

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
CAMPUS A. C. SIMÕES  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
CURSO DE FARMÁCIA

ALÍCIA VILLIAN SOARES BOMFIM

**ÓLEO ESSENCIAL DE *Croton tricolor*: AVALIAÇÃO DE REPELÊNCIA E  
TOXICIDADE CONTRA O *Tribolium castaneum***

MACEIÓ/AL  
2023

ALÍCIA VILLIAN SOARES BOMFIM

**ÓLEO ESSENCIAL DE *Croton tricolor*: AVALIAÇÃO DE REPELÊNCIA E  
TOXICIDADE CONTRA O *Tribolium castaneum***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
ao Curso de Farmácia da Universidade Federal  
de Alagoas, como requisito parcial à obtenção do  
título de Bacharelado em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Aparecido Meireles Grillo

MACEIÓ/AL

2023

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**  
Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

B695o Bomfim, Alícia Villian Soares.  
Óleo essencial de *Croton tricolor* : avaliação de repelência e toxicidade  
contra o *Tribolium castaneum* / Alícia Villian Soares Bomfim. – 2023.  
47 f. : il. color.

Orientador: Luciano Aparecido Meireles Grillo.  
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Farmácia) –  
Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Farmacêuticas.  
Maceió, 2023.

Bibliografia: f. 42-47.

1. Óleo essencial. 2. Inseticidas naturais. 3. *Tribolium castaneum*. 4.  
*Croton tricolor*. 5. Toxicidade. 6. Repelência. I. Título.

CDU: 615 : 661.168.2

## **Folha de Aprovação**

ALÍCIA VILLIAN SOARES BOMFIM

### **ÓLEO ESSENCIAL DE *Croton tricolor*: AVALIAÇÃO DE REPELÊNCIA E TOXICIDADE CONTRA O *Tribolium castaneum***

Trabalho de Conclusão de Curso submetido à banca examinadora do curso de Farmácia da Universidade Federal de Alagoas e aprovada em 01 de junho de 2023.

---

Prof. Dr. Luciano Aparecido Meireles Grillo (ICF/UFAL) (Orientador)

#### **Banca examinadora:**

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Mariana de Macêdo Costa Batalha, CESMAC (Examinador Externo)

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Camilla Camerino Santana Davino Freire, UFAL (Examinador Interno)

Aos meus pais, Alana e Valdir, por sonharem meus sonhos junto comigo e me darem força para realizá-los. Por todo apoio, confiança e amor depositados em mim.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por ser minha força e minha proteção.

À minha família, meus pais e meu irmão, por serem meu alicerce e meus maiores motivadores durante toda graduação e vida, meus avós pelo cuidado que sempre tiveram por mim, meus tios e tias por todo carinho e incentivo, meus primos e primas pela parceria e laços que ultrapassam o sangue, madrinhas e padrinhos e todos aqueles que fazem parte do que sou hoje.

Aos meus amigos, os que agora chamo de colegas de profissão, por tornarem o caminho mais leve, e a todos eles por serem descanso, escuta e alegria nos dias difíceis, afeto e companheirismo em todos os dias. Minha família do coração.

Aos meus professores, pelo conhecimento acadêmico e, sobretudo, de vida, meus orientadores de monitoria e preceptores de estágio que contribuíram imensamente para minha formação profissional e pessoal.

À Universidade Federal de Alagoas, por ter sido minha segunda casa durante todos esses anos, e ao Instituto de Ciências Farmacêuticas por fomentar o meu encanto por essa profissão.

Ao meu orientador de pesquisa e de TCC, pela oportunidade e confiança, ao Laboratório de Bioquímica Metabólica e seus integrantes, pelo acolhimento, disposição e por todo conhecimento que me foi passado durante todos os projetos.

E a todos os outros que de alguma forma fizeram parte dessa trajetória e contribuíram para que chegasse até aqui, meu muito obrigado.

## RESUMO

Estudos realizados com óleos essenciais de plantas demonstraram um potencial destes como inseticidas naturais que podem atuar para o controle de pragas de produtos armazenados, como o *Tribolium castaneum*, sendo assim uma alternativa interessante em relação aos inseticidas convencionais que podem causar uma série de danos à saúde dos seres humanos e ao meio ambiente. Neste aspecto, os óleos essenciais de plantas do gênero *Croton* apresentam-se de forma promissora no controle de insetos-praga, sendo o óleo essencial da espécie *Croton tricolor* reconhecido como um extrato natural não tóxico para mamíferos. Diante disso, esse estudo buscou avaliar o potencial de toxicidade e repelência dos óleos essenciais dos ramos e das folhas de *C. tricolor*, uma espécie de planta aromática coletada no interior do estado de Alagoas, contra o *T. castaneum*. Além de estimar a DL50, e avaliar a composição química destes óleos e seus os efeitos sob o perfil metabólico dos insetos. A avaliação do potencial de toxicidade ocorreu por meio do ensaio de biotoxicidade de contato, e a análise potencial de repelência dos óleos essenciais contra o inseto, foi feita com base no método de Baccari e colaboradores (2020) obtendo ao final, promissores e positivos resultados em relação a ambos os testes, apesar do mecanismo de ação não estar claramente elucidado, sendo possível estimar a LD50 em soluções com concentração de, aproximadamente, 5% do óleo essencial, e percentual de repelência entre 70% e 100%, classe IV e V, de acordo com McDonald e colaboradores (1970). A análise da composição química dos óleos foi realizada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas e foram identificadas variações de terpenos como compostos majoritários. Entretanto, foram observados resultados inconclusivos quanto às alterações provocadas pelos óleos essenciais no perfil metabólico dos insetos.

**Palavras-chave:** óleo essencial. *Croton tricolor*. inseticida. *Tribolium castaneum*.

## ABSTRACT

Studies carried out with plant essential oils have demonstrated their potential as natural insecticides that can act to control stored product pests, such as *Tribolium castaneum*, thus being an interesting alternative to conventional insecticides that can cause a series of health damages. of humans and the environment. In this regard, the essential oils of plants of the genus *Croton* show promise in the control of insect pests, with the essential oil of the species *Croton tricolor* recognized as a natural extract that is non-toxic for mammals. Therefore, this study sought to evaluate the potential toxicity and repellency of essential oils from the branches and leaves of *C. tricolor*, a species of aromatic plant collected in the interior of the state of Alagoas, against *T. castaneum*. In addition to estimating the LD50, and evaluating the chemical composition of these oils and their effects on the metabolic profile of insects. The assessment of the potential for toxicity was carried out through the contact biotoxicity test, and the potential analysis of the repellency of essential oils against the insect was carried out based on the method by Baccari and collaborators (2020), obtaining, in the end, promising and positive results. in relation to both tests, despite the mechanism of action not being clearly elucidated, it is possible to estimate the LD50 in solutions with a concentration of approximately 5% of the essential oil, and repellency percentage between 70% and 100%, class IV and V, according to McDonald et al. (1970). The analysis of the chemical composition of the oils was performed by gas chromatography coupled to mass spectrometry and variations of terpenes were identified as major compounds. However, inconclusive results were observed regarding changes caused by essential oils in the metabolic profile of insects.

**Keywords:** Essential oil; *Croton tricolor*; Insecticide; *Tribolium castaneum*.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	<i>Tribolium castaneum</i> , fase adulta	13
Figura 2	Ciclo de vida do <i>T. castaneum</i>	14
Figura 3	Aparelho tipo Clevenger modificado	17
Figura 4	Coleta do material vegetal (folhas e ramos de <i>C. tricolor</i> )	21
Figura 5	Material vegetal armazenado em saco com Zip Lock	22
Figura 6	Extração dos óleos essenciais por hidrodestilação	23
Figura 7	Adultos de <i>T. castaneum</i> da colônia do LBM-UFAL	24
Figura 8	Teste de repelência	25
Quadro 1	Classes de Percentual de Repelência	26
Figura 9	Mortalidade de insetos adultos de <i>T. castaneum</i>	29
Figura 10	Resultados do percentual de repelência (PR)	31
Figura 11	Análise de proteínas totais de <i>T. castaneum</i>	32
Figura 12	Análise de triglicerídeos de <i>T. castaneum</i>	33
Figura 13	Análise de colesterol total de <i>T. castaneum</i>	34
Figura 14	Análise de glicose de <i>T. castaneum</i>	35
Figura 15	Análise de açúcares totais de <i>T. castaneum</i>	36
Figura 16	Cromatograma de fluxo iônico de CG-EM do OER de <i>C. tricolor</i>	38
Figura 17	Cromatograma de fluxo iônico de CG-EM do OEF de <i>C. tricolor</i>	39

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição química do óleo essencial de ramos de <i>C. tricolor</i> .	38
Tabela 2	Composição química do óleo essencial de folhas de <i>C. tricolor</i>	39

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OE	Óleo essencial
OER	Óleo essencial dos ramos
OEF	Óleo essencial das folhas
Fig.	Figura
Tris	Tris-(hidroximetil)-aminometano
LD50	Dose letal 50
LD90	Dose letal 90
PR	Percentual de repelência
UFAL	Universidade Federal de Alagoas
TR	Tempo de retenção

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	13
2.1 <i>Tribolium castaneum</i> , uma praga de produtos armazenados .....	13
2.2 Produtos de origem vegetal: óleos essenciais e suas aplicações .....	15
2.2.1 Extração de óleos essenciais.....	16
2.2.2 Uso de óleos essenciais como inseticidas naturais .....	17
2.3. A família Euphorbiaceae, o gênero Croton e a espécie Croton tricolor (CROTON TRICOLOR KLOTZSCH EX BAILL) .....	18
3. OBJETIVOS .....	20
3.1. Objetivo geral .....	20
3.2. Objetivos específicos .....	20
4 METODOLOGIA.....	21
4.1 Coleta do material vegetal.....	21
4.2. Extração dos óleos essenciais .....	22
4.3. Insetos utilizados.....	23
4.4. Bioensaio de toxicidade de contato.....	24
4.5. Teste de repelência.....	25
4.6. Avaliação dos índices bioquímicos .....	26
4.7. Análise estatística .....	27
4.8. Análise da composição dos óleos essenciais por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) .....	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	29
5.1. Bioensaio de toxicidade de contato.....	29
5.2. Teste de repelência.....	31
5.3. Análises bioquímicas .....	32
5.3.1. Proteínas totais .....	32
5.3.2. Triglicerídeos .....	33
5.3.3. Colesterol.....	34
5.3.4. Glicose.....	35
5.3.5. Açúcares totais .....	36
5.4. Análise cromatográfica da composição química dos óleos essenciais .....	37
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	41
REFERÊNCIAS .....	42

## 1 INTRODUÇÃO

O *Tribolium castaneum* (Ordem: Coleoptera), também conhecido como besouro vermelho da farinha, é uma conhecida praga de produtos armazenados que infesta, principalmente, grãos como o trigo, arroz, milho e leguminosas, causando consideráveis prejuízos econômicos, uma vez que estas são tradicionais fontes de alimento mundial amplamente cultivadas, sendo sua conservação efetiva de grande importância. Devido aos padrões de cultivo e armazenamento prolongado desses alimentos, percebe-se sua significativa vulnerabilidade a várias perdas, especialmente aquelas provocadas por infestações de insetos-praga. Para que isso seja evitado faz-se necessário um controle eficiente.

Atualmente, os inseticidas convencionais que são utilizados pela indústria, organofosforados e carbamatos, produzem graves efeitos ao meio ambiente, assim como trazem uma série de problemas à saúde aos consumidores (Salem et al, 2007), aliado a isso, o seu uso extensivo e indiscriminado tem resultado no desenvolvimento de resistência dos insetos contra esses produtos químicos, impactando no seu manejo e controle.

Alguns estudos recentes identificaram vários extratos naturais à base de plantas como promissores em atividade inseticida contra pragas de grãos armazenados (Tatun et al., 2014; Tripathi et al., 2009), podendo atuar por meio de vários mecanismos de ação no manejo destes insetos, como por exemplo, atuando como repelentes, inibidores de alimentação, crescimento e oviposição, e exercendo atividade inseticida ao mesmo tempo (Mohan e Fields, 2002).

Nesse sentido, espécies vegetais do gênero *Croton*, plantas aromáticas que possuem a capacidade de biossintetizar óleos essenciais, demonstraram atividades comprovadas através de estudos como potenciais inseticidas contra algumas ordens de inseto, a exemplo da Coleoptera (LIMA et al., 2013a; SANTOS et al., 2019; MAVUNDZA et al., 2013; LIMA et al., 2013b). Sendo, o óleo essencial da espécie *Croton tricolor* um promissor agente contra esse tipo de praga, que é reconhecidamente não tóxico para mamíferos (DE FRANÇA-NETO et al., 2012).

Dessa forma, este trabalho objetivou tanto avaliar o potencial de toxicidade e repelência dos óleos essenciais dos ramos e das folhas de *C. tricolor*, espécie de planta aromática nativa da Caatinga coletada no interior do estado de Alagoas, sob os insetos adultos de *T. castaneum*, assim como realizar a caracterização química dos

óleos essenciais por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas e analisar o perfil bioquímico dos insetos após exposição a esse tratamento.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 *Tribolium castaneum*, uma praga de produtos armazenados

O *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) (**figura 1**), ou besouro vermelho da farinha, é um inseto holometábolo, ou seja, passa por uma metamorfose completa durante o seu desenvolvimento (fase embrionária (ovo), larva, pupa e fase adulta) (**fig. 2**), com um ciclo de vida que dura entre 30 a 40 dias, quando em temperatura favorável de 35 °C e com umidade relativa do ar de 70% (BERNARDO QUÍMICA, 2006). O inseto adulto dessa espécie apresenta coloração castanho-avermelhada, medindo cerca de 3 a 4 mm, com corpo achatado e duas depressões transversais na cabeça (ELIAS et al., 2008).

**Figura 1** – *Tribolium castaneum*, fase adulta

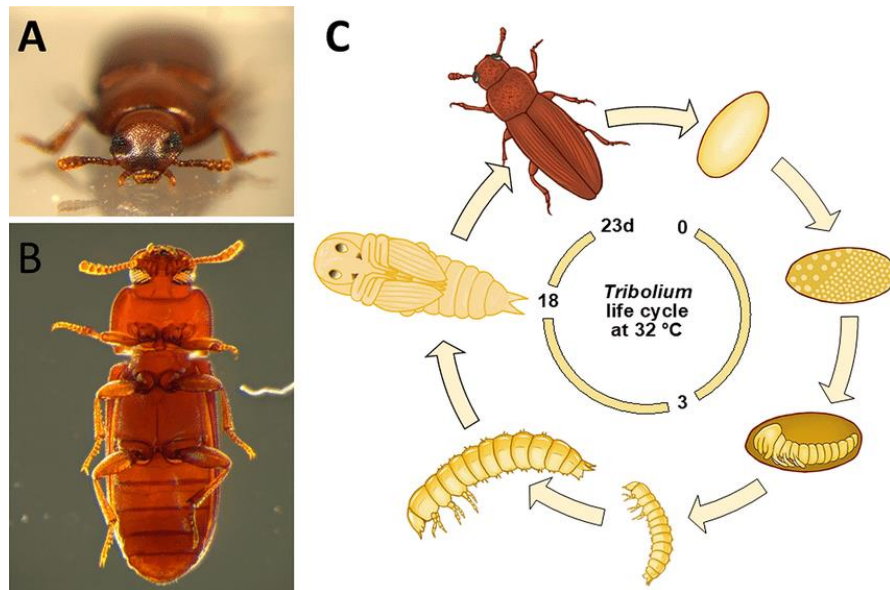


5495459

**Fonte:** Emilie Bess (disponível em: <https://www.insectimages.org/browse/autimages.cfm?aut=71856>)

- Acesso em 13 de maio 2023

**Figura 2** – Ciclo de vida do *T. castaneum*



**Fonte:** Benjamin Schwarz (disponível em: <https://www.researchgate.net/journal/EvoDevo-2041-9139>)  
- Acesso de 13 de maio de 2023

É evidente que é uma praga cosmopolita e polífaga, alimentando-se de uma ampla gama de produtos estocados, compreendendo grãos, leguminosas, cacau e especiarias (Mahroof e Hagstrum, 2012). Podendo ser descrito mais do que isso, como um inseto de rápido crescimento populacional quando comparado a outros desta classe (MERTZ, 1971). Esse inseto provoca os danos ao se alimentar do germe e do endosperma dos grãos, contaminando-os com partes do corpo e fezes, associando-se ao crescimento do *Aspergillus flavus*, espécie de fungo capaz de liberar toxinas, devido ao aumento da umidade e produção de poeira por sua rápida multiplicação (KHAREL et al., 2019; MEHMOOD et al., 2018).

Os danos pós-colheita causados por pragas de grãos armazenados foram estimados em 10-40% em todo o mundo (Matthews e Hislop, 1993). Até o momento, inseticidas químicos têm sido empregados extensivamente para o controle de *T. castaneum*, devido à legislação de exportação e tolerância zero para insetos vivos em commodities comerciais, porém por causa do seu uso constante, a resistência foi estabelecida na população da praga (Hu et al., 2019). Além disso, outros malefícios advindos do uso desses produtos também podem ser citados, como o desenvolvimento de ameaça à saúde humana e ao meio ambiente, perturbando assim



o ecossistema, assim como o elevado custo dos tratamentos que, desta forma, exige novas alternativas de controle dos insetos. Diante disso, atualmente têm-se pesquisado acerca do uso de compostos alternativos, a exemplo dos óleos essenciais, que não ofereçam ameaça à saúde humana nem à qualidade dos grãos e atuem como substitutos eficazes de inseticidas químicos sintéticos para o controle de uma grande variedade de insetos.

## **2.2 Produtos de origem vegetal: óleos essenciais e suas aplicações**

As plantas são uma importante fonte de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais, pode-se utilizar para a síntese de inúmeros fármacos (WALL;WANI, 1996). Os óleos essenciais são metabólitos secundários derivados de plantas aromáticas, compostos por misturas complexas de componentes químicos voláteis. São responsáveis pela fragrância de muitas plantas, podendo ser obtidos de várias de suas partes, como flores, folhas, frutos, sementes, raízes, rizomas e caules (BAKKALI et al., 2008; TISSERAND; BALACS, 1999). Em sua grande maioria apresentam-se como essências líquidas à temperatura ambiente, e são usualmente pouco solúveis em água e solúveis em solventes orgânicos.

Os metabólitos secundários possuem ações biológicas que garantem benefícios adaptativos, protegendo as plantas contra herbívoros e infecções causadas por microrganismos patogênicos, agindo como atrativos (aroma, cor, sabor) para polinizadores e dispersores de sementes, bem como funcionam como agentes de competição entre plantas, e de simbiose entre plantas e microrganismos (TAIZ; ZEIGER, 2009). Diferentemente dos metabólitos primários, os secundários, geralmente apresentam-se em baixas concentrações e em determinados grupos de plantas (BERG; TYMOCZKO; STRYER, 2008), sendo muitos de importância comercial não apenas na área farmacêutica, mas também nas áreas alimentar, agrônômica, de perfumaria, entre outras (SIMÕES et al., 2007).

Em relação a composição química dos óleos essenciais, esta pode ser determinada por fatores genéticos e por interações entre a planta e o ambiente no qual ela se encontra, que podem acarretar alterações significativas na produção dos metabólitos secundários. (VASCONCELOS, I. R. A, 2015). Os fatores ambientais como as interações planta-microrganismos, planta-insetos e planta-planta; idade e estágio do desenvolvimento, fatores abióticos como luminosidade, temperatura,

pluviosidade, nutrição, época e horário de coleta, técnicas de coleta e após-coleta, também podem apresentar influência isoladamente ou em conjunto sob o metabolismo secundário da planta. (MORAIS, 2006). Dessa forma, entende-se que a composição do óleo essencial de uma mesma planta pode variar a depender de qual órgão ele foi extraído, e que mesmo que extraído do mesmo órgão, fatores como época da coleta, condições climáticas e do solo, e o tipo de cultivo, também podem apresentar interferência significativa.

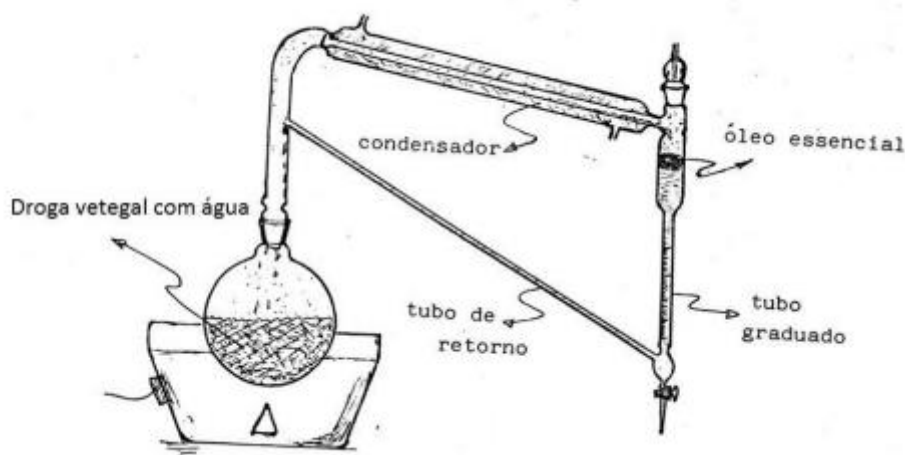
Estes óleos possuem uma composição complexa, podendo conter de algumas dezenas a várias centenas de componentes químicos, particularmente hidrocarbonetos (terpenóides) e compostos oxigenados, ambos responsáveis pelos odores característicos e sabores (ANITESCU; DONEANU; RADULESCU, 1997). Os compostos terpênicos mais frequentemente encontrados nos óleos voláteis são os monoterpenos e os sesquiterpenos (SIMÕES et al., 2007), sendo os monoterpenos muito utilizados na indústria de perfumes e fragrâncias por suas propriedades flavorizantes, e os sesquiterpenos participando ativamente dos processos de interação entre planta-planta, planta-inseto e planta-patógeno, servindo de proteção contra ataques de predadores (FEHLBERG, 2011). Normalmente, numa mistura, um dos compostos apresenta maior concentração, outros compostos apresentam menores teores e alguns apresentam quantidades muito pequenas, chamados traços (FILIPPIS, 2001).

### 2.2.1 Extração de óleos essenciais

Podem ser utilizados diferentes métodos de extração para isolar tais óleos, devendo-se ressaltar que, a depender do método, a composição do óleo pode variar significativamente (CASSEL et al., 2009). Dentre os métodos de extração mais utilizados estão: a hidrodestilação, extração por solventes orgânicos, destilação a vapor, extração por fluido supercrítico, prensagem a frio, enfloração, dentre outros. Devido a alta capacidade de volatilização dos óleos essenciais sob efeito do aumento de temperatura, a técnica de extração por destilação foi muito disseminada, para a grande maioria das plantas, e a hidrodestilação, em específico, tem sido muito utilizada em escala laboratorial em virtude de sua praticidade e baixo custo.

O método de extração por destilação consiste na separação de componentes de uma mistura por meio da diferença da pressão de vapor, sendo assim, os constituintes do óleo essencial, após contato com a água aquecida, sofrerão pressão das moléculas de vapor da água que induzirá o processo de ebulição. Na hidrodestilação, o vapor, que consiste na mistura de óleo e água, passa por um condensador, onde ocorre seu resfriamento (SILVA, 2011) e, como os componentes voláteis e a água são imiscíveis, ocorre a formação de duas fases líquidas que podem ser separadas (SATOR, 2009). A hidrodestilação diferencia-se da destilação a vapor apenas na forma em que a biomassa é acondicionada no sistema de extração. É empregado a esse método o uso de aparelho do tipo Clevenger (**fig. 3**), para a realização da avaliação do rendimento do óleo essencial ou até mesmo para a produção em pequena escala. No entanto, essa metodologia pode degradar alguns compostos presentes no óleo, uma vez que a matéria-prima permanece em contato direto com a água quente por longo período de tempo (SERAFINI et al., 2002). Ademais, também pode-se observar neste método, que a composição dos óleos pode ser influenciada pelo contato com a água, tempo de extração e velocidade de aquecimento (PRINS, C. L., 2006).

**Figura 3** - Aparelho tipo Clevenger modificado acoplado a balão com manta de aquecimento



Fonte: AZEVEDO, J. P., 2016

### 2.2.2 Uso de óleos essenciais como inseticidas naturais

Propiciados por seus metabólitos secundários, os mecanismos próprios de defesa das plantas, como o de proteção contra herbívoros e patógenos, têm sido tema

de pesquisas que apontam que os óleos essenciais derivados das plantas surgem como promissoras alternativas ao uso dos inseticidas químicos sintéticos usados atualmente contra uma variedade de insetos. Os terpenos e seus derivados, um dos componentes majoritários dos óleos essenciais, têm sido amplamente pesquisados devido a suas atividades biológicas, como larvicida, ovicida e inseticida, assim como antibacteriana, antifúngica, dentre outras (KNAAK; FIUZA, 2010).

Estudos recentes identificaram vários extratos naturais à base de plantas como promissores em atividade inseticida contra pragas de grãos armazenados (Tatun et al., 2014; Tripathi et al., 2009), podendo atuar por meio de vários mecanismos de ação no manejo destes insetos, como por exemplo, atuando como repelentes, inibidores de alimentação e oviposição, e exercendo atividade inseticida (Mohan e Fields, 2002). Alia-se a isso, o fato de que esses produtos são derivados de fontes orgânicas, que são biodegradáveis, gerando um impacto menor ao meio ambiente. Entretanto, estes óleos estão sujeitos a degradação devido sua instabilidade, fazendo-se necessárias a adoção de medidas que preservem suas atividades biológicas.

### **2.3. A família Euphorbiaceae, o gênero Croton e a espécie Croton tricolor (CROTON TRICOLOR KLOTZSCH EX BAILL)**

A família *Euphorbiaceae*, pertence à ordem *Malpighiales*, e constitui a sexta maior família desta ordem, compreendendo 317 gêneros e 7500 espécies de ervas, subarbustos, trepadeiras e árvores, distribuídas principalmente nos trópicos e subtropicais (SANTOS et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2007). Em questões de relevância econômica desta família, destacam-se as espécies *Hevea brasiliensis*, produtora de látex, a *Ricinus communis* (mamona), fonte de óleo de rícino, fibras vegetais e compostos químicos usados na medicina, e a *Manihot esculenta* (mandioca), uma fonte de alimento muito importante, especialmente no nordeste brasileiro. Além disso, no Brasil, podem ser encontrados cerca de 72 gêneros distribuídos em mais de 1.100 espécies, em variadas formas de vida, sendo o gênero *Croton* um dos mais abrangentes em número de espécies (BARROSO, 1991; WEBSTER, 1994; SANTOS et al., 2005).

O gênero *Croton* L. pertencente à família *Euphorbiaceae*, subfamília *Crotonoideae*, possui 1.300 espécies (STEVENS, 2012), e é o segundo maior gênero

desta família, suas espécies estão distribuídas predominantemente pelo continente americano, sendo o Brasil um dos principais centros de diversidade do gênero, apresentando cerca de 300 espécies encontradas em várias vegetações do território nacional (Berry et al. 2005). Embora ainda existam poucos estudos recentes relacionados ao gênero no Brasil, dificultando assim o reconhecimento de suas espécies, este gênero possui forte potencial econômico, especialmente para a indústria farmacêutica, devido aos diversos metabólitos secundários, como alcalóides, flavonóides e terpenóides (Rizsck 1987; Payo et al. 2001), que atribuem propriedades terapêuticas a muitas espécies, usadas inclusive em preparações aplicadas no tratamento de muitas doenças como tumores, ansiedade, reumatismo, tuberculose e sintomas gastrointestinais (MATOS, 2000; PALMEIRA, 2006).

Mais do que suas propriedades terapêuticas, o gênero *Croton* têm sido alvo de estudos sobre suas capacidades como potencial repelente, adulticida, pupicida, larvicida, ovicida e/ou de dissuasão da oviposição de algumas espécies contra diversos insetos das ordens Coleoptera, Diptera, Isoptera e Lepidoptera, por meio da utilização de seus óleos essenciais, extratos ou pós de folhas, ramos, raízes e sementes (MIRANDA, L. N., 2022). Esse gênero possui muitas espécies que são produtoras de óleo, tendo os monoterpenoides, sesquiterpenoides e fenil terpenóides identificados como constituintes majoritários através de análise químicas.

A *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill é uma espécie produtora de óleo essencial considerado não tóxico para mamíferos (FRANÇA-NETO, A. et al., 2010), nativa da flora brasileira, com distribuição nos domínios da Caatinga, Cerrado e Floresta Atlântica (FLORA DO BRASIL, 2020), podendo ser encontrada principalmente na porção leste do Brasil (Alagoas, Bahia, Ceará, Minas Gerais, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Sergipe, São Paulo, Paraná) (Gomes 2006). É conhecida popularmente como marmeleiro prateado, ou Sacatinga, e é um arbusto de ramos delgados, cilíndricos e escabros, sendo as cascas do caule utilizadas para tratar cólicas intestinais (ALBUQUERQUE; ANDRADE, 2002; CATUNDA JUNIOR., 2003). Ocorre em ambientes xéricos integrando a vegetação de caatinga sobre solo arenoso ou pedregoso, sendo mencionada principalmente para serras e chapadas de origem sedimentar (Chapada do Araripe, Serra Negra no município de Floresta) (SILVA et al., 2010).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo geral

Analisar o potencial de repelência e toxicidade do óleo essencial de *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill sob insetos adultos de *Tribolium castaneum*.

#### 3.2. Objetivos específicos

- Avaliar a toxicidade de contato do óleo essencial de ramos e do óleo essencial de folhas de *C.tricolor* sob insetos adultos de *T. castaneum*
- Avaliar o potencial de repelência do óleo essencial de ramos e do óleo essencial de folhas de *C.tricolor* sob insetos adultos de *T. castaneum*
- Estimar a LD50 do óleo essencial de *C. Tricolor* sob o *T. castaneum*
- Realizar um comparativo entre as diferenças dos efeitos provocados pelos óleos essenciais dos ramos e das folhas de *C. Tricolor*
- Investigar alterações bioquímicas entre grupo controle e os insetos vivos após exposição ao óleo essencial dos ramos e das folhas
- Analisar a composição dos óleos essenciais de *C. tricolor* por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Coleta do material vegetal

A coleta do material vegetal dos ramos e folhas da espécie *Croton tricolor* Klotzsch ex Baill. (Família: Euphorbiaceae) (**fig. 4**) de diferentes espécimes ocorreu no Assentamento Gastone Beltrão, localizado no município Olho D'água do Casado no estado brasileiro de Alagoas, coordenadas geográficas 9°30'59.7"S 37°50'56.4"W no dia 26 de setembro de 2021. A amostra coletada foi armazenada sob refrigeração em saco plástico com Zip Lock (**figura 5**) e conduzida ao Laboratório de Farmacognosia do Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas no qual foi feita a separação entre ramos e folhas. Posteriormente, cada amostra foi triturada separadamente e mantida em refrigeração até a extração dos óleos essenciais.

**Figura 4** – Coleta do material vegetal (folhas e ramos de *C. tricolor*)



Fonte: Silva, M. W. B., 2023

**Figura 5** – Material vegetal armazenado em saco plástico com Zip Lock



Fonte: Silva, M. W. B., 2023

#### **4.2. Extração dos óleos essenciais**

Após serem separados, os ramos e as folhas de *Croton tricolor* foram triturados e submetidos à hidrodestilação em equipamento Clevenger (**fig. 6**). Foram utilizados 200 g de ramos e 120 g de folhas de *Croton tricolor* para a extração, e 1000 ml de água deionizada foram utilizados como solvente, sendo a ebulição deste o indicador de início do processo de destilação. O processo completo teve duração de aproximadamente 5 (cinco) horas. A fase oleosa foi separada da fase aquosa utilizando um funil de separação e a água residual foi removida adicionando sulfato de sódio anidro. Por fim, os óleos essenciais foram armazenados em frascos de vidro âmbar com a respectiva identificação (OERCT - óleo essencial dos ramos de *C. tricolor* e OEFCT - óleo essencial da folhas de *C. tricolor*) e mantidos em freezer (-1°C a -4°C) até a utilização.



**Figura 6** – Extração dos óleos essenciais por hidrodestilação



Fonte: Silva, M. W. B., 2023

### 4.3. Insetos utilizados

Foram utilizados insetos adultos não-sexados de *Tribolium castaneum* (Herbst. 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) (**figura 7**) coletados da cultura mantida pelo Laboratório de Bioquímica Metabólica (LBM) do Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas, na qual são criados em meio de cultura de farinha de trigo (umidade: 72% a 76%, temperatura: 23°C a 29°C, ciclo claro-escuro: 12 horas). Os insetos utilizados nos experimentos do bioensaio de toxicidade de contato e para a avaliação do potencial de repelência eram adultos jovens não sexados (até 07 dias). Já os insetos adultos de *T. castaneum* utilizados na avaliação do perfil bioquímico não tiveram sua idade mensurada.

**Figura 7** – Adultos de *T. castaneum* da colônia mantida pelo LBM-UFAL



Fonte: Bomfim, A. V. S., 2023

#### 4.4. Bioensaio de toxicidade de contato

No bioensaio de toxicidade de contato foram utilizadas soluções contendo as seguintes concentrações dos óleos essenciais de ramos e folhas de *C. tricolor*: 5, 7,5, 10, 12,5 e 15%, sendo empregue acetona como solvente. Primeiramente, os insetos adultos não sexados eram coletados da colônia e separados por grupos de 10, em placas de petri, em seguida, eram submetidos a refrigeração por 1 minuto, com a finalidade de diminuir sua mobilidade durante o processo e facilitar seu manuseio (DEB; KUMAR, 2020)., e colocados em placa de petri de porcelana para realização do teste.

Após a preparação da solução, esta era homogeneizada em aparelho agitador vortex, e 2 $\mu$ l eram aplicados topicamente sob cada um dos insetos em sua região mesotorácica, com auxílio de pipeta. Aguardava-se 2 minutos e os insetos eram então transferidos para potes plásticos contendo sua alimentação de costume (farinha de trigo). O processo era realizado em grupos de 10 insetos por vez. Cada pote continha identificação adequada e era armazenado sob as mesmas condições de umidade e temperatura habituais dos insetos. Foi feita a análise da mortalidade dos insetos após 24, 48 e 72h do experimento para identificação de LD50 e LD90. Foram considerados mortos os insetos que perderam a mobilidade. O teste foi realizado em triplicata para cada uma das concentrações de cada óleo essencial. O controle do ensaio foi realizado com acetona em substituição ao óleo essencial, na mesma metodologia.

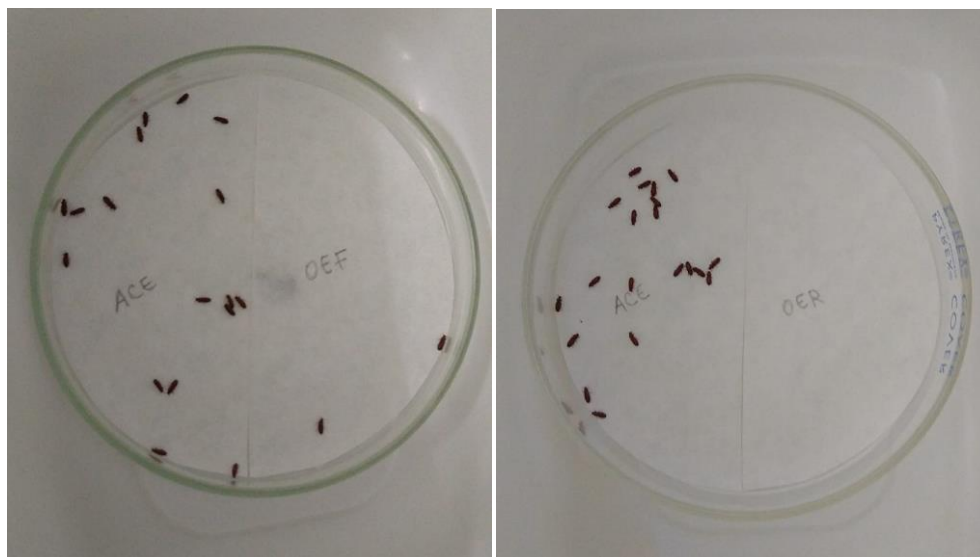
#### 4.5. Teste de repelência

O experimento foi desenvolvido com base no método de preferência de área apresentado por Baccari e colaboradores em 2020. Primeiramente, eram preparados semicírculos de papel filtro de 9cm de tamanho para serem colocados no fundo das placas de petri de vidro que seriam utilizadas. Foi preparada uma solução contendo 4µl de óleo essencial diluídos em 1000µl de acetona, e 500µl dessa solução foram distribuídos em um dos semicírculos de papel filtro com auxílio de pipeta graduada, com objetivo de resultar em uma concentração de aproximadamente 0,12 µl/cm<sup>2</sup>. O outro semicírculo era embebido em acetona e atuaria como controle durante o teste.

Após secarem por 10 minutos, os semicírculos de papel foram colados com fita no fundo de placas de petri de vidro, de modo a cobrir todo o fundo da placa, e identificados pelas siglas ACE (controle) e OER/OEF (tratamento com óleo essencial de ramos ou das folhas, respectivamente) (**fig. 8**). Em seguida, 20 insetos adultos eram depositados sobre a placa, que ficava em ambiente protegido da luz durante o experimento, e foi analisado e registrado o número de insetos em cada semicírculo no período de 15, 30, 60 e 120 minutos. O teste foi realizado em cinco réplicas para cada um dos óleos essenciais, e o número de insetos registrados em cada semicírculo era aplicado na fórmula de percentual de repelência:

$PR (\%) = [(Nc - Nt)/(Nc + Nt)] \times 100$ , (OBENG-OFORI; AMITEYE, 2005), onde “Nc” refere-se ao número de adultos no semicírculo controle e “Nt” ao número no semicírculo tratado com OE. Por fim, os valores obtidos foram analisados segundo as classes de PR propostas por McDonald e colaboradores (1970) (**quadro 1**). O controle positivo foi feito com repelente comercial DEET (N,N-Dietil-m-toluamida) 15% (CIMED, São Paulo, Brasil).

**Figura 8** – Teste de repelência. (A e C): semicírculo controle (acetona); (B):semicírculo com solução de óleo essencial de folhas de *C.tricolor*. (D): semicírculo com solução de óleo essencial de ramos de *C.tricolor*.



Fonte: Bomfim, A. V. S., 2023

Quadro 1 - Classes de Percentual de Repelência.

CLASSE	PERCENTUAL DE REPELÊNCIA (%)
0	> -0,1 a < 0,1
I	0,1 a 20
II	20,1 a 40
III	40,1 a 60
IV	60,1 a 80
V	80,1 a 100

Fonte: MCDONALD *et al.*, 1970.

#### 4.6. Avaliação dos índices bioquímicos

Após 24h da exposição dos insetos aos óleos essenciais de *C. tricolor*, foram feitas as análises do perfil bioquímico em busca de possíveis alterações. Verificou-se as concentrações de proteínas totais, triglicerídeos, glicose, colesterol e açúcares totais de extratos dos insetos. Inicialmente, todos os insetos foram retirados do meio de cultura, separando-se os vivos dos mortos, e em seguida todos foram devidamente lavados e secos para que não houvesse resíduos da alimentação.

Para o preparo dos extratos, os insetos vivos foram macerados em tampão TRIS, com o auxílio de gral e pistilo, transferidos para microtubos eppendorf e centrifugados a 5000 rpm à 4 °C durante 15 minutos em centrífuga refrigerada Excelsa® 4, modelo 280-R, ao término da centrifugação, o sobrenadante foi transferido para um novo microtubo e reservado para as análises. Os extratos dos

insetos vivos foram preparados para todas as concentrações testadas de ambos os óleos essenciais (ramos e folhas).

A quantificação de proteínas totais foi feita através do método de Bradford (1976), para a quantificação de triglicerídeos, glicose e colesterol foram utilizados kits comerciais das marcas BioClin e Labtest, por fim, a quantificação de açúcares totais foi realizada pelo método fenol-sulfúrico proposto por Dubois e colaboradores (1956). Todos os testes foram feitos em triplicata. O controle do ensaio foi realizado com insetos adultos de *T. castaneum* sob as mesmas condições dos insetos tratados, expostos apenas à acetona.

#### **4.7. Análise estatística**

Os valores de absorvância de cada teste foram utilizados para calcular as concentrações de cada parâmetro, seguindo suas respectivas metodologias. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism®, no qual foram inseridos dados referentes aos resultados de absorvância obtidos pelos testes de avaliação do perfil bioquímico, lidos em espectrofotômetro. Foram feitos comparativos entre os resultados do grupo controle, e dos óleos das folhas e dos ramos, para cada concentração. Sendo os resultados organizados em gráficos. As diferenças entre os dados foram determinadas pela análise de variância ANOVA, com significância quando  $p < 0,05$ .

#### **4.8. Análise da composição dos óleos essenciais por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)**

A análise dos óleos essenciais dos ramos e das folhas de *C. tricolor* foi realizada no mês de maio de 2023 por meio de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) no Laboratório de Tecnologia e Controle de Medicamentos (LABTCOM) do Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas.

A análise por cromatografia gasosa foi feita utilizando um cromatógrafo modelo Shimadzu, acoplado a um espectrômetro de massas com detector seletivo (GCMS - QP2010). Foi empregada uma coluna do tipo capilar Rtx-5 (ligação cruzada 5%

Difenilo / 95% dimetil polissiloxano) com 30 metros de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, sendo a fase móvel o gás hélio com um caudal de 0,99 mL/min. A temperatura do forno foi mantida a 35 °C por 10 min e depois programada a 180 °C por mais 10 min, em seguida a temperatura do aquecedor foi elevada, continuamente, até chegar em 250° C ao final do processo, com uma velocidade de aquecimento de 3° C por minuto. O processo teve duração total de 1h30.

A ionização foi realizada por impacto de elétrons a 70 eV. Os dados das massas espectrais foram adquiridos no modo de varredura na faixa 40 - 500 m/z. As amostras foram diluídas com hexano. O volume injetado foi de 1 µL e a identificação dos componentes do óleo foi baseada na comparação dos Índices de Retenção (IR), nos espectros de massa das mostras padrões e na comparação dos espectros de massa de cada composto com o banco de dados da biblioteca (NIST/EPA/NIH, Wiley).

A identificação dos compostos foi realizada através do software GCMS Postrun Analysis, por meio da comparação do tempo de retenção e do espectro de massas, sendo listadas na biblioteca do próprio software as substâncias que mais assemelhavam-se, estruturalmente, aos compostos identificados. Para cada pico eram listadas, em ordem decrescente, as substâncias que apresentavam semelhança em sua estrutura com aquela molécula, podendo observar o percentual de semelhança, sua forma estrutural e nomenclatura.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Bioensaio de toxicidade de contato

Como o ensaio foi realizado em triplicata, a análise da mortalidade dos insetos expostos ao óleo essencial foi realizada por grupos de 10, ao final a quantidade de insetos mortos era totalizada, e a partir desse valor foi feito o cálculo do percentual de mortos no grupo de insetos tratados com os óleos essenciais. O controle do ensaio de toxicidade foi realizado três vezes, tendo um teste com um total de 2/30 insetos mortos, ou 6,66% de mortalidade, e os demais dois testes com um total de 0 (zero) mortos em um grupo de 30 (trinta), isto é, sem mortalidade no grupo controle. Os resultados da análise da mortalidade dos insetos após tratamento com as diferentes concentrações dos óleos essenciais de ramos e das folhas foram dispostos em uma planilha para análise (**figura 9**).

**Figura 9:** Mortalidade de insetos adultos de *T. castaneum* tratados com diferentes concentrações (5, 7,5, 10, 12,5 e 15%) de óleos essenciais dos ramos (OEFCT) e das folhas (OEFCT) de *C. tricolor*

	24h	48 h	72h	Concentração
<b>OEFCT</b>				<b>5%</b>
Grupo 1	1/10	6/10	7/10	
Grupo 2	2/10	7/10	8/10	
Grupo 3	4/10	5/10	5/10	
<b>Total</b>	<b>7/30 (23,3%)</b>	<b>18/30 (60%)</b>	<b>20/30 (66,6%)</b>	
<b>OERCT</b>				
Grupo 1	1/10	4/10	5/10	
Grupo 2	4/10	6/10	7/10	
Grupo 3	2/10	4/10	5/10	
<b>Total</b>	<b>7/30 (23,3%)</b>	<b>14/30 (46,6%)</b>	<b>17/30 (56,6%)</b>	
	24h	48 h	72h	Concentração
<b>OEFCT</b>				<b>7,5%</b>
Grupo 1	4/10	7/10	7/10	
Grupo 2	3/10	5/10	6/10	
Grupo 3	5/10	6/10	6/10	
<b>Total</b>	<b>12/30 (40%)</b>	<b>18/30 (60%)</b>	<b>19/30 (63,3%)</b>	
<b>OERCT</b>				
Grupo 1	3/10	9/10	9/10	
Grupo 2	4/10	6/10	8/10	
Grupo 3	6/10	8/10	8/10	
<b>Total</b>	<b>13/30 (43,3%)</b>	<b>23/30 (76,6%)</b>	<b>25/30 (83,3%)</b>	

	24h	48 h	72h	Concentração
	OEFCT			10,0%
Grupo 1	4/10	4/10	5/10	
Grupo 2	4/10	7/10	7/10	
Grupo 3	4/10	8/10	9/10	
Total	12/30 (40%)	19/30 (63,3%)	21/30 (70%)	
	OERCT			
Grupo 1	6/10	9/10	10/10	
Grupo 2	6/10	9/10	9/10	
Grupo 3	4/10	8/10	8/10	
Total	16/30 (53,3%)	26/30 (86,6%)	27/30 (90%)	
	OEFCT			12,5%
Grupo 1	6/10	9/10	9/10	
Grupo 2	2/10	6/10	6/10	
Grupo 3	8/10	8/10	8/10	
Total	16/30 (53,3%)	23/30 (76,6%)	23/30 (76,6%)	
	OERCT			
Grupo 1	9/10	9/10	9/10	
Grupo 2	10/10	10/10	10/10	
Grupo 3	10/10	10/10	10/10	
Total	29/30 (96,6%)	29/30 (96,6%)	29/30 (96,6%)	
	OEFCT			15,0%
Grupo 1	9/10	9/10	9/10	
Grupo 2	4/10	8/10	8/10	
Grupo 3	7/10	9/10	9/10	
Total	20/30 (66,6%)	26/30 (86,6%)	26/30 (86,6%)	
	OERCT			
Grupo 1	8/10	8/10	8/10	
Grupo 2	8/10	9/10	9/10	
Grupo 3	9/10	9/10	9/10	
Total	25/30 (83,3%)	26/30 (86,6%)	26/30 (86,6%)	

Fonte: Bomfim, A. V. S., 2023

Foi possível identificar o potencial inseticida do óleo essencial de *C. tricolor* contra insetos adultos de *T. castaneum* em todas as concentrações analisadas, em 24, 48 e 72 horas após a exposição. Obtendo resultados entre 56,6%, para OERCT 5%, a 96,6% de mortalidade para OERCT 10%, ao final de 72 horas do experimento. Dessa forma, objetivando o potencial inseticida dos óleos essenciais de *C. tricolor* sob insetos adultos de *T. Castaneum*, a concentração que mais se aproxima da LD50 é a de 5% do OE, preferencialmente o OE de ramos da planta com um percentual de mortalidade de 56,6%, e a concentração que mais se aproxima da LD90 é a de 10% do OE de ramos da planta *C. tricolor*, uma vez que esta apresentou um percentual de mortalidade de 90%.

Em comparativo com o óleo essencial de folhas de *C. tricolor*, o óleo essencial dos ramos apresentou-se mais tóxico contra o *T. castaneum* na maioria das concentrações, com exceção da concentração de 5% (OER=56,6% e



OEF=66,6%), após 72 horas de exposição. A atividade inseticida destes óleos pode estar relacionada a sua concentração de terpenos, devido ao fato que esses compostos estão associados ao processo de defesa das plantas contra predadores, como os insetos (FEHLBERG, 2011).

## 5.2. Teste de repelência

Os óleos essenciais de *C. tricolor* apresentaram potencial de repelência contra insetos adultos de *T. castaneum*, nas cinco réplicas do teste, com PR entre 70 e 100% (**figura 10**) para ambos os óleos essenciais (OER e OEF), sendo o óleo essencial de ramos aquele a apresentar maior média de PR (89,5%) quando comparado ao óleo essencial de folhas (83,5%). Foi possível identificar as classes de PR com variação entre IV e V. Ambos os óleos conseguiram atingir resultados de classe V de potencial de repelência durante os testes, igualando-se ao controle positivo com repelente comercial, sendo o maior PR observado no óleo essencial de ramos no tempo de 120 minutos (92%).

**Figura 10:** Resultados do percentual de repelência (PR) dos óleos essenciais das folhas (OEF) e dos ramos (OER) de *C. tricolor* sob o *T. castaneum*, segundo análise de 15, 30, 60 e 120 minutos.

OEF (PR)	01/04	11/04	22/04	06/05	09/05	média simples
15min	80%	100%	80%	70%	70%	80%
30min	70%	70%	80%	80%	80%	76%
60min	90%	80%	100%	100%	80%	90%
120min	90%	80%	100%	90%	80%	88%
						<b>83,5% (total)</b>

OER (PR)	01/04	11/04	22/04	06/05	09/05	média simples
15min	80%	80%	100%	90%	90%	88%
30min	90%	80%	90%	90%	100%	90%
60min	90%	90%	90%	90%	80%	88%
120min	90%	70%	100%	100%	100%	92%
						<b>89,5% (total)</b>

**Fonte:** Bomfim, A. V. S., 2023

Analisou-se que os resultados encontrados neste estudo para PR dos óleos essenciais de *C. tricolor*, após 120 minutos de exposição, (OEF=83,5% e

OER=89,5%) apresentaram-se superiores a *Evodia lenticellata* (64%), *Evodia rutaecarpa* (82%) e *Zanthoxylum planispinum* (78%), entretanto inferior aos resultado de PR de *Crithmum* (93%), *Melissa officinalis* (100%) e *Ligusticum jeholense* (100%), de acordo com o estudo realizado por MIRANDA, L. N., (2022).

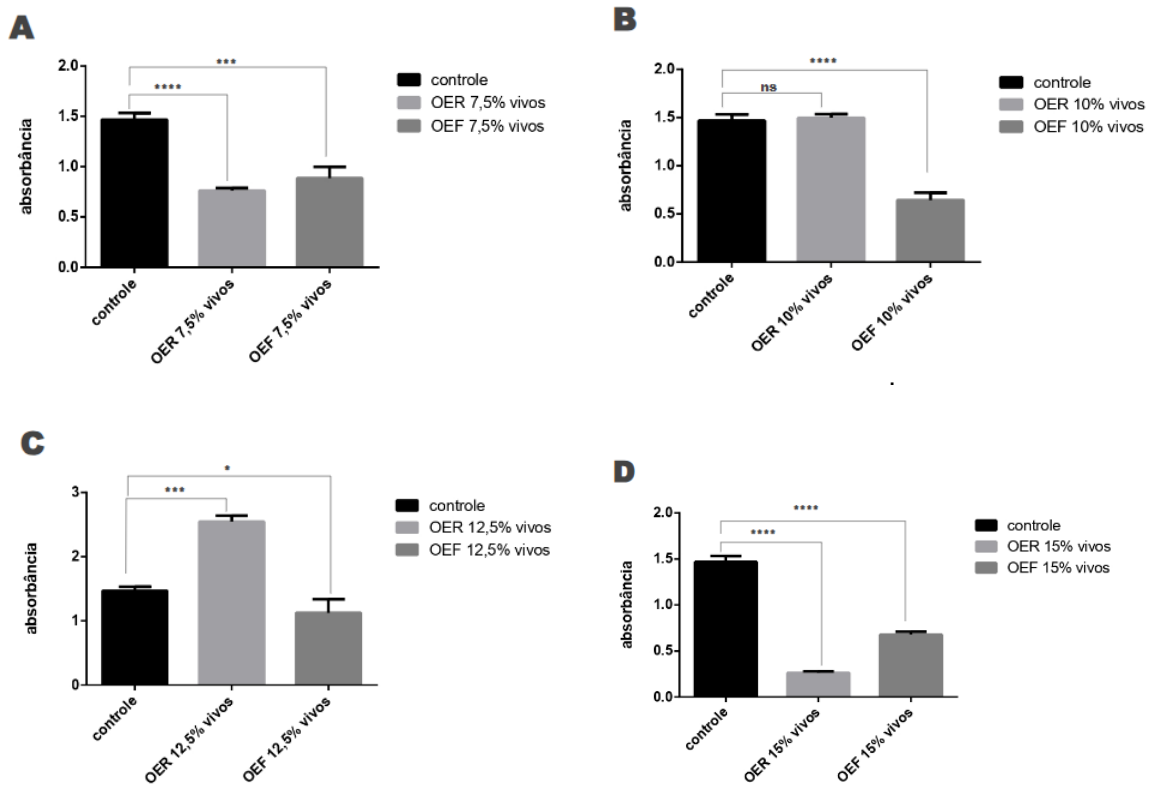
### 5.3. Análises bioquímicas

As análises foram realizadas em insetos expostos a concentrações de 7,5, 10, 12,5 e 15% de óleo essencial de ramos e do óleo essencial de folhas de *C. tricolor*, após 24h da exposição. A quantificação de triglicerídeos, colesterol, glicose e açúcares totais foi realizada usando 20µg de proteínas como parâmetro para quantificar a concentração de amostra utilizada em cada teste.

Os testes foram realizados em triplicata e os valores de absorvância, tanto dos grupos tratados com os óleos essenciais quanto de grupo controle (tratado apenas com acetona) foram medidos através de leitor espectrofotômetro e registrados em gráficos para análises estatísticas (**figuras 11, 12, 13, 14 e 15**). A diferença significativa de variância analisada por ANOVA, entre os dados do grupo controle e os grupos tratados com OE, com significância quando  $p < 0,05$ , foi mensurada através do símbolo (\*), em 4 níveis.

#### 5.3.1. Proteínas totais

**Figura 11** - Análise de proteínas totais de insetos adultos de *T. castaneum* tratados com óleo essencial de ramos (OER) e de folhas (OEF) de *C. tricolor*, após 24h. Comparação entre os valores de absorvância para proteínas entre o grupo controle e grupos de insetos vivos tratados com solução de OER e OEF com concentração de **(A)** 7,5%; **(B)** 10%; **(C)**: 12,5%; **(D)**: 15%. As barras indicam a média  $\pm$  desvio padrão da média de 3 determinações. \*: Significativamente diferente por teste de ANOVA one way,  $p < 0,05$ , sendo "ns": sem diferença significativa.

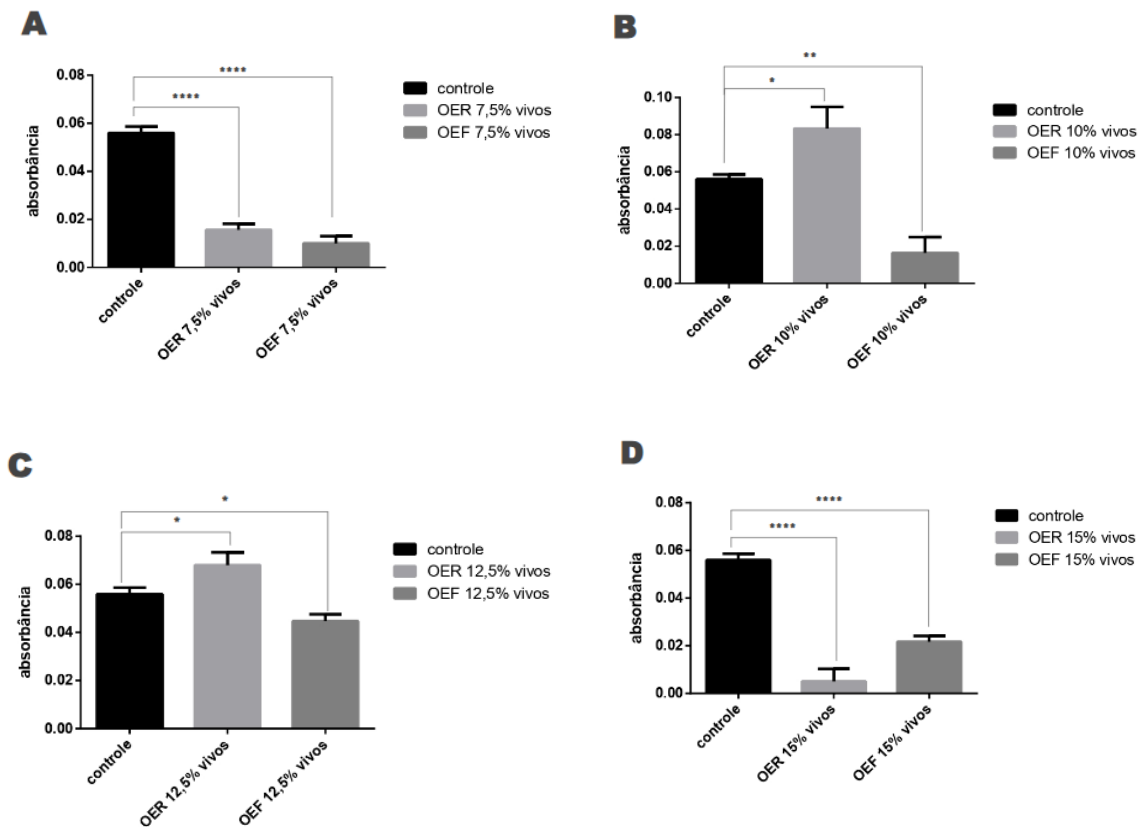


Fonte: Bomfim, A. V. S., 2023

### 5.3.2. Triglicerídeos

**Figura 12** - Análise de triglicerídeos de insetos adultos de *T. castaneum* tratados com óleo essencial de ramos (OER) e de folhas (OEF) de *C. tricolor*, após 24h. Comparação entre os valores de absorbância para triglicerídeos entre o grupo controle e grupos de insetos vivos tratados com solução de OER e OEF com concentração de (A) 7,5%; (B) 10%; (C): 12,5%; (D): 15%. As barras indicam a média ± desvio padrão da média de 3 determinações.

\*: Significativamente diferente por teste de ANOVA one way,  $p < 0,05$ , sendo "ns": sem diferença significativa.

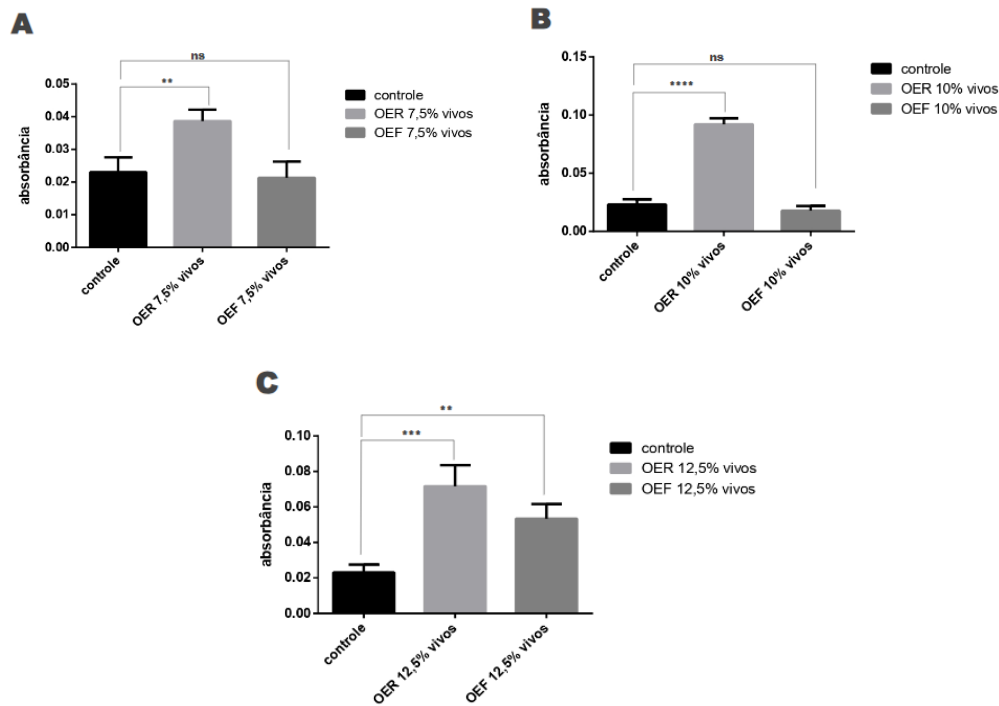


Fonte: Bomfim, A. V. S., 2023

### 5.3.3. Colesterol

**Figura 13** - Análise de colesterol total de insetos adultos de *T. castaneum* tratados com óleo essencial de ramos (OER) e de folhas (OEF) de *C. tricolor*, após 24h. Comparação entre os valores de absorbância para colesterol total entre o grupo controle e grupos de insetos vivos tratados com solução de OER e OEF com concentração de (A) 7,5%; (B) 10%; (C): 12,5%. As barras indicam a média  $\pm$  desvio padrão da média de 3 determinações.

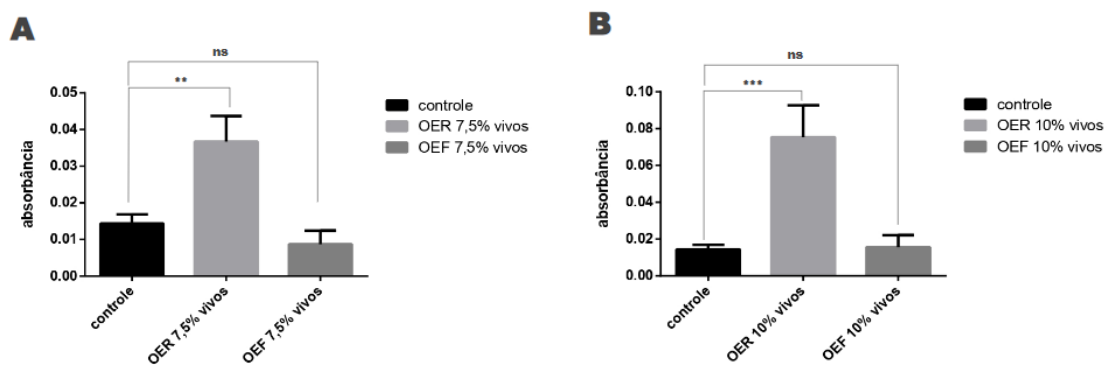
\*: Significativamente diferente por teste de ANOVA one way,  $p < 0,05$ , sendo "ns": sem diferença significativa.

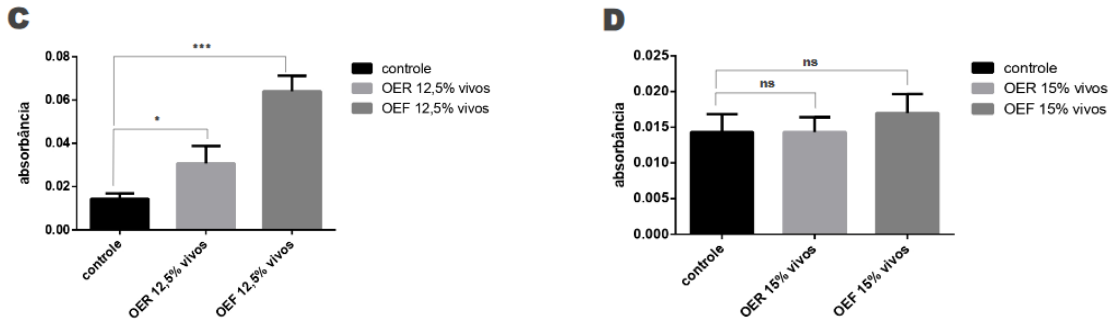


Fonte: Bomfim, A. V. S., 2023

### 5.3.4. Glicose

**Figura 14** - Análise de glicose de insetos adultos de *T. castaneum* tratados com óleo essencial de ramos (OER) e de folhas (OEF) de *C. tricolor*, após 24h. Comparação entre os valores de absorbância para glicose entre o grupo controle e grupo de insetos vivos tratados com solução de OER e OEF com concentração de (A) 7,5%; (B) 10%; (C): 12,5%; (D): 15%. As barras indicam a média ± desvio padrão da média de 3 determinações. \*: Significativamente diferente por teste de ANOVA one way,  $p < 0,05$ , sendo "ns": sem diferença significativa.

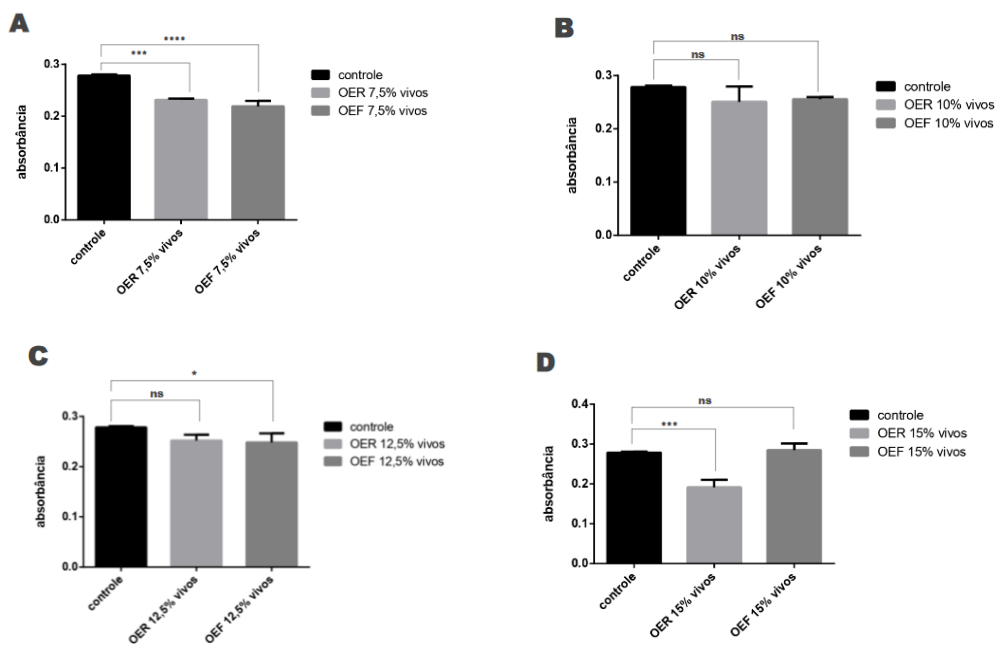




Fonte: Bomfim, A. V. S., 2023

### 5.3.5. Açúcares totais

**Figura 15** - Análise de açúcares totais de insetos adultos de *T. castaneum* tratados com óleo essencial de ramos (OER) e de folhas (OEF) de *C. tricolor*, após 24h. Comparação entre os valores de absorbância para açúcares totais entre o grupo controle e grupos de insetos vivos tratados com solução de OER e OEF com concentração de (A) 7,5%; (B) 10%; (C): 12,5%; (D): 15%. As barras indicam a média ± desvio padrão da média de 3 determinações. \*: Significativamente diferente por teste de ANOVA one way,  $p < 0,05$ , sendo “ns”: sem diferença significativa.



Fonte: Bomfim, A. V. S., 2023

Desse modo, observou-se significativa variação nos valores de absorvância e, conseqüentemente, nas concentrações desses marcadores bioquímicos nos insetos analisados, tanto em relação ao grupo controle quanto às concentrações comparadas entre si, não seguindo um padrão que pudesse constatar a influência precisa dos óleos essenciais sob os resultados, nem em relação ao tipo do óleo (dos ramos ou das folhas) ou a sua concentração. Devido às características próprias dos insetos ou aos fatores externos que porventura puderam ter atuado como interferentes, fazem-se necessários testes mais aprofundados acerca da existência de alterações provocadas no metabolismo dos insetos após exposição aos óleos essenciais, e do mecanismo de ação envolvido na atividade inseticida dos óleos essenciais de *C. tricolor*. Vale ainda reiterar que, as variações nos índices bioquímicos podem não estar relacionados aos efeitos tóxicos provocados pelos óleos essenciais de *C. tricolor* sob os insetos adultos de *T. castaneum*.

#### **5.4. Análise cromatográfica da composição química dos óleos essenciais**

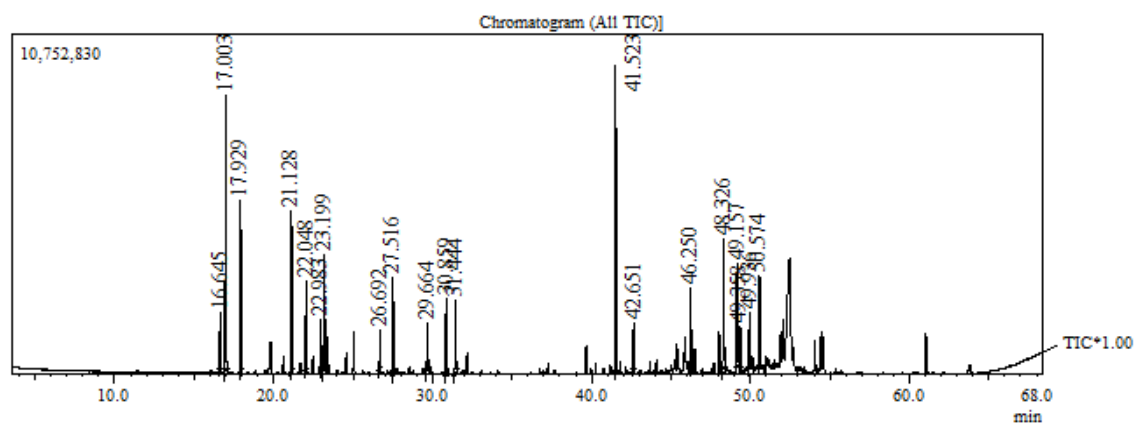
Através da análise cromatográfica foi possível identificar mais de 100 picos para ambos os óleos essenciais de *C. tricolor* analisados (folhas e ramos), extraídos por hidrodestilação, sendo os 20 compostos majoritários de cada óleo observados nos cromatogramas (**figuras 16 e 17**). A classificação dos compostos majoritários foi feita de acordo com sua percentagem relativa (PR) na amostra analisada, entretanto, vale salientar que as substâncias apontadas pela biblioteca do software não apresentaram semelhança máxima (100%) com as moléculas identificadas nos picos do cromatograma, sendo possível dizer que essa é uma estimativa da composição dos óleos essenciais. Os óleos apresentaram algumas substâncias em comum entre si em sua composição (**tabelas 1 e 2**), diferindo em porcentagem relativa e tempo de retenção.

Os compostos majoritários encontrados no óleo essencial de ramos foram: beta-Elemene (14,67%), 1R-alpha-Pinene (13,24%), Camphene (8,15%) e beta-Myrcene (7,7%). E para o óleo essencial de folhas: Germacreno (15,82%), Caryophyllene (13,12%), beta-Phellandrene (8,62%) e beta-Myrcene (7,11%). Na

composição dos óleos predominam os compostos terpênicos, tendo sesquiterpenos como o beta-Elemeno, Germacreno, Cariofileno e monoterpenos como o Linalol, Camphene e Alfa-Pineno.

## OER

**Figura 16** - Cromatograma de fluxo iônico de CG-EM do óleo essencial de ramos de *Croton tricolor*, dos 20 componentes majoritários.



Fonte: dados da pesquisa (2023)

**Tabela 1** - Composição química do óleo essencial de ramos de *C. tricolor*.  
TR = tempo de retenção; PR = percentagem relativa

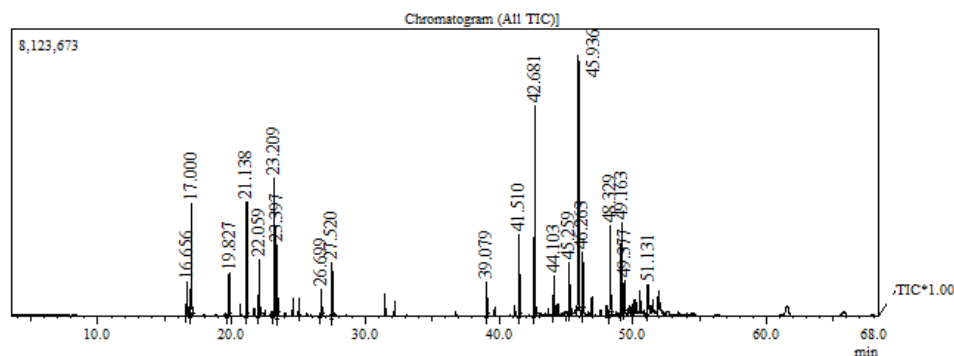
Nº	Composto	TR	PR (%)
1	alpha-Thujene	16.645	2,71
2	1R-alpha-Pinene	17.003	<b>13,24</b>
3	Camphene	17.929	<b>8,15</b>
4	beta-Myrcene	21.128	<b>7,7</b>
5	3-Carene	22.048	4,23
6	beta-Cymene	22.983	2,44
7	Isodiprene	23.199	5,6
8	4,7,7-Trimethylbicyclo(4.1.0)hept-2-ene	26.692	1,86
9	beta-Linalol	27.516	4,51
10	Alcanfor	29.664	2,23
11	L-Borneol	30.859	3,54
12	L-terpinen-4-ol	31.444	3,43
13	beta-Elemene	41.523	<b>14,67</b>
14	Caryophyllene	42.651	2,17
15	8-Isopropenyl-1,5-dimethyl-1,5-cyclodecadiene	46.250	3,86
16	Dihydroagarofuran	48.326	6,23
17	Spathulenol	49.157	4,71
18	Caryophyllene oxide	49.358	1,84
19	Guaiol	49.936	2,58
20	Epiglobulol	50.574	4,3

Fonte: dados da pesquisa (2023)



## OEF

**Figura 17** - Cromatograma de fluxo iônico de CG-EM do óleo essencial de folhas de *Croton tricolor*, dos 20 componentes majoritários.



**Fonte:** dados da pesquisa (2023)

**Tabela 2** - Composição química do óleo essencial de folhas de *C. tricolor*.

TR = tempo de retenção; PR = porcentagem relativa

Nº	Composto	TR	PR (%)
1	alpha-Thujene	16.656	02.03
2	d-alpha-Pinene	17.000	6.97
3	L-beta-Pinene	19.827	2.59
4	beta-Myrcene	21.138	<b>7.11</b>
5	3-Carene	22.059	3.47
6	beta-Phellandrene	23.209	<b>8.62</b>
7	Eucalyptol	23.397	4.41
8	2-Carene	26.699	1.61
9	Linalol	27.520	3.31
10	delta-Elemene	39.079	02.06
11	beta-Elemene	41.510	05.02
12	Caryophyllene	42.681	<b>13.12</b>
13	alpha-Caryophyllene	44.103	2.34
14	beta-copaene	45.259	3.12
15	Germacrene	45.936	<b>15.82</b>
16	8-Isopropenyl-1,5-dimethyl-1,5-cyclodecadiene	46.263	3.69
17	1-Methyl-4-methylene-2-(2-methyl-1-propenyl)-1-vinylcycloheptane	48.329	5.57
18	Spathulenol	49.163	5.54
19	10-12-Pentacosadiynoic acid	49.377	1.98
20	Spathulenol	51.131	1.62

**Fonte:** dados da pesquisa (2023)

Alguns estudos avaliaram a composição do óleo essencial de *C. tricolor*, um deles foi feito por meio de uma análise de qualificação e quantificação por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/DIC) e encontrou os seguintes componentes como compostos majoritários: biciclogermacreno (15,40%), espatulenol (10,53%) e alfa-pineno (6,83%), sendo 45% da área total do cromatograma compostos que não foram reconhecidos pelas bibliotecas (MEIRA, C.

H. F., 2019). Um outro estudo também analisou a composição química dos óleos essenciais de *C. tricolor* através do mesmo método, utilizando amostras do óleo essencial dos ramos e do óleo essencial das folhas de *C. tricolor* extraídas por hidrodestilação em equipamento Clevenger, obtendo como principais componentes: cariofileno (11,64%), espatulenol (11,60%) e  $\gamma$ -elemeno (11,47%) para as folhas, e guaiol (9,02%),  $\beta$ -Elemeno (7,63%) e dihidroagarofurano (7,20%) para os ramos (MIRANDA, L. N., 2022). Diante disso, observa-se que os óleos essenciais de *C. tricolor* apresentam uma variada constituição de terpenos, que podem diferenciar-se a depender de seus biotipos e outros interferentes.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados expostos pode-se sugerir que os óleos essenciais das folhas e dos ramos da *Croton tricolor*, são constituídos em sua grande parte por compostos terpênicos, variando entre monoterpenos e sesquiterpenos. Apresentando potencial inseticida, com mortalidade dos insetos de até 86,6% para o óleo essencial das folhas e 90% para o óleo essencial dos ramos, após 72h de exposição. Com relação ao ensaio de repelência, os resultados indicaram que o óleo essencial dos ramos demonstrou percentual repelente (PR) de 89,5%, enquanto o óleo de folhas teve 83,5% como PR. Os resultados acerca dos efeitos provocados pelos óleos essenciais ao perfil metabólico dos insetos contaram com muitas variações, podendo ser considerados então inconclusivos, fazendo-se necessárias adaptações do experimento, e análises dos dados e resultados.

Sendo assim, os dados gerais desta pesquisa sugerem que estes óleos essenciais produzidos pela espécie *C. tricolor* se apresentam como formas alternativas de controle de insetos-praga *T. castaneum*, destacando-se por serem mais seguros para mamíferos e para o meio ambiente em comparação aos inseticidas amplamente utilizados na atualidade. Entretanto, ainda é imprescindível o desenvolvimento de mais estudos relacionados ao mecanismo de ação destes óleos sob o inseto e sobre sua estabilidade a longo e curto prazo, visando um uso seguro e eficaz. Como perspectivas futuras desse trabalho destacam-se a necessidade de uma avaliação mais detalhada da composição dos óleos essenciais de *C. tricolor*, assim como uma análise mais ampla acerca de sua toxicidade e letalidade sob o *T. castaneum*.

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, U.P.; ANDRADE, L.H.C. Uso de recursos vegetais da caatinga: o caso do agreste de Pernambuco (Nordeste do Brasil). **Interciência**, v. 27, n. 7, p. 336-346, 2002.

ANITESCU, G.; DONEANU, C.; RADULESCU, V. Isolation of Coriander Oil: Comparison Between Steam Distillation and Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 12, p. 173-176, 1997.

BACCARI, W. et al. Composition and insecticide potential against *Tribolium castaneum* of the fractionated essential oil from the flowers of the Tunisian endemic plant *Ferula tunetana* Pomel ex Batt. **Industrial Crops & Products**, [s.l.], v. 193, p. 1-7, Jan. 2020.

BAKKALI F; AVERBECK S; AVERBECK D; IDAOMAR M. 2008. **Biological effects of essential oils—a review**. *Food Chem Toxicol* 46(2): 446-475.

BARROSO, G.M.; PEIXOTO, A.L.; ICHASO, C.L.F.; COSTA, C.G.; GUIMARÃES, E.F.; LIMA, H.C. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Viçosa: Imprensa Universitária – UFV. Vol. 2. 377 p. 1984.

BERG, Jeremy Mark; STRYER, Lubert; TYMOCZKO, John L. **Bioquímica**. Reverté, 2008.

BERNARDO QUÍMICA. **Manual de identificação de pragas de produtos armazenados**. 3 Ed. São Vicente, 2006.

BERRY, Paul E. et al. Filogenética molecular do gênero gigante *Croton* e da tribo *Crotoneae* (*Euphorbiaceae* sensu stricto) usando dados de sequência de DNA ITS e trnL-trnF. **American Journal of Botany**, v. 92, n. 9, pág. 1520-1534, 2005.

CASSEL, E.; VARGAS, R. M. F., MARTINEZ, N.; LORENZO, D.; DELLACASSA, E. Steam distillation modeling for essential oil extraction process. **Industrial Crops and Products**, v. 29, p. 171-176, 2009.

CATUNDA JÚNIOR, F. E. A. Estudo químico dos óleos essenciais de espécies do gênero *Croton*. **Monografia** (Lic. Plena em Química). Universidade Estadual do Ceará, 2003.

DEB, M.; KUMAR, D. Bioactivity and efficacy of essential oils extracted from *Artemisia annua* against *Tribolium castaneum* (Herbst. 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae): **An eco-friendly approach, Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 189. 2020.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical chemistry**, [s.l.], v. 28, n. 3, p. 350-356, Março. 1956.

ELIAS, M.C.; LORINI, I.; OLIVEIRA, M.; MORÁS, A.; SCHIAVON, R.A. Pragas e microorganismos no armazenamento de grãos e derivados. In: ELIAS, Moacir Cardoso. **Manejo tecnológico da secagem e do armazenamento de grãos**. Ed. Santa Cruz. Pelotas, 2008.

FILIPPIS, Flavia Molardi de. **Extração com CO2 supercrítico de óleos essenciais de Hon-sho e Ho-sho: experimentos e modelagem**. 2001.

FLORA DO BRASIL. **Informações: Croton tricolor Klotzsch ex Baill**. 2020. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 2020.

FRANÇA-NETO, A. et al. Essential Oil of *Croton argyrophyloides*: Toxicological Aspects and Vasorelaxant Activity in Rats. **Natural Product Communications**, [s.l.], v. 7, n. 10, p. 1397-1400, 2012.

GOMES, A.P.S. 2006. **Revisão das espécies sul-americanas de Croton L. subgen. Croton sect. ArgyroGLOSSUM Baill. (Crotonoideae-**

**Euphorbiaceae**) Universidade Federal Rural de Pernambuco. Tese (Doutorado em Botânica).

HU, Junpeng et al. Composição química e atividade biológica contra *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) do óleo essencial de *Artemisia brachyloba*. **Culturas e Produtos Industriais**, v. 128, p. 29-37, 2019.

KHAREL, K. et al. Efficacy of Hypoxia against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) throughout Ontogeny. **Journal of Economic Entomology**, [s.l.], v. 112, n. 3, p. 1463–1468, Junho 2019.

KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical Biology and Conservation**, [s.l.], v. 5, n. 2, p. 120-132, Maio/Agosto. 2010.

LIMA, G. P. G. et al. Further insecticidal activities of essential oils from *Lippia sidoides* and *Croton* species against *Aedes aegypti* L. **Parasitology research**, Berlin, v. 112, n. 5, p. 1953-1958, Maio 2013a.

LIMA, J. K. A. et al. Biototoxicity of some plant essential oils against the térmite *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae). **Industrial Crops and Products**, [s.l.], v. 47, p. 246-251, Maio 2013b.

MAHROOF, R. M. et al. Biology, behavior, and ecology of insects in processed commodities. **Stored product protection**, p. 33-44, 2012.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais**. 2 ed. Imprensa Universitária-UFC, 2000.

MATTHEWS, G. A. Insecticide application in stores. **Application technology for crop protection**. CAB, London, p. 305-315, 1993.

MAVUNDZA, E. J. et al. Larvicidal activity against *Anopheles arabiensis* of 10 South African plants that are traditionally used as mosquito repellents. **South African Journal of Botany**, [s.l.], v. 88, p. 86-89, Set. 2013.

MCDONALD, L. L.; GUY, R. H., SPEIRS, R. D. Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents, and attractants against stored-product insects. **USDA Marketing Research Report No. 882**. Agricultural Research Service, US Department of Agriculture., Washington, DC, USA, 1970.

MEHMOOD, K. et al. Changes in the nutritional composition of maize flour due to *Tribolium castaneum* infestation and application of carbon dioxide to manage this pest. **Environmental Science and Pollution Research, Landsberg**, v. 25, n. 19, p. 18540–18547, Julho 2018.

MEIRA, C. H. F. **Análise da composição do óleo essencial de Croton tricolor como um modelo na criação de acordes em fragrâncias na indústria da perfumaria**. 2018. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

MERTZ, D. B. Life history phenomena in increasing and decreasing populations. **International Symposium on Statistical Ecology**, [s.l.], v. 2, p. 361-399, 1971.

MIRANDA, Lays Nogueira et al. **Caracterização química e bioatividade dos óleos essenciais de Croton tricolor Klotzsch ex Baill.(Euphorbiaceae)**. 2022.

MORAIS, S. M. et al. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian Croton species against *Aedes aegypti* L. **Journal of the American Mosquito Control Association**, [s.l.], v. 22, n. 1, p. 161-164, Mar. 2006.

OBENG-OFORI, D.; & AMITEYE, S. Efficacy of mixing vegetable oils with pirimiphosmethyl against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky in stored maize. **Journal of Stored Products Research**, v. 41, p. 57–66, 2005.

Palmeira, J.: SEBASTIÃO, F.n Ierodane diterpenes from Croton species: Distribuiton and a Compilation of their and <sup>13</sup>C NMR. Brasil, **Natural Product Communications**, v. 4, n. 1, p.319-344, 2006.

PAYO, H.A.; DOMINICIS, M.E.; MAYOR, J.; OQUENDO, M; SARDUY, R. Tamizaje fitoquímico preliminar de espécies del género Croton L. **Revista Cubana de Farmácia**, v. 35, p: 203-206, 2001.

PRINS, C.L.; LEMOS, C.L.S.; FREITAS, S.P. Efeito do tempo de extração sobre a composição e o rendimento do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.8, n.4, p.92-5, 2006.

RIZSK, A.F.. The chemical constituents and economic plants of the Euphorbiaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 94, p. 293-326, 1987.

S. Mohan, Paul G. Fields, A simple technique to assess compounds that are repellent or attractive to stored-product insects, **Journal of Stored Products Research**, Volume 38, Issue 1, 2002.

SANTOS, M.J.; MACHADO, I.C.; LOPES, A.V. 2005. Biologia reprodutiva de duas espécies de *Jatropha* L. (Euphorbiaceae) em Caatinga, Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** 28:361-373.

SANTOS, P. É. M. DOS et al. Contact toxicity of essential oil of Croton pulegioidorus baill on Sitophilus zeamais motschulsky. **Revista Caatinga**, [s.l.], v. 32, n. 2, p. 329–335, abr./jun. 2019.

SERAFINI, L.A.; SANTOS, A.C.A.; TOUGUINHA, L.A.; AGOSTINI, G.; DALFOVO, V. 2002. **Extrações e aplicações de óleos essenciais de plantas aromáticas e medicinais**. Caxias do Sul: EDUCS.

SILVA, K. S. et al. Sinopse das espécies de Croton L. (Euphorbiaceae) no estado de Pernambuco, Brasil. **Acta botânica brasílica**, [s.l.], v. 24, n. 2, p. 441-453, jun. 2010.

SILVA, M. G. F.; **Atividade antioxidante e antimicrobiana in vitro de óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de manjerona (*Origanum majorana* L.) e manjericão (*Ocimum basilicum* L.)**. 2011. 70 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso Superior de Química – Bacharelado em Química Industrial/Licenciatura em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2011.



STEVENS, P. F. (2001 onwards). **Angiosperm Phylogeny Website**. Version 12, Jul 2012.

TAIZ, Lincoln et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

TATUN, N., VAJARASATHIRA, B., TUNGJITWITAYAKUL, J., SAKURAI, S. (2014). Efeitos inibitórios de extratos de plantas no crescimento, desenvolvimento e atividade da  $\alpha$ -amilase no besouro vermelho da farinha *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). **EUR. J. Entomol.**, 111 (2), 181-188. doi: 10.14411/eje.2014.022.

TISSERAND R; BALACS T. 1999. Essential oil safety. **A guide for health care professionals**. London: Churchill Livingstone. Hartcourt Publishers Limited.

TRIPATHI, Arun K.; SINGH, Anil K.; UPADHYAY, Shikha. Contact and fumigant toxicity of some common spices against the storage insects *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 29, n. 3, p. 151-157, 2009.

VASCONCELOS, I. R. A. **Investigação dos efeitos antibacteriano, antioxidante, citotóxico e genotóxico do óleo essencial do caule de *Croton tricolor* Klortzsch ex Baill. 2015**. 92f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, 2015.

WALL, M. E.; WANI, M. C. Camptothecin and taxol: from discovery to clinic. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 51, p. 239-254, 1996.

WEBSTER, G. L. Systematics of the Euphorbiaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**. V. 81, n. 1, p. 1-144, 1994.