



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 10 2012 033149-7 A2

(22) Data de Depósito: 26/12/2012
(43) Data da Publicação: 05/08/2014
(RPI 2274)



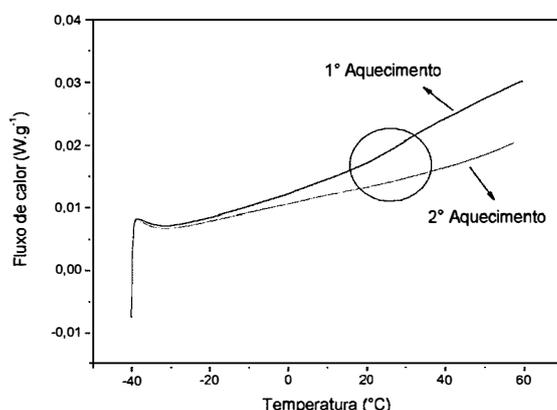
(51) Int.Cl.:
C05G 3/04

(54) Título: PROCESSO DE OBTENÇÃO DE FORMULAÇÃO COM CAPACIDADE FERTILIZANTE E FITOPROTETORA, FORMULAÇÃO COM CAPACIDADE FERTILIZANTE E FITOPROTETORA, USO DE FORMULAÇÃO COM CAPACIDADE FERTILIZANTE E FITOPROTETORA

(73) Titular(es): Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

(72) Inventor(es): ANGELA DINIZ CAMPOS, BERNARDO UENO, CÉSAR BAUER GOMES, FABIANE GRECCO DA SILVA PORTO, IRAJÁ FERREIRA ANTUNES, IRENE TERESINHA SANTOS GARCIA, JOSÉ FRANCISCO MARTINS PEREIRA, LUIS ANTÔNIO SUITA DE CASTRO, WALKYRIA BUENO SCIVITTARO

(57) Resumo: PROCESSO DE OBTENÇÃO DE FORMULAÇÃO COM CAPACIDADE FERTILIZANTE E FITOPROTETORA, FORMULAÇÃO COM CAPACIDADE FERTILIZANTE E FITOPROTETORA, USO DE FORMULAÇÃO COM CAPACIDADE FERTILIZANTE E FITOPROTETORA A presente invenção se enquadra no contexto da química verde e se refere genericamente a uma formulação fertilizante e fitoprotetora e, em uma modalidade particular, a uma formulação formadora de filmes e indutora da resistência de plantas. A respectiva formulação, quando aplicada em plantas e/ou frutos resulta na formação de filme na superfície do material, o qual possui a característica de fotoproteção contra as radiações UV-B e UV-C, resistência mantida na água mesmo após alta higroscopicidade, maior estabilidade sob temperaturas ambientais elevadas, formação de porosidade desejada e homogeneidade de superfície.



Relatório Descritivo de Patente de Invenção: **“PROCESSO DE OBTENÇÃO DE FORMULAÇÃO COM CAPACIDADE FERTILIZANTE E FITOPROTETORA, FORMULAÇÃO COM CAPACIDADE FERTILIZANTE E FITOPROTETORA, USO DE FORMULAÇÃO COM CAPACIDADE FERTILIZANTE E FITOPROTETORA”**.

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção se enquadra no contexto da química verde e se refere genericamente a uma formulação fertilizante e fitoprotetora e, em uma modalidade particular, a uma formulação formadora de filmes e indutora da resistência de plantas.

10 DESCRIÇÃO DO ESTADO DA TÉCNICA

Dentro do conceito de sustentabilidade, a química ambiental e/ou química verde tem avançado no sentido de introduzir processos e produtos para a substituição de tecnologias poluidoras. A utilização de matérias-primas de origem vegetal e/ou subprodutos resultantes do processamento dessas matérias-primas e a sua incorporação em processos/produtos ecologicamente corretos tem se mostrado uma tendência mundial principalmente em países que apresentam grande disponibilidade de biomassa.

Em todo o mundo, a produção de carvão a partir da queima da madeira é vista como uma atividade insalubre e altamente poluente principalmente pelo lançamento de substâncias tóxicas no meio ambiente. Neste contexto, a redução deste lançamento bem como a utilização dos subprodutos do processo na agricultura é visto como uma solução ambientalmente correta e economicamente viável para o setor.

Durante o processo de carbonização da madeira o carvão é apenas uma fração dos produtos que podem ser obtidos. Caso sejam utilizados sistemas apropriados para a coleta, aproveitam-se os condensados pirolenhosos (fração pirolenhosa ou líquido pirolenhoso) e os gases não condensáveis. A prática mais completa e eficiente é o aproveitamento do carvão vegetal, dos condensados e também dos gases incondensáveis da madeira, pelo processo de “destilação seca”. A fase líquida mais conhecida e que poderá ser utilizada na agricultura é o líquido pirolenhoso, denominado de extrato pirolenhoso, ácido pirolenhoso, vinagre de madeira, licor pirolenhoso, fumaça líquida ou bioóleo. A carbonização da madeira é a principal fonte desta substância. Atualmente, os principais países produtores de

extrato pirolenhoso são o Japão, China, Indonésia, Malásia, Brasil e Chile, incluindo outros no Sudeste Asiático e na América do Sul. A fabricação e utilização do extrato pirolenhoso é muito antiga. Na China existem relatos de sua utilização há milênios atrás e na Índia é muito utilizado no tratamento de doenças.

5 Para produzir o extrato pirolenhoso, é necessário condensar os vapores contidos na fumaça, obtendo-se assim um licor composto basicamente por alcatrão, ácido pirolenhoso e óleos vegetais, que podem ser separados por meio da decantação ou através de um processo de destilação. O ácido pirolenhoso ou extrato pirolenhoso puro ao mesmo tempo impulsiona os aspectos positivos e inibe os negativos na produção agrícola. Os gases
10 emanados dos fornos são canalizados e, após a formação do licor, há a decantação em tonéis. O extrato pirolenhoso obtido funciona tanto como controlador de pragas quanto como adubo orgânico. Outra vantagem do produto é que, por apresentar pH baixo, atua como catalisador dos defensivos químicos ácidos quando misturado a eles, podendo reduzir o volume desses produtos sem prejuízo na eficiência.

15 Após sua extração, o extrato pirolenhoso geralmente é mantido em repouso por 3 a 6 meses até que suas reações cessem e seus componentes sejam estabilizados. A eliminação do alcatrão e outras impurezas do extrato pirolenhoso deve ser realizada deixando o líquido em repouso por até 6 meses para que ocorra a decantação das impurezas, Após este período o líquido se separará em 3 camadas distintas. Na primeira
20 camada há o predomínio de óleos vegetais, na segunda há o predomínio de extrato pirolenhoso e na terceira há o predomínio de alcatrão. Após a separação por decantação o extrato obtido é denominado extrato pirolenhoso bruto (EPB) e poderá, de acordo com a aplicação necessária, ser filtrado ou destilado.

25 Diversas formulações compreendendo EPB são descritas na literatura com sua utilização direcionada principalmente como fertilizante agrícola e ativador da resistência de plantas. Entre estas formulações pode ser citada aquela descrita pelo documento JP 6056617 que descreve uma composição aplicada no solo, peixes e plantas e que promove a melhora na atividade imunológica, melhora na função fisiológica e possui ação antimicrobiana. A respectiva formulação compreende extrato pirolenhoso destilado (800L),
30 misturado com solução aquosa contendo dextrina, quitina, quitosana (3kg-8kg), um componente solúvel de alho, 300 ppm de solução aquosa de germânio orgânico e 3%-8% de solução aquosa de ácido acético. O documento JP 6287104 descreve um ativador

vegetal compreendendo vinagre de madeira pré-tratado e quitosana. O pré-tratamento do vinagre de madeira consiste na sua mistura com 1,5 a 3,0 equivalentes de HSO_3^{-1} ou hidrazinas para inativar 1 equivalente de aldeídos. O vinagre de madeira assim tratado é então misturado com quitosana na razão de 98,5-30% : 5 -1,5% (% m). O documento KR 20080074258 apresenta uma composição antimicrobiana compreendendo nanopartícula de prata, quitosana e licor pirolenhoso. Mais especificamente, a composição compreende 1,0-5,0% de solução de quitosana, 1,0% - 2,0% de licor pirolenhoso e 1000 ppm-5000 ppm de prata. O documento JP 6197630 descreve um método de cultivo de cogumelos compreendendo a adição de um agente de crescimento de plantas contendo solução de quitosana diluída e vinagre de madeira diluído em água. O referido método controla a ocorrência de microrganismos diversos, promove o crescimento de cogumelos, melhora a colheita, reduz o período de cultivo e resulta em cogumelos de alta qualidade.

Como pode ser observado através da análise dos documentos anteriormente citados, formulações compreendendo extrato pirolenhoso para aplicação agrícola possuem como um dos componentes, a quitosana que, normalmente, atua possibilitando a formação de filmes sobre a material agrícola tratado. O emprego de quitosana também é descrito com esta mesma função em vários outros documentos tais como JP 2003342111, KR 979931 e KR 20110094370. Embora largamente difundido, tais formulações de aplicação agrícola compreendendo quitosana e extrato pirolenhoso apresentam, após a aplicação, características limitantes tais como baixa estabilidade do filme, irregularidade do mesmo e estrutura fibrosa bastante heterogênea do material. Estas características se traduzem em filmes de baixa resistência, menor durabilidade e formulações de pouca aplicabilidade no campo.

Dentro deste contexto, a presente invenção apresenta um processo de obtenção de uma formulação bem como uma formulação com característica fitoprotetora e fertilizante e que representa uma alternativa viável de composição para aplicação em plantas e frutos. A respectiva formulação possui o diferencial de manter suas características após aplicação através da formação de um filme estável, com maior durabilidade, resistência térmica, e melhor resistência quando da absorção de água sendo ideal para aplicação em campo. Estas características são alcançadas através do emprego de combinação de componentes específicos em concentrações pré-determinadas e que garantem as características aqui citadas. Entre as características da formulação da invenção e, conseqüentemente, do

produto formado após aplicação em plantas e frutos podem-se citar a indução da resistência sistêmica, a ação fungitóxica e nematicida comprovada, a formação de filme na superfície da planta após a pulverização, a fotoproteção contra as radiações UV-B e UV-C, a resistência do filme mantida na água mesmo após absorção, a maior estabilidade do filme sob temperaturas ambientais elevadas, a formação de porosidade desejada e homogeneidade de superfície fotoprotetora.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção apresenta um processo de obtenção de formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora compreendendo, tal processo, as seguintes etapas:

- 10 A) Obtenção de extrato pirolenhoso destilado (EPD),
- B) Obtenção de composição compreendendo EPD e quitosana,
- C) Obtenção de solução mineral fertilizante,
- D) Mistura da composição obtida na etapa B com a solução obtida na etapa C.

A invenção se refere, também, a uma formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora compreendendo, tal formulação, extrato pirolenhoso destilado (EPD), quitosana e minerais.

A invenção se refere, ainda, ao uso de formulação com capacidade fertilizante e protetora da invenção na aplicação em plantas, partes de plantas, inclusive frutos.

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

20 Figura 1 - Termogramas obtidos através de calorimetria diferencial exploratória da quitosana em ácido pirolenhoso destilado, com taxa de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

Figura 2 - A) Transmitância em função do comprimento de onda de filmes de quitosana/ácido pirolenhoso destilado com espessura de $50\text{ }\mu\text{m}$; B) Absortividade molar de filmes de quitosana/ácido pirolenhoso destilado em função do comprimento de onda.

25 Figura 3 - Espectro de difração de raios X do filme de quitosana/ácido pirolenhoso destilado, $\lambda=0,1542\text{ }\eta\text{m}$.

Figura 4 - Perfil de análise termogravimétrica, e primeira derivada, dos filmes de quitosana/ácido pirolenhoso destilado.

30 Figura 5 - Variação de massa relativa dos filmes de quitosana/ácido pirolenhoso destilado, após diferentes tempos de imersão em água destilada a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Figura 6 - Micrografia eletrônica do filme de quitosana/ácido pirolenhoso destilado, após a pulverização em uma superfície lisa em temperatura de 18 °C a 25 °C.

Figura 7 - Micrografia eletrônica do filme de quitosana/ácido pirolenhoso destilado, após a pulverização em uma superfície lisa em temperatura de 18 °C a 25 °C.

5

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS DO ANEXO 1

Figura 1 – Vista parcial dos experimentos para avaliação da eficiência dos formulados em reduzir a incidência de antracnose no feijoeiro, (A) plantas em câmara úmida após a inoculação de esporos de *Colletotrichum lindemuthianum*, (B) plantas antes da inoculação do fungo.

10 Figura 2 – Avaliação do efeito do fitoprotetor filme de quitosana/ácido pirolenhoso (F1), quitosana/ácido pirolenhoso/minerais (F2) após a pulverização, para avaliação de vigor e desenvolvimento em feijão (C) e batata (D).

15 Figura 3 - Pimenteiras cv. Mitla híbrida inoculadas com nematoide e tratadas com os formulados extrato pirolenhoso/quitosana (T3) e extrato pirolenhoso/quitosana/minerais (T4), testemunha positiva (T1), testemunha com nematoide (T2), mostrando a presença das necroses nas folhas.

20 Figura 4 - Diferença no vigor de Pimenteiras cv. Mitla híbrida inoculadas com nematoide e tratadas com os formulados extrato pirolenhoso/quitosana (T3) e extrato pirolenhoso/quitosana/minerais (T4), testemunha positiva (T1), testemunha com nematoide (T2).

Figura 5- Inibição do crescimento micelial do isolado 5.7 *Colletotrichum gloeosporioides* provocado pelo formulado fertilizante fitoprotetor ácido pirolenhoso/quitosana, referência na foto para 1,1% e 2,3%, (2) o fungicida padrão utilizado para controle do fungo, (3) testemunha e fungicida padrão diluído 10x.

25 Figura 6 - Inibição do crescimento micelial do isolado 02/08 de *Monilinia fruticola* pelo formulado fitoprotetor ácido pirolenhoso/quitosana, referência na foto para 1,1% e 2,3% (1) e (2) o fungicida padrão utilizado para controle do fungo, (3) testemunha e fungicida padrão diluído 10x.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A presente invenção se refere a um processo de obtenção de uma formulação bem como a uma formulação com característica fitoprotetora e fertilizante e que representa uma alternativa viável de composição para aplicação em plantas e frutos mantendo, tal formulação, suas características através da formação de um filme estável, com maior durabilidade, resistência térmica e manutenção das características quando da absorção de água sendo ideal para aplicação em campo.

A referida invenção utiliza um subproduto do processo de obtenção de carvão a partir da queima da madeira para, após tratamento específico, utilizá-lo em combinação com quitosana e minerais específicos obtendo-se uma formulação que, após aplicação em plantas, possui características desejáveis e até então não atingidas plenamente por produtos similares tais como indução da resistência sistêmica, ação fungitóxica e nematicida comprovada, formação de filme na superfície da planta após a pulverização, fotoproteção contra as radiações UV-B e UV-C, resistência do filme mantida na água mesmo após alta absorção, maior estabilidade do filme sob temperatura ambiental elevada, formação de porosidade desejada e homogeneidade de superfície fotoprotetora.

Após a aplicação em plantas e frutos, o filme formado bloqueia eficientemente a radiação na região do UV-B e UV-C. A elevada absorvidade molar decresce com o aumento do comprimento de onda. A formulação é termicamente estável até 60 °C e o filme resultante perde uma pequena quantidade de água sob aquecimento, mas é termicamente estável em uma ampla faixa de temperatura, sofrendo decomposição somente a 300 °C. O filme apresenta estrutura semicristalina que lhe confere flexibilidade e porosidade, características desejáveis nos processos de penetração de água e trocas gasosas.

O filme mantém sua integridade sob imersão em água por até 7 dias e apresenta excelente higroscopicidade, podendo absorver água até 300% de sua massa com pouca perda das características iniciais, o que permite seu uso como coberturas para plantas em condições ambientais.

A invenção se refere a um processo de obtenção de uma formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora. A invenção também trata da formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora. A respectiva formulação promove a formação de filme capaz de revestir a superfície onde é aplicado, planta ou fruto. O filme produzido a partir desta formulação mantém a estabilidade em água até por uma semana, bloqueia

eficientemente a radiação UV-B e UV-C, é termicamente estável até 60 °C e possui estrutura semicristalina, o que lhe confere a flexibilidade e porosidade, que são características desejáveis nos processos de penetração de água e trocas gasosas realizado pelas plantas. A formulação da presente invenção apresenta ação fungitóxica *in vitro* para 5 *Monilinia fructicola* e *Colletotrichum*, e ação nematicida sobre juvenis de segundo estágio de *M. granicola* e *M. javanica*, com mortalidade *in vitro*. A formulação também estimula as enzimas relacionadas aos mecanismos de defesa e estresse ambiental das plantas (peroxidase (PO), fenilalaninaamônia-liase ((FAL), β 1,3 glucanase (β 1,3)). A referida formulação inibe parcialmente o processo de senescência natural da fruta proveniente de 10 plantas tratadas com promoção da cicatrização total ou parcial de ferimentos. Atua, ainda, desacelerando o processo de hidrólise da pectina em maçãs armazenadas, mantendo os teores de pectina por maior período de tempo, e a suculência natural em maçãs, conferindo maior qualidade às frutas em aplicações pré-colheita.

O processo de obtenção da formulação com capacidade fertilizante fitoprotetora da 15 presente invenção compreende as seguintes etapas:

- A) Obtenção de extrato pirolenhoso destilado (EPD),
- B) Obtenção de composição compreendendo EPD e quitosana,
- C) Obtenção de solução mineral fertilizante,
- D) Mistura da composição obtida na etapa B com a solução obtida na etapa C.

20 Na presente invenção, o extrato pirolenhoso destilado (EPD) é obtido a partir do extrato pirolenhoso bruto (EPB). Entende-se como extrato pirolenhoso bruto, a fase líquida obtida quando da condensação da fumaça durante a queima da madeira para a produção de carvão. O EPB também é denominado como líquido pirolenhoso ou ácido pirolenhoso ou vinagre de madeira ou licor pirolenhoso ou fumaça líquida ou bioóleo. No caso do EPB da 25 presente invenção, este deve ser produzido utilizando parâmetros de controle que permitam a obtenção de um produto com a menor quantidade de alcatrão possível. A presença de alcatrão no EPB o torna tóxico e inviável para a utilização na agricultura. No caso da presente invenção, o EPB é obtido de acordo as orientações de obtenção descritas em Campos, A.D. (Técnicas de produção de extrato pirolenhoso para uso agrícola. Embrapa 30 Clima Temperado, Circular Técnica nº65, 2007. ISSN 1981-5999). Como parte do seu processo de obtenção / separação, o EPB é mantido em repouso por 3 a 6 meses e separado por decantação dos demais componentes resultantes da condensação da fumaça.

Alternativamente, após sua separação dos demais componentes resultantes da condensação da fumaça, o EPB obtido pode, ainda, ser submetido a um processo de filtração com o intuito de eliminar impurezas restantes. Na presente invenção, o EPD é obtido a partir da destilação à vácuo do EPB. Mais especificamente, o EPD é obtido a partir da destilação à vácuo à temperatura mínima e máxima de 60 °C e 75 °C respectivamente.

A etapa B do processo de obtenção de formulação fertilizante fitoprotetora da presente invenção compreende a obtenção de composição precursora contendo EPD e quitosana. Para a obtenção da respectiva composição precursora, quitosana é misturada com o EPD. Preferencialmente, para sua utilização na presente invenção, a quitosana deve possuir um grau de desacetilação mínimo de 97%. Ainda preferencialmente, a concentração de quitosana em EPD na composição obtida na etapa B da invenção deve variar de 0,05 g/L a 30 g/L resultando em uma condutividade da composição da composição obtida em B que deve variar de 1038 $\mu\text{S cm}^{-1}$ a 4970 $\mu\text{S cm}^{-1}$. Em uma concretização preferencial, a concentração de quitosana em EPD na composição obtida da etapa B do processo é de 10 g/L resultando em uma condutividade de 1938 $\mu\text{S cm}^{-1}$ a 2190 $\mu\text{S cm}^{-1}$.

A obtenção de solução mineral fertilizante descrita na etapa C do processo de obtenção de formulação fertilizante e fitoprotetora da presente invenção é realizada através da adição de minerais à água. Diversos minerais com capacidade fertilizante podem ser utilizados na obtenção da solução mineral (etapa C) da presente invenção. Preferencialmente, os minerais são selecionados dentre silício e/ou boro e/ou molibdênio e/ou manganês e/ou zinco e/ou cálcio e/ou cobre. Ainda preferencialmente, as concentrações dos respectivos minerais utilizados são: silício: 0,07 g/L a 0,50 g/L; boro: 0,04 g/L a 0,08 g/L; molibdênio: 0,02 g/L a 0,09 g/L; manganês: 0,04 g/L a 0,13 g/L; zinco: 0,02 g/L a 0,10 g/L; cálcio: 0,03 g/L a 0,30 g/L; cobre: 0,065 g/L a 0,2 g/L.

A etapa D do processo de obtenção da formulação fertilizante e fitoprotetora da presente invenção compreende a mistura da composição obtida na etapa B com a solução obtida na etapa C do processo. Preferencialmente, a relação de mistura entre as soluções B:C varia de 0,05:99,95 a 30:70. A mistura das soluções B e C nas proporções descritas anteriormente resulta, então, na formulação fertilizante e fitoprotetora da invenção.

A presente invenção também se refere a uma formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora compreendendo, tal formulação, EPD, quitosana e minerais. Mais especificamente, a invenção se refere a uma formulação fertilizante e fitoprotetora compreendendo EPD, quitosana e minerais onde, preferencialmente, a concentração de

5 quitosana na formulação varia de $2,5 \times 10^{-5}$ g/L a 9 g/L. Diversos minerais com função fertilizante podem estar presentes na formulação da invenção. Preferencialmente, os minerais presentes na formulação fertilizante e fitoprotetora da invenção são selecionados dentre silício e/ou boro e/ou molibdênio e/ou manganês e/ou zinco e/ou cálcio e/ou cobre os quais, quando presentes, apresentam as seguintes concentrações: silício: 0,049 g/L a 0,5

10 g/L; boro: 0,028 g/L a 0,08 g/L; molibdênio: 0,014 g/L a 0,09 g/L; manganês: 0,028 g/L a 0,13 g/L; zinco: 0,014 g/L a 0,1 g/L; cálcio: 0,021 g/L a 0,3 g/L; cobre: 0,046 g/L a 0,2 g/L. A presente invenção se refere, ainda, a uma formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora compreendendo extrato pirolenhoso destilado (EPD), quitosana e minerais e sendo obtida de acordo com o processo de obtenção de formulação descrito neste

15 documento. Mais especificamente, a invenção se refere a uma formulação fertilizante e fitoprotetora compreendendo EPD, quitosana e minerais obtida de acordo com processo descrito neste documento onde, preferencialmente, a concentração de quitosana na formulação varia de $2,5 \times 10^{-5}$ g/L a 9 g/L. Diversos minerais com função fertilizante podem estar presentes na formulação obtida de acordo com o processo descrito neste

20 documento. Preferencialmente, os minerais presentes na formulação são selecionados dentre silício e/ou boro e/ou molibdênio e/ou manganês e/ou zinco e/ou cálcio e ou cobre os quais, quando presentes, apresentam as seguintes concentrações: silício: 0,049 g/L a 0,5 g/L; boro: 0,028 g/L a 0,08 g/L; molibdênio: 0,014 g/L a 0,09 g/L; manganês: 0,028 g/L a 0,13 g/L; zinco: 0,014 g/L a 0,1 g/L; cálcio: 0,021 g/L a 0,3 g/L; cobre: 0,046 g/L a 0,2 g/L.

25 A presente invenção se refere, ainda, ao uso de formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora descrita anteriormente para aplicação em plantas, partes de plantas, inclusive frutos. Mais especificamente, a invenção se refere à utilização da respectiva formulação descrita na invenção para a obtenção de um filme sobre plantas e/ou frutos que possui característica fitoprotetora e fertilizante.

Resultados Experimentais:

Caracterização físico-química da composição obtida na etapa B do processo de obtenção de formulação fertilizante e fitoprotetora

As composições de quitosana em ácido pirolenhoso destilado foram caracterizadas quanto à presença de eletrólitos em solução através de medidas de pH e condutividade que foram realizadas em equipamentos Digimed, modelos DM-20 e DM-31, respectivamente. A condutividade e o pH das soluções de quitosana em ácido pirolenhoso destilado, em diferentes concentrações são mostradas na Tabela 1. A determinação da condutividade é importante para caracterização da presença de eletrólitos em solução, uma vez que tem influência direta na formação do gel e no raio de hidratação do polímero. O pH é importante, uma vez que estudos sugerem que a quitosana apresenta maior potencial antifúngico em pH ácido na faixa de 3 a 4.

Tabela 1. Características físico-químicas das soluções de quitosana em ácido pirolenhoso destilado.

Concentração (g L ⁻¹)	Condutividade ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	pH
0	1035	3,26
0,05	1038	2,95
0,1	1035	n.d.
0,5	967	2,91
1,0	991	2,95
2,0	n.d.	3,06
2,5	1101	n.d.
5,0	1410	n.d.
10,0	2180	3,23
15,0	n.d.	2600
30,0	3,43	4970

O comportamento térmico dos géis foi determinado através de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). As medidas de DSC foram realizadas em um DSC Q 20 da TA Instruments, em um intervalo de temperatura de -40 °C a 60 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ sob fluxo de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹.

A Figura 1 mostra o comportamento térmico do gel formado pelo sistema quitosana/ácido pirolenhoso destilado. A análise de DSC foi realizada com dois ciclos de aquecimento e um de resfriamento. Foram realizados rampas de aquecimento consecutivas.

5 Observa-se na Figura 1 uma descontinuidade em aproximadamente 24 °C na curva do 1° aquecimento, que não se repete no 2° aquecimento, o que sugere apenas uma perda de água pelo gel no primeiro aquecimento. Não foi possível observar nenhuma transição de fase mostrando que o gel permaneceu estável na faixa de temperatura estudada.

Caracterização dos filmes

Capacidade de bloquear a radiação UV/VIS

10 O comportamento típico de transmitância UV/Vis dos filmes de quitosana/ácido pirolenhoso destilado é apresentado na Figura 2-A. A transmitância dos filmes foi avaliada em um intervalo de espessuras, que obedece a lei de Lambert-Beer. A absorvidade molar foi calculada para diferentes comprimentos de onda através da expressão de Lambert-Beer (1) descrita a seguir:

$$A(\lambda) = \epsilon(\lambda)bc \quad (1)$$

15 onde A é a absorvância dos filmes, ϵ é a absorvidade molar, b é a espessura do filme e c é a concentração.

Considerando-se a espessura dos filmes e a concentração, foram calculadas as absorvidades molares parciais que foram expressas em função do comprimento de onda na Figura 2-B. Os resultados para a absorvidade molar em função do comprimento de 20 onda, após 320 ηm , foram obtidos através da equação (2) descrita abaixo:

$$y = 4,6.10^9 e^{(-x/100)} + 1,4.10^7 \quad (2)$$

A faixa espectral coberta mostrou que esses filmes podem ser usados como fotoprotetores, bloqueando quase completamente as radiações UV-B (319-280 ηm) e UV-C (279-200 ηm).

Características estruturais dos filmes

25 O difratograma de raios X dos filmes (Figura 3) mostrou os picos em 2θ , 8,4-8,6 e 11,55°, situados sobre um enorme halo característico de materiais amorfos. Os filmes apresentaram então uma estrutura semicristalina. Essa característica semicristalina é

interessante, pois confere ao filme flexibilidade e porosidade, características desejáveis nos processos de penetração de água e trocas gasosas.

Estabilidade térmica

Os perfis da análise termogravimétrica e da primeira derivada dos filmes de quitosana/ácido pirolenhoso destilado são apresentados na Figura 4. Em 45 °C os filmes perderam cerca de 20 % de massa, o que é atribuído à liberação de água e ácido acético aprisionados em sua estrutura. A 300 °C a quitosana começou a se degradar. O material restante (cerca de 40 % em massa) apresentou características de carbono amorfo.

Comportamento dos filmes em água

Os filmes mostraram-se estáveis em água, sem sofrer desintegração, por até uma semana de imersão. A característica higroscópica do filme foi determinada através da variação de massa de água absorvida pelos filmes de acordo com a equação (3):

$$\Delta m = \left(\frac{m_i - m_0}{m_0} \right) * 100 \quad (3)$$

onde Δm é o aumento de massa relativo, m_0 é a massa inicial do filme e m_i é a massa do filme no tempo de imersão i .

A Figura 5 mostra o aumento da absorção de água dos filmes em função do tempo. O filme chegou a aumentar em 300% a sua massa em água.

As Figuras 6 e 7 mostram micrografias eletrônicas do filme de quitosana/ácido pirolenhoso destilado, após a pulverização em uma superfície lisa em temperatura de 18 a 25 °C.

Comportamento da planta após tratamento

A formulação fitoprotetora e fertilizante da invenção promove um aumento da adesão das moléculas à cutícula da planta, permitindo melhor contato entre a formulação da invenção nutriente e a superfície da folha. Nas Figuras 1A e 1B do Anexo 1 são mostradas vistas parciais dos experimentos para avaliação da eficiência dos formulados em reduzir a incidência de antracnose no feijoeiro, Na Figura 1A são mostradas plantas em câmara úmida após a inoculação de esporos de *Colletotrichum lindemuthianum*, e na Figura 1B são mostradas as plantas antes da inoculação do fungo.

A Tabela 2 mostrada a seguir mostra o índice de doença segundo McKINNEY para incidência de antracnose após aplicação da formulação fitoprotetora e fertilizante da invenção.

Tabela 2 - índice de doença segundo McKINNEY para incidência de antracnose

Cultivares	Macanudo		Chocolate	
	Exp. III*	Exp. IV*	Exp. III	Exp. IV
Tratamentos				
Formulado A	0,97	0,47	0,33	0,20
Ácido pirolenhoso/quitosana/ minerais	0,96	0,43	0,20	0,13
Ácido pirolenhoso/quitosana	0,99	0,33	0,29	0,17
T1a -Test. c/ inóculo	1	0,88	0,37	0,24
T1b-Test. c/ inóculo e c/ fungicida	0,20	0,11	0,11	0,11

* *Experimento III – uma aplicação*

* *Experimento IV – três aplicações exceto as testemunhas*

5 Observa-se na Tabela 2, que após três aplicações dos formulados, as respostas das plantas foram significativas quanto à resistência à antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*). O índice de Mckinney igual a 1, corresponde a alta incidência de doenças e alta suscetibilidade a antracnose. Após três aplicações da formulação da invenção verificou-se que o índice Mckinney passou para menos que 0,50, o que significa

10 que plantas que antes eram suscetíveis passaram a ter resistência intermediária. A cultivar Macanudo considerada suscetível a antracnose, passou a ser resistente, apresentando um índice de Mckinney de 0,33 (EPD + quitosana) e 0,43 (EPD + quitosana + minerais). A cultivar chocolate apresentou, após 3 aplicações, índices de Mckinney de 0,17 (EPD + quitosana) e 0,13 (EPD + quitosana + minerais) respectivamente.

15 A Figura 2 do Anexo 1 mostra o bom desenvolvimento das plantas tratadas com as formulações da invenção (EPD + quitosana) e (EPD + quitosana + minerais).

A avaliação da atividade da peroxidase (PO), fenilalaninaamônia-liase (FAL), β 1,3 glucanase (β 1,3) após aplicação dos formulados ácido pirolenhoso/quitosana e ácido pirolenhoso/quitosana/minerais, em cultivo de pimenta híbrida cv. Mitla, inoculadas com

20 nematoide *Meloidogyne* são mostrados na Tabela 3 a seguir.

Tabela 3 - Atividade da peroxidase (PO), fenilalaninaamônia-liase (FAL), β 1,3 glucanase (β 1,3) após aplicação dos formulados EPD/quitosana e EPD/quitosana/minerais, em cultivo de pimenta híbrida cv. Mitla, inoculadas com nematoide *Meloidogyne*

EPD/quitosana	PO ue/min/g de tecido	FAL ue/min/g de tecido	β 1,3 ue/g de tecido	PFO ue/min/g de tecido
EPD/quitosana	385,91 b	28,41 ab	39,68 b	438,90 b
EPD/quitosana/ nutrientes	320,00 c*	32,29 a	37,56 b	426,67 b
Test. Inoculada com nematoide	472,58 a	27,45 b	62,86 a	498,77 a
Test. Positiva	134,80 d	29,98 ab	29,26 c	354,43 c

* letras distintas diferem entre si nas colunas pelo teste Duncan ($p < 0,05$).

5 Na tabela 3 a atividade das proteínas relacionadas à patogênese (β 1,3 glucanases, PO, PFO e FAL) envolvidas em respostas de defesa e resistência a diversos tipos de estresse ambiental, apresentaram significativas alterações, quando as plantas foram tratadas com a formulação da invenção Isso indica que a formulação da invenção ativou o metabolismo de defesa no momento em que a planta foi agredida de alguma forma, promovendo uma defesa rápida. Neste caso, observou-se a presença de necrose nas folhas das testemunhas (Figura 3 do anexo 1), indicando que não houve o processo de fitoproteção nestas plantas não tratadas. Isto é confirmado através da observação da Tabela 4 onde é possível observar que os compostos fenólicos (polifenóis, monofenóis, e orto e difenóis, etc), que são substratos para as enzimas PO, PFO e FAL, não foram sintetizados pela planta na ausência da formulação da invenção. Observou-se que, na testemunha, 15 houve decréscimo significativo na concentração destes fenóis. Desta forma, a planta ao não conseguir se defender das agressões exigiu um gasto energético maior ao seu metabolismo e com isto fez com que o vigor e a produção fossem drasticamente reduzidos (Figura 4 do Anexo 1 e Tabela 5). Desta maneira conclui-se que o processo de defesa não foi ativado e a 20 planta ficou mais suscetível. Os compostos fenólicos são taninos, que quando presentes nas folhas, participam do processo de lignificação e produção de fitoalexinas, e também deixam as plantas mais indigestas e/ou menos atrativas para alguns insetos filófagos

(insetos que se alimentam de folhas) e sugadores, tornando estas plantas mais resistentes também a essas pragas. A partir dos resultados apresentados pode-se concluir que a formulação da invenção apresentou a característica de ação de indução da resistência sistêmica das plantas.

- 5 Tabela 4 – Avaliação dos teores de compostos fenólicos (mg/100g) extraídos em metanol, metanol 50% e água após aplicação dos formulados ácido pirolenhoso/quitosana e ácido pirolenhoso/quitosana/minerais, em cultivo de pimenta híbrida cv. Mitla.

Fitoprotetores	Metanol 50% mg/100g	Metanol 100% mg/100g	Água mg/100g	Compostos Fenólicos totais mg/100g
Ácido pirolenhoso/quitosana	2,21 a	3,69 a	1,18a	7,08 a
Ácido pirolenhoso/quitosana/ micronutrientes	2,29 a	3,72 a	1,20a	7.21 a
Test. Inoculada com nematoide	1,86 b	2,19 b	1,18a	5,23 b
Test. Positiva	1,98 b	2,42 b	0,77b	5,17b

* letras distintas diferem entre si nas colunas pelo teste Duncan ($p < 0,05$).

- 10 Tabela 5 – Avaliação do vigor e produção da pimenta híbrida cv. Mitla após tratamentos com os formulados ácido pirolenhoso/quitosana e ácido pirolenhoso/quitosana/minerais, em cultivo de pimenta híbrida cv. Mitla.

Formulados	Peso/planta g	Numero de frutos por planta
Ácido pirolenhoso/quitosana	131,00 b	25,00 b
Ácido pirolenhoso/quitosana/nutrientes	158,33 a	31,00 a
Test. Inoculada c/ nematoide	126,00 b	17,00 c
Test. Positiva	120,00 b	12,00 c

* letras distintas diferem entre si nas colunas pelo teste Duncan ($p < 0,05$).

- 15 As Figuras 5 e 6 do Anexo 1 mostram resultados da inibição do crescimento micelial de isolados de *Colletotrichum* e *Monilinia* através da utilização da formulação da invenção comprovando a ação fungitóxica da formulação.

- 20 Experimentos para a avaliação do efeito da formulação da invenção foram também realizados visando testar a resistência a doenças e qualidade da fruta em macieiras cv Fuji. O interesse de um produto alternativo nesta cultura é a adequação às normas internacionais para a produção integrada, redução de agrotóxicos e de agressões ambientais. Os experimentos foram realizados utilizando três plantas por repetição e três repetições por

tratamento. Foi deixada uma planta de bordadura entre as repetições e utilizadas 108 plantas no experimento.

A primeira análise foi realizada no experimento em cultivos convencionais de maçãs, foi quanto aos teores de pectina nas frutas. A presença de pectina garante a suculência da fruta, quando a pectinase atua hidrolisando a pectina. Em um processo normal de senescência, a maçã apresenta textura farinhenta perdendo a qualidade sendo, portanto, ideal manter a suculência por maior tempo possível durante o armazenamento. Os resultados são mostrados na Tabela 6 a seguir.

Tabela 6 – Conteúdo de pectina ($\mu\text{g}/\text{mg}$) em maçã proveniente de pomar tratado com formulados extrato pirolenhoso/quitosana e extrato pirolenhoso/quitosana/minerais e testemunha com tratamento convencional da cultura, durante o período de armazenamento das frutas em temperatura ambiente média de 24 a 26 °C. Para acelerar o processo de senescência as maçãs foram armazenadas em temperatura ambiente de 24 a 26 °C, por 120 dias.

Formulados	Pectina ($\mu\text{g}/\text{mg}$) 08/04	Pectina ($\mu\text{g}/\text{mg}$) 27/04	Pectina ($\mu\text{g}/\text{mg}$) 18/05	Pectina ($\mu\text{g}/\text{mg}$) 23/06
Formulado -T5	51,24 b	48,93 bc	41,72 a	34,89 bcd
Extrato pirolenhoso/quitosana	54,31 a	52,17 a	44,83 a	36,43 abc
Extrato pirolenhoso/quitosana/ minerais	58,99 a	56,06 a	39,69 a	37,09 ab
Formulado 15-T9	50,60 b	48,98 bc	39,93 a	38,00 a
Testemunha -T1	49,90 b	46,04 c	41,48 a	33,24 d
Coefficiente de variação (%)	5,4	5,7	6,2	3,9

* letras distintas diferem entre si nas colunas pelo teste Duncan ($p < 0,05$).

A análise da Tabela 6 mostra que mesmo em condições adequadas para a aceleração da senescência, as plantas tratadas com a formulação da invenção apresentaram após 120 dias de armazenamento maiores teores de pectina na fruta.

REINVIDICAÇÕES

1. Processo de obtenção de formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora caracterizado pelo fato de que compreende as seguintes etapas:
 - A) Obtenção de extrato pirolenhoso destilado (EPD),
 - 5 B) Obtenção de composição compreendendo EPD e quitosana,
 - C) Obtenção de solução mineral fertilizante,
 - D) Mistura da composição obtida na etapa B com a solução obtida na etapa C.
2. Processo de obtenção de formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo fato de que o EPD é obtido a partir
10 do extrato pirolenhoso bruto (EPB).
3. Processo de obtenção de formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora de acordo com a reivindicação 2 caracterizado pelo fato de que o EPD é obtido a partir da destilação à vácuo do EPB.
4. Processo de obtenção de formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora de
15 acordo com a reivindicação 3 caracterizado pelo fato de o intervalo da temperatura de destilação para obtenção do EPD é de 60 °C a 75 °C.
5. Processo de obtenção de formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores caracterizado pelo fato de que a composição da etapa B do processo é obtida pela mistura de quitosana e EPD.
- 20 6. Processo de obtenção de formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora de acordo com a reivindicação 5 caracterizado pelo fato de que a quitosana possui um grau de desacetilação mínimo de 97%.
7. Processo de obtenção de formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora de acordo com as reivindicações 5 ou 6 caracterizado pelo fato de que a concentração
25 de quitosana na composição da etapa B varia de 0,05 g/L a 30 g/L.
8. Processo de obtenção de formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 7 caracterizado pelo fato de que a condutividade da composição obtida na etapa B varia de 1038 $\mu\text{S cm}^{-1}$ a 4970 $\mu\text{S cm}^{-1}$.

9. Processo de obtenção de formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 8 caracterizado pelo fato de que a composição obtida na etapa B possui uma concentração de quitosana de 1 g/L.
- 5 10. Processo de obtenção de formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 9 caracterizado pelo fato de que a composição obtida na etapa B possui uma condutividade variando de 1938 $\mu\text{S cm}^{-1}$ a 2190 $\mu\text{S cm}^{-1}$.
- 10 11. Processo de obtenção de formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10 caracterizado pelo fato de que a solução na etapa C é obtida pela adição de minerais à água.
12. Processo de obtenção de formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora de acordo com reivindicação 11 caracterizado pelo fato de que os minerais são selecionados dentre silício e/ou boro e/ou molibdênio e/ou manganês e/ou zinco e/ou cálcio e/ou cobre.
- 15 13. Processo de obtenção de formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora de acordo com reivindicação 12 caracterizado pelo fato de que de que as concentrações de minerais na solução aquosa são: silício: 0,07 g/L a 0,5 g/L; boro: 0,04 g/L a 0,08 g/L; molibdênio: 0,02 g/L a 0,09 g/L; manganês: 0,04 g/L a 0,13 g/L; zinco: 0,02 g/L a 0,1 g/L; cálcio: 0,03 g/L a 0,3 g/L; cobre: 0,065g/L a 0,2 g/L.
- 20 14. Processo de obtenção de formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores caracterizado pelo fato de que a relação de mistura entre as soluções B:C varia de 0,05:99,95 a 30:70.
15. Formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora caracterizada pelo fato de que compreende extrato pirolenhoso destilado (EPD), quitosana e minerais.
- 25 16. Formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora de acordo com a reivindicação 15 caracterizada pelo fato de que a concentração de quitosana na formulação varia de $2,5 \times 10^{-5}$ g/L a 9 g/L.
- 30 17. Formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora de acordo com a reivindicação 15 ou 16 caracterizada pelo fato de que os minerais na formulação são selecionados dentre silício e/ou boro e/ou molibdênio e/ou manganês e/ou zinco e/ou cálcio e/ou cobre.

18. Formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora de acordo com a reivindicação 17 caracterizada pelo fato de que as concentrações de minerais são: silício: 0,049 g/L a 0,5 g/L, boro: 0,028 g/L a 0,08 g/L, molibdênio: 0,014 g/L a 0,09 g/L, manganês: 0,028 g/L a 0,13 g/L, zinco: 0,014 g/l a 0,1 g/L, cálcio: 0,021 g/L a 0,3 g/L, cobre: 0,046 g/L a 0,2 g/L.
19. Formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora caracterizada pelo fato de que compreende extrato pirolenhoso destilado (EPD), quitosana e minerais e que é obtida de acordo com processo de obtenção descrito em qualquer uma das reivindicações 1 a 14.
20. Uso de formulação com capacidade fertilizante e protetora definida em qualquer uma das reivindicações 15 a 19 caracterizado pelo fato de que é para aplicação em plantas, partes de plantas, inclusive frutos.
21. Uso de formulação com capacidade fertilizante e fitoprotetora definida em qualquer uma das reivindicações 15 a 19 caracterizado pelo fato de que é para obtenção de filme com capacidade fertilizante e fitoprotetora.

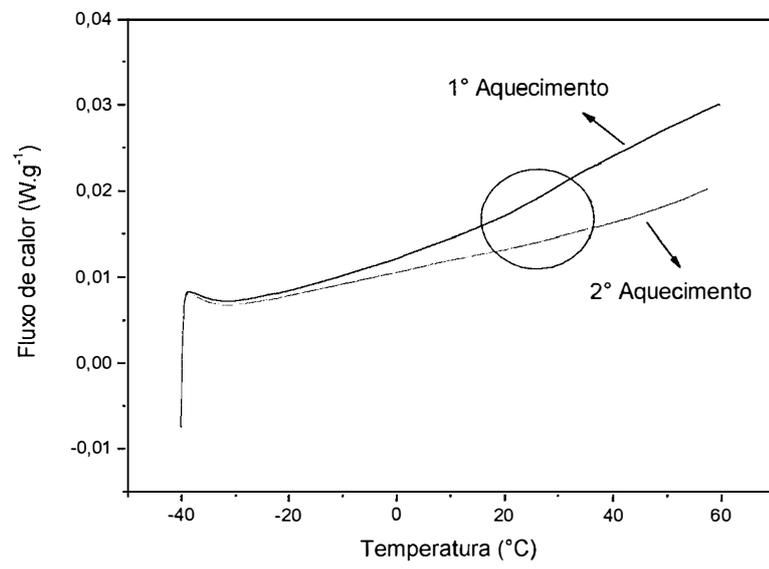
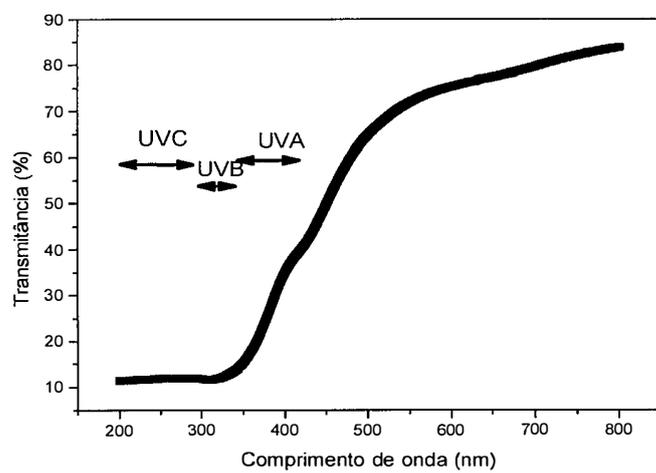
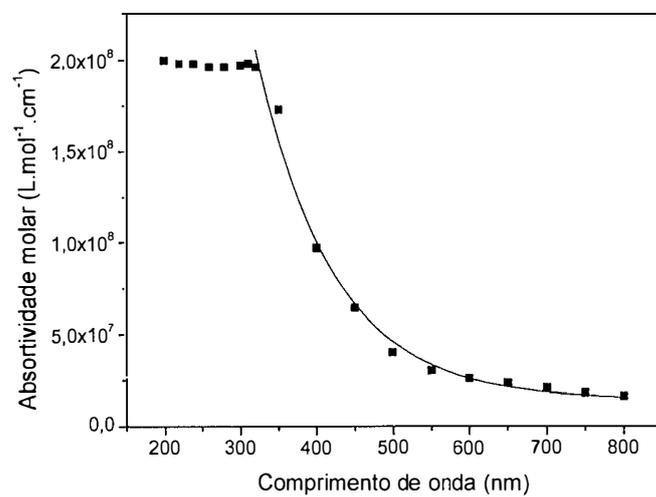


FIG.1



A



B

FIG 2

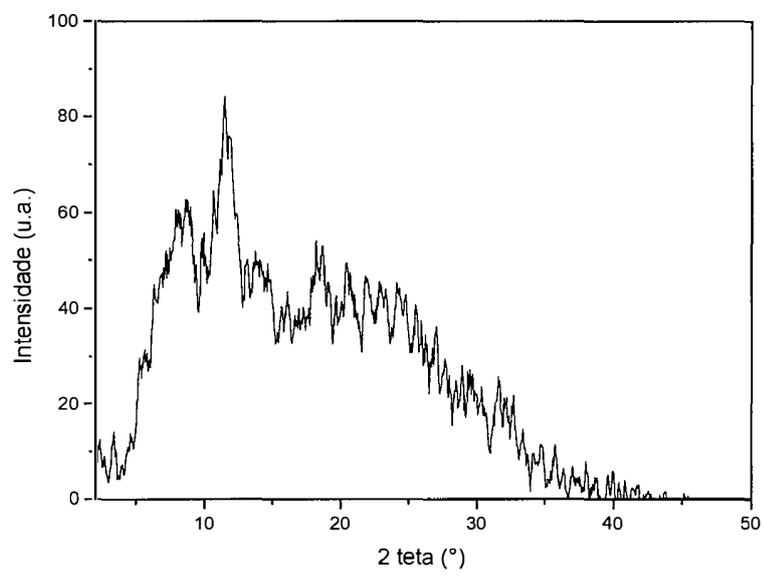


FIG. 3

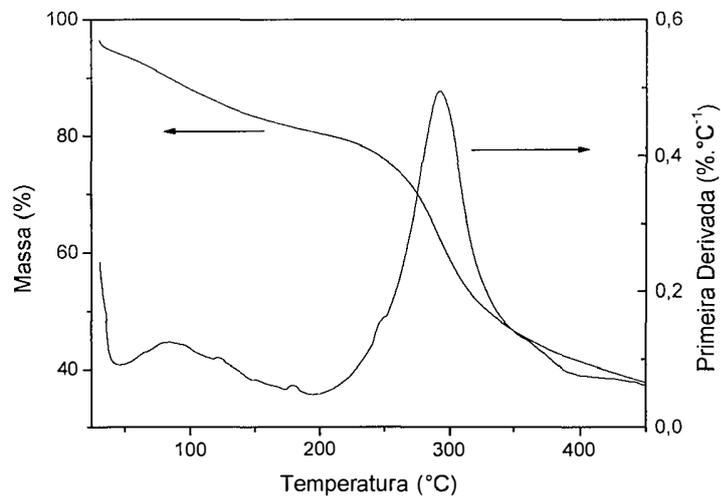


FIG. 4

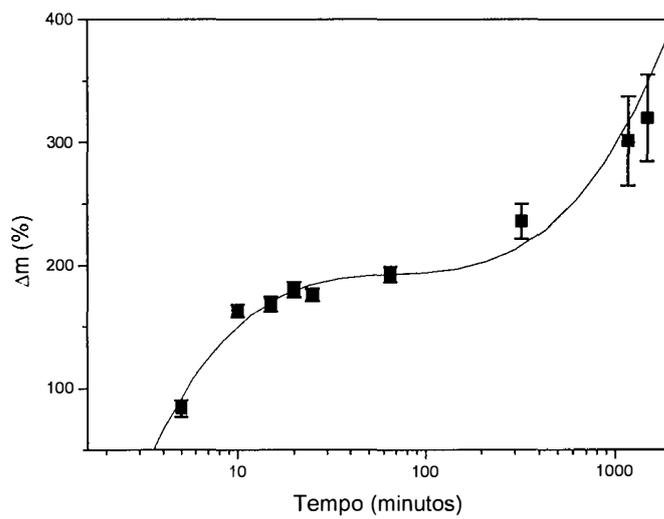


FIG. 5

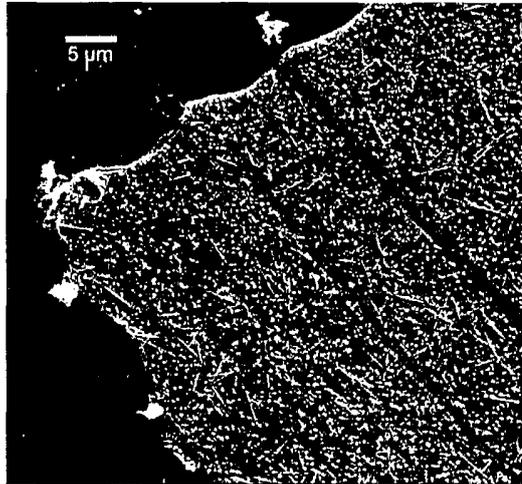


FIG. 6

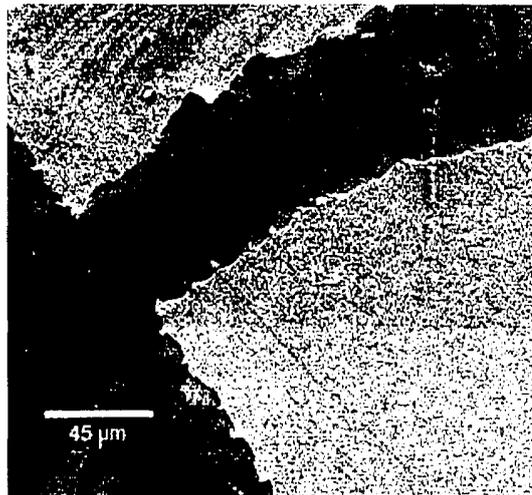


FIG. 7

RESUMO

**“PROCESSO DE OBTENÇÃO DE FORMULAÇÃO COM CAPACIDADE FERTILIZANTE E FITOPROTETORA, FORMULAÇÃO COM CAPACIDADE FERTILIZANTE E FITOPROTETORA, USO DE FORMULAÇÃO COM
5 CAPACIDADE FERTILIZANTE E FITOPROTETORA”.**

A presente invenção se enquadra no contexto da química verde e se refere genericamente a uma formulação fertilizante e fitoprotetora e, em uma modalidade particular, a uma formulação formadora de filmes e indutora da resistência de plantas.

10 A respectiva formulação, quando aplicada em plantas e/ou frutos resulta na formação de filme na superfície do material, o qual possui a característica de fotoproteção contra as radiações UV-B e UV-C, resistência mantida na água mesmo após alta higroscopicidade, maior estabilidade sob temperaturas ambientais elevadas, formação de porosidade desejada e homogeneidade de superfície.