



Efeito do análogo do cardanol hidrogenado no controle in vitro do fitopatógeno *Lasiodiplodia theobromae*.

Effect of the hydrogenated cardanol analog in the in vitro control of the phytopathogen Lasiodiplodia theobromae.

DOI: <https://doi.org/10.24979/ambiente.v1i1.932>

Stéphany Swellen Vasconcelos Maia - Universidade Estadual do Ceará <https://orcid.org/0000-0001-8239-2949>

Katiany do Vale Abreu - Universidade Estadual do Ceará <https://orcid.org/0000-0001-8605-1359>

Sara Natasha Luna de Lima - Universidade Estadual do Ceará <https://orcid.org/0000-0002-8348-2302>

Ana Luiza Bezerra da Silva - Universidade Estadual do Ceará <https://orcid.org/0000-0003-3568-5305>

Maria Roniele Felix Oliveira - Universidade Estadual do Ceará <https://orcid.org/0000-0002-1340-5678>

Carlucio Roberto Alves - Universidade Estadual do Ceará <https://orcid.org/0000-0001-7164-7467>

RESUMO: A castanha de caju é uma amêndoa bastante consumida e que movimentada a economia da cajucultura. A produção da amêndoa através do cozimento da castanha bruta libera o Líquido da Casca da Castanha de Caju (LCC) que possui como composição a presença de quatro compostos fenólicos principais: o cardanol, o ácido anarcádico, o metil cardol e o cardol. A modificação estrutural desses compostos vem sendo bastante estudada no desenvolvimento de biocidas. O fitopatógeno *Lasiodiplodia theobromae* (*L. theobromae*) é uma espécie de fungo que provoca necrose de galhos, folhas e fruto, e ataca o próprio cajueiro e em mais de 500 espécies de plantas, podendo causar a morte de tais espécies. Neste trabalho, avaliou-se o efeito antifúngico de um azo composto derivado da modificação estrutural do cardanol hidrogenado frente ao *L. theobromae*. Os percentuais de inibição obtidos in vitro foram submetidos à análise de variância de dois fatores. O produto apresentou melhor eficiência na concentração de 1100 µg ml⁻¹ com média de inibição de 54% até 48 horas e de 23% a partir de 72 horas.

Palavras-chave: *Lasiodiplodia theobromae*. Azo composto. Atividade fungicida.

ABSTRACT: The cashew nut is an almond widely consumed and that moves the economy of cashew. The production of almonds by cooking raw nuts releases the Cashew Nut Shell Liquid (LCC), which has the presence of four main phenolic compounds: cardanol, anarcadic acid, methyl cardol and cardol. The structural modification of these compounds has been extensively studied in the development of biocides. The phytopathogen *Lasiodiplodia theobromae* (*L. theobromae*) is a species of fungus that causes necrosis of branches, leaves and fruit, and attacks the cashew tree itself and in more than 500 species of plants, which can cause the death of such species. In this work, the antifungal effect of an azo compound derived from the structural modification of hydrogenated cardanol against *L. theobromae* was evaluated. The inhibition percentages obtained in vitro were subjected to two-way analysis of variance. The product showed better efficiency in the concentration of 1100 µg ml⁻¹ with an average inhibition of 54% up to 48 hours and 23% after 72 hours.

Keywords: *Lasiodiplodia theobromae*. Azo compound. Fungicidal activity.

Introdução

A presença de microrganismos é notada em diversos cenários no mundo, e acomete plantas e animais. As espécies biológicas do *Lasiodiplodia theobromae* (*L. theobromae*) possuem em comum características oportunismo e de sobrevivência na atmosfera e nos tecidos, vivos ou mortos, presentes nos vegetais. Infectam mais de 500 espécies de plantas, dentre elas cajueiros (PEREIRA; SILVA; RIBEIRO, 2006).

Esse fitopatôgenose desenvolve, preferencialmente, em vegetações tropicais, devido ao favorecimento ocasionado pelas temperaturas médias de 28°C, umidade a 60% e precipitações chuvosas médias de 15 milímetros. A disseminação desse fungo é favorecida pelos pássaros, insetos e pelo homem que causam feridas nas plantas abrindo espaço para o fungo agir. A podridão é uma das principais lesões causadas por esse fungo e podem ocorrer no caule, folha, ramos e frutos, podendo até causar a morte da planta. O cajueiro é uma das 500 espécies que é acometida por esse fungo (CHEN *et al.*, 2017; FREIRE *et al.*, 2004); Oliviera *et al.*, 2013).

Diante esse problema, faz-se necessário a elaboração de novos compostos com potencial antifúngico como alternativa para atuar efetivamente no combate ao *L. theobromae*, caracterizando-se como alvo de estudos para a produção de biocidas nas últimas décadas (Freire *et al.*, 2011).

A cajucultura é uma agroindústria que tem como resíduo do processamento industrial da castanha, o líquido da casca da castanha de caju (LCC) que pode ser utilizado como insumo na produção de resinas, tintas, dentre outros (ABREU *et al.*, 2017; BEHALO, 2017). A composição química do LCC é rica em compostos fenólicos como o cardanol, cardol, metil-cardol e ácido anacárdico. Esses componentes são atrativos para a formulação de variados novos compostos, que podem apresentar caráter antimicrobiano frente a

bactérias patogênicas e fungos resistentes a medicamentos e a agroquímicos, estimulando diversos estudos (Leite *et al.*, 2016; Morais *et al.*, 2017; Rao; Palanisamy, 2013; Ravichandran *et al.*, 2011).

Modificações químicas na estrutura dos componentes fenólicos do LCC isolados podem potencializar o efeito fungicida. A estrutura fenólica do cardanol favorece fortemente a modificação química de sua estrutura através de substituição eletrofílica, assim torna-se uma opção viável nesse cenário (CAREY, 2011; MAHATA *et al.*, 2014). Deste modo, o presente trabalho buscou a formação de um azo-composto com base na modificação da estrutura do cardanol hidrogenado que atue como antifúngico frente ao *L. theobromae*.

Metodologia

O cardanol insaturado foi submetido a hidrogenação catalítica conforme a metodologia de Oliveira (2007). O procedimento foi desenvolvido no Laboratório de Desenvolvimento de Produtos e Processos (LDPP), localizado na Universidade Federal do Ceará. Foram utilizados 6 g cardanol insaturado, onde empregou-se 0,2 g de catalizador de níquel-Raney (níquel fundido e pulverizado), reagindo em um período de 5 horas, com conservação de temperatura, em 170 °C, e de pressão, em 4 Kgf/cm². A mistura foi mantida em agitação vigorosa e constante durante todo o processo, fornecendo um sólido de cor marrom (OLIVEIRA, 2007).

A modificação química foi desenvolvida no Sistema de Laboratórios em Nanotecnologia e Biomateriais (SisNaBio). O cardanol hidrogenado foi adaptado para a reação com a anilina diazotizada para a obtenção do p-cardanol-azobenzeno (CAREY, 2011). A purificação do produto foi feita utilizando a técnica de precipitação, onde o p-cardanol-azobenzeno foi solubilizado em hexano e submetido a evaporação rotativa, obtendo o produto concentrado. Em seguida, o produto

foi colocado em um Becker, onde o cardanol que não reagiu precipitou ao fundo do Becker, e o sobrenadante é o produto puro. A elucidação estrutural do cardanol hidrogenado e do produto foram confirmadas através de espectros de infravermelho utilizando-se um espectrômetro PERKIM ELMER, modelo FT-IR SPECTRUM 1000 em pastilhas de KBr para análise das substâncias.

O procedimento antifúngica frente ao *L. theobromaefoi* desenvolvido no laboratório de bioprocessos, pertencente ao SisNaBio, baseou-se na metodologia (ABREU *et al.*, 2017). A atividade antifúngica *in vitro* frente ao *L. theobromaefoi* realizada em meio ágar potato dextrose e com o auxílio de TWEEN para solubilizar o produto nas concentrações de 200, 500, 1100 e 1400 µg mL⁻¹. Além disso, foi feito o branco com apenas ágar, e a testemunha que contou com o TWEEN. O ensaio foi realizado em triplicatas em placas de petri e as medidas dos diâmetros do halo foram realizadas nos períodos de 24, 48 e 72 horas.

O potencial fungicida foi avaliado pelo percentual de inibição de crescimento do fungo (PIC), calculado através da Eq. 1, onde CRTE é o crescimento radial da testemunha em centímetros e CRT é o crescimento radial de tratamento em cm. Os resultados percentuais de inibição foram submetidos a Análise de Variância em 2 fatores (ANOVA), utilizando o programa Excel.

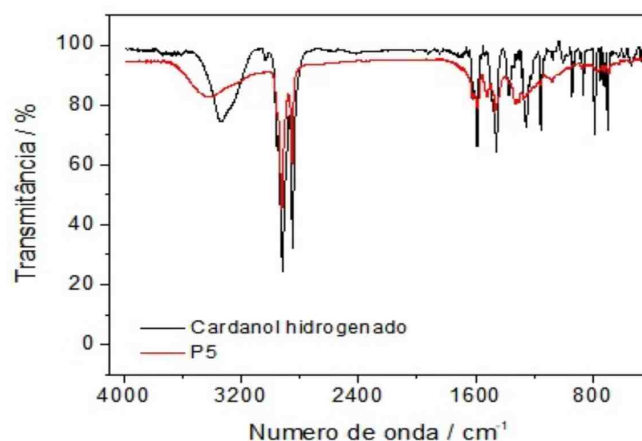
$$PIC = \frac{CRTE - CRT}{CRTE} \times 100(1)$$

Resultados e Discussão

A caracterização do cardanol hidrogenado e do produto foram feitas através da técnica de FTIR onde expressou picos de absorção significativos para a distinção dos grupos funcionais presentes (Figura 1). O FTIR do cardanol hidrogenado, indicou a presença do anel aromático através das duas absorções de estiramento do anel em 1580 e 1470 cm⁻¹, aproximadamente. A substituição meta do

anel foi observada através de desdobramento fora do plano formado por picos em 680, 710 e 850 cm⁻¹, e a confirmação desses picos ocorre na região de 1750 a 2000 cm⁻¹, com absorções pequenas. A banda larga e intensa na região de 3610 cm⁻¹ representa a presença de fenol. A saturação da cadeia ramificada é comprovada pela ausência do estiramento C=C em 1650 cm⁻¹ (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005). O FTIR do produto apresentou todos os picos do cardanol hidrogenado, porém com menor intensidade. Além disso, o aparecimento de um estiramento C-N de pequena intensidade em, aproximadamente, 1250 cm⁻¹, indica a formação da ligação azo no composto (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005).

Figura 1: Espectro de infravermelho do cardanol hidrogenado e seu análogo.

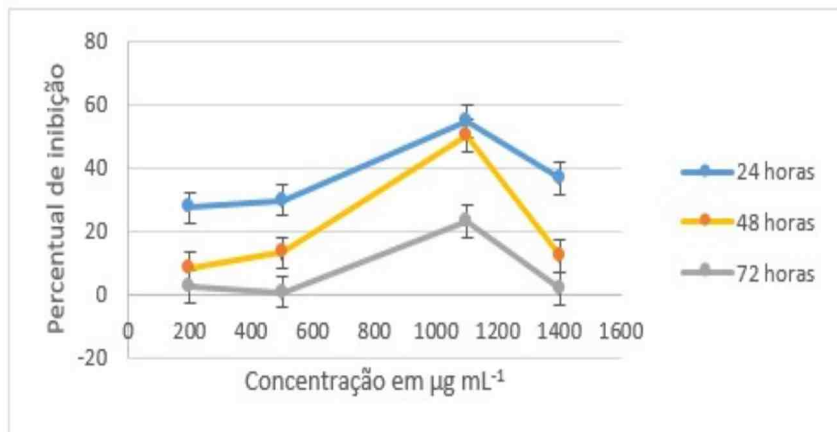


Fonte: o próprio autor.

Os percentuais médios do azo composto obtido frente ao *L. theobramaefoi* utilizado as médias de cada concentração. As médias comparadas indicaram que, em todos os tempos, as concentrações de 200, 500 e 1400 µg mL⁻¹ obtiveram resultados semelhantes, e que a concentração de 1100 µg mL⁻¹ obteve melhor desempenho, 54,72%, 50,05% e 23,07%, para os tempos respectivos de 24, 48 e 72 horas. A análise do desempenho individual de cada concentração indicou que as concentrações 200, 500 e 1400 µg mL⁻¹ tiveram decaimento durante todos os tempos e a concentração de 1100 µg mL⁻¹ obteve potencial de inibição constante até 48 horas, depois

apresentou decaimento significativo para 23,01% em 72 horas (Figura 2).

Figura 2: Percentual médio de inibição de crescimento do análogo frente ao *L. theobromae*.



Fonte: Próprio autor.

Ao compararmos o resultado do produto obtido com seu constituinte de origem, descrito no trabalho de Maia, 2021, pode-se observar que nas primeiras 24 horas o constituinte apresentou inibição de 55,99% na concentração de 1400 µg mL⁻¹, semelhante ao do produto com 24 horas. Contudo, o produto conseguiu esse efeito em uma concentração mais baixa que a do constituinte. Além disso, o constituinte, após 24 horas, teve um decaimento significativo no percentual de inibição do fitopatógeno, com 19,67% em 48 horas, e 1,98% em 72 horas, ambos na concentração de 200 µg mL⁻¹. Já o produto manteve-se acima de 50% durante as primeiras 48 horas, e 23% em 72 horas, em ambos os casos na concentração de 1100 µg mL⁻¹. Demonstrando assim que a eficácia do produto foi superior ao do constituinte.

Conclusão

Diante o resultado exposto através do FTIR foi perceptível que houve modificação química na estrutura do cardanol hidrogenado. Conforme o que foi analisado e argumentado através das análises estatísticas pode-se determinar que a melhor concentração para utilização do produto é de 1100 µg mL⁻¹ em

todos os tempos estudados, com percentual de inibição 54,27 e 50,05% frente ao *L. theobromae*. A modificação química foi satisfatória onde apresentou eficiência para o controle in vitro do *L. theobromae* superior ao seu constituinte de origem. Perspectivas futuras com testes in vivo confirmarão sua viabilidade no controle do fitopatógeno.

Referências

- ABREU, K. DO V. *et al.* Reaproveitamento de resíduo industrial da castanha de caju para o beneficiamento da cajucultura contra ação do fitopatógeno *Lasiodiplodia theobromae*. *Higiene Alimentar*, v. 31, p. 4589–4593, 2017.
- ARACELLI, DE S. L. *et al.* Pharmacological properties of cashew (*Anacardium occidentale*). *African Journal of Biotechnology*, v. 15, n. 35, p. 1855–1863, 2016.
- BEHALO, M. S. Facile Synthesis of Novel Amino Acids Derivatives as Potential Antibacterial Agents using Sustainable Materials. *Journal of the Chinese Chemical Society*, v. 64, n. 10, p. 1181–1189, 2017.
- CAREY, F. A. *Química Orgânica volume 2. 7a Edição ed.* São Paulo: AMGH Editio, 2011.
- CHEN, S. *et al.* Lasiodiplactone A, a novel lactone from the mangrove endophytic fungus *Lasiodiplodia theobromae* ZJ-HQ1. *Organic and Biomolecular Chemistry*, v. 15, n. 30, p. 6338–6341, 2017.
- DE OLIVIERA, M. Z. A. *et al.* Fungo *Lasiodiplodia theobromae*: um problema para a agricultura baiana. *Revista Bahia Agrícola*, v. 9, n. 2, p. 24–29, 2013.
- FREIRE, F. D. C. O. F. *et al.* Comunicado Técnico Novos Hospedeiros do Fungo *Lasiodiplodia theobromae* no Estado do Ceará Embrapa. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/>

doc/422570/1/Ct091.pdf>.

United States: John Wiley & Sons, INC>, 2005.

FREIRE, F. DAS C. O. *et al.* Desenvolvimento e Eficiência de um Fungicida Triazol a partir do Líquido da Casca da Castanha (LCC) do Cajueiro. Comunicado Técnico Embrapa, v. 178, n. 1679–6535, p. 1–5, 2011.

MAHATA, D. *et al.* Self-assembled cardanol azo derivatives as antifungal agent with chitin-binding ability. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 69, p. 5–11, 2014.

MAIA, S. S. V. Modificação Química dos Constituintes Do Líquido Da Casca Da Castanha De Caju E Avaliação Das Suas Atividades Antimicrobianas Para O Controle In Vitro De Patógenos. 2021. Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2018.

MORAIS, S. M. *et al.* Anacardic acid constituents from cashew nut shell liquid: NMR characterization and the effect of unsaturation on its biological activities. *Pharmaceuticals*, v. 10, n. 1, p. 1–10, 2017.

OLIVEIRA, L. D. M. DE. Síntese , Caracterização E Funcionalidade De Aditivos De Lubricidade , Derivados Do Lcc. Fortaleza, Ceará: Universidade Federal do Ceará, 2007.

PEREIRA, A. L.; SILVA, G. S.; RIBEIRO, V. Q. Caracterização fisiológica, cultural e patogênica de diferentes Isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. *Fitopatologia Brasileira*, v. 31, n. 6, p. 572–578, 2006.

RAO, B. S.; PALANISAMY, A. Synthesis of bio based low temperature curable liquid epoxy, benzoxazine monomer system from cardanol: Thermal and viscoelastic properties. *European Polymer Journal*, v. 49, n. 8, p. 2365–2376, 2013.

RAVICHANDRAN, S. *et al.* A renewable waste material for the synthesis of a novel non-halogenated flame retardant polymer. *Journal of Cleaner Production*, v. 19, n. 5, p. 454–458, 2011.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. *Silverstein - Spectrometric Identification of Organic Compounds 7th ed. 7a Edição ed.*