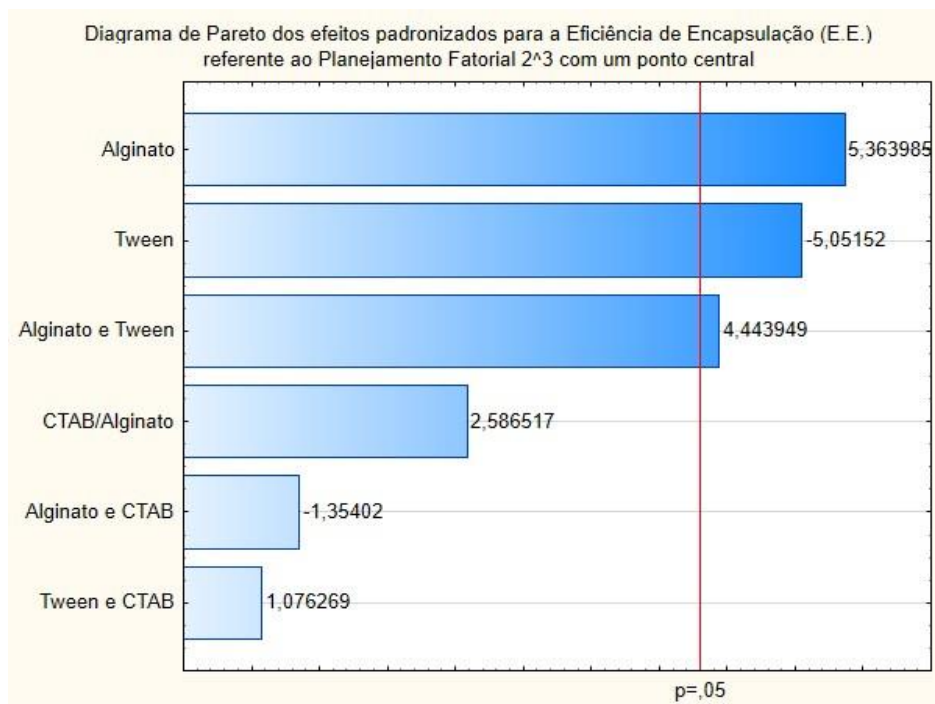
**Figura 5.** A: Distribuição de tamanho por intensidade de luz espalhada para as amostras de nanopartículas de alginato carregadas com quercetina-3-O-rutinosídeo. B: Distribuição de tamanho por número de população para as amostras.

Os valores de tamanho de partícula e potencial zeta se aproximam do valor encontrado por Mirtic, Ilas e Kristl (2018), que trabalhou com nanopartículas de alginato utilizando o CTAB como reticulante. As nanopartículas obtidas apresentaram tamanho de 170 nm e potencial zeta de -25 mV.

Os trabalhos de Mukhopadhyay et al (2017) e Katuwavila et al (2016) desenvolveram nanopartículas de alginato e quitosana, as quais apresentaram tamanho de aproximadamente 91,58 e 100 nm respectivamente, sendo próximos aos encontrados no presente trabalho. Já o trabalho de Remanam e Zhu (2020) obtiveram valor médio de nanopartículas de amido de milho e quinoa contendo rutina, os valores de 107 e 222 nm, valores próximos aos encontrados para nanopartículas de alginato contendo rutina. Para o potencial zeta do trabalho de Remanam foi inferior ao desse trabalho, sendo de -18 e -18,5 mV.

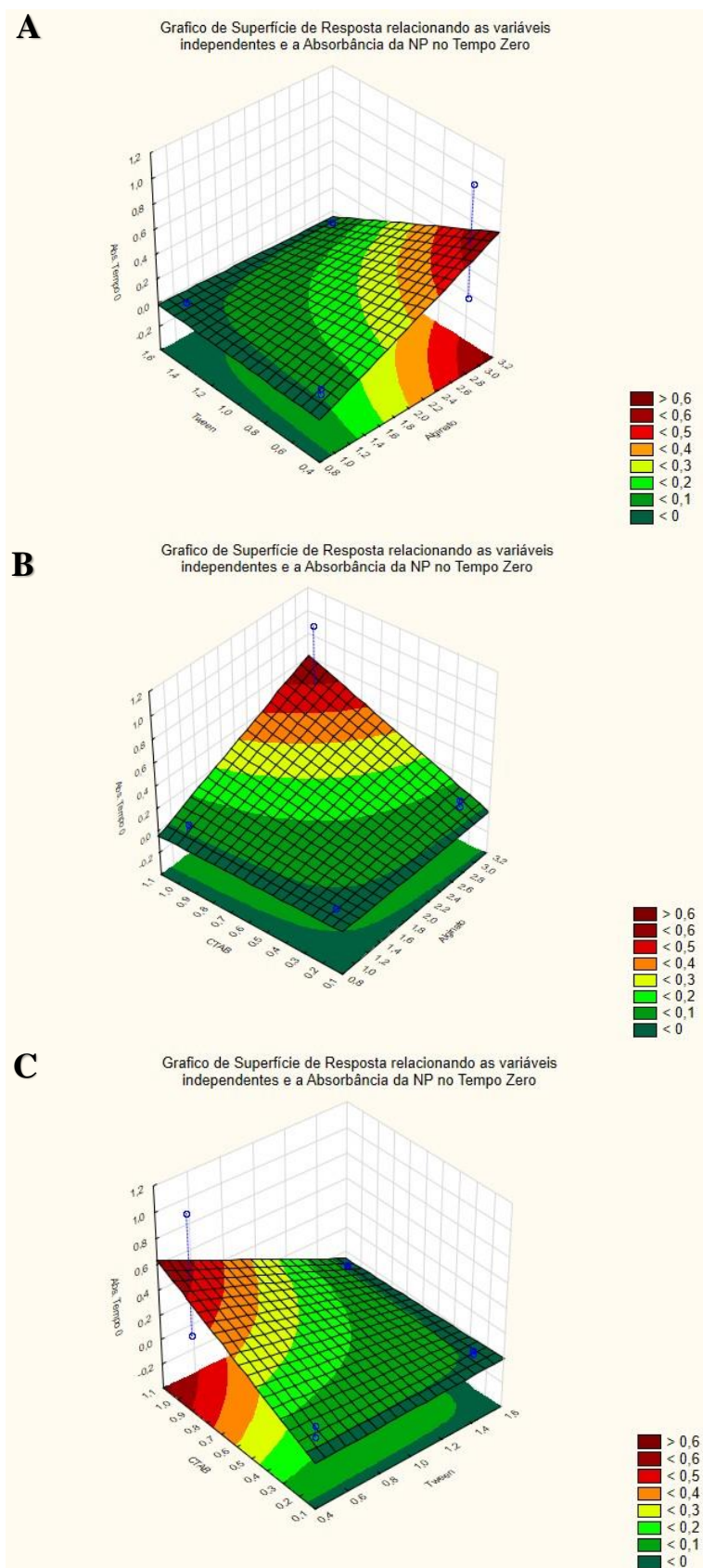
Na Figura 6 está apresentado o diagrama de Pareto dos efeitos padronizados para a eficiência de encapsulação de quercetina-3-O-rutinosídeo nas nanopartículas de alginato referentes ao planejamento fatorial  $2^3$  com ponto central das formulações. Os dados foram tratados utilizando o programa StatSoft, Inc. (2014). STATISTICA (data analysis software system), version 12. Conforme apresentado na Figura 6, o fator linear alginato e a interação dos dois fatores alginato e Tween possuem efeitos positivos de

forma significativa. O fator linear Tween apresentou efeito negativo de forma significativa. A interação linear do CTAB/Alginato e das interações dos fatores combinados (Alginato e CTAB/Alginato; Tween e CTAB/Alginato) não apresentaram efeitos significativos sobre a eficiência de encapsulação do ativo.



**Figura 6.** Diagrama de Pareto dos efeitos padronizados. A resposta é eficiência de encapsulação (%) de quercetina-3-O-rutinosídeo nas nanopartículas com efeitos de valores acima da linha tracejada ( $p=0,05$ ) foram significativos. Linear (Alginato, Tween e CTAB/Alginato) e interação com dois fatores (Alginato\*Tween, Alginato\* CTAB/Alginato e Tween\* CTAB/Alginato). Tratamento dos dados realizado no StatSoft, Inc. (2014). STATISTICA (data analysis software system), version 12. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)

Conforme apresentado na Figura 7, os gráficos de superfície de resposta sobre a influência relacionando as variáveis independentes e a absorvância das nanopartículas no tempo zero sofre influência positiva com o aumento da quantidade de tween, e influência negativa com o aumento da quantidade de CTAB presente nas formulações de nanopartículas.



**Figura 7.** Gráficos dos experimentos das superfícies respostas relacionando as variáveis independentes e a absorbância das nanopartículas no tempo zero. A) Alginato x Tween; B) Alginato x CTAB/Alginato; C) Tween x CTAB/Alginato. Tratamento dos dados realizado no StatSoft, Inc. (2014). STATISTICA (data analysis software system), version 12. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).



### 5.3.3 Determinação da eficiência de encapsulação

A Tabela 5 apresenta os resultados para a eficiência de encapsulação (%) de quercetina-3-O-rutinosídeo nas formulações de nanopartículas de alginato. Observa-se que os valores variaram de 95,08 a 99,12 % e representa alta encapsulação do ativo nas formulações.

**Tabela 5.** Eficiência de encapsulação de quercetina-3-O-rutinosídeo nas nanopartículas de alginato.

Formulações	QTD de QR adicionada (µg)	Qtd média de QR adicionada (µg)	Volume total da form (mL)	EE (%) média	DP	DPR
QR1	17500	274,0	16,6	98,43	0,0132	0,0134
QR2	17500	183,69	16,6	98,95	0,0017	0,0017
QR3	17500	860,23	24,6	95,08	0,0289	0,0304
QR4	17500	552,74	24,6	96,84	0,0271	0,0280
QR5	52500	644,66	18,6	98,77	0,0041	0,0041
QR6	52500	460,91	18,6	99,12	0,0024	0,0024
QR7	52500	735,93	26,6	98,60	0,0031	0,0031
QR8	52500	549,31	26,6	98,95	0,0024	0,0025
QR9	35000	525,63	21,6	98,50	0,0030	0,0030

Tratamento estatístico feito no do software Microsoft® Excel® para Microsoft 365 versão 2010 para Windows®. Qtd: quantidade. V: volume. Form: formulação. DP: Desvio Padrão. DPR: Desvio Padrão Relativo.

O efeito negativo do tensoativo Tween sobre o valor de encapsulação pode ser explicado pelo fato da quercetina-3-O-rutinosídeo ter característica mais lipofílica (pouco solúvel em água). Assim, a presença do polissorbato faz com que a quercetina-3-O-rutinosídeo tende a ficar mais no sobrenadante (fase aquosa da formulação) do que na partícula de alginato.

## 5.4 CONCLUSÃO

Diante dos fatoriais planejados para as nanopartículas vazias foram obtidas nove amostras, entre elas as que apresentaram valores de absorvância menor que um, foram amostras de número um, três, cinco, sete, com absorvância variando entre 0,051 a 0,257. Apresentando estabilidade desde a preparação até três meses, podendo o alginato ter contribuído para esta estabilidade.

Para as nove amostras obtidas de nanopartículas de alginato contendo quercetina-3-O-rutinosídeo, as que se mantiveram estáveis por oito meses, após síntese, foram as amostras QR3 e QR4. As mesmas demonstraram média de tamanho de 67,53 e 201,6 nm, potencial zeta de -22,9 e -25,3 mV e PDI de 0,259 e 0,486, respectivamente.

A eficiência de encapsulação de quercetina-3-O-rutinosídeo sofreu influência positiva com o aumento da quantidade de alginato e CTAB/Alginato e influência negativa

com o aumento da quantidade de Tween presente nas formulações de nanopartículas. Os valores de encapsulação variaram de 95,08 a 99,12 % apresentando alta encapsulação do ativo nas formulações.

## 5.5 REFERÊNCIAS

ARDELEAN, L.G.; LACKNER, A.K.; ARDELEAN, M.G.; DUMITRU, A.D.I.; KOZMA, A. Physical and chemical aspects of polymeric materials in cosmetic dental prosthetic therapy. *ORL.ro*, p.46-48, 2020.

BUDZYNSKA, B.; FAGGIO, C.; KRUK-SŁOMKA, M.; SAMEC, D.; NABAVI, S.F.; SUREDA, A.; DEVI, K.P.; NABAVI, S.M. Rutin as Neuroprotective Agent: From Bench to Bedside. *Curr Med Chem*, v.26, n.27, p.5152-5164, 2019.

DRAELOS, Z.D. Reinvigorating cosmetic dermatology with the nanoparticle Revolution. *J Cosmet Dermatol*, v.10, p.251-252, 2011.

DESAI, K.G.H. Polymeric drug delivery systems for intraoral site-specific chemoprevention of oral câncer. *Biomater J Biomed Mater res B Appl*, v.106, n.3, p.1-31, 2017.

HABTEMARIAM, S. Rutin as a natural therapy for Alzheimer's Disease: Insights into its Mechanisms of Action. *Curr Med Chem*, v.23, n.9, p.860-873, 2016.

KATUWAVILA, N.P.; PERERA, A.D.L.; SAMARAKOON, S.R.; SOYSA, P.; KARUNARATNE, V.; AMARATUNGA, G.A.J.; KARUNARATNE, D.N. Chitosan-Alginate Nanoparticle System Efficiently Delivers Doxorubicin to MCF-7 Cells. *J. Nanomater*, p.1-12, 2016.

KUMARI, A.; YADAV, S.K.; YADAV, S.C. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids and Surf B Biointerfaces*, v.75, p.1-18, 2010.

LERTSUTTHIWONG, P.; ROJSITTHISAK, P.; NIMMANNIT, U. Preparation of turmeric oil-loaded chitosan-alginate biopolymeric nanocapsules. *Mater Sci Eng*. v. 29, p. 856 - 860, 2009.

MIRTIC, J.; ILAS, J.; KRISTL, J. Influence of different classes of crosslinkers on alginate polyelectrolyte nanoparticle formation, thermodynamics and characteristics. *Carbohydr Polym*, v.28, p.93-102, 2018.

MUKHOPADHYAY, P.; MAITY, S.; MANDAL, S.; CHAKRABORTI, A.S.; PRAJAPATI, A.K.; KUNDU, P.P. Preparation, characterization and *in vivo* Evaluation of pH sensitive, safe quercetin-succinylated chitosan-alginate core-shell-corona nanoparticles for diabetes treatment. *Carbohydr Polym*, 2017.

MITTAL, V. *Advanced Polymer Nanoparticles: Synthesis and Surface Modifications*. Nova York: Taylor & Francis Group, 2011. 372p.

PAN, J.; ROSTAMIZADEH, K.; FILIPCZAK, N.; TORCHILIN, V.P. Polymeric Co-Delivery Systems in Cancer Treatment: An Overview on Component Drug's Dosage Ratio Effect. *Molecules*, v.24, 2019.

PÉREZ, E.G.T.; AGUIRRE, S.A.; GARCÍA, U.L.; MORALES, M.V.; ZURITA, A.K.I.; BASURTO, R.I.O.; LÓPEZ, A.C. Effect of ultrasound treatment on the quality and contents of polyphenols, lycopene and rutin in tomato fruits. *Czech Journal of Food Sciences*, v.38, p.20-27, 2020.

PRIFTI, D.; MAÇAI, A. The effect of herbagegreen fertilizer nanoparticles in wheat productivity through leaf pulverization. *Albanian J. Agric. Sci.*, v.14, p.350-354, 2015.

REMANAM, M.K.; ZHU, F. Encapsulation of rutin using quinoa and maize starch nanoparticles. *Food Chem*, p.1-38, 2020.

RIVAS, C.J.M.; TARHINI, M.; BADRI, W.; MILADI, K.; GREIGE-GERGES, H.; NAZARI, Q.A.; RODRÍGUEZ, S.A.G.; ROMÁN, R.A.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Nanoprecipitation process: From encapsulation to drug delivery. *Int J Pharm*, v.532, p.66-68, 2017.

SAMROT, A.V.; SEAN, T.C.; KUDAIYAPPAN, T.; BISYARAH, U.; MIRARMANDI, A.; FARADJEVA, E.; ABUBAKAR, A.; ALI, H.H.; ANGALENE, J.L.A.; KUMAR, S.S. Production, characterization and application of nanocarriers made of polysaccharides, proteins, bio-polyesters and other biopolymers: A review. *Int J of Biol Macromol*, v.165, p.3088-3105, 2020.

SHOEVA, O.Y.; MURSALIMOV, S.R.; GRACHEVA, N.V.; GLAGOLEVA, A.Y.; BORNER, A.; KHLESTKINA, E.K. Melanin formation in barley grain occurs within plastids of pericarp and husk cells. *Sci Rep*. v.10, p.1-9, 2020.

SORASITTHIYANUKARN, F. N.; BHUKET, P. R. N. B.; MUANGNOI, C.; ROJSITTHISAK, P.; ROJSITTHISAK, P. Chitosan/alginate nanoparticles as a

promising carrier of novel curcumin diethyl diglutarate. *Int J Biol Macromol*, v. 131, p. 1125-1136, 2019.

TZENG, S.Y.; WILSON, D.R.; HANSEN, S.K.; HINOJOSA, A.Q.; GREEN, J.J. Polymeric nanoparticle-based delivery of TRAIL DNA for cancer-specific killing. *Bioengineering & Translational Medicine*, v.1, p.149-159, 2016.

YINGYUEN, P.; SUKRONG, S.; PHISALAPHONG, M. Isolation, separation and purification of rutin from Banana leaves (*Musa balbisiana*). *Ind Crops Prod*, v.149, 2020.

## 6 CONCLUSÃO GERAL

De acordo com os resultados obtidos pôde-se concluir que:

O melhor método de extração para o flavonol quercetina-3-O-rutinosídeo foi o E-Hidro, o que apresentou quantitativo de 34,559 mg.g<sup>-1</sup> no extrato. O E-Hidro e o E-Met apresentaram percentual de atividade antioxidante de 93,78 e 93,22, respectivamente. O E-Met apresentou maior quantitativo de fenólicos totais, perfazendo 41,35 mg EAG e o E-Hex se destacou com a quantidade de carotenoides, sendo 16003,06 µg.g<sup>-1</sup>.

O método cromatográfico desenvolvido demonstrou precisão, exatidão, simplicidade e linearidade para execução. Sendo o mais adequado para identificar e quantificar o composto quercetina-3-O-rutinosídeo.

Para o teste antifúngico, concluiu-se que o E-Hex apresentou melhor performance de inibição contra o fungo *Rhizopus stolonifer*, e demonstrou performance semelhante ao E-Hidro contra o fungo *Sclerotinia sclerotiorum*.

O fatorial planejado para preparação de nanopartículas de alginato contendo quercetina-3-O-rutinosídeo que proporcionou estabilidade para as formulações por longo tempo (oito meses), foi o planejado para as amostras QR3 e QR4. As nove formulações preparadas apresentaram eficiência de encapsulação entre 95,08 a 99,12%.

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO**

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

**Identificação da Produção Técnico-Científica**

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese  | <input type="checkbox"/> Artigo Científico              |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação                      | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro              |
| <input type="checkbox"/> Monografia – Especialização                 | <input type="checkbox"/> Livro                          |
| <input type="checkbox"/> TCC - Graduação                             | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ |   |

Nome Completo do Autor: Lorena Lemes de Freitas

Matrícula: 2018203310310058

Título do Trabalho: Extrato das folhas de Sangra D'Água (*Croton urucurana* Baillon): obtenção, caracterização fitoquímica, nanoencapsulamento e avaliação da atividade antifúngica.

**Restrições de Acesso ao Documento**

Documento confidencial:  Não  Sim, justifique: \_\_\_\_\_

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIIF Goiano: 31/10/2021

O documento está sujeito a registro de patente?  Sim  Não

O documento pode vir a ser publicado como livro?  Sim  Não

**DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA**

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Rio Verde, 12 / 05 / 2021  
Local Data

*Lorena Lemes de Freitas*

Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

*Elviza Nunes*

Assinatura de(a) orientador(a)