

EDUARDO ROBERTO COLE

**ESTUDO FITOQUÍMICO DO ÓLEO ESSENCIAL DOS
FRUTOS DA AROEIRA (*Schinus terebinthifolius*
RADDI) E SUA EFICÁCIA NO COMBATE AO
DENGUE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Química, na área de concentração em Química de Produtos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Reginaldo Bezerra dos Santos.

VITÓRIA

2008

Dedico este trabalho aos meus pais, por tudo que me proporcionaram e que continuam a proporcionar. Eles serão sempre a minha maior inspiração e o meu maior incentivo!

“As grandes realizações são sempre fruto de
grandes sacrifícios.”

Napoleon Hill

CURRICULUM VITAE

Eduardo Roberto Cole

Contato: Rua Castelo, 680

Jardim Limoeiro – Serra – ES – CEP: 29.164-030

educole.vix@terra.com.br

F: (27) 3338-6830 / (27) 9979-2578

Formação:

Pós-Graduação: Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Curso de Mestrado em Química, concluído em março de 2008.

Pós-Graduação: Instituto Hahnemanniano do Brasil (IHB)/Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Curso de Especialização *Lato Sensu* em Homeopatia para Farmacêuticos, concluído em dezembro de 2001.

Nível Superior: Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Curso de Bacharelado em Farmácia, concluído em dezembro de 1999.

Trabalhos apresentados em eventos:

COLE, E. R.; SILVA, B. S.; CARVALHO, C. P. A.; VICENTINI, E. S. **Efeitos da Bioacumulação de Filtros Solares Químicos com Atividade Estrogênica na Saúde da População.** In: III Jornada Científica UVV, 2005, Vila Velha. Anais da III Jornada Científica UVV, 2005. Trabalho apresentado na forma de Apresentação Oral.

COLE, E. R.; MARTINS, J. D. L.; VARGAS, R. Z.; FERREIRA NETO, J. L. M.; VENTURIM, B. B. **Composição Química e Atividade Fungicida do Óleo Essencial de *Syzygium aromaticum* (Cravo da Índia) na Onicomicose.** In: V Jornada Científica UVV, 2007, Vila Velha. Anais da V Jornada Científica UVV, 2007. Trabalho apresentado na forma de Apresentação Oral.

DOS SANTOS, R. B.; COLE, E. R.; LACERDA JÚNIOR, V.; CÂMARA, C. A. G. **Caracterização fitoquímica do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi**. Trabalho aceito para apresentação na 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia, SP.

DOS SANTOS, R. B.; COLE, E. R.; LACERDA JÚNIOR, V.; MARTINS, J. D. L.; CÂMARA, C. A. G.; NEVES, I. A. **Atividade antibacteriana e acaricida do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi**. Trabalho aceito para apresentação na 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia, SP.

DOS SANTOS, R. B.; COLE, E. R.; LACERDA JÚNIOR, V.; REZENDE, H. R. **Atividade larvicida, inseticida e repelente do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi**. Trabalho aceito para apresentação na 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia, SP.

Artigos publicados:

VENTURIM, B. B.; FERREIRA NETO, J. L. M.; VARGAS, R. Z.; COLE, E. R.; MARTINS, J. D. L.; DOS SANTOS, R. B. **Composição Química e Atividade Fungicida do Óleo Essencial de *Syzygium aromaticum* (Cravo da Índia) na Onicomiose**. Scientia, Espírito Santo, v.08, n.01, p.143-153, jan./jun. 2007.

ÍNDICE

Agradecimentos	i
Índice de Figuras	ii
Índice de Esquemas	iii
Índice de Quadros	iv
Índice de Tabelas	v
Abstract	vi
Resumo	viii
1 Introdução	01
2 Objetivos	07
2.1 Objetivo Geral	08
2.2 Objetivos Específicos.....	08
3 Revisão de Literatura	09
3.1 Dengue	10
3.2 <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.....	14
3.2.1 Caracterização Botânica	14
3.2.2 Composição Química	16
3.2.2.1 Óleos Essenciais	16
3.2.2.2 Aspectos Toxicológicos.....	21
4 Material e Métodos	22
4.1 Material	23
4.1.1 Amostras	23
4.1.2 Larvas e Mosquitos Testes.....	23
4.1.3 Reagentes	24
4.2 Métodos	24
4.2.1 Extração do Óleo Essencial	26
4.2.1.1 Hidrodestilação	26
4.2.1.2 Rendimento.....	27
4.2.2 Determinação das Características Físico-Químicas do Óleo Essencial.....	27
4.2.2.1 Densidade Específica	27
4.2.2.2 Índice de Refração	28
4.2.2.3. Rotação Específica	28

4.2.2.4. Perfil Cromatográfico	29
4.2.2.4.1 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	29
4.2.2.4.2 Cromatografia Gasosa (CG)	29
4.2.2.4.3 Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM)	30
4.2.3 Avaliação da Atividade Larvicida do Óleo Essencial dos Frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	31
4.2.4 Avaliação da Atividade Inseticida do Óleo Essencial dos Frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	33
4.2.5 Avaliação da Atividade Repelente do Óleo Essencial dos Frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	34
4.2.6 Análise Estatística	35
5 Resultados e Discussão	36
5.1 Obtenção dos Óleos Essenciais	37
5.2 Características Físico-químicas do Óleo Essencial	39
5.2.1 Densidade Específica	39
5.2.2 Índice de Refração	40
5.2.3 Rotação Específica	40
5.2.4 Perfil Cromatográfico	40
5.2.4.1 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	40
5.2.4.2 Cromatografia Gasosa (CG) e Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM)	41
5.3 Avaliação da Atividade Larvicida do Óleo Essencial dos Frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi Frente ao Mosquito <i>Aedes aegypti</i>	44
5.4 Avaliação da Atividade Inseticida do Óleo Essencial dos Frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi Frente ao Mosquito <i>Aedes aegypti</i>	46
5.5 Avaliação da Atividade Repelente do Óleo Essencial dos Frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi Frente ao Mosquito <i>Aedes aegypti</i>	49
6 Conclusão	52
Referências Bibliográficas	54

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Espírito Santo, por intermédio do Departamento de Química, pela oportunidade em realizar o curso.

Ao meu orientador, professor Reginaldo Bezerra dos Santos, pela paciência em me conduzir na execução deste trabalho, pelas valiosas críticas e sugestões, pelos ensinamentos, pela amizade e pelo apoio constante.

Aos professores Luiz Fernando Ganassali de Oliveira Júnior e Edney Leandro da Vitória, pela ajuda na análise estatística e pelas sugestões.

Aos professores João Batista Fernandes e Márcia Ortiz Marques Mayo pela ajuda nas determinações de Rotação Específica e CG/EM, respectivamente.

Aos professores Maria Tereza Weitzel Carneiro Dias, Fernando Fontes Barcelos e Claudinei Andrade Filomeno pela amizade e apoio durante todo o período de execução deste trabalho.

À professora Solange Zanotti Schneider, pela ajuda na identificação botânica do material vegetal.

Aos funcionários do laboratório de Entomologia, em especial aos funcionários Helder Ricas Rezende, Agenor Barbosa e Isaías Salla de Araújo, pela colaboração nos ensaios biológicos.

Aos amigos do laboratório de Química Orgânica, Tércio, Jamile, Roberta, Leandra e Priscila, pela amizade e colaboração.

Agradeço a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão deste trabalho.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principais agentes inseticidas sintéticos utilizados no controle de mosquitos vetores	03
Figura 2. Microscopia crioeletrônica do vírus do dengue	10
Figura 3. Ciclo de vida do mosquito <i>Aedes aegypti</i>	11
Figura 4. Ciclo do dengue	12
Figura 5. Frutos e folhas de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	15
Figura 6. Sistema de hidrodestilação com aparelho de Clevenger modificado	26
Figura 7. Cromatógrafo Gasoso (Varian, modelo Star 3600 CX)	30
Figura 8. Testes para medir a susceptibilidade das larvas de <i>Aedes aegypti</i> ao óleo essencial dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.....	32
Figura 9. Testes para medir a eficácia inseticida do óleo essencial dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi frente ao mosquito <i>Aedes aegypti</i>	33
Figura 10. Testes em cobaias para medir a eficácia repelente do óleo essencial dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi frente ao mosquito <i>Aedes aegypti</i>	34
Figura 11. Perfil cromatográfico (CG) do óleo essencial dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi – Amostra da 1ª extração.....	41
Figura 12. Perfil cromatográfico (CG) do óleo essencial dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi – Amostra da 2ª extração.....	41

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Rota biossintética de terpenóides a partir do Ácido Mevalônico	18
Esquema 2. Rota biossintética de fenilpropanóides a partir do Ácido Chiquímico	19
Esquema 3. Procedimento geral adotado no trabalho	25

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1. Estruturas químicas de alguns monoterpenos comumente presentes no óleo essencial de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.....	20
Quadro 2. Estruturas químicas dos principais monoterpenos e sesquiterpenos presentes no óleo essencial extraído dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.....	43

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Rendimento do óleo essencial obtido dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi por hidrodestilação.....	37
Tabela 2. Características físico-químicas do óleo essencial dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	39
Tabela 3. Composição percentual do óleo essencial dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi, determinada por CG/EM	42
Tabela 4. Porcentagem de mortalidade das larvas de <i>Aedes aegypti</i> frente às diferentes concentrações do óleo essencial dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.....	45
Tabela 5. Porcentagem de mortalidade de mosquitos <i>Aedes aegypti</i> frente às diferentes concentrações do óleo essencial dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.....	47
Tabela 6. Avaliação da eficácia repelente do óleo essencial dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi em ratos, contra o mosquito <i>Aedes aegypti</i> , ao longo de um período de cinco horas	49
Tabela 7. Porcentagem de proteção (efeito repelente) do óleo essencial dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi em ratos, contra o mosquito <i>Aedes aegypti</i> , após cinco horas de teste.....	50

ABSTRACT

Phytochemistry Study of the Essential Oil of the Brazilian Peppertree Fruits (*Schinus terebinthifolius* Raddi) and its Effectiveness Combating Dengue

Keywords: *Schinus terebinthifolius* Raddi, essential oils, dengue, hydrodistillation, GC/MS.

Dengue is considered the most important of the human arbovirosis, constituting nowadays one of the main Public Health problems in the world. The disease is caused by a virus of the genus *Flavivirus* with four different serotypes, transmitted by mosquitoes of the genus *Aedes*, and *Aedes aegypti* its main vector.

The control of the vector by synthetic insecticides has been the main procedure adopted in combating the disease, since there are no effective vaccines against the different virus serotypes. The insecticides, although effective, present serious problems related to its use, among which can be highlighted environmental damage, toxicity for human use, and the risk of the selection of resistant larvae and adults.

The search for natural and less aggressive insecticide methodologies has considerably grown in the last years, with the use of plant extracts and natural substances. Studies reveal that plant essential oils have many potential biological activities against insects.

Schinus terebinthifolius Raddi (Brazilian peppertree) species, well known for its ornamental properties and its use as food condiment, has also been the object of studies of biological activity.

In order to provide more information about the chemical identity of the essential oil of the *Schinus terebinthifolius* fruits and contribute on the discovery of new products to combat dengue, this study aimed to characterize chemically and physical-chemically the essential oil, and also to evaluate its larvicidal, insecticide and repellent activities related to the *Aedes aegypti*.

The results yield of the process of extraction by hydrodistillation ($6,54 \pm 1,56\%$) did not present a significant difference between the repetitions. The specific density values ($0,9097 \pm 0,0200 \text{ g/cm}^3$), and index of refraction ($1,4750 \pm 0,0001$) of the essential oil showed up close to the available data in the literature, a fact not observed on the specific rotation value ($+26,41 \pm 0,0200$). Thin-Layer Chromatography (TLC) and Gas Chromatography (GC) showed the same chromatographic profile for the samples obtained.

The analysis by Gas Chromatography coupled to the Mass Spectrometry (GC/MS) detected 28 volatile substances. Among these, 17 were identified (91,15% of the total identified), among what 12 are monoterpenes and 5 are sesquiterpenes. The predominant chemical species, all monoterpenics were: δ -3-carene (30,37%), limonene (17,44%), α -phellandrene (12,60%), α -pinene (12,59%), myrcene (5,82%), and o-cymene (3,46%).

The larvicidal, insecticide and repellent activities of the essential oil were highlighted against the *Aedes aegypti*, being the concentrations 169,20 $\mu\text{g/mL}$; 50,00 μL and 2,39% (w/w), the most effective, respectively, in each of the tests made. The LC_{50} obtained was 117,34 $\mu\text{g/mL}$ for the larvicidal test, and 28,80 μL for the insecticide testing.

RESUMO

Estudo Fitoquímico do Óleo Essencial dos Frutos da Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) e sua Eficácia no Combate ao Dengue

Palavras-chave: *Schinus terebinthifolius* Raddi, óleos essenciais, dengue, hidrodestilação, CG/EM.

O dengue é considerado a mais importante das arboviroses humanas, constituindo atualmente um dos principais problemas de Saúde Pública no mundo. A doença é causada por um vírus do gênero *Flavivirus*, com quatro diferentes sorotipos, transmitidos por mosquitos do gênero *Aedes*, sendo o *Aedes aegypti* seu principal vetor.

O controle do vetor por meio de inseticidas sintéticos figura como a principal medida adotada no combate a doença, uma vez que não existem vacinas efetivas contra os diferentes sorotipos do vírus. Os inseticidas, apesar de eficazes, apresentam sérios problemas relacionados ao seu uso, dentre os quais podem ser destacados os danos ambientais, a toxicidade para uso humano e o risco de desenvolvimento de larvas e adultos resistentes.

A procura por metodologias naturais e menos agressivas tem crescido consideravelmente nos últimos anos, com a utilização de extratos vegetais e substâncias naturais. Estudos revelam que os óleos essenciais vegetais apresentam inúmeras potencialidades biológicas contra insetos.

A espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira), muito conhecida por suas propriedades ornamentais e uso como condimento alimentar, também tem sido alvo de estudos de atividade biológica.

Com a finalidade de proporcionar maiores informações acerca da identidade química do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* e contribuir na descoberta de novos produtos no combate ao dengue, este trabalho objetivou caracterizar quimicamente e físico-quimicamente o óleo essencial, e também avaliar as atividades larvicida, inseticida e repelente do mesmo frente ao mosquito *Aedes aegypti*.

Os resultados de rendimento do processo de extração por hidrodestilação ($6,54 \pm 1,56\%$) não apresentaram diferença significativa entre as repetições. Os valores de densidade específica ($0,9097 \pm 0,0200 \text{ g/cm}^3$) e índice de refração ($1,4750 \pm 0,0001$) do óleo essencial mostraram-se próximos aos dados disponíveis na literatura, fato não observado para o valor de rotação específica ($+26,41 \pm 0,0200$). As análises de Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e Cromatografia Gasosa (CG) revelaram um mesmo perfil cromatográfico para as amostras obtidas.

A análise por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM) detectou 28 substâncias voláteis. Dentre estas, 17 foram identificadas (91,15% do total identificado), sendo 12 da classe dos monoterpenos e 5 da classe dos sesquiterpenos. As espécies químicas predominantes, todas monoterpênicas, foram: δ -3-careno (30,37%), limoneno (17,44%), α -felandreno (12,60%), α -pineno (12,59%), mirceno (5,82%) e o-cimeno (3,46%).

As atividades larvicida, inseticida e repelente do óleo essencial foram evidenciadas contra o mosquito *Aedes aegypti*, sendo as concentrações 169,20 $\mu\text{g/mL}$; 50,00 μL e 2,39% (p/p), as mais eficazes, respectivamente, em cada um dos testes realizados. A CL_{50} obtida foi de 117,34 $\mu\text{g/mL}$ para o ensaio larvicida, e 28,80 μL para o ensaio inseticida.

1 INTRODUÇÃO

O dengue é uma doença reemergente que vem preocupando as autoridades sanitárias de todo o mundo em virtude de sua circulação nos cinco continentes e pelo grande potencial para assumir formas graves e letais. O vírus do dengue é um arbovírus do gênero *Flavivirus*; é transmitido por mosquitos do gênero *Aedes*, sendo o *Aedes aegypti* seu principal vetor. São conhecidos quatro sorotipos do vírus (VENTURA; BATISTA, 1998; SOUTO JÚNIOR; RIBEIRO, 2000; MARCONDES, 2001; FURTADO et al., 2005).

Como ainda não existem vacinas disponíveis contra os diferentes sorotipos da doença, o principal meio de controle do dengue baseia-se no combate ao *Aedes aegypti*, por meio do saneamento do meio ambiente, eliminação dos focos de procriação do vetor e proteção individual contra picadas. As ações de combate podem ser focadas nos mosquitos imaturos (formas aquáticas), por meio do controle físico, controle químico e controle biológico, ou nos mosquitos adultos, por meio de inseticidas, repelentes e barreiras mecânicas, ou ainda em ambos (MARCONDES, 2001; ARRUDA; OLIVEIRA; SILVA, 2003).

O controle do vetor utilizando inseticidas sintéticos (Figura 1), como o Temephos, Malathion e Fenitrothion, constitui a principal medida adotada pelos Programas de Saúde Pública (FURTADO et al., 2005). O uso contínuo destes inseticidas tem se mostrado eficaz no processo de erradicação, mas não obstante tem conduzido cada vez mais ao desenvolvimento de larvas e adultos resistentes; o odor do produto é desagradável e o princípio ativo costuma ser danoso às pessoas que sofrem de problemas alérgicos e respiratórios (ARRUDA; OLIVEIRA; SILVA, 2003; ALBUQUERQUE et al., 2004).

No Brasil, o Temephos, da classe dos organofosforados, é o mais utilizado, possuindo um tempo de ação prolongado e lenta decomposição; por ser tóxico, pode causar danos à saúde da população, principalmente crianças e idosos (VENTURA; BATISTA, 1998; SOUTO JÚNIOR; RIBEIRO, 2000). O DDT (Diclorodifeniltricloroetano), o mais eficiente dos inseticidas organoclorados no combate aos mosquitos vetores desde 1940, é um produto relativamente barato, com elevado poder residual, moderadamente tóxico e de baixa absorção cutânea; por outro lado não é biodegradável, sendo acumulativo no tecido adiposo de animais de sangue quente; pode interferir no metabolismo do sódio e potássio e mostrou-se carcinogênico em camundongos (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; MARCONDES,

2001). O Brasil é o 3º maior consumidor de pesticidas no mundo: em 2001 foram consumidas 21.544 toneladas de inseticidas (CORRÊA; VIEIRA, 2007).

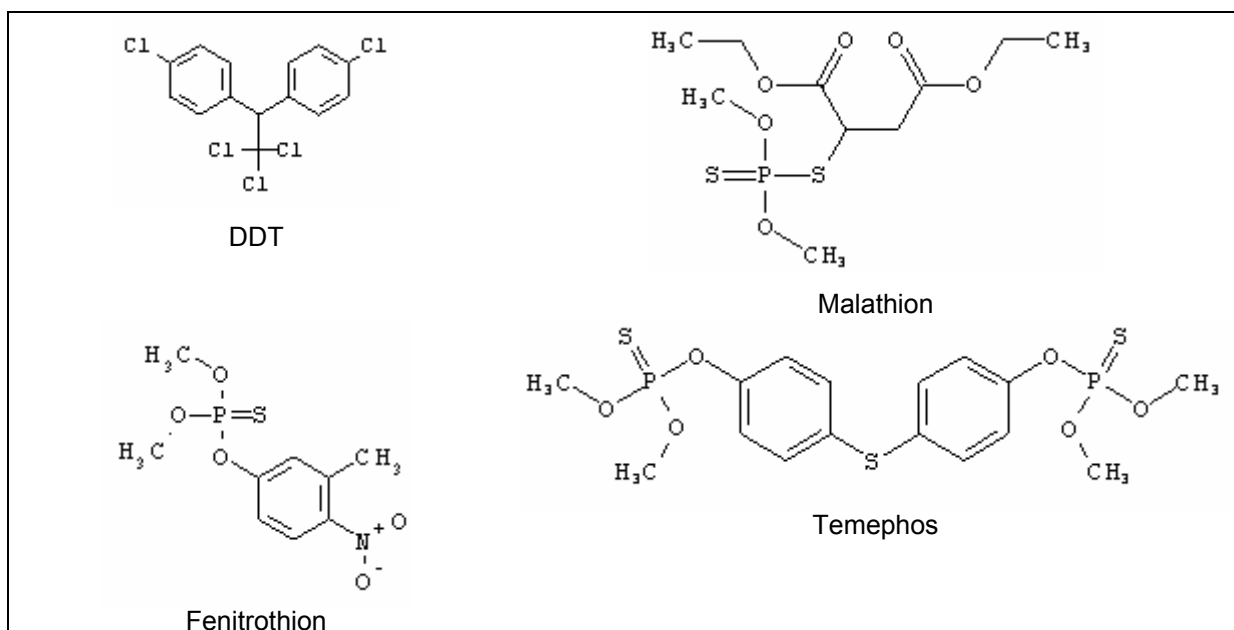


Figura 1. Principais agentes inseticidas sintéticos utilizados no controle de mosquitos vetores.

A resistência aos inseticidas convencionais surge hoje como um dos principais obstáculos ao controle de insetos de importância na agricultura e na medicina. A resistência resulta no aumento da frequência de aplicação de inseticida; dosagens crescentes; uso de misturas indevidas de produtos; substituição por outro produto, geralmente de maior toxicidade; rendimentos diminuídos; danos ambientais e surgimento de doenças, quando os vetores não podem ser controlados (GEORGHIOU, 1983). Dados da Organização Mundial de Saúde revelam que o custo da resistência de insetos a inseticidas pode alcançar anualmente 1,4 bilhões de dólares nos Estados Unidos (HEMINGWAY; RANSON, 2000).

A procura por metodologias naturais e menos agressivas aos seres humanos tem crescido consideravelmente nos últimos anos. Uma alternativa ao controle químico convencional é a utilização de extratos vegetais e substâncias naturais efetivas no controle do mosquito adulto e/ou da larva do *Aedes aegypti* e que sejam isentas de toxicidade para o meio ambiente (MACORIS et al., 1995). É fundamental que características como toxicidade, agressão ao meio ambiente, acúmulo na cadeia alimentar e risco de resistência, sejam criteriosamente avaliadas nas proposições de novos produtos de combate aos mosquitos.

O uso de extratos vegetais em ampla escala comercial como inseticida começou aproximadamente em 1850, com a nicotina (*Nicotiana tabacum*), a rotenona (*Lonchocarpus* sp.) e o piretro (*Chrysanthemum cinerariaefolium*). Hoje, aproximadamente 2000 espécies de plantas são conhecidas por possuir alguma atividade relativa ao controle de insetos (CROSBY, 1966; AHMED et al., 1984).

Plantas, como organismos que co-evoluem com insetos e microorganismos, são fontes naturais de substâncias inseticidas e antimicrobianas, já que as mesmas são produzidas pelo vegetal em resposta a um ataque patogênico (PICHESKY; GERSHENZON, 2002). De modo geral, os compostos químicos produzidos pelas espécies vegetais podem ser divididos em dois grandes grupos: 1. *Metabólitos primários* (ácidos graxos, açúcares e aminoácidos, por exemplo), espécies químicas de distribuição universal, essenciais à manutenção das funções vitais da planta, apresentando funções bem definidas; 2. *Metabólitos secundários* (terpenos, alcalóides e taninos, por exemplo), compostos de distribuição restrita, sem função evidente na manutenção do ciclo de vida da planta, mas, relevantes na interação desta com o meio ambiente (CASTRO et al., 2001).

Muitos dos metabólitos secundários produzidos pelas plantas são usados pelas mesmas contra microorganismos e insetos predadores, o que as torna potenciais candidatas para a descoberta de novos produtos contra o *Aedes aegypti*. Como exemplo tem-se a ação repelente dos óleos essenciais de casca de laranja (EZEONU; CHIDUME; UDEDI, 2001), tomilho e cravo (BERNARD, 1999) e substâncias como eugenol, cineol e citronelal (HUMMELBRUNNER; ISMAN, 2001). Estudos com *Lippia sidoides* (alecrim pimenta) (CARVALHO et al., 2003) e *Cymbopogon citratus* (capim limão) (FURTADO et al., 2005) sugerem que seus óleos essenciais possuem ação larvicida contra o *Aedes aegypti*.

Os óleos essenciais são substâncias voláteis, usualmente com odores agradáveis, extraídos de fontes vegetais normalmente por destilação por arraste a vapor (hidrodestilação). Eles são encontrados praticamente em todo tecido vivo de plantas. Tais óleos possuem um importantíssimo papel na proteção contra microorganismos e estão vinculados na sobrevivência do vegetal devido as suas diversas funções. Estudos científicos estabelecem que cerca de 60% dos óleos essenciais possuem atividade antifúngica e 35% possuem atividade antibacteriana (LIMA et al., 2006). São ativos contra vírus e protozoários, apesar do mecanismo de ação ainda não estar totalmente esclarecido (COWAN, 1999).

Investigações recentes confirmam que alguns óleos essenciais não somente repelem, mas também apresentam ação inseticida e/ou larvicida para vários tipos de insetos, tais como baratas (*Periplaneta americana* e *Blatta germanica*), moscas (*Musca domestica* e *Drosophila melanogaster*) e mosquitos (*Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus*) (ANSARI; RAZDAN; TANDON, 2000; ANSARI et al., 2000; ISMAN, 2000; CARVALHO et al., 2003; CHENG et al., 2003; SIMAS et al., 2004). As substâncias mais freqüentemente encontradas nos óleos essenciais pertencem a um grupo de compostos conhecidos como terpenos (ISMAN, 2000). Muitos terpenos constituintes de óleos essenciais têm recebido atenção especial por parte de pesquisadores (ALCARAZ; RIOS, 1991).

A planta *Schinus terebinthifolius* Raddi, popularmente conhecida como aroeira e, cujo fruto é muito utilizado na culinária européia, também vem sendo estudada quanto à sua composição química e atividades farmacológicas, por possuir inúmeras potencialidades medicinais e fitoquímicas. Alguns de seus metabólitos secundários têm auxiliado no tratamento e cura de diversos males (LENZI; ORTH, 2004a; LENZI; ORTH, 2004b).

Propriedades antioxidantes (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ; SANTOS, 2004; ROSSATO et al., 2004; LIMA et al., 2006b; CERUKS et al., 2007), antimicrobianas (GUERRA et al., 2000; AMORIM; SANTOS, 2003; DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ; PRADO, 2005), moluscidas (LIMA et al., 2006b) e leishmanicidas (BRAGA et al., 2006) de *Schinus terebinthifolius* foram descritas na literatura, incluindo-se aí os estudos com o óleo essencial, onde algumas propriedades biológicas já foram confirmadas: ação antifúngica (LIMA et al., 2006a; BUENO; SANTOS; SARTORI, 2007), atividade antimicrobiana (GEHRKE et al., 2007) e propriedade alelopática (NESELLO; SERAFINI; PAULETTI, 2007).

Resultados promissores foram obtidos por Santos et al. (2005) na avaliação da atividade larvicida do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi. Este estudo constitui um incentivo para a continuidade da investigação da atividade do óleo essencial de *Schinus* utilizando larvas de *Aedes aegypti*, e ampliação para a avaliação de outras propriedades biológicas, a saber, ação inseticida e ação repelente, a fim de se obter meios alternativos de combate ao dengue.

Assim, a presente dissertação engloba e propõe a prospecção fitoquímica, avaliação das características físico-químicas e análise das propriedades larvicida, inseticida e repelente do óleo essencial extraído dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi, proporcionando conhecimento acerca de suas características químicas e biológicas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente estudo tem como objetivo geral estudar quimicamente e físico-quimicamente o óleo essencial dos frutos da planta *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira), e também avaliar e quantificar suas atividades larvicida, inseticida e repelente no controle do mosquito *Aedes aegypti*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

(i) Extração por hidrodestilação, em aparelho de Clevenger modificado, do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi;

(ii) Análise e comparação das porcentagens (massa de óleo/massa de material seco) de óleo essencial extraído dos frutos;

(iii) Caracterização físico-química das amostras de óleo essencial obtidas;

(iv) Análise das substâncias voláteis das amostras através de Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e Cromatografia Gasosa (CG), e identificação por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM);

(v) Avaliação e quantificação das atividades larvicida, inseticida e repelente do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi, em diferentes concentrações, frente ao mosquito *Aedes aegypti*.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 DENGUE

O dengue é a mais freqüente das infecções arbovirais humanas, causado por um *Flavivirus* (Figura 2) com 4 sorotipos distintos, denominados DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4, transmitidos pela picada de fêmeas de mosquitos do gênero *Aedes*, destacando-se o *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) como principal espécie transmissora (BEERS; BERKOW, 2001; WHO, 2002; ARRUDA; OLIVEIRA; SILVA, 2003; FERREIRA et al., 2005).

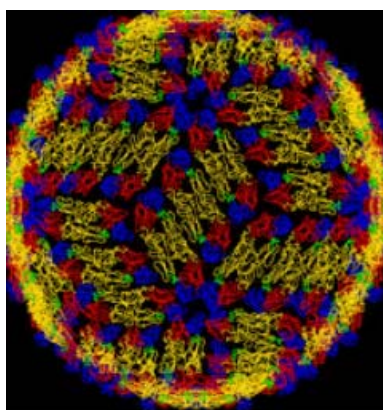


Figura 2. Microscopia crioeletrônica do vírus do dengue.
Fonte: Kuhn et al. (2002).

Normalmente, vírus compostos por RNA, como os *Flavivirus*, tendem a apresentar mais mutações, o que parece não ser o caso do vírus do dengue, que pouco se modificou nos últimos anos. Ao que tudo indica, o DEN-3 é o tipo mais virulento, seguido pelo DEN-2, DEN-4 e DEN-1 – a virulência é diretamente proporcional à intensidade com que o vírus se multiplica no corpo (SCHATZMAYR, 2007).

O *Aedes aegypti* é um dos insetos mais domiciliados no Brasil, podendo ser facilmente identificado pelo escudo ornamentado com escamas branco-prateadas formando um desenho em forma de lira. Seus criadouros preferenciais são os recipientes artificiais, tanto os abandonados pelo homem a céu aberto e preenchidos pelas águas das chuvas, como aqueles utilizados para armazenar água para uso doméstico (SILVA; SILVA; LIRA, 1998; SILVA et al., 2002). Contudo, Silva et al. (1999) demonstraram que o *Aedes aegypti* também se desenvolve em água poluída.

O desenvolvimento do mosquito ocorre por metamorfose completa (Figura 3), passando pelas seguintes fases: ovo, quatro ínstars larvais, pupa e inseto adulto (DENGUE, 2003).

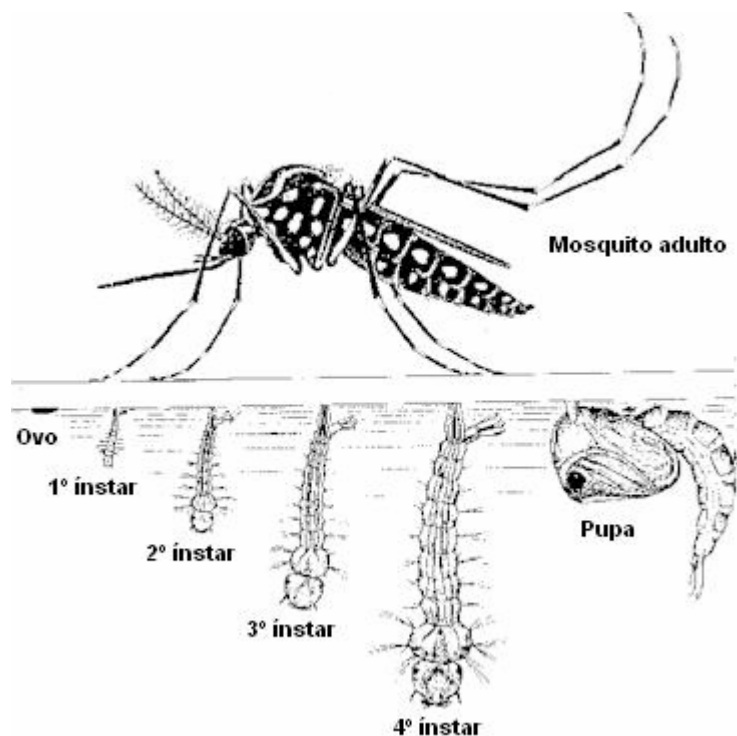


Figura 3. Ciclo de vida do mosquito *Aedes aegypti*.
Fonte: Adaptado de Dengue (2008).

Os ovos apresentam-se brancos no momento da postura, mas rapidamente adquirem coloração negra brilhante, sendo consideravelmente resistentes: já foi observada a eclosão de ovos com até 450 dias, quando colocados em contato com a água. A resistência dos ovos do *Aedes aegypti* à dessecação é um sério obstáculo para sua erradicação, além de permitir que os ovos sejam transportados a grandes distâncias em recipientes secos, tornando-se assim o principal meio de dispersão do inseto (dispersão passiva). A fase larvar, uma fase de alimentação e crescimento, ao contrário dos ovos, apresenta grande vulnerabilidade, sendo o alvo preferencial das ações de combate do Programa Nacional de Combate do Dengue (PNCD) (DENGUE, 2003).

O *Aedes aegypti* é dotado de certo ecletismo em relação à fonte sangüínea para alimentação, mas o homem é sua principal vítima; as fêmeas restringem seus hábitos hematófagos aos horários diurnos, com maior pico no período entre 16 e 18 horas. À noite, embora raramente, podem ser oportunistas,

atacando o homem se este se aproxima de seu abrigo (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; MARCONDES, 2001; SILVA et al., 2002).

O ciclo do dengue é: **Homem – *Aedes aegypti* – Homem** (Figura 4). O homem é infectante ao mosquito vetor durante o período de viremia. No mosquito vetor infectado, o vírus, após a multiplicação, concentra-se em glândulas salivares. Deste ponto em diante, o vetor vai transmitindo o vírus para quantas pessoas forem picadas (MARCONDES, 2001). O *Aedes aegypti* é atualmente o mosquito de maior dispersão em áreas urbanas no mundo (SILVA et al., 2004).

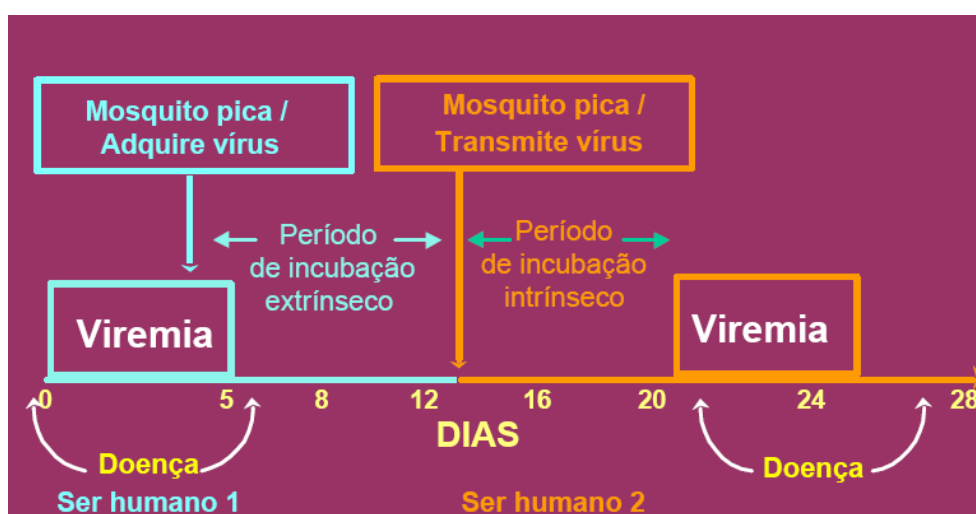


Figura 4. Ciclo do dengue.
Fonte: Dengue (2007).

A incidência do dengue tem aumentado nas últimas décadas. A doença ocorre em mais de 100 países e expõe mais de 2,5 bilhões de pessoas ao risco de contraí-la nas áreas urbanas, periurbanas e rurais dos trópicos e subtropicais. Trata-se de uma doença endêmica na África, nas Américas, no leste do Mediterrâneo, no Sudeste Asiático e no Oeste do Pacífico. Nas Américas, no ano de 2003, foram notificados cerca de 483 mil casos (BRAGA; VALLE, 2007).

Até 1977, os sorotipos DEN-2 e DEN-3 eram os predominantes nas Américas. O sorotipo DEN-1 foi detectado em 1977, causando epidemias na Jamaica, Cuba, Porto Rico e Venezuela. O sorotipo DEN-3 circulou até meados da década de 70, desapareceu, e foi reintroduzido em 1994, causando uma grande epidemia na Nicarágua, que depois se disseminou para o México e outros países da América Central e do Sul. Atualmente, o DEN-3 é detectado em mais de 15 países. Em 1981, o DEN-4 foi isolado nas ilhas do Caribe e, atualmente, está presente em

diversos países da região, assim como na Venezuela, Equador e Peru (BRICKS, 2004).

Vários fatores contribuíram para o crescimento do dengue nos últimos 50 anos. O maior aumento ocorreu nos países em desenvolvimento, onde o crescimento desordenado propiciou condições favoráveis à multiplicação do mosquito vetor, tais como a falta de serviços básicos (estrutura de fornecimento de água, esgoto e coleta de lixo). Outro problema associado ao aumento dos casos de dengue é o aumento das migrações e do turismo, que favorecem a importação de novos sorotipos (BRICKS, 2004).

No Brasil, faz-se referência ao dengue desde o ano de 1846. A doença apresenta um padrão sazonal, com maior incidência de casos nos primeiros cinco meses do ano, período mais quente e úmido, típico dos climas tropicais. O sorotipo DEN-1 causou epidemias no Rio de Janeiro em 1986, o DEN-2, foi introduzido em 1990, e o DEN-3 no ano 2000. O sorotipo DEN-4 foi um dos primeiros a ser isolado em uma epidemia de dengue ocorrida em Boa Vista, Roraima, em 1981; atualmente este sorotipo não existe no território brasileiro. Em 2002, foram registrados cerca de 800 mil casos de dengue no Brasil, o que corresponde a 80% dos casos de toda a América no mesmo ano. Atualmente, o dengue encontra-se presente em todos os estados brasileiros, distribuído por 3.794 municípios, sendo responsável por cerca de 60% das notificações nas Américas (BRICKS, 2004; BRAGA; VALLE, 2007; CÂMARA et al., 2007).

Há duas formas da doença: dengue clássico (ou febre de dengue), com sintomas característicos de várias viroses e de pouca gravidade, e dengue hemorrágico (ou febre hemorrágica de dengue), forma mais grave que inclui desde pequenos sangramentos até grandes hemorragias e óbitos (CAVALCANTI et al., 2004).

Segundo o Ministério da Saúde, um caso suspeito de dengue clássico apresenta febre com duração máxima de 7 dias, acompanhada de pelo menos dois dos seguintes sintomas: cefaléia, dor retro-orbitária, mialgia, artralgia, prostração, exantema. Além desses sintomas, o indivíduo deve ter estado nos últimos 15 dias em área onde esteja ocorrendo transmissão de dengue ou tenha a presença do *Aedes aegypti* (RODRIGUES et al., 2005).

O desenvolvimento de uma vacina contra o dengue para uso em larga escala é considerado prioritário pela Organização Mundial da Saúde. Entretanto, o

desenvolvimento dessa vacina tem frustrado a comunidade científica, devido a certas exigências e problemas, tais como a necessidade de a vacina imunizar contra os quatro sorotipos da doença, com alta eficiência, para evitar o mecanismo fisiopatológico que desencadeia o dengue hemorrágico (FIGUEIREDO, 1999).

A reemergência de epidemias de dengue clássico e a emergência da febre hemorrágica de dengue são alguns dos maiores problemas de Saúde Pública da segunda metade do século XX (CÂMARA et al., 2007).

3.2 *Schinus terebinthifolius* RADDI

3.2.1 Caracterização Botânica

A *Schinus terebinthifolius* Raddi, popularmente conhecida como aroeira, aroeira-vermelha, aroeira-pimenteira e pimenta-brasileira, pertencente à família Anacardiaceae, é uma espécie originária da América do Sul, especialmente do Brasil, Paraguai e Argentina. É encontrada desde o Ceará até o Rio Grande do Sul, sendo largamente distribuída no estado do Espírito Santo. É uma árvore típica da caatinga nordestina, indicada para a recuperação de áreas degradadas e arborização (SANTOS et al., 2004). A espécie foi descrita pela primeira vez em 1820, pelo italiano Giuseppe Raddi (JONES, 1997).

A planta se caracteriza por ser uma árvore de 4 a 10 metros de altura, de tronco com casca espessa e copa densa, folhas compostas por 3 a 10 pares de folíolos, de bordas serradas, flores pequenas de coloração amarelo-clara e aromáticas; a semente é única, marrom-escura e mede cerca de 0,3 centímetros de diâmetro (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ; SANTOS, 2004; SANTOS et al., 2004). Os frutos são do tipo drupa (carnoso) e têm coloração verde no início e depois se tornam vermelhos (posteriormente, a casca vermelha seca e se transforma em uma espécie de concha de papel que envolve a semente); são comestíveis (Figura 5) e ricos em óleo essencial, podendo chegar a 10% do peso seco dos frutos (LLOYD et al., 1977), enquanto seus galhos, folhas e inflorescências apresentam de 0,08 a 0,15% de óleo essencial (SINGH et al., 1998). A casca do caule contém, além de óleos essenciais, taninos, resinas e saponinas: as cascas frescas contêm 0,12% de óleo essencial e 13,9% de taninos (BORIO; CECY; YASUMOTO, 1973).



Figura 5. Frutos e folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi.

Estudos fitoquímicos realizados entre 1960 e 1970 revelaram a presença de diversos compostos químicos, incluindo álcoois, cetonas, ácidos, monoterpenos, sesquiterpenos e triterpenos, no caule, folhas e frutos de *Schinus terebinthifolius* (LLOYD et al., 1977; MORTON, 1978). Marsaioli (1974), em seu trabalho com extratos benzênicos de cascas e folhas de *Schinus terebinthifolius*, isolou os seguintes triterpenos: ácido masticadienônico, schinol, baueren-28-carboxi-3-ona, β -sitosterol, α -amirina, bauerenona, simiarenol e n-triacontano, sugerindo ainda a presença de bauerenol e α -amirinona.

A espécie floresce a partir de três meses de idade e apresenta período de floração prolongado, estendendo-se de outubro a abril. É uma espécie de valor apícola para a produção de mel de qualidade e pólen (REITZ; KLEIN; REIS, 1978; CARVALHO, 1981). Nas proximidades de Curitiba, Paraná, é comum o uso da aroeira como suplemento alimentar para caprinos (BAGGIO, 1988).

A aroeira é também resistente ao fogo. Devido à sua capacidade de rebrota, a espécie pode ser utilizada em barreiras contra incêndios, desde que manejada em forma arbustiva (BAGGIO, 1988).

Atualmente, a espécie vem se destacando cada vez mais pelo consumo de seus frutos (pimenta rosa), cuja demanda tem aumentado muito, tanto no mercado nacional quanto internacional, que os utiliza como condimento alimentar (LENZI; ORTH, 2004a). Na Europa, a planta assume ainda características

ornamentais, sendo utilizada na arborização de parques e avenidas (CORRÊA, 1984).

Schinus terebinthifolius apresenta também propriedades medicinais; as partes utilizadas são: casca, folhas e frutos (BORIO; CECY; YASUMOTO, 1973). É adstringente, antidiarréica, depurativa, diurética e febrífuga. Devido à composição química de seus óleos essenciais, é usada no tratamento de distúrbios respiratórios. Da casca, ativa contra febre, hemoptises e afecções uterinas em geral, extrai-se um óleo empregado contra tumores e doenças da córnea (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ; SANTOS, 2004; MOUSTAFA et al., 2007). Aos frutos e seu óleo essencial atribui-se atividade antimicrobiana sobre bactérias gram-positivas e, antiinflamatória por inibição da enzima fosfolipase A₂ (PIRES et al., 2004). Esta ação antiinflamatória apresenta caráter inibitório específico e está diretamente relacionada à triterpenóides presentes nos frutos (JAIN et al., 1995).

As partes aéreas da planta revelam propriedades antioxidantes (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ; SANTOS, 2004; ROSSATO et al., 2004; LIMA et al., 2006b; CERUKS et al., 2007), enquanto ao extrato etanólico das folhas é atribuída a capacidade de inibição do crescimento de certas bactérias e fungos, tais como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*. O óleo essencial da planta é usado topicamente no tratamento de micoses e candidíases, sendo esta atividade atribuída à sua alta concentração de monoterpenos (LIMA et al., 2006c).

A espécie apresenta, no entanto, alguns fatores negativos. A sua alta capacidade reprodutiva a torna agressiva na invasão de áreas onde a sua presença não é desejável, sendo recomendada cautela no planejamento e manejo do seu plantio, principalmente fora de sua região de origem. Embora no Brasil não se caracterize como tal, ocorrendo em proporções equilibradas na flora nativa, a aroeira introduzida na Flórida tornou-se uma espécie invasora (SANCHOTENE, 1985).

3.2.2 Composição Química

3.2.2.1 Óleos Essenciais

Os óleos essenciais já vêm sendo utilizados pela medicina há milhares de anos. Registros egípcios de seis mil anos atrás relatam práticas religiosas

associadas à cura de males, unções da realeza e busca de bem-estar físico, através dos aromas obtidos de partes específicas de certos vegetais, como resinas, folhas, flores e sementes. Na China e Índia as substâncias aromáticas já eram populares há centenas de anos antes da era cristã, quando eram utilizadas em incensos, poções e vários tipos de acessórios, usados diretamente sobre o corpo. Entretanto, a real comercialização de materiais aromáticos só se iniciou a partir da Idade Média, quando cientistas muçulmanos introduziram o processo de destilação para a extração de óleos oriundos de diversas partes das plantas (SIANI et al., 2000).

As denominações atribuídas a estes óleos devem-se às suas características físico-químicas: como evaporam quando expostos ao ar em temperaturas comuns, sua principal característica, são chamados óleos voláteis; por apresentarem aroma intenso e agradável, constituindo verdadeiras “essências”, óleos essenciais; e por serem solúveis em solventes orgânicos apolares, como o éter, por exemplo, podem ser denominados de óleos etéreos. Além disso, apresentam alto índice de refração e são opticamente ativos (TYLER; BRADY; ROBBERS, 1988; ROBBERS; SPEEDIE; TYLER, 1997; VITTI; BRITO, 2003; SIMÕES et al., 2004).

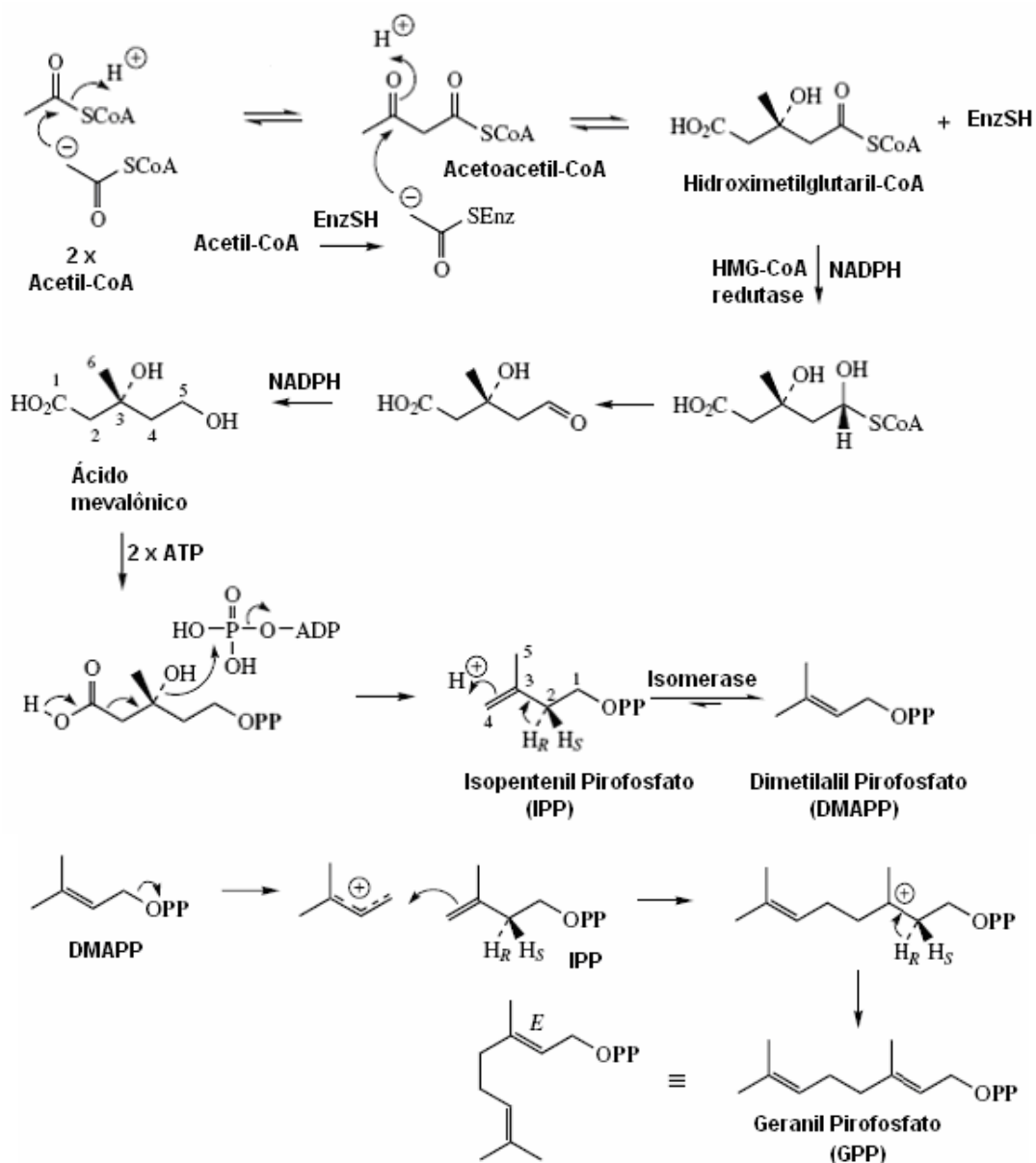
A ISO (International Standard Organization) define óleos essenciais como os produtos obtidos de partes de plantas mediante destilação por arraste com vapor de água, bem como os produtos obtidos por expressão dos pericarpos de frutos cítricos (SIMÕES et al., 2004).

Dependendo da família, os óleos essenciais podem ocorrer em estruturas secretoras especializadas, tais como pêlos glandulares (Lamiaceae), células parenquimáticas diferenciadas (Laureaceae, Piperaceae, Poaceae), canais oleíferos (Apiaceae) ou em bolsas lisígenas ou esquizolisígenas (Pinaceae, Rutaceae), podendo ser estocados em certos órgãos, tais como flores, folhas, cascas dos caules, madeira, raízes, rizomas, frutos ou sementes (SIMÕES et al., 2004).

Na espécie *Schinus terebinthifolius*, os óleos essenciais mostram-se presentes nas folhas, frutos, galhos, cascas do caule e inflorescências (BORIO; CECY; YASUMOTO, 1973; SINGH et al., 1998; IBRAHIM; FOBBE; NOLTE, 2004; SANTOS et al., 2004).

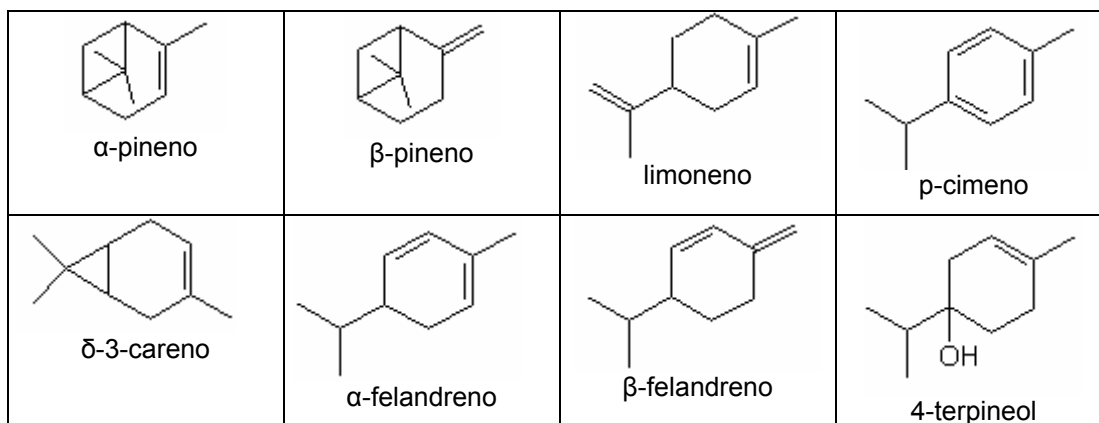
A maior parte dos óleos essenciais consiste na mistura de hidrocarbonetos (monoterpenos, sesquiterpenos, entre outros) e de compostos oxigenados (álcoois, ésteres, éteres, aldeídos, cetonas, lactonas, fenóis, éteres fenólicos, entre outros).

Quimicamente, estes compostos derivam de terpenos, originados a partir da unidade isoprênica (u.i.; C_5H_8), que por sua vez origina-se do Ácido Mevalônico (Esquema 1), ou de fenilpropanóides, provindos do Ácido Chiquímico (Esquema 2). Quando estes compostos contêm elementos adicionais, normalmente o oxigênio, são denominados terpenóides. Os terpenóides apresentam-se entre as principais classes de metabólitos secundários biologicamente ativos, juntamente com os glicosídeos, alcalóides e flavonóides, sendo classificados de acordo com o número de unidades isoprênicas presentes na molécula: monoterpenos (C_{10} ; 2 u.i.); sesquiterpenos (C_{15} ; 3 u.i.); diterpenos (C_{20} ; 4 u.i.); triterpenos (C_{30} ; 6 u.i.); tetraterpenos (C_{40} ; 8 u.i.) (GUENTHER, 1977; COWAN, 1999; RATES, 2001; SIMÕES et al., 2004).



Esquema 1. Rota biossintética de terpenóides a partir do Ácido Mevalônico.

Fonte: Adaptado de Dewick (2002).



Quadro 1. Estruturas químicas de alguns monoterpenos comumente presentes no óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi.

Em seu trabalho com frutos frescos de *Schinus terebinthifolius*, Ibrahim; Fobbe; Nolte (2004) identificaram o elixeno, o α -pineno e o germacreno D como compostos majoritários do óleo essencial. Pieribattesti et al. (1981), detectaram, pela primeira vez, a presença do canfeno, β -felandreno e γ -terpineno no óleo essencial obtido a partir dos frutos de *Schinus terebinthifolius*; dos 12 monoterpenos encontrados no trabalho, o α -pineno e o α -felandreno apresentaram-se em maior proporção, enquanto apenas traços de careno foram encontrados. Lloyd et al. (1977), ao trabalharem com extratos hexânicos e etéreos de frutos triturados de *Schinus terebinthifolius*, encontraram os ácidos masticadienóico e hidroximasticadienóico, além de uma pequena quantidade de ácido ursólico; na porção neutra do extrato foram identificados: α -pineno (25% do total de monoterpenos), β -pineno, sabineno, δ -3-careno, α -felandreno, β -felandreno, limoneno, p-cimeno e terpinoleno.

Gehrke; Stolz; Morel (2007) obtiveram uma composição predominantemente monoterpênica em seu trabalho com o óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* obtido a partir de frutos maduros, sendo o δ -3-careno e o α -pineno responsáveis por, aproximadamente, 40% dos constituintes da amostra.

3.2.2.2 Aspectos Toxicológicos

Morton (1978) alertou sobre o uso da *Schinus terebinthifolius* em seres humanos, em função de efeitos adversos, tais como: irritação do sistema digestivo, náuseas, inflamações e alergias (com lesão e edema). Acredita-se que cefaléias agudas e problemas respiratórios possam ser atribuídos aos monoterpenos voláteis presentes nos frutos (STAHL; KELLER; BLINN, 1983).

Stahl; Keller; Blinn (1983) isolaram e caracterizaram o δ -8'-cardanol de frutos de *Schinus terebinthifolius*; testes cutâneos demonstraram a natureza química irritante deste composto para a pele. Os autores atribuíram os efeitos tóxicos da aroeira ao δ -8'-cardanol combinado com alguns outros constituintes do óleo, especialmente o δ -3-careno e o felandreno.

A espécie apresenta toxicidade para o gado bovino (CORRÊA, 1926).

Resultados preliminares de um estudo realizado por Pires et al. (2004) para avaliar a toxicidade aguda de *Schinus terebinthifolius* revelaram atoxicidade do extrato por via oral em camundongos, sendo a dose-limite utilizada (5 g.Kg^{-1}), cerca de 2.500 vezes superior à habitualmente usada como condimento, sugerindo segurança quanto à inocuidade para o consumo humano.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Amostras

Frutos maduros de *Schinus terebinthifolius* Raddi foram colhidos no Campus da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), localizado em Goiabeiras, Vitória, Espírito Santo, de árvores localizadas próximas ao prédio da Secretaria do Centro de Ciências Exatas (CCE).

A identificação botânica foi realizada pela professora Solange Zanotti Schneider do Laboratório de Botânica. As exsiccatas das plantas representando as coletas encontram-se arquivadas no Herbário da instituição, sob o registro VIES 14711.

Os frutos foram submetidos à secagem em ambiente aberto, durante uma semana, à sombra, para que não houvesse perda dos componentes voláteis.

A secagem diminui a velocidade de deterioração do material por meio da redução do teor de umidade, atuando negativamente na ação das enzimas pela desidratação, permitindo a conservação das plantas por mais tempo. Com a eliminação da água, aumenta-se o percentual de princípios ativos em relação à massa seca (SILVA; CASALI, 2000).

4.1.2 Larvas e Mosquitos Testes

Em pontos de alta incidência de dengue na Grande Vitória, Espírito Santo, larvas e pupas de *Aedes aegypti* foram coletadas, selecionadas e identificadas pelo biólogo Helder Ricas Rezende, do Núcleo de Entomologia e Malacologia da Secretaria de Estado da Saúde (SESA), para a formação de colônias e obtenção da primeira geração de mosquitos e larvas em laboratório (geração F₁).

Os mosquitos foram mantidos em uma gaiola de alumínio (altura: 30,0 cm; largura: 30,0 cm; comprimento: 30,0 cm) no insetário do Núcleo de Entomologia e Malacologia do Espírito Santo (NEMES), a 25 ± 2°C e 70 ± 5% de umidade relativa do ar, submetidos à fotoperíodo de 12:12 horas (claro/escuro), e, alimentados com solução aquosa de sacarose a 10% (p/v) e sangue de um rato vivo. O local apresentava-se isento de patógenos, inseticidas ou repelentes.

As larvas foram mantidas em cubas plásticas de 1500 mL (altura: 5,5 cm; largura: 16,0 cm; comprimento: 26,0 cm) contendo água corrente e, alimentadas exclusivamente com ração para peixe.

4.1.3 Reagentes

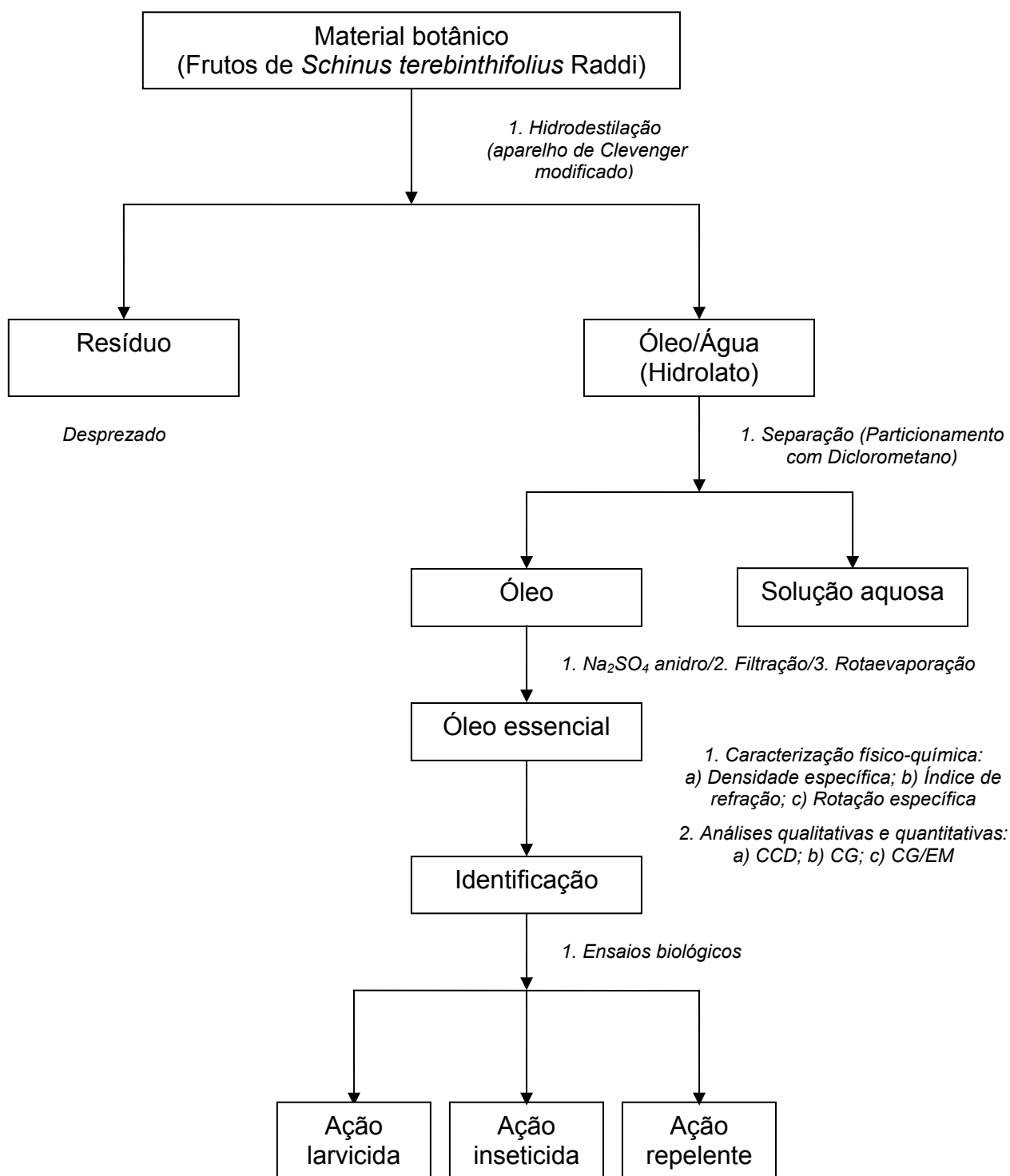
Foram utilizados apenas reagentes de grau analítico: etanol 95%; diclorometano; sulfato de sódio anidro; hexano; acetato de etila; iodo ressublimado; clorofórmio. Sílica gel para Cromatografia em Camada Delgada (com 13% de gesso).

4.2 MÉTODOS

Os trabalhos foram conduzidos nos Laboratórios de Química Orgânica, de Físico-Química e de Entomologia da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Vitória, Espírito Santo. A análise de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM) e a determinação da Rotação Específica foram realizadas no Instituto Agronômico de Campinas (IAC) e Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), respectivamente.

Os ensaios biológicos conduzidos no laboratório de Entomologia (atividade larvicida, inseticida e repelente), foram realizados sob as mesmas condições de temperatura e umidade relativa do ar: $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $70 \pm 5\%$, respectivamente.

O procedimento adotado ao longo do experimento é mostrado no Esquema 3.



Esquema 3. Procedimento geral adotado no trabalho.

4.2.1 Extração do Óleo Essencial

O óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi foi extraído pelo método de hidrodestilação de acordo com o método empregado pela AOAC (1995), como mostra a Figura 6. O processo consiste essencialmente em volatilizar o óleo essencial com uma corrente de vapor de água (WATERMAN, 1993).

4.2.1.1 Hidrodestilação

Para a extração por hidrodestilação foi utilizado o aparelho de Clevenger modificado (WASICKY; AKISUE, 1969), acoplado a balão de fundo redondo de 3000 mL. A utilização do aparelho de Clevenger permite a separação do óleo e da água, além do resfriamento do óleo, evitando possíveis decomposições do mesmo.



Figura 6. Sistema de hidrodestilação com aparelho de Clevenger modificado.

Os frutos de *Schinus terebinthifolius* (200 g), descascados e triturados em liquidificador até atingirem granulometria uniforme, e 1500 mL de água deionizada, foram colocados no balão e levados para a manta aquecedora.

O tempo de extração foi de 6 horas contadas a partir da ebulição da amostra, de acordo com a recomendação de tempo de hidrodestilação de Azevedo et al. (2002) em seu estudo com *Hyptis suaveolens*.

Todo o sistema foi protegido da luz.

O hidrolato obtido foi particionado com três porções de 30 mL de diclorometano em funil de separação, e seco com sulfato de sódio anidro, sendo em seguida filtrado para a separação do sulfato e levado ao rotaevaporador (Büchi) a 30°C e pressão reduzida (40 mmHg) para remoção do diclorometano. Após a evaporação do solvente, o óleo essencial obtido foi pesado e armazenado em frasco âmbar sob resfriamento: na maioria dos casos, o óleo essencial pode sofrer oxidação, tornando-se escuro, o que pode ser evitado armazenando-o em frasco âmbar, bem fechado e cheio, em condições de baixa temperatura (MING, 1998).

4.2.1.2 Rendimento

O rendimento do processo extrativo foi determinado em decuplicata pela relação massa/massa (conforme a fórmula abaixo). As massas dos óleos essenciais foram determinadas em balança semi-analítica e seus valores comparados às respectivas massas de frutos de *Schinus terebinthifolius* utilizadas.

$$\% \text{ de óleo essencial} = \frac{\text{massa de óleo essencial obtido (g)}}{\text{massa de frutos secos (g)}} \times 100$$

4.2.2 Determinação das Características Físico-Químicas do Óleo Essencial

Para a caracterização físico-química das amostras de óleo essencial foram realizadas as seguintes análises: densidade específica, índice de refração, rotação específica e perfil cromatográfico (Cromatografia em Camada Delgada, Cromatografia Gasosa e Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas).

4.2.2.1 Densidade Específica

A densidade específica de uma substância é a razão entre a massa de uma quantidade da substância e o volume correspondente, usualmente expressa em g/cm³. Trata-se de um indicador muito útil: a maioria dos óleos essenciais é mais leve que a água e, portanto, tem uma densidade específica inferior a 1 (WATERMAN, 1993).

Este parâmetro foi determinado em densímetro digital (Anton Paar, modelo Stabinger série SVM 3000), calibrado à temperatura de 20°C, utilizando a norma ASTM D5002 (ASTM, 1999).

4.2.2.2 *Índice de Refração*

Segundo a Farmacopéia Brasileira (1988), o índice de refração de uma substância é a relação entre a velocidade da luz no ar e a sua velocidade nesta substância. É um importante parâmetro físico-químico para a confirmação da identidade de um óleo (WATERMAN, 1993) e detecção de impurezas (IAL, 1985). O alto índice de refração é uma característica dos óleos essenciais (VITTI; BRITO, 2003).

Esta determinação foi efetuada em refratômetro Abbe (Carl-Zeiss Jena, modelo G), à temperatura de 20°C, de acordo com a metodologia descrita pela AOAC (1995).

4.2.2.3 *Rotação Específica*

A rotação específica é a propriedade que certas substâncias quirais apresentam de desviar o plano de polarização da luz polarizada. A rotação específica é considerada como positiva (+) para as substâncias dextrógiras (desviam o plano de polarização no sentido horário) e negativa (-) para as substâncias levógiras (desviam o plano de polarização no sentido anti-horário) (FARMACOPÉIA PORTUGUESA VII, 2002). Nos óleos essenciais, os mono- e sesquiterpenos apresentam-se sob formas estereoquímicas definidas, e muito raramente como misturas racêmicas. Como as moléculas quirais têm a habilidade de desviar o plano de polarização da luz polarizada, enquanto as misturas racêmicas e moléculas aquirais não o fazem, os óleos essenciais tendem a ser opticamente ativos (WATERMAN, 1993). A rotação específica é utilizada para diferenciar o óleo sintético do natural: os óleos essenciais sintéticos, por apresentarem-se como misturas racêmicas, são inativos opticamente (MING, 1998).

As medidas de rotação específica do óleo essencial, sem diluição, foram realizadas em polarímetro digital (Perkin Elmer, modelo Polarimeter-241) que utiliza a raia D do sódio ($\lambda = 589,3$ nm), com caminho óptico de 1 dm e cubeta com 0,8 mL de capacidade, à temperatura de 23,5°C.

4.2.2.4 Perfil Cromatográfico

4.2.2.4.1 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Os cromatogramas foram obtidos empregando-se como fase estacionária placas cromatográficas de sílica gel com 13% de gesso e, como fase móvel, uma mistura em proporção volumétrica do sistema hexano:acetato de etila (90:10; v/v), e iodo ressublimado como revelador.

4.2.2.4.2 Cromatografia Gasosa (CG)

As análises de Cromatografia Gasosa foram realizadas utilizando-se equipamento da marca Varian (Figura 7), modelo Star 3600 CX, acoplado com detector de ionização de chama de hidrogênio, e equipado com uma coluna capilar de sílica fundida DB-1 (dimetilsiloxano) da marca J&W Scientific, com 30 m de comprimento, diâmetro de 0,32 mm, espessura do filme de 5 μ m; o nitrogênio foi utilizado como gás carreador. As condições de operação do cromatógrafo gasoso foram: pressão interna da coluna de 80 kPa; razão de split de 20:1; fluxo de gás na coluna de 30 mL/min.; temperatura no injetor: 200°C; temperatura no detector: 250°C; programação da coluna: 70°C (1 min.), 25°C/min. até 190°C (1 min.), 1°C/min. até 200°C (4 min.), 1°C/min. até 210°C (4 min.), 2,5°C/min. até 220°C (8 min.).

Uma pequena quantidade do óleo essencial (1 μ L) foi transferida através de um capilar para um recipiente limpo e seco onde foi diluída com 1 mL de diclorometano. Com o auxílio de uma microseringa mediu-se 1 μ L desta solução e a amostra foi injetada no aparelho.



Figura 7. Cromatógrafo Gasoso (Varian, modelo Star 3600 CX).

4.2.2.4.3 Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM)

As análises de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas foram realizadas utilizando-se cromatógrafo gasoso da marca Shimadzu, modelo GC-17A, acoplado à espectrômetro de massas, modelo QP-5000 (Shimadzu), empregando-se coluna capilar de sílica fundida DB-5 (5% difenildimetilsiloxano), da marca J&W Scientific, com 30 m de comprimento, diâmetro de 0,25 mm, espessura do filme de 0,25 μm , e hélio como gás carreador. As condições de operação do cromatógrafo gasoso foram: pressão interna da coluna de 100 kPa; razão de split de 20:1; fluxo de gás na coluna de 1 mL/min.; temperatura no injetor: 220°C; temperatura no detector: 230°C; programação da coluna: 60°C, 3°C/min. até 240°C. O detector de massas operou com ionização por impacto de elétrons (70 eV) com amplitude de varredura de 40 a 450 m/z.

Uma pequena quantidade do óleo essencial (1 μL) foi transferida através de um capilar para um recipiente limpo e seco onde foi diluída com 1 mL de acetato de etila. Com o auxílio de uma microseringa mediu-se 1 μL desta solução e a amostra foi injetada no aparelho.

A identificação das substâncias foi efetuada através da comparação dos seus espectros de massas com o banco de dados do sistema CG/EM (NIST 62 MS LIBRARY) e pela comparação dos índices de retenção de Kovats obtidos experimentalmente com os valores tabelados (ADAMS, 2001).

O índice de retenção definido por Kovats é um índice que descreve o comportamento de retenção do composto comparativamente ao de uma mistura de alcanos lineares de diferentes números de átomos de carbono. Este índice de retenção fornece informação sobre a seqüência de eluição do composto e varia em função da fase estacionária e da temperatura, sendo independente das condições experimentais. Devido à grande importância comercial e farmacológica de terpenos e fenilpropanóides presentes em óleos essenciais e da dificuldade de sua caracterização, estão disponíveis na literatura várias compilações com análises, tempos de retenção e índices de retenção de Kovats, para o auxílio na caracterização de óleos essenciais (JANZANTTI; FRANCO; WOSIACKI, 2003).

Para o cálculo dos índices de retenção de Kovats, uma mistura de padrões de alcanos lineares (C₉ a C₂₄) foi injetada no aparelho (1 µL) nas mesmas condições cromatográficas anteriormente citadas.

4.2.3 Avaliação da Atividade Larvicida do Óleo Essencial dos Frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi

A ação larvicida do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi foi avaliada segundo metodologia descrita por Consoli e Oliveira (1994), conforme mostrado na Figura 8.

O óleo essencial foi diluído com etanol para as diferentes concentrações testadas. As larvas foram separadas com o auxílio de uma pipeta de Pasteur e colocadas em papel de filtro whatman nº. 1 para a remoção do excesso de água e posteriormente, distribuiu-se 15 larvas de terceiro ínstar (geração F₁) em copos de material plástico descartável com capacidade para 50 mL contendo 300 µL da diluição e 19,7 mL de água deionizada, previamente homogeneizados. As larvas que apresentavam anormalidades foram descartadas. Os ensaios foram realizados em triplicata com duplicata (nove repetições por tratamento).

Como controle utilizou-se água deionizada (20 mL) e etanol (300 µL de etanol em água deionizada, perfazendo um volume total de 20 mL).

Os testes e os controles ficaram sob observação até que todas as larvas estivessem mortas ou por um período de 24 horas. O número de larvas mortas foi registrado, sendo consideradas mortas aquelas que não apresentavam movimento

ou não respondiam aos estímulos com a pipeta de Pasteur, ficando incapazes de alcançar a superfície.



Figura 8. Testes para medir a susceptibilidade das larvas de *Aedes aegypti* ao óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi.

As larvas que pupassem deveriam ser excluídas da computação dos resultados e, caso isso ocorresse com mais do que 10%, o teste teria que ser repetido. O mesmo aconteceria se a mortalidade nos controles ultrapassasse os 20%. Se a mortalidade nos controles estivesse entre 5% e 20%, as porcentagens deveriam ser corrigidas pela fórmula de Abbott (ABBOTT, 1925):

$$\frac{\% \text{ mortalidade no teste} - \% \text{ mortalidade no controle}}{100 - \% \text{ mortalidade no controle}} \times 100$$

O etanol foi utilizado no preparo das soluções-teste, uma vez que facilita a homogeneização do óleo essencial na água, onde serão colocadas as larvas. Foram utilizadas larvas de terceiro ínstar, imediatamente após a muda, por se tratarem de larvas mais resistentes para tais estudos, minimizando assim a possibilidade de pupação durante os testes (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994; SILVA; SILVA; LIRA, 1998; SILVA et al., 2003).

4.2.4 Avaliação da Atividade Inseticida do Óleo Essencial dos Frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi

A ação inseticida do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi foi avaliada segundo metodologia descrita por Consoli e Oliveira (1994), com modificação, conforme mostrado na Figura 9.

Papéis de filtro com 30 cm² de área foram impregnados com diferentes volumes de óleo essencial e, posteriormente colocados em vidros de 1500 mL (altura: 22,0 cm; diâmetro: 13,0 cm), dotados de tampa com orifícios de 2 mm de diâmetro, contendo 40 fêmeas de *Aedes aegypti* (geração F₁), recentemente alimentadas com sangue (24 horas antes do início dos testes). O papel de filtro foi deixado dentro do vidro por uma hora.

Posteriormente, o papel de filtro foi removido e descartado, e um chumaço de algodão embebido em água corrente foi colocado sobre a tampa, disposto de forma a não ocluir os orifícios da mesma.

Os ensaios foram realizados em triplicata com duplicata (nove repetições por tratamento). Como controle utilizou-se papel de filtro sem impregnação.

Os testes e os controles ficaram sob observação até que todos os mosquitos estivessem mortos ou por um período de 24 horas. O número de mosquitos mortos foi registrado, sendo considerados mortos aqueles que não apresentavam movimento.

Se a mortalidade nos vidros-controle ultrapassasse os 20%, todo o teste deveria ser repetido; se a mortalidade nos controles estivesse entre 5% e 20%, as porcentagens deveriam ser corrigidas pela fórmula de Abbott (ABBOTT, 1925).



Figura 9. Testes para medir a eficácia inseticida do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi frente ao mosquito *Aedes aegypti*.

4.2.5 Avaliação da Atividade Repelente do Óleo Essencial dos Frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi

Os testes de ação repelente do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi foram conduzidos segundo metodologia descrita por Yang e Ma (2005) com modificação, conforme mostrado na Figura 10.

O óleo essencial foi diluído com etanol para as diferentes concentrações testadas. Utilizou-se ratos da espécie *Mesocricetus auratus* (hamster) como cobaia.

O rato foi imobilizado em uma gaiola de contenção de madeira goiabão, sem verniz e sem tinta, de dimensões: 5,8 cm (altura) x 7,5 cm (largura) x 13,0 cm (comprimento), com o abdome limpo e raspado. Uma área de 4 cm² foi marcada no abdome e o rato imobilizado foi então colocado em uma gaiola de alumínio (altura: 22,5 cm; largura: 22,5 cm; comprimento 22,5 cm), contendo 150 fêmeas de *Aedes aegypti* (geração F₁), por dois minutos. Se mais de 10 mosquitos picassem o rato durante este teste, os mosquitos e o rato poderiam então ser usados nos testes de repelência. Nas 72 horas que antecederam os testes, os mosquitos foram mantidos com solução aquosa de sacarose a 10% (p/v), sendo suspensa a alimentação com sangue.

As soluções-teste foram aplicadas na área marcada no abdome do rato (alíquota de 20 µL). Após uma hora, o rato foi colocado na gaiola por dois minutos, retirado, e colocado novamente na gaiola a cada hora, durante dois minutos, por cinco horas consecutivas, sendo observado o número de picadas de mosquito. Os ensaios foram realizados em triplicata (três repetições por tratamento). Como controle utilizou-se o etanol (20 µL).

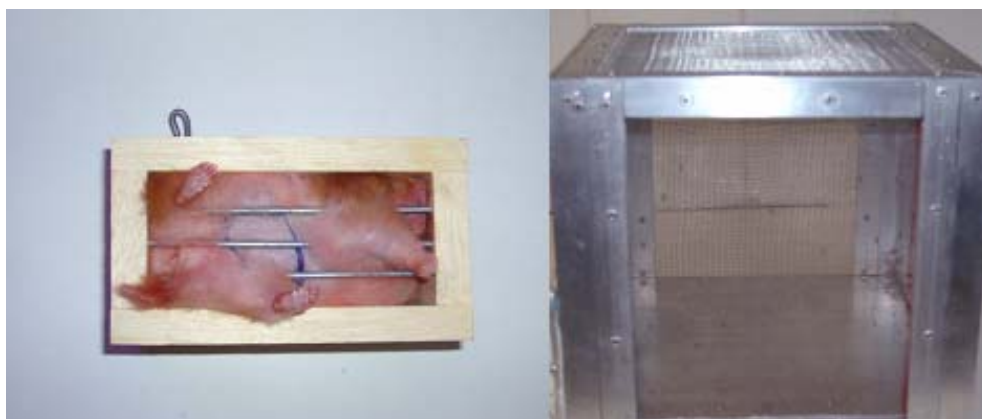


Figura 10. Testes em cobaias para medir a eficácia repelente do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi frente ao mosquito *Aedes aegypti*.

Foi avaliado o número de picadas de mosquito no rato ao longo das cinco horas de duração do teste, ao final do qual se calculou a porcentagem de proteção (efeito repelente) para cada uma das concentrações testadas utilizando-se a seguinte fórmula:

$$\text{Porcentagem de proteção (\%)} = \frac{[(\text{Controle} - \text{Tratado})/\text{Controle}] \times 100}{}$$

O **Controle** consistia do número de picadas de mosquito no rato tratado com a solução-controle (etanol), comparado com o número de picadas no rato tratado com a solução-teste (**Tratado**).

4.2.6 Análise Estatística

Os dados obtidos nos ensaios larvicida e inseticida foram comparados estatisticamente por Análise de Variância (ANOVA) e Teste de Tukey para comparação das médias (a 5% de probabilidade), e posteriormente analisados. Nos ensaios de repelência, o delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 x 5 (cinco tratamentos avaliados ao longo de cinco horas de teste); as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey (a 5% de probabilidade). Os dados de rendimento de extração foram avaliados através do Coeficiente de Variação.

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando-se o programa R Versão 2.5.0 (2007).

Para os ensaios larvicida e inseticida foi determinada a Concentração Letal Mediana (CL₅₀), com um intervalo de confiança de 95%, por meio da análise de probito. A análise de probito é uma análise de regressão comumente utilizada para quantificar taxas de mortalidade de uma determinada população submetida a um componente tóxico.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais obtidos apresentaram odor forte, sabor pungente e coloração amarelo-clara.

A porcentagem de óleo essencial extraído dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi variou de 5,50% (p/p) a 8,41% (p/p) (Tabela 1), no entanto, esta porcentagem ainda é inferior aos 10,00% (p/p) relatados por Lloyd et al. (1977).

Tabela 1. Rendimento do óleo essencial obtido dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi por hidrodestilação.

Repetições	Rendimento (% p/p)
1	6,95
2	7,06
3	8,10
4	8,41
5	6,39
6	5,96
7	5,58
8	5,59
9	5,50
10	5,87
Média (\bar{x})	6,54
Desvio Padrão	1,06
Coeficiente de Variação (%)	16,21

Os resultados obtidos mostraram-se coerentes com o trabalho de Bertoldi (2006), que em seus experimentos de extração de óleo essencial a partir de frutos secos de *Schinus terebinthifolius* encontrou uma variação de rendimento de $5,60 \pm 0,30\%$ (v/p) a $7,70 \pm 0,20\%$ (v/p), em função do local de coleta dos frutos.

O valor médio encontrado é quatro vezes maior do que o relatado por Pieribattesti et al. (1981) – 1,50% – em seu trabalho com frutos de *Schinus terebinthifolius*.

Os valores de rendimento de extração do óleo essencial apresentaram baixa flutuação de resultados entre as repetições, o que pode ser visualizado pelo Coeficiente de Variação de 16,21%. O Coeficiente de Variação (CV) é a medida mais utilizada para expressar a instabilidade relativa de uma característica ou variável (SAMPAIO, 1998) – quanto menor o CV, maior é a homogeneidade dos

dados, e menor a variação do acaso (GARCIA, 1989): Coeficientes de Variação menores que 10,00% são considerados baixos, entre 10,00% e 20,00%, médios, entre 20,00% e 30,00%, altos, e maiores que 30,00%, muito altos (PIMENTEL-GOMES, 1987). Para Campos (1984), Coeficientes de Variação entre 10,00% e 20,00% são considerados normais.

A natureza e quantidade de óleos essenciais produzidos pelas espécies vegetais ao longo de seu desenvolvimento podem ser afetados significativamente por fatores como intensidade luminosa, temperatura, nível de nutrição e disponibilidade de água – os chamados fatores abióticos (LIMA; KAPLAN; CRUZ, 2003).

Hornok citado por Bernáth (1992) relatou redução significativa do conteúdo do óleo essencial de *Mentha piperita* (hortelã-pimenta) à sombra, enquanto Telci et al. (2004) obtiveram alto conteúdo de óleo essencial de *Mentha spicata* (hortelã-verde) em condições de alta intensidade luminosa. Nas espécies *Ocimum basilicum* (manjeriço) e *Thymus vulgaris* (tomilho), o completo desenvolvimento de pêlos glandulares, onde os óleos essenciais são armazenados, é luz-dependente (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Hotyn citado por Bernáth (1992) constatou que o acréscimo de 2-3°C na temperatura, durante o dia, levou a um aumento significativo na quantidade de óleo essencial de *Mentha piperita*. Segundo Evans (1996), a produção de óleo essencial pode ser relacionada com a temperatura, embora possa haver perda excessiva em dias muito quentes.

Hornok (1983), ao estudar a influência da nutrição mineral no rendimento do óleo essencial de *Mentha piperita* e *Ocimum basilicum*, verificou que o aumento dos níveis de fósforo e nitrogênio no solo acarretou aumento do rendimento do óleo essencial. Na camomila, de modo geral, o teor de óleo essencial aumenta com o nitrogênio e o fósforo e diminui com o potássio (FRANZ, 1983).

Mitchell e Yang (1998), em seu trabalho sobre a influência de diferentes níveis de irrigação no rendimento do óleo essencial de *Mentha piperita*, verificaram um aumento do rendimento em função do aumento do nível de irrigação, havendo um valor crítico, onde o excesso hídrico resultou em diminuição de rendimento. Já Penka (1978), observou aumento da concentração de óleos essenciais em 15 espécies medicinais quando não eram irrigadas.

Apesar das coletas terem sido realizadas em um mesmo local, os frutos não foram colhidos de uma única árvore; logo, as variações de rendimento verificadas podem ser justificadas, ainda que parcialmente, pela influência de fatores abióticos (nem todas as árvores que serviram de fonte para as coletas encontravam-se sob as mesmas condições de intensidade luminosa, por exemplo).

5.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO ÓLEO ESSENCIAL

Os resultados obtidos na caracterização físico-química do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Características físico-químicas do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi.

Características Físico-Químicas	Valores*
Densidade Específica (g/cm ³) a 20°C	0,9097 ± 0,0200 (CV = 2,2000%)
Índice de Refração a 20°C	1,4750 ± 0,0001 (CV = 0,0068%)
Rotação Específica a 23,5°C	+26,41 ± 0,0200 (CV = 0,0760%)

* Dados expressos como Média ± Desvio Padrão (Coeficiente de Variação = %), de três repetições.

5.2.1 Densidade Específica

O óleo essencial obtido apresentou densidade específica inferior à da água, uma vez que durante a hidrodestilação verificou-se uma nítida separação de fases, ficando o óleo essencial na parte superior do tubo coletor.

O resultado da densidade específica em g/cm³ a 20°C do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi obtido está resumido na Tabela 2.

O valor mostrou-se ligeiramente superior ao descrito em outros trabalhos com *Schinus terebinthifolius*: 0,8775 g/cm³ (24°C) (SINGH et al., 1998) e 0,8620 g/cm³ (temperatura não informada) (MALIK; MAHMUD; SATTAR, 1994), em trabalho com folhas e inflorescências, e, folhas e galhos, respectivamente. A densidade do óleo essencial é influenciada por sua composição química, e, variações nesta composição implicam em variações na densidade; logo, deve-se levar em consideração fatores que influenciem a composição química do óleo (parte da planta submetida à extração, por exemplo). A temperatura de análise é outro parâmetro a ser considerado: em geral, a densidade diminui com o aumento da temperatura (BRADY; RUSSELL; HOLM, 2002).

5.2.2 Índice de Refração

O valor observado (Tabela 2) mostrou-se próximo ao encontrado em outros trabalhos (apesar da não-coincidência das partes utilizadas da planta): 1,4740 (28°C) (MALIK; MAHMUD; SATTAR, 1994) e 1,4825 (24°C) (SINGH et al., 1998), em trabalho com folhas e galhos, e, folhas e inflorescências, respectivamente. O índice de refração varia inversamente com a temperatura (FARMACOPEA ARGENTINA, 2003), logo, é importante que a temperatura de análise seja considerada, assim como as variações de composição química do óleo essencial em função da parte submetida ao processo extrativo.

5.2.3 Rotação Específica

O resultado de rotação específica do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi encontra-se na Tabela 2. A rotação óptica positiva indica que o óleo essencial é dextrógiro.

O valor encontrado mostrou-se inferior ao obtido por Pieribattesti et al. (1981): +39,00° (20°C), em seu trabalho com frutos de *Schinus terebinthifolius*. É provável que esta diferença seja resultado de variações na composição química do óleo essencial, podendo também estar relacionada às condições de análise: a rotação específica geralmente decresce linearmente com o aumento da temperatura, assim como varia com a concentração (FARMACOPEA ARGENTINA, 2003).

5.2.4 Perfil Cromatográfico

5.2.4.1 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

As análises de CCD, realizadas com finalidade qualitativa, revelaram um mesmo perfil cromatográfico para as 10 amostras obtidas de óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi.

5.2.4.2 Cromatografia Gasosa (CG) e Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM)

As diferentes amostras de óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi revelaram um mesmo perfil cromatográfico nos ensaios de CG (Figuras 11 e 12).

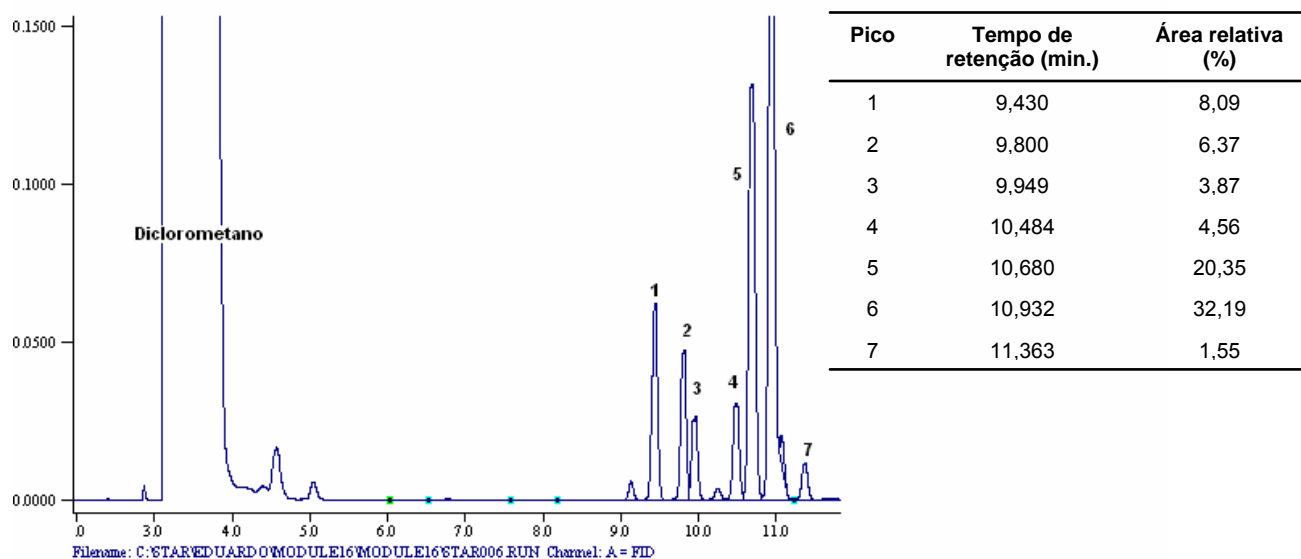


Figura 11. Perfil cromatográfico (CG) do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi – Amostra da 1ª extração.

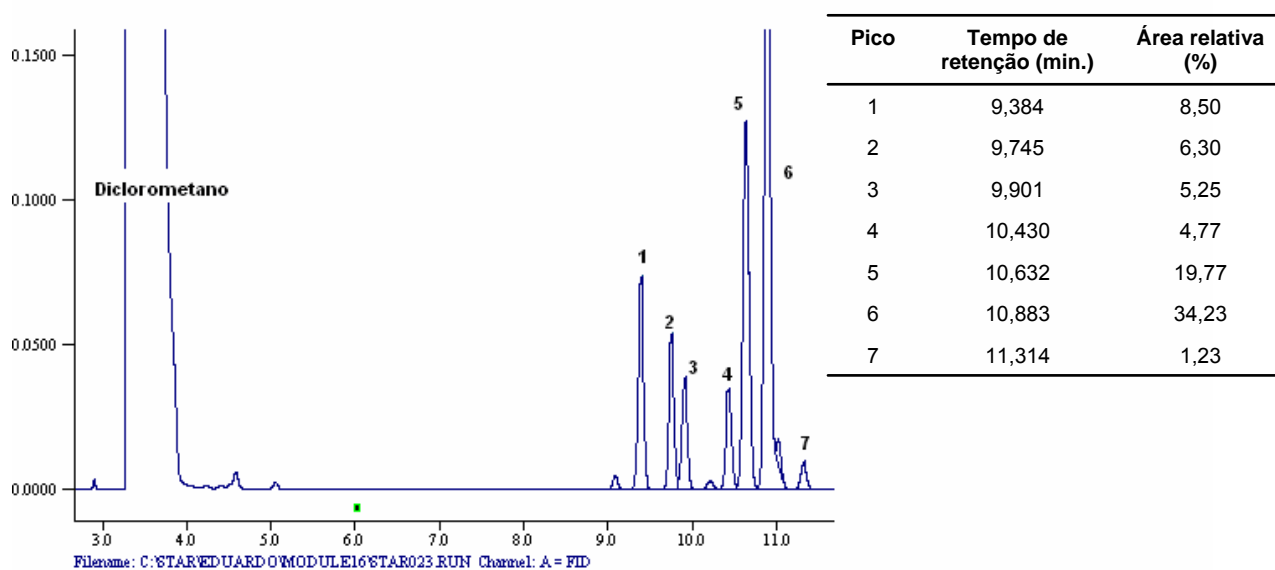


Figura 12. Perfil cromatográfico (CG) do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi – Amostra da 2ª extração.

As pequenas diferenças verificadas em termos de tempo de retenção refletem prováveis variações qualitativas no procedimento de injeção da amostra, assim como problemas relacionados à integração dos sinais cromatográficos (quando a separação não atinge uma resolução adequada) (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006). As variações referentes às áreas relativas podem estar relacionadas à origem dos frutos (e fatores ambientais à eles associados) (HORNOK, 1983).

O óleo essencial revelou uma composição química de predominância monoterpênica (85,81% do total identificado), apresentando como principais constituintes o δ -3-careno (30,37%), o limoneno (17,44%), o α -felandreno (12,60%), o α -pineno (12,59%), o mirceno (5,82%) e o o-cimeno (3,46%), conforme mostrado na Tabela 3.

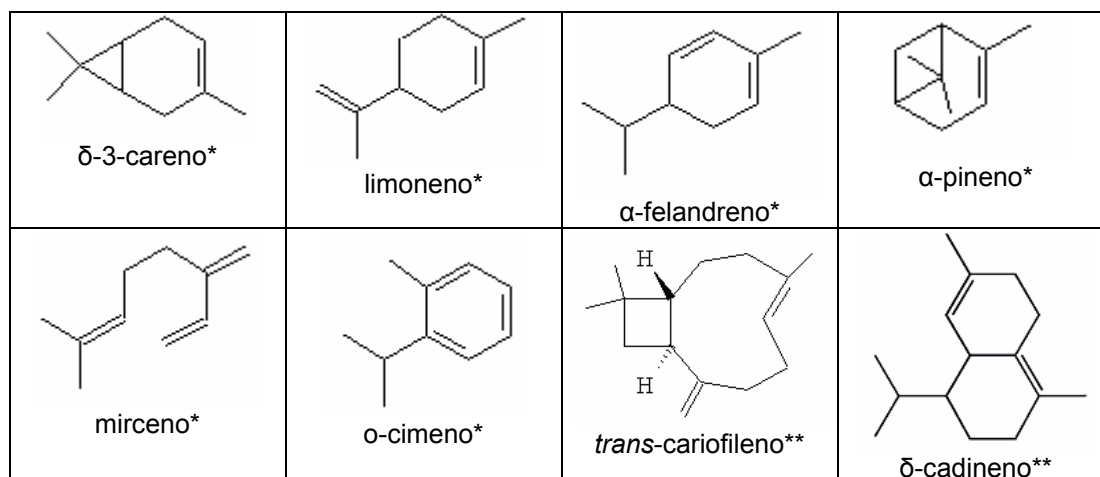
Tabela 3. Composição percentual do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi, determinada por CG/EM.

Pico	Tempo de retenção (min.)	Índice de Kovats		Substância	Área relativa (%)
		Obtido	Teórico*		
1	4,870	930	939	α -pineno	12,59
2	5,806	968	976	sabineno	0,61
3	5,905	972	980	β -pineno	0,69
4	6,279	987	991	mirceno	5,82
5	6,697	1002	1005	α -felandreno	12,60
6	6,922	1009	1011	δ -3-careno	30,37
7	7,256	1019	1022	o-cimeno	3,46
8	7,470	1025	1031	limoneno	17,44
9	9,457	1084	1086	isoterpinoleno	1,02
10	12,546	1162	1165	borneol	0,34
11	12,841	1169	1177	4-terpineol	0,57
12	18,133	1295	1298	carvacrol	0,30
13	23,182	1413	1418	<i>trans</i> -cariofileno	1,77
14	25,730	1474	1480	γ -muuruleno	1,29
15	26,395	1489	1508	<i>E,E</i> - α -farneseno	0,36
16	27,508	1517	1524	δ -cadineno	1,32
17	32,062	1634	1640	epi- α -cadinol	0,60
Total identificado					91,15

* ADAMS, R. P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy*. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2001.

Os sesquiterpenos *trans*-cariofileno, γ -muuruleno, *E,E*- α -farneseno, δ -cadineno e epi- α -cadinol, apareceram em menor proporção, representando 5,34% do total de compostos identificados.

No Quadro 2 estão representadas as estruturas químicas dos principais monoterpenos e sesquiterpenos identificados no óleo essencial analisado.



Quadro 2. Estruturas químicas dos principais monoterpenos* e sesquiterpenos** presentes no óleo essencial extraído dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi.

Os resultados encontrados não coincidem com os achados de outros trabalhos com o óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi. Ibrahim; Fobbe; Nolte (2004) detectaram como terpenos majoritários os sesquiterpenos elixeno (15,18%) e germacreno D (14,31%) e o monoterpeno α -pineno (15,01%). Pieribattesti et al. (1981), obtiveram como espécies terpênicas predominantes os monoterpenos α -pineno (26,50%), α -felandreno (22,30%), limoneno (16,00%) e β -felandreno (15,00%); enquanto o trabalho de Gehrke; Stolz; Morel (2007) revelou predomínio dos monoterpenos δ -3-careno (24,56%) e α -pineno (16,14%). Barbosa et al. (2007), em seu trabalho de análise da variação da composição volátil do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* em função do tempo de extração, obtiveram como monoterpenos predominantes, após três horas de extração, o δ -3-careno (5,82%), o β -felandreno (4,49%), o α -felandreno (2,88%) e o 4-terpineol (2,24%). Nenhum destes estudos envolvendo caracterização química do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi mencionou em seus resultados os monoterpenos o-cimeno, borneol e carvacrol, assim como os sesquiterpenos γ -muuruleno e *E,E*- α -farneseno, identificados no presente trabalho.

Esta variação observada na composição química do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi, nestes diferentes trabalhos, guarda uma relação direta com o ambiente no qual o vegetal se desenvolve e o tipo de cultivo a que ele é submetido (WILLIAMS et al., 1998).

Avaliando a influência do suprimento mineral na composição dos óleos essenciais de *Mentha piperita* e *Ocimum basilicum*, Hornok (1983) verificou que o aumento do suprimento de nitrogênio resultou em diminuição dos teores dos principais constituintes dos óleos (mentol e linalool, respectivamente), enquanto o aumento do teor de potássio teve efeito de aumento no teor de mentol (*M. piperita*), linalool e estragol (*O. basilicum*). O fornecimento de fósforo não promoveu alterações significativas na composição dos óleos essenciais.

O estresse hídrico freqüentemente implica significativamente nas concentrações de metabólitos secundários em plantas, e há vários relatos de que esta condição geralmente leva a um aumento na produção de vários tipos de metabólitos secundários, como glicosídeos cianogênicos, glucosinolatos, alguns terpenóides, antocianinas e alcalóides (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

As folhas de *Mentha piperita* mantidas sob condições de dia longo contêm mentol, mentona, e somente traços de mentofurano, enquanto as plantas desenvolvidas sob condições de dia curto apresentam o mentofurano como constituinte majoritário do óleo essencial (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Entretanto, não se pode estabelecer um único padrão de influência dos fatores abióticos sobre a composição dos óleos essenciais, pois cada espécie reage de forma diferenciada (CASTRO, 2006).

5.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DOS FRUTOS DE *Schinus terebinthifolius* RADDI FRENTE AO MOSQUITO *Aedes aegypti*

O óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi apresentou atividade larvicida contra o *Aedes aegypti* (Tabela 4), com CL₅₀ de 117,34 µg/mL. Não foi verificada mortalidade nos controles.

Não houve diferença estatística significativa (Teste de Tukey, a 5% de probabilidade) da eficácia larvicida nas concentrações de 169,20 µg/mL; 178,80 µg/mL; 190,20 µg/mL e 200,40 µg/mL, considerando-se o teste com duração de 24 horas, apesar dos resultados nas três primeiras horas de teste apontarem para uma

maior eficácia da concentração de 200,40 µg/mL: 75,56% de atividade larvicida, enquanto as concentrações de 190,20 µg/mL; 178,80 µg/mL e 169,20 µg/mL apresentaram, respectivamente, 62,22%; 59,26% e 59,26% de atividade larvicida para o mesmo período. Sob o ponto de vista econômico, em função da utilização de uma menor quantidade de matéria-prima, e considerando a duração total do teste, 24 horas, a concentração de 169,20 µg/mL mostrou-se a mais viável.

Tabela 4. Porcentagem de mortalidade das larvas de *Aedes aegypti* frente às diferentes concentrações do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi.

Concentração da solução (µg/mL)	Mortalidade após 3 horas de teste (%)	Mortalidade após 24 horas de teste (%) ^{*†}
200,40	75,56	99,26 a
190,20	62,22	99,26 a
178,80	59,26	97,04 ab
169,20	59,26	97,04 ab
159,00	47,41	79,26 bc
145,50	47,41	77,78 c
139,50	47,41	71,11 c
132,00	39,26	65,93 c
120,00	27,41	45,93 c
94,20	14,81	32,59 de
87,00	0,00	20,00 ef
75,00	0,00	13,33 f
63,60	0,00	6,67 f
Controle do solvente (água deionizada)	0,00	0,00
Controle do solvente (etanol)	0,00	0,00

* Dados expressos como médias, de nove repetições.

† Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

De acordo com a literatura (CHENG et al., 2003), substâncias com valores de CL₅₀ menores que 100 µg/mL são consideradas bons agentes larvicidas. A CL₅₀ obtida para o óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (117,34 µg/mL) apresentou-se próxima a este valor, o que reforça a viabilidade de uso do mesmo para tal finalidade, principalmente se considerada a abundância da planta no território brasileiro e o grau de rendimento obtido na extração do óleo essencial.

Em seu trabalho de avaliação da atividade larvicida de alguns terpenóides contra larvas de 4º ínstar de *Aedes aegypti*, Omena; Lima; Sant`Ana (2000) verificaram que os sesquiterpenos cis-nerolidol, farnesol e guaiazuleno, o

fenilpropanóide anetol e os monoterpenos limoneno e felandreno apresentaram-se ativos em concentração de 100 µg/mL, em menos de 24 horas, para matar 100% das larvas. O limoneno é comprovadamente ativo contra larvas de 4º ínstar do mosquito *Culex quinquefasciatus* (IBRAHIM et al., 2001), atuando também em larvas de 2º ínstar, com valores de CL₅₀ variando de 7,8 a 30,6 µg/mL e de 6,6 a 26,1 µg/mL, respectivamente (MOHSEN; AL-CHALABI; KASSIR, 1989).

Cheng et al. (2005), ao avaliarem a atividade larvicida do óleo essencial das folhas de *Cryptomeria japonica* (cedro japonês), verificaram que o δ-3-careno apresenta grande potencial como agente larvicida contra o *Aedes aegypti* (CL₅₀ = 10,7 µg/mL).

A análise por CG/EM do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi revelou dentre seus principais constituintes o δ-3-careno, o limoneno e o α-felandreno (30,37%; 17,44% e 12,60%, respectivamente), o que pode justificar, ainda que parcialmente, a ação larvicida do óleo, com estes compostos atuando de forma isolada ou sinergicamente com outros constituintes.

5.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DOS FRUTOS DE *Schinus terebinthifolius* RADDI FRENTE AO MOSQUITO *Aedes aegypti*

O óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi apresentou atividade inseticida sobre adultos de *Aedes aegypti* (Tabela 5), com CL₅₀ de 28,80 µL. Não foi verificada mortalidade nos controles.

Não houve diferença estatística significativa (Teste de Tukey, a 5% de probabilidade) da eficácia inseticida nas concentrações de 70,00 µL e 50,00 µL, considerando-se o teste com duração de 24 horas, apesar dos resultados nas três primeiras horas de teste apontarem para uma maior eficácia da concentração de 70,00 µL, com 99,44% de atividade inseticida, enquanto a concentração de 50,00 µL apresentou 78,60% de atividade inseticida para o mesmo período. Sob o ponto de vista econômico, por utilizar menor quantidade de matéria-prima, e considerando a duração total do teste, 24 horas, a concentração de 50,00 µL mostrou-se a mais viável.

Tabela 5. Porcentagem de mortalidade de mosquitos *Aedes aegypti* frente às diferentes concentrações do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi.

Alíquota (μL de óleo essencial)	Mortalidade após 3 horas de teste (%)	Mortalidade após 24 horas de teste (%)^{*,†}
70,00	99,44	100,00 a
50,00	78,60	93,89 ab
40,00	54,43	80,00 b
30,00	37,77	48,61 c
20,00	12,22	22,22 d
10,00	5,27	12,50 d
5,00	0,00	6,94 d
Controle	0,00	0,00

* Dados expressos como médias, de nove repetições.

† Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Os monoterpenos, compostos presentes mais comumente nos óleos essenciais e, tipicamente lipofílicos, apresentam alto potencial para interferências tóxicas em processos bioquímicos básicos, com conseqüências fisiológicas e comportamentais em insetos (ISMAN, 2000; PRATES; SANTOS, 2002). Os óleos essenciais são inseticidas de amplo espectro, de ação rápida, indicativa de modo de ação neurotóxico, com evidências de interferência no neuromodulador octopamina (ausente em mamíferos) ou em canais de cálcio. A octopamina é semelhante à noradrenalina, agindo como um neuromônio, neuromodulador e neurotransmissor, regulando os batimentos cardíacos, os movimentos, o comportamento e o metabolismo dos insetos (CORRÊA; VIEIRA, 2007).

Monoterpenos de estrutura relativamente simples como o limoneno, o mirceno e a 1,2-epóxi-pulegona, aparentemente apresentam ação inseticida em função da inibição da enzima acetilcolinesterase nos insetos, que é o caso da 1,2-epóxi-pulegona, tida como o principal agente inseticida de *Lippia stoechadoifolia* (Verbenaceae) (VIEGAS JUNIOR, 2003). Entretanto, Greenberg-Levy et al. (1993), ao avaliarem o efeito de monoterpenos sobre a enzima acetilcolinesterase dos besouros *Rhyzopertha dominica* e *Tribolium confusum*, verificaram que o limoneno não apresentava toxicidade para os insetos nem ação inibidora sobre a acetilcolinesterase. Estudos envolvendo a ação dos monoterpenos sobre artrópodes sugerem outros mecanismos de ação além da inibição da acetilcolinesterase: inibição do citocromo P450 monoxigenase-dependente e ação no sistema nervoso octopaminérgico (OLIVEIRA; PINTO; PAUMGARTTEN, 1997).

O limoneno tem sido usado com sucesso no controle de parasitóides de animais domésticos. Da mesma forma, o composto tem demonstrado eficácia contra pulgas resistentes ao Malathion (IBRAHIM et al., 2001). Porém, Karr e Coats (1988), ao estudarem as propriedades inseticidas do limoneno, verificaram que as mesmas são limitadas: o limoneno apresentou-se levemente tóxico quando aplicado topicamente à *Blatta germanica* e mosca doméstica; a administração oral não resultou em morte para baratas adultas ou ninfas, e, a ação repelente contra *Blatta germanica* foi verificada apenas com o uso de altas concentrações. Seri-Kouassi et al. (2004) atribuíram ao eucaliptol e ao limoneno, compostos majoritários no óleo essencial de *Melaleuca quinquenervia* (L.), a ação inseticida deste contra *Callosobruchus maculatus* (caruncho do feijão-de-corda). Estes trabalhos revelam uma discrepância de resultados com relação à eficácia inseticida do limoneno. Uma das hipóteses para tal comportamento é o provável sinergismo com outros compostos presentes no óleo essencial.

O óleo essencial de *Thymus vulgaris*, constituído majoritariamente por timol (48,20%), α -pineno (8,40%) e β -pineno (4,30%), apresenta forte ação fumigante contra a mosca do cogumelo Solani (*Lycoriella mali*), sendo os monoterpenos α -pineno e β -pineno os responsáveis pela toxicidade, o que não exclui a possibilidade de sinergismo com outros componentes do óleo (CHOI et al., 2006). Entretanto, Pontes et al. (2007), verificaram em seu trabalho com o óleo essencial das folhas e frutos de *Xylopiya sericea* (pimenteira) que, embora o óleo extraído do fruto seja composto por mais de 62,00% de α -pineno e β -pineno, revela menor toxicidade contra o ácaro rajado (*Tetranychus urticae*) do que o óleo extraído das folhas, constituído majoritariamente pelos sesquiterpenos oxigenados cubenol (57,43%) e α -epi-muurolol (26,09%). Verifica-se, portanto, a existência de uma variação de susceptibilidade à um mesmo terpeno por parte de diferentes espécies de insetos.

A ação inseticida de *Cymbopogon citratus* (capim limão) é atribuída aos monoterpenos α -citral, β -citral e mirceno (FERREIRA; FONTELES, 1989).

Muitos destes terpenos dotados de ação inseticida anteriormente descritos revelaram-se presentes no óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Tabela 3; página 42) e provavelmente guardam relação com a ação inseticida do mesmo.

A fim de aumentar a eficácia da ação inseticida do óleo, tem-se como opção a associação com sinergistas, a fim de vencer alguns mecanismos de resistência cruzada do inseto. Um exemplo é o uso do butóxido de piperonila para bloquear a ação de enzimas oxidativas mediadas pelo citocromo P450 (OMOTO; RISCO; SCHMIDT, 2007).

5.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE REPELENTE DO ÓLEO ESSENCIAL DOS FRUTOS DE *Schinus terebinthifolius* RADDI FRENTE AO MOSQUITO *Aedes aegypti*

O óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi apresentou atividade repelente contra o mosquito *Aedes aegypti* (Tabela 6).

Tabela 6. Avaliação da eficácia repelente do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi em ratos, contra o mosquito *Aedes aegypti*, ao longo de um período de cinco horas.

Concentração (% p/p)	Tempo (horas)*,†				
	1	2	3	4	5
10,00	0 bA	0 bA	0 cA	0 cA	0 cA
5,03	0 bA	0 bA	1 cA	1 cA	2 cA
2,39	0 bA	1 bA	3 bcA	4 cA	7 cA
1,17	6 abC	9 bBC	13 bABC	17 bAB	21 bA
0,46	15 aE	29 aD	43 aC	55 aB	68 aA
Controle	17	35	53	71	89

* Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade, sendo letras minúsculas para colunas e letras maiúsculas para linhas.

† Resultado expresso em número de picadas de mosquito.

Não houve diferença estatística significativa (Teste de Tukey, a 5% de probabilidade) de eficácia repelente nas concentrações de 10,00% (p/p); 5,03% (p/p) e 2,39% (p/p) ao longo das cinco horas de teste.

Tendo em vista relatos de irritação cutânea associados à *Schinus terebinthifolius* (MORTON, 1978; STAHL; KELLER; BLINN, 1983; NELSON, 1996), é importante considerar o uso de concentrações mínimas eficazes. Além disso, o uso de concentrações menores é mais viável economicamente. Logo, a concentração 2,39% (p/p) mostrou-se a mais viável.

A porcentagem de proteção conferida pelo óleo essencial encontra-se disposta na Tabela abaixo:

Tabela 7. Porcentagem de proteção (efeito repelente) do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi em ratos, contra o mosquito *Aedes aegypti*, após cinco horas de teste.

Concentração (% p/p)	Controle*	Tratado*	Repelência (%)
10,00	265	0	100,00
5,03	265	4	98,49
2,39	265	15	94,34
1,17	265	66	75,09
0,46	265	210	20,75

* Resultado expresso em número de picadas de mosquito.

Os compostos eucaliptol, limoneno, p-cimeno, γ -terpineno, β -pineno, mirceno, eugenol e α -humuleno parecem desempenhar efeito repelente contra moscas, em testes com concentrações variando de 17-25 $\mu\text{mol.cm}^{-2}$ (IBRAHIM et al., 2001).

O efeito repelente do limoneno sobre *Sitophilus zeamays* Mots. (gorgulho do milho) foi evidenciado por Tavares (2006), em seu trabalho com compostos bioativos de diferentes espécies do gênero *Chenopodium*; entretanto, o limoneno apresentou baixo efeito tóxico sobre os espécimes, assim como o α -pineno. Liu et al. (2006) verificaram que o limoneno, o linalool e a cânfora, apesar de não serem os componentes majoritários do óleo essencial das sementes de *Cinnamomum camphora* (L.), são os principais responsáveis pela ação repelente, fumigante e inseticida deste óleo contra pragas de grãos armazenados. O mirceno apresenta ação repelente contra *Rhipicephalus appendiculatus* (carrapato) e *Sitophilus zeamays* Mots., sendo altamente tóxico para muitos insetos, tais como moscas domésticas, baratas e larvas de mosquitos do gênero *Culex* (NDUNGU et al., 1995; WERNER, 1995).

Dados do United States Department of Agriculture revelam diferenças no perfil de duração do efeito repelente dos monoterpenos contra o mosquito *Aedes aegypti*: 1. Menor ou igual à uma hora, para o mirceno, limoneno e α -pineno; 2. Entre uma e duas horas, para o citronelol, eugenol, linalool e β -terpineol; e, 3. Entre duas e três horas para o citral e geraniol (USDA, 1967), sugerindo assim uma relação entre a composição terpênica do óleo essencial e a duração de seu efeito repelente.

A composição química do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Tabela 3; página 42) revelou a presença de muitos destes terpenos, o que reforça o provável papel dos mesmos na ação repelente do óleo essencial.

6 CONCLUSÃO

O processo de extração por hidrodestilação do óleo essencial dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi apresentou rendimento compatível com a literatura consultada.

O óleo essencial apresentou valores de densidade específica e índice de refração próximos ao descrito na literatura, fato não observado para a rotação específica, cujo valor obtido apresentou-se um pouco distante dos dados disponíveis. As análises de CCD e CG revelaram um mesmo perfil cromatográfico para as amostras obtidas.

Foram identificados 17 compostos (91,15% da composição do óleo essencial) por CG/EM, sendo os monoterpenos δ -3-careno (30,37%), limoneno (17,44%), α -felandreno (12,60%), α -pineno (12,59%), mirceno (5,82%) e o-cimeno (3,46%) as espécies químicas predominantes. Em menor proporção apareceram os sesquiterpenos *trans*-cariofileno, γ -muuruleno, *E,E*- α -farneseno, δ -cadineno e epi- α -cadinol, representando 5,34% do total de compostos identificados.

As atividades larvicida, inseticida e repelente do óleo essencial foram evidenciadas contra o *Aedes aegypti*, sendo as concentrações 169,20 $\mu\text{g/mL}$; 50,00 μL e 2,39% (p/p), as mais eficazes, respectivamente, em cada um dos testes realizados. A CL_{50} obtida foi de 117,34 $\mu\text{g/mL}$ para o ensaio larvicida, e 28,80 μL para o ensaio inseticida.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, W. S. A method for computing the effectiveness of insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v.18, n.02, p.265-267, 1925.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2001.

AHMED, S.; GRAING, M.; HYLIN, J. W.; MITCHEL, W. C.; LITSINGER, J. A. **Natural pesticides from the neem tree and other tropical plants**. Eschborn: GTZ, 1984.

ALBUQUERQUE, M. R. J. R.; SILVEIRA, E. R.; UCHOA, D. E. A.; LEMOS, T. L. G.; SOUZA, E. B.; SANTIAGO, G. M. P.; PESSOA, O. D. L. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils from *Eupatorium betonicaeforme* (D.C.) Baker (Asteraceae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.22, p.6708-6711, 2004.

ALCARAZ, M. J.; RIOS, J. L. **Ecological chemistry and biochemistry of plants**. Oxford: Clarendon Press, 1991.

AMORIM, M. M. R.; SANTOS, L. C. Tratamento da vaginose bacteriana com gel vaginal de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi): ensaio clínico randomizado. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.25, n.02, p.95-102, 2003.

ANSARI, M. A.; RAZDAN, R. K.; TANDON, M. Larvicidal and repellent actions of *Dalbergia sissoo* Roxb. (F. Leguminosae) oil against mosquitoes. **Bioresource Technology**, v.73, n.03, p.207-211, 2000.

ANSARI, M. A.; VASUDEVAM, P.; TANDON, M.; RAZDAN, R. K. Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. **Bioresource Technology**, v.71, n.03, p.267-271, 2000.

AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16.ed. Arlington: AOAC, 1995.

ARRUDA, W.; OLIVEIRA, G. M. C.; SILVA, I. G. Alterações morfológicas observadas em larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) submetidas à ação do extrato bruto etanólico da casca do caule da *Magonia pubescens* St. Hil. **Entomologia y Vectores**, v.10, n.01, p.47-60, 2003.

ASTM (AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS). **Standard test method for density and relative density of crude oils by digital density analyzer**. D5002. In: Annual Book of ASTM Standards. West Conshohocken: ASTM, 1999.

AZEVEDO, N. R.; CAMPOS, I. F. P.; FERREIRA, H. D.; PORTES, T. A.; SERAPHIN, J. C.; REALINO DE PAULA, J.; SANTOS, S. C.; FERRI, P. H. Essential oil chemotypes in *Hyptis suaveolens* from Brazilian Cerrado. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.30, n.03, p.205-216, 2002.

BAGGIO, A. J. Aroeira como potencial para usos múltiplos na propriedade rural. **Boletim de Pesquisa Florestal**, n.17, p.25-32, 1988.

BARBOSA, L. C. A.; DEMUNER, A. J.; CLEMENTE, A. D.; DE PAULA, V. F.; ISMAIL, F. M. D. Seasonal variation in the composition of volatile oils from *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Química Nova**, v.30, n.08, p.1959-1965, 2007.

BEERS, M. H.; BERKOW, R. **Manual Merck**: diagnóstico e tratamento. 17.ed. São Paulo: Roca, 2001.

BERNARD, D. R. Repellency of essential oils to mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v.36, n.05, p.625-629, 1999.

BERNÁTH, J. **Production ecology of secondary plant products**. In: CRACKER, L.; SIMON, J. E. (Eds.). Herbs, spices and medicinal plants. Recent advances in Botany, Horticulturae and Pharmacology. New York: The Haworth Press, 1992. v.01.

BERTOLDI, M. C. **Atividade antioxidante *in vitro* da fração fenólica, das oleorresinas e do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi)**. 2006. 116p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

BORIO, E. B. L.; CECY, C.; YASUMOTO, Y. Pharmacognostic study of the bark of *Schinus terebinthifolius* (Raddi – Anacardiaceae). **Ciência e Cultura**, v.25, n.07, p.631-634, 1973.

BRADY, J. E.; RUSSELL, J. W.; HOLUM, J. R. **Química**: A matéria e suas transformações. 3.ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002. v.01.

BRAGA, F. G.; ALMEIDA, A. C. F.; BOUZADA, M. L. M.; FABRI, R. L.; SCIO, E.; COIMBRA, E. S. **Avaliação leishmanicida de extratos utilizados na medicina popular brasileira**. In: XXIX Semana de Biologia e XII Mostra de Produção Científica da UFJF, 2006, Juiz de Fora, MG.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v.16, n.02, p.113-118, 2007.

BRICKS, L. F. Vacinas para a dengue: perspectivas. **Pediatria (São Paulo)**, v.26, n.04, p.268-281, 2004.

BUENO, M. V.; SANTOS, A. C. A.; SARTORI, V. C. **Efeito fungicida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius***. In: XV Encontro de Jovens Pesquisadores da UCS, 2007, Caxias do Sul, RS.

CÂMARA, F. P.; THEOPHILO, R. L. G.; SANTOS, G. T.; PEREIRA, S. R. F. G.; CÂMARA, D. C. P.; MATOS, R. R. C. Estudo retrospectivo (histórico) do dengue no Brasil: características regionais e dinâmicas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.40, n.02, p.192-196, 2007.

CAMPOS, H. **Estatística aplicada à experimentação com cana-de-açúcar**. Piracicaba: FEALQ, 1984.

CARVALHO, A. F. U.; MELO, V. M. M.; CRAVEIRO, A. A.; MACHADO, M. I. L.; BANTIM, M. B.; RABELO, E. F. Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. against *Aedes aegypti* Linn. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.98, n.04, p.569-571, 2003.

CARVALHO, P. E. R. Competição entre espécies florestais nativas em Irati – PR, cinco anos após o plantio. **Boletim de Pesquisa Florestal**, n.02, p.41-45, 1981.

CASTRO, H. F.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. Viçosa: Suprema Gráfica e Editora, 2001.

CASTRO, N. E. A. **Caracterização fitoquímica de óleos essenciais de eucalipto e seu efeito sobre o protozoário tripanossomatídeo *Herpetomonas samuelpessoai***. 2006. 82p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CAVALCANTI, E. S. B.; MORAIS, S. M.; LIMA, M. A. A.; SANTANA, E. W. P. S. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.99, n.05, p.541-544, 2004.

CERUKS, M.; ROMOFF, P.; FÁVERO, O. A.; LAGO, J. H. G. Polar phenolic constituents from *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Química Nova**, v.30, n.03, p.597-599, 2007.

CHENG, S. S.; CHANG, H. T.; CHANG, S. T.; TSAI, K. H.; CHEN, W. J. Bioactivity of selected plant essential oil against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Bioresource Technology**, v.89, n.01, p.99-102, 2003.

CHENG, S. S.; CHUA, M. T.; TSAI, K. H.; CHEN, W. J.; CHANG, S. T. Chemical composition and mosquito larvicidal activity of essential oils from leaf of *Cryptomeria japonica* D. Don. **The International Forestry Review**, v.07, n.05, p.389, 2005.

CHOI, W. S.; PARK, B. S.; LEE, Y. H.; JANG, D. Y.; YOON, H. Y.; LEE, S. E. Fumigant toxicities of essential oils and monoterpenes against *Lycoriella mali* adults. **Crop Protection**, v.25, n.04, p.398-401, 2006.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos da cromatografia**. São Paulo: Editora Unicamp, 2006.

CONSOLI, R. A. G. B.; OLIVEIRA, R. L. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. 1.ed. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1994.

CORRÊA, A. G.; VIEIRA, P. C. **Produtos naturais no controle de insetos**. 2.ed. São Paulo: EdUFSCar, 2007.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1926. v.01.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1984. 6v.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v.12, n.04, p.564-582, 1999.

CROSBY, D. G. **Natural pest control agents**. Washington: American Chemical Society, 1966.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N.; PRADO, M. R. M. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, n.03, p.617-622, 2005.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N.; SANTOS, R. J. Atividade antioxidante de extrato de fruto de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Visão Acadêmica**, v.05, n.02, p.83-90, 2004.

DENGUE. **Boletim de Saúde de Fortaleza**, v.07, n.01, p.01-63, 2003.

DENGUE. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/Institucional/dengue/dengue.pdf>>. Acesso em: 04 de setembro de 2007.

DENGUE. Disponível em: <<http://www.exercito.gov.br/03ativid/Saude/encdeng.htm>>. Acesso em: 25 de janeiro de 2008.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 2.ed. United Kingdom: John Wiley and Sons, 2002.

EVANS, W. C. **Trease and Evans' Pharmacognosy**. 14.ed. London: WB Saunders, 1996.

EZEONU, F. C.; CHIDUME, G. I.; UDEDI, S. C. Insecticidal properties of volatile extracts of orange peels. **Bioresource Technology**, v.76, n.03, p.273-274, 2001.

FARMACOPEA ARGENTINA. 7.ed. Buenos Aires: Ministério de la Salud de la Nación - ANMAT, 2003. v.01.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1988.

FARMACOPÉIA PORTUGUESA VII. 7.ed. Lisboa: Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento, 2002 (CD-ROM).

FERREIRA, M. L. B.; CAVALCANTI, C. G.; COELHO, C. A.; MESQUITA, S. D. Manifestações neurológicas de dengue: estudo de 41 casos. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v.63, n.02b, p.488-493, 2005.

FERREIRA, M. S. C.; FONTELES, M. C. Aspectos etnobotânicos e farmacológicos do *Cymbopogon citratus* Stapf. (capim limão). **Revista Brasileira de Farmácia**, v.70, n.04, p.94-97, 1989.

FIGUEIREDO, L. T. M. Vacinas contra o dengue. **Medicina**, v.32, n.01, p.21-25, 1999.

FRANZ, C. H. Nutrient and water management for medicinal and aromatic plants. **Acta Horticulturae**, n.132, p.203-215, 1983.

FURTADO, R. F.; LIMA, M. G. A.; ANDRADE NETO, M.; BEZERRA, J. N. S.; SILVA, M. G. V. Atividade larvicida de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v.34, n.05, p.843-847, 2005.

GARCIA, C. H. **Tabelas para classificação de coeficientes de variação**. Piracicaba: IPEF, 1989.

GEHRKE, I. T. S.; STOLZ, E. D.; MOREL, A. F. **Identificação dos principais constituintes do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* da região noroeste do RS**. In: 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007, Águas de Lindóia, SP.

GEHRKE, I. T. S.; STÜKER, C. Z.; STOLZ, E. D.; MOREL, A. F. **Avaliação antimicrobiana do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* utilizando o método de microdiluição em caldo**. In: 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007, Águas de Lindóia, SP.

GEORGHIOU, G. P. Management of resistance in arthropods. In: GEORGHIOU, G. P.; SAITO, T. (Eds.). **Pest resistance to pesticides**. New York: Plenum, 1983.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v.30, n.02, p.374-381, 2007.

GREENBERG-LEVY, S. H.; KOSTJUKOVSKY, M.; RAVID, U.; SHAYYA, E. Studies to elucidate the effect of monoterpenes on acetylcholinesterase in two stored-product insects. **Acta Horticulturae**, n.344, p.138-146, 1993.

GUENTHER, E. **Individual essential oils of the plant family Myrtaceae**. In: The essential oils. 4.ed. New York: Van Nostrand, 1977. v.04.

GUERRA, M. J. M.; BARREIRO, M. L.; RODRÍGUEZ, Z. M.; RUBALCABA, Y. Actividad antimicrobiana de un extracto fluido al 80% de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Copal). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.05, n.01, p.23-25, 2000.

HEMINGWAY, J.; RANSON, H. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. **Annual Review of Entomology**, v.45, p.371-391, 2000.

HORNOK, L. Influence of nutrition on the yield and content of active compounds in some essential oil plants. **Acta Horticulturae**, n.132, p.239-248, 1983.

HUMMELBRUNNER, L. A.; ISMAN, M. B. Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.49, n.02, p.715-720, 2001.

IAL (INSTITUTO ADOLFO LUTZ). **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. São Paulo: IAL, 1985.

IBRAHIM, M. A.; KAINULAINEN, P.; AFLATUNI, A.; TIILIKKALA, K.; HOLOPAINEN, J. K. Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: with special reference to limonene and its suitability for control of insect pests. **Agricultural and Food Science in Finland**, v.10, p.243-259, 2001.

IBRAHIM, M. T.; FOBBE, R.; NOLTE, J. Chemical composition and biological studies of Egyptian *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi oils. **Bulletin of the Faculty of Pharmacy**, v.42, n.02, p.289-296, 2004.

ISMAN, M. B. Plant essential oil for pest and disease management. **Crop Protection**, v.19, n.08, p.603-608, 2000.

JAIN, M. K.; YU, B.; ROGERS, J. M.; SMITH, A. E.; BOGER, E. T. A.; OSTRANDER, R. L.; RHEINGOLD, A. L. Specific competitive inhibitor of secreted phospholipase A₂ from berries of *Schinus terebinthifolius*. **Phytochemistry**, v.39, n.03, p.537-547, 1995.

JANZANTTI, N. S.; FRANCO, M. R. B.; WOSIACKI, G. Effect of processing on the volatile composition of the clarified Fuji apple juice. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.03, p.523-528, 2003.

JONES, D. **Biology of Brazilian pepper**. In: CHAIRMAN, D. C. Brazilian pepper management plan for Florida. Florida: Florida Exotic Pest Plant Council, 1997.

KARR, L. L.; COATS, J. R. Insecticidal properties of d-limonene. **Pesticide Science Society of Japan**, v.13, n.02, p.287-290, 1988.

KUHN, R. J.; ZHANG, W.; ROSSMANN, M. G.; PLETNEV, S. V.; CORVER, J.; LENCHES, E.; JONES, C. T.; MUKHOPADHYAY, S.; CHIPMAN, P. R.; STRAUSS, E. G.; BAKER, T. S.; STRAUSS, J. H. Structure of dengue virus: implications for *Flavivirus* organization, maturation, and fusion. **Cell**, v.108, n.05, p.717-725, 2002.

LENZI, M.; ORTH, A. I. Caracterização funcional do sistema reprodutivo da aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi), em Florianópolis-SC, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.26, n.02, p.198-201, 2004a.

LENZI, M.; ORTH, A. I. Fenologia reprodutiva, morfologia e biologia floral de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), em restinga da Ilha de Santa Catarina, Brasil. **Biotemas**, v.17, n.02, p.67-89, 2004b.

LIMA, H. R. P.; KAPLAN, M. A. C.; CRUZ, A. V. M. Influência dos fatores abióticos na produção e variabilidade de terpenóides em plantas. **Floresta e Ambiente**, v.10, n.02, p.71-77, 2003.

LIMA, I. O.; OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; FARIAS, N. M. P.; SOUZA, E. L. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.02, p.197-201, 2006a.

LIMA, M. R. F.; LUNA, J. S.; CARVALHO, C. M.; ARGOLO, A. C. C.; ABREU, F. C.; SANT'ANA, A. E. G. **Ação antioxidante e moluscicida da espécie *Schinus terebinthifolius***. In: 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2006b, Águas de Lindóia, SP.

LIMA, M. R.; SOUZA, L. J.; SANTOS, A. F.; ANDRADE, M. C.; SANT'ANA, A. E.; GENET, J. P.; MARQUEZ, B.; NEUVILLE, L.; MOREAU, N. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.105, n.01-02, p.137-147, 2006c.

LIU, C. H.; MISHRA, A. K.; TAN, R. X.; TANG, C.; YANG, H.; SHEN, Y. F. Repellent and insecticidal activities of essential oils from *Artemisia princeps* and *Cinnamomum camphora* and their effect on seed germination of wheat and broad bean. **Bioresource Technology**, v.97, n.15, p.1969-1973, 2006.

LLOYD, H. A.; JAOUNI, T. M.; EVANS, S. L.; MORTON, J. F. Terpenes of *Schinus terebinthifolius*. **Phytochemistry**, v.16, n.08, p.1301-1302, 1977.

MACORIS, M. L. G.; CAMARGO, M. F.; SILVA, I. G.; TAKAKU, L.; ANDRIGHETTI, M. T. Modificações da suscetibilidade de *Aedes aegypti* ao temephos. **Revista de Patologia Tropical**, v.24, n.01, p.31-40, 1995.

MALIK, M. S.; MAHMUD, S.; SATTAR, A. Studies on the essential oil of *Schinus terebinthifolius*. **Science International (Lahore)**, v.06, n.04, p.351-352, 1994.

MARCONDES, C. B. **Entomologia médica e veterinária**. São Paulo: Atheneu, 2001.

MARSAIOLI, A. J. **Estudo fitoquímico do *Schinus terebinthifolius* Raddi**. 1974. 102p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

MING, L. C. **Adubação orgânica no cultivo de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. – Verbenaceae**. In: MING, L. C.; MATTOS, J. K. A. (Coord.). Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica. Botucatu: UNESP, 1998. v.02.

MITCHELL, A. R.; YANG, C. L. Irrigation of peppermint for optimal yield. **Soil Science Society of America Journal**, v.62, n.05, p.1405-1409, 1998.

MOHSEN, Z. H.; AL-CHALABI, B. M.; KASSIR, J. T. Factors influencing the larvicidal activity of limonene against *Culex quinquefasciatus* Say (Dipt., Culicidae). **Journal of Applied Entomology**, v.108, p.107-110, 1989.

MORTON, J. F. Brazilian pepper – its impact on people, animals and the environment. **Economic Botany**, v.32, n.04, p.353-359, 1978.

MOUSTAFA, A. M. Y.; KOUAM, S. F.; KULSOOM, A.; EJAZ, A.; ALI, S.; ANJUM, S.; CHOUDHARY, M. I. Phytochemical investigation and biological evaluation of *Schinus terebinthifolius*. **Research Journal of Phytochemistry**, v.01, n.01, p.01-11, 2007.

NDUNGU, M.; LWANDE, W.; HASSANALI, A.; MOREKA, L.; CHHABRA, S. C. *Cleome monophylla* essential oil and its constituents as tick (*Rhipicephalus appendiculatus*) and maize weevil (*Sitophilus zeamays*) repellents. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.76, n.03, p.217-222, 1995.

NELSON, G. **The shrubs and woody vines of Florida**. Sarasota: Pineapple Press, 1996.

NESELLO, M. A.; SERAFINI, L. A.; PAULETTI, G. F. **Efeito alelopático do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* sobre *Lactuca sativa* e *Bidens pilosa***. In: XV Encontro de Jovens Pesquisadores da UCS, 2007, Caxias do Sul, RS.

NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library with Search Program (Data Version: NIST 62, Software Version 1.0).

OLIVEIRA, A. C. A. X.; PINTO, L. F. R.; PAUMGARTTEN, F. J. R. In vitro inhibition of CYP2B1 monooxygenase by β -myrcene and other monoterpene compounds. **Toxicology Letters**, v.92, n.16, p.39-46, 1997.

OMENA, M. C.; LIMA, M. R. F.; SANT'ANA, A. E. G. **Estudo da atividade de terpenóides sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae)**. In: 23ª Reunião da Sociedade Brasileira de Química, 2000, Poços de Caldas, MG.

OMOTO, C.; RISCO, M. D. M.; SCHMIDT, J. B. **Manejo da resistência de pragas à inseticidas**. Disponível em: <<http://irac-br.org.br/arquivos/manejorespragas.doc>>. Acesso em: 13 de setembro de 2007.

PENKA, M. Influence of irrigation on the contents of effective substances in officinal plants. **Acta Horticulturae**, n. 73, p.181-198, 1978.

PICHERSKY, E.; GERSHENZON, J. The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. **Current Opinion in Plant Biology**, v.05, n.03, p.237-243, 2002.

PIERIBATTESTI, J. C.; CONAN, J. Y.; GRONDIN, J.; VINCENT, E. J.; GUERERE, M. Contribution a l'étude chimique des baies roses de bourbon. **Annales des Falsifications de l'Expertise Chimique et Toxicologique**, v.74, n.793, p.11-16, 1981.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. 12.ed. Piracicaba: Livraria Nobel, 1987.

PIRES, O. C.; TAQUEMASA, A. V. C.; AKISUE, G.; OLIVEIRA, F.; ARAÚJO, C. E. P. Análise preliminar da toxicidade aguda e dose letal mediana (DL₅₀) comparativa entre os frutos de Pimenta-do-Reino do Brasil (*Schinus terebinthifolius* Raddi) e Pimenta do Reino (*Piper nigrum* L.). **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v.23, n.02, p.176-182, 2004.

PONTES, W. J. T.; OLIVEIRA, J. C. S.; CAMARA, C. A. G.; GONDIM JÚNIOR, M. G. C.; OLIVEIRA, J. V.; SCHWARTZ, M. O. E. Atividade acaricida dos óleos essenciais de folhas e frutos de *Xylopiya sericea* sobre o ácaro rajado (*Tetranychus urticae* Koch). **Química Nova**, v.30, n.04, p.838-841, 2007.

PRATES, H. T.; SANTOS, J. P. **Óleos essenciais no controle de pragas de grãos armazenados**. In: LORINI, I.; MILKE, L. I.; SCUSSEL, V. M. (Org.). Armazenagem de grãos. Campinas: IBG, 2002.

R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Viena, Áustria: R Foundation for Statistical Computing, 2007. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 04 de setembro de 2007.

RATES, S. M. K. Plants as sources of drugs. **Toxicon**, v.39, n.05, p.603-613, 2001.

REITZ, R.; KLEIN, R. M.; REIS, A. **Projeto madeira de Santa Catarina**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1978.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e farmacobiotechnologia**. São Paulo: Premier, 1997.

RODRIGUES, M. B. P.; FREIRE, H. B. M.; CORRÊA, P. R. L.; MENDONÇA, M. L.; SILVA, M. R. I.; FRANÇA, E. B. É possível identificar a dengue em crianças a partir do critério de caso suspeito preconizado pelo Ministério da Saúde? **Jornal de Pediatria (Rio de Janeiro)**, v.81, n.03, p.209-215, 2005.

ROSSATO, M.; NESELLO, M. A.; SALVADOR, M.; SANTOS, A. C. A.; BERGAMINI, G.; SERAFINI, L. A. **Avaliação quantitativa de compostos fenólicos totais e da capacidade antioxidante de extratos da espécie *Schinus terebinthifolius***. In: XII Encontro de Jovens Pesquisadores da UCS, 2004, Caxias do Sul, RS.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998.

SANCHOTENE, M. C. C. **Frutíferas nativas úteis à fauna na arborização urbana**. Porto Alegre: Feplan, 1985.

SANTOS, P. L.; SANTOS, A. C. A.; SERAFINI, L. A.; ROSSATO, M.; PAULETTI, G. F. **Determinação da composição química e do rendimento do óleo essencial de folhas e talos de *Schinus terebinthifolius* Raddi**. In: XII Encontro de Jovens Pesquisadores da UCS, 2004, Caxias do Sul, RS.

SANTOS, R. B.; SIBIEN, R. B.; FERNANDES, P. M. B.; RICAS, H. R. **Avaliação da atividade larvicida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius***. In: 28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2005, Poços de Caldas, MG.

SCHATZMAYR, H. G. **O vírus do dengue**. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/ccs/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?inford=375&sid=12>>. Acesso em: 30 de outubro de 2007.

SERI-KOUASSI, B. P.; COFFI KANKO, L. R. N. A.; BEKON, K. A.; GLITHO, A. I.; KOUKOUA, G.; N'GUESSAN, Y. T. Action des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire sur *Callosobruchus maculatus* F. du niébé. **Comptes Rendus Chimie**, v.07, n.10-11, p.1043-1046, 2004.

SIANI, A. C.; SAMPAIO, A. L. F.; SOUSA, M. C.; HENRIQUES, M. G. M. O.; RAMOS, M. F. S. R. Óleos essenciais: potencial antiinflamatório. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.16, p.38-43, 2000.

SILVA, F.; CASALI, V. W. D. **Plantas medicinais e aromáticas: pós-colheita e óleos essenciais**. Viçosa: Arte e Livros, 2000.

SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G.; LIRA, K. S. Metodologia de criação, manutenção de adultos e estocagem de ovos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) em laboratório. **Revista de Patologia Tropical**, v.27, p.53-63, 1998.

SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G.; OLIVEIRA, C. L. N. S.; ELIAS, C. N. Adaptação do *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) em criadouros artificiais com água poluída. **Entomologia y Vectores**, v.06, n.04, p.383-391, 1999.

SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G.; SANTOS, R. M. G.; RODRIGUES FILHO, E.; ELIAS, C. N. Atividade larvicida de taninos isolados de *Magonia pubescens* St. Hil. (Sapindaceae) sobre *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.37, n.05, p.396-399, 2004.

SILVA, I. G.; GUIMARÃES, V. P.; LIMA, C. G.; SILVA, H. H. G.; ELIAS, C. N.; MADY, C. M.; SILVA, V. V. M.; NERY, A. P.; ROCHA, K. R.; ROCHA, C.; ISAC, E. Efeito larvicida e toxicológico do extrato bruto etanólico da casca do caule de *Magonia pubescens* sobre *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae), em criadouros artificiais. **Revista de Patologia Tropical**, v.32, p.73-86, 2003.

SILVA, I. G.; SILVA, H. H. G.; GUIMARÃES, V. P.; ELIAS, C. N.; LIMA, C. G. Atividade de espécies de culicíneos sinantrópicos em uma cidade brasileira com transmissão de dengue. **Entomología y Vectores**, v.09, n.01, p.15-24, 2002.

SIMAS, N. K.; LIMA, E. C.; CONCEIÇÃO, S. R.; KUSTER, R. M.; OLIVEIRA FILHO, A. M. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue. Atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Química Nova**, v.27, n.01, p.46-49, 2004.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Florianópolis: UFSC; Porto Alegre: UFRGS, 2004.

SINGH, A. K.; SINGH, J.; GUPTA, K. C.; BROPHY, J. Essential oil of leaves and inflorescence of *Schinus terebinthifolius*: an exotic plant of India. **Journal of Essential Oil Resource**, v.10, n.06, p.697-699, 1998.

SOUTO JÚNIOR, J. V.; RIBEIRO, M. A. A. **O que é dengue?** Ministério da Saúde, Convênio MS/Fundep – Universidade Federal de Minas Gerais, 2000.

STAHL, E.; KELLER, K.; BLINN, C. Cardanol, a skin irritant in Pink Pepper. **Planta Médica**, v.48, n.01, p.05-09, 1983.

TAVARES, M. A. G. C. **Busca de compostos em *Chenopodium* spp. (Chenopodiaceae) com bioatividade em relação a pragas de grãos armazenados**. 2006. 112p. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

TELICI, I.; SAHBAZ, N. I.; YILMAZ, G.; TUGAY, M. E. Agronomical and chemical characterization of spearmint (*Mentha spicata* L.) originating in Turkey. **Economic Botany**, v.58, n.04, p.721-728, 2004.

TYLER, V. E.; BRADY, L. R.; ROBBERS, J. E. **Pharmacognosy**. 9.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1988.

USDA (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE). **Materials evaluated as insecticides, repellents and chemosterilants at Orlando and Gainesville FLA 1952-64**. In: Agricultural Research Service United States Department of Agriculture Handbook. Washington D.C., 1967.

VENTURA, J. A.; BATISTA, M. G. **Controle integrado de mosquitos e borrachudos**. In: SEEA. Curso de controle de vetores e pragas urbanas. Vitória-ES: SEEA, 1998.

VIEGAS JUNIOR, C. Terpenes with insecticidal activity: an alternative to chemical control of insects. **Química Nova**, v.26, n.03, p.390-400, 2003.

VITTI, A. M. S.; BRITO, J. O. **Óleo essencial de Eucalipto**. Piracicaba: ESALQ, 2003. 26p. (Documentos Florestais, n.17).

WASICKY, R.; AKISUE, G. Um aparelho aperfeiçoado para a extração de óleos essenciais. **Revista da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v.07, n.02, p.399-405, 1969.

WATERMAN, P. G. **The chemistry of volatile oils**. In: HAY, R. K. M.; WATERMAN, P. G. (Eds.). Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production. Harlow: Longman Scientific & Technical, 1993.

WERNER, R. A. Toxicity and repellency of 4-allylanisole and monoterpenes from white spruce and tamarack to spruce beetle and eastern larch beetle (Coleoptera: Scolytidae). **Environmental Entomology**, v.24, n.02, p.372-379, 1995.

WHO. **Dengue and dengue haemorrhagic fever**. Fact. Sheet n.117. Geneva: WHO, 2002.

WILLIAMS, L. R.; STOCKLEY, W.; YAN, W.; HOME, V. N. Essential oils with high antimicrobial activity for therapeutic use. **The International Journal of Aromatherapy**, v.08, n.04, p.30-40, 1998.

YANG, P.; MA, Y. Repellent effect of plant essential oils against *Aedes albopictus*. **Journal of Vector Ecology**, v.30, n.02, p.231-234, 2005.