



UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA

**ALEXANDER FERREIRA VENTURA DE
SOUZA**

Produtos obtidos por termoconversão como
potenciais inseticidas contra pragas de importância
econômica na agropecuária

Tese de doutorado submetida à
Universidade Federal Fluminense visando à obtenção do grau de
Doutor em Ciências e Biotecnologia

Orientadora: Dra. Evelize Folly das Chagas

Coorientador: Dr. Gilberto Alves Romeiro



Niterói
2023

ALEXANDER FERREIRA VENTURA DE SOUZA

**PRODUTOS OBTIDOS POR TERMOCONVERSÃO
COMO POTENCIAIS INSETICIDAS CONTRA PRAGAS
DE IMPORTÂNCIA ECONÔMICA NA AGROPECUÁRIA**

Trabalho desenvolvido no Laboratório de Estudos em Pragas e Parasitos (LEPP) do Departamento de Biologia Celular e Molecular (GCM) do Instituto de Biologia, Programa de Pós-Graduação em Ciências e Biotecnologia (PPBI), Universidade Federal Fluminense. Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, FAPERJ, UFF-FOPESQ

Tese de Doutorado submetida à Universidade Federal Fluminense como requisito parcial visando à obtenção do grau de Doutor em Ciências e Biotecnologia.

**Orientadora: Dra. Evelize Folly das Chagas
Coorientador: Dr. Gilberto Alves Romeiro**

Ficha catalográfica automática - SDC/BCV
Gerada com informações fornecidas pelo autor

S719p Souza, Alexander Ferreira Ventura de
PRODUTOS OBTIDOS POR TERMOCONVERSÃO COMO POTENCIAIS
INSETICIDAS CONTRA PRAGAS DE IMPORTÂNCIA ECONÔMICA NA
AGROPECUÁRIA / Alexander Ferreira Ventura de Souza. - 2023.
136 f.: il.

Orientador: Evelize Folly das Chagas.
Coorientador: Gilberto Alves Romeiro.
Tese (doutorado)-Universidade Federal Fluminense, Instituto
de Biologia, Niterói, 2023.

1. Biotecnologia. 2. Pirólise. 3. Pesticida. 4. Resíduo.
5. Produção intelectual. I. Chagas, Evelize Folly das,
orientadora. II. Romeiro, Gilberto Alves, coorientador. III.
Universidade Federal Fluminense. Instituto de Biologia. IV.
Título.

CDD - XXX

ALEXANDER FERREIRA VENTURA DE SOUZA

PRODUTOS OBTIDOS POR TERMOCONVERSÃO COMO POTENCIAIS INSETICIDAS CONTRA PRAGAS DE IMPORTÂNCIA ECONÔMICA NA AGROPECUÁRIA

Tese de Doutorado submetida à
Universidade Federal
Fluminense como requisito
parcial visando à obtenção do
grau de Doutor em Ciências e
Biotecnologia.

Banca Examinadora:

Dra. Evelize Folly das Chagas – Departamento de Biologia Celular e Molecular – UFF (Orientadora/Presidente)

Dr. Cícero Brasileiro de Mello Neto – Departamento de Biologia Celular e Molecular – UFF

Dra. Andréa Regina de Souza Baptista – Departamento de Microbiologia e Parasitologia – UFF

Dr. Caio Pinho Fernandes - Departamento de Tecnologia farmacêutica – UFF

Dra. Rita de Cássia Figueira Silva – PESAGRO-RIO

Dra. Monique Kort Kamp Figueiredo - IFRJ

Dra. Rosane Lima Lopes – UFRJ (Suplente)

Dra. Camila Mattos de Oliveira – UFF (Suplente)

Dr. Gilberto Alves Romeiro – Departamento de Química Orgânica – UFF (Coorientador)

Agradecimentos

Agradeço profundamente à minha esposa Júlia, que escolheu trilhar esta jornada ao meu lado e, com seu amor e apoio incondicionais, dá significado pleno à minha vida.

Às pessoas mais importantes da minha vida, meus pais e minha avó, que me brindaram com seu carinho infinito e não pouparam esforços para me conduzir até esta etapa tão importante da minha trajetória.

À minha orientadora, a Professora Evelize, expresso minha gratidão por ter me concedido a oportunidade e por ter depositado confiança em meu trabalho.

Ao meu coorientador, o Professor Gilberto, meu reconhecimento pelos valiosos ensinamentos na área de conversões térmicas.

Quero estender minha gratidão à equipe do LEPP: Juliana, Lucca, Yasmin, Bia, Tadeu, Camila e Silvio. Pela amizade, companheirismo e espírito de trabalho em equipe, que são fundamentais em nossa área de atuação.

À equipe do Laboratório de Síntese Orgânica, Cromatografia e Química Ambiental – SINCROMA, agradeço pela amizade sincera e pelo fornecimento das conversões essenciais para minha pesquisa.

Aos respeitáveis membros da Banca, agradeço por aceitarem avaliar e enriquecer meu trabalho com suas contribuições valiosas.

Aos Professores do PPBI, expresso minha gratidão por sua amizade e por todo o conhecimento transmitido ao longo dos últimos 6 anos.

Por fim, dedico meu reconhecimento aos órgãos de fomento, CAPES, CNPq, INCT, Proppi e FAPERJ, cujo apoio se revelou fundamental para a continuidade da pesquisa no Brasil.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	IX
LISTA DE TABELAS	XIII
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	XV
RESUMO	XVII
ABSTRACT	XVIII
1. INTRODUÇÃO	19
1.1 PRAGA DA AVICULTURA INDUSTRIAL - <i>Alphitobius diaperinus</i>	22
1.2 PRAGAS DE GRÃOS ARMAZENADOS	28
1.2.1 O INSETO PRAGA DE GRÃOS ARMAZENADOS - <i>Rhyzopertha dominica</i>	29
1.3 CONTROLE DE INSETOS PRAGAS UTILIZANDO REJEITOS AGRÍCOLAS	31
1.4 ECOTOXICIDADE	33
1.4.1 <i>Daphnia magna</i>	35
1.4.2 <i>Allium cepa</i>	36
2. OBJETIVOS	39
2.1 OBJETIVO GERAL	39
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	39
3. MATERIAL E MÉTODOS	40
3.1 CONVERSÃO DE BIOMASSAS NO PROCESSO DE PIRÓLISE	40
3.1.1 OBTENÇÃO DAS BIOMASSAS	40
3.1.2 O REATOR E O PROCESSO DE CONVERSÃO POR PIRÓLISE LENTA	40
3.2 A COLÔNIA MASSAL	42
3.2.1 A COLÔNIA MASSAL DE <i>Alphitobius diaperinus</i>	42
3.2.2 A COLÔNIA MASSAL DE <i>Rhyzopertha dominica</i>	43
3.3 COLÔNIA EXPERIMENTAL F1	44

3.3.1 COLÔNIA EXPERIMENTAL F1 DE <i>Alphitobius diaperinus</i>	44
3.3.2 COLÔNIA EXPERIMENTAL F1 DE <i>Rhizopertha dominica</i>	45
3.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA POR TOXICIDADE DE CONTATO EM <i>Alphitobius diaperinus</i>	46
3.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA POR TOXICIDADE DE FUMIGAÇÃO EM <i>Rhizopertha dominica</i>	47
3.6 COLÔNIA DE CULTIVO DE <i>Daphnia magna</i>	48
3.7 TESTE DE IMOBILIDADE EM <i>Daphnia magna</i>	49
3.8 TESTE DE FITOTOXICIDADE EM SEMENTES DE <i>Allium cepa</i>	50
3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	52
4. RESULTADOS	53
4.1 AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DA PIRÓLISE DA BIOMASSA CdB53	
4.1.1 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE POR CONTATO DOS LÍQUIDOS DA PIRÓLISE (L.P.) DE CdB EM <i>Alphitobius diaperinus</i>	54
4.1.2 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE POR FUMIGAÇÃO DOS L.P. DE CdB EM <i>Rhizopertha dominica</i>	54
4.1.3 AVALIAÇÃO DA IMOBILIDADE AGUDA EM NEONATOS DE <i>Daphnia magna</i> EXPOSTOS À L.P. DE CdB	56
4.1.4 AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE EM SEMENTES DE <i>Allium cepa</i> EXPOSTAS AOS L.P. DE CdB	57
4.1.4.1 Ensaio de germinação após exposição aos L.P. de CdB	57
4.1.4.2 Ensaio da medição das raízes após exposição aos L.P. de CdB	58
4.1.4.3 Avaliação da massa média das raízes após exposição aos L.P. de CdB.....	59
4.2 AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DA PIRÓLISE DE LICURI	61
4.2.1 AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DOS L.P. DE LICURI EM <i>Alphitobius</i> <i>diaperinus</i>	61
4.2.2 AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DOS L.P. DE LICURI EM <i>Rhizopertha</i> <i>dominica</i>	65

4.2.3 AVALIAÇÃO DA IMOBILIDADE DE NEONATOS DE <i>Daphnia magna</i> EXPOSTOS AS FRAÇÕES AQUOSAS DE PIRÓLISE DO LICURI	69
4.2.4 AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE EM SEMENTES DE <i>Allium cepa</i> EXPOSTAS AOS L.P. DE LICURI	74
4.2.4.1 Ensaio de germinação após exposição aos L.P. de Licuri	74
4.2.4.2 Ensaio da medição das raízes após exposição aos L.P. de Licuri	75
4.2.4.3 Avaliação da massa média das raízes após exposição aos L.P. de Licuri	76
4.3 ANÁLISE DA EFICÁCIA DO BIO-ÓLEO DE TSM EM <i>Rhizopertha dominica</i>	77
4.3.1 ANÁLISE DA EFICÁCIA DO BIO-ÓLEO DE TSM À 300° C	78
4.3.2 ANÁLISE DA EFICÁCIA DO BIO-ÓLEO DE TSM À 400° C	82
4.3.4 DIFERENÇA ENTRE A EFICÁCIA DO BIO-ÓLEO DE TSM À 300°C E À 400°C	85
4.3.5 AVALIAÇÃO DA IMOBILIDADE DE NEONATOS DE <i>Daphnia magna</i> EXPOSTOS AO BIO-ÓLEO DE TSM À 300°C E 400°C	86
4.3.5.1 Atividade do bio-óleo de TSM à 300°C em <i>Daphnia magna</i>	86
4.3.5.2 Atividade do bio-óleo de TSM à 400°C em <i>Daphnia magna</i>	88
4.3.6 AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE EM SEMENTES DE <i>Allium cepa</i> EXPOSTAS AOS BIO-ÓLEOS DE TSM À 300°C E 400°C	91
4.3.6.1 Ensaio de germinação após exposição aos bio-óleos de TSM ...	91
4.3.6.2 Ensaio da medição das raízes após exposição aos bio-óleos de TSM	92
4.3.6.3 Avaliação da massa das raízes após exposição aos bio-óleos de TSM	93
4.4 AVALIAÇÃO DOS L.P. DE CAB.....	94
4.4.1 AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DOS LP DE CAB EM <i>Alphitobius Diaperinus</i>	94

4.4.2 AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DOS L.P. DE CAb EM <i>Rhizopertha dominica</i>	96
4.4.3 AVALIAÇÃO DA IMOBILIDADE DE NEONATOS DE <i>D. magna</i> EXPOSTOS AOS L.P. DE CAb	98
4.4.4 AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE EM SEMENTES DE <i>Allium cepa</i> EXPOSTAS AOS LP DE CAb	100
4.4.4.1 Ensaio de germinação após exposição aos bio-óleos de CAb..	100
4.4.4.2 Ensaio da medição das raízes após exposição aos L.P. de CAb	101
4.4.4.3 Avaliação da massa das raízes após exposição aos L.P. de CAb	101
4.5 RESUMO DOS RESULTADOS: DL ₅₀ , CE ₅₀ E NÍVEIS DE TOXICIDADE	103
5. DISCUSSÃO.....	104
6. CONCLUSÃO	115
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	117
ANEXO I – Resíduos de biomassas utilizados durante a prospecção no mestrado.....	134
ANEXO II – Primeira patente verde da UFF.....	135
ANEXO III – Artigo publicado.....	136

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Granja de corte com aproximadamente 40.000 aves com um mês de vida Foto: Próprio autor)	23
Figura 2 - Tempo médio do ciclo de vida do <i>Alphitobius diaperinus</i> mantidos a $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ e aproximadamente 70% de umidade relativa.	24
Figura 3 - Alimentador automático para frangos infestado pela praga avícola <i>Alphitobius diaperinus</i>	25
Figura 4 - Detalhe para os materiais utilizados na construção dos galpões para a prática avícola (concreto e madeira).	26
Figura 5 - Comparação da destruição provocada por <i>Rhizopertha dominica</i> . Frasco da esquerda com milho triturado infestado com aproximadamente 100 insetos adultos após 8 semanas mantidos em laboratório.	30
Figura 6 - Tempo médio do ciclo de vida de <i>Rhizopertha dominica</i> mantidos a $34^{\circ}\text{C} \pm 1$ e a aproximadamente 70% de umidade relativa.	30
Figura 7 - (A) Indivíduos de <i>Daphnia magna</i> cultivados em laboratório suspensos na água.....	35
Figura 8 - Esquema representativo do ciclo de vida reprodutivo de <i>Daphnia magna</i> . (Adaptado de DITA VIZOSO, 2013)	36
Figura 9 - Bulbo de <i>Allium cepa</i> exibindo sistema radicular com raízes fasciculadas após o período de germinação em condições controladas.	37
Figura 10 - Sementes de <i>Allium cepa</i> germinadas sobre papel de filtro em placa de Petri após 14 dias de incubação	38
Figura 11 - Esquema representativo do reator de pirólise do tipo batelada. (Fonte: Próprio autor).....	41
Figura 12 - Subdivisão em cinco partes com mesmo volume das águas de pirólise com a numeração em ordem crescente conforme ordem da coleta durante a conversão	42
Figura 13 - Colônia massal do inseto-praga da avicultura <i>Alphitobius diaperinus</i>	43
Figura 14 - Colônia massal do inseto-praga de grãos armazenados <i>Rhizopertha dominica</i>	44

Figura 15 - Quatro colônias experimentais F1 do inseto-praga da avicultura <i>Alphitobius diaperinus</i>	45
Figura 16 - Colônia experimental F1 da praga primária de grãos armazenados <i>Rhyzopertha dominica</i>	46
Figura 17 - Teste de contato na praga da avicultura industrial <i>Alphitobius diaperinus</i>	47
Figura 18 - Teste de fumigação com o inseto praga de grãos armazenados <i>Rhyzopertha dominica</i>	48
Figura 19 - Colônia massal do microcrustáceo de água doce <i>Daphnia magna</i> utilizado em testes de ecotoxicidade aquática.....	49
Figura 20 - Placas de 6 poços com fundo chato utilizadas para a realização dos testes de imobilidade em <i>Daphnia magna</i>	50
Figura 21 - Pictograma correspondente a substâncias perigosas para o ambiente aquático.....	50
Figura 22 - Teste de fitotoxicidade em sementes de <i>Allium cepa</i>	51
Figura 23 - Plântulas dispostas no papel milimetrado em posição para a medição no software ImageJ®	51
Figura 24 - Dose-resposta em <i>Rhyzopertha dominica</i> após 96h da exposição com óleo de pirólise de CdB nas concentrações de 750, 500, 375, 250, 187,5 e 125 mg/L de ar.....	56
Figura 25 - Dose-resposta em <i>Daphnia magna</i> após 48h da exposição com o bio-óleo de CdB nas concentrações 100, 50, 25, 12,5 e 6,75 mg/L.....	57
Figura 26 - Taxa de germinação em sementes de <i>Allium cepa</i> expostas aos L.P. CdB a 1% após 14 dias.....	58
Figura 27 - Tamanho médio das raízes formadas em sementes de <i>A. cepa</i> expostas aos L.P. CdB a 1% após 14 dias.....	59
Figura 28 - Massa média das raízes formadas em sementes de <i>Allium cepa</i> expostas aos L.P. CdB a 1% após 14 dias.....	60
Figura 29 - Dose-resposta em <i>Alphitobius diaperinus</i> após 96h da exposição com a fração A3 de LICURI nas concentrações de 4,3, 3,5, 2,6, 1,7, e 0,9 mg/cm ²	64
Figura 30 - Dose-resposta em <i>A. diaperinus</i> após 96h da exposição com a fração A4 de LICURI nas concentrações entre 4,3, e 0,9 mg/cm ²	65

Figura 31 - Dose-resposta em <i>Rhyzopertha dominica</i> após 96h da exposição com a fração A1 de licuri nas concentrações entre 750 e 125 mg/L _(ar)	68
Figura 32 - Dose-resposta em <i>Rhyzopertha. dominica</i> após 96h da exposição com a fração A1 de licuri nas concentrações entre 750 e 125 mg/L _(ar)	69
Figura 33 - Dose-resposta de <i>Daphnia magna</i> após 48h da exposição com a fração A2 de licuri nas concentrações 100, 50, 25, 12,5 e 6,75 mg/L.....	71
Figura 34 - Dose-resposta em <i>Daphnia magna</i> após 48h da exposição com a fração A3 de licuri nas concentrações 100, 50, 25, 12,5 e 6,75 mg/L.....	71
Figura 35 - Dose-resposta em <i>Daphnia. magna</i> após 48h da exposição com a fração A4 de licuri nas concentrações 100, 50, 25, 12,5 e 6,75 mg/L.....	72
Figura 36 - Dose-resposta em <i>Daphnia magna</i> após 48h da exposição com a fração A5 de licuri nas concentrações 100, 50, 25, 12,5 e 6,75 mg/L.....	73
Figura 37 - Dose-resposta em <i>Daphnia magna</i> após 48h da exposição com o bio-óleo de licuri nas concentrações 100, 50, 25, 12,5 e 6,75 mg/L.	74
Figura 38 - Taxa de germinação em sementes de <i>Allium cepa</i> expostas aos L.P. LICURI.1 a 1% após 14 dias.	75
Figura 39 -Tamanho médio das raízes formadas em sementes de <i>Allium cepa</i> expostas aos L.P. LICURI.1 a 1% após 14 dias.	76
Figura 40 - Massa média das raízes formadas em sementes de <i>Allium cepa</i> expostas aos L.P. LICURI.1 a 1% após 14 dias.	77
Figura 41 - Dose-resposta em <i>Rhyzopertha dominica</i> após 96h do tratamento com os bio-óleos de TSM 300°C nas concentrações 750; 375;150; 112,5; 75 e 25 mg/L _(ar)	81
Figura 42 - Dose-resposta em <i>Rhyzopertha dominica</i> após 96h do tratamento com os bio-óleos de TSM 400°C nas concentrações 750; 375; 150; 112,5; 75 e 25 mg/L _(ar)	84
Figura 43 - Resultado do teste de imobilidade em neonatos de <i>Daphnia magna</i> expostos à 100, 75, 50, 25, 16 e 12,5 mg/L do bio-óleo de TSM a 300°C	87
Figura 44 - Resultado do teste de imobilidade em neonatos de <i>Daphnia magna</i> expostos à 100, 75, 50, 25, 16 e 12,5 mg/L de bio-óleo de TSM 1 à 400°C	89
Figura 45 - Comparação das CE ₅₀ do teste de imobilidade aguda em neonatos de <i>Daphnia magna</i> expostos aos bio-óleos de TSM à 300°C e 400°C.....	91
Figura 46 - Taxa de germinação em sementes de <i>Allium cepa</i> expostas ao bio-óleo de TSM (300 e 400°C) a 1% após 14 dias.....	92

Figura 47 - Tamanho médio das raízes formadas em sementes de <i>Allium cepa</i> expostas aos bio-óleos da pirólise de TSM (à 300 e 400 °C) a 1% após 14 dias	93
Figura 48 - Massa média das raízes formadas em sementes de <i>Allium cepa</i> expostas aos bio-óleos de TSM (à 300 e 400 °C) a 1% após 14 dias.	94
Figura 49 - Dose-resposta em <i>Alphitobius diaperinus</i> após 96h da exposição com bio-óleo de CAb nas concentrações entre 4,3, e 0,9 mg/cm ²	96
Figura 50 - Dose-resposta em <i>Rhizopertha dominica</i> após 96h do tratamento com o bio-óleo de CAb nas concentrações 86, 172, 344, 506 e 688 mg/L _(ar) ..	98
Figura 51 - Resultado do teste de imobilidade em neonatos de <i>Daphnia magna</i> expostos à 100, 75, 50, 25 e 12,5 mg/L do bio-óleo de CAb.	99
Figura 52 - Taxa de germinação em sementes de <i>Allium cepa</i> expostas aos líquidos de pirólise de CAb a 1% após 14 dias.....	100
Figura 53 - Tamanho médio das raízes formadas em sementes de <i>Allium cepa</i> expostas aos líquidos de pirólise de CAb a 1% após 14 dias.....	101
Figura 54 - Massa média das raízes formadas em sementes de <i>Allium cepa</i> expostas aos líquidos de pirólise de CAb a 1% após 14 dias.....	102

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Taxa de mortalidade de adultos de <i>Alphitobius diaperinus</i> tratados com L.P. de CdB concentrado a 4,5 mg/cm ² via toxicidade por contato.	54
Tabela 2 - Taxa de mortalidade em adultos de <i>Rhyzopertha dominica</i> submetidos ao teste de toxicidade por fumigação com 30 mg de L.P. de CdB, concentrado a 750 mg/L _(ar)	55
Tabela 3 - Taxa de Imobilidade em neonatos de <i>Daphnia magna</i> expostos à 100 mg/L dos L.P. de CdB sucedido pelo erro padrão da média (SEM). (n=3 repetições).	56
Tabela 4 - Taxa de mortalidade de adultos de <i>Alphitobius diaperinus</i> tratados com as frações aquosas de três conversões de licuri (4,5 mg/cm ²) via toxicidade por contato.	62
Tabela 5 - Taxa de mortalidade de <i>Rhyzopertha dominica</i> tratados com a fração aquosa de três conversões de licuri a 750 mg/L _(ar) via toxicidade por fumigação	66
Tabela 6 - Taxa de Imobilidade em neonatos de <i>Daphnia magna</i> expostos à 100 mg/L das frações aquosas de pirólise do licuri sucedido pelo erro padrão da média (SEM). (n=9 repetições).	70
Tabela 7 - Mortalidade do teste de toxicidade por fumigação em <i>Rhyzopertha dominica</i> expostos aos bio-óleos das três conversões a 300 °C da biomassa TSM, sucedido pelo erro padrão da média (SEM).	79
Tabela 8 - Mortalidade do teste de toxicidade por fumigação em <i>Rhyzopertha dominica</i> expostos aos bio-óleos das três conversões a 400 °C da biomassa TSM, sucedido pelo erro padrão da média (SEM).	82
Tabela 9 - Média da mortalidade do teste de toxicidade por fumigação do bio-óleo de TSM a 300°C e 400°C em <i>Rhyzopertha dominica</i> sucedido pelo erro padrão da média (SEM).	86
Tabela 10 - Taxa de Mortalidade de <i>Alphitobius diaperinus</i> tratados com os líquidos de pirólise de CAb a 4,5 mg/cm ²	95
Tabela 11 - Taxa de Mortalidade de <i>Rhyzopertha dominica</i> expostos aos líquidos de pirólise de CAb a 688 mg/L _(ar)	97

Tabela 12 - Resultado do teste de imobilidade em neonatos de <i>Daphnia magna</i> expostos à 100 mg/L dos líquidos de pirólise de CAb, sucedido pelo erro padrão da média (SEM). (n=3).....	99
Tabela 13 - Resumo das DL ₅₀ , CE ₅₀ e Níveis de Toxicidade para os líquidos de pirólise de diferentes biomassas em diferentes organismos-teste.....	103

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

μL – Microlitro

A1, A2, ..., A6 - Frações aquosas de pirólise

ABIA - Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação

ABRASCO - Associação Brasileira de Saúde Coletiva

ANOVA - Análise de Variância

BO - Bio-óleo

BOD - Biological Oxygen Demand

Cab - Sigla para biomassa

CdB - Sigla para biomassa

CE₅₀ - Concentração de efeito capaz de inibir 50% da população

CL₅₀ - Concentração letal capaz de inibir 50% da população

cm² - Centímetros Quadrados

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento

DL₅₀ - Dose letal capaz de matar 50% da população

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EP- Erro Padrão

F. A - Fração aquosa

F. O - Fração oleosa

FAO - Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação

GEE - gases do efeito estufa

HPAs - Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

IR- índice de repelência

IRAC-BR - Comitê Brasileiro de Ação à Resistência de Inseticidas

L.P. Líquidos de Pirólise

LEPP- Laboratório de Estudos de Pragas e Parasitos

LICURI.1 - Primeira conversão de licuri

LICURI.2 - Segunda conversão de licuri

LICURI.3 - Terceira conversão de licuri

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

mg - Miligrama

mg/cm² - Miligrama por centímetro cúbico

mg/L_(ar) - Miligrama por litro de ar

MIP - Manejo Integrado de Pragas

mL - Mililitros

mm - Milímetro

n - número de repetições

OECD - Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico

OL- bio-óleo

OMS - Organização Mundial da Saúde

ONU - Organização das Nações Unidas

p - Probabilidade

PIB - Produto Interno Bruto

SEM - Erro padrão da média

SINCROMA - Laboratório de Síntese Orgânica, Cromatografia e Química Ambiental

TSM - Sigla para biomassa: Torta de semente de maracujá

TSM 1 300 / 300.1 - primeira conversão de TSM a 300°C

TSM 1 400 / 400.1 - primeira conversão de TSM a 400°C

TSM 2 300 / 300.2 - Segunda conversão de TSM a 300°C

TSM 2 400 / 400.2 - Segunda conversão de TSM a 400°C

TSM 3 300 / 300.3 - Terceira conversão de TSM a 300°C

TSM 3 400 / 400.3 - Terceira conversão de TSM a 400°C

UFF - Universidade Federal Fluminense

UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

UR - Umidade Relativa

RESUMO

Um dos grandes desafios do setor agropecuário é o controle de pragas, que causam prejuízos de bilhões de dólares por ano apenas no Brasil. Os pesticidas sintéticos, além de provocarem danos significativos aos ecossistemas, têm perdido eficácia devido ao desenvolvimento de resistência pelos insetos-praga. No Brasil, anualmente, cerca de 700 milhões de toneladas de resíduos agroindustriais são inadequadamente descartados, resultando em impactos ambientais negativos, como emissões de gases de efeito estufa e contaminação do solo e da água. A implementação de tecnologias como a pirólise lenta poderia contribuir para mitigar essa situação. O objetivo da pesquisa foi avaliar o potencial pesticida de produtos líquidos da pirólise lenta de quatro diferentes biomassas provenientes de resíduos agroindustriais, utilizando dois modelos: *Alphitobius diaperinus*, uma praga avícola, com o ensaio de toxicidade por contato, e *Rhizopertha dominica*, uma praga que afeta produtos armazenados, com o ensaio de toxicidade por fumigação. Além disso, foram realizados testes de ecotoxicidade em organismos não-alvo, como o microcrustáceo *Daphnia magna* com o ensaio de imobilidade aguda, e a espécie vegetal *Allium cepa* com a análise da germinação, massa e tamanho das raízes. Os resultados revelaram que o bio-óleo da biomassa Cdb demonstrou alta eficácia contra *R. dominica*, com uma DL₅₀ de 470 mg/L_(ar) após 96 horas, além de toxicidade para *D. magna* (CE₅₀: 71,8 mg/L) e *A. cepa*. Em relação à biomassa Licuri, as três conversões apresentaram uma padronização na taxa de mortalidade. As frações A3 e A4 foram tóxicas para *A. diaperinus*, com DL₅₀ de 2,5 e 2,3 mg/cm², respectivamente. Já as frações A1 e A2 mostraram alta toxicidade contra *R. dominica*, com DL₅₀ de 285,8 e 293,9 mg/L_(ar), respectivamente. As frações A3, A4, A5 e o bio-óleo demonstraram toxicidade para *D. magna*, enquanto todos os produtos, exceto a fração A1, foram considerados tóxicos para *A. cepa*. No caso da biomassa TSM, as três conversões de cada temperatura mostraram uma padronização na taxa de mortalidade, sendo a conversão a 400°C ligeiramente mais tóxica para *R. dominica*. As frações TSM 300 e TSM 400 foram eficazes contra *R. dominica*, com DL₅₀ de 130,8 e 124,7 mg/L_(ar), respectivamente. Ambas as frações demonstraram toxicidade para *D. magna*, com CE₅₀ de 16,3 e 19,7 mg/L, e para *A. cepa*. No que se refere à biomassa CAb, os produtos de pirólise não apresentaram um desempenho satisfatório contra adultos de *A. diaperinus*. No entanto, o bio-óleo da CAb revelou alta eficácia contra *R. dominica*, mas somente em doses mais altas, com um DL₅₀ de 370,3 mg/L_(ar). Além disso, ele demonstrou elevada toxicidade para *D. magna*, com EC₅₀ de 14,2, e para *A. cepa*. Todos os bio-óleos testados foram considerados tóxicos para os organismos não alvo. As frações aquosas têm potencial para se tornarem promotores do crescimento de plantas, devido à sua baixa toxicidade, embora a concentração ainda precise ser ajustada. Mais estudos são necessários, especialmente para avaliar a composição química desses produtos, a fim de entender melhor seus mecanismos de ação e seu potencial como agentes pesticidas.

Palavras Chave: Economia Circular, Aproveitamento de Resíduos, Manejo Integrado de Pragas, Biopesticidas, Biofertilizantes.

ABSTRACT

One of the major challenges in the agricultural sector is pest control, causing billions of dollars in losses each year in Brazil alone. Synthetic pesticides, besides causing significant harm to ecosystems, have become less effective due to the development of resistance by pest insects. Annually in Brazil, approximately 700 million tons of agro-industrial waste are improperly discarded, resulting in negative environmental impacts such as greenhouse gas emissions and contamination of soil and water. The implementation of technologies like slow pyrolysis could help mitigate this situation. The research aimed to evaluate the pesticide potential of liquid products from slow pyrolysis of four different biomass sources derived from agro-industrial waste, using two models: *Alphitobius diaperinus*, a poultry pest, with contact toxicity assay, and *Rhyzopertha dominica*, a pest affecting stored products, with fumigation toxicity assay. Additionally, ecotoxicity tests were conducted on non-target organisms such as the microcrustacean *Daphnia magna* with acute immobility assay, and the plant species *Allium cepa* with germination, mass, and root size analysis. Results revealed that the bio-oil from the Cdb biomass demonstrated high efficacy against *R. dominica*, with a LD₅₀ of 470 mg/L(air) after 96 hours, as well as toxicity to *D. magna* (EC₅₀: 71.8 mg/L) and *A. cepa*. Regarding the Licuri biomass, all three conversions showed a standardization in the mortality rate. Fractions A3 and A4 were toxic to *A. diaperinus*, with LD₅₀ of 2.5 and 2.3 mg/cm², respectively. Fractions A1 and A2 showed high toxicity against *R. dominica*, with LD₅₀ of 285.8 and 293.9 mg/L(air), respectively. Fractions A3, A4, A5, and the bio-oil showed toxicity to *D. magna*, while all products, except fraction A1, were considered toxic to *A. cepa*. In the case of the TSM biomass, all three conversions at each temperature showed standardization in the mortality rate, with the conversion at 400°C being slightly more toxic to *R. dominica*. TSM 300 and TSM 400 fractions were effective against *R. dominica*, with LD₅₀ of 130.8 and 124.7 mg/L(air), respectively. Both fractions showed toxicity to *D. magna*, with EC₅₀ of 16.3 and 19.7 mg/L, and to *A. cepa*. Regarding the CAb biomass, pyrolysis products did not perform satisfactorily against adult *A. diaperinus*. However, the CAb bio-oil showed high efficacy against *R. dominica*, but only at higher doses, with an LD₅₀ of 370.3 mg/L(air). Additionally, it demonstrated high toxicity to *D. magna*, with EC₅₀ of 14.2, and to *A. cepa*. All tested bio-oils were considered toxic to non-target organisms. Aqueous fractions have the potential to become plant growth promoters due to their low toxicity, although the concentration still needs adjustment. Further studies are necessary, especially to evaluate the chemical composition of these products, in order to better understand their mechanisms of action and their potential as pesticide agents.

Keywords: Circular Economy, Waste Utilization, Integrated Pest Management, Biopesticides, Biofertilizers.

1.INTRODUÇÃO

O crescimento projetado da população mundial nas próximas décadas traz desafios para a segurança alimentar global. Estima-se que a população chegará a 9,8 bilhões em 2050, um acréscimo de 2 bilhões desde 2016. Combater a fome e garantir o acesso universal à alimentação adequada são objetivos centrais, conforme estabelecido pelos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) 2 da Organização das Nações Unidas (ONU), que busca erradicar a fome até 2030. Porém, a busca para alcançar essa meta foi dificultada pela pandemia de COVID-19, crise climática e conflitos geopolíticos recentes (FAO, 2023). Mais do que aumentar a produção, o maior obstáculo é promover sistemas alimentares sustentáveis e igualitários, capazes de prover comida de qualidade para todos.

Historicamente, o aumento da produtividade agrícola dependia da expansão de áreas cultivadas e, conseqüentemente, o desmatamento de novas áreas (OECD-FAO, 2020). Atualmente, isso não é mais necessário, já que os avanços técnicos e científicos permitem aumentar a produtividade sem ampliar a área plantada (EMBRAPA, 2022). O desenvolvimento de maquinário, fertilizantes, irrigação, variedades de plantas e outras tecnologias, viabilizou ganhos de produtividade por área (WORLD BANK, 2020). Dessa forma, é possível ampliar a produção preservando áreas naturais, mitigando impactos ambientais. Na avicultura, a biotecnologia é uma ferramenta para o desenvolvimento de medicação animal, melhoramento genético, alimentação balanceada e cruzamento de raças. Essas inovações permitiram alta produtividade em espaços reduzidos, com diminuição de custos e aumento da lucratividade. Países que investem em pesquisa e desenvolvimento biotecnológico no setor agropecuário alcançam níveis elevados de produção mesmo em condições desfavoráveis, como o clima. Nesse sentido, também houve um crescimento das pesquisas e estudos ligados à produção agrícola e avícola no Brasil, principalmente nos últimos vinte anos (BURT, 2002; QUEIROZ *et al.*, 2022; SCHMIDT & DA SILVA, 2018).

O agronegócio desempenha um papel importante para a economia brasileira desde o período colonial, impulsionando o povoamento do território e o desenvolvimento do país. Atualmente, o setor responde por cerca de 20% do

Produto Interno Bruto (PIB) nacional e por mais da metade do total exportado pelo Brasil (CEPEA & CNA, 2023). Dados do último Censo Agropecuário em 2017 apontam a existência de mais de 5 milhões de estabelecimentos rurais que geram emprego e renda para aproximadamente 15 milhões de brasileiros. Impulsionado por avanços tecnológicos nas últimas décadas, o Brasil se consolidou como grande produtor e exportador de commodities agropecuárias. O país se destaca globalmente como maior produtor e exportador de café, açúcar, suco de laranja e etanol (CONAB, 2023). Além disso, figura entre os principais *players* mundiais em culturas estratégicas como soja, milho, algodão e carnes bovina, suína e de frango. O agronegócio tem papel central na pauta de exportações nacionais e é peça chave para o equilíbrio da balança comercial brasileira (CONTINI *et al.*, 2022).

Apesar de sua importância econômica e produtiva, o agronegócio brasileiro ainda não conseguiu equacionar questões sociais crônicas como a desigualdade no acesso aos alimentos e a fome. Erradicar a fome no mundo até 2030 é uma das metas dos ODS estabelecidos pela ONU em 2015. No entanto, mesmo sendo um dos três maiores produtores agrícolas do planeta, o Brasil voltou a figurar no mapa da fome mundial em 2022, após 8 anos fora dele. Segundo a ONU, atualmente 28,9% da população brasileira vive em situação de insegurança alimentar, ou seja, não tem acesso pleno e permanente a alimentos. O contraste entre a capacidade produtiva do agronegócio e a parcela da população que ainda passa fome devido à pobreza e desigualdade social expõe um dos maiores desafios a serem enfrentados pelo país (FAO, 2023).

Nesse contexto de tensão entre produção agrícola e fome, os estoques reguladores públicos voltam a ser uma estratégia fundamental. Os estoques reguladores são reservas estratégicas de alimentos geridas pelo governo com o objetivo de garantir a oferta interna e mitigar flutuações excessivas de preços. Porém, na última década, os estoques brasileiros foram drasticamente reduzidos. Considerando uma cesta de seis grãos básicos, a média anual de estoques despencou 96% entre 2010 e 2022, de acordo com dados da CONAB. Após um longo hiato, o instrumento voltou a ser utilizado pelo governo federal em 2023, com foco inicial em arroz, milho e feijão. Seu gerenciamento adequado pode ajudar o país a enfrentar o paradoxo de ser um gigante agrícola e ainda conviver com fome e insegurança alimentar (DIEESE, 2023; CONAB, 2023).

Apesar dos avanços biotecnológicos, o controle de pragas e doenças ainda representa um grande desafio para o setor agropecuário. Conforme definição da FAO (2022), pragas abrangem diversos agentes nocivos às lavouras e rebanhos, incluindo insetos, ácaros, fungos, bactérias e vírus. Anualmente, os prejuízos devidos a essas pragas chegam a bilhões de dólares (ANTUNES *et al.*, 2011; ARORA & SANDHU, 2017; OGENDO *et al.*, 2008; PAPACHRISTOS & STAMOPOULOS, 2002; RAJA *et al.*, 2001; SCHOLLER *et al.*, 1997). Historicamente, os agricultores têm utilizado pesticidas visando o controle de pragas desde os primórdios da agricultura. Porém, o uso intensivo de agrotóxicos traz consequências ambientais negativas, demandando estratégias mais sustentáveis de Manejo Integrado de pragas (MIP).

No Decreto 4074/02 (Lei nº 7.802, de julho de 1989), que versa sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, o conceito de pesticida é:

“Produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento...Lei nº 7.802, de julho de 1989”

A princípio, o controle de pragas agrícolas era realizado com substâncias inorgânicas à base de metais como mercúrio, cobre, arsênico e enxofre. Há também relatos do uso de compostos vegetais como nicotina, piretro e rotenona desde os primórdios da agricultura (WAQUIL, 2002). Porém, a partir do desenvolvimento da indústria química no século XX, os pesticidas sintéticos se popularizaram, trazendo mais eficiência, porém também maiores riscos à saúde e ao ambiente.

A agricultura intensiva com uso de monoculturas, práticas amplamente adotadas no Brasil, ocasionam redução da biodiversidade dos ecossistemas. Isso gera desequilíbrios ecológicos em vários níveis tróficos e facilita o aumento de populações consideradas pragas. Visando controlar essas espécies

indesejadas, as indústrias químicas têm lançado pesticidas cada vez mais potentes e persistentes. Porém historicamente essas medidas não resultam em controle efetivo a médio prazo, além de prejudicarem a relação custo-benefício da atividade agrícola (WARDHAUGH, 2005)

Em resposta à utilização contínua de um mesmo produto químico, as populações de insetos-praga frequentemente desenvolvem resistência devido a mutações genéticas. Os pesticidas geralmente atuam em poucos alvos metabólicos específicos, gerando uma pressão seletiva nas populações expostas. Além disso, muitos agrotóxicos apresentam ampla toxicidade para diversos organismos, devido à similaridade bioquímica entre os grupos animais (ABRASCO, 2021). Portanto, a resistência e a falta de especificidade representam graves limitações do controle químico convencional de pragas.

A evolução de resistência a pesticidas em populações de pragas agrícolas exemplifica o conceito da "Rainha Vermelha" proposto por Leigh Van Valen (1973). Esta teoria postula que espécies competidoras ou predador-presa precisam evoluir continuamente para manter o equilíbrio. Assim, a resistência demanda o desenvolvimento constante de novos agrotóxicos para controle eficaz, em um ciclo evolutivo sem fim. Essa corrida armamentista representa um desafio à sustentabilidade, reforçando a necessidade de um MIP e controle alternativo dos insetos-praga, rompendo a dependência de pesticidas convencionais sintéticos. Diante das limitações da abordagem convencional de controle químico de pragas, diversas linhas de pesquisa buscam alternativas mais sustentáveis. O conhecimento aprofundado do ciclo de vida e hábitos alimentares dos insetos-praga é essencial para desenvolver estratégias eficientes de controle (FRANCIKOWSKI *et al.*, 2019; RAJKUMAR *et al.*, 2019)

1.1 PRAGA DA AVICULTURA INDUSTRIAL - *Alphitobius diaperinus*

A avicultura industrial no Brasil teve seu desenvolvimento incentivado a partir da década de 1950, inicialmente concentrada na região Sudeste (Figura 1). Investimentos em melhoramento genético, manejo sanitário, nutrição e sistemas de produção impulsionaram o setor (OLIVEIRA, 2012). Na década de 1970, políticas governamentais fomentaram a migração da produção para a

região Sul, que se tornou líder nacional devido a vantagens logísticas e climáticas. Com o passar dos anos, pesquisa, tecnologia e internacionalização posicionaram o Brasil como um dos principais players mundiais na exportação de carne de frango (ABPA, 2023; CONTINI *et al.*, 2022)

Atualmente, o país responde por 41% da produção e 55% das exportações globais do produto, totalizando cerca de 14 milhões de toneladas produzidas e 4,6 milhões de toneladas exportadas em 2021. Apesar de sucessivos recordes de produção e exportação, o setor avícola enfrentou desafios que limitaram seu crescimento em 2021. A pandemia de Covid-19 impactou parte da demanda, especialmente no setor alimentício, influenciando os trabalhos em frigoríficos. Além disso, a alta histórica dos custos de produção, especialmente de milho e farelo de soja, reduziu margens dos produtores. Questões sanitárias como a influenza aviária também trouxeram impactos pontuais. Ainda assim, o Brasil produziu 14 milhões de toneladas de frango e exportou 4,6 milhões de toneladas, gerando receita de US\$ 8,5 bilhões em 2022 (ABPA, 2022).



Figura 1 - Granja de corte com aproximadamente 40.000 aves com um mês de vida
Foto: Próprio autor)

Além dos desafios mencionados, historicamente as criações avícolas sofrem grandes prejuízos devido a pragas e enfermidades disseminadas por insetos. Esses agentes vetores são capazes de reduzir a qualidade das carcaças

e transmitir doenças que podem dizimar lotes inteiros de aves (JAPP *et al.*, 2010). O *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae), conhecido como cascudinho (Figura 2), é um inseto cosmopolita, originário da África Subsaariana (SCHAWALLER & GRIMM, 2014). Inicialmente considerado praga secundária de produtos armazenados, o cascudinho tornou-se a principal praga em instalações de criação industrial de aves (CHERNAKI-LEFFER *et al.*, 2002; SALIN *et al.*, 2000). Os aviários apresentam condições favoráveis ao seu desenvolvimento, como abundante matéria orgânica, umidade e locais de empupação na cama de frangos (LYONS *et al.*, 2016; WILSON & MINER, 1969). Larvas e adultos do cascudinho causam prejuízos à produção avícola, demandando métodos eficientes de controle.



Figura 2 - Tempo médio do ciclo de vida do *Alphitobius diaperinus* mantidos a $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ e aproximadamente 70% de umidade relativa. Essa espécie possui quatro estágios de vida: ovo, larva, pupa e adulto. O inseto adulto vive por mais de um ano (Figura adaptada de DA SILVA *et al.*, 2005).

O cascudinho afeta o desenvolvimento das aves, pois estas têm o instinto de bicar qualquer coisa em movimento, deixando de ingerir a ração balanceada necessária para seu crescimento ideal em cerca de 45 dias. As aves gastam mais tempo e energia na tentativa de capturar os insetos, prejudicando o ganho de peso. Além disso, os besouros transmitem patógenos, contaminam a ração e podem causar irritação e lesões na pele das aves (AVILA *et al.*, 2007; SANTORO *et al.*, 2008). Outra característica do cascudinho é sua cutícula altamente esclerotizada. Quando ingeridos pelas aves (Figura 3), seus tegumentos rígidos causam micro lesões no trato digestivo, abrindo porta de entrada para patógenos

oportunistas (MCALLISTER *et al.*, 1995; PAIVA, 1996). Além disso, o inseto é um vetor de vírus, fungos, helmintos e bactérias relevantes, como *Salmonella spp.*, que podem infectar o plantel avícola (CHERNAKI-LEFFER *et al.*, 2002; CRIPPEN *et al.*, 2018).



Figura 3 - Alimentador automático para frangos infestado pela praga avícola *Alphitobius diaperinus*. A ração infestada pelo inseto é o maior modo de dispersão desta praga para as outras granjas do entorno. (Foto: Próprio autor)

As larvas do cascudinho também geram grandes prejuízos. Elas têm o hábito de escavar túneis em estruturas da granja (Figura 4), podendo literalmente destruir as instalações devido ao voraz apetite. As larvas também agem como ectoparasitas, lesionando a pele de aves jovens e facilitando infecções bacterianas secundárias. Isso diminui a qualidade e valor comercial das carcaças de frango destinadas ao abate (VAUGHAN *et al.*, 1984). Estudos estimam que a infestação por *A. diaperinus* pode elevar os custos de produção em até 67% em granjas da América do Norte, principalmente devido aos danos ao material isolante das paredes causados pelas larvas (LYONS *et al.*, 2016).



Figura 4 - Detalhe para os materiais utilizados na construção dos galpões para a prática avícola (concreto e madeira). Estruturas que possibilitam abrigo ideal ao desenvolvimento das larvas de cascudinho. (Foto: Próprio autor)

Dentre outros prejuízos relacionados ao cascudinho pode-se destacar também a secreção de substâncias químicas como quinonas, que causam colapso hepático quando ingeridas pelas aves (HASSEMER *et al.*, 2019; MCALLISTER *et al.*, 1995; TSENG *et al.*, 1971). Além disso, da relação entre o inseto com alguns fungos potencializam o desenvolvimento de infecções e afetam não só o plantel, mas os criadores e consumidores finais (CASAS *et al.*, 1972; WILSON & MINER, 1969)

O controle do cascudinho em granjas avícolas é realizado principalmente no período de vazio sanitário, quando o galpão é esvaziado após o abate e antes do alojamento de um novo lote de pintinhos. Esse ciclo ocorre a cada 45 dias aproximadamente. Nessa ocasião, a cama é removida, o aviário higienizado com água e detergente, e por fim aplica-se o inseticida. Em alguns casos, a cama é reutilizada após o tratamento. O período de vazio sanitário nos aviários é o momento crucial para controlar a população do cascudinho e evitar sua propagação entre lotes de frangos. Porém, mesmo com higienização e remoção da cama, nem sempre essa medida isolada é suficiente para eliminar totalmente

os insetos, que podem permanecer escondidos em pequenas frestas do galpão. Além disso, o cascudinho tem grande capacidade de se dispersar e rapidamente reinfestar as instalações tratadas a partir de focos externos não controlados. O desafio se torna ainda maior pelo fato de que os inseticidas químicos tradicionais vêm perdendo a eficácia devido ao desenvolvimento de resistência pelo cascudinho após anos de uso contínuo (AVILA *et al.*, 2007).

Normalmente, a higienização em instalações avícolas é realizada por meio de compostos dos grupos piretroides e organofosforados, que atuam, respectivamente, como moduladores dos canais de sódio durante o impulso nervoso e inibidores da enzima acetilcolinesterase, envolvida nas sinapses nervosas (ETO, 2018; FUKUTO, 1990; NARAHASHI, 1971; NARAHASHI *et al.*, 2007). No entanto, muitos desses inseticidas tradicionais apresentam alta toxicidade para organismos não alvo, trazendo à memória o histórico caso do DDT, um organoclorado destacado no livro "Primavera Silenciosa" de Rachel Carson (1962). Assim como naquela época, o uso indiscriminado de inseticidas, como o Clorpirifós, pode estar contribuindo para uma repetição do mesmo problema, interferindo na migração de algumas aves e enfatizando a importância de abordagens mais sustentáveis no controle de pragas (ENG *et al.*, 2017; RATHOD & GARG, 2017; SOLOMON & MOODLEY, 2007). À medida que a avicultura industrial busca soluções para mitigar os prejuízos causados por *A. diaperinus*, a lição da história nos recorda que a inovação deve ser acompanhada por uma profunda consideração dos impactos ambientais e pela busca constante por alternativas que preservem nossa biodiversidade e garantam um futuro mais equilibrado para a avicultura e o ecossistema como um todo. Sendo que, ao longo dos anos, foram relatados vários casos de resistência a esses compostos (ALOUT *et al.*, 2016; LIU *et al.*, 2005; LIU, *et al.*, 2006; SMITH *et al.*, 2016).

Embora existam registros do uso de inseticidas fumigantes no combate ao cascudinho (WANG *et al.*, 2014), priorizou-se, neste estudo, a realização de testes com bioinseticidas por meio do contato direto, considerando que essa abordagem é mais amplamente empregada na avicultura brasileira.

1.2 PRAGAS DE GRÃOS ARMAZENADOS

Os grãos e cereais são essenciais e fazem parte da alimentação humana e animal. Entretanto, as perdas durante o armazenamento são uma preocupação mundial e os prejuízos causados por insetos-pragas giram em torno de 10% da produção, levando a uma desvalorização comercial do produto (LORINI, 2015). Segundo a 12ª pesquisa de campo da safra 2022/23, divulgada em agosto de 2023, estima-se uma produção recorde de grãos de 322,8 milhões de toneladas, alta de 18,4% em relação à safra anterior. A área plantada deve somar 78,5 milhões de hectares, expansão de 5,3%. Com o avanço da colheita, os números reforçam a perspectiva de safra superior às previsões iniciais. Nesse cenário, a adequada gestão dos estoques reguladores pelo governo é ainda mais estratégica para garantir oferta e regular preços dos alimentos básicos. Portanto, o controle eficiente de pragas é fundamental para minimizar as perdas em grãos armazenados (CONAB, 2023), aspecto que se soma à importância da manutenção de estoques reguladores estratégicos pelo poder público.

Além das perdas quantitativas, o ataque das pragas também reduz a qualidade dos grãos, pois esses insetos-praga atuam quase que exclusivamente nesse nicho criado pelo armazenamento de grãos. Entretanto, em alguns casos também podem ser encontrados atacando a lavoura, principalmente quando ocorre um atraso na colheita (JUNIOR *et al.*, 2017). A maioria das pragas de produtos armazenados é formada por espécies da ordem Coleóptera, conhecidos popularmente como carunchos ou gorgulhos (LORINI *et al.*, 2015).

O que torna muito preocupante as infestações em silos é a capacidade da população de insetos-praga em se espalhar rapidamente por toda a massa de grãos, podendo inviabilizar o lote para o consumo (JUNIOR *et al.*, 2017). Ao consumir os grãos, os besouros liberam quinonas, que são responsáveis por um odor desagradável no alimento e causam problemas hepáticos nos consumidores (TSENG *et al.*, 1971). Além disso, esses besouros geram condições abióticas propícias para a proliferação de fungos, como o *Aspergillus flavus*, responsável pela produção da aflatoxina, uma micotoxina com um potencial carcinogênico (KAWASHIMA & VALENTE SOARES, 2006).

Usualmente, o tratamento curativo de grãos armazenados infestados por *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) em silos é a base de

inseticidas fumigantes, em que os voláteis do composto químico penetram pela massa de grãos e atingem o inseto alvo, necessitando a acomodação dos grãos em espaços herméticos. Normalmente é utilizada uma lona própria para o expurgo (LORINI *et al.*, 2015). Porém, os produtos utilizados para o tratamento são extremamente nocivos, como por exemplo, a Fosfina e o Brometo de Metila.

A fosfina é o fumigante mais utilizado para o controle de pragas de grãos armazenados no mundo, especialmente na América Latina (LORINI *et al.*, 2015). O amplo uso desse inseticida tem levado ao surgimento de populações de insetos resistentes, um problema preocupante que compromete a eficácia do controle (COLLINS *et al.*, 2017). Diversos estudos já isolaram populações de insetos pragas de grãos com altos níveis de resistência à fosfina, como *R. dominica*, *Tribolium castaneum* e *Sitophilus oryzae* (LORINI, *et al.*, 2007). A resistência é mediada por mecanismos ainda não totalmente elucidados. Pesquisas recentes indicam que mutações genéticas podem estar envolvidas, alterando o sítio de ação da fosfina e reduzindo sua toxicidade (NAYAK *et al.*, 2019). Independente dos mecanismos, a resistência à fosfina é uma realidade e representa uma grande ameaça à segurança alimentar e à economia do agronegócio. (WAKIL *et al.*, 2021).

Diante do problema da resistência e toxicidade elevada, novas estratégias precisam ser desenvolvidas através de um MIP em grãos armazenados, preservando a eficácia dos inseticidas disponíveis. Além disso, é fundamental aprofundar o conhecimento sobre a biologia e ecologia das principais espécies-praga, a fim de aprimorar os métodos de monitoramento, prevenção e controle. Dentre as pragas mais prejudiciais à segurança dos cereais armazenados, destaca-se o *R. dominica*, que será abordado mais detalhadamente a seguir.

1.2.1 O INSETO PRAGA DE GRÃOS ARMAZENADOS - *Rhyzopertha dominica*

A espécie *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Bostrichidae) possui características que a tornam uma séria ameaça aos cereais estocados. Pertencente à família Bostrichidae, é considerada uma praga primária externa, ou seja, consegue atacar grãos íntegros e sadios e seu

desenvolvimento ocorre fora do grão. Tanto as larvas quanto os adultos possuem alta capacidade de consumo e destruição dos grãos. Em condições favoráveis, cada adulto consome em média seis vezes o seu peso corporal por semana, deixando os grãos perfurados e repletos de resíduos na forma de farinha (Figura 5) (EDDE, 2018).



Figura 5 - Comparação da destruição provocada por *Rhyzopertha dominica*. Frasco da esquerda com milho triturado infestado com aproximadamente 100 insetos adultos após 8 semanas mantidos em laboratório. Frasco da direita com o milho triturado não infestado. (Foto: Próprio autor)

O *R. dominica* apresenta ciclo de vida curto, com duração média de 40 dias de ovo a adulto (Figura 6). A fêmea possui elevada fecundidade, podendo colocar mais de 250 ovos durante a vida. As larvas eclodem e penetram no interior dos grãos, abrindo galerias e alimentando-se do endosperma. Já os adultos perfuram e consomem o conteúdo de vários grãos para completar o desenvolvimento. Além disso, a espécie é muito tolerante a temperaturas extremas, o que facilita a infestação em diversas regiões (LORINI *et al.*, 1999; LORINI *et al.*, 2007; LORINI *et al.*, 2015).

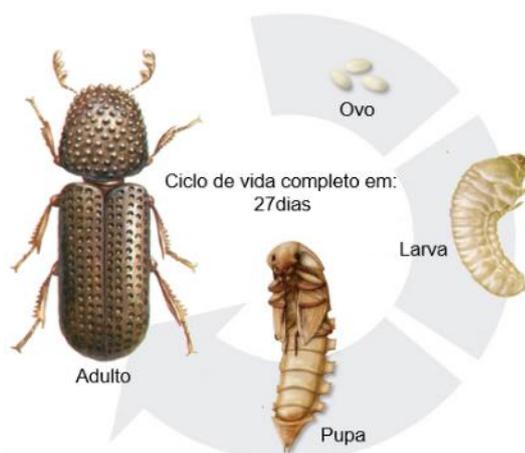


Figura 6 - Tempo médio do ciclo de vida de *Rhyzopertha dominica* mantidos a $34^{\circ}\text{C} \pm 1$ e a aproximadamente 70% de umidade relativa. Essa espécie possui quatro estágios

de vida: ovo, larva, pupa e adulto. O adulto vive em média 60 dias (adaptado de LORINI *et al.*, 2015)

Devido a essas características, os prejuízos provocados por *R. dominica* são intensos, podendo inviabilizar lotes inteiros de cereais para comercialização e consumo. O monitoramento, a prevenção e o controle eficiente dessa praga são cruciais para a proteção dos grãos armazenados e a garantia da segurança alimentar. Seu manejo integrado envolve estratégias combinadas para mitigar os danos, exigindo conhecimento aprofundado de sua bioecologia e comportamento.

1.3 CONTROLE DE INSETOS PRAGAS UTILIZANDO REJEITOS AGRÍCOLAS

O Brasil gera anualmente cerca de 700 milhões de toneladas de resíduos agroindustriais, principalmente provenientes da cana-de-açúcar, café, laranja, mamão, banana, coco e seringueira (KOMATSU *et al.*, 2019). Os principais resíduos gerados são: bagaço e palha da cana-de-açúcar, casca e polpa de café, bagaço de laranja, cascas de mamão, pseudocaule e engaço da bananeira, cascas de coco, serragem e látex da seringueira. Atualmente, grande parte desses resíduos agroindustriais não possui aproveitamento adequado, sendo descartados a céu aberto ou em aterros, resultando em impactos ambientais negativos como a emissão de gases de efeito estufa e contaminação do solo e cursos d'água. Muitas vezes, esses resíduos não são destinados corretamente para locais onde recebam um tratamento adequado (CRESPO RODRIGUES & RODRIGUES, 2021). Quando vão parar em um rio ou lago, podem eutrofizar o ambiente. Mas normalmente acabam em lixões, contaminando o solo, o lençol freático, atraindo vetores e podendo provocar doenças na população do entorno. Além disso, ocorre a emissão de gases do efeito estufa (GEE) pela decomposição dessa biomassa, como o metano (CH₄) e o gás carbônico (CO₂) (CGEE, 2020; GREWAL *et al.*, 2018; SPADOTTO & RIBEIRO, 2006)

Uma alternativa promissora, amplamente estudada e alinhada às estratégias de sustentabilidade preconizadas pelos conceitos da Química Verde e da economia circular, é o aproveitamento da fração aquosa e oleosa (bio-óleo)

resultante da pirólise de resíduos de biomassa vegetal provenientes da agroindústria. Esta prática se insere em um contexto global de busca por soluções sustentáveis para o gerenciamento de resíduos, contribuindo significativamente para a redução das emissões de GEE. Vale ressaltar que essa abordagem está longe de ser uma novidade, sendo inclusive inspirada nas antigas práticas de povos indígenas que utilizavam a técnica da pirólise para transformar resíduos vegetais em "terras pretas" altamente produtivas, caracterizadas por seu teor elevado de carbono estável e nutrientes essenciais (CGEE, 2020; FOONG *et al.*, 2022; LEHMANN *et al.*, 2003; TUNDO *et al.*, 2000).

Pirólise é um processo termoquímico que envolve a decomposição térmica de materiais na ausência de oxigênio, resultando na conversão de biomassas vegetais em uma variedade de subprodutos valiosos (KIARIE-MAKARA *et al.*, 2010; MATTOS *et al.*, 2018; PRABOWO *et al.*, 2016; ROMEIRO *et al.*, 2012; URRUTIA *et al.*, 2022). Este processo é caracterizado por seu potencial de transformar resíduos de biomassa em produtos de alto valor, incluindo bio-óleo, biocarvão e biogás. Com a crise do petróleo na década de 1970, o foco se tornou a busca por novas fontes de energia renováveis, direcionando o interesse para a pirólise e seus subprodutos, que demonstraram ser promissores como fontes de energia alternativa. O biocarvão, bio-óleo e biogás produzidos durante o processo de pirólise revelaram-se eficientes combustíveis, contribuindo para a diversificação das opções energéticas. No entanto, a fração aquosa resultante desse processo, por muito tempo, foi amplamente subestimada e frequentemente tratada apenas como um efluente.

Recentemente, o interesse na fração aquosa da pirólise tem crescido substancialmente (MATTOS *et al.*, 2018). Esta fração, rica em compostos fenólicos e ácidos carboxílicos, não apenas possui uma história de uso ancestral, incluindo aplicações como conservante de alimentos, condicionador de solo, bioestimulante vegetal, indutor de enraizamento e repelente de insetos (BENITES *et al.*, 2009; URRUTIA *et al.*, 2022), mas também tem sido objeto de estudos científicos recentes, que têm evidenciado suas notáveis propriedades bactericidas, fungicidas e inseticidas (BEDMUTHA *et al.*, 2011; CÁCERES *et al.*, 2015; MATTOS *et al.*, 2018; ORAMAHI; YOSHIMURA, 2013).

É importante mencionar que, no Brasil, a utilização de derivados da pirólise, como o biocarvão, foi aprovada para sistemas orgânicos desde 2018, abrindo

espaço para o uso de outros subprodutos, como os bio-óleos e frações aquosas, que têm demonstrado eficácia e segurança no controle de pragas (MAPA, 2021). Além disso, a pirólise não apenas contribui para o gerenciamento eficiente de resíduos, mas também oferece a oportunidade de transformar materiais frequentemente descartados, como cascas e sementes, em produtos de alto valor agregado e com ampla aplicação sustentável. Este processo representa uma alternativa inovadora e ambientalmente responsável que, além de reduzir os impactos negativos no meio ambiente, impulsiona a economia circular, onde resíduos se convertem em recursos valiosos. Vale ressaltar que a pirólise não é uma técnica recente; há séculos, diversas culturas ao redor do mundo já utilizavam variações dessa tecnologia para promover a transformação de biomassa em produtos úteis, evidenciando sua segurança e eficácia ao longo do tempo. Dessa forma, a produção de biopesticidas por meio da pirólise emerge como uma alternativa promissora e consolidada, alinhada aos princípios da economia circular e ao manejo sustentável de resíduos, com vasto potencial de aplicação prática na agricultura contemporânea (ANDOOZ *et al.*, 2023; BOER *et al.*, 2020; KIM *et al.*, 2020; SHERWOOD, 2020). O aproveitamento de biomassa através da pirólise gera novos produtos com um grande potencial socioambiental, por serem renováveis e contribuírem para redução de emissões de GEE.

1.4 ECOTOXICIDADE

Nos últimos anos, temos observado uma crescente conscientização sobre os impactos ambientais causados pelo uso extensivo de pesticidas na agricultura. Enquanto esses produtos desempenham um papel fundamental no controle de pragas e na maximização da produção de alimentos, também é inegável que sua aplicação indiscriminada pode resultar em efeitos adversos ao meio ambiente. Esses efeitos muitas vezes se estendem além do alvo principal, atingindo organismos não-alvo e os ecossistemas em que vivem. A contaminação por pesticidas, resultante do uso intensivo em terras agrícolas, é um fenômeno que vem chamando a atenção da comunidade científica e dos

órgãos reguladores. As preocupações crescentes estão centradas em como esses produtos afetam não apenas as pragas alvo, mas também as estruturas e as funções dos ecossistemas. Os impactos negativos sobre a biodiversidade de invertebrados aquáticos e a biomassa terrestre são evidências preocupantes dos efeitos colaterais do uso de pesticidas. Essa crescente conscientização tem impulsionado a necessidade de novas moléculas bioativas que estejam alinhadas com padrões de segurança ambiental e se encaixem nas atuais regulamentações de pesticidas (KAPANEN & ITÄVAARA, 2001; PARK & CHOI, 2010; SRIVASTAVA & SINGH, 2020).

Em um cenário global onde a preocupação com a proteção ambiental e a segurança alimentar está em constante crescimento, a regulamentação de pesticidas desempenha um papel crucial. Agências reguladoras em todo o mundo estabelecem rigorosos padrões de avaliação de risco ambiental para garantir que os pesticidas colocados no mercado sejam seguros tanto para os seres humanos quanto para o meio ambiente. A avaliação de risco ambiental desempenha um papel central na regulamentação de pesticidas. Conceitualmente, o termo "risco" é definido como a probabilidade de ocorrência de um efeito adverso resultante da exposição a um agente estressor, neste caso, pesticidas. Para avaliar esse risco, dois componentes essenciais são considerados: exposição e toxicidade. A exposição se refere à quantidade de pesticida presente no ambiente e disponível para entrar em contato com organismos não-alvo, enquanto a toxicidade está relacionada ao potencial do pesticida de causar efeitos adversos em organismos. O processo de avaliação de risco ambiental é usado para avaliar e organizar de forma sistemática dados, informações, pressupostos e incertezas que ajudem a entender e prever as relações entre um pesticida e seus efeitos ecológicos. Ele fornece uma base sólida para a tomada de decisão em relação à regulamentação de pesticidas. Na avaliação de risco ambiental de agrotóxicos, a toxicidade está relacionada ao potencial da substância ou do produto de causar efeitos adversos em determinado organismo. A toxicidade pode ser aferida por meio de testes ecotoxicológicos com os organismos de interesse que geram como resultado algum parâmetro de toxicidade (IBAMA, 2017).

Para avaliar a toxicidade de biopesticidas produzidos a partir da pirólise de resíduos agroindustriais, foram utilizados dois importantes modelos

ecotoxicológicos: o microcrustáceo *Daphnia magna* e o sistema-teste de *Allium cepa*. A utilização combinada desses dois modelos permite ampla investigação dos efeitos tóxicos dos biopesticidas em estudo, abrangendo organismos de ambientes aquáticos e terrestres.

1.4.1 *Daphnia magna*

A *Daphnia magna* (Crustacea: Branchiopoda: Cladocera) (Figura 7) é um dos organismos modelo mais comumente usados para avaliar a ecotoxicidade de uma ampla gama de produtos bioativos, como antibióticos, drogas anticancerígenas, antidepressivos, anti-inflamatórios, betabloqueadores e pesticidas. Conhecidas como Pulga d'água, são organismos filtradores e se alimentam de bactérias, algas, cianobactérias, protozoários e outras pequenas partículas suspensas na água. Também são cosmopolitas em ambientes aquáticos e desempenham um importante elo na cadeia alimentar (DIETRICH *et al.*, 2010; EBERT, 2005; HALES *et al.*, 2017; TKACZYK *et al.*, 2021)

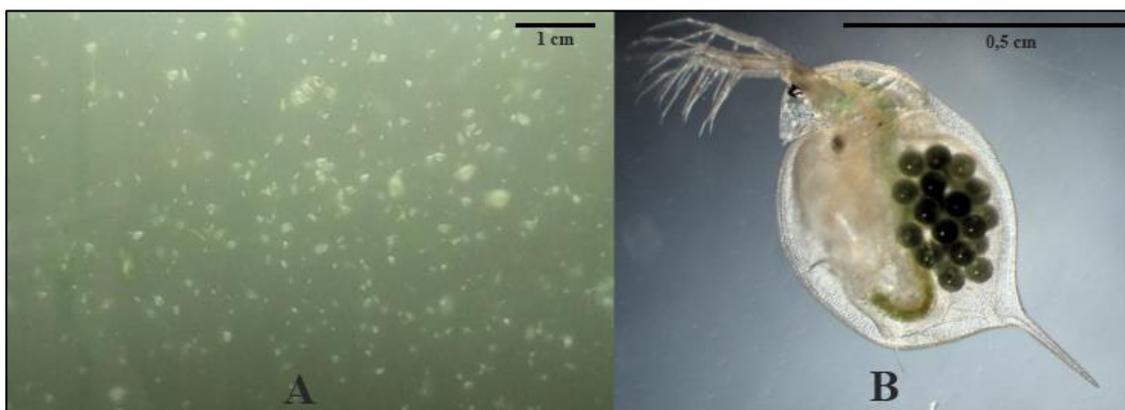


Figura 7 - (A) Indivíduos de *Daphnia magna* cultivados em laboratório suspensos na água (Foto: Próprio autor). (B) O microcrustáceo *Daphnia magna* apresentando uma ninhada de ovos assexuados (A: acervo LEPP, B: adaptado de wikipédia)

Atualmente, os testes de toxicidade com *D. magna* são baseados em imobilização e letalidade padronizados pela Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD). A análise detalhada da biologia da *D. magna* permite distinguir o comportamento de natação. Esses microcrustáceos são incolores devido à carapaça quitinosa transparente que protege o tórax e o abdômen. A visibilidade através da carapaça transparente permite observar

diversos parâmetros fisiológicos que são úteis na avaliação de efeitos tóxicos (OECD, 2004).

No ciclo de vida da *D. magna* existe o modo de reprodução sexuada ou assexuada (Figura 8). Em condições favoráveis, *D. magna* se reproduz por partenogênese cíclica o que oferece uma oportunidade para separar os componentes genéticos e ambientais da plasticidade fenotípica. Também apresentam uma alta fecundidade, que permite a obtenção de muitos organismos necessários para testes em curto espaço de tempo (EBERT, 2005; TATARAZAKO & ODA, 2007)

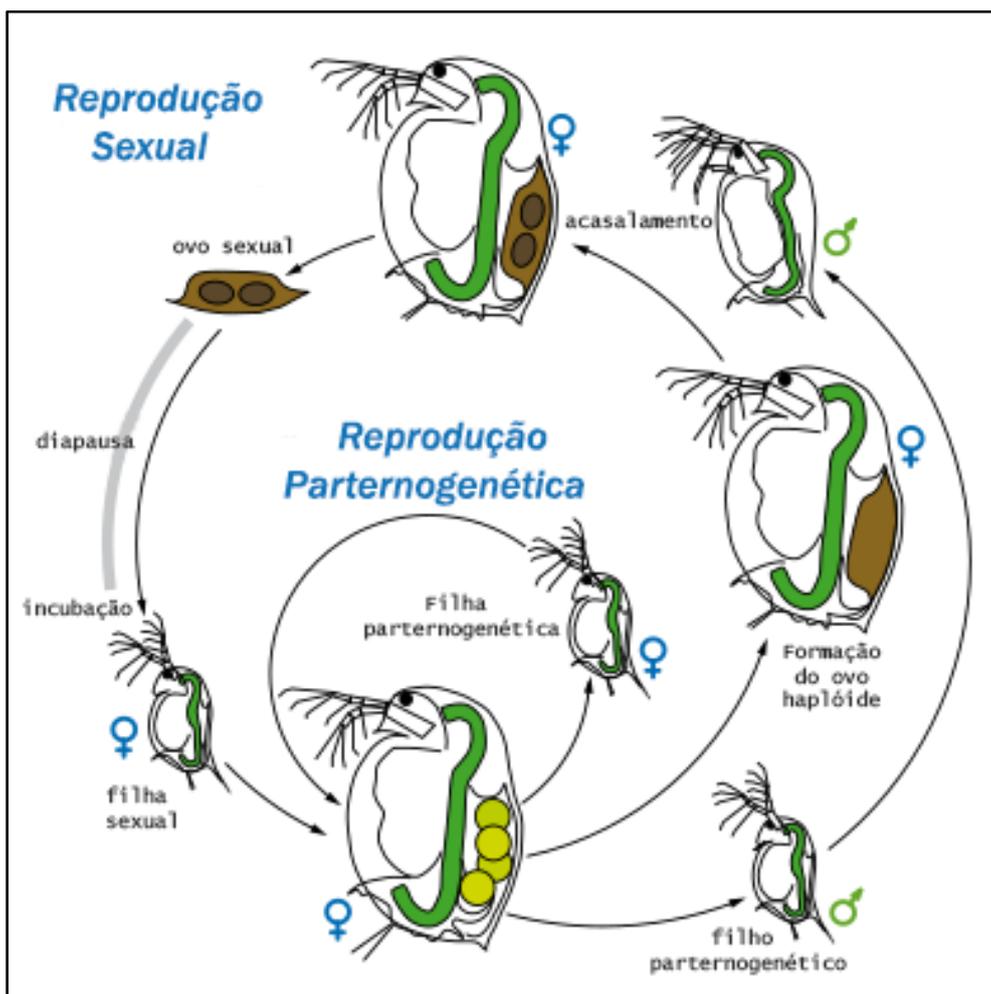


Figura 8 - Esquema representativo do ciclo de vida reprodutivo de *Daphnia magna*. (Adaptado de DITA VIZOSO, 2013)

1.4.2 *Allium cepa*

No contexto da ecotoxicologia, a utilização de organismos modelo desempenha um papel crucial na avaliação dos efeitos tóxicos. As sementes de *Allium cepa* (cebola) têm sido amplamente adotadas como um bioindicador

eficaz em estudos de ecotoxicidade devido à sua sensibilidade, facilidade de manipulação e características únicas. *A. cepa* é uma planta herbácea que possui um ciclo de vida rápido e apresenta alta taxa de germinação (Figura 9). Além disso, suas raízes visíveis proporcionam uma vantagem significativa, permitindo a avaliação direta dos efeitos tóxicos sobre as estruturas radiculares. As raízes de *A. cepa* são especialmente sensíveis a diversas classes de xenobióticos, permitindo a detecção de efeitos tóxicos mesmo quando expostas a baixas concentrações por curtos períodos. Alterações no crescimento e morfologia radicular são bons indicadores de citotoxicidade (IQBAL *et al.*, 2019).



Figura 9 - Bulbo de *Allium cepa* exibindo sistema radicular com raízes fasciculadas após o período de germinação em condições controladas (adaptado de www.vegetables.bayer.com).

A exposição das sementes de *A. cepa* a diferentes substâncias químicas permite a detecção de efeitos tóxicos, como inibição da germinação, inibição do crescimento radicular, alterações morfológicas e genotóxicas (Figura 10). Essa abordagem oferece a vantagem de possibilitar a quantificação precisa de parâmetros, como comprimento das raízes, massa fresca e seca das raízes, o que permite uma análise detalhada dos efeitos tóxicos sobre o crescimento e desenvolvimento das plantas (DE LIMA *et al.*, 2019; LEME & MARIN-MORALES, 2009; TESHKA *et al.*, 2019)

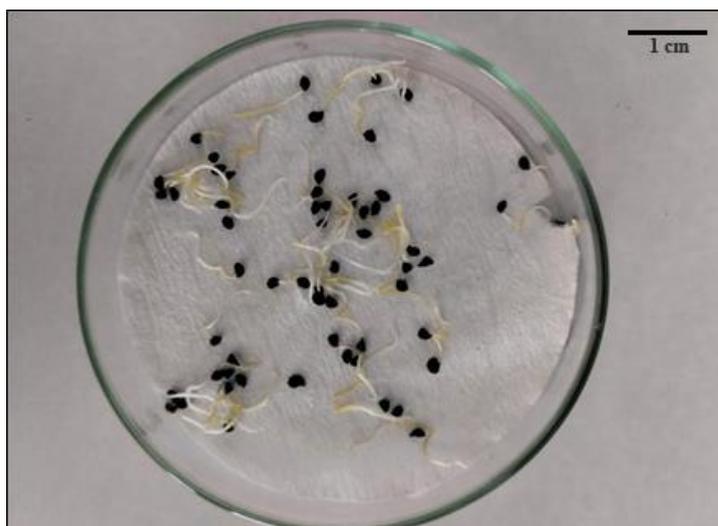


Figura 10 - Sementes de *Allium cepa* germinadas sobre papel de filtro em placa de Petri após 14 dias de incubação

No contexto dos problemas da produção alimentar no Brasil e soluções alternativas, propõe-se o estudo de novos derivados de pirólise, a fração aquosa e bio-óleo de diferentes rejeitos agroindustriais como metodologia alternativa para a obtenção de novas formulações e inseticidas. Assim, apontando para um futuro em que nossa proposta é a reutilização de rejeitos no controle de pragas e conseqüente aumento da segurança alimentar nos setores avícola e agrícola.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade pesticida de diferentes resíduos de biomassas convertidos em produtos através de pirólise lenta, no controle da praga avícola industrial, *Alphitobius diaperinus*, e do inseto praga de grãos armazenados *Rhyzopertha dominica*, para o desenvolvimento de novas estratégias eficazes no controle de pragas agropecuárias.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estabelecer e manter as colônias de *Alphitobius diaperinus*, *Rhyzopertha dominica* e no Laboratório de Estudos de Pragas e Parasitos;
- Padronizar o processo de pirólise de resíduos de biomassa de licuri;
- Padronizar o processo de pirólise de resíduos de biomassa TSM em duas temperaturas diferentes;
- Analisar e selecionar potenciais inseticidas através de testes de contato usando os líquidos de pirólise em adultos de *A. diaperinus*;
- Analisar e selecionar potenciais inseticidas através de testes de fumigação usando os líquidos de pirólise em adultos de *R. dominica*;
- Estabelecer a colônia e realizar testes de ecotoxicidade aguda em neonatos de *D. magna* expostas aos líquidos de pirólise;
- Realizar testes de fitotoxicidade em sementes de *A. cepa* expostas aos líquidos de pirólise;

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CONVERSÃO DE BIOMASSAS NO PROCESSO DE PIRÓLISE

3.1.1 OBTENÇÃO DAS BIOMASSAS

As biomassas submetidas à reação de pirólise são originárias de resíduos de diversas fontes das indústrias agrícola e alimentícia, compostas principalmente por lignina, celulose e hemicelulose. As biomassas coletadas passam por um processo de secagem em estufa a 100°C até que sua massa fique estável, com a finalidade de retirar a maior quantidade de umidade possível, sendo posteriormente armazenadas em potes plásticos em temperatura ambiente à espera de sua utilização.

Nesse trabalho as biomassas utilizadas para termoconversão por pirólise foram: Uma conversão da biomassa CAb; Três conversões da biomassa Torta de semente de maracujá (TSM) à 300°C e três conversões à 400°C, Três conversões da casca do fruto do licuri (contendo endosperma) e uma conversão da biomassa CdB.

3.1.2 O REATOR E O PROCESSO DE CONVERSÃO POR PIRÓLISE LENTA

O reator da marca Heraeus®, localizado no Laboratório de Síntese Orgânica, Cromatografia e Química Ambiental (SINCROMA) na Universidade Federal Fluminense (UFF), é do tipo batelada, ou seja, não ocorre um fluxo contínuo de biomassa, utilizando-se uma determinada quantidade de biomassa que permanece no reator até o final da conversão.

Conforme observado na Figura 11, o início do processo ocorre com a inserção do tubo de vidro já com a biomassa no interior do reator, em seguida é montada a cabeça, onde é acoplada uma mangueira que injeta N₂ como gás de arraste com a finalidade de reduzir a presença de O₂ no interior do tubo. O restante das peças é montado e o reator é ajustado entre 350 a 450° C. Com aproximadamente 30 minutos de aquecimento, o reator atinge a temperatura

indicada e inicia-se o processo de condensação que dura em torno de 1 a 2 horas.

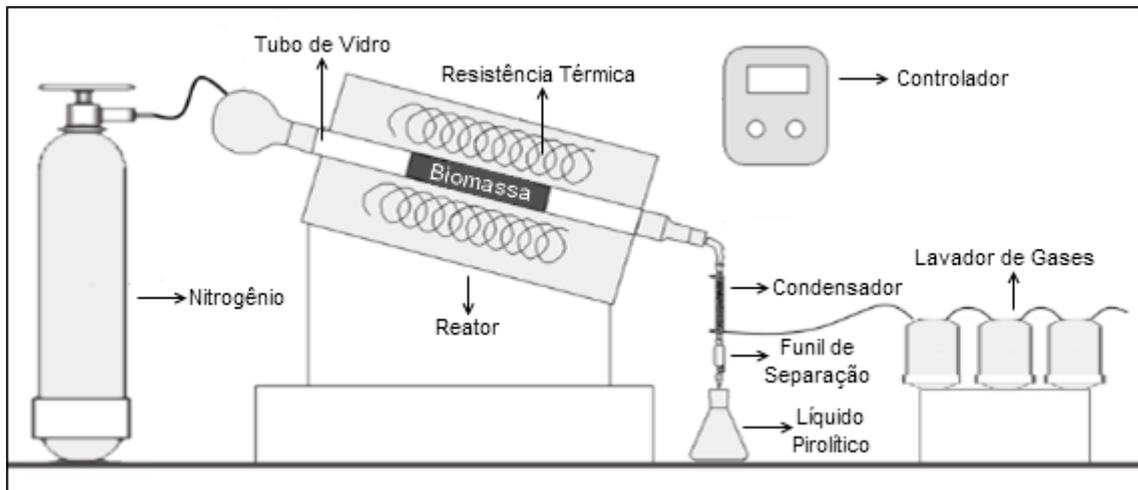


Figura 11 - Esquema representativo do reator de pirólise do tipo batelada. (Fonte: Próprio autor)

A parte líquida condensável é separada pelo funil de separação em aquosa e oleosa. A parte aquosa, que condensa primeiro, ainda é subdividida (Figura 12) conforme vai saindo do reator, sendo coletada de tempo em tempo com volumes iguais. A finalidade da subdivisão é obter frações com atividades distintas e, assim, encontrar a melhor faixa da ação pesticida. Em seguida, a parte oleosa depositada no funil de separação é recolhida. O rendimento típico das frações aquosa e oleosa pode variar conforme a quantidade de lignina, celulose e hemicelulose na biomassa utilizada.



Figura 12 - Subdivisão em cinco partes com mesmo volume das águas de pirólise com a numeração em ordem crescente conforme ordem da coleta durante a conversão (Foto: Próprio autor).

3.2 A COLÔNIA MASSAL

As colônias massais de insetos-praga foram estabelecidas para manter uma fonte contínua de insetos no laboratório, visando posterior seleção de indivíduos para estabelecimento das colônias experimentais padronizadas. Não há padronização rígida da quantidade de substrato e idade dos insetos nas colônias massais, uma vez que não foram utilizadas diretamente nos bioensaios. As colônias massais foram iniciadas a partir de indivíduos obtidos junto a criadores ou em instalações comerciais. Foram mantidas em condições controladas de temperatura e umidade, com alimentação periódica. A partir dessas colônias massais, foram selecionados indivíduos adultos para que se reproduzam e ovipositem, originando as colônias experimentais F₁ utilizadas nos bioensaios.

3.2.1 A COLÔNIA MASSAL DE *Alphitobius diaperinus*

Os cascudinhos foram capturados na granja de uma escola agrícola municipal localizada em Unamar, zona rural de Cabo Frio e levados ao Laboratório de Estudos em Pragas e Parasitos (LEPP) da UFF. No total foram

coletados aproximadamente 40 insetos que foram armazenados em um recipiente plástico com tampa medindo 20 cm x 30 cm. O recipiente recebeu como substrato aproximadamente 800g de uma mistura na proporção de 2:1:1 de Ração de coelho (Zotekna®), Ração para crescimento de frangos (Guabi®) e Maravalha (MS Pet®) respectivamente, além de papel filtro dobrado de forma a simular frestas e fissuras, os locais preferidos pelo inseto para a oviposição (Figura 13).



Figura 13 - Colônia massal do inseto-praga da avicultura *Alphitobius diaperinus*. (Yasmim Nascimento).

Os componentes do substrato passaram por um tratamento térmico no freezer por no mínimo 24h visando a eliminação de qualquer contaminação por outro metazoário. Em seguida, foram triturados até que a granulometria fosse inferior a 1 mm e um pedaço de aproximadamente 10 cm de pepino ou batata-doce foi adicionado semanalmente como fonte adicional de umidade. Durante todo o período, os insetos foram mantidos em estufa tipo Biological Oxygen Demand (BOD) com fotoperíodo de 12 horas de claro/escuro a $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ e em torno de 80% de umidade relativa (UR). A espécie foi identificada pela equipe do Dr. Paulo Pereira, pesquisador da EMBRAPA Trigo sediada em Passo Fundo/RS, em junho de 2018.

3.2.2 A COLÔNIA MASSAL DE *Rhyzopertha dominica*

Os besourinhos dos cereais capturados pela Dra. Evelize Folly em meados de 2014, foram mantidos em recipientes de vidro com tampa de rosca medindo aproximadamente 30 cm de altura por 10 cm de diâmetro com aproximadamente 800 g de milho triturado (Granfino®), preenchendo o frasco até a metade (Figura 14). O substrato passou por um tratamento térmico no freezer por no mínimo 3 dias visando a eliminação de qualquer contaminação por outro metazoário. Durante todo o período, os insetos foram mantidos em estufa BOD com fotoperíodo de 12 horas de claro/escuro a 34 °C ± 1 e cerca de 70% UR. A espécie foi identificada pela equipe do Dr. Paulo Pereira, pesquisador da EMBRAPA Trigo sediada em Passo Fundo/RS, em dezembro de 2014.



Figura 14 - Colônia massal do inseto-praga de grãos armazenadosm *Rhyzopertha dominica* (Foto: Próprio autor).

3.3 COLÔNIA EXPERIMENTAL F₁

A colônia experimental F₁ foi estabelecida com a finalidade de sincronizar o estágio de vida experimental e obter insetos para os bioensaios. Devido ao seu modo de controle, sabe-se a idade aproximada dos insetos-praga, o que é importante para padronizar os testes e evitar variações nos resultados em função das diferenças de idade entre os indivíduos.

3.3.1 COLÔNIA EXPERIMENTAL F₁ DE *Alphitobius diaperinus*

Cerca de 50 insetos adultos foram mantidos por uma semana em um recipiente plástico medindo aproximadamente 15 x 20 cm (Figura 15), com o substrato e sob as mesmas condições descritas no item 3.2.1. Após esse período, os cascudinhos foram retirados e a emergência de novos adultos da geração F₁ ocorrerá em até 7 semanas.

Após a emergência dos adultos F₁, aguardou-se mais uma semana, período necessário para a esclerotização da cutícula. Após esse período, os insetos estavam prontos para os bioensaios. Os insetos adultos utilizados nos testes tinham em torno de duas semanas de emergência do estágio pupal.



Figura 15 - Quatro colônias experimentais F₁ do inseto-praga da avicultura *Alphitobius diaperinus* (Foto: Próprio autor).

3.3.2 COLÔNIA EXPERIMENTAL F₁ DE *Rhyzopertha dominica*

Em torno de 50 insetos foram mantidos por uma semana em um recipiente de vidro de 500 mL com tampa de rosca, contendo 200 g de milho triturado (Figura 16) mantidos nas condições descritas no item 3.2.2. Após essa semana, os besourinhos foram retirados e a emergência da geração F₁ ocorreu em até 4 semanas, cerca de 27 dias. Os insetos adultos utilizados nos testes tinham entre uma e duas semanas de emergência do estágio pupal.

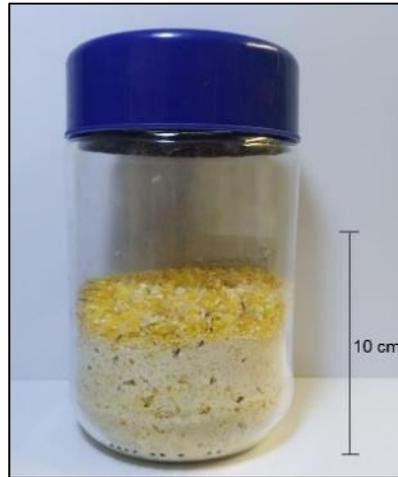


Figura 16 - Colônia experimental F1 da praga primária de grãos armazenados *Rhyzopertha dominica*. (Foto: Próprio autor).

3.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA POR TOXICIDADE DE CONTATO EM *Alphitobius diaperinus*

O teste de toxicidade por contato objetiva avaliar o efeito inseticida dos líquidos pirolíticos, simulando a aspersão desses compostos em ambientes infestados. Esta abordagem permitiu que os insetos entrem em contato direto com o produto, levando à sua morte. A mortandade pode ocorrer pelo contato direto com as superfícies tratadas, pela ingestão de resíduos ou pela inalação de voláteis tóxicos presentes nos líquidos pirolíticos. Este método pode ser utilizado tanto de forma preventiva, para evitar o estabelecimento de pragas, quanto curativa, no controle de infestações já estabelecidas. Porém, deve-se respeitar um período de carência após a aplicação antes do uso ou consumo seguro desses ambientes e produtos.

O teste de toxicidade por contato foi realizado em adultos de *A. diaperinus* utilizando o método de papel filtro impregnado (Figura 17). Placas de Petri de 9 cm de diâmetro foram forradas com papel filtro, cobrindo todo o fundo. Nos tratamentos com líquidos pirolíticos (das biomassas: CdB, Licuri e CAb) as frações aquosas foram diluídas em água destilada e os bio-óleos solubilizados em acetona pura. Em seguida, alíquotas de 1 mL das soluções teste foram aplicadas ao papel filtro e 20 insetos foram adicionados a cada placa. Nos grupos tratados com bio-óleos, permitiu-se a evaporação da acetona por 5-10 minutos antes da introdução dos insetos. Os grupos de controle negativo foram tratados com água ou acetona. Foram utilizados no mínimo 120 insetos por tratamento e

os ensaios foram repetidos no mínimo 3 vezes. A mortalidade foi avaliada a cada 24 horas por 96 horas. Os insetos em decúbito dorsal e sem movimentos de patas ou antenas foram considerados mortos, conforme descrito por Wang e colaboradores (2014).



Figura 17 - Teste de contato na praga da avicultura industrial *Alphitobius diaperinus*. (Foto: Próprio autor).

3.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA POR TOXICIDADE DE FUMIGAÇÃO EM *Rhyzopertha dominica*

Expurgo ou fumigação é uma técnica que utiliza a volatilização de um inseticida em um ambiente hermeticamente fechado, com o intuito de tratar um lote que já apresente a infestação. Os inseticidas fumigantes são indicados e utilizados em insetos pragas de produtos armazenados, devido a sua facilidade de difusão entre os espaços na massa de grãos. Esse teste visa observar a ação inseticida dos voláteis que compõem os líquidos obtidos pela pirólise. A eficiência da fumigação depende de garantir a concentração letal do volátil durante o tempo necessário. Por isso, a vedação do ambiente deve ser rigorosa, evitando ao máximo vazamentos.

O teste consiste na impregnação de discos de papel filtro (2 cm de diâmetro) com os líquidos pirolíticos (das biomassas: CdB, Licuri, TSM, CAb) (Figura 18). Os discos foram fixados na parte interna da tampa de frascos de 40 mL. Em seguida, foram adicionados 20 insetos adultos de *R. dominica* a cada frasco. Grupos controle receberam discos impregnados com água, etanol ou papel filtro puro. Todos os frascos foram mantidos em estufa BOD regulada a $34^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 12h claro/escuro e UR de 70%. Foram utilizados no mínimo 120 insetos por tratamento e os ensaios foram repetidos no mínimo 3 vezes. A mortalidade foi avaliada a cada 24 horas por 96 horas. Os insetos considerados mortos estavam em decúbito dorsal e não apresentavam

movimentos em patas ou antenas, conforme descrito por Huang e colaboradores (2000).

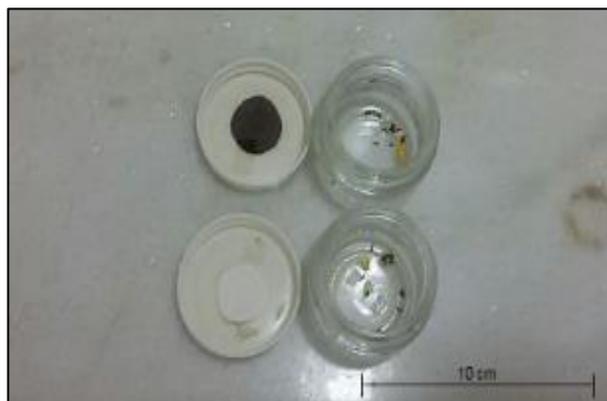


Figura 18 - Teste de fumigação com o inseto praga de grãos armazenados *Rhyzopertha dominica* (Foto: Próprio autor).

3.6 COLÔNIA DE CULTIVO DE *Daphnia magna*

A colônia de *Daphnia magna* foi mantida em aquários de vidro de aproximadamente 20 litros, cobertos para evitar proliferação de mosquitos (Figura 19). Os aquários recebem oxigenação constante por meio de um compressor Risheng RS-608. A alimentação da colônia é realizada de uma a duas vezes por semana, utilizando microalgas (*Spirulina spp.*) e fermento biológico liofilizado (*Saccharomyces cerevisiae*). A água dos aquários segue padrões da Normativa Brasileira (NBR) 12713 da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT): pH entre 7,5 e 8,5; dureza > 180 ppm; e condutividade elétrica > 350 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (ABNT, 2016).

Para obtenção dos organismos teste, matrizes são separadas manualmente em recipientes com 3 litros de água, um dia antes dos ensaios. Nestes recipientes, aguarda-se a emergência dos neonatos que serão utilizados nos experimentos. Este método padronizado de cultivo e manutenção da colônia fornece organismos saudáveis e em condições adequadas para a realização de ensaios ecotoxicológicos.



Figura 19 - Colônia massal do microcrustáceo de água doce *Daphnia magna* utilizado em testes de ecotoxicidade aquática (Fonte: Próprio autor).

3.7 TESTE DE IMOBILIDADE EM *Daphnia magna*

O teste de imobilidade foi baseado na NBR 12713 (ABNT, 2016). Esse método consiste na exposição de *D. magna* que nasceram a menos de 24h (neonatos) a várias diluições (100, 75, 50, 25 e 12,5 mg/L) dos produtos a serem testados por um período de 48h, observando a cada 24h a taxa de imobilidade.

Em uma placa de 6 poços com fundo chato (Figura 20), são adicionados 10 mL de água de cultivo e cinco neonatos em cada poço, em seguida 1 mg da droga é adicionado. Nessa proporção, atingimos a concentração de 100 mg/L, que é o critério mínimo de toxicidade aquática estabelecido pelo Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (GHS) (GHS, 2021). Os testes são realizados em quadruplicata, respeitando a proporção de 2 mL/*Daphnia*, 20 neonatos por repetição e pelo menos três repetições.



Figura 20 - Placas de 6 poços com fundo chato utilizadas para a realização dos testes de imobilidade em *Daphnia magna* (Foto: próprio autor).

O teste inicial com a concentração de 100 mg/L fornecerá um resultado qualitativo. Se houver imobilidade de mais de 50% dos organismos, a amostra foi considerada tóxica e foi realizado o teste quantitativo. No teste quantitativo foram utilizadas diferentes concentrações para determinar a concentração efetiva que imobilizava 50% dos organismos (CE_{50}). Com a CE_{50} determinada, a amostra poderá ser classificada quanto à toxicidade aquática aguda segundo o critério do GHS: Nível Agudo III ($CE_{50} > 10$ e ≤ 100 mg/L), Nível Agudo II ($CE_{50} > 1$ e ≤ 10 mg/L) e Nível Agudo I ($CE_{50} \leq 1$ mg/L). Para a amostra Nível Agudo I será necessário aplicar a rotulagem de perigo ambiental (Figura 21).



Figura 21 - Pictograma correspondente a substâncias perigosas para o ambiente aquático. A imagem fica estampada no rótulo de substâncias classificadas com o nível de toxicidade Agudo I em todos os países que aderiram o Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (GHS, 2013).

3.8 TESTE DE FITOTOXICIDADE EM SEMENTES DE *Allium cepa*

O ensaio foi conduzido com sementes de *A. cepa* (cebola) cultivar TopSeed (lote 086248), seguindo metodologia adaptada de Rank (2003). Foram expostas

20 sementes (pré-pesadas) por placa de Petri forrada com papel filtro marca Germitest®, umedecido com 1 mL da solução aquosa ou oleosa de líquidos pirolíticos na concentração de 1% (Figura 22).



Figura 22 - Teste de fitotoxicidade em sementes de *Allium cepa* (Foto: Próprio autor).

As sementes foram mantidas no escuro a $22 \pm 3^\circ\text{C}$ por 14 dias. Após 7 dias, foi realizada nova umectação das placas. Ao final, três parâmetros foram avaliados: Taxa de germinação, comprimento das raízes e massa fresca das plântulas. A taxa de germinação foi calculada dividindo o número de sementes germinadas nos tratamentos pelo número de sementes germinadas no controle, enquanto que o comprimento da raiz primária foi analisado pelo software ImageJ® (Figura 23).

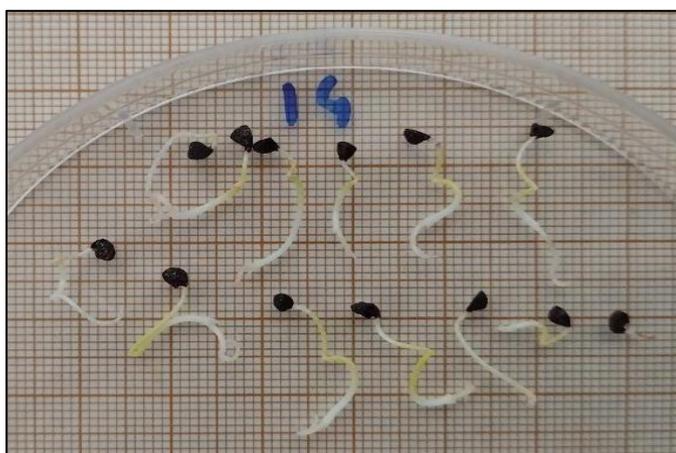


Figura 23 - Plântulas dispostas no papel milimetrado em posição para a medição no software ImageJ® (Foto: Próprio autor).

O ensaio foi feito em triplicata, e repetido no mínimo 3 vezes. Frações aquosas foram diluídas em água destilada e as Frações oleosas em acetona. Nesta última foi permitida a evaporação do solvente por 10 min antes do teste e por fim, adicionado 1 mL água destilada. Além dos parâmetros avaliados, foi

utilizada uma escala qualitativa para classificação comparativa do desempenho geral dos grupos tratados em relação ao grupo controle:

Nível 3: Efeito estimulatório em 3 parâmetros

Nível 2: Efeito estimulatório em 2 parâmetros

Nível 1: Efeito estimulatório em 1 parâmetro

Nível 0: Sem diferença significativa com o controle nos 3 parâmetros

Nível -1: Efeito inibitório em 1 parâmetro

Nível -2: Efeito inibitório em 2 parâmetros

Nível -3: Efeito inibitório em 3 parâmetros

3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para a análise estatística das mortalidades, os dados foram tabelados no Microsoft Excel® e tratados utilizando o software GraphPad PRISM® 8.0 (GraphPad Software Inc, San Diego, EUA).

Após a observação da distribuição gaussiana, através dos testes de normalidade D'Agostino–Pearson e ou Shapiro-Wilk. Se os dados forem considerados paramétricos, a análise da significância ocorre via ANOVA two way seguido do teste *post hoc* Tukey. Se forem considerados não paramétricos, a análise da significância ocorre via Kruskal-Wallis test seguido do teste *post hoc* Dunn. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$)

A taxa de mortalidade foi corrigida mediante a fórmula proposta por Henderson & Tilton (1955):

$$E\% = \left[1 - \left(\frac{taxcb}{tbxca} \right) \right] \times 100$$

Onde: t = grupo tratado; c = grupo controle; ta e ca = número de insetos após o tratamento; tb e cb = número de insetos antes do tratamento.

O Índice de infestação (I) foi calculada mediante a fórmula:

$$I = \frac{\pi r^2}{n}$$

Onde: r = raio da placa de Petri; n = número de insetos na placa de Petri.

4. RESULTADOS

Os resultados apresentados neste trabalho são continuação de um estudo realizado durante o mestrado, no qual foi feita uma prospecção inicial envolvendo mais de 15 biomassas distintas (Anexo I). Após triagem inicial, foram selecionadas para investigação aprofundada apenas aquelas que apresentaram os melhores resultados de mortalidade dos insetos-alvo e cuja obtenção em escala suficiente para as pirólises era viável. As biomassas que preencheram esses critérios de potencial inseticida e disponibilidade foram então submetidas a estudos mais detalhados de toxicidade, incluindo, bioensaios com insetos e testes ecotoxicológicos. Os resultados desse processo de seleção, pirólise e caracterização toxicológica completa das biomassas mais promissoras serão apresentados em detalhes a seguir.

4.1 AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DA PIRÓLISE DA BIOMASSA CdB

Nesse estudo, foi utilizada uma pirólise de CdB. A análise do rendimento das frações geradas mostrou a seguinte distribuição percentual: 34,8% de fração aquosa; 6,3% de bio-óleo; 37,2% de biocarvão e; 21,7% de biogás. O processo resultou em quatro frações aquosas distintas e uma fração de bio-óleo. Essas cinco frações foram submetidas a ensaios de toxicidade com insetos e com o microcrustáceo *D. magna*. Já para os testes de fitotoxicidade, não foi utilizada a Fração Aquosa 4, pois seu volume reduzido se esgotou antes de ser testado. As demais frações aquosas e o bio-óleo puderam ser avaliados quanto ao potencial fitotóxico.

4.1.1 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE POR CONTATO DOS L.P. DE CdB EM *Alphitobius diaperinus*

As frações aquosas (A1, A2, A3 e A4) não apresentaram atividade inseticida significativa contra *A. diaperinus*. A fração oleosa (OL) demonstrou uma taxa de mortalidade relativamente baixa, atingindo cerca de 36% após 96 horas de exposição. É importante ressaltar que a mortalidade observada na fração oleosa foi estatisticamente significativa em comparação com o grupo controle ($p < 0,0001$) (Tabela 1).

Tabela 1 - Taxa de mortalidade de adultos de *Alphitobius diaperinus* tratados com L.P. de CdB concentrado a 4,5 mg/cm² via toxicidade por contato. Os valores de mortalidade em diferentes intervalos de tempo (24h, 48h, 72h e 96h) foram apresentados com erro padrão da média (SEM). Todos os testes foram conduzidos com n = 120 insetos. A taxa de mortalidade foi calculada de acordo com a fórmula proposta por Henderson & Tilton. Observou-se que os valores de p para OL e C-** foram $< 0,0001$, enquanto para os demais testes, os valores de p foram $> 0,9999$.

CdB	Mortalidade (%) \pm SEM			
	24h	48h	72h	96h
4,5mg/cm ²				
A1	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
A2	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
A3	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
A4	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
OL	4,2 \pm 0,1	17,5 \pm 0,2	33,3 \pm 0,3	35,8 \pm 0,2
C-*	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
C-**	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0

C-: controle negativo; *Água; ** Acetona.

4.1.2 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE POR FUMIGAÇÃO DOS L.P. DE CdB EM *Rhyzopertha dominica*

As frações aquosas (A1, A2, A3 e A4) demonstraram uma atividade inseticida inferior a 10%. Por outro lado, a fração oleosa (OL) apresentou uma elevada taxa de mortalidade, superior a 83% após 96 horas de tratamento. É importante destacar que a mortalidade observada na fração oleosa foi estatisticamente significativa em relação ao grupo controle, com um valor de p menor que 0,0001 (Tabela 2).

Tabela 2 - Taxa de mortalidade em adultos de *Rhyzopertha dominica* submetidos ao teste de toxicidade por fumigação com 30 mg de L.P. de CdB, concentrado a 750 mg/L_(ar). Os valores de mortalidade, medidos em diferentes intervalos de tempo, estão apresentados com erro padrão da média (SEM). Todos os testes foram conduzidos com n = 120 insetos, mantendo uma taxa de infestação de 0,5 insetos/mL. A taxa de mortalidade foi calculada de acordo com a fórmula proposta por Henderson & Tilton. Observou-se que os valores de p para OL e C-** foram < 0,0001, enquanto para os demais testes, os valores de p foram > 0,05.

CdB	Mortalidade (%) ± SEM			
	24h	48h	72h	96h
750 mg/L _(ar)				
A1	0,0 ± 0,0	0,9 ± 1,1	3,4 ± 0,8	7,2 ± 4,5
A2	0,0 ± 0,0	2,5 ± 1,1	2,5 ± 1,5	7,5 ± 3,0
A3	0,0 ± 0,0	6,8 ± 0,8	6,8 ± 0,8	8,1 ± 1,3
A4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 1,1	0,0 ± 1,1	0,0 ± 2,0
OL	35,0 ± 6,1	55,0 ± 9,1	74,2 ± 7,8	83,3 ± 8,2
C-*	0,0 ± 0,0	2,5 ± 1,4	2,5 ± 1,4	10,0 ± 2,9
C-**	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	5,0 ± 2,9

C-: controle negativo; * Água; ** Acetona.

Dado o sucesso da fração oleosa da pirólise da biomassa CdB, que resultou em uma mortalidade superior a 50% após 96 horas de tratamento, novos protocolos foram implementados, envolvendo concentrações reduzidas (500, 375, 250, 187 e 125 mg/L). Esses protocolos foram adotados com o propósito de aprofundar a avaliação da toxicidade e estabelecer um padrão de resposta à dose. Em seguida, esses dados foram submetidos a uma análise de regressão não linear, utilizando o teste probit, para determinar o DL₅₀ (concentração letal para 50% da população-alvo). O resultado foi de uma DL₅₀ de 470,1 mg/L_(ar) (Figura 24).

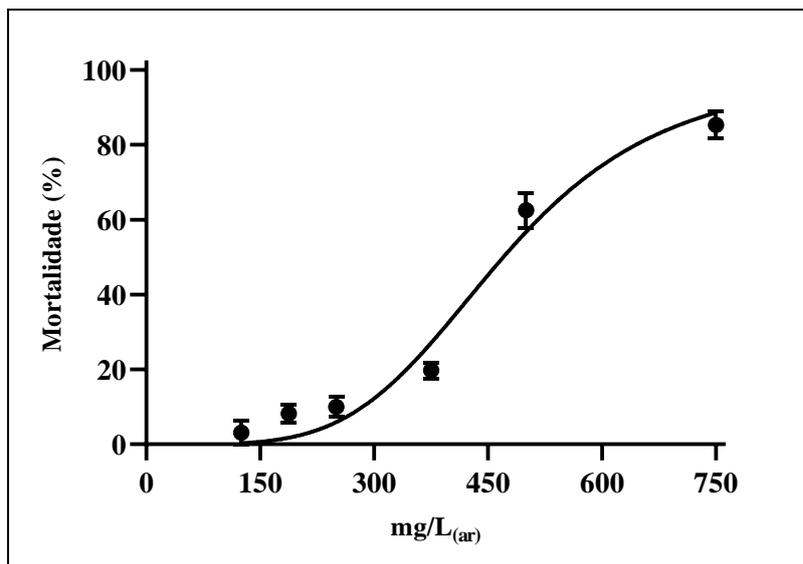


Figura 24 - Dose-resposta em *Rhizopertha dominica* após 96h da exposição com óleo de pirólise de CdB nas concentrações de 750, 500, 375, 250, 187,5 e 125 mg/L de ar. Para todos os testes, n = 120 indivíduos. DL₅₀ = 470,1 mg/L_(ar) [448,1 ~ 494,1] (IC 95%).

4.1.3 AVALIAÇÃO DA IMOBILIDADE AGUDA EM NEONATOS DE *Daphnia magna* EXPOSTOS À L.P. DE CdB

O teste qualitativo (Tabela 3) realizado com a concentração padrão de 100 mg/L demonstrou que as frações aquosas não exibiram toxicidade significativa para os organismos aquáticos em comparação com o grupo de controle (Água). Por outro lado, o bio-óleo resultou em uma taxa de mortalidade de 90% após 48 horas de exposição, o que indicou a necessidade de uma análise quantitativa mais detalhada.

Tabela 3 - Taxa de Imobilidade em neonatos de *Daphnia magna* expostos à 100 mg/L dos L.P. de CdB sucedido pelo erro padrão da média (SEM). (n=3 repetições).

CdB	Nº de Daphnias	Imobilidade (%) ± SEM	
		24h	48h
100 mg/L			
A1	60	5 ± 0,9	15,0 ± 2,6
A2	60	3,3 ± 0,8	10,0 ± 1,2
A3	60	1,7 ± 0,4	1,7 ± 0,4
A4	60	5,0 ± 0,8	5,0 ± 0,8
OL	60	45,0 ± 1,3	90,0 ± 0,5
C-*	60	1,3 ± 0,8	1,7 ± 1,3
C-**	60	3,0 ± 0,9	3,3 ± 1,0

C-: controle negativo; *Água; ** Acetona.

As concentrações utilizadas foram diluídas em série (100, 50, 25, 12,5 e 6,75 mg/L). A Figura 25 abaixo informa o padrão dose-resposta obtido pela exposição dos neonatos de *D. magna* a CdB após 48h. A imobilidade apresentou uma queda brusca em relação a concentração padrão, todas abaixo de 9%, sugerindo uma baixa toxicidade para organismos aquáticos. A análise não linear probit demonstrou que o CE₅₀ (concentração de efeito para 50% da população-alvo) foi de 71,76 mg/L. Segundo o GHS (2013), valor de CE₅₀ obtido está entre 100 e 10 mg/L, isso indica um nível agudo III de toxicidade (Pouca Toxicidade). Esses valores de CE₅₀ para o bio-óleo, são muitas vezes superiores aos inseticidas convencionais utilizados para o controle das pragas, indicando a baixa ecotoxicidade aguda para essa substância.

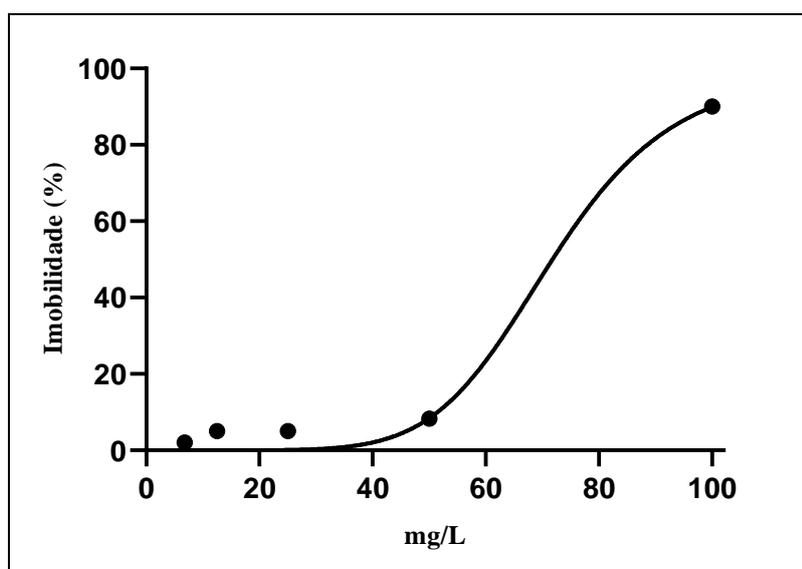


Figura 25 - Dose-resposta em *Daphnia magna* após 48h da exposição com o bio-óleo de CdB nas concentrações 100, 50, 25, 12,5 e 6,75 mg/L. Para todos os testes n=60 indivíduos e 3 repetições. CE₅₀ = 71,76 mg/L [68,61 ~75,15] (IC 95%).

4.1.4 AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE EM SEMENTES DE *Allium cepa* EXPOSTAS AOS L.P. DE CdB

4.1.4.1 Ensaio de germinação após exposição aos L.P. de CdB

Para a realização deste ensaio, apenas as frações aquosas A1, A2 e A3 foram utilizadas, uma vez que a Fração A4, que possuía uma quantidade inferior às outras, esgotou-se antes de poder ser testada. Os resultados obtidos na

Figura 26 indicaram que houve uma diferença estatisticamente significativa apenas nas sementes de *A. cepa* tratadas com os L.P. de CdB quando expostas ao bio-óleo, em comparação com o grupo controle. No entanto, mesmo com essa diferença estatística, a taxa de germinação das sementes tratadas com bio-óleo foi superior a 90%, sugerindo uma baixa fitotoxicidade dos derivados da pirólise de CdB. A taxa de germinação das sementes tratadas com acetona exibiu uma leve redução, mas essa diferença não alcançou significância estatística, assim como, os tratamentos com os L.P. de CdB (A1, A2 e A3).

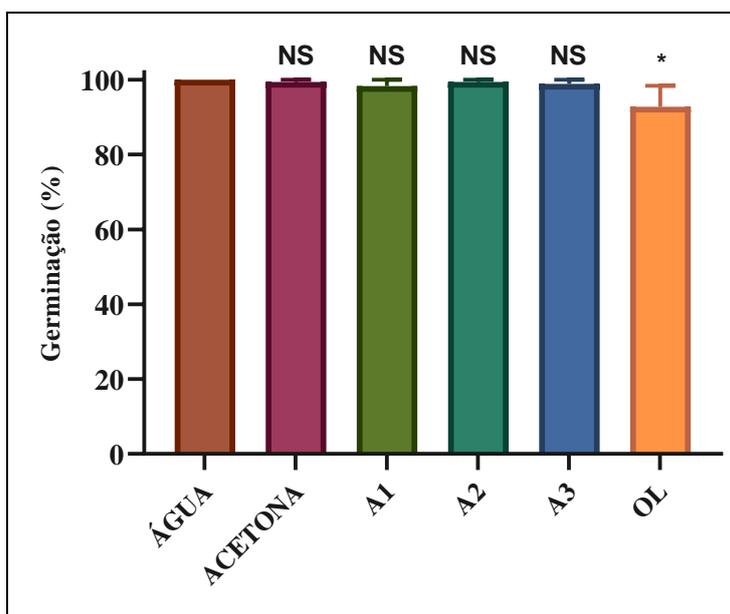


Figura 26 - Taxa de germinação em sementes de *Allium cepa* expostas aos L.P. CdB a 1% após 14 dias. O p-valor (*) = 0,0124 indica diferença significativa em relação ao controle (acetona), enquanto (NS) indica ausência de diferença significativa.

4.1.4.2 Ensaio da medição das raízes após exposição aos L.P. de CdB

A análise dos dados (Figura 27) revelou que o tratamento com acetona não obteve um impacto estatisticamente significativo no crescimento radicular das sementes de *A. cepa*, apresentando um tamanho médio das raízes de 47,6 mm, próximo ao grupo controle tratado com água (50 mm).

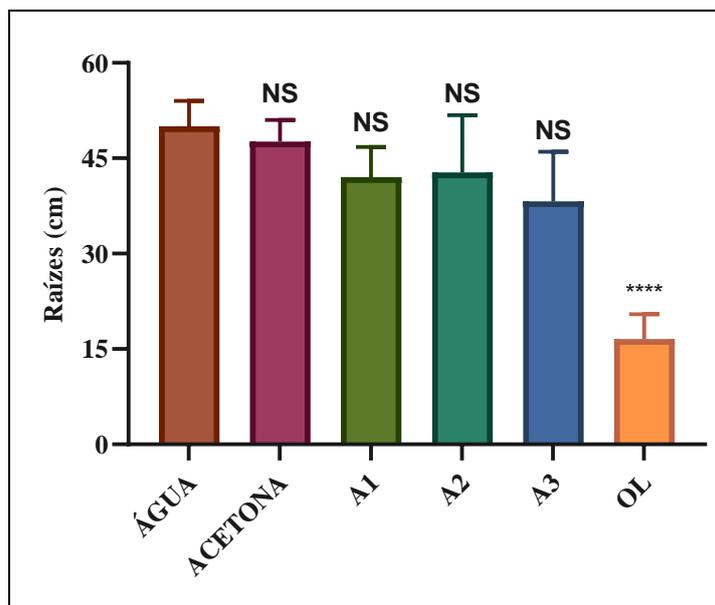


Figura 27 - Tamanho médio das raízes formadas em sementes de *A. cepa* expostas aos L.P. CdB a 1% após 14 dias. O p-valor (****) < 0,0001 indica diferença significativa em relação ao controle (acetona), enquanto (NS) indica ausência de diferença significativa.

Da mesma forma, os tratamentos com os L.P. de CdB (A1, A2 e A3) não resultaram em diferenças estatisticamente significantes no tamanho médio das raízes em comparação com o grupo controle. No entanto, o tratamento com o bio-óleo mostrou uma inibição significativa no crescimento radicular, com um tamanho médio das raízes de 16,6 mm, sendo consideravelmente menor em relação ao grupo controle. Esses resultados indicam uma tendência de aumento da fitotoxicidade à medida que as frações aquosas dos L.P. de CdB avançam, com a maior proximidade com o bio-óleo.

4.1.4.3 Avaliação da massa média das raízes após exposição aos L.P. de CdB

Os resultados (Figura 28) indicam variações significativas na massa média das raízes das sementes de *A. cepa* submetidas expostas aos tratamentos. O grupo controle tratado com água apresentou uma média de 389,24 mg. O tratamento com acetona resultou em uma massa média das raízes de 351,26 mg, mostrando uma redução não estatisticamente significativa. Já os tratamentos com os L.P. de CdB (A1, A2 e A3) apresentaram valores de 319,21 mg, 331,99 mg e 303,72 mg, respectivamente, também sem diferenças estatisticamente significantes. No entanto, o tratamento com o bio-óleo exibiu

uma redução significativa na massa média das raízes, com um valor de 194,39 mg, em relação ao grupo controle. Esses resultados sugerem um efeito inibitório acentuado no crescimento radicular das sementes de *A. cepa* pelo bio-óleo. Portanto, os derivados da pirólise de CdB podem apresentar compostos fitotóxicos, especialmente no caso do bio-óleo, que afetam negativamente o desenvolvimento das raízes das sementes de *A. cepa*.

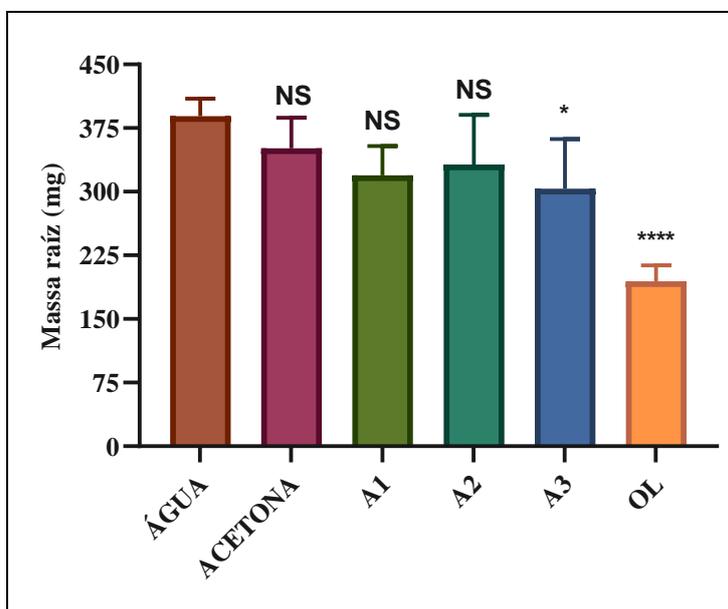


Figura 28 - Massa média das raízes formadas em sementes de *Allium cepa* expostas aos L.P. CdB a 1% após 14 dias. O p-valor (****) < 0,0001 e (*) = 0,0190 indicam diferença significativa em relação ao controle (acetona ou água), enquanto (NS) indica ausência de diferença significativa.

Com base nesse contexto, as frações A1 e A2 foram categorizadas como Nível 0, a Fração A3 como Nível -1 e, finalmente, o bio-óleo como Nível -3, por apresentar o efeito inibitório significativo nos três ensaios.

4.2 AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DA PIRÓLISE DE LICURI

Nesse estudo, foram realizadas três diferentes conversões térmicas por pirólise de licuri em momentos distintos. A análise do rendimento médio das frações mostrou os seguintes percentuais: 45,7% de líquido aquoso; 8,5% de bio-óleo; 37,1% de biocarvão e 8,7% de biogás. Para os ensaios de toxicidade em *A. diaperinus* e *R. dominica*, foram testadas as frações aquosas das três conversões de pirólise do licuri. Já nos testes de ecotoxicidade, foram avaliados especificamente o líquido aquoso e o bio-óleo provenientes da primeira conversão de pirólise do licuri (LICURI.1).

4.2.1 AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DOS L.P. DE LICURI EM *Alphitobius diaperinus*.

A primeira conversão revelou uma variação da mortalidade ao longo do tempo (Tabela 4). Após 24 horas de exposição, o ensaio de contato com a fração A1 apresentou uma taxa de mortalidade de 3,9%, que aumentou gradualmente para 9,4% após 96 horas. No entanto, vale ressaltar que essa taxa não foi estatisticamente significativa quando comparada ao controle. As frações A2, A3, A4 e A5 mostraram um padrão diferente, com taxas de mortalidade aumentando progressivamente com o tempo de exposição. A fração A2, por exemplo, registrou 25,0% após 24 horas, aumentando para 53,9% após 96 horas. As frações A3, A4 e A5 também apresentaram aumentos, sendo a fração A3 a mais eficaz, alcançando uma taxa de 87,2% após 96 horas.

Tabela 4 - Taxa de mortalidade de adultos de *Alphitobius diaperinus* tratados com as frações aquosas de três conversões de licuri (4,5 mg/cm²) via toxicidade por contato. Os valores de mortalidade em diferentes intervalos de tempo (24h, 48h, 72h e 96h) foram apresentados com erro padrão da média (SEM). Todos os testes foram conduzidos com pelo menos n = 120 insetos, mantendo uma taxa de infestação de 0,3 insetos/cm² por repetição. A taxa de mortalidade foi calculada de acordo com a fórmula proposta por Henderson & Tilton. Os valores de p observados são entre a mesma fração, mesmo tempo e conversões distintas.

Conversão	Mortalidade (%) ± SEM				
	4,5 mg/cm ²	24h	48h	72h	96h
LICURI.1	A1	3,9 ^{A,B} ± 1,5	7,2 ^B ± 4,8	7,8 ^{B,C} ± 5,3	9,4 ^{B,D} ± 4,4
	A2	25,0 ^{F,G} ± 3,9	35,6 ^{H, G} ± 4,2	36,7 ^{F,G} ± 4,1	53,9 ^{I,G} ± 3,0
	A3	59,4 ^L ± 5,0	80,6 ^L ± 8,3	83,9 ^L ± 6,9	87,2 ^L ± 5,0
	A4	75,6 ^M ± 5,0	86,7 ^M ± 3,3	88,9 ^M ± 3,9	89,4 ^M ± 3,7
	A5	48,9 ^{N, O} ± 4,1	66,1 ^{P,Q} ± 5,5	66,7 ^{P,R} ± 5,8	67,2 ^{P,R} ± 5,4
	C-*	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
LICURI.2	A1	38,3 ^{B,E} ± 9,4	56,1 ^{B,E} ± 13,1	57,3 ^{B,E} ± 13,1	60,7 ^{B,E} ± 13,2
	A2	72,2 ^{F,J} ± 10,1	80,0 ^{H,J} ± 7,0	88,6 ^{F,J} ± 3,9	93,7 ^{I,J} ± 3,0
	A3	71,6 ^L ± 13,6	81,7 ^L ± 10,9	91,5 ^L ± 5,9	94,9 ^L ± 2,6
	A4	70,0 ^M ± 12,8	80,0 ^M ± 10,5	89,7 ^M ± 5,4	90,9 ^M ± 5,6
	A5	15,5 ^{N,S} ± 10,3	17,8 ^{P,S} ± 12,0	20,0 ^{P,S} ± 13,8	21,1 ^{P,S} ± 14,2
	C-*	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	1,7 ± 1,1	1,7 ± 1,1
LICURI.3	A1	30,9 ^{A,E} ± 9,6	35,9 ^{B,E} ± 10,6	42,3 ^{C,E} ± 12,3	42,7 ^{D,E} ± 12,4
	A2	50,0 ^{G,J} ± 10,0	53,3 ^{G,J} ± 10,2	58,0 _{G,J} ± 11,0	58,3 _{G,J} ± 10,8
	A3	58,0 ^L ± 6,5	72,0 ^L ± 6,0	82,7 ^L ± 4,5	83,7 ^L ± 4,2
	A4	56,5 ^M ± 5,1	68,5 ^M ± 5,2	76,0 ^M ± 5,4	77,0 ^M ± 5,1
	A5	20,0 ^{O,S} ± 3,9	34,7 ^{Q,S} ± 5,7	41,7 ^{R,S} ± 6,7	44,7 ^{R,S} ± 6,7
	C-*	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	1,7 ± 1,1	1,7 ± 1,1

C-: controle negativo; *Água; valores de p: ^{A,E,G,J,L,M,R,S} (NS), ^{B,F,N,P} (<0,0001), ^C (0,088), ^H(0,0002), ^I(0,0013), ^N(0,0125), ^O(0,0475) ^Q(0,023)

Os resultados obtidos para as três conversões de licuri revelaram um padrão pouco distinto. A fração A1 da LICURI.2 apresentou uma taxa de mortalidade de 38,3% após 24 horas de exposição, que aumentou para 60,7% após 96 horas. Essa taxa de mortalidade foi significativamente superior à observada no controle, indicando a eficácia da fração A1. A fração A2 da LICURI.2 também demonstrou eficácia, registrando uma taxa de mortalidade de 72,2% após 24 horas, que aumentou para 93,7% após 96 horas. As frações A3,

A4 e A5 apresentaram taxas de mortalidade crescentes ao longo do tempo, com a fração A3 alcançando uma taxa de mortalidade de 94,9% após 96 horas.

Os resultados da conversão LICURI.3 revelaram um comportamento semelhante em relação às conversões LICURI.1 e LICURI.2. A fração A1 da LICURI.3 apresentou uma taxa de mortalidade de 30,9% após 24 horas de exposição, que aumentou para 42,7% após 96 horas. No entanto, assim como nas conversões anteriores, a fração A1 da LICURI.3 não apresentou uma diferença estatisticamente significativa em comparação com o controle, indicando uma eficácia limitada. A fração A2 da LICURI.3 mostrou um padrão semelhante ao observado nas LICURI.1 e LICURI.2, com uma taxa de mortalidade de 50,0% após 24 horas, aumentando para 58,3% após 96 horas. As frações A3, A4 e A5 também exibiram aumentos na mortalidade ao longo do tempo, com a fração A3 atingindo uma taxa de mortalidade de 83,7% após 96 horas.

A análise comparativa entre as três conversões (LICURI.1, LICURI.2 e LICURI.3), as frações A2, A3, A4 e A5, em todas as conversões, apresentaram um aumento gradual na taxa de mortalidade ao longo do tempo de exposição, indicando a eficácia crescente dessas frações. A fração A3, em particular, demonstrou ser a mais eficaz em todas as conversões, alcançando taxas superiores a 80% após 96 horas de exposição. Também foi observado que as frações aquosas da LICURI.2 demonstraram a atividade inseticida mais elevadas em um período de tempo mais curto em comparação com as LICURI.1 e LICURI.3. Isso sugere que a conversão LICURI.2 teve um impacto mais imediato na mortalidade de *A. diaperinus*.

Além disso, é importante destacar que foi evidenciado um padrão consistente de atividade inseticida nas frações intermediárias A3 e A4 em todas as três conversões e momentos de observação analisados. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre essas frações em nenhum dos cenários avaliados. Essa constância nos resultados sugere que o espectro inseticida proveniente da pirólise de LICURI está concentrado nas frações intermediárias e que o processo de obtenção dessas frações é altamente reprodutível.

É importante ressaltar que o bio-óleo não foi utilizado neste ensaio devido à obtenção de quantidades muito pequenas em algumas conversões. Em razão

de sua natureza altamente viscosa, o bio-óleo aderiu à vidraria, dificultando sua remoção e tornando inviável a realização dos ensaios biológicos.

As frações A3 e A4, que demonstraram um desempenho superior e não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, foram selecionadas para a observação da DL₅₀. Somente as frações da conversão 1 (LICURI.1) foram utilizadas. Os resultados indicam uma relação dose-resposta significativa entre a mortalidade para a fração A3. À medida que a concentração diminuiu para 3,4 mg/cm², a taxa de mortalidade ainda é substancial, registrando 77,22%. A mortalidade continua a ser observada com concentrações de 2,5 mg/cm² e 1,7 mg/cm², com taxas de 55% e 12,7%, respectivamente. No entanto, em concentrações mais baixas, como 0,86 mg/cm², a mortalidade diminuiu significativamente para 5,5%. Diante do exposto, a DL₅₀ foi calculada em 2,5 mg/cm² (Figura 29).

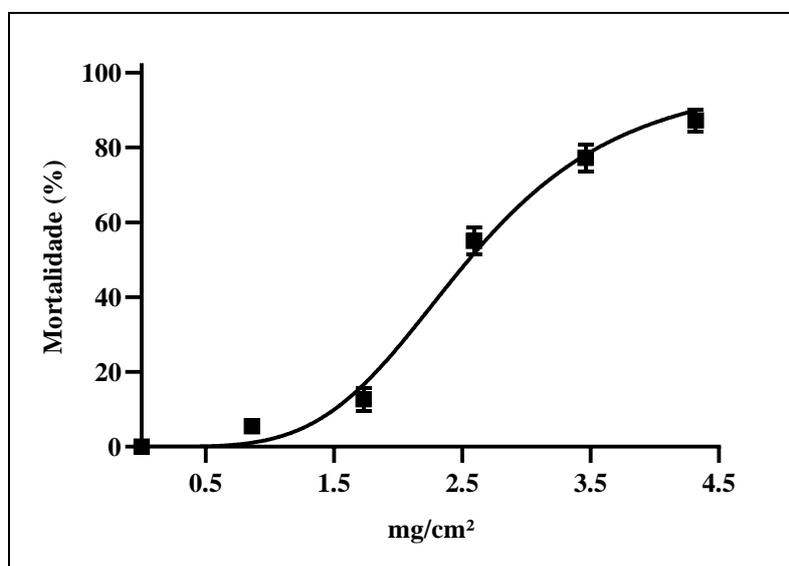


Figura 29 - Dose-resposta em *Alphitobius diaperinus* após 96h da exposição com a fração A3 de LICURI nas concentrações de 4,3, 3,5, 2,6, 1,7, e 0,9 mg/cm². Para todos os testes, n = 120 indivíduos. DL₅₀ = 2,5 mg/cm² [2,4 ~ 2,6] (IC 95%)

Em relação a fração A4, os resultados indicam novamente uma relação dose-resposta significativa entre a mortalidade e a concentração. À medida que a concentração diminuiu para 3,4 mg/cm², a taxa de mortalidade ainda é 87%. A mortalidade continua a ser observada com concentrações de 2,5 mg/cm² e 1,7 mg/cm², com taxas de 60% e 23,9%, respectivamente. No entanto, em concentrações mais baixas, como 0,8 mg/cm², a mortalidade para 3,3%. Diante do exposto, a DL₅₀ foi calculada em 2,3 mg/cm² (Figura 30).

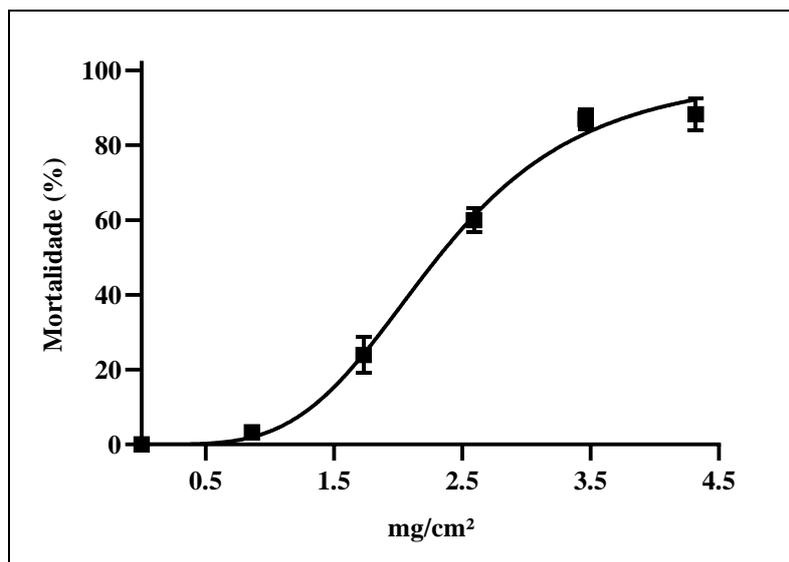


Figura 30 - Dose-resposta em *A. diaperinus* após 96h da exposição com a fração A4 de LICURI nas concentrações entre 4,3, e 0,9 mg/cm². Para todos os testes, n = 120 indivíduos. DL₅₀ = 2,3 mg/cm² [2,2 ~ 2,4] (IC 95%).

Comparando as frações A3 e A4 em relação à mortalidade em *A. diaperinus*, ambos os grupos mostraram uma relação dose-resposta significativa, com taxas de mortalidade mais altas em concentrações mais elevadas e redução da mortalidade em concentrações mais baixas. A fração A4 apresentou uma mortalidade ligeiramente superior em algumas concentrações e uma DL₅₀ ligeiramente menor do que a fração A3, sugerindo uma maior toxicidade. No entanto, é relevante observar que os intervalos de confiança das DL₅₀ de ambas as frações A3 e A4 têm uma sobreposição, o que indica que, estatisticamente, não há uma diferença significativa entre suas toxicidades.

4.2.2 AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DOS L.P. DE LICURI EM *Rhyzopertha dominica*.

No resultado da conversão LICURI.1, todas as frações demonstraram eficácia significativa da fumigação já nas primeiras 24 horas da exposição e se elevaram no decorrer do ensaio (Tabela 5). A fração A1 demonstrou eficácia, com taxas de mortalidade consistentemente altas, superando 80% após 96 horas. Da mesma forma, a fração A2 da mesma conversão também obteve resultados expressivos, registrando 79% de mortalidade após 96 horas de exposição. No entanto, a eficácia das frações A3, A4 e A5 da LICURI.1 foi inferior, com taxas de mortalidade variando entre 61% e 65%.

Tabela 5 - Taxa de mortalidade de *Rhyzopertha dominica* tratados com a fração aquosa de três conversões de licuri a 750 mg/L_(ar) via toxicidade por fumigação. Os valores de mortalidade em diferentes intervalos de tempo (24h, 48h, 72h e 96h) foram apresentados com erro padrão da média (SEM). Todos os testes foram conduzidos com pelo menos n = 120 insetos, mantendo uma taxa de infestação de 0,5 insetos/mL² por repetição. A taxa de mortalidade foi calculada de acordo com a fórmula proposta por Henderson & Tilton. Os valores de p observados são entre a mesma fração, mesmo tempo e conversões distintas.

Conversão	Mortalidade (%) ± SEM				
	750 mg/L _(ar)	24h	48h	72h	96h
LICURI.1	A1	63,5 ^a ± 6,3	74,0 ^a ± 4,3	75,9 ^a ± 3,8	81,1 ^a ± 3,6
	A2	58,3 ^b ± 5,7	72,2 ^b ± 3,1	73,0 ^b ± 2,8	79,0 ^b ± 3,1
	A3	45,0 ^c ± 1,8	63,3 ^c ± 5,7	65,1 ^c ± 6,5	65,6 ^c ± 4,5
	A4	58,2 ^{d,e} ± 4,7	65,8 ^{f,g} ± 4,0	67,7 ^h ± 4,7	63,7 ^h ± 4,9
	A5	48,2 ^{i,j} ± 5,1	55,0 ^{l,m} ± 5,4	58,0 ^{n,o} ± 5,3	60,8 ^{p,q} ± 5,1
	C-*	1,7 ± 1,0	5,0 ± 1,8	13,3 ± 1,6	15,0 ± 1,8
LICURI.2	A1	65,2 ^a ± 6,1	68,2 ^a ± 4,7	74,7 ^a ± 2,9	78,8 ^a ± 1,8
	A2	55,1 ^b ± 6,5	61,9 ^b ± 7,0	66,5 ^b ± 6,2	69,7 ^b ± 4,5
	A3	33,3 ^c ± 3,5	46,3 ^c ± 2,5	56,3 ^c ± 4,3	55,0 ^c ± 4,3
	A4	27,6 ^{d,h} ± 6,9	40,4 ^{f,h} ± 3,8	53,0 ^h ± 3,1	51,3 ^h ± 3,1
	A5	28,6 ^{i,r} ± 4,4	35,2 ^{l,r} ± 4,3	40,0 ^{n,r} ± 4,8	54,0 ^{p,r} ± 1,8
	C-*	2,5 ± 0,6	5,8 ± 0,9	12,5 ± 1,6	15,0 ± 2,1
LICURI.3	A1	52,3 ^a ± 5,1	56,3 ^a ± 4,9	63,9 ^a ± 6,5	72,7 ^a ± 3,1
	A2	50,2 ^b ± 8,3	57,7 ^b ± 4,2	66,1 ^b ± 8,7	72,5 ^b ± 5,9
	A3	53,4 ^c ± 6,1	59,7 ^c ± 7,9	66,0 ^c ± 7,2	69,1 ^c ± 5,7
	A4	26,1 ^{e,h} ± 4,2	33,4 ^{g,h} ± 3,7	50,1 ^h ± 2,3	53,6 ^h ± 2,0
	A5	11,5 ^{i,r} ± 1,2	18,6 ^{m,r} ± 1,5	26,9 ^{o,r} ± 1,7	38,3 ^{q,r} ± 2,3
	C-*	0,5 ± 0,2	3,3 ± 0,6	5,5 ± 0,8	10,8 ± 1,2

C-: controle negativo; *Água; valores de p: ^{a, b, c, h, i, p, r} (NS), ^d (0,003), ^e (0,001), ^f (0,02), ^g (0,001), ^j (0,0002), ^l (0,005), ^m (<0,0001), ⁿ (0,022)

Na conversão LICURI.2, os resultados revelaram um padrão semelhante às conversões LICURI.1. Todas as frações demonstraram eficácia notável já nas primeiras 24 horas de exposição. A fração A1 da LICURI.2 apresentou uma taxa de mortalidade de 65,2% após 24 horas de exposição, que aumentou para 78,8% após 96 horas. A fração A2 também demonstrou eficácia, com taxas de mortalidade superiores a 69% após 96 horas de exposição. No entanto, as frações A3, A4 e A5 dessa conversão mostraram resultados menos eficazes, com taxas de mortalidade variando de 27,6% a 54,0%. Assim como nas conversões anteriores, todas as frações da LICURI.2 demonstraram eficácia já nas primeiras 24 horas de exposição.

Os resultados das três conversões de LICURI revelaram um comportamento semelhante. A fração A1 da terceira conversão (LICURI.3) apresentou a taxa de mortalidade de 52,3% após 24 horas de exposição, que aumentou para 72,7% após 96 horas. A fração A2 também mostrou eficácia, com taxas de mortalidade superiores a 70% após 96 horas de exposição. No entanto, as frações A3, A4 e A5 da LICURI.3 apresentaram resultados menos eficazes, com taxas de mortalidade variando de 11,5% a 53,4% nas primeiras horas de observação do ensaio e entre 38,3% e 69,1% após as 96 horas. Assim como nas conversões anteriores, as frações iniciais A1 e A2 da LICURI.3 demonstraram eficácia já nas primeiras 24 horas de exposição.

A análise comparativa entre as três conversões (LICURI.1, LICURI.2 e LICURI.3) revelou padrões notáveis nas taxas de mortalidade das frações A1, A2 e A3 durante o decorrer do ensaio. Em todas as conversões, foi observado um aumento gradual na taxa de mortalidade ao longo do tempo de exposição, indicando relação entre a eficácia e o tempo de exposição. Destaca-se que a fração A1 demonstrou ser a mais eficaz em todas as conversões, alcançando taxas superiores a 80% após 96 horas de exposição. Além disso, os L.P. da LICURI.1 apresentaram uma atividade pesticida mais elevada em um período de tempo mais curto em comparação com as LICURI.2 e LICURI.3, sugerindo que a conversão LICURI.1 teve um impacto mais imediato na mortalidade de *R. dominica*.

É importante destacar que um padrão constante de atividade inseticida emergiu nas frações iniciais A1, A2 e A3 em todas as três conversões e momentos de observação analisados. Não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre essas frações em nenhum dos cenários avaliados. Essa uniformidade nos resultados sugere que o espectro inseticida originado da pirólise de LICURI se concentra nas frações iniciais e que o processo de obtenção dessas frações é consistente e reproduzível.

Vale destacar novamente que o bio-óleo não foi empregado neste ensaio, embora testes preliminares tenham indicado uma alta atividade pesticida. Devido às complexidades enfrentadas, optou-se por selecionar as frações A1 e A2 para a determinação da DL₅₀, uma vez que essas frações demonstraram um desempenho superior em relação às demais e não apresentaram diferenças estatisticamente significativas. Importante ressaltar

que apenas as frações da conversão 1 (LICURI.1) foram consideradas nesta etapa do estudo.

Os resultados da análise da fração A1 indicam uma relação dose-resposta (Figura 31). À medida que a concentração diminui, a taxa de mortalidade diminui também. Inicialmente, a taxa de mortalidade é de 81,1% a uma concentração de 750 mg/L_(ar), diminuindo para 72,2% a 500 mg/L_(ar), 59,4% a 375 mg/L_(ar), 43,3% a 250 mg/L_(ar), e 23,3% a 125 mg/L_(ar). Com base nessas observações, a DL₅₀ para a fração A1 foi calculada em 285,8 mg/L_(ar), com um intervalo de confiança de 95% entre 260,6 e 311,7 mg/L_(ar).

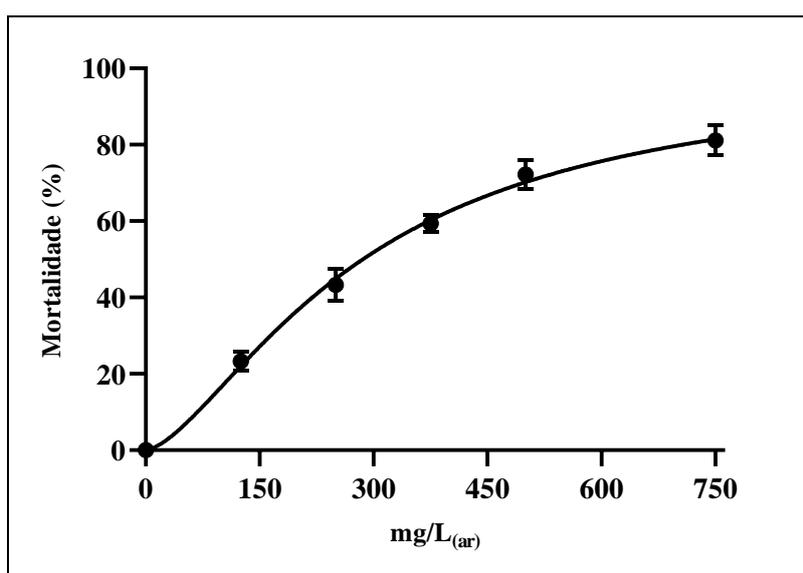


Figura 31 - Dose-resposta em *Rhizopertha dominica* após 96h da exposição com a fração A1 de licuri nas concentrações entre 750 e 125 mg/L_(ar). Para todos os testes, n = 120 indivíduos. DL₅₀ = 285,8 mg/L_(ar) [260,6 ~ 311,7] (IC 95%).

Em relação a fração A2, os resultados indicam novamente uma relação dose-resposta significativa entre a mortalidade e a concentração. Conforme a concentração diminui, a taxa de mortalidade segue a mesma tendência (Figura 32). A uma concentração de 750 mg/L_(ar), a taxa de mortalidade é de 78,8%, diminuindo para 73,5% a 500 mg/L_(ar), 60% a 375 mg/L_(ar), 42,8% a 250 mg/L_(ar) e 19,5% a 125 mg/L_(ar). A partir dessas observações, foi calculada a DL₅₀ para a fração A2, que resultou em 293,9 mg/L_(ar), com um intervalo de confiança de 95% variando entre 269,3 e 319,4 mg/L_(ar).

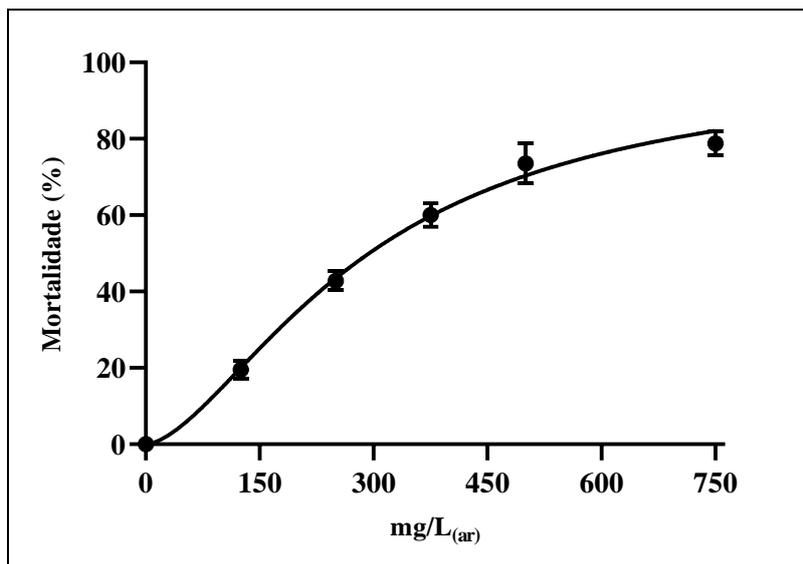


Figura 32 - Dose-resposta em *Rhyzopertha dominica* após 96h da exposição com a fração A2 de licuri nas concentrações entre 750 e 125 mg/L_(ar). Para todos os testes, n = 120 indivíduos. DL₅₀ = 293,9 mg/L_(ar) [269,3 ~ 319,4] (IC 95%).

A fração A1 apresentou taxas de mortalidade ligeiramente superiores em algumas concentrações e uma DL₅₀ um pouco menor em comparação com a fração A2, sugerindo uma maior toxicidade. Contudo, é relevante notar que os intervalos de confiança das DL₅₀ de ambas as frações A1 e A2 têm uma considerável sobreposição, indicando que, estatisticamente, não há diferença significativa em suas toxicidades.

As frações aquosas de licuri demonstraram ser altamente eficazes como pesticida em ensaios com *R. dominica* e *A. diaperinus*. O processo de segmentação da fração aquosa (A1, A2, A3, A4 e A5) foi fundamental para observar a ação inseticida em dois modelos distintos e com diferentes resultados. Os resultados obtidos destacam a promissora capacidade das frações iniciais em controlar efetivamente a população de *R. dominica* e das frações intermediárias em controlar a população de *A. diaperinus*, sugerindo o potencial dessas frações como agentes de controle químico alternativo em diferentes cenários agrícolas e no armazenamento de produtos, seja por contato direto ou como um fumigante.

4.2.3 AVALIAÇÃO DA IMOBILIDADE DE NEONATOS DE *Daphnia magna* EXPOSTOS AS FRAÇÕES AQUOSAS DE PIRÓLISE DO LICURI

Neste estudo, após nove repetições, as frações A2, A3, A4, A5 e o bio-óleo foram consideradas tóxicas para organismos aquáticos, uma vez que atingiram

taxas de imobilidade superiores a 50% (Tabela 6). Os resultados registrados para essas frações foram, respectivamente: 48,9%, 66,7%, 72,2%, 63,9% e 80,6%. A fração A2 foi incluída na lista devido ao seu erro padrão. O próximo passo foi quantificar a toxicidade dessas frações para determinar em qual nível de toxicidade elas se enquadram.

Tabela 6 - Taxa de Imobilidade em neonatos de *Daphnia magna* expostos à 100 mg/L das frações aquosas de pirólise do licuri sucedido pelo erro padrão da média (SEM). (n=9 repetições).

LICURI 100 mg/L	Nº de Daphnias	Imobilidade (%) ± SEM	
		24h	48h
A1	180	10,6 ± 1,3	26,1 ± 1,7
A2	180	34,4 ± 2,3	48,9 ± 2,5
A3	180	50,6 ± 2,7	66,7 ± 2,2
A4	180	65,0 ± 2,7	72,2 ± 2,9
A5	180	50,6 ± 3,0	63,9 ± 2,5
OL	180	52,8 ± 2,3	80,6 ± 2,4
C-*	180	1,7 ± 0,4	3,3 ± 0,8
C-**	180	0,0 ± 0,0	5,0 ± 1,3

C-: controle negativo; *Água; ** Acetona.

Os resultados da exposição dos neonatos de *D. magna* à fração A2 são apresentados na Figura 33. A taxa de imobilidade foi avaliada em diferentes concentrações, variando de 100 mg/L a 12,5 mg/L. Observou-se que, mesmo nas concentrações elevadas (75 mg/L), a imobilidade permaneceu abaixo de 5%, indicando baixa toxicidade para organismos aquáticos. A análise de regressão probit revelou que o CE₅₀ para a fração A2 foi de 100,5 mg/L, com um intervalo de confiança de 95% entre 99,2 e 101,9 mg/L. Conforme as diretrizes do GHS (2021), um CE₅₀ entre 100 e 10 mg/L é classificado como nível agudo III de toxicidade, indicando Pouca Toxicidade para organismos aquáticos.

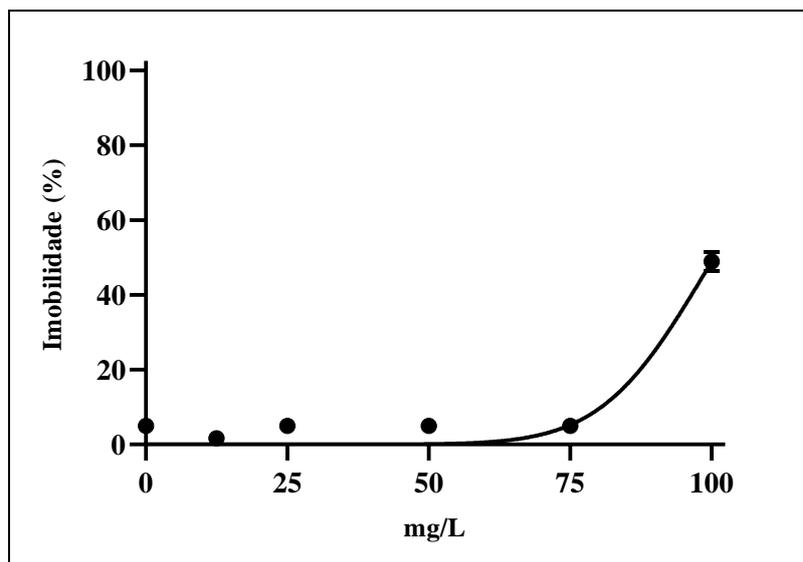


Figura 33 - Dose-resposta de *Daphnia magna* após 48h da exposição com a fração A2 de licuri nas concentrações 100, 50, 25, 12,5 e 6,75 mg/L. Para todos os testes n=60 indivíduos e 3 repetições. CE₅₀ = 100,5 mg/L [99,2 ~ 101,9] (IC 95%).

Os resultados da exposição dos neonatos de *D. magna* à fração A3 estão representados na Figura 34 a seguir. Notavelmente, mesmo nas concentrações mais elevadas (75 mg/L), a taxa de imobilidade permaneceu abaixo de 15%, o que sugere uma baixa toxicidade para organismos aquáticos. A análise de regressão probit revelou um CE₅₀ de 92 mg/L, com um intervalo de confiança de 95% entre 90,6 e 93,5 mg/L. De acordo com as diretrizes do GHS (2021), é categorizado como nível agudo III de toxicidade, indicando, novamente, pouca toxicidade para organismos aquáticos.

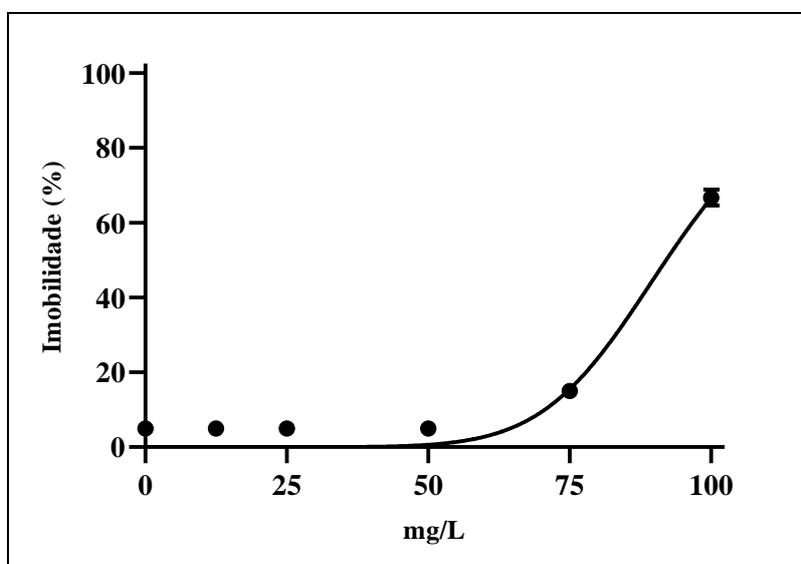


Figura 34 - Dose-resposta em *Daphnia magna* após 48h da exposição com a fração A3 de licuri nas concentrações 100, 50, 25, 12,5 e 6,75 mg/L. Para todos os testes n=60 indivíduos e 3 repetições. CE₅₀ = 92 mg/L [90,6 ~ 93,5] (IC 95%).

A Figura 35 abaixo apresenta os resultados da exposição dos neonatos de *D. magna* à fração A4 em diversas concentrações. Novamente, nas concentrações mais elevadas, a taxa de imobilidade permaneceu abaixo de 10%, indicando uma baixa toxicidade para organismos aquáticos. A análise de regressão probit revelou um CE₅₀ de 92,1 mg/L, com um intervalo de confiança de 95% entre 90,2 e 94 mg/L. Conforme as diretrizes do GHS (2021), é classificado como nível agudo III de toxicidade, demonstrando uma toxicidade mínima para organismos aquáticos.

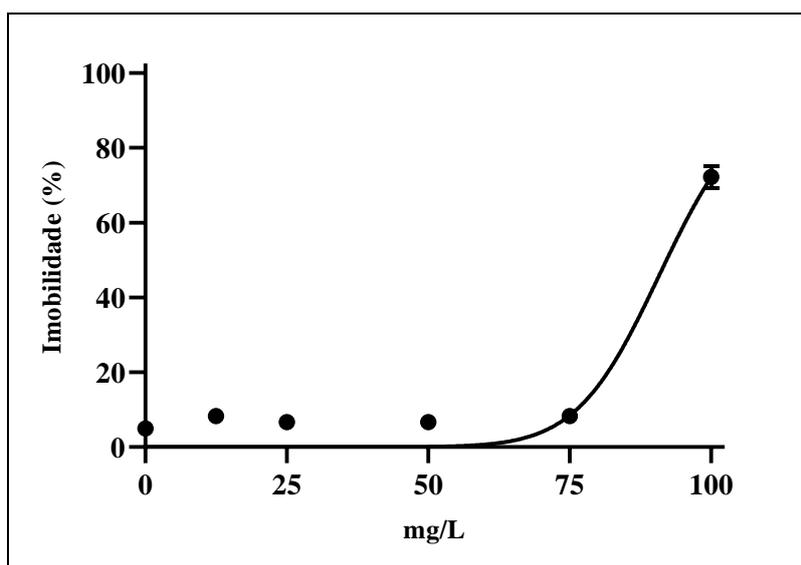


Figura 35 - Dose-resposta em *Daphnia. magna* após 48h da exposição com a fração A4 de licuri nas concentrações 100, 50, 25, 12,5 e 6,75 mg/L. Para todos os testes n=60 indivíduos e 3 repetições. CE₅₀ = 92,1 mg/L [90,2 ~ 94] (IC 95%).

Na Figura 36, podemos observar os resultados da exposição dos neonatos de *D. magna* à fração A5 em diversas concentrações. Em todas as concentrações testadas, a taxa de imobilidade permaneceu abaixo de 10%, indicando uma baixa toxicidade para organismos aquáticos. A análise de regressão probit resultou em um CE₅₀ de 94,2 mg/L, com um intervalo de confiança de 95% entre 92,2 e 96,1 mg/L. De acordo com as diretrizes do GHS (2021), esse valor se enquadra na categoria de nível agudo III de toxicidade, indicando um baixo risco para organismos aquáticos.

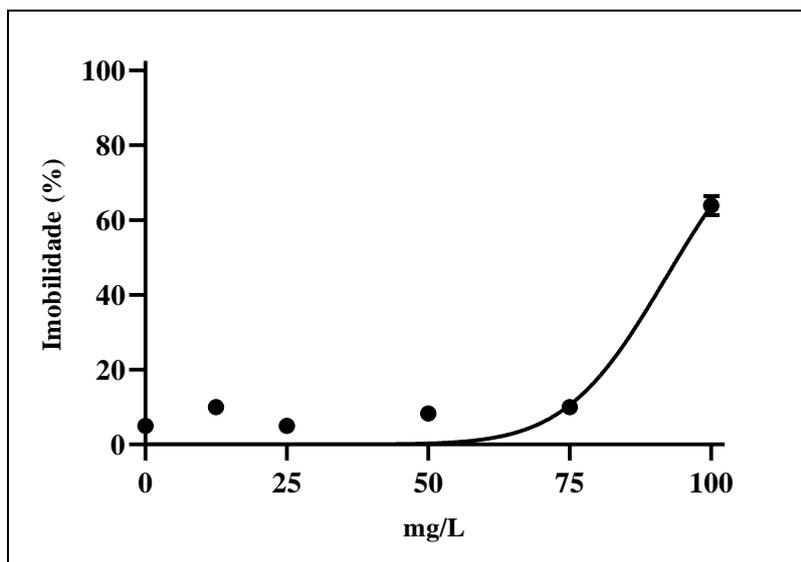


Figura 36 - Dose-resposta em *Daphnia magna* após 48h da exposição com a fração A5 de licuri nas concentrações 100, 50, 25, 12,5 e 6,75 mg/L. Para todos os testes n=60 indivíduos e 3 repetições. CE₅₀ = 94,2 mg/L [92,2 ~ 96,1] (IC 95%).

De acordo com os resultados obtidos, foi possível observar que a fração A2 apresentou uma CE₅₀ significativamente maior (100,5 mg/L) em comparação às frações A3, A4 e A5 (92,04; 92,11 e 94,16 mg/L, respectivamente). Isso indica uma menor toxicidade para a fração A2. Entretanto, não foi identificada diferença estatística significativa entre as CE₅₀ das frações A3, A4 e A5, devido à interseção entre seus intervalos de confiança. Dessa forma, é possível classificar as frações A3, A4 e A5 como Nível III de toxicidade aguda, de acordo com a escala do GHS (2021). É importante notar que esses resultados são oriundos de testes qualitativos e quantitativos, e devem ser considerados conjuntamente para determinar a toxicidade real e o impacto ambiental das frações avaliadas.

Os resultados da exposição dos neonatos de *D. magna* ao bio-óleo são apresentados na Figura 37 a seguir. Foi observada uma relação dose-resposta, com uma taxa de imobilidade que aumentou à medida que a concentração de bio-óleo aumentou. A análise de regressão probit revelou um CE₅₀ de 39,9 mg/L, com um intervalo de confiança de 95% entre 33,5 e 46,6 mg/L. Isso indica que o bio-óleo apresenta uma toxicidade um pouco mais elevada em comparação com as frações aquosas. No entanto, de acordo com as diretrizes do GHS (2021), esse valor ainda se enquadra na categoria de nível agudo III de toxicidade, o que significa que representa um baixo risco para organismos aquáticos.

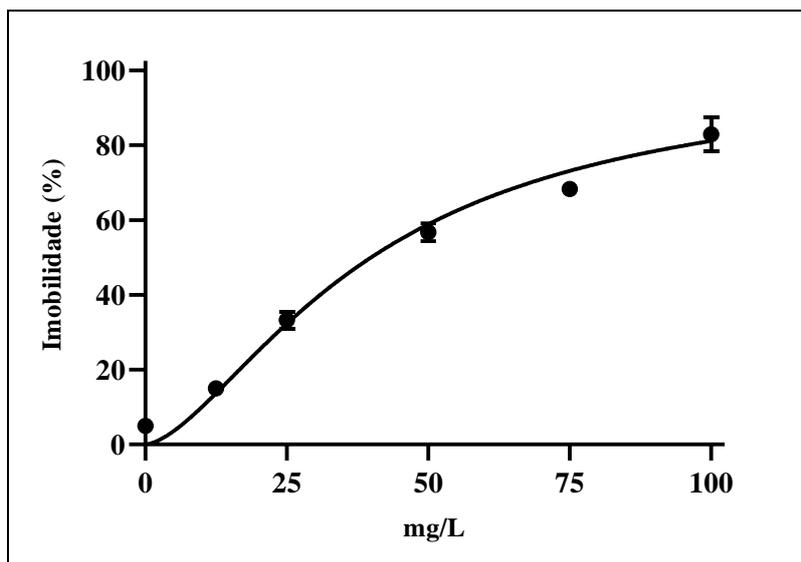


Figura 37 - Dose-resposta em *Daphnia magna* após 48h da exposição com o bio-óleo de licuri nas concentrações 100, 50, 25, 12,5 e 6,75 mg/L. Para todos os testes n=60 indivíduos e 3 repetições. CE₅₀ = 39,9 mg/L [33,5 ~ 46,6] (IC 95%).

Os resultados da avaliação de ecotoxicidade das L.P. de licuri demonstram que essas frações, juntamente com o bio-óleo, apresentam um baixo risco para o ambiente aquático. Essas descobertas sugerem que as L.P. de licuri podem ser usados com segurança em cenários agrícolas e no armazenamento de produtos, minimizando o impacto ambiental negativo associado a pesticidas convencionais. Além disso, é importante notar que não foi identificada diferença estatisticamente significativa entre as CE₅₀ das frações A3, A4 e A5, devido à interseção entre seus intervalos de confiança, ressaltando a consistência das propriedades ecotoxicológicas dessas frações.

4.2.4 AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE EM SEMENTES DE *Allium cepa* EXPOSTAS AOS L.P. DE LICURI

4.2.4.1 Ensaio de germinação após exposição aos L.P. de Licuri

Neste estudo, além de investigar as formulações da pirólise de LICURI.1 também foi analisada a influência do NatupiroI[®], um líquido obtido da pirólise de troncos de eucalipto e utilizado como condicionador de solo na agricultura orgânica. Os resultados obtidos (Figura 38) revelaram diferenças significativas nas taxas de germinação entre os tratamentos. Enquanto o tratamento com água

e acetona apresentaram taxas médias de germinação de 96,67% e 97,5%, respectivamente, as formulações de licuri mostraram variações nas taxas de germinação entre 34,58% e 86,25%. O tratamento com Natupiol® demonstrou uma taxa média de germinação de 99,44%. Observou-se uma tendência de redução na taxa de germinação à medida que se avançou das frações para A2, A3 e A4. Essa diminuição continuou na fração oleosa. No entanto, houve uma leve recuperação na taxa de germinação na fração A5. Os valores de p foram significativos para essas formulações, indicando diferenças estatísticas significativas em relação ao tratamento com água e acetona. Esses resultados indicam que as diferentes frações da pirólise de Licuri podem ter efeitos variados na germinação das sementes, com algumas frações apresentando um impacto negativo mais pronunciado do que outras.

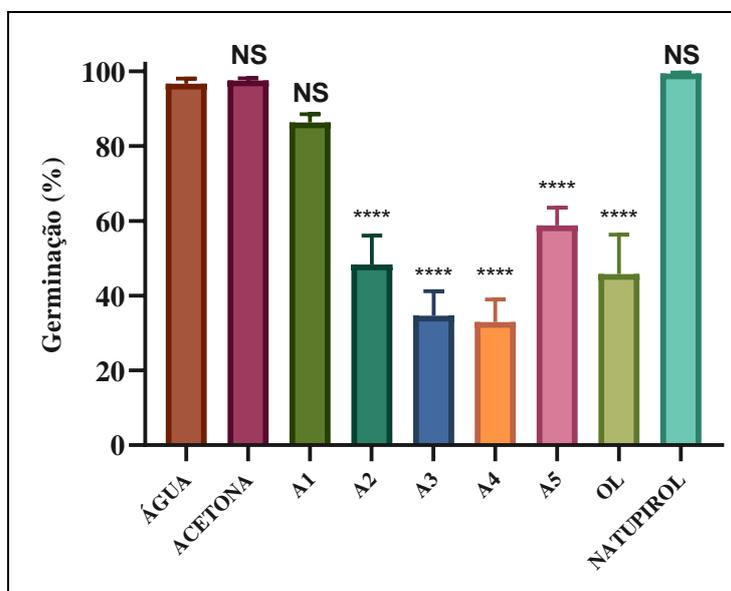


Figura 38 - Taxa de germinação em sementes de *Allium cepa* expostas aos L.P. LICURI.1 a 1% após 14 dias. O p-valor (****) < 0,0001 indica diferença significativa em relação ao controle (água, ou acetona), enquanto (NS) indica ausência de diferença significativa.

4.2.4.2 Ensaio da medição das raízes após exposição aos L.P. de Licuri

Os resultados obtidos, apresentados na Figura 39, revelaram diferenças significativas nos tamanhos médios das raízes entre os tratamentos. No tratamento com água, a média do tamanho das raízes foi de 42,1 mm, enquanto no tratamento com acetona a média foi de 43,8 mm. Os L.P. de licuri

apresentaram médias de tamanho das raízes variando entre 10,1 mm e 36,1 mm. As frações intermediárias (A2, A3 e A4) exibiram tamanhos médios de raízes entre 12,3 mm e 15,5 mm. A fração A5 exibiu uma média de 21,6 mm, enquanto o bio-óleo apresentou uma média de 10,1 mm. Os valores de p foram significativos para as formulações LICURI A2, A3, A4 e OL, indicando diferenças estatisticamente significativas em relação aos tratamentos com água e acetona. No entanto, no tratamento com Natupiroi[®], a média de tamanho das raízes foi de 49,16 mm, mas o p-valor foi superior a 0,05, indicando que a diferença não foi estatisticamente significativa em relação ao tratamento com água.

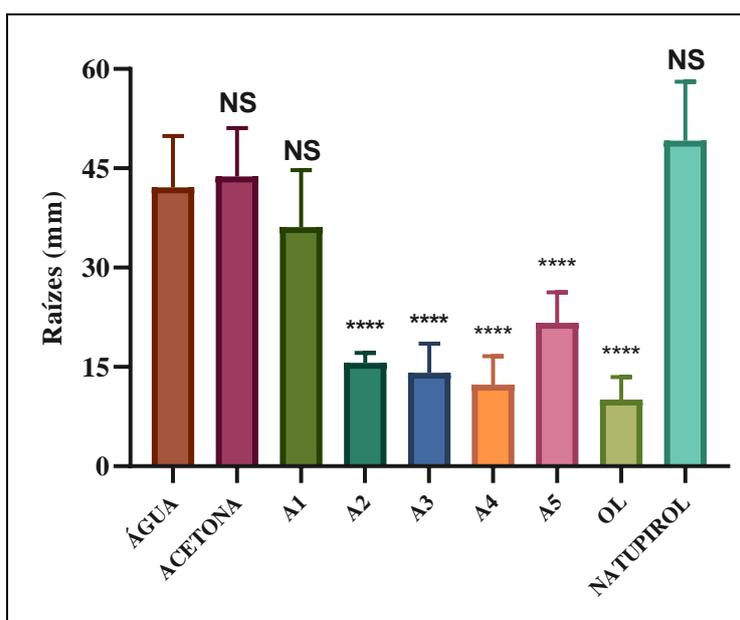


Figura 39 - Tamanho médio das raízes formadas em sementes de *Allium cepa* expostas aos L.P. LICURI.1 a 1% após 14 dias. O p-valor (****) < 0,0001 indica diferença significativa em relação ao controle (água, ou acetona), enquanto (NS) indica ausência de diferença significativa.

4.2.4.3 Avaliação da massa média das raízes após exposição aos L.P. de Licuri

Os resultados do estudo também revelaram diferenças estatisticamente significativas na massa média das raízes entre os tratamentos avaliados, conforme ilustrado na Figura 40. O tratamento com água apresentou uma média de massa das raízes de 317,3 mg, enquanto o tratamento com acetona exibiu uma média de 334,8 mg. O tratamento com a formulação A1, observou-se uma média de 269,5 mg. As formulações subsequentes, A2, A3, A4, A5 e OL, apresentaram uma tendência de diminuição na massa média, com valores de

153,2 mg, 153,8 mg, 154,0 mg, 203,0 mg e 149,8 mg, respectivamente. É importante destacar que a formulação OL mostrou a menor média entre todas as formulações de licuri testadas. Por outro lado, o tratamento com a formulação Natupirol® apresentou uma média de massa das raízes maior, com um valor de 388,4 mg. No entanto, quando comparado ao tratamento com água, essa diferença não foi estatisticamente significativa.

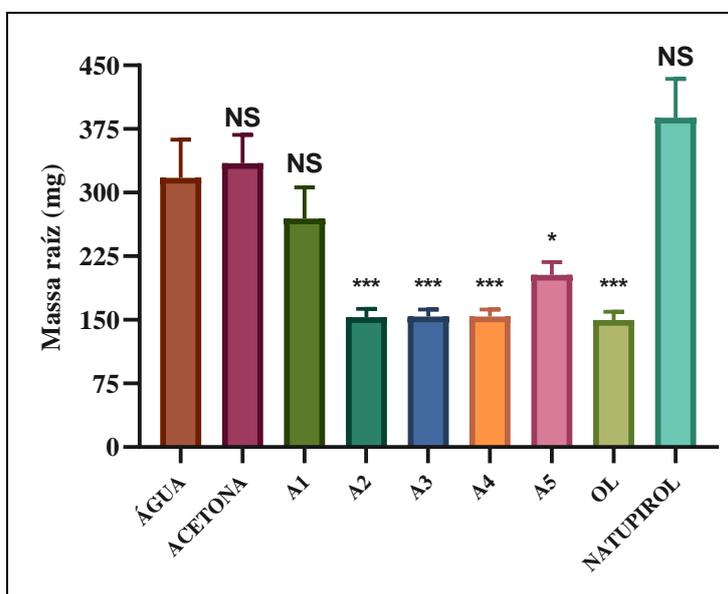


Figura 40 - Massa média das raízes formadas em sementes de *Allium cepa* expostas aos L.P. LICURI.1 a 1% após 14 dias. O p-valor (***) $\leq 0,0002$ e (*) = 0,0203 indicam diferença significativa em relação ao controle (água, ou acetona), enquanto (NS) indica ausência de diferença significativa

Nesse contexto, a fração A1 foi classificada como Nível 0, enquanto as Frações A2, A3, A4, A5 e o bio-óleo receberam a classificação de Nível -3 devido ao seu efeito inibitório significativo nos três ensaios realizados. Quanto ao Natupirol®, embora tenha demonstrado médias superiores em relação ao grupo controle em todos os cenários, não apresentou diferença estatisticamente significativa, sendo, portanto, também classificado como Nível 0.

4.3 ANÁLISE DA EFICÁCIA DO BIO-ÓLEO DE TSM EM *Rhizopertha dominica*

A biomassa TSM foi submetida a três conversões (TSM 1, TSM 2 e TSM 3) em duas temperaturas diferentes (300° C e 400 °C), gerando um total de

seis amostras de bio-óleo testadas. O rendimento médio para a conversão à 300°C foi de: 15,5% de bio-óleo; 27,9% de fração aquosa; 38,6% de biocarvão e 17,9% de biogás. Já para a conversão a 400°C, os rendimentos foram de: 13,7% de bio-óleo; 29,2% de fração aquosa; 34,7% de biocarvão e 22,3% de biogás. Devido à limitação de biomassa disponível para as conversões, a avaliação se concentrou na atividade inseticida apenas em *R. dominica*, realizada via fumigação, e em testes de ecotoxicidade em *D. magna* e *A. cepa*.

4.3.1 ANÁLISE DA EFICÁCIA DO BIO-ÓLEO DE TSM À 300° C

A tabela 7 descreve os resultados obtidos com o óleo das três conversões (TSM 1, TSM 2 e TSM 3) de pirólise da biomassa TSM a 300°C, testados nas concentrações de 750, 375, 150, 112,5, 75 e 25 mg/L(ar). De forma geral, os resultados demonstraram altas taxas de mortalidade em adultos de *R. dominica* quando expostos às maiores concentrações (750, 375 e 150 mg/L(ar)). Por outro lado, observa-se uma queda acentuada da mortalidade quando os insetos são submetidos às menores concentrações (112,5, 75 e 25 mg/L(ar)), havendo grande variação nos índices de mortalidade entre os diferentes tratamentos. Na maior concentração (740 mg/L ar) do bio-óleo das 3 conversões a 300°C, foi observada uma mortalidade acima de 82% (82,7 a 93,3%) em apenas 24h após o tratamento, alcançando mais que 94% (94,4 a 97,9%) no último dia de observação.

A TSM 1 a 300°C resultou em mortalidade de *R. dominica* superior a 94% nas duas maiores concentrações após 96h de tratamento. Foi observada uma queda na mortalidade (75,9%) na concentração intermediária (150 mg/L ar) e uma queda brusca nas três últimas concentrações testadas, com valores de mortalidade inferiores a 21%, no 4º dia do tratamento. Os resultados para as três conversões foram bastante próximos no último dia do tratamento, todos superiores a 94% de mortalidade. Esse resultado pode sugerir uma possível ação residual no bio-óleo, uma vez que a mortalidade está diretamente relacionada ao tempo de exposição, conforme foi demonstrado no resultado obtido por essa conversão.

Os resultados obtidos pela biomassa TSM 2 a 300°C demonstraram um padrão de alta letalidade nas maiores concentrações e baixa letalidade nas

concentrações inferiores. Dessa vez, a mortalidade observada após as 96h de letalidade nas maiores concentrações foi superior a 96%.

O bio-óleo da TSM 3 a 300°C, novamente o padrão observado nas outras conversões se repetiu, as maiores concentrações obtiveram as maiores mortalidades, superiores a 94% após 96h da exposição. No entanto, à medida que as concentrações diminuem (112,5, 75 e 25 mg/L_(ar)), a mortalidade diminui consideravelmente, com taxas variando entre 16,7% e 10,4% após 96 horas de exposição. Esse resultado indica uma clara relação entre a concentração do bio-óleo e a taxa de mortalidade em *R. dominica*, com uma notável queda de eficácia em concentrações mais baixas.

Tabela 7 - Mortalidade do teste de toxicidade por fumigação em *Rhyzopertha dominica* expostos aos bio-óleos das três conversões a 300 °C da biomassa TSM, sucedido pelo erro padrão da média (SEM). A taxa de infestação é de 0,5 insetos/mL². A taxa de mortalidade foi corrigida mediante a fórmula proposta por Henderson & Tilton.

Conversão		Mortalidade (%) ± SEM			
300 °C	mg/L _(ar)	24h	48h	72h	96h
TSM 1	750	82,7 ± 3,6	85 ± 3,4	87,2 ± 2,3	94,4 ± 3,0
	375	56,9 ± 4,4	75,4 ± 2,7	89,8 ± 2,5	94,0 ± 1,4
	150	38 ± 3,7	60,9 ± 3,9	67,4 ± 3,2	75,9 ± 3,0
	112,5	7,0 ± 1,5	11,2 ± 1,5	20,2 ± 1,6	21,5 ± 2,1
	75	4,3 ± 3,1	20,7 ± 6,2	37,3 ± 4,7	27,9 ± 3,5
	25	2,0 ± 1,5	3,1 ± 1,5	3,6 ± 1,6	5,1 ± 2,1
	TSM 2	750	93,3 ± 1,4	97 ± 1,1	98,1 ± 0,8
375		83,2 ± 4	88,1 ± 2,1	93,3 ± 1,7	96,9 ± 0,9
150		51,8 ± 4,5	58,5 ± 4,1	65,6 ± 3	71,2 ± 3,4
112,5		8,7 ± 1,2	11,7 ± 2,2	19 ± 4,3	20,2 ± 4,8
75		1,7 ± 1,6	10,5 ± 1,9	17,8 ± 1,8	21,6 ± 1,8
25		1,4 ± 1,2	3,1 ± 2,2	4,8 ± 4,3	4,8 ± 4,8
TSM 3		750	88,9 ± 4,7	91,2 ± 3,7	95,1 ± 1,1
	375	68,5 ± 2,7	82,5 ± 3,1	89,5 ± 1,3	94,3 ± 0,9
	150	40,5 ± 6,4	50,3 ± 8,6	64,1 ± 5,3	70,6 ± 3,6
	112,5	3,1 ± 1,2	9,4 ± 1,9	15,3 ± 2,7	16,7 ± 2,6
	75	2,3 ± 0,4	5,8 ± 1,1	12,1 ± 1,9	16,4 ± 2,0
	25	4,0 ± 1,2	7,3 ± 1,9	9,6 ± 2,7	10,6 ± 2,6

A Figura 41 informa o padrão dose-resposta obtido pela exposição aos bio-óleos das três conversões de TSM a 300°C após 96h. No bio-óleo TSM 1, à medida que a concentração diminui para 25 mg/L_(ar), a taxa de mortalidade é não significativa, registrando 5,1%. A mortalidade continua a ser observada com concentrações de 75 mg/L_(ar) e 112,5 mg/L_(ar), com taxas de 27,9% e 21,5%, respectivamente. No entanto, em concentrações mais baixas, como 150 mg/L_(ar), a mortalidade aumenta significativamente para 75,9%. Diante do exposto, a DL₅₀ foi calculada em 125,2 mg/L_(ar), com um intervalo de confiança de 95% entre 116,1 e 133,7 mg/L_(ar).

Com o bio-óleo TSM 2 a 300°C, os resultados obtidos seguiram um padrão semelhante ao da TSM 1 à 300°C. A análise probit demonstrou que o DL₅₀ do bio-óleo correspondente foi de 132,3 mg/L_(ar).

Na TSM 3 à 300°C, os resultados obtidos apresentam uma relação dose-resposta significativa. À medida que a concentração do bio-óleo diminui para 112,5, 75 e 25 mg/L_(ar), as taxas de mortalidade são baixas, registrando apenas 16,7%, 16,4% e 10,6%, respectivamente. Com base nesses resultados, estimou-se um DL₅₀ de 125,2 mg/L_(ar) para o bio-óleo de TSM3, com intervalo de confiança de 95% entre 116,1 e 133,7 mg/L_(ar).

O estudo revelou que pouca diferença significativa foi observada entre as conversões, e essa diferença se limitou principalmente às primeiras 48 horas. A maior discrepância foi identificada na concentração de 375 mg/L_(ar) entre a TSM 1 e a TSM 2 à 300°C ($p < 0,0001$), enquanto os demais apresentaram valores de significância mais baixos e ocorreram em concentrações mais baixas. Portanto, podemos concluir que o processo de produção de um bioinseticida a partir do bio-óleo de TSM a 300°C pode ser padronizado, resultando em resultados estatisticamente semelhantes.

No que diz respeito às doses letais, a média foi de 130,8 mg/L_(ar), e seus coeficientes de variação se sobrepuseram indicando homogeneidade. Esses resultados indicam uma notável toxicidade em comparação com outras pirólises testadas no laboratório, tornando essa biomassa uma fonte de bio-óleo altamente eficaz como inseticida por fumigação. Estima-se que apenas 234g do bio-óleo tenham o potencial de controlar eficazmente 1 tonelada de milho infestada por *R. dominica*, com uma eficácia de 95%.

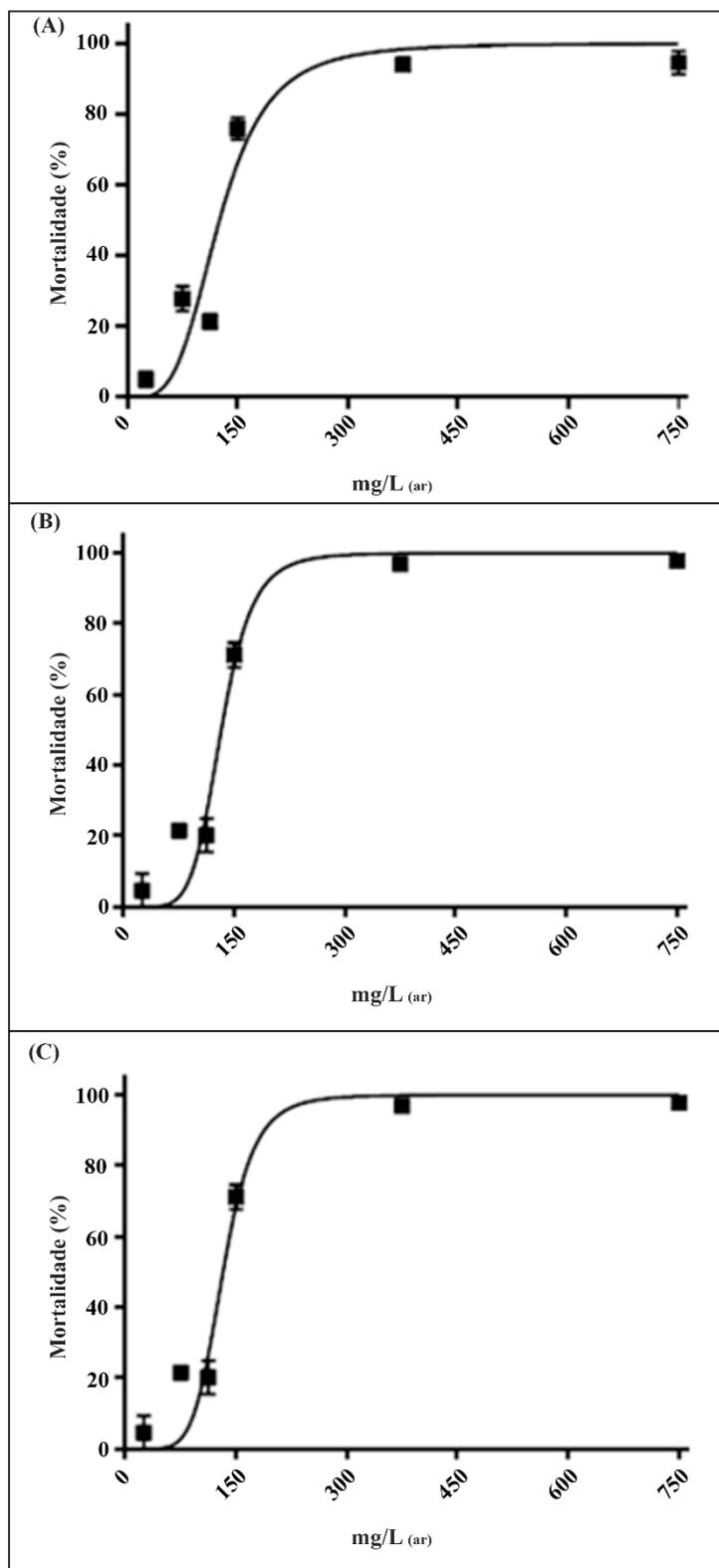


Figura 41 - Dose-resposta em *Rhizophorthera dominica* após 96h do tratamento com os bio-óleos de TSM 300°C nas concentrações 750; 375;150; 112,5; 75 e 25 mg/L_(ar). Para todos os testes n ≥ 120. (A) **TSM 1**, DL₅₀ = 125,2 mg/L_(ar) [116,1 ~133,7] (IC 95%). (B) **TSM 2**, DL₅₀ = 132,3 mg/L_(ar) [125,6 ~138,0] (IC 95%).(C) **TSM 3**, DL₅₀ = 135,0 mg/L_(ar) [130,5 ~139,4] (IC 95%).

4.3.2 ANÁLISE DA EFICÁCIA DO BIO-ÓLEO DE TSM À 400° C

Os resultados obtidos pelo bio-óleo das três conversões de TSM a 400°C foram descritos na tabela 8 abaixo. Foram utilizadas as mesmas concentrações dos resultados apresentados anteriormente. De modo geral, observou-se alta mortalidade, superior a 90%, em adultos de *R. dominica* já nas primeiras 24h, principalmente nas duas maiores concentrações (750 e 375 mg/L(ar)). Nas menores concentrações (112,5, 75 e 25 mg/L(ar)) notou-se baixíssima atividade inseticida.

Tabela 8 - Mortalidade do teste de toxicidade por fumigação em *Rhyzopertha dominica* expostos aos bio-óleos das três conversões a 400 °C da biomassa TSM, sucedido pelo erro padrão da média (SEM). A taxa de infestação é de 0,5 insetos/mL². A taxa de mortalidade foi corrigida mediante a fórmula proposta por Henderson & Tilton.

Conversão		Mortalidade (%) ± SEM			
400°C	mg/L _(ar)	24h	48h	72h	96h
TSM 1	750	98,9 ± 0,8	99,4 ± 0,4	100,0	100,0
	375	88,7 ± 1,9	92,6 ± 1,6	95,2 ± 1,2	98,6 ± 0,6
	150	72,9 ± 4,8	83,0 ± 3,7	86,9 ± 2,9	89,9 ± 2,3
	112,5	15,5 ± 1,8	21,4 ± 1,5	25,9 ± 1,5	26,7 ± 2,8
	75	2,0 ± 1,2	3,7 ± 1,2	7,6 ± 1,5	12,5 ± 2,5
	25	0,9 ± 1,8	3,7 ± 1,5	6,5 ± 1,5	6,8 ± 2,8
TSM 2	750	96,1 ± 2,3	99,4 ± 0,4	99,2 ± 0,4	100,0
	375	99,1 ± 0,3	100,0	100,0	100,0
	150	67,2 ± 3,8	78,4 ± 3,3	82,7 ± 2,7	88,8 ± 1,5
	112,5	4,8 ± 1,5	8,9 ± 2,1	17,8 ± 2,0	18,8 ± 2,5
	75	2,5 ± 1,2	3,7 ± 1,5	9,9 ± 1,8	12,0 ± 2,0
	25	2,0 ± 1,5	3,1 ± 2,1	4,0 ± 2,0	5,1 ± 2,5
TSM 3	750	100,0	100,0	100,0	100,0
	375	95,8 ± 1,7	96,3 ± 1,7	97,2 ± 1,1	98,6 ± 0,3
	150	59,0 ± 4,1	74,6 ± 2,1	79,9 ± 1,8	87,4 ± 1,4
	112,5	3,6 ± 1,6	10,6 ± 2,5	18,4 ± 3,5	26,3 ± 4,5
	75	3,3 ± 1,7	3,8 ± 2,4	6,7 ± 2,6	9,9 ± 2,5
	25	3,0 ± 1,6	3,9 ± 2,5	5,6 ± 3,5	6,7 ± 4,5

O bio-óleo da TSM 1 a 400°C causou uma mortalidade superior a 98% nas duas maiores concentrações após 96h de tratamento. Nas concentrações

inferiores a 150 mg/L(ar) observou-se mortalidade extremamente baixa, entre 26,7% e 6,8%. Esse padrão de alta mortalidade nas concentrações maiores e baixa mortalidade nas menores também foi observado nas próximas conversões a 400°C.

O padrão se repetiu com o bio-óleo da TSM 2 a 400°C: foi observada alta taxa de mortalidade nas maiores concentrações (750, 375 e 150 mg/L(ar)), enquanto as menores concentrações obtiveram taxas baixas de letalidade.

O bio-óleo da TSM 3 a 400 °C também seguiu o padrão observado nas anteriores, as concentrações entre 750; 375 e 150 mg/L(ar) atingiram valores acima de 87,4% e as concentrações entre 112,5; 75 e 25 mg/L(ar) ficaram com a taxa de mortalidade entre 26,3% e 6,7% após 96h do tratamento. Também pode ser possível inferir que a concentração intermediária, 150 mg/L(ar), apresenta ação residual, uma vez que a letalidade aumenta diretamente proporcional ao tempo de exposição.

A Figura 42, referente a análise probit, revela que os resultados obtidos apresentam uma relação dose-resposta significativa. Na TSM 1 a 400°C, à medida que a concentração do bio-óleo diminui para 112,5; 75 e 25 mg/L(ar), a taxa de mortalidade não é significativa, registrando apenas 26,7%; 12,5% e 6,8%, respectivamente. Esses resultados levaram ao cálculo da DL₅₀, que foi estimada em 123,2 mg/L(ar), com um intervalo de confiança de 95% entre 116,1 e 133,7 mg/L(ar).

A análise Probit dos resultados obtidos após 96 horas do bio-óleo TSM 2 a 400°C demonstrou que o DL₅₀ foi de 126,7 mg/L(ar). Os resultados obtidos indicam uma relação dose-resposta significativa, uma vez que à medida que a concentração do bio-óleo diminui para 112,5; 75 e 25 mg/L(ar), a taxa de mortalidade não é significativa.

Os resultados obtidos após 96h pelo bio-óleo da TSM 3 a 400 °C. demonstraram que a o DL₅₀ foi de 124,2 mg/L(ar). Seguindo o mesmo padrão demonstrado pelas outras duas conversões anteriores.

De uma forma geral, os resultados entre os tratamentos foram bastante homogêneos, somente seis interações das 72 possíveis apresentaram diferença significativa entre as conversões e, além disso, ficaram restritos às primeiras 48h e majoritariamente nas concentrações mais baixas. É notório que o bio-óleo de TSM apresenta-se como um potencial inseticida e a sua obtenção

a 400°C é bastante tóxico já nas primeiras 24h para o controle de adultos de *R. dominica* em ambiente laboratorial.

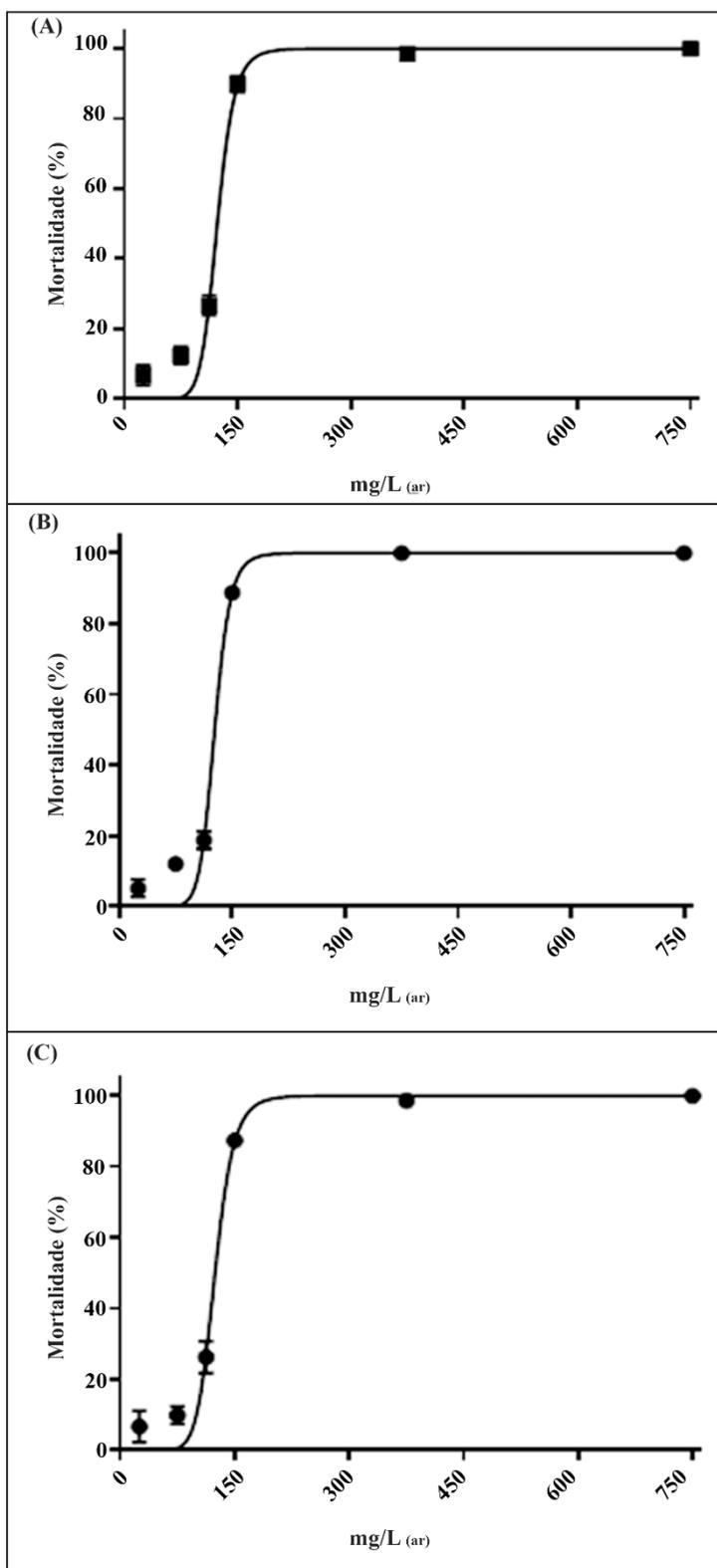


Figura 42- Dose-resposta em *Rhizopertha dominica* após 96h do tratamento com os bio-óleos de TSM 400°C nas concentrações 750; 375; 150; 112,5; 75 e 25 mg/L_(ar). Para todos os testes n ≥ 120. (A) **TSM 1**, DL₅₀ = 123,2 mg/L_(ar) [120,4 ~126,1] (IC 95%). (B) **TSM 2**, DL₅₀ = 126,7 mg/L_(ar) [124,2 ~129,3] (IC 95%). (C) **TSM 3**, DL₅₀ = 124,2 mg/L_(ar) [121,1 ~127,5] (IC 95%).

Nas baixas concentrações testadas foi observado uma baixa mortalidade em todas as três conversões analisadas. Em relação as concentrações letais, a média foi de 124,7mg/L_(ar). Esses resultados confirmam a elevada toxicidade em relação as outras pirólises já testadas no laboratório e, novamente, foi confirmado que essa biomassa fornece o bio-óleo mais tóxico como um inseticida por fumigação. Dada as devidas proporções, é possível afirmar que cerca de 176,6 g do bio-óleo convertido à temperatura de 400°C tem o potencial para tratar 1 tonelada de milho infestado com *R. dominica*, com a eficácia de 95% de letalidade.

4.3.4 DIFERENÇA ENTRE A EFICÁCIA DO BIO-ÓLEO DE TSM À 300°C E À 400°C

A Tabela 9 mostra a mortalidade média de *R. dominica* após exposição ao bio-óleo de TSM em diferentes concentrações e temperaturas de pirólise (300°C e 400°C). Observa-se que em geral o bio-óleo obtido a 400°C causou mortalidade mais elevada do que a 300°C na maioria dos tempos e concentrações analisados. As maiores diferenças significativas entre as temperaturas ocorreram nas concentrações intermediárias de 150 e 375 mg/L ar. Em 150 mg/L ar, o bio-óleo de 400°C apresentou mortalidade de 79-88,7% de 24-96h, enquanto o de 300°C variou de 43,5-72,9%. Já em 375 mg/L ar, essa diferença foi significativa apenas nas primeiras 48h. Nas concentrações mais altas, como 750 mg/L ar, ambas as temperaturas atingiram mortalidade próxima de 100% após 96h. Já nas mais baixas, como 20 mg/L ar, a mortalidade permaneceu inferior a 10% para os dois bio-óleos.

Tabela 9 - Média da mortalidade do teste de toxicidade por fumigação do bio-óleo de TSM a 300°C e 400°C em *Rhyzopertha dominica* sucedido pelo erro padrão da média (SEM). A taxa de infestação é de 0,5 insetos/mL². A taxa de mortalidade foi corrigida mediante a fórmula proposta por Henderson & Tilton.

TSM	Mortalidade*							
	300° C				400° C			
	24h	48h	72h	96h	24h	48h	72h	96h
mg/L (ar)								
750	88,3 ± 3,3	91,1 ± 2,7	93,7 ± 1,4	95,5 ± 1,6	98,3 ± 1	99,6 ± 0,3	99,7 ± 0,1	100,0
375	69,9 ± 3,7 ^A	82 ± 2,6 ^B	90,9 ± 1,8	95,1 ± 1,1	94,6 ± 1,3 ^A	96,3 ± 1,1 ^B	97,5 ± 0,8	99,0 ± 0,3
150	43,5 ± 4,9 ^A	56,6 ± 5,5 ^A	65,7 ± 3,9 ^A	72,9 ± 3,4 ^C	66,4 ± 4,2 ^A	79 ± 3,1 ^A	83,1 ± 2,5 ^A	88,7 ± 1,7 ^C
112,5	6,3 ± 1,3	10,8 ± 1,8	18,2 ± 2,9	19,5 ± 3,2	8,0 ± 1,6	13,6 ± 2,0	20,7 ± 2,3	23,9 ± 3,3
75	2,1 ± 1,3	9,3 ± 2,1	17,0 ± 1,9	22 ± 2,4	2,6 ± 1,4	3,7 ± 1,7	8,0 ± 1,9	11,5 ± 2,3
25	2,5 ± 1,3	4,5 ± 1,8	6,0 ± 2,9	6,8 ± 3,2	2,0 ± 1,6	3,6 ± 2,0	5,4 ± 2,3	6,2 ± 3,3

*Médias da mortalidade nas três conversões de cada temperatura analisada. ^A p<0,0001; ^B p=0,0015; ^C p=0,0002

Portanto, os resultados demonstram que o aumento da temperatura de pirólise de 300°C para 400°C resultou em maior mortalidade de *R. dominica* principalmente em concentrações intermediárias de bio-óleo. Isso evidencia o efeito da temperatura do processo no produto final do potencial pesticida.

4.3.5 AVALIAÇÃO DA IMOBILIDADE DE NEONATOS DE *Daphnia magna* EXPOSTOS AO BIO-ÓLEO DE TSM À 300°C E 400°C

4.3.5.1 Atividade do bio-óleo de TSM à 300°C em *Daphnia magna*

O bio-óleo de TSM 1 a 300°C apresentou toxicidade aguda elevada em concentrações entre 100 e 50 mg/L, com 100% de imobilidade nos organismos-teste *D. magna* em 24 e 48 horas, conforme a Figura 43A. Entretanto, em concentrações abaixo de 25 mg/L, observou-se uma acentuada diminuição dos efeitos tóxicos agudos, com redução da imobilidade para aproximadamente 50% e 30% após 48 horas nas menores doses testadas, 16 e 12,5 mg/L. A análise

probit determinou o valor de CE_{50} de 15,6 mg/L, com intervalo de confiança de 95% entre 15,1 e 16,2 mg/L.

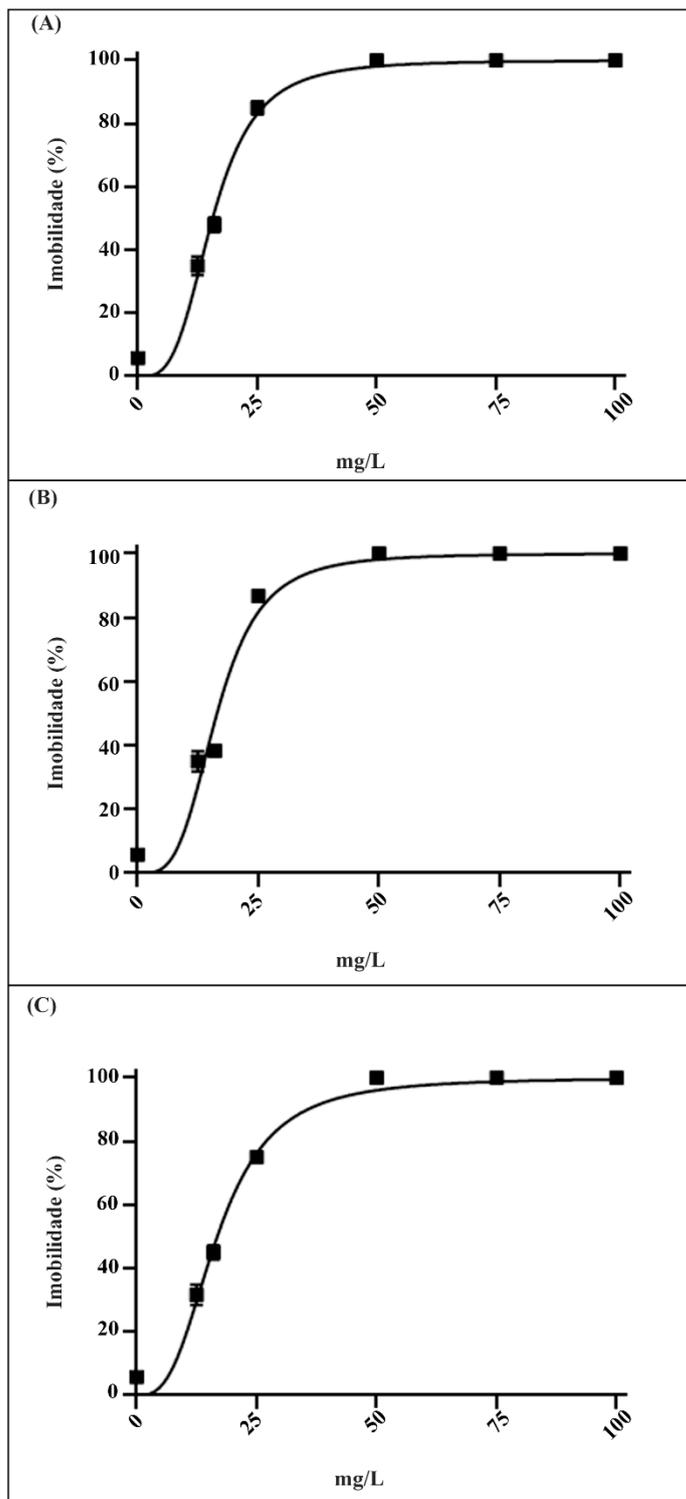


Figura 43 - Resultado do teste de imobilidade em neonatos de *Daphnia magna* expostos à 100, 75, 50, 25, 16 e 12,5 mg/L do bio-óleo de TSM a 300°C, submetidos a análise probit e sucedidos pelos valores mínimos e máximos para um intervalo de confiança de 95%. (A) **TSM 1**, $CE_{50}=15,6$ [15,1; 16,2] mg/L. (B) **TSM 2**, $CE_{50}=16,4$ [15,9; 17,1] mg/L. (C) **TSM 3**, $CE_{50}=16,8$ [16,2; 17,4] mg/L.

O bio-óleo de TSM 2 a 300°C apresentou, assim como o bio-óleo da TSM 1, elevada toxicidade aguda em *D. magna* nas concentrações de 100 a 50 mg/L, com 100% de imobilidade, conforme a Figura 43B. Novamente, em doses inferiores a 25 mg/L, foi verificada acentuada redução da toxicidade aguda, com índices de imobilidade de aproximadamente 40% e 35% após 48 horas nas menores concentrações testadas, 16 e 12,5 mg/L. A análise probit determinou o valor de CE₅₀ de 16,4 mg/L, com intervalo de confiança de 95% situado entre 15,9 e 17,1 mg/L.

O bio-óleo de TSM 3 a 300°C, analogamente ao TSM 1 e TSM 2, exibiu acentuada toxicidade aguda sobre *D. magna* nas doses de 100 a 50 mg/L, com índices de imobilidade de aproximadamente 100% (Figura 43C). Todavia, em concentrações abaixo de 25 mg/L, mais uma vez, foi evidenciada expressiva diminuição da toxicidade aguda, com taxas de imobilidade de cerca de 45% e 30% após 48 horas, nas menores doses testadas a 16 e 12,5 mg/L, respectivamente. A análise probit determinou o valor de CE₅₀ igual a 16,8 mg/L, com intervalo de confiança de 95% entre 16,2 e 17,4 mg/L.

4.3.5.2 Atividade do bio-óleo de TSM à 400°C em *Daphnia magna*

O bio-óleo de TSM 1 a 400°C, apresentou, analogamente aos materiais produzidos a 300°C, acentuada toxicidade aguda sobre *D. magna* nas concentrações mais elevadas testadas de 100 a 50 mg/L, com taxas de imobilidade próximas a 100% (Figura 44A). Contudo, em doses inferiores a 25 mg/L, foi verificada uma expressiva redução da toxicidade aguda, com índices de imobilidade de aproximadamente 45% e 25% após 48 horas, nas menores concentrações de 16 e 12,5 mg/L, respectivamente. A análise probit determinou valor de CE₅₀ igual a 18,2 mg/L, com intervalo de confiança de 95% entre 17,6 e 18,8 mg/L.

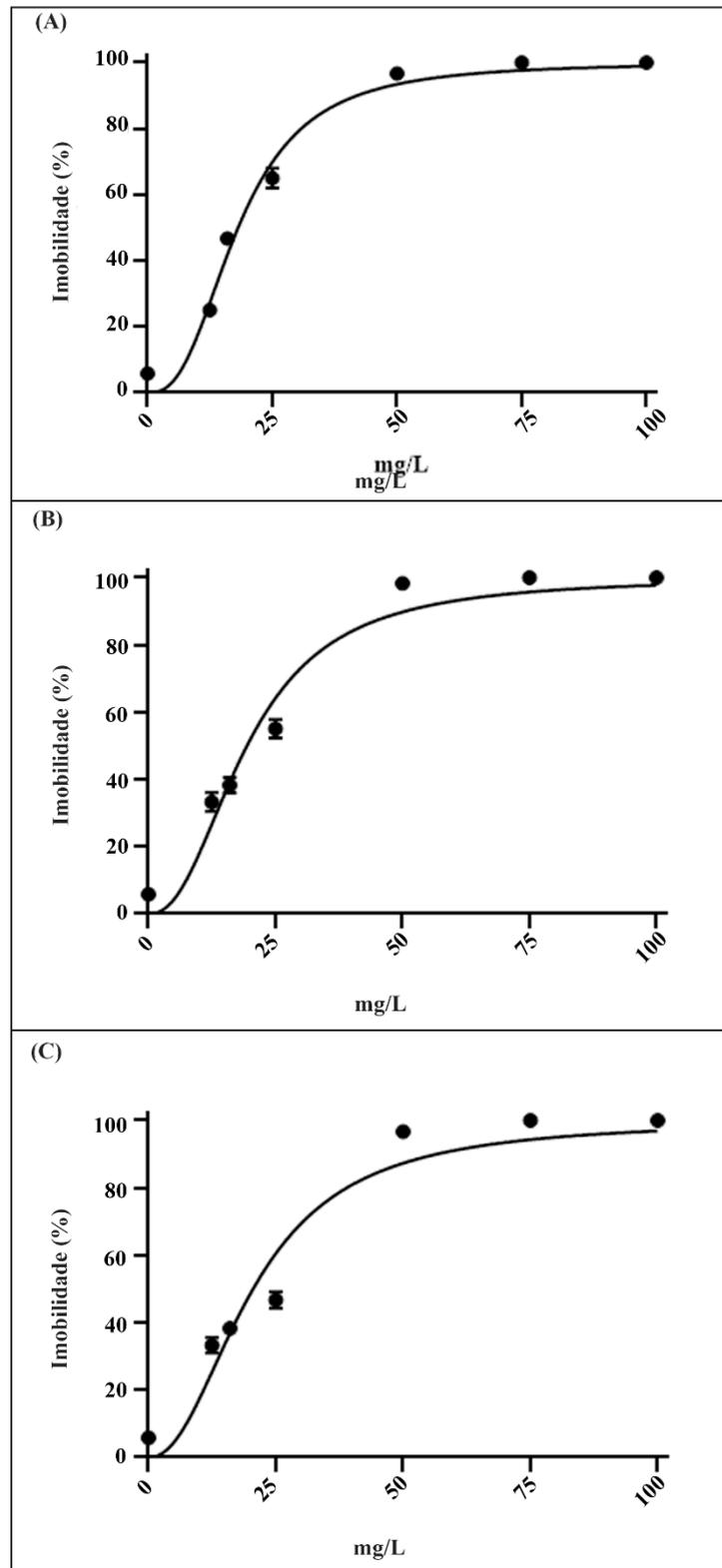


Figura 44 - Resultado do teste de imobilidade em neonatos de *Daphnia magna* expostos à 100, 75, 50, 25, 16 e 12,5 mg/L de bio-óleo de TSM 1 a 400°C, submetidos à análise probit e sucedidos pelos valores mínimos e máximos para um intervalo de confiança de 95%. (A) **TSM 1**, $CE_{50}=18,2$ [17,6; 18,8] mg/L. (B) **TSM 2**, $CE_{50}=19,4$ [18,4; 20,5] mg/L. (C) **TSM 3**, $CE_{50}=20,5$ [19,3; 21,8] mg/L.

O bio-óleo de TSM 2 a 400°C, analogamente ao bio-óleo da conversão anterior, apresentou acentuada toxicidade aguda sobre *D. magna* na maior dose testada de 100 mg/L, com índice de imobilidade de 100%. Adicionalmente, em concentrações de 75 e 50 mg/L ainda foram verificadas altas taxas de imobilidade, de aproximadamente 95% e 90%. Contudo, em doses inferiores a 25 mg/L, foi evidenciada uma expressiva redução da toxicidade aguda, com valores de imobilidade de cerca de 35% e 30% em 48 horas, nas menores concentrações de 16 e 12,5 mg/L. A análise probit determinou a CE₅₀ de 19,4 mg/L, com intervalo de confiança de 95% entre 18,4 e 20,5 mg/L.

O bio-óleo da TSM 3 a 400°C apresentou, similarmente ao TSM 1 e TSM 2, acentuada toxicidade aguda para *D. magna* na maior concentração avaliada de 100 mg/L, com índice de imobilidade de 100% (Figura 44C). Adicionalmente, em doses de 75 e 50 mg/L, ainda foram verificadas altas taxas de imobilidade, de aproximadamente 85% e 95%. No entanto, em concentrações inferiores a 25 mg/L, foi evidenciada uma marcante redução da toxicidade aguda, com valores de imobilidade de cerca de 40% e 35% em 48 horas, nas menores doses testadas de 16 e 12,5 mg/L. A análise probit determinou a CE₅₀ igual a 20,5 mg/L, com intervalo de confiança de 95% entre 19,3 e 21,8 mg/L.

A análise estatística revelou uma diferença significativa entre as CE₅₀ médias dos bio-óleos obtidos a 300°C (16,30 mg/L) e 400°C (19,69 mg/L), indicando uma redução de aproximadamente 3,4 mg/L na toxicidade aguda contra *D. magna* com o aumento da temperatura de pirólise (Figura 45). O teste t demonstrou uma diferença estatisticamente significativa entre as CE₅₀ dos dois grupos, com um valor de $p = 0,0038$. Esses resultados destacam a influência significativa da temperatura de pirólise na toxicidade dos bio-óleos em relação a *D. magna*.

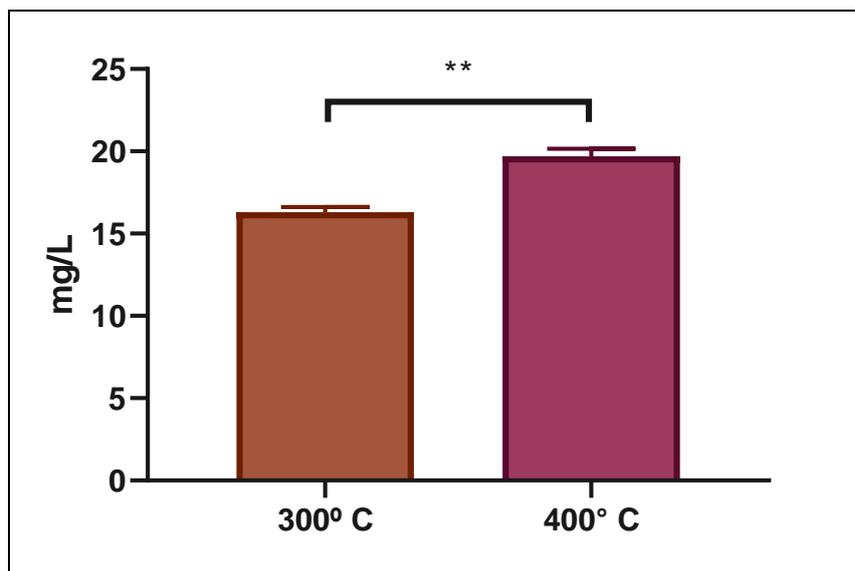


Figura 45 - Comparação das CE₅₀ do teste de imobilidade aguda em neonatos de *Daphnia magna* expostos aos bio-óleos de TSM a 300°C e 400°C. Os valores de CE₅₀ estão sucedidos pelos limites mínimos e máximos do intervalo de confiança de 95%. O teste t demonstrou diferença significativa entre as CE₅₀ dos dois grupos, $p = 0,0038$.

4.3.6 AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE EM SEMENTES DE *Allium cepa* EXPOSTAS AOS BIO-ÓLEOS DE TSM À 300°C E 400°C

4.3.6.1 Ensaio de germinação após exposição aos bio-óleos de TSM

Os resultados do teste de germinação (Figura 46) indicaram diferenças estatisticamente significativas (p -valor = 0,0001) entre os grupos tratados com os bio-óleos de TSM e o grupo controle (água e acetona). Todos os bio-óleos de TSM à 300 e 400 °C demonstraram efeitos fitotóxicos, resultando em uma redução significativa na taxa de germinação das sementes de *A. cepa*. A análise das repetições dentro dos grupos de temperaturas (300 e 400°C) não revelou diferenças significativas, sugerindo que a variação na fitotoxicidade está mais relacionada à temperatura de conversão durante a pirólise.

A comparação direta entre as médias dos bio-óleos de TSM a 300°C e a 400°C evidenciou uma diferença estatisticamente significativa na taxa de germinação das sementes (p -valor = 0,04). A conversão a 300°C apresentou uma menor fitotoxicidade, com uma média de germinação de 43,95%, enquanto a conversão a 400°C resultou em uma média de germinação de 29,69%. Esses

resultados ressaltam a influência da temperatura de conversão na fitotoxicidade do bio-óleo de TSM e seus efeitos distintos na germinação das sementes.

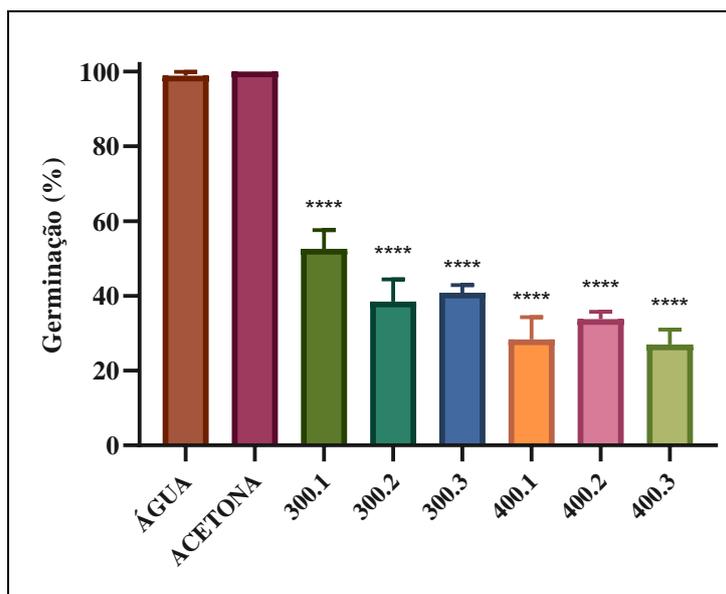


Figura 46 - Taxa de germinação em sementes de *Allium cepa* expostas ao bio-óleo de TSM (300 e 400°C) a 1% após 14 dias. O p-valor (****) <0,0001 indica diferença significativa em relação ao controle (acetona). Entre TSM 1.300 X TSM 1.400 (p-valor = 0,001). Entre TSM 1.300 X TSM 2.400 (p-valor = 0,02). Entre TSM 1.300 X TSM 3.400 (p-valor = 0,0005). Os demais não apresentaram diferença significativa.

4.3.6.2 Ensaio da medição das raízes após exposição aos bio-óleos de TSM

A análise dos dados (Figura 47) revelou diferenças significativas entre os grupos tratados com diferentes conversões do bio-óleo de TSM e o grupo controle (água e acetona). Todos os bio-óleos de TSM (à 300 e 400 °C) resultaram em efeitos fitotóxicos, levando a uma redução significativa na média de crescimento das raízes das sementes de *A. cepa* (p-valor = 0,0001).

As médias de crescimento das raízes expostas aos bio-óleos de TSM à 300 e 400 °C foram de 11,6 mm e 7,03 mm, respectivamente. Entretanto, a análise estatística não revelou diferenças significativas entre os grupos, indicando que a temperatura de conversão não exerce uma influência significativa no menor crescimento radicular observado. Os resultados sugerem que a fitotoxicidade do bio-óleo de TSM pode ser mais atribuída às propriedades dos bio-óleos em si do que à temperatura de conversão durante a pirólise.

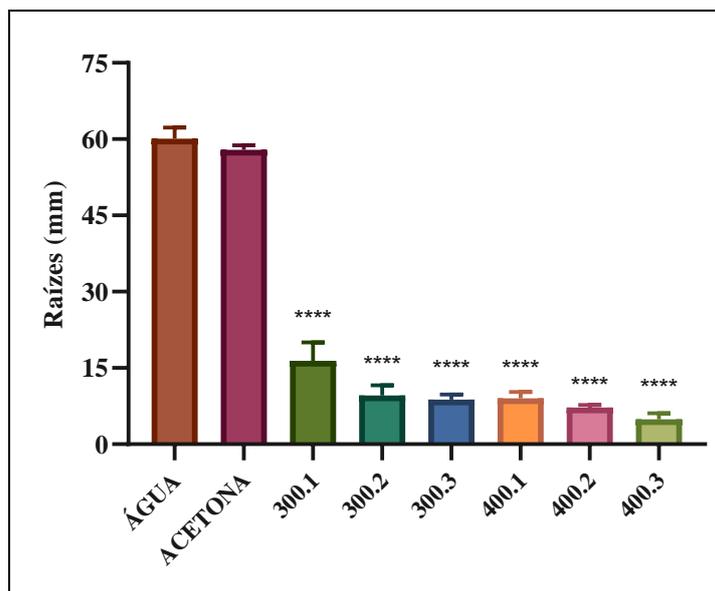


Figura 47 - Tamanho médio das raízes formadas em sementes de *Allium cepa* expostas aos bio-óleos da pirólise de TSM (à 300 e 400 °C) a 1% após 14 dias. O p-valor (****) <0,0001 indica diferença significativa em relação ao controle (acetona).

4.3.6.3 Avaliação da massa das raízes após exposição aos bio-óleos de TSM

A análise dos dados (Figura 48) revelou diferenças significativas entre os grupos tratados com diferentes conversões do bio-óleo de TSM e o grupo controle (água e acetona) em relação à massa das raízes das sementes de *A. cepa*. Todos os bio-óleos de TSM (à 300 e 400 °C) resultaram em efeitos fitotóxicos, levando a uma redução significativa na massa das raízes.

Ao comparar diretamente as médias das massas das raízes de *A. cepa* expostas aos bio-óleos de TSM a 300 e 400°C, a análise estatística não evidenciou diferenças significativas entre os grupos (p-valor = 0,1539), sugerindo que a temperatura de conversão não influencia de forma significativa no menor crescimento radicular observado, e que o efeito fitotóxico é influenciado pelas diferentes composições dos bio-óleos resultantes das conversões.

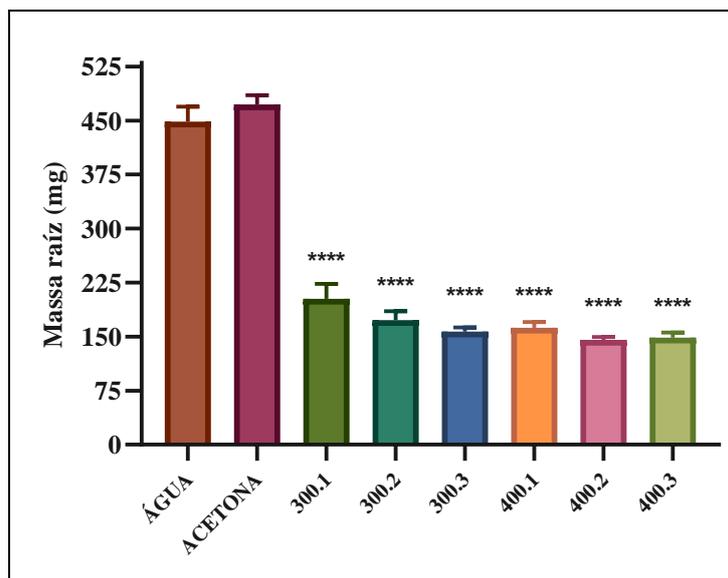


Figura 48 - Massa média das raízes formadas em sementes de *Allium cepa* expostas aos bio-óleos de TSM (à 300 e 400 °C) a 1% após 14 dias. O p-valor (****) < 0,0001 indicam diferença significativa em relação ao controle (acetona)

Considerando o contexto, todos os bio-óleos de TSM foram classificados como de Nível: -3, devido ao seu impacto inibitório substancial nos ensaios de germinação, medição das raízes e avaliação da massa, em sementes de *A. cepa*.

4.4 AVALIAÇÃO DOS L.P. DE CAb

Neste estudo, foi utilizada uma conversão de pirólise da biomassa CAb. A análise do rendimento médio das frações geradas mostrou a seguinte distribuição percentual: 54,06% de fração aquosa, 5,7% de bio-óleo, 30,73% de biocarvão e 9,48% de biogás. O processo resultou em seis frações aquosas distintas, numeradas de A1 a A6, e uma fração de bio-óleo. Todas essas sete frações foram submetidas a ensaios de toxicidade com os insetos-alvo e a testes ecotoxicológicos, a fim de avaliar seu potencial tóxico para organismos não-alvo

4.4.1 AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DOS LP DE CAb EM *Alphitobius diaperinus*

Os líquidos de pirólise A1 a A5 de CAb não demonstraram mortalidade em nenhum dos intervalos de tempo, sugerindo uma ausência de efeitos tóxicos

dessas amostras no organismo testado via toxicidade por contato (Tabela 10). A amostra A6 de CAb exibiu a taxa de mortalidade baixa de 6,7% após 96 horas, sem diferença significativa com seu controle. Em contraste, o bio-óleo de CAb apresentou um efeito tóxico significativo, com mortalidade crescente ao longo do tempo, atingindo 62,2% após 96 horas, evidenciando o potencial pesticida do bio-óleo. Diante desses resultados, o bio-óleo de CAb foi selecionado para ensaios posteriores de determinação da DL_{50} em *A. diaperinus*. As frações aquosas, por sua vez, não se mostraram tão promissoras devido à ausência de toxicidade relevante na concentração testada de 4,3 mg/cm².

Tabela 10 - Taxa de Mortalidade de *Alphitobius diaperinus* tratados com os líquidos de pirólise de CAb a 4,5 mg/cm². Os valores de mortalidade em diferentes intervalos de tempo foram apresentados com erro padrão da média (SEM). Todos os testes foram conduzidos com pelo menos n = 120 insetos, mantendo uma taxa de infestação de 0,3 insetos/cm² por repetição. A taxa de mortalidade foi calculada de acordo com a fórmula proposta por Henderson & Tilton.

CAb 4,3 mg/cm ²	Mortalidade (%) ± SEM			
	24h	48h	72h	96h
A1	0,0 ± 0,0	1,0 ± 0,6	1,0 ± 0,6	1,0 ± 0,6
A2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
A3	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
A4	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
A5	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
A6	0,0 ± 0,0	2,2 ± 1,2	6,7 ± 3,2	6,7 ± 3,2
OL	30,6 ± 4,4	42,2 ± 4,0	52,8 ± 2,9	62,2 ± 3,4
C-*	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
C-**	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0

C-: controle negativo; *Água; ** Acetona.

Os resultados provenientes da exposição às diferentes concentrações do bio-óleo de CAb indicam uma relação dose-resposta (Figura 49). À medida que

as concentrações diminuem, observa-se uma queda acentuada na taxa de mortalidade dos organismos expostos.

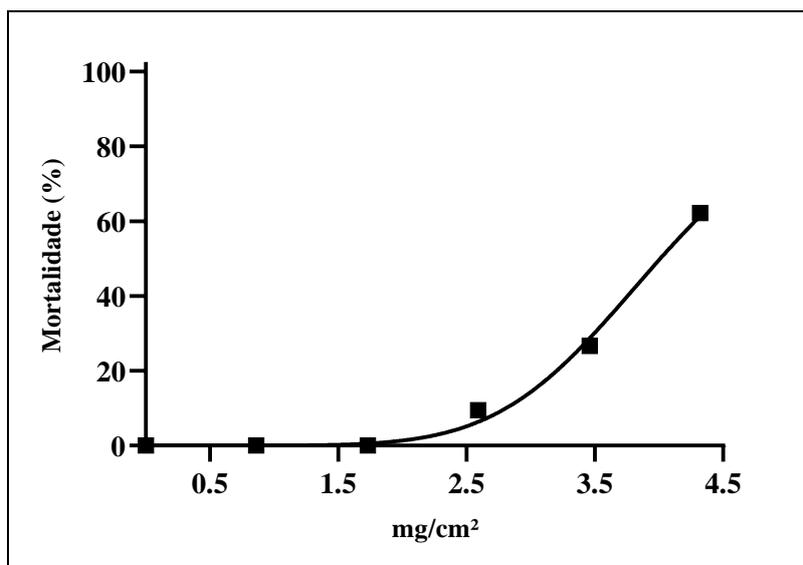


Figura 49 - Dose-resposta em *Alphitobius diaperinus* após 96h da exposição com bio-óleo de CAb nas concentrações entre 4,3, e 0,9 mg/cm². Para todos os testes, n = 120 indivíduos. DL₅₀ = 4,0 mg/cm² [3,9 ~ 4,1] (IC 95%).

Concentrações intermediárias, como 3,46 mg/cm², resultaram em uma taxa de mortalidade inferior a 27%, enquanto concentrações abaixo de 2,59 mg/cm² não demonstraram qualquer mortalidade. Esse padrão sugere uma influência direta da dose de bio-óleo na resposta dos organismos testados. Além disso, a DL₅₀ foi calculada em 4,0 mg/cm², indicando baixa toxicidade para *A. diaperinus*.

4.4.2 AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DOS L.P. DE CAb EM *Rhyzopertha dominica*

Os resultados expostos na tabela 11 demonstram a toxicidade por fumigação dos líquidos de pirólise de CAb. Observou-se uma baixa mortalidade entre a maioria das frações aquosas, grande parte abaixo dos 30% após 96h de tratamento. Contudo, a fração A₁ apresentou uma atividade inseticida moderada, com 45% de mortalidade no último dia de observação. O bio-óleo de CAb obteve uma mortalidade elevada logo nas primeiras 24h após o tratamento, próxima a 80%. Após 48h de observação, a mortalidade já era superior a 95%. E, por fim, após 96h de tratamento, observou-se 100% de mortalidade. Como a mortalidade

após as 96h do tratamento com o bio-óleo de CAb foi superior ao critério de seleção, foram realizados outros testes com menores concentrações que forma a investigar melhor a sua toxicidade como fumigante contra o *R. dominica*.

Tabela 11 - Taxa de Mortalidade de *Rhyzopertha dominica* expostos aos líquidos de pirólise de CAb a 688 mg/L_(ar). Os valores de mortalidade em diferentes intervalos de tempo foram apresentados com erro padrão da média (SEM). Todos os testes foram conduzidos com pelo menos n = 120 insetos. A taxa de mortalidade foi calculada de acordo com a fórmula proposta por Henderson & Tilton.

CAb 688 mg/L _(ar)	Mortalidade (%) ± SEM			
	24h	48h	72h	96h
A1	19,7 ± 0,2	32,4 ± 0,5	38,4 ± 2,0	45,0 ± 2,0
A2	0,0 ± 0,0	4,3 ± 1,0	18,0 ± 0,2	30,2 ± 2,0
A3	0,0 ± 0,0	16,2 ± 2,0	17,2 ± 2,0	17,7 ± 2,0
A4	0,0 ± 0,0	18,2 ± 2,0	19,2 ± 3,0	24,0 ± 2,0
A5	15,2 ± 1,0	25,2 ± 2,0	26,0 ± 3,0	34,4 ± 2,0
A6	10,3 ± 0,1	19,8 ± 0,1	28,1 ± 1,0	28,2 ± 2,0
OL	7,6 ± 2,0	96,1 ± 1,0	97,9 ± 1,0	100,0 ± 0,0
C-*	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	15,5 ± 2,0	17,5 ± 2,0
C-**	0,0 ± 0,0	10,5 ± 1,0	13,5 ± 2,0	15,0 ± 2,0

C-: controle negativo; *Água; ** Acetona.

Os testes de toxicidade por fumigação foram realizados nas seguintes concentrações: 86, 172, 344, 506 e 688 mg/L_(ar). Em seguida foram submetidos à uma regressão não linear, o teste probit, o que gerou o gráfico de dose-resposta correspondente a Figura 50. Os resultados expostos demonstram que a mortalidade indica uma relação dose-resposta. Nas concentrações mais baixas, ficando entre 20 e 45% de mortalidade, na maior concentração ocorreu um salto atingindo 100% da mortalidade. A DL₅₀ foi calculada em 370,3 mg/L_(ar). Isso demonstra que o bio-óleo de CAb possui potencial como agente fumigante para o controle de *R. dominica*, apresentando maior eficácia em concentrações mais elevadas.

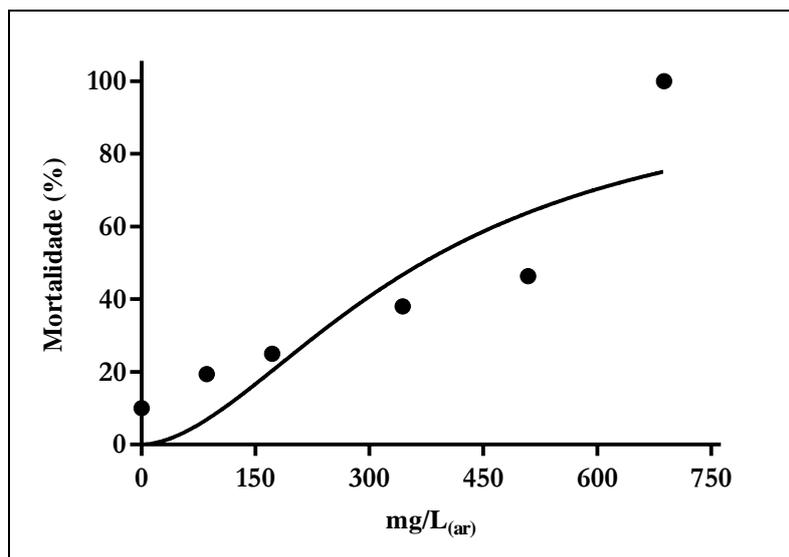


Figura 50 - Dose-resposta em *Rhizopertha dominica* após 96h do tratamento com o bio-óleo de CAb nas concentrações 86, 172, 344, 506 e 688 mg/L_(ar) para todos os testes n = 120. DL₅₀ = 370,3 mg/L_(ar) [321,4 ~ 419,2] (95% IC)

4.4.3 AVALIAÇÃO DA IMOBILIDADE DE NEONATOS DE *D. magna* EXPOSTOS AOS L.P. DE CAb

Os resultados da Tabela 12 revelam que as frações aquosas da pirólise de CAb (A1, A2, A3, A4, A5 e A6) não apresentaram toxicidade significativa nos neonatos de *D. magna* após 48 horas de exposição. Embora tenha sido observado um ligeiro aumento nas médias à medida que se aproximavam do bio-óleo (OL), essa diferença não alcançou significância estatística em comparação com o grupo de controle. No entanto, o bio-óleo demonstrou alta capacidade de imobilização, atingindo taxas de 91,7% após 24 horas e 100,0% após 48 horas. Esses resultados sugerem um efeito tóxico significativo do bio-óleo de CAb (100 mg/mL) nos neonatos de *D. magna*, quando comparado ao grupo de controle negativo (Etanol). A próxima etapa do estudo envolve a quantificação da toxicidade, com a medição de sua CE₅₀.

Tabela 12 - Resultado do teste de imobilidade em neonatos de *Daphnia magna* expostos à 100 mg/L dos líquidos de pirólise de CAb, sucedido pelo erro padrão da média (SEM). (n=3)

CAb 100 mg/L	n	Imobilidade (%) ± SEM	
		24h	48h
A1	60	0,0 ± 0,0	1,7 ± 0,4
A2	60	0,0 ± 0,0	3,3 ± 0,5
A3	60	1,7 ± 0,4	3,3 ± 0,8
A4	60	3,3 ± 0,5	5,0 ± 0,9
A5	60	3,3 ± 0,8	5,0 ± 1,3
A6	60	3,3 ± 0,8	6,7 ± 1,3
OL	60	91,7 ± 0,8	100,0 ± 0,0
Água	60	1,7 ± 0,4	3,3 ± 0,8
Etanol	60	0,0 ± 0,0	1,7 ± 0,4

Os resultados da Figura 51 revelam que o bio-óleo da pirólise de CAb apresenta um potencial tóxico significativo para organismos aquáticos, mesmo em concentrações relativamente baixas e após um curto período de exposição. Após 48 horas, as concentrações de 100 mg/L, 75 mg/L e 50 mg/L do bio-óleo resultaram em imobilidade completa nos neonatos de *D. magna*.

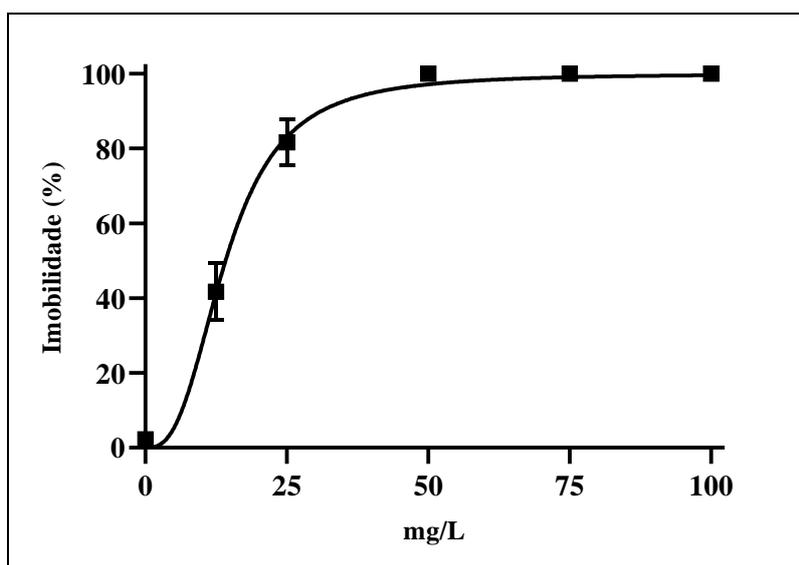


Figura 51 - Resultado do teste de imobilidade em neonatos de *Daphnia magna* expostos à 100, 75, 50, 25 e 12,5 mg/L do bio-óleo de CAb. CE₅₀: 14,2 [12,7; 15,7] mg/L

Nas primeiras horas de exposição a essas concentrações, foram observadas taxas de imobilidade de 91,67%, 90,0% e 61,7% respectivamente. Esses resultados evidenciam a alta toxicidade do bio-óleo da pirólise de CAb nos neonatos de *D. magna*, com uma resposta dose-dependente. De acordo com a análise Probit apresentada na Figura 51, os resultados indicam uma CE₅₀ de

14,18 mg/L para o bio-óleo da pirólise de CAb, com um intervalo de confiança de 95% entre 12,68 e 15,69 mg/L. Com base nesses resultados, o bio-óleo da pirólise de CAb pode ser classificado como toxicidade aguda de Nível III para organismos aquáticos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo GHS (2021).

4.4.4 AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE EM SEMENTES DE *Allium cepa* EXPOSTAS AOS LP DE CAb

4.4.4.1 Ensaio de germinação após exposição aos bio-óleos de CAb

A análise dos resultados da Figura 52, revelou que a exposição das sementes de *A. cepa* aos líquidos provenientes da pirólise de CAb resultou em efeitos diferenciados na taxa de germinação. Os grupos expostos à acetona e às frações A1, A4 e A6 de CAb apresentaram taxas de germinação semelhantes ou até levemente superior ao grupo controle, que foi exposto apenas à água. Isso sugere que esses tratamentos não afetaram negativamente o processo de germinação das sementes.

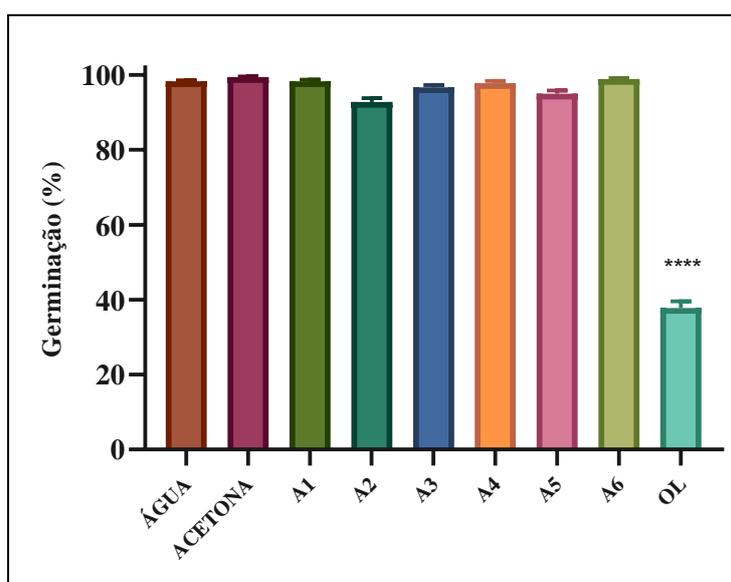


Figura 52 - Taxa de germinação em sementes de *Allium cepa* expostas aos líquidos de pirólise de CAb a 1% após 14 dias. O p-valor (****) < 0,0001 indica diferença significativa em relação ao controle (acetona).

No entanto, as frações A2, A3 e A5 de CAb exibiram taxas de germinação ligeiramente inferiores, embora essas diferenças não tenham sido

estatisticamente significativas. É notável mencionar que a fração oleosa demonstrou uma diferença estatisticamente significativa em relação ao controle com acetona, sugerindo um efeito inibitório dessa fração específica na germinação das sementes de *A. cepa*.

4.4.4.2 Ensaio da medição das raízes após exposição aos L.P. de CAb

A análise dos resultados apresentados na Figura 53 revelou o efeito significativo dos diferentes tratamentos no tamanho radicular das sementes de *A. cepa*. O grupo de controle, exposto à água, não apresentou diferença estatisticamente significativa em relação aos grupos expostos à acetona e às frações A1, A2, A3 e A6 de CAb, embora todas essas frações tenham exibido médias de tamanho das raízes ligeiramente inferiores. No entanto, a fração A5 de CAb demonstrou uma redução significativa no tamanho radicular, indicando um possível efeito inibitório dessa fração. Além disso, novamente, o bio-óleo de CAb apresentou um impacto altamente inibitório no desenvolvimento radicular demonstrando uma forte diferença significativa.

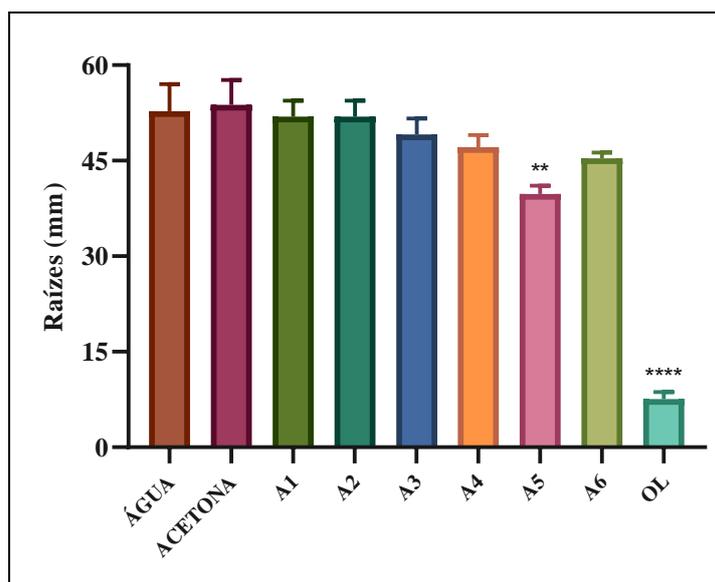


Figura 53 - Tamanho médio das raízes formadas em sementes de *Allium cepa* expostas aos líquidos de pirólise de CAb a 1% após 14 dias. *p*-valor: (**) = 0,0049 e (****) < 0,0001 indicam diferença significativa em relação ao controle.

4.4.4.3 Avaliação da massa das raízes após exposição aos L.P. de CAb

A análise dos resultados apresentados na Figura 54 revelou que os diferentes tratamentos tiveram um efeito variado na massa das raízes de *A.*

cepa. O grupo de controle, exposto à água, não apresentou diferenças estatisticamente significativas em relação aos grupos expostos à acetona e às frações A1, A2, A3 e A6 de CAb. No entanto, é importante observar que as frações A1 e A5 de CAb exibiram médias ligeiramente inferiores, embora não tenham alcançado diferenças estatisticamente significativas. Essas diferenças sutis podem indicar a presença de componentes na nessas frações que podem ter um leve impacto inibitório na formação do sistema radicular. Por outro lado, o bio-óleo de CAb apresentou a massa de raiz significativamente reduzida em comparação com o grupo controle. Esse resultado indica que a fração oleosa possui compostos que afetam negativamente o processo de desenvolvimento das sementes de *A. cepa*.

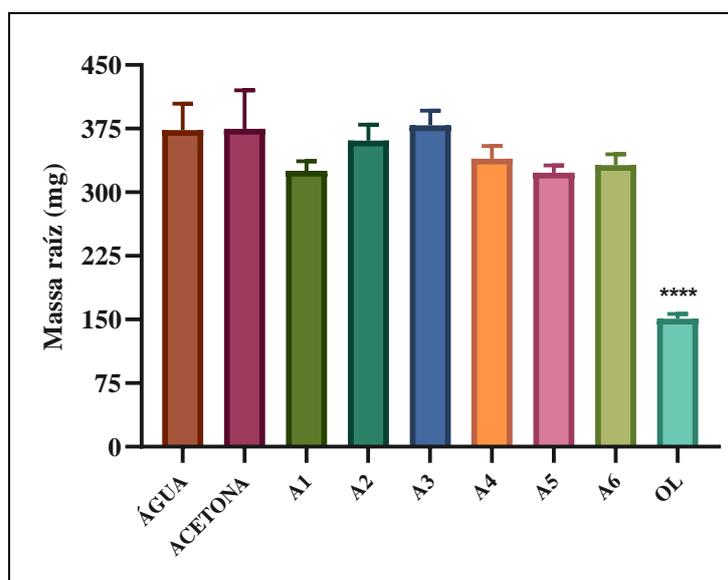


Figura 54 - Massa média das raízes formadas em sementes de *Allium cepa* expostas aos líquidos de pirólise de CAb a 1% após 14 dias. O p-valor (****) < 0,0001 indicam diferença significativa em relação ao controle.

Considerando o contexto, as frações A1 até A4 e A6 de CAb, embora apresentassem médias ligeiramente inferiores ao controle, foram classificadas como nível 0, pois não houve diferença significativa em nenhum dos parâmetros analisados. A fração A5 de CAb, foi classificada como nível -1, pois apresentou efeito inibitório em relação ao tamanho médio das raízes. Por fim, o bio-óleo de CAb, foi classificado como nível -3 por apresentar efeitos deletérios nos três parâmetros avaliados.

4.5 RESUMO DOS RESULTADOS: DL₅₀, CE₅₀ E NÍVEIS DE TOXICIDADE

Os resultados deste estudo fornecem uma visão abrangente da toxicidade das diferentes frações de pirólise derivadas de várias biomassas em relação a diferentes organismos-teste e modelos de bioensaio. A Tabela 13 resume as concentrações letais (DL₅₀), concentrações eficazes (CE₅₀) e os níveis de toxicidade observados para as várias biomassas e frações testadas.

Tabela 13 - Resumo das DL₅₀, CE₅₀ e Níveis de Toxicidade para os líquidos de pirólise de diferentes biomassas em diferentes organismos-teste.

Biomassa	Fração	<i>A. diaperinus</i>	<i>R. dominica</i>	<i>D. magna</i>	<i>A. cepa</i>
		mg/cm ²	mg/L _(ar)	mg/L	Nível
CdB	A1	*	*	*	0
	A2	*	*	*	0
	A3	*	*	*	-1
	A4	*	*	*	**
	OL	*	470	71,8 (Agudo III)	-3
LICURI	A1	*	285,8	*	0
	A2	*	293,9	100,5 (Agudo III)	-3
	A3	2,5	*	92 (Agudo III)	-3
	A4	2,3	*	92,1 (Agudo III)	-3
	A5	*	*	94,2 (Agudo III)	-3
	OL	**	*	39,9 (Agudo III)	-3
TSM	300	**	130,8	16,3 (Agudo III)	-3
	400	**	124,7	19,7 (Agudo III)	-3
CAb	A1	*	*	*	0
	A2	*	*	*	0
	A3	*	*	*	0
	A4	*	*	*	0
	A5	*	*	*	-1
	A6	*	*	*	0
	OL	4,0	370,3	14,2 (Agudo III)	-3

*NS: não significante. **NR: Não Realizado

5. DISCUSSÃO

Embora ainda existam poucos estudos na literatura, os produtos derivados de pirólise têm sido investigados recentemente como potenciais biopesticidas para o controle de insetos-praga de importância econômica. Diversos fatores podem influenciar a atividade inseticida desses produtos, incluindo o tipo de biomassa utilizada e os parâmetros do processo de pirólise. Além disso, o sinergismo ou antagonismo entre os diferentes compostos presentes também pode modular os efeitos tóxicos. Portanto, o efeito inseticida observado é dependente não apenas da biomassa, mas também da metodologia empregada no processo de obtenção das pirólises e das interações entre os seus constituintes químicos (MATTOS *et al.*, 2018; SCHROEDER *et al.*, 2022; URRUTIA *et al.*, 2022).

Os resultados obtidos neste estudo ilustram que o efeito inseticida dos líquidos de pirólise pode variar substancialmente dependendo da biomassa utilizada. Enquanto os líquidos de pirólise de Licuri apresentaram considerável atividade inseticida, os derivados da biomassa CdB tiveram desempenho significativamente inferior como biopesticidas. Essa discrepância ressalta que nem toda biomassa convertida por pirólise resulta necessariamente em produtos com propriedades inseticidas adequadas. Portanto, a seleção criteriosa da fonte de biomassa é essencial, já que a composição química influencia fortemente a bioatividade do material final obtido (URRUTIA *et al.*, 2023) .

Porém, dentro de um contexto de manejo integrado de pragas, os efeitos subletais também podem ter importância, não apenas a letalidade. Neste estudo, os líquidos de pirólise de CdB provocaram alguns efeitos subletais em *R. dominica* que ainda não haviam sido relatados na literatura. Esses incluíram prejuízos ao comportamento, capacidade de movimentação e potencial reprodutivo dos insetos, sem causar mortalidade (MATTOS *et al.*, 2021). Embora mais pesquisas sejam necessárias, esses efeitos subletais representam uma área promissora no controle alternativo de pragas, podendo ser incorporados em estratégias integradas para afetar negativamente as populações-alvo. Após o tratamento, entre 24 e 48 horas, foi observado que os voláteis do líquido aplicado no papel filtro condensavam no fundo do pote e formavam uma espécie de filme que cobria os insetos, prendendo-os no vidro do frasco, como uma espécie de

cola adesiva. A maioria dos insetos não morria imediatamente, mas tornavam-se incapazes de se mover. Esse efeito é diferente dos observados em outras biomassas e sugere a existência de propriedades únicas nos L.P. da biomassa CdB. Portanto, mesmo derivados de pirólise com baixa letalidade direta pode apresentar bioatividade inseticida relevante por meio de efeitos subletais.

Essas descobertas abrem possibilidades para o desenvolvimento de métodos de controle não letais, como armadilhas adesivas, que possam controlar efetivamente insetos-pragas (HASSEMER *et al.*, 2020; HASSEMER *et al.*, 2019). Além disso, o bio-óleo de CdB obteve considerável mortalidade, demonstrando a seletividade da ação inseticida, uma vez que a mesma substância obteve mortalidade maior no *R. dominica* do que no *A. diaperinus*. O que pode sugerir o bio-óleo como um potencial bioinseticida específico para a praga de grãos armazenados *R. dominica*. Portanto a biomassa CdB tem um grande potencial biotecnológico, pois existe a possibilidade da criação de dois produtos que podem ser utilizados para o controle de pragas distintas (ALY *et al.*, 2023; URRUTIA *et al.*, 2023). Porém é necessário que ocorra a análise do seu perfil químico e mais testes para a comprovação dessas descobertas.

O potencial pesticida dos líquidos de pirólise de licuri foi investigado anteriormente por nosso grupo de pesquisa, resultando no primeiro pedido de patente verde da UFF: BR102019007434-5 (FOLLY *et al.*, 2020). Estudos recentes também caracterizaram a atividade inseticida das frações de licuri contra pragas de produtos armazenados (MATTOS *et al.*, 2021). Além disso, o biocarvão de licuri tem aplicação promissora no tratamento de água, devido à sua elevada área superficial e capacidade de adsorção. Pesquisas demonstraram que esse material pode ser utilizado para produzir um adsorvente altamente funcionalizado e eficiente na remoção de contaminantes (PEIXOTO *et al.*, 2022).

Os resultados das três conversões de Licuri demonstraram consistência e uniformidade no processo de obtenção de um pesticida. A atividade inseticida variou entre as frações testadas após as três conversões. No caso de *A. diaperinus*, as frações aquosas intermediárias apresentaram os melhores resultados, enquanto em *R. dominica*, as frações iniciais exibiram atividade inseticida, indicando a seletividade dos L.P. O estudo de Mattos e colaboradores (2021) com o inseto-praga de grãos armazenados *Tribolium castaneum*, os

autores observaram o efeito fumigante da fase aquosa e bio-óleo a partir de resíduos de casca de licuri (*Syagrus coronata*), no processo de pirólise lenta a 400°C. Os resultados indicaram que as primeiras frações da fase aquosa foram mais eficazes contra o *T. castaneum*, que foi mais suscetível à primeira fração aquosa (A1) em um curto tempo de exposição atingindo mortalidade de 92,5%, após 96h. Similarmente, as primeiras frações do licuri também exibiram efeito fumigante em nosso estudo com *R. dominica*. Uma análise dos componentes dos líquidos de pirólise de licuri, realizada por cromatografia gasosa e espectrometria de massa (CG-EM), revelou a presença de diversos compostos orgânicos. A detecção de compostos como ácido acético, furfural, fenol e furanos sugere a existência de substâncias potencialmente tóxicas resultantes da pirólise de licuri. Os inseticidas fumigantes atuam pela ação dos voláteis reduzindo a ação residual do pesticida nos alimentos, diferente dos inseticidas de contato. Além disso, é relevante considerar a presença de ésteres e compostos aromáticos, como o acetato de metila, tolueno, benzeno e etilbenzeno, que podem contribuir para a toxicidade dos líquidos produzidos durante esse processo de pirólise (MATTOS *et al.*, 2021).

Em nossa pesquisa, avaliou-se os efeitos do bio-óleo obtido a partir da torta de sementes de maracujá (TSM) em duas temperaturas de conversão distintas. Os resultados revelaram uma notável toxicidade do bio-óleo em relação a *R. dominica* quando aplicado por meio de fumigação. Parte desse estudo foi previamente publicada no trabalho de Schroeder e colaboradores (2022). As descobertas feitas no presente estudo apontam que o processo de conversão a 400°C demonstrou uma ação pesticida significativamente mais eficaz quando comparado ao processo de conversão a 300°C, embora essa diferença seja relativamente pequena. Em relação às concentrações letais (DL₅₀), a média foi de 130,4 mg/L para o bio-óleo convertido a 300°C e 124,7 mg/L para o bio-óleo convertido a 400°C, representando uma diferença de apenas 6,1 mg/L. Essa discrepância de 1,04% foi notadamente influenciada pela diferença significativa nos resultados observados nas duas temperaturas, especificamente na concentração de 112,5 mg/L. Com base nesse indicador, é possível afirmar que a produção do bio-óleo com finalidade inseticida é mais eficaz a 400°C, uma vez que uma quantidade menor desse bio-óleo, obtido a essa temperatura, se mostra

igualmente eficaz no controle da praga em comparação com a versão convertida a 300°C.

Ao compararmos nossos achados com a literatura, o estudo de Boer e colaboradores (2020) também observou maior eficácia de líquidos de pirólise lenta obtidos a 400°C em relação a 500°C no controle de cupins. Nesse caso, a pirólise de bagaço de cana-de-açúcar a 400°C resultou em derivados com maior atividade inseticida e anti-alimentar. A análise da composição revelou que o aumento da temperatura de 400°C para 500°C elevou o teor de compostos fenólicos, porém reduziu o conteúdo de ácidos orgânicos. Já a presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) foi insignificante em ambas as temperaturas. Portanto, esse estudo corrobora nossos achados de que temperaturas, ao redor de 400°C, potencializam a bioatividade inseticida de líquidos de pirólise lenta.

No estudo com bio-óleo da casca de sementes de girassol, Urrutia e colaboradores (2021) observaram que entre as espécies de pragas de grãos armazenados estudados (*Sitophilus oryzae*, *Lasioderma serricorne* e *T. castaneum*), o *S. oryzae* foi mais suscetível aos efeitos letais do bio-óleo da casca de sementes de girassol pré-tratadas com ácido no processo de pirólise rápida a 450°C através do bioensaio de superfície de contato sendo eficaz em menor tempo de exposição (72h). Os efeitos comportamentais como repelente e mobilidade foram leves, porém, com efeito na fisiologia nutricional do *S. oryzae* e *T. castaneum*. Além disso, os autores relataram que o líquido de pirólise bruto não foi eficaz, apenas o bio-óleo pré-tratado com ácido. Tais resultados diferem dos nossos em que o bio-óleo bruto sem nenhum tipo de tratamento foram eficazes contra os insetos-praga *R. dominica* e nas duas temperaturas testadas. Em contrapartida, Urrutia e colaboradores (2023), utilizando o bio-óleo obtido de resíduos de biomassa bioconvertidos por larvas de *T. molitor*, não obteve atividade inseticida contra *T. castaneum* via toxicidade por contato, mas obteve entre 50 e 70% de mortalidade por fumigação. Esses achados destacam a complexidade das respostas aos diferentes bio-óleos e métodos de aplicação.

No trabalho de Hossain e colaboradores (2014), o bio-óleo de duas conversões de pirólise de um concentrado de lignina foi investigado com o objetivo de avaliar sua atividade inseticida. Os resultados entre os dois lotes de bio-óleo revelam diferenças notáveis. O lote 1, que teve um período mais longo

de armazenamento entre a produção e os ensaios, exibiu uma atividade inseticida para as larvas de besouros-da-batata relativamente menor em comparação ao lote 2. Esse contraste nas atividades inseticidas entre os dois lotes foi atribuído ao envelhecimento do bio-óleo no lote 1, o que pode ter levado a reações químicas que afetaram sua eficácia como pesticida. Além disso, observou-se uma diferença no perfil químico entre os lotes, com a ausência de compostos HPAs uma presença maior de ácidos carboxílicos no lote 1 em comparação ao lote 2. Esses resultados enfatizaram a importância do tempo de armazenamento e do envelhecimento do bio-óleo na determinação de sua atividade inseticida e salientaram a necessidade de considerar esses fatores ao desenvolver e aplicar bio-óleo como uma ferramenta eficaz no controle de pragas.

No ensaio conduzido com a biomassa CAb, os L.P. não apresentaram um desempenho satisfatório quando expostos a adultos de *A. diaperinus*. No entanto, em relação a *R. dominica*, a fração aquosa não demonstrou atividade pesticida, enquanto o bio-óleo revelou-se altamente eficaz. Ao analisar a resposta de *R. dominica* quando tratado com a fração oleosa resultante da pirólise da CAb, observou-se uma taxa de mortalidade de 100% após 96 horas de tratamento, com uma taxa de mortalidade superior a 75% já no primeiro dia de observação.

É relevante observar que a ocorrência de uma mortalidade inicialmente baixa nos primeiros dias de exposição à fração oleosa é uma tendência comum, possivelmente devido à volatilização dos componentes ativos ao longo do tempo. No entanto, vale destacar que esse padrão também foi observado em resultados preliminares de estudos anteriores envolvendo a fração oleosa de biomassas como a licuri, onde a mortalidade tende a ser inicialmente baixa nos primeiros dias, mas registra um aumento significativo nos dias subsequentes de exposição. Considerando esses resultados promissores, será fundamental a realização de mais estudos, especialmente para investigar a composição química da fração oleosa, a fim de compreender melhor sua eficácia e potencial como pesticida.

Diversos estudos têm sido realizados com o objetivo de avaliar a toxicidade dos produtos de pirólise em organismos aquáticos, especificamente com *Daphnia magna*. Historicamente, os resultados têm apontado para uma baixa

toxicidade desses compostos à organismos não alvo (URRUTIA *et al.*, 2022). Por exemplo, Pimenta e colaboradores (2000) utilizaram os líquidos da pirólise lenta da madeira de *Eucalyptus grandis* e observaram uma CE_{50} de 170 mg/L após 24h de exposição. Esses valores foram considerados como não perigosos para organismos aquáticos, segundo os critérios do GHS. Além disso, Campisi e colaboradores (2016) utilizaram diferentes tipos de bio-óleos produzidos por pirólise intermediária e observaram CE_{50} de 118, 143 e 383 mg/L, respectivamente. Esses valores também foram considerados como não perigosos.

Embora a maioria dos estudos mostrarem baixa toxicidade, o estudo de De Lima e colaboradores (2019) apresentou uma CE_{50} mais baixa, o que indica uma maior toxicidade. Utilizaram o bio-óleo da madeira de eucalipto via pirólise rápida e obtiveram a CE_{50} de 26,12 mg/L, porém não foi identificado sinais de genotoxicidade. Os resultados apresentados neste trabalho reforçam os achados presentes na literatura, pois é comum que a toxicidade de líquidos de pirólise contra organismos aquáticos seja menos intensa quando comparadas aos inseticidas convencionais (Nível Agudo I), uma vez que a CE_{50} mais tóxica foi 14,2 mg/L. Isso denota que, apesar da baixa toxicidade aguda, os bio-óleos avaliados possuem um efeito um pouco mais elevado que alguns outros bio-óleos relatados na literatura. No entanto, é importante notar que esses estudos foram realizados em diferentes tipos de biomassas, utilizando diferentes métodos de pirólise, o que pode afetar os resultados.

Em comparação com os inseticidas convencionais, o organofosforado Clorpirifós apresentou a CE_{50} de 0,001 mg/L valor que o coloca em um rol de substâncias altamente tóxicas para o meio ambiente. Isso é cerca de 14.000 vezes mais tóxico do que o valor apresentado pelo bio-óleo de CAb. Em relação ao piretroide cipermetrina, o valor é mais expressivo ainda, após 48h de exposição, apresentou a CE_{50} de 0,0001 mg/L, valor que também o classifica como uma substância altamente tóxica para o meio ambiente. Isso representa que a cipermetrina é cerca de 142.000 vezes mais tóxica do que o bio-óleo de CAb em ambientes aquáticos (IBAMA, 2019; KIM *et al.*, 2008). Além disso, é importante mencionar que nossos estudos avaliaram apenas a toxicidade aguda, e não avaliaram os efeitos a longo prazo da exposição aos extratos de pirólise. Portanto, é importante realizar mais estudos para avaliar a toxicidade crônica e

a biodegradabilidade dos L.P. antes de concluir sobre sua segurança para o meio ambiente aquático.

O presente estudo também avaliou a ecotoxicidade aguda do bio-óleo de biomassa TSM obtidas a 300°C e a 400°C, utilizando o microcrustáceo *D. magna* como organismo-teste. Os resultados demonstraram que, de acordo com os critérios do GHS (2021), os bio-óleos obtidos a 300°C e 400°C podem ser classificados no Nível Agudo III de toxicidade, por apresentarem taxas de imobilidade inferiores a 50% na concentração de 100 mg/L após 48 horas de exposição. As CE₅₀ determinadas situaram-se na faixa de 15,6 a 16,8 mg/L para as amostras a 300°C, e de 18,2 a 20,5 mg/L para as amostras a 400°C. Esses valores não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si em suas respectivas séries, evidenciando a consistência do efeito previsto.

A caracterização química demonstrou que ambos os bio-óleos são constituídos majoritariamente por compostos fenólicos e nitrogenados, com alguns hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos. O aumento da temperatura de pirólise de 300 para 400°C resultou no incremento dos teores de derivados nitrogenados (de 31,6 para 41,1 mg/g) e hidrocarbonetos aromáticos (de 19 para 31,7 mg/g) (SCHROEDER *et al.*, 2022).

Considerando que muitos desses compostos apresentam propriedades tóxicas em insetos, e o provável efeito sinérgico entre os diversos componentes do bio-óleo, o aumento nessas duas classes pode justificar a maior atividade inseticida do material obtido a 400°C. Além disso, os fenólicos presentes também contribuem para a toxicidade. Diversos compostos nitrogenados, como piridinas, pirróis e quinolinas, assim como os hidrocarbonetos aromáticos, apresentam propriedades tóxicas para vários organismos, incluindo insetos (ISHAAYA & DEGHEELE, 1998). Portanto, o aumento nessas duas classes de compostos pode ter contribuído para a maior toxicidade inseticida do bio-óleo obtido a maior temperatura.

A utilização de derivados de pirólise, provenientes de biomassa, ganhou destaque no âmbito da agricultura sustentável. Esses derivados são reconhecidos como produtos orgânicos e potenciais para o condicionamento de solo (MAPA, 2021). Essa regulamentação estabelece critérios e normas para a utilização de produtos em sistemas orgânicos de produção, incluindo a necessidade de quantificar os HPAs, com um limite máximo de 0,7 microgramas

de HPAs por litro de produto formulado. A inclusão dos extratos pirolenhos no rol taxativo da regulamentação reflete o reconhecimento do potencial desses produtos no contexto das práticas agrícolas sustentáveis.

A falta de estudos complementares sobre os efeitos dos compostos resultantes da pirólise lenta em baixas temperaturas limita uma discussão aprofundada sobre o assunto (TIILIKKALA *et al.* 2010). Embora pesquisas tenham demonstrado os efeitos adversos de concentrações mais altas desses compostos e em conversões de temperaturas mais elevadas, há uma lacuna de conhecimento em relação às concentrações mais baixas resultantes de pirólises a temperaturas mais brandas e seus impactos no crescimento e desenvolvimento das plantas (URRUTIA *et al.*, 2022; DE LIMA *et al.*, 2019; HOSSAIN *et al.* 2013)

Ao analisar os resultados obtidos nos bioensaios, pôde-se observar a presença de um padrão indicativo de fitotoxicidade em determinados tratamentos com a formulação de pirólise. Os resultados obtidos na avaliação da fitotoxicidade da fração aquosa da pirólise de CdB demonstraram uma tendência de diminuição das médias de atividade fitotóxica à medida que a fração se aproximava do bio-óleo, embora não tenha sido observada diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle. A identificação dos compostos responsáveis por essa atividade fitotóxica requer análises mais detalhadas e um perfil químico mais completo, que infelizmente não está disponível neste estudo, devido aos atrasos proporcionados por diversos fatores, inclusive a pandemia de COVID-19. No entanto, é importante mencionar que ésteres e compostos aromáticos têm sido frequentemente associados à atividade fitotóxica em outros estudos (KUMAR *et al.*, 2021)

Além disso, os resultados destacam a notável diferença na atividade fitotóxica entre as diferentes conversões do CdB e Licuri. Isso reforça a singularidade de cada biomassa pirolisada, evidenciando que diferentes biomassas podem apresentar vocações distintas em termos de atividade fitotóxica. Vale ressaltar que, para uma avaliação mais abrangente da fitotoxicidade dessas substâncias, é necessário realizar testes em diferentes concentrações e estudos crônicos, a fim de obter uma melhor compreensão dos efeitos a longo prazo.

Embora a fração aquosa da biomassa CdB apresente pouca aplicação como inseticida, devido à baixa letalidade nos insetos deste trabalho, estudos sugerem que produtos de pirólise podem ser utilizados como condicionador de solo, a sua baixa toxicidade em ambientes aquáticos pode ser um bom indicativo para a sua outra aplicação nessas condições (ALI *et al.*, 2022; IBN FERJANI *et al.*, 2019; SUN *et al.*, 2018).

Em relação ao Licuri, embora tenha sido constatado que a fração A1 apresentou uma média inferior àquela do grupo controle (tratamento com água), tal diferença não atingiu significância estatística nos três parâmetros analisados. Em contrapartida, as frações A2, A3, A4, A5 e OL demonstraram diferenças estatisticamente significativas quando comparadas ao grupo controle. Assim, dentre todas as biomassas e L.P. avaliados, a fração A1 destacou-se pelo seu desempenho, demonstrando uma mortalidade significativamente alta contra *R. dominica* e baixa ecotoxicidade.

Uma diminuição nas médias dos três parâmetros foi observada a partir do tratamento com a fração A2, mantendo-se em patamares reduzidos nas frações subsequentes (A3 e A4). A fração A5 exibiu um leve aumento nas médias em relação às frações anteriores, sugerindo uma menor toxicidade. Entretanto, a redução subsequente observada na fração oleosa (OL) indica a presença de substâncias ou concentrações que podem ser prejudiciais ao crescimento radicular. A análise química dos derivados de pirólise de licuri revelou a presença de diversos compostos que podem estar relacionados à atividade fitotóxica observada. Dentre eles, destacam-se ésteres e aromáticos como acetato de metila, tolueno, benzeno e etilbenzeno. Outras substâncias detectadas, como ácidos acéticos, furfural, fenol e furanos, também são conhecidas por seus efeitos adversos em plantas (DE LIMA *et al.*, 2019; DELBECQ *et al.*, 2018; VENTURA *et al.*, 2016).

Os resultados do presente estudo demonstraram diferenças significativas entre os grupos tratados com diferentes conversões do bio-óleo de TSM e o grupo controle, composto por água e acetona. As diferentes conversões de TSM resultaram em efeitos fitotóxicos, com redução significativa na taxa de germinação das sementes de *A. cepa*, menor crescimento e massa radicular. A temperatura de conversão não influencia de forma significativa no menor crescimento radicular e massa observada. Essa informação é relevante, pois

sugere que a variação na fitotoxicidade está mais relacionada à composição química dos bio-óleos em diferentes conversões do que à temperatura de pirólise.

Outro aspecto relevante, é a necessidade de realizar estudos complementares com concentrações mais baixas dos bio-óleos para avaliar sua toxicidade potencial e determinar a faixa ideal de aplicação como condicionadores de solo. O presente estudo abriu caminho para investigações futuras que possam explorar diferentes níveis de concentração, buscando identificar os pontos ideais de aplicação para maximizar os efeitos benéficos e minimizar os riscos fitotóxicos, permitindo uma compreensão mais abrangente de seus impactos no crescimento radicular, na biomassa das raízes e em outros parâmetros relevantes. É importante destacar que a quantidade de líquido de pirólise empregada na agricultura, no solo, é consideravelmente menor do que a quantidade utilizada em nosso estudo. Em geral, as diluições usuais variam entre 0,3% e 0,1% (GREWAL; ABBEY; GUNUPURU, 2018; SOUZA *et al.*, 2018).

Estudos anteriores, como o de Li e colaboradores (2015) utilizando o biocarvão, relataram uma relação dose-resposta invertida em forma de "U" entre a dosagem e o crescimento de tomateiros, indicando que doses mais baixas e mais altas estimularam levemente o crescimento, enquanto doses intermediárias o inibiram. Nos estudos de Aguirre e colaboradores (2020), foi constatado que o uso de concentrações de derivados de pirólise como herbicidas a 25% foi capaz de causar a mortalidade de plantas adultas, além disso, os resultados também indicaram que mesmo concentrações muito baixas dessas substâncias foram suficientes para inibir a germinação e o desenvolvimento das plantas. Portanto, a realização de testes com concentrações mais baixas permitirá uma compreensão mais precisa dos efeitos benéficos e adversos dessas formulações no crescimento e desenvolvimento vegetal.

Também é crucial considerar a exposição crônica das plantas aos compostos de pirólise contidos nas formulações de licuri. A realização de estudos crônicos, acompanhando o desenvolvimento das plântulas ao longo do tempo, será fundamental para avaliar os efeitos a longo prazo desses compostos. Isso permitirá obter informações mais abrangentes sobre a influência dessas formulações no crescimento radicular, na biomassa das raízes e em outros parâmetros relevantes.

O estudo de Lima *et al.* (2019) investigou o líquido de pirólise do eucalipto, e foi observado que na sua composição contém ciclopentenonas e piranos e que não demonstraram ecotoxicidade, enquanto os furanos, 5-hidroximetilfurfural, furfural, catecol e hidroquinona apresentaram diferentes graus de toxicidade (PILGÅRD *et al.*, 2010; VENTURA *et al.*, 2016). Os testes realizados com *A. cepa*, *D. magna* e uma linhagem de células de peixe demonstraram que o L.P apresentou toxicidade aguda para a vida aquática, enquanto mostrou menor toxicidade para plantas terrestres. No entanto, o L.P não apresentou efeitos genotóxicos em nenhum dos sistemas testados. A composição química do L.P varia dependendo da fonte de extração e do processo, e a natureza química de um composto está estritamente relacionada à sua toxicidade potencial (DE LIMA *et al.*, 2019). Portanto, é importante estabelecer limites de exposição ambiental para promover o uso seguro dos derivados de pirólise na agricultura, evitando impactos nos ambientes aquáticos. Inclusive o uso de extratos pirolenhosos está previsto no rol taxativo da Portaria 52 de 13 de março de 2021 do MAPA, que estabelece o regulamento de produtos liberados para utilização em sistemas orgânicos de produção, dessa forma o uso de produtos à base de pirólise já são uma realidade (MAPA, 2021).

Dentro desse contexto, a transição para uma bioeconomia circular é fundamental para otimizar o aproveitamento de biomassas residuais, proporcionando valor a materiais frequentemente descartados (SHERWOOD, 2020). Tecnologias como a pirólise possibilitam a conversão de resíduos agroindustriais em produtos de alto valor agregado, fechando ciclos, reduzindo desperdícios e impactos ambientais, como o exemplo do licuri, exposto nesse trabalho (ANDOOZ *et al.*, 2023). Seu fruto é valorizado comercialmente pela amêndoa comestível. No entanto, o pericarpo era descartado como resíduo. A pirólise desse material residual resultou em derivados com propriedades pesticidas e adsorventes, abrindo novas possibilidades de aproveitamento (FOLLY *et al.*, 2020; PEIXOTO *et al.*, 2022).

6. CONCLUSÃO

CdB

- Os líquidos de pirólise não apresentaram atividade inseticida via toxicidade por contato contra *A. diaperinus*.
- Somente o bio-óleo apresentou atividade pesticida via toxicidade por fumigação contra o *R. dominica* com a LC₅₀ de 470mg/L_(ar)
- O bio-óleo apresentou ecotoxicidade em *D. magna* Nível Agudo III com a CE₅₀ de 71,8 mg/L.
- As frações aquosas apresentaram toxicidade crescente conforme a fração se aproximava do bio-óleo, que foi considerado tóxico para *A. cepa*.
- As frações aquosas iniciais apresentam alta capacidade biotecnológica, pois apresentam características subletais únicas que podem ser exploradas.
- As frações aquosas apresentam potencial para se tornarem promotores do crescimento de plantas, devido a sua baixa toxicidade, embora a concentração ainda precise ser ajustada.

Licuri

- Após 3 conversões, houve padronização da mortalidade nos testes biológicos em *A. diaperinus* e *R. dominica*.
- As frações intermediárias, A3 e A4, apresentaram os melhores resultados contra *A. diaperinus* via toxicidade por contato, com LC₅₀ de 2,5 e 2,3 mg/cm², respectivamente.
- As frações iniciais, A1 e A2, apresentaram os melhores resultados contra *R. dominica*, via toxicidade por fumigação.
- A fração A1 não apresentou ecotoxicidade em *D. magna*, enquanto as frações A2, A3, A4, A5 e o bio-óleo foram classificados como Nível Agudo III com as CE₅₀ de 100,2; 92; 92,1; 94,2 e 39,9 mg/L, respectivamente.
- Tirando a fração A1 que foi classificada como nível 0, todas as outras frações aquosas e o bio-óleo apresentaram efeitos deletérios nos três parâmetros avaliados, sendo classificados como nível -3 de fitotoxicidade para *A. cepa*.
- Fração A1 apresenta um alto potencial biotecnológico, devido a elevada atividade inseticida via fumigação e a não ecotoxicidade nos modelos não alvo.

TSM

- Após 3 conversões em diferentes temperaturas, houve padronização da taxa de mortalidade nos testes biológicos em *R. dominica*.
- Os dois bio-óleos obtidos a 300°C e 400°C apresentaram elevada atividade inseticida contra *R. dominica* via toxicidade por fumigação, porém o bio-óleo a 400°C mostrou-se ligeiramente mais tóxico. As CL₅₀ foram 130,8 e 124,7mg/L_(ar).
- Ambos bio-óleos foram tóxicos para *D. magna*, classificados como Nível Agudo III, com as CE₅₀ de 16,3 e 19,7 mg/L, respectivamente.
- Os bio-óleos obtidos a 300°C e 400°C também foram tóxicos para *A. cepa*, classificados como Nível -3.

CAb

- As frações aquosas não apresentaram atividade inseticida via toxicidade por contato contra *A. diaperinus* e o bio-óleo foi tóxico somente em altas concentrações, atingindo uma CL₅₀ de 4,0 mg/cm².
- As frações aquosas não apresentaram atividade inseticida via toxicidade por fumigação contra *R. dominica* e o bio-óleo foi tóxico, atingindo uma CL₅₀ de 370,3 mg/L_(ar).
- Somente o bio-óleo foi considerado tóxico para *D. magna* com CE₅₀ de 14,2 mg/L, classificado como Nível Agudo I.
- Somente a fração A5 e o bio-óleo foram tóxicos para *A. cepa*, classificados como Nível -1 e Nível -3, respectivamente.
- As frações aquosas têm potencial para se tornarem promotores do crescimento de plantas, devido a sua baixa toxicidade, embora a concentração ainda precise ser ajustada.
- O bio-óleo apresentou a maior ecotoxicidade das biomassas testadas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda- Método de ensaio com Daphnia spp (Crustacea, Cladocera)**, 2016.
- ABPA. **Relatório Anual 2022**. 1. ed. São Paulo: Associação Brasileira de Proteína Animal, 2023. v. 11–144 p.
- ABRASCO. Dossiê contra o pacote do veneno e em defesa da vida. **Fiocruz**, v. 1, p. 1–336, 2021. Disponível em: <<https://editora.redeunida.org.br/wp-content/uploads/2021/07/Livro-Dossie-%E2%80%93Contra-o-Pacote-do-Veneno-e-em-Defesa-da-Vida.pdf>>. Acesso em: 24 set. 2023.
- AGUIRRE, J. L.; BAENA, J.; MARTÍN, M. T.; GONZÁLEZ, S.; MANJÓN, J. L.; PEINADO, M. Herbicidal effects of wood vinegar on nitrophilous plant communities. **Food and Energy Security**, v. 9, n. 4, 1 nov. 2020.
- ALI, L.; PALAMANIT, A.; TECHATO, K.; ULLAH, A.; CHOWDHURY, M. S.; PHOUNGTHONG, K. Characteristics of Biochars Derived from the Pyrolysis and Co-Pyrolysis of Rubberwood Sawdust and Sewage Sludge for Further Applications. **Sustainability (Switzerland)**, v. 14, n. 7, 1 abr. 2022.
- ALOUT, H.; LABBÉ, P.; BERTHOMIEU, A.; MAKOUNDOU, P.; FORT, P.; PASTEUR, N.; WEILL, M. High chlorpyrifos resistance in *Culex pipiens* mosquitoes: Strong synergy between resistance genes. **Heredity**, v. 116, n. 2, p. 224–231, 2016.
- ALY, H.; WAHBA, T.; HASSAN, N. Comparative study of individual and Co-application of pyrolysis products of *Leucaena Leucocephala* tree wastes as natural resources to control the rice weevil *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of the Advances in Agricultural Researches**, v. 28, n. 2, p. 481–491, 30 jun. 2023.
- ANDOOZ, A.; EQBALPOUR, M.; KOWSARI, E.; RAMAKRISHNA, S.; ANSARI CHESHMEH, Z. A comprehensive review on pyrolysis from the circular

economy point of view and its environmental and social effects. **Journal of Cleaner Production**, v. 388, 15 fev. 2023.

ANTUNES, L. E. G.; VIEBRANTZ, P. C.; GOTTARDI, R.; DIONELLO, R. G. Características físico-químicas de grãos de milho atacados por *Sitophilus zeamais* durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 2011.

ARORA, R.; SANDHU, S. Breeding insect resistant crops for sustainable agriculture. **Breeding Insect Resistant Crops for Sustainable Agriculture**, p. 1–421, 2017.

AVILA, V. S.; KUNZ, A.; BELLAVAR, C.; PAIVA, D. P.; JAENISCH, F. R. F.; TREVISOL, I. M.; PALHARES, J. C. P.; ABREU, P. G.; ROSA, P. S. Circular técnica 51 - Boas Práticas de Produção de Frangos de Corte. p. 1–4, 2007.

BEDMUTHA, R.; BOOKER, C. J.; FERRANTE, L.; BRIENS, C.; BERRUTI, F.; YEUNG, K. K. C.; SCOTT, I.; CONN, K. Insecticidal and bactericidal characteristics of the bio-oil from the fast pyrolysis of coffee grounds. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 90, n. 2, p. 224–231, 2011.

BENITES, V. de M.; TEIXEIRA, W. G.; REZENDE, M. E.; PIMENTA, A. S. Utilização de carvão e subprodutos da carbonização vegetal na agricultura: aprendendo com as terras pretas de índio. *Em: As Terras Pretas de Índio da Amazônia*, 2009.

BOER, F. D.; VALETTE, J.; COMMANDRÉ, J. M.; FOURNIER, M.; THÉVENON, M. F. Slow pyrolysis of sugarcane bagasse for the production of char and the potential of its by-product for wood protection. **Journal of Renewable Materials**, v. 9, n. 1, p. 97–117, 2020.

BRASIL. Decreto Nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Brasília, DF: **Diário Oficial da União**, 2002.

- BURT, D. W. Applications of biotechnology in the poultry industry. **World's Poultry Science Journal**, v. 58, 2002.
- CÁCERES, L. A.; MCGARVEY, B. D.; BRIENS, C.; BERRUTI, F.; YEUNG, K. K. C.; SCOTT, I. M. Insecticidal properties of pyrolysis bio-oil from greenhouse tomato residue biomass. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 112, p. 333–340, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaap.2015.01.003>>.
- CAMPISI, T.; SAMORÌ, C.; TORRI, C.; BARBERA, G.; FOSCHINI, A.; KIWAN, A.; GALLETI, P.; TAGLIAVINI, E.; PASTERIS, A. Chemical and ecotoxicological properties of three bio-oils from pyrolysis of biomasses. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 132, p. 87–93, 1 out. 2016.
- CARSON, R. **Primavera Silenciosa**. Pórtico, 1962.
- CASAS, E. D. Las; HAREIN, P. K.; POMEROY, B. S. Bacteria and Fungi within the Lesser Mealworm collected from Poultry Brooder Houses. **Environmental Entomology**, v. 1, n. 1, p. 27–30, 1972.
- CEPEA; CNA. Sumário executivo PIB do agronegócio. **ESALQ/USP**, 2023. Disponível em: <https://cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/C%C3%B3pia%20de%20PIB%20do%20Agroneg%C3%B3cio_Sum%C3%A1rio%20Executivo.pdf>. Acesso em: 28 out. 2023.
- CGEE. **Oportunidades e Desafios da Bioeconomia**, 2020. Disponível em: <http://www.cgee.org.br>. Acesso em: 28 out. 2023.
- CHERNAKI-LEFFER, A. M.; BIESDORF, S. M.; ALMEIDA, L. M.; LEFFER, E. V. B.; VIGNE, F. Isolamento de enterobactérias em *Alphitobius diaperinus* e na cama de aviários no oeste do estado do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 4, n. 3, p. 243–247, 2002.
- COLLINS, P. J.; FALK, M. G.; NAYAK, M. K.; EMERY, R. N.; HOLLOWAY, J. C. Monitoring resistance to phosphine in the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica*, in Australia: A national analysis of trends, storage types and geography in relation to resistance detections. **Journal of Stored Products Research**, v. 70, p. 25–36, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jspr.2016.10.006>>.

- CONAB. **ACOMPANHAMENTO DA SAFRA BRASILEIRA 2022/23**. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>. Acesso em: 28 out. 2023.
- CONTINI, E.; ARAGÃO, A. A.; NAVARRO, Z. **Trajectoria do Agro**. 2022. Disponível em: <https://www.embrapa.br/visao-de-futuro>.
- CRESPO RODRIGUES, L. C.; RODRIGUES, C. T. IMPACTOS DA POLÍTICA NACIONAL DE RESÍDUOS SÓLIDOS NA QUALIDADE DE VIDA: UMA AVALIAÇÃO NOS MUNICÍPIOS MINEIROS. **Revista Planejamento e Políticas Públicas**, n. 56, p. 105–132, 11 fev. 2021.
- CRIPPEN, T. L.; SHEFFIELD, C. L.; BEIER, R. C.; NISBET, D. J. The horizontal transfer of *Salmonella* between the lesser mealworm (*Alphitobius diaperinus*) and poultry manure. **Zoonoses and Public Health**, v. 65, n. 1, p. e23–e33, 2018.
- DE LIMA, G. G.; MENDES, C.; DE MARCHI, G.; VICARI, T.; CESTARI, M. M.; GOMES, M. F.; RAMSDORF, W. A.; MAGALHÃES, W. L. E.; HANSEL, F. A.; LEME, D. M. The evaluation of the potential ecotoxicity of pyrolytic acid obtained from fast pyrolysis. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 180, p. 616–623, 30 set. 2019.
- DELBECQ, F.; WANG, Y.; MURALIDHARA, A.; EL OUARDI, K. E.; MARLAIR, G.; LEN, C. Hydrolysis of hemicellulose and derivatives-a review of recent advances in the production of furfural **Frontiers in Chemistry**, 2018.
- DIEESE. Em 2022, preço da cesta básica aumenta em todas as 17 capitais pesquisadas. **Nota à imprensa, 8 jan. 2023**. Disponível em: <https://www.dieese.org.br/analisecestabasica/2022/202212cestabasica.pdf>. Acesso em: 26 out. 2023.
- DIETRICH, S.; PLOESSL, F.; BRACHER, F.; LAFORSCH, C. Single and combined toxicity of pharmaceuticals at environmentally relevant concentrations in *Daphnia magna* - A multigenerational study. **Chemosphere**, v. 79, n. 1, p. 60–66, 2010.
- EBERT, D. **Ecology, Epidemiology and Evolution of Parasitism in *Daphnia***. 2005.

- EDDE, P. A. A review of the biology and control of *Rhyzopertha dominica* (F .) the lesser grain borer. **Journal of Stored Products Research**, 2018.
- EMBRAPA. **Visão de Futuro do Agro Brasileiro**. 2022 Disponível em: <www.embrapa.br/visao-de-futuro>. Acesso em: 26 out. 2023.
- ENG, M. L.; STUTCHBURY, B. J. M.; MORRISSEY, C. A. Imidacloprid and chlorpyrifos insecticides impair migratory ability in a seed-eating songbird. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–9, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-15446-x>>.
- ETO, M. Organophosphorus Pesticides: Organic and Biological Chemistry. **CRC Press**, 2018. v. 3
- FAO. **OECD-FAO Agricultural Outlook 2022-2031**, 2022. Disponível em: <https://policycommons.net/artifacts/2652558/oecd-fao-agricultural-outlook-2022-2031/3675435/>. Acesso em: 26 out. 2023.
- FAO. **The State of Food Security and Nutrition in the World 2023**. [s.l.] FAO; IFAD; UNICEF; WFP; WHO, 2023. Disponível em: <https://policycommons.net/artifacts/4547143/the-state-of-food-security-and-nutrition-in-the-world-2023/5370666/> Acesso em: 26 out. 2023.
- FOLLY, E.; ROMEIRO, G. A.; VELOSO, M. C. D. C.; OLIVEIRA, P. C. O. DE; VENTURA, A.; MATTOS, C. **Processo para obtenção de uma composição bioinseticida, composição bioinseticida e usos da mesma**. BR 102019007434-5 A2. 2020.
- FOONG, S. Y.; CHAN, Y. H.; LOY, A. C. M.; HOW, B. S.; TAMOTHRAN, A. M.; YIP, A. J. K.; LIEW, R. K.; PENG, W.; ALSTRUP, A. K.; LAM, S. S.; SONNE, C. The nexus between biofuels and pesticides in agroforestry: Pathways toward United Nations sustainable development goals. **Environmental Research**, v. 214, 1 nov. 2022.
- FRANCIKOWSKI, J.; BARAN, B.; CUP, M.; JANIEC, J.; KRZYŻOWSKI, M. Commercially available essential oil formulas as repellents against the stored-product pest *Alphitobius diaperinus*. **Insects**, v. 10, n. 4, 2019.

- FUKUTO, T. R. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. **Environmental Health Perspectives**, v. 87, p. 245–254, 1990.
- GHS. **Globally harmonized system of classification and labelling of chemicals (GHS)**. 9. ed. New York and Geneva: United Nations, 2021. 550 p.
- GREWAL, A.; ABBEY, Lord; GUNUPURU, L. R. Production, prospects and potential application of pyroligneous acid in agriculture **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, 2018.
- HALES, N. R.; SCHIELD, D. R.; ANDREW, A. L.; CARD, D. C.; WALSH, M. R.; CASTOE, T. A. Contrasting gene expression programs correspond with predator-induced phenotypic plasticity within and across generations in *Daphnia*. **Molecular Ecology**, v. 26, n. 19, p. 5003–5015, 1 out. 2017.
- HASSEMER, M. J.; BORGES, M.; WITHALL, D. M.; PICKETT, J. A.; LAUMANN, R. A.; BIRKETT, M. A.; BLASSIOLI-MORAES, M. C. Development of pull and push–pull systems for management of lesser mealworm, in poultry houses using alarm and aggregation pheromones. **Pest Management Science**, v. 75, n. 4, p. 1107–1114, 2019.
- HASSEMER, M. J.; LOPES, R. B.; BORGES, M.; ALVES, L. F. A.; WITHALL, D. M.; PICKETT, J. A.; LAUMANN, R. A.; BIRKETT, M. A.; BLASSIOLI-MORAES, M. C. Development of an attract-and-infect device for biological control of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) in poultry houses. **Biological Control**, v. 149, n. March, p. 104326, 2020
- HOSSAIN, M. M.; SCOTT, I. M.; MCGARVEY, B. D.; CONN, K.; FERRANTE, L.; BERRUTI, F.; BRIENS, C. Toxicity of lignin, cellulose and hemicellulose-pyrolyzed bio-oil combinations: Estimating pesticide resources. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 99, p. 211–216, 2013.
- HUANG, Y.; LAM, S. L.; HO, S. H. Bioactivities of essential oil from *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. to *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). **Journal of Stored Products Research**. v. 36, p. 107–117, 2000.

- IBAMA. **Manual de Avaliação de Risco Ambiental de Agrotóxicos para Abelhas**. 2017, 1–107 p. Disponível em: <https://www.ibama.gov.br/phocadownload/agrotoxicos/reavaliacao-ambiental/2017/2017-07-25-Manual-IBAMA-ARA-Abelhas-IN0217-WEB.pdf> acesso em: 21 out. 2022.
- IBAMA. **Perfil Ambiental - Clorpirofós - CAS 2921-88-2**. [s.l: s.n.]. Disponível em: http://www.ibama.gov.br/phocadownload/agrotoxicos/perfis-ambientais/2019/Perfil%20Ambiental%20-%20Clorpirofos%20-%202002_10_2019.pdf. Acesso em: 21 out. 2022.
- IBN FERJANI, A.; JEGUIRIM, M.; JELLALI, S.; LIMOUSY, L.; COURSON, C.; AKROUT, H.; THEVENIN, N.; RUIDAVETS, L.; MULLER, A.; BENNICI, S. The use of exhausted grape marc to produce biofuels and biofertilizers: Effect of pyrolysis temperatures on biochars properties. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 107, p. 425–433, 1 jun. 2019.
- IQBAL, M.; ABBAS, M.; NISAR, J.; NAZIR, A.; QAMAR, A. Z. Bioassays based on higher plants as excellent dosimeters for ecotoxicity monitoring: A review. **Chemistry International**, v. 5, n. 1, p. 1–80, jan. 2019.
- ISHAAYA, I.; DEGHEELE, D. Applied Agriculture - Insecticides with Novel Modes of Action Mechanisms and Application. **Springer-Verlag**, v. 1, p. 1–304, 1998.
- JAPP, A. K.; BICHO, C. L.; SILVA, A. V. F. Importância e medidas de controle para *Alphitobius diaperinus* em aviários. **Ciência Rural**, v. 40, n. 7, p. 1668–1673, 2010.
- JUNIOR, A. R. P.; CERUTI, F.; WEBER, S. H. Monitoramento De Insetos Em Estrutura Armazenadora Através De Armadilha Com Atrativo Alimentar Localizada Fora Dos Silos. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 3, n. 1, p. 35, 2017.
- KAPANEN, A.; ITÄVAARA, M. Ecotoxicity tests for compost applications Ecotoxicology and Environmental Safety **Academic Press**, 2001.
- KAWASHIMA, L. M.; VALENTE SOARES, L. M. Incidência de fumonisina B 1, aflatoxinas B 1, B 2, G 1 e G 2, ocratoxina A e zearalenona em produtos de milho. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 516–521, 2006.

- KIARIE-MAKARA, M. W.; YOON, H.-S.; LEE, D.-K. Repellent efficacy of wood vinegar against *Culex pipiens pallens* and *Aedes togoi* (Diptera: Culicidae) under laboratory and semi-field conditions. **Entomological Research**, v. 40, n. 2, p. 97–103, 2010.
- KIM, S.; LEE, Y.; ANDREW LIN, K. Y.; HONG, E.; KWON, E. E.; LEE, J. The valorization of food waste via pyrolysis. **Journal of Cleaner Production**, 2020.
- KIM, Y.; JUNG, J.; OH, S.; CHOI, K. Aquatic toxicity of cartap and cypermethrin to different life stages of *Daphnia magna* and *Oryzias latipes*. **Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 43, n. 1, p. 56–64, jan. 2008.
- KOMATSU, R. K.; SANTOS, C. H. P. dos; SOUSA, J. C. de. Gestão de Resíduos: hábitos de descarte de resíduos derivados da produção agrícola das propriedades em assentamentos rurais. **Revista de psicologia**, v. 13, n. 44, p. 700–722, 2019.
- KUMAR, V.; SHAHI, S. K.; ROMANHOLO FERREIRA, L. F.; BILAL, M.; BISWAS, J. K.; BULGARIU, L. Detection and characterization of refractory organic and inorganic pollutants discharged in biomethanated distillery effluent and their phytotoxicity, cytotoxicity, and genotoxicity assessment using *Phaseolus aureus* L. and *Allium cepa* L. **Environmental Research**, v. 201, 1 out. 2021.
- LEHMANN, J.; DA SILVA, J. P.; STEINER, C.; NEHLS, T.; ZECH, W.; GLASER, B. Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and a Ferralsol of the Central Amazon basin: Fertilizer, manure and charcoal amendments. **Plant and Soil**, v. 249, n. 2, p. 343–357, fev. 2003.
- LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application Mutation Research. **Reviews in Mutation Research**, 2009.
- LI, Y.; SHEN, F.; GUO, H.; WANG, Z.; YANG, G.; WANG, L.; ZHANG, Y.; ZENG, Y.; DENG, S. Phytotoxicity assessment on corn stover biochar, derived from fast pyrolysis, based on seed germination, early growth, and potential plant

- cell damage. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 12, p. 9534–9543, 20 jun. 2015.
- LIU, H.; XU, Q.; ZHANG, L.; LIU, N. Chlorpyrifos Resistance in Mosquito *Culex quinquefasciatus*. **Journal of Medical Entomology**, v. 42, n. 5, p. 815–820, 2005.
- LIU, N.; XU, Q.; ZHU, F.; ZHANG, L. Pyrethroid resistance in mosquitoes. **Insect Science**, v. 13, n. 3, p. 159–166, 2006.
- LORINI, I. Perdas anuais em grãos armazenados chegam a 10% da produção nacional. **Revista Visão Agrícola**, n. 13, p. 127–129, jul. 2015.
- LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO J. B.; HENNING, A. A.; HENNING, F. A. **Manejo Integrado de Pragas de Grãos e Sementes Armazenadas**. 1–67 p. 2015.
- LORINI, I.; COLLINS, P. J.; DAGLISH, G. J.; NAYAK, K.; PAVIC, H. Detection and characterisation of strong resistance to phosphine in Brazilian *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae). **Pest Management Science**, v. 63, n. April, p. 809–814, 2007.
- LORINI, I.; GALLEY, D. J. Deltamethrin resistance in *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae), a pest of stored grain in Brazil. **Journal of Stored Products Research**, v. 35, n. 1, p. 37–45, 1999.
- LYONS, B. N.; CRIPPEN, T. L.; ZHENG, L.; TEEL, P. D.; SWIGER, S. L.; TOMBERLIN, J. K. Susceptibility of *Alphitobius diaperinus* in Texas to permethrin and β - cyfluthrin treated surfaces. **Pest Management Science**, n. li, p. 0–3, 2016.
- MAPA. **PORTARIA MAPA Nº 52, DE 15 DE MARÇO DE 2021**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sustentabilidade/organicos/arquivos-organicos/PORTARIA_MAPA_N_52.2021_ALTERADA_PELA_PORTARIA_MAPA_N_404.pdf>. Acesso em: 26 out. 2022.
- MATTOS, C.; ANDRADE, J.; OLIVEIRA, P. C. O.; VELOSO, M. C. C.; ROMEIRO, G. A.; FOLLY DAS CHAGAS, E. Fumigant activity of pyrolysis fractions derived from waste licuri's pericarp (*Syagrus coronata* -

Arecaceae) in the control the red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Environmental Challenges**, v. 5, 1 dez. 2021.

MATTOS, C.; ANDRADE, J.; SALARINI PEIXOTO, B.; TAVARES MORAES, N. L.; DA CUNHA VELOSO, M. C.; ALVES ROMEIRO, G.; FOLLY, E. das C. Acaricidal Properties of Bio-Oil Derived From Slow Pyrolysis of *Crambe abyssinica* Fruit Against the Cattle Tick *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Frontiers in Physiology**, v. 12, 2 dez. 2021.

MATTOS, C.; VELOSO, M. C. C.; ROMEIRO, G. A.; FOLLY, E. Biocidal applications trends of bio-oils from pyrolysis: Characterization of several conditions and biomass, a review. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 139, n. November 2018, p. 1–12, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jaap.2018.12.029>>.

MCALLISTER, J. C.; STEELMAN, C. D.; NEWBERRY, L. A.; SKEELES, J. K. Isolation of infectious bursal disease virus from the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer). **Poultry science**, v. 74, n. 1, p. 45–49, 1995.

NARAHASHI, T. The Mode of Action of Pyrethroids. **Journal of Pesticide Science**, v. 9, n. 2, p. 365–374, 1971.

NARAHASHI, T.; ZHAO, X.; IKEDA, T.; NAGATA, K.; YEH, J. Z. Differential actions of insecticides on target sites: Basis for selective toxicity. **Human and Experimental Toxicology**, v. 26, n. 4, p. 361–366, 2007.

NAYAK, M. K.; DAGLISH, G. J.; PHILLIPS, T. W.; EBERT, P. R. Resistance to the Fumigant Phosphine and Its Management in Insect Pests of Stored Products: A Global Perspective. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011019->>>.

OECD. **Guideline 202 for testing of chemicals Daphnia sp., Acute Immobilization Test**. Disponível em: <https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-202-daphnia-sp-acute-immobilisation-test_9789264069947-en>. Acesso em: 26 out. 2022.

- OECD-FAO. **OECD-FAO Agricultural Outlook 2022-2031**. 2022. 330 p.
<https://policycommons.net/artifacts/2652558/oecd-fao-agricultural-outlook-2022-2031/3675435/> Acesso em: 26 out. 2022.
- OGENDO, J. O.; KOSTYUKOVSKY, M.; RAVID, U.; MATASYOH, J. C.; DENG, A. L.; OMOLO, E. O.; KARIUKI, S. T.; SHAAYA, E. Bioactivity of *Ocimum gratissimum* L. oil and two of its constituents against five insect pests attacking stored food products. **Journal of Stored Products Research**, v. 44, n. 4, p. 328–334, 2008.
- OLIVEIRA, T. D. F. B. **Tipos de pisos e métodos de reutilização de camas de aviário no controle de *Alphitobius diaperinus* e desempenho zootécnico de frangos de corte**. 2012. UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA CENTRO, Lages, 2012.
- ORAMAHI, H. A.; YOSHIMURA, T. Antifungal and antitermitic activities of wood vinegar from *Vitex pubescens* Vahl. **Journal of Wood Science**, v. 59, n. 4, p. 344–350, 2013.
- PAIVA, D. P. de. **Circular técnica 18: Principais parasitos externos de aves**. Concórdia, SC: Embrapa Aves e Suínos, 1996. 22p p.
- PAPACHRISTOS, D. P.; STAMOPOULOS, D. C. Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) **Journal of Stored Products Research**, 2002
- PARK, S.-Y.; CHOI, J.-H. Geno- and Ecotoxicity Evaluation of Silver Nanoparticles in Freshwater Crustacean *Daphnia magna*. **Environmental Engineering Research**, v. 15, n. 1, p. 23–27, 31 mar. 2010.
- PEIXOTO, B. S.; MOTA, L. S. de O.; OLIVEIRA, P. C. O. de; VELOSO, M. C. da C.; ROMEIRO, G. A.; MORAES, M. C. de. Highly Functionalized Microporous Activated Biochar from *Syagrus coronata* Waste: Production, Characterization, and Application in Adsorption Studies. **Water (Switzerland)**, v. 14, n. 21, 1 nov. 2022.
- PILGÅRD, A.; TREU, A.; VAN ZEELAND, A. N. T.; GOSSELINK, R. J. A.; WESTIN, M. Toxic hazard and chemical analysis of leachates from

furfurylated wood. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 29, n. 9, p. 1918–1924, set. 2010.

PIMENTA, A. S.; BAYONA, J. M.; GARCÍA, M. T.; SOLANAS, A. M. Evaluation of acute toxicity and genotoxicity of liquid products from pyrolysis of *Eucalyptus grandis* wood. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 38, n. 2, p. 169–175, 2000.

PRABOWO, H.; MARTONO, E.; WITJAKSONO. Activity of Liquid Smoke of Tobacco Stem Waste as an Insecticide. **Perlindungan Tanaman Indonesia**, v. 20, n. 1, p. 22–27, 2016.

QUEIROZ, A. M. de; SILVA, D. M. da; VIEIRA, E. R.; CAMPOS, F. R.; CARVALHO, C. R. R.; JESUS, C. B.; MEYRELLES FILHO, S. F.; QUEIROZ, S. F. de. As transformações na avicultura de corte e a análise da ect pela ótica da agroindústria no sistema de integração em goiás. *Em: Open Science Research*. Editora Científica Digital, 2022. p. 2299–2315.

RAJA, N.; ALBERT, S.; IGNACIMUTHU, S.; DORN, S. Effect of plant volatile oils in protecting stored cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) infestation. **Journal of Stored Products Research**, v. 37, mar. 2001.

RAJKUMAR, V.; GUNASEKARAN, C.; CHRISTY, I. K.; DHARMARAJ, J.; CHINNARAJ, P.; PAUL, C. A. Toxicity, antifeedant and biochemical efficacy of *Mentha piperita* L. essential oil and their major constituents against stored grain pest. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 156, p. 138–144, 1 maio 2019.

RANK, J. The method of *Allium* anaphase - telophase chromosome aberration assay. **Ekologija**, v. 1, 2003.

RATHOD, A. L.; GARG, R. K. Chlorpyrifos poisoning and its implications in human fatal cases: A forensic perspective with reference to Indian scenario. **Journal of Forensic and Legal Medicine**, v. 47, p. 29–34, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jflm.2017.02.003>>.

ROMEIRO, G. A.; SALGADO, E. C.; SILVA, R. V. S.; FIGUEIREDO, M. K. K.; PINTO, P. A.; DAMASCENO, R. N. A study of pyrolysis oil from soluble coffee ground using low temperature conversion (LTC) process. **Journal of**

Analytical and Applied Pyrolysis, v. 93, p. 47–51, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaap.2011.09.006>>.

SALIN, C.; DELETTRE, Y. R.; CANNAVACCIUOLO, M.; VERNON, P. Spatial distribution of *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) in the soil of a poultry house along a breeding cycle. **European Journal of Soil Biology**, p. 205, 2000.

SANTORO, P. H.; NEVES, P. M. O. J.; CAVAGUCHI, S. A.; CONSTANSKI, K.; AMARO, J. T.; ALVES, L. F. A.; GOMES, B. B. Controle associado de *Alphitobius diaperinus* e efeito de microrganismos eficazes no desenvolvimento de *Beauveria bassiana*. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 1–8, 2008.

SCHAWALLER, W.; GRIMM, R. The genus *alphitobius stephens* (Coleoptera, Tenebrionidae, Alphitobiini) in Africa and adjacent Islands. **ZooKeys**, n. 415 SPEC. ISSUE, p. 169–190, 2014.

SCHMIDT, N. S.; DA SILVA, C. L. Pesquisa e desenvolvimento na cadeia produtiva de frangos de corte no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 56, n. 3, p. 467–482, 1 jul. 2018.

SCHOLLER, M.; PROZELL, S.; AL-KIRSHI, A.-G.; REICHMUTH', C. H. Towards Biological Control as a Major Component of Integrated Pest Management in Stored Product Protection **Journal of Stored Products Research**, 1997.

SCHROEDER, P.; PEREIRA, V. B.; VENTURA, A.; ANDRADE, J.; FIGUEIREDO, M. K. K.; DAS CHAGAS, E. F.; DE ALMEIDA AZEVEDO, D.; ROMEIRO, G. A.; DA SILVA, R. V. S. Chemical Evaluation via High-Resolution Techniques and Biopesticide Potential of Bio-Oil and Aqueous Phase from Slow Pyrolysis of Passion Fruit Seed Cake. **Waste and Biomass Valorization**, 2022.

SHERWOOD, J. The significance of biomass in a circular economy. **Bioresource Technology**, 2020.

SMITH, L. B.; KASAI, S.; SCOTT, J. G. Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: Important mosquito vectors of human diseases. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 133, p. 1–12, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pestbp.2016.03.005>>.

- SOLOMON, G. M.; MOODLEY, J. Acute chlorpyrifos poisoning in pregnancy: A case report. **Clinical Toxicology**, v. 45, n. 4, p. 416–419, 2007.
- SOUZA, J. L. S. de; GUIMARÃES, V. B. da S.; CAMPOS, A. D.; LUND, R. G. Antimicrobial potential of pyroligneous extracts – a systematic review and technological prospecting. **Brazilian Journal of Microbiology**, 2018.
- SPADOTTO, C.; RIBEIRO, W. **Gestão de Resíduos na Agricultura e Agroindústria**. EMBRAPA, 2006
- SRIVASTAVA, A. K.; SINGH, D. Assessment of malathion toxicity on cytophysiological activity, DNA damage and antioxidant enzymes in root of *Allium cepa* model. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 1 dez. 2020.
- SUN, D.; HALE, L.; KAR, G.; SOOLANAYAKANAHALLY, R.; ADL, S. Phosphorus recovery and reuse by pyrolysis: Applications for agriculture and environment. **Chemosphere**, 2018.
- TATARAZAKO, N.; ODA, S. The water flea *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera) as a test species for screening and evaluation of chemicals with endocrine disrupting effects on crustaceans. **Ecotoxicology**, 2007.
- TESHIKA, J. D.; ZAKARIYYAH, A. M.; ZAYNAB, T.; ZENGİN, G.; RENGASAMY, K. R. R.; PANDIAN, S. K.; FAWZI, M. M. Traditional and modern uses of onion bulb (*Allium cepa* L.): a systematic review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2019.
- TIILIKKALA, K.; FAGERNÄS, L.; TIILIKKALA, J. History and Use of Wood Pyrolysis Liquids as Biocide and Plant Protection Product. **The Open Agriculture Journal**. 2010
- TKACZYK, A.; BOWNIK, A.; DUDKA, J.; KOWAL, K.; ŚLASKA, B. *Daphnia magna* model in the toxicity assessment of pharmaceuticals: A review. **Science of the Total Environment**, 2021.
- TSENG, Y. L.; DAVIDSON, J. A.; MENZER, R. E. Morphology and Chemistry of the Odoriferous Gland of the Lesser Mealworm, (Coleoptera: Tenebrionidae). **ANNALS OF THE ENTOMOLOGICAL SOCIETY OF AMERICA**, p. 425–430, 1971.

- TUNDO, P.; ANASTAS, P.; BLACK, D. S. C.; BREEN, J.; COLLINS, T.; MEMOLI, S.; MIYAMOTO, J.; POLYAKOFF, M.; TUMAS, W. Synthetic pathways and processes in green chemistry. Introductory overview. **Pure and Applied Chemistry**, v. 72, n. 7, p. 1207–1228, 2000.
- URRUTIA, R. I.; GUTIERREZ, V. S.; STEFANAZZI, N.; VOLPE, M. A.; WERDIN GONZÁLEZ, J. O. Pyrolysis liquids from lignocellulosic biomass as a potential tool for insect pest management: A comprehensive review. **Industrial Crops and Products**, 2022.
- URRUTIA, R. I.; JESSER, E. N.; GUTIERREZ, V. S.; RODRIGUEZ, S.; GUMILAR, F.; MURRAY, A. P.; VOLPE, M. A.; WERDIN-GONZÁLEZ, J. O. From waste to food and bioinsecticides: An innovative system integrating *Tenebrio molitor* bioconversion and pyrolysis bio-oil production. **Chemosphere**, v. 340, 1 nov. 2023.
- URRUTIA, R. I.; YEGUERMAN, C.; JESSER, E.; GUTIERREZ, V. S.; VOLPE, M. A.; WERDIN GONZÁLEZ, J. O. Sunflower seed hulls waste as a novel source of insecticidal product: Pyrolysis bio-oil bioactivity on insect pests of stored grains and products. **Journal of Cleaner Production**, v. 287, 2021.
- VAN VALEN, L. **A NEW EVOLINIONANY LAW**, 1979.
- VAUGHAN, J. A.; TURNER, E. C.; RUSZLER, P. L. Infestation and Damage of Poultry House Insulation by the Lesser Mealworm, (Panzer). **Poultry Science**, v. 63, n. 6, p. 1094–1100, 1984.
- VENTURA, S. P. M.; DE MORAIS, P.; COELHO, J. A. S.; SINTRA, T.; COUTINHO, J. A. P.; AFONSO, C. A. M. Evaluating the toxicity of biomass derived platform chemicals. **Green Chemistry**, v. 18, n. 17, p. 4733–4742, 2016.
- WAKIL, W.; KAVALLIERATOS, N. G.; USMAN, M.; GULZAR, S.; EL-SHAFIE, H. A. F. Detection of Phosphine Resistance in Field Populations of Four Key Stored-Grain Insect Pests in Pakistan. **Insects**, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/insects12040288>>.
- WANG, X.; LI, Q.; SHEN, L.; YANG, J.; CHENG, H.; JIANG, S.; JIANG, C.; WANG, H. Fumigant, contact, and repellent activities of essential oils

against the darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*. **Journal of Insect Science**, 2014.

WAQUIL, J. M. Manejo integrado de pragas: revisão histórica e perspectivas A Descoberta da Agricultura. **EMBRAPA**, 2002.

WARDHAUGH, K. G. Veterinary medicines insecticidal activity of synthetic pyrethroids, organophosphates, insect growth regulators, and other livestock parasiticides: an australian perspective. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 2005

WILSON, T. H.; MINER, F. D. Influence of Temperature on Development of the Lesser Mealworm, (Coleoptera: Tenebrionidae). v. 42, n. 3, p. 294–303, 1969. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/25083799>>.

WORLD BANK. Handbook of Deep Trade Agreements. **World Bank Publications**, 2020

ANEXO I – Resíduos de biomassas utilizados durante a prospecção no mestrado

Biomassa	Nº de frações líquidas
AM	<i>1 aquosa</i>
AMP.1	<i>2 aquosas</i>
AMP.25-1	<i>4 aquosas / 1 oleosa</i>
BLENDED	<i>1 aquosa</i>
CA	<i>1 aquosa</i>
CAB.14.2	<i>5 aquosas</i>
CS	<i>1 aquosa</i>
CEA	<i>1 aquosa</i>
SCR	<i>4 aquosas / 1 oleosa</i>
MRO	<i>1 oleosa</i>
OGRAP	<i>1 oleosa</i>
PMO	<i>1 oleosa</i>
PLI.12-1	<i>5 aquosas / 1 oleosa</i>
PLI.10-4	<i>5 aquosas</i>
SAL.18	<i>6 aquosas</i>
SAL/SOL.17-11	<i>7 aquosas</i>
TMO	<i>1 oleosa</i>

ANEXO II – Primeira patente verde da UFF



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DA ECONOMIA
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

CARTA PATENTE Nº BR 102019007434-5

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.



(21) Número do Depósito: BR 102019007434-5
(22) Data do Depósito: 11/04/2019
(43) Data da Publicação Nacional: 23/06/2020
(51) Classificação Internacional: A01N 65/40.
(52) Classificação CPC: A01N 65/40.
(54) Título: PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE UMA COMPOSIÇÃO BIOINSETICIDA, COMPOSIÇÃO BIOINSETICIDA E USOS DA MESMA
(73) Titular: UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE, Instituição de Ensino e Pesquisa. CGC/CPF: 28523215000106. Endereço: RUA MIGUEL DE FRIAS, 9/30 ANDAR - ICARAÍ, Niterói, RJ, BRASIL(BR), 24220-900, Brasileira
(72) Inventor: EVELIZE FOLLY DAS CHAGAS; GILBERTO ALVES ROMEIRO; MÁRCIA CRISTINA DA CUNHA VELOSO; : PAMELLA CHRISTINA ORTEGA DE OLIVEIRA; ALEXANDER FERREIRA VENTURA DE SOUZA; CAMILA MATTOS DE OLIVEIRA.
Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 11/04/2019, observadas as condições legais
Expedida em: 30/03/2021

Assinado digitalmente por:
Liane Elizabeth Caldeira Lage
Diretora de Patentes, Programas de Computador e Topografias de Circuitos Integrados



ANEXO III – Artigo publicado

Waste and Biomass Valorization
https://doi.org/10.1007/s12649-022-01980-x

ORIGINAL PAPER



Chemical Evaluation via High-Resolution Techniques and Biopesticide Potential of Bio-Oil and Aqueous Phase from Slow Pyrolysis of Passion Fruit Seed Cake

Priscila Schroeder¹ · Vinicius Barreto Pereira² · Alexander Ventura^{3,4} · Juliana Andrade^{3,4} · Monique Kort-Kamp Figueiredo⁶ · Evelize Folly das Chagas^{3,4,5} · Debora de Almeida Azevedo² · Gilberto Alves Romeiro¹ · Raquel Vieira Santana da Silva²

Received: 26 July 2022 / Accepted: 7 November 2022
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. 2022

Abstract

This work showcases the valorization of passion fruit seed cake by slow pyrolysis, the individual molecular chemical characterization of organic compounds in the liquid bioproducts via high-resolution analytical techniques, and the evaluation of the bio-oil as a potential biopesticide. Slow pyrolysis was used for the first time to valorize the passion fruit seed cake (PFSC) (*Passiflora Edulis*) residue, obtaining bio-oil, aqueous phase, biochar, and gas. Two working temperatures were selected, 300 °C and 400 °C, to investigate the final composition of the liquid products separated by density difference: bio-oil (BO300 and BO400) and aqueous phase (AP300 and AP400). The bio-oils were obtained with an average yield of 15.6% BO300 and 13.8% BO400, whereas the aqueous phases were obtained with a higher average yield than the bio-oils, being 27.9% AP300 and 29.2% AP400. Thus, the total liquid bioproducts yield for both pyrolysis processes was about 43%. The composition of the liquid products had little variation as a function of temperature. PFSC bio-oil is qualitatively composed mainly of phenolic compounds, nitrogen derivatives, and nonpolar compounds such as aliphatic and aromatic hydrocarbons, while the aqueous phase has a higher proportion of nitrogenous compounds in its composition and a very polar characteristic, suggested as potential biopesticides. In the evaluation of toxicity by fumigation used in this work, the aqueous phases showed no bioinsecticidal activity against *Sitophilus zeamais* and *Rhyzopertha dominica*. BO300 was moderately toxic against the species *S. zeamais* and mortality was above 92% for the species *R. dominica*. BO400, on the other hand, showed high toxicity for both species evaluated with mortality from 90 to 100% after 96 h. The results showed that despite the high concentration of phenols in bio-oils, the presence of these lignin derivatives alone is not enough to justify the biological activity. Thus, other compounds present in bio-oil such as nitrogen derivatives and aromatic hydrocarbons may be contributing to an increase the bio-pesticide effect of bio-oils, and even the synergistic effect between all the substances present.

✉ Raquel Vieira Santana da Silva
raquelvieira@iq.ufrj.br

¹ Institute of Chemistry, Fluminense Federal University, Niterói, RJ 24210-150, Brazil

² Institute of Chemistry, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ 21941-598, Brazil

³ Department of Cellular and Molecular Biology, Laboratory of Pest and Parasite Studies, Institute of Biology, Fluminense Federal University, Niterói, RJ 24210-20124210-201, Brazil

⁴ Postgraduate Program in Science and Biotechnology, Fluminense Federal University, Niterói, RJ 24210-201, Brazil

⁵ Molecular Entomology, National Institute of Sciences and Technology, Rio de Janeiro 21941-902, Brazil

⁶ Federal Institute of Education Science and Technology, Duque de Caxias, RJ 26530-060, Brazil

Published online: 24 November 2022

Springer