

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ILDENICE NOGUEIRA MONTEIRO

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CARRAPATICIDA DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Cinnamomun zeylanicum* NO CONTROLE DE *Rhipicephalus
microplus***

São Luís
2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ILDENICE NOGUEIRA MONTEIRO

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CARRAPATICIDA DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Cinnamomun zeylanicum* NO CONTROLE DE *Rhipicephalus
microplus***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Victor Elias Mouchrek
Filho

São Luís
2013

Monteiro, Ildenice Nogueira

Composição química e avaliação da atividade carrapaticida do óleo essencial de *cinnamomun zeylanicum* no controle de *Rhipicephalus microplus* / Ildenice Nogueira Monteiro. 2013

63f.

Impresso por computador (Fotocópia).

Orientador: Victor Elias Mouchrek Filho.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Química, 2013.

1. Canela 2. Benzoato de benzila 3. Controle 4. Carrapato bovino I. Título.

CDU 547.913

ILDENICE NOGUEIRA MONTEIRO

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CARRAPATICIDA DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Cinnamomun zeylanicum* NO CONTROLE DE *Rhipicephalus
microplus***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do título de Mestre em Química.

BANCA EXAMINADORA

Aprovada em: / /

Prof. Dr. Victor Elias Mouchrek Filho (Orientador)
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

Prof. Dr. Gilmar Silvério da Silva
Instituto Federal do Maranhão - IFMA

Prof. Dr. Lívio Martins Costa Júnior
Universidade Federal do Maranhão – UFMA, CCAA Campus IV

Dedico este trabalho

À minha mãe, Eunice dos Santos Costa Nogueira, que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos de minha vida, me propiciando momentos de extrema realização.

Ao meu pai, Nestor de Jesus Nogueira pelo amor e pelas oportunidades oferecidas.

Ao meu marido Odair, pelo carinho e apoio durante não apenas estes dois anos, mas por todos os momentos que precisei de compreensão e palavras de incentivo na elaboração deste trabalho.

Aos meus queridos filhos, Matheus e Indira, que me dão inspiração e força para enfrentar as dificuldades da vida.

A todos os meus Irmãos, que, unidos, tornam a vida mais leve.

Aos meus cunhados(as) e sobrinhos(as), que contribuem para a alegria de nossa família.

Agradecimentos

A Deus, por tudo.

Ao Prof. Dr. Odair dos Santos Monteiro, pela inestimável ajuda e pela co-orientação sempre segura na elaboração deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Victor Elias Mouchrek Filho, pela orientação deste trabalho, ajuda e sua amizade durante estes anos de convívio.

Ao Prof. Dr. Lívio Martins Costa Júnior, pela ajuda na elaboração deste trabalho, pela orientação segura e pela amizade demonstrada.

À Jéssica, pela colaboração prestada e pela amizade sem compromisso.

À Aldilene, pela ajuda valiosa na elaboração deste trabalho e pela amizade e paciência demonstrada.

À Karla Malaquias, pela ajuda e colaboração na realização deste trabalho.

Ao colega Alberto Jorge, pela discussão e colaboração prestada na realização deste trabalho.

Aos colegas de Mestrado, em especial aos amigos Gilson, Charles e Mariane, pelo apoio, pela amizade e pelo compartilhamento de informações.

Às amigas Sheyla e Luciana, pela força e confiança sempre necessárias.

Ao Laboratório de Engenharia de Produtos Naturais LEPRON / UFPB, em especial ao Prof. Dr. José Guilherme Maia e à Prof. Dr^a. Eloisa Andrade, pela ajuda e colaboração na realização deste trabalho.

Aos Colégios CEGEL e CEM Dr. João Bacelar Portela, pelo apoio e reconhecimento deste trabalho.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

“Tirem-me a esperança de mudar o futuro, e enlouquecer-me-ão”

Zargwill

RESUMO

Os constituintes do óleo de *Cinnamomum zeylanicum* foram identificados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Também foi avaliada a atividade deste óleo essencial contra larvas e fêmeas de *Rhipicephalus microplus* (carrapato bovino). O óleo das folhas mostrou um rendimento de 1,03% e seus principais constituintes foram Benzoato de Benzila (65,39%), Linalol (5,37%), E-Cinamaldeído (3,97%), α -Pineno (3,95%), β -Felandreno (3,42%), Eugenol (3,36%) e Benzaldeído (2,68%), correspondendo aproximadamente a 88% do óleo. Teste de pacote de larvas e teste de imersão de fêmeas ingurgitadas foram realizados. Testes semelhantes também foram feitos para o padrão Benzoato de Benzila, componente principal do óleo essencial. As concentrações letais do teste de larvas foram de 1,005 mg.mL⁻¹ e 3,368 mg.mL⁻¹ para o óleo essencial e para o padrão Benzoato de Benzila, respectivamente, demonstrando assim que o óleo teve uma melhor atividade larvicida contra o *R. microplus*. Já para o teste de imersão de adultos, foi observado que, tanto o óleo essencial como o padrão Benzoato de Benzila não ocasionaram mortalidade direta nas fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*, mas interferiram no processo de reprodução dos carrapatos, ocasionando diminuição na produção de ovos e diminuição na eclodibilidade e mortalidade das larvas, portanto, apresentando assim, um controle parcial sobre o carrapato bovino.

Palavras-chave: Canela, Benzoato de benzila, Controle, Carrapato bovino

ABSTRACT

The oil constituent of *Cinnamomum zeylanicum* were identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The essential oil activity were also evaluated against larvae and engorged females *Rhipicephalus microplus*(cattle tick). The leaves oil showed a yeld of 1.03% and its main constituents were benzyl benzoate (65.39%), linalool (5.37%), E-cinnamaldehyde (3.97%), α -Pinene (3.95%), β -phellandrene (3.42%), Eugenol (3.36%) e Benzaldehyde (2.68%), corresponding approximately to 88% of the oil. Test package larvae and immersion test of engorged were performed. Similar tests were also performed for the standard benzyl benzoate, the main component of the essential oil. Lethal concentrations of the larvae test were 1.005 mg.mL⁻¹ and 3.368 mg.mL⁻¹ for the essential oil and the standard benzyl benzoate respectively, thus demonstrating that the oil had a better larvicidal activity against the *R. microplus*. As for the adult immersion test, it was observed that both the essential oil and the standard benzyl benzoate did not cause mortality in direct engorged female *R. microplus*, but interfered with the process of reproduction of ticks, causing a decrease in egg production and decreased hatchability and mortality of larvae, so thus presenting partial control over the cattle tick.

Keywords: Cinnamon, Benzyl benzoate, Control, Cattle tick

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Árvore da <i>Cinnamomum zeylanicum</i> (canela).....	21
Figura 2- Formação dos terpenóides no metabolismo secundário das plantas.....	23
Figura 3- Imagem de um carrapato macho de <i>Rhipicephalus microplus</i> (A) e de uma fêmea ingurgitada (B).....	27
Figura 4- Esquema simplificado do ciclo de vida do carrapato <i>Rhipicephalus Microplus</i>	28
Figura 5- Extrator de Clevenger acoplado a sistema de refrigeração.....	34
Figura 6- Infestação artificial de <i>Rhipicephalus microplus</i> em bezerros.....	37
Figura 7- Cromatograma do óleo essencial da espécie <i>Cinnamomum zeylanicum</i>	42
Figura 8- Espectros de massas de (A) composto com TR=5,98 do cromatograma da figura 7 e (B) propostas de identificação através das espectrotescas NIST e ADAMS (α - Pinenos).....	43
Figura 9- Espectros de massas de (A) composto com TR=11,64 do cromatograma da figura 7 e (B) propostas de identificação através das espectrotescas NIST e ADAMS (Linalol).....	44
Figura 10- Espectros de massas de (A) composto com TR=18,90 do cromatograma da figura 7 e (B) propostas de identificação através das espectrotescas NIST e ADAMS (E- Cinamaldeído).....	45
Figura 11- Espectros de massas de (A) composto com TR=38,80 do cromatograma da figura 7 e (B) propostas de identificação através das espectrotescas NIST e ADAMS (Benzoato de Benzila).....	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Sistema CG-EM utilizado na análise do óleo essencial.....	32
Tabela 2 - Parâmetros para a análise por CG-EM do óleo essencial.....	35
Tabela 3 - Características físicas do óleo essencial extraído das folhas de <i>Cinnamomum zeylanicum</i>	39
Tabela 4 - Constituintes identificados no óleo essencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i>	41
Tabela 5 - Percentual de mortalidade e CL ₅₀ do óleo essencial de <i>C. zeylanicum</i> e de Benzoato de Benzila (padrão) para larvas de <i>R. microplus</i>	49
Tabela 6 - Eficiência do óleo essencial de <i>C. zeylanicum</i> e de Benzoato de Benzila (padrão) no teste de fêmeas ingurgitadas de <i>R. microplus</i>	51

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Ac. Mev.	Ácido Mevalônico
AcetilCoA	Acetil Coenzima A
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
b. l. u	Base Livre de Umidade
BOD	Demanda Bioquímica de Oxigênio
CCAA	Centro de Ciências Agrária e Ambiental
CEUA	Comitê de Ética de Uso e Experimentação Animal
CG	Cromatografia Gasosa
CL ₅₀	Concentração letal para causar morte 50% da população
%E	Percentual de Eclosão
EM	Espectrometria de Massas
EP	Eficiência do Produto
ER	Eficiência Reprodutiva
FAO	Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IAPAR	Instituto Agrário do Paraná
IC	Intervalo de Confiança
IE	Impacto de Elétrons
IPO	Índice de Produção de Ovos
IR	Índice de Retenção
LEPRON	Laboratório de Engenharia de Produtos Naturais
M	Íon Molecular
m/z	Relação massa/carga
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MPEG	Museu Paraense Emílio Goeldi
m/z	Relação massa/carga
NIST	Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia
OECZ	Óleo Essencial de <i>Cinnamomun zeylanicum</i>
PO	Peso dos Ovos
PT	Peso das Teleóginas
R ²	Coeficiente de Correlação

Red. O	Redução da Oviposição
TR	Tempo de Retenção
UFMA	Universidade Federal do Maranhão
UFPA	Universidade Federal do Pará
UR	Umidade Relativa
v/v	Volume/Volume

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

RESUMO

ABSTRACT

1.	INTRODUÇÃO	16
2.	OBJETIVOS.....	19
2.1	Objetivo geral.....	19
2.2	Objetivos específicos.....	19
3.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	20
3.1	Aspectos gerais sobre a família Lauraceae, o gênero <i>Cinnamomum</i> e a espécie <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume (canela).....	20
3.2	Óleos essenciais.....	22
3.3	Óleos essenciais do gênero <i>Cinnamomum</i>	25
3.4	<i>Rhipicephalus microplus</i>	26
3.5	Atividade carrapaticida de produtos naturais e o uso de óleos essenciais no controle do <i>Rhipicephalus microplus</i>	29
4.	PARTE EXPERIMENTAL.....	31
4.1	Equipamentos Analíticos e Acessórios.....	31
4.2	Materiais e Reagentes	33
4.3	Metodologia Experimental.....	33
4.3.1	Coleta das folhas de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume.....	33
4.3.2	Extração do óleo essencial e cálculo do rendimento.....	33
4.3.3	Características físicas do óleo essencial.....	34
4.3.3.1	Umidade (%).....	34
4.3.3.2	Densidade.....	34
4.3.3.3	Solubilidade em etanol a (90%).....	35
4.3.3.4	Índice de refração.....	35
4.3.3.5	Cor.....	35
4.3.3.6	Aparência.....	35

4.4	Análise dos componentes do óleo essencial.....	35
4.5	Testes <i>in vitro</i> de atividade carrapaticida.....	36
4.5.1	Infestação artificial de <i>R. microplus</i> em bezerros.....	36
4.5.2	Teste de sensibilidade larvar.....	37
4.5.3	Teste de imersão de fêmeas ingurgitadas.....	38
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
5.1	Rendimento e características físicas do óleo essencial.....	39
5.2	Composição química do óleo essencial das folhas <i>Cinnamomum zeylanicum</i>..	40
5.3	Avaliação da atividade larvicida.....	47
5.4	Ação sobre fêmeas ingurgitadas.....	49
6.	CONCLUSÕES.....	52
	REFERÊNCIAS.....	53

1. INTRODUÇÃO

A procura de substâncias naturais, biologicamente ativas, tem estimulado a utilização dos óleos essenciais. Muitas vezes um mesmo princípio ativo pode ser extraído de diferentes plantas. A escolha é feita tendo em mente o ciclo de vida da planta, o rendimento de extração, a natureza dos compostos, o custo da planta, o custo de manutenção e ausência de compostos tóxicos (FIGUEIREDO *et al.*, 2007).

Neste contexto, os óleos essenciais representam uma alternativa viável em diversos trabalhos envolvendo substâncias de origem vegetal. Eles estão relacionados a diversas funções essenciais à sobrevivência do vegetal, exercendo assim um importante papel na defesa contra microorganismos patogênicos (OLIVEIRA *et al.*, 2006). Atualmente, além da caracterização, procura-se expandir a utilização dos óleos essenciais. Esses óleos já são usados nas indústrias química de perfumaria, farmacologia, pesticida, alimentos, bebidas, anti-sépticos e estimulantes. Por esta razão, embora ainda de forma lenta, é crescente o número de estudos sobre a composição química e propriedades biológicas, bem como os fatores taxonômicos, ambientais e de cultivo que levam à variação tanto na quantidade como na qualidade dessas essências. O Brasil é considerado um grande produtor e exportador de óleos essenciais e de alguns de seus componentes puros, sendo que as essências mais produzidas são as cítricas, menta, eucalipto, geranim, citronela, vetiver, pau rosa e cravo (PIMENTEL, 2008).

A qualidade adequada das matérias-primas deve ser realizada de acordo com bases científicas e técnicas. Parâmetros essenciais para qualidade da matéria-prima vegetal podem variar dependendo da procedência do material. Sendo assim, a origem geográfica, as condições de cultivo, estágio de desenvolvimento, colheita, secagem e armazenamento devem ser conhecidos (FIGUEIREDO *et al.*, 2007).

Pesquisas sobre a avaliação das atividades inseticida, bactericida, fungicida e, recentemente, carrapaticida com óleos essenciais têm mostrado resultados interessantes. Porém, é de suma importância a correta caracterização botânica das espécies vegetais com atividade farmacológica e o estudo de sua composição química, com a identificação, isolamento e dosagem de seus constituintes (CUNHA; RIBEIRO; ROQUE, 2007).

A utilização de plantas aromáticas no controle de carrapatos tem sido foco de pesquisas em vários países. O carrapato bovino *Rhipicephalus microplus* é sem dúvida um dos parasitos mais importantes para a pecuária brasileira (CAMPOS *et al.*, 2012).

Várias pesquisas relacionadas ao controle de *R. microplus* estão sendo desenvolvidas, tais como: o desenvolvimento de vacinas, rotação de pastagens, cruzamentos com raças bovinas resistentes, controle biológico com alguns tipos de fungos e uso de homeopatia e extratos vegetais. Contudo, a maior parte dos pecuaristas utiliza ou tem acesso apenas a produtos químicos para fazer o controle desse ectoparasita. Aplicações constantes de pesticidas sintéticos e o descarte indiscriminado da solução residual de carrapaticida têm sido responsáveis pelo aumento da resistência dos carrapatos aos pesticidas utilizados, intoxicação dos animais e dos aplicadores, resíduos de carrapaticidas nos produtos de origem animal e contaminação de solos e águas. Diante deste contexto, existe a necessidade imediata de uma alternativa aos produtos organossintéticos utilizados atualmente (CAMPOS *et al.*, 2012).

Dessa forma, a utilização de óleos essenciais de plantas aromáticas no controle de *R. microplus* pode atenuar os problemas causados por esse ectoparasita, reduzindo assim a utilização de produtos organossintéticos que são tóxicos para o animal, homem e meio ambiente. Além disso, os óleos essenciais poderão funcionar como fontes de moléculas para a síntese de novos carrapaticidas, diminuindo a dependência dos pecuaristas aos produtos organossintéticos existentes no mercado (CAMPOS *et al.*, 2012). Neste contexto, pretende-se estudar a atividade carrapaticida do óleo essencial da espécie *Cinnamomum zeylanicum* Blume.

A planta canela-da-índia (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) é originária do Sri Lanka (antigo Ceilão), principal produtor e exportador, seguido de Seychelles, Madagascar e Índia (LIMA *et al.*, 2005). De odor suave e sabor adocicado levemente picante, é largamente utilizada sob forma de cascas e em pó como aromatizante na culinária. Por destilação a vapor pode-se obter óleo essencial tanto das cascas quanto das folhas. O óleo essencial da casca de canela é rico em aldeído cinâmico, enquanto que o das folhas apresenta composição diferente, sendo fonte de eugenol. Os óleos essenciais obtidos a partir das cascas e das folhas, são matérias-primas de amplo emprego nas indústrias de alimentos e bebidas, de perfumaria e farmacêutica (KOKETSU *et al.*, 1997).

Os óleos essenciais mais importantes do gênero *Cinnamomum* no mercado mundial são os obtidos de *C. verum* ("*Cinnamomum bark oil*" e "*Cinnamomum leaf oil*"), *C. cassia* ("*cassia oil*") e *C. camphora* ("*sassafras oil*" e "*ho leaf oil*"). *Cinnamomum zeylanicum* Blume (*Cinnamomum verum* J. S. Presl.), conhecida como "canela-da-índia" e "canela-do-ceilão" (LIMA, 2005).

O Brasil importa regularmente de diferentes países quantidades significativas tanto de cascas quanto do óleo essencial, dada a ausência de cultivo comercial desta especiaria no País. O clima e as condições do solo afetam a planta de canela profundamente, de modo que uma

mesma espécie ou variedade, cultivada em outro país, pode produzir uma casca de qualidade muito diferente daquela obtida no Sri Lanka, seu país de origem (RIBEIRO, 2007).

Com esse objetivo, o presente trabalho buscou caracterizar a composição química e algumas propriedades físico-químicas do óleo essencial das folhas de *C. zeylanicum* (canela) e avaliar sua atividade carrapaticida frente ao *R. microplus* (carrapato bovino).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Caracterizar a composição química do óleo essencial das folhas de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) e avaliar sua atividade carrapaticida frente ao carrapato bovino *Rhipicephalus microplus*.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar físico-quimicamente o óleo essencial de *C. zeylanicum* Blume;
- Identificar e quantificar os compostos presentes no óleo essencial por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM);
- Avaliar a eficiência carrapaticida do óleo essencial e do padrão de benzoato de benzila frente ao *Rhipicephalus microplus* (carrapato bovino);
- Estabelecer a concentração letal 50% (CL₅₀) para diagnóstico de resistência de *R. microplus* do óleo essencial, em testes de sensibilidade larvar e de imersão de fêmeas ingurgitadas.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Aspectos gerais sobre a família Lauraceae, o gênero *Cinnamomum* e a espécie *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela)

A família Lauraceae apresenta-se amplamente distribuída através das regiões tropicais e subtropicais do planeta, sendo formada por 49 gêneros e 2.500 - 3.000 espécies (WERFF e RICHTER, 1996). Destaca-se entre as demais famílias pela sua importância econômica. Algumas espécies têm sido utilizadas pelas indústrias para a fabricação de diversos produtos, porém, a maioria das espécies têm seu uso restrito às comunidades tradicionais que detêm o conhecimento empírico da utilização dessas plantas.

O gênero *Cinnamomum* (Lauraceae) compreende cerca de 250 espécies, que caracterizam-se por serem arbustos e árvores de pequeno a médio porte. As espécies são encontradas em florestas tropicais onde crescem em montanhas e planícies em solos bem drenados (JANTAM *et al.*, 2003; JANTAM *et al.*, 2008).

Cinnamomum zeylanicum Blume (sin. *Cinnamomum verum* Presl) é uma árvore de ciclo perene que atinge até 9 metros de altura. O tronco alcança cerca de 35 cm de diâmetro (figura 1). As folhas são coriáceas, lanceoladas, com nervuras na base, brilhantes e lisas na parte superior e verde-clara, e finamente reticulada na parte inferior. As flores são de coloração amarela ou esverdeada, numerosas e bem pequenas, agrupadas em cachos ramificados (BALMÉ, 1978; SCHIPER, 1999). Suas cascas e folhas são fortemente aromáticas. De odor suave e sabor adocicado levemente picante é largamente utilizada sob forma de cascas em pó como aromatizante na culinária e na perfumaria.

Esta planta apresenta, na medicina popular, diferentes funções contra diversas doenças, e o óleo essencial armazenado em células secretoras encontradas nas folhas e caule representa um dos principais produtos responsáveis pelas atividades farmacológicas (MARQUES, 2001). A canela e o seu óleo essencial são empregados como corretivos do odor e do sabor na preparação de alguns medicamentos (LIMA *et al.*, 2005).

Figura 1. Árvore da *Cinnamomum zeylanicum* (canela)



Fonte: Autor, 2012

Praticamente se utiliza a parte aérea do vegetal como um todo. As folhas são utilizadas para a extração de óleos essenciais, mas a parte mais valorizada é realmente a casca dos ramos. No comércio encontra-se a canela em pó e em cascas enroladas em si mesmas e medindo cerca de 20 a 25 cm de comprimento (MORSBACH, 1997).

O Brasil importa quantidades significativas de cascas e óleo essencial da canela, dada a ausência de cultivo comercial desta especiaria no País. O cultivo de canela em diferentes condições ambientais afeta a planta profundamente, de modo que uma mesma espécie ou variedade, cultivada em outro país, pode diferir daquela obtida de seu país de origem com conseqüente variação nas concentrações de suas principais substâncias. Na canela, a constituição química varia significativamente em relação às distintas partes da planta. Em geral, a casca é rica em aldeído cinâmico e a folha em eugenol (KOKETSU *et al.*, 1997).

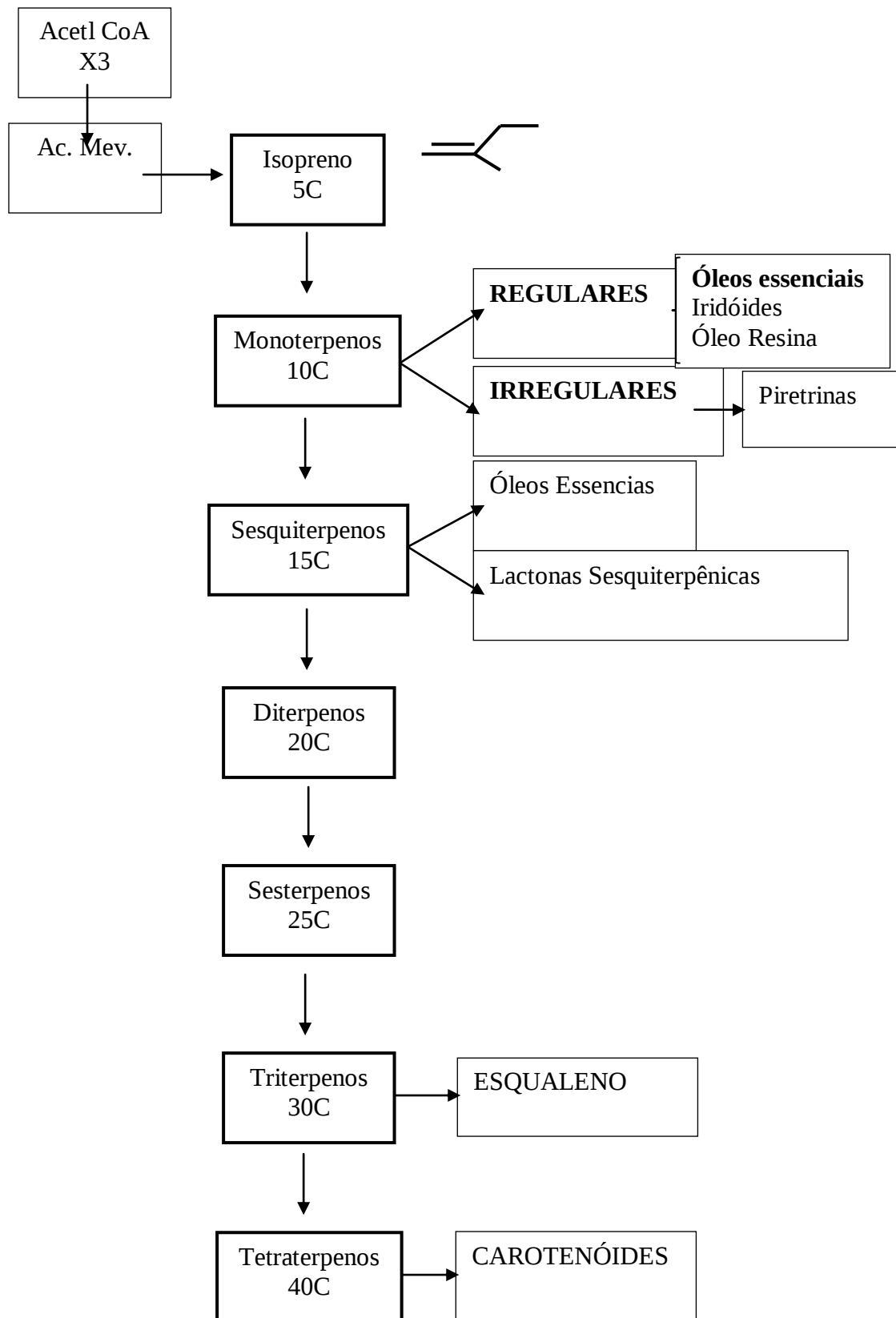
O óleo essencial de *C. zeylanicum* apresenta na composição química as seguintes substâncias: ácido cinâmico, aldeído benzênico, aldeído cinâmico, aldeído cumínico, benzonato de benzila, cimeno, cineol, eugenol, felandreno, furool, linalol, metilacetona, pineno, vanilina, entre outras. A *C. zeylanicum* apresenta algumas propriedades medicinais, tais como: adstringente, afrodisíaca, anti-séptica, carminativa, digestiva, estimulante, hipertensora, sedativa, tônica e vasodilatadora (BALMÉ, 1978; SCHIPER, 1999).

3.2 Óleos essenciais

Os óleos essenciais, segundo definição da ANVISA (Brasil, 1999), são produtos voláteis de origem vegetal obtidos por processo físico e podem se apresentar isoladamente ou misturados entre si, desterpenados ou concentrados. Podem ser encontrados em todas as estruturas vegetais, sendo mais freqüente em folhas, flores, frutos e menos em raízes, rizomas, lenhos, córtex ou sementes. Ocorrem em diversos gêneros de plantas superiores, inferiores, além de microrganismos e constituem uma mistura complexa de substâncias, apresentando estruturas químicas heterogêneas (BRENNA *et al.*, 2003).

Óleos essenciais são oriundos do metabolismo secundário de plantas aromáticas. São constituídos por substâncias de baixo peso molecular, principalmente misturas de fenilpropanóides e terpenóides, especificamente monoterpenos (C_{10}) e sesquiterpenos (C_{15}), embora diterpenos (C_{20}) também possam estar presentes. Além destes uma variedade de hidrocarbonetos alifáticos (lineares, ramificados, saturados ou insaturados), ácidos, alcoóis, aldeídos, ésteres acíclicos ou lactonas e compostos com nitrogênio e enxofre também foram identificados em óleos voláteis (BELL e CHARLWOOD, 1980). Esses derivados oxigenados geralmente são responsáveis pelo aroma característico de um óleo essencial, e são denominados terpenóides (figura 2) (SERAFINI *et al.*, 2002). Estes compostos podem estar presentes em diferentes concentrações, nos quais um deles é o majoritário, que geralmente é quem determina as propriedades biológicas (SANTURIO, 2007; BARBOSA, 2010).

Figura 2. Formação dos terpenóides no metabolismo secundário das plantas (TORRES, 2010)



Geralmente os componentes principais determinam as propriedades biológicas do óleo essencial (PICHERSKY *et al.*, 2006). Porém para Mendes *et al.* (2010), os componentes majoritários que são isolados em maior quantidade nos óleos essenciais podem refletir as características biofísicas e biológicas destes, mas na maioria das vezes a amplitude dos efeitos dos óleos essenciais depende da concentração dos componentes principais modulada por outros componentes de menor importância, ou seja, os constituintes agindo em sinergia. Para uma mesma espécie de planta, o número de compostos, suas quantidades relativas e o rendimento de óleos essenciais variam consideravelmente, isto pode ser atribuído ao método de extração do óleo essencial, além das diferenças climáticas, localização e fatores agrônômicos como fertilização, irrigação, colheita e especialmente a fase de desenvolvimento da planta na data da colheita (BAKKALI *et al.*, 2008).

Os óleos essenciais são obtidos por diferentes processos, dependendo da localização no vegetal, da quantidade e das características requeridas para o produto final. Os métodos mais usuais para sua obtenção são: hidrodestilação, prensagem ou expressão, enfloração, extração com solventes orgânicos, extração com fluido supercrítico, destilação por arraste de vapor e destilação por microondas. Dentre esses, o método de maior aplicação é o de hidrodestilação (BAKKALI *et al.*, 2008).

Os óleos voláteis possuem pressão de vapor mais elevada que a água, sendo, por isso, arrastados pelo vapor d'água. Em pequena escala, emprega-se o aparelho de clewenger para realizar a separação óleo/água. O óleo volátil obtido, após separar-se da água, deve ser seco com sulfato de sódio anidro, por exemplo. Esse procedimento, embora clássico, pode levar a degradação térmica em função da temperatura empregada. (SANTOS, 2000).

O método da prensagem é muito utilizado para obtenção de óleos cítricos, e bastante utilizado na indústria de processamento de suco de laranja. Os métodos de extração através de solventes orgânicos podem ser utilizados, mas apresentam inúmeras restrições, pois não são seletivos, além da preocupação com a parte residual do solvente utilizado. Podem-se citar ainda como uma inovação tecnológica de grande importância, a extração com a utilização de dióxido de carbono em meio supercrítico. Esta técnica apresenta alta seletividade quando determinadas previamente as condições experimentais do processo, além de ser uma tecnologia totalmente limpa, não deixa resíduos na amostra, e não trabalha em altas temperaturas, o que diminui o risco de degradação térmica da amostra (TORRES, 2010). O método de destilação por microondas, tem como grande vantagem o tempo gasto para a

extração dos óleos essenciais, que é de aproximadamente de 10% do tempo gasto em uma destilação comum.

A maioria dos óleos essenciais comercializados são analisados por cromatografia gasosa e espectrometria de massas (BAKKALI *et al.*, 2008). Cada componente é identificado por meio da comparação de seu espectro de massas com espectros avaliados pelo banco de dados de um equipamento, com espectros existentes na literatura e comparação dos índices de retenção calculados com os que já existem na literatura (ADAMS, 2007).

Com relação ao controle de qualidade, os óleos essenciais apresentam constantes problemas de qualidades, que podem ter origem na variabilidade da sua composição química, na adulteração ou falsificação, ou ainda na identificação incorreta do produto e na sua origem (SIMÕES, 2007).

Corazza (2002) relata que geralmente óleos essenciais apresentam densidade menor que a da água, alto índice de refração e sensibilidade à luz e ao ar. Com relação à coloração, podem variar de totalmente incolores a fortemente dourados, passando por nuances esverdeadas, ambarinas ou amareladas.

Atualmente os óleos essenciais são empregados nas indústrias farmacêuticas, tanto para uso humano como veterinário. Também são empregados como cosméticos e produtos domissanitários, além de utilizados na aromaterapia. É estimado que cerca de 3000 óleos essenciais sejam conhecidos, dos quais aproximadamente 300 são comercialmente importantes, destinados, principalmente, para o mercado de fragrâncias (BURT, 2004).

Dentre as principais atividades farmacológicas já atribuídas aos óleos essenciais destacam-se: antimicrobiana, antiinflamatória, antioxidante, anticolinesterásica, anti-helmíntica, antiparasitária, analgésica, sedativa, antitumoral, entre outras. Também é importante, atualmente, sua utilização pela indústria farmacêutica como promotores de permeação de fármacos para administração pela via transdérmica (YUNES e FILHO, 2009).

3.3 Óleos essenciais do gênero *Cinnamomum*

A composição dos óleos essenciais de canela pode apresentar variações extremas. Trabalhos anteriores sobre o óleo de *Cinnamomum zeylanicum* indicaram uma grande diversidade da composição química, com relato de pelo menos cinco quimiotipos: eugenol (THOMAS *et al.*, 1987; SENANAYAKE, 1978), (E)-cinamaldeído (VARIVAR e BANDYOPADHYAY, 1989; SENANAYAKE, 1978; BERNARD *et al.*, (1989);

MÖLLENBECK *et al.*, (1997), benzoato de metila (RAO *et al.*, 1988), linalol (JIROVETZ *et al.*, (2001) e cânfora (SENANAYAKE, 1978).

Nath *et al.* (1996) relataram uma variedade de *Cinnamomum verum* cultivadas no Vale de Brahmaputra, Índia, contendo benzoato de benzila como principal constituinte no óleo da folha (65,4%) e da casca (84,7%), enquanto que os teores de eugenol e aldeído cinâmico não chegam a 1%. A presença de benzoato de benzila foi relatada pela primeira vez na canela pelo grupo Wijesekera (1974) e mais tarde proposto um mecanismo provável para sua formação na planta Wijesekera (1978).

Morsbach *et al.* (1997), trabalharam com óleos essenciais de cascas e folhas de canela do Ceilão (*Cinnamomum verum* Presl, sin. *Cinnamomum zeylanicum* Blume). As cascas e folhas foram provenientes de 12 árvores submetidas à adubação apenas com matéria orgânica (MO) ou associada com adubo químico (C). O rendimento médio de óleo essencial foi de 0,2% nas cascas e 2,0% nas folhas. O teor de aldeído cinâmico nos óleos essenciais das cascas foi de 54,7% (MO) e 58,4% (C). Os óleos essenciais de folhas apresentaram 94,1% (5 árvores - MO) e 95,1% (5 árvores - C) de eugenol. Entretanto, a composição dos óleos essenciais das folhas de duas árvores distintas, uma de cada tipo de tratamento, foi diferente da maioria das árvores estudadas, apresentando 58,7% (MO) e 55,1% (C) de eugenol, com teor elevado de safrol (29,6% e 39,5%, respectivamente). Não foram observadas diferenças na composição ou nos teores dos componentes em função do tipo de adubação.

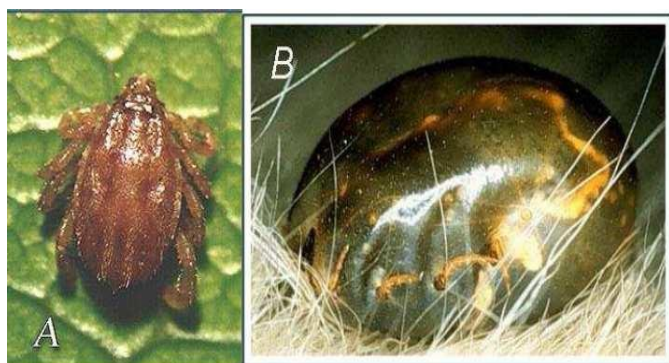
Nos óleos essenciais de *C. zeylanicum* de três espécimes coletados no município de Belém, estado do Pará predominaram nas folhas o acetato de (E)-cinamila, eugenol e acetato de hidrocinaamila; nos óleos dos galhos foram benzoato de benzila e (E)-cinamaldeído. No óleo das flores predominou acetato de (E)-cinamila (MAIA *et al.*, 2007). O óleo obtido no município de Paço do Lumiar, estado do Maranhão, apresentou como componente majoritário o eugenol (87,37%) (DIAS, 2009).

O óleo de *C. zeylanicum* apresentou atividades antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia odorífera* (DIAS, 2009), antifúngica contra *Cândida albicans* (CASTRO, 2010), acaricida contra *Tyrophagus putrescentiae* e *Suidasia pontifica* (ASSIS, 2010) e moluscicida contra *Biomphalaria glabrata*, (REIS, 2012), enquanto que seu extrato etanólico mostrou efeito antioxidante natural, podendo ser usado em indústrias de alimentos, farmacêuticas e cosméticas (DIAS, 2009).

3.3 *Rhipicephalus microplus*

O carrapato bovino *Rhipicephalus microplus* (figura 3) é a única espécie do subgênero *Boophilus* que ocorre no Brasil. São carrapatos da família Ixodidae, conhecida como família dos carrapatos duros. Pertencem à ordem Parasitiformes da classe Arachnida e da subordem Metastigmata ou Ixodides. O ciclo de vida destes carrapatos consiste em: ovo, larva, ninfa e adulto (FLETCHMAN, 1990).

Figura 3. Imagem de um carrapato macho de *Rhipicephalus microplus* (A) e de uma fêmea ingurgitada ainda na pelagem do hospedeiro (B) (SEQUEIRA e AMARANTE, 2002).

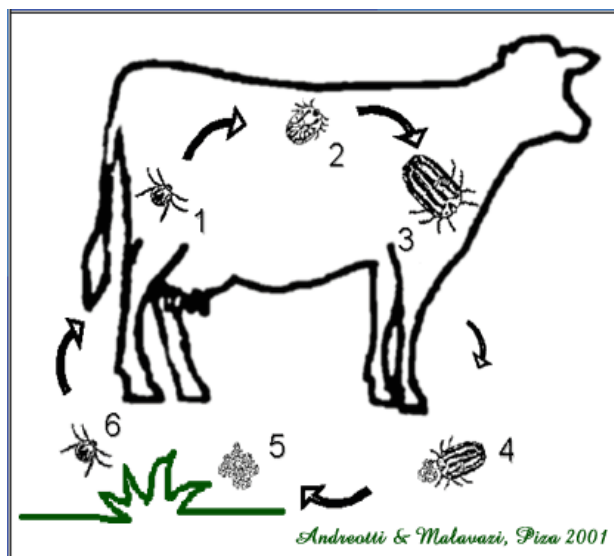


O *R. microplus* teria sido introduzido na maioria dos países tropicais e subtropicais por meio de importação do gado asiático. Na região Neotropical, atualmente esta espécie encontra-se distribuída desde o norte da Argentina até o México, incluindo as ilhas do Caribe e Antilhas (PEREIRA e LABRUNA, 2008).

O carrapato bovino é monoxeno, isto é, necessita de apenas um hospedeiro para completar o ciclo de vida que pode ser dividido em fase parasitária e fase não parasitária (FURLONG, 2005). A fase parasitária tem início com a fixação das larvas no hospedeiro suscetível e termina quando os adultos, incluindo as fêmeas fecundadas e ingurgitadas caem do hospedeiro. A fase não parasitária começa com a teleógina (fêmea ingurgitada) depois que se desprende do hospedeiro e cai no solo para realizar a oviposição. Essa fase termina quando as larvas eclodem dos ovos e acessam o hospedeiro suscetível (PEREIRA, 1982; PEREIRA *et al.*, 2008), conforme se observa na figura 4.

Figura 4. Esquema simplificado do ciclo de vida do carrapato *Rhipicephalus microplus*.

Fase parasitária: (1) larva infectante realizando a fixação no bovino; (2) ninfa; (3) teleógina em estágio final de ingurgitamento. **Fase de vida livre:** (4) teleógina logo após desprendimento, em período de postura no solo; (5) ovos no solo, em período de incubação; (6) larva no solo (ANDREOTTI, 2002).



A fêmea pode colocar de 2000 a 4000 ovos. As larvas recém-nascidas necessitam de três a quatro dias para que se formem as peças bucais e então possam procurar e se fixar no couro dos animais hospedeiros. Normalmente são muito vivazes e sobem rapidamente nas folhas e hastes do pasto aguardando a passagem de um hospedeiro para se fixarem, preferencialmente onde a pele é mais fina, como: nas axilas, entre as patas, região genital e sob a cauda. O início e o término do ciclo acontecem quase sempre no pasto, onde geralmente interagem o ectoparasita, o hospedeiro e o ambiente (PEREIRA, 1982; PEREIRA *et al.*, 2008).

O carrapato-do-boi, *R. microplus*, causa prejuízos econômicos na pecuária brasileira levando a perdas na produção de leite e carne e danos no couro causados por reações inflamatórias nos locais de fixação do carrapato e pela transmissão de doenças, como a tristeza parasitária bovina (causada por protozoários do gênero *Babesia* e pela bactéria do gênero *Anaplasma* (GRISI *et al.*; 2002).

O parasitismo pelo carrapato *R. microplus* em países tropicais e subtropicais é associado a grandes quedas nos índices de produtividade dos rebanhos. O controle convencional deste ectoparasita vem demonstrando ineficácia como estratégia de controle a longo prazo, além disso, existem relatos recorrentes de populações de carrapatos resistentes às formulações

comercialmente disponíveis (BIEGELMEYER *et al.*, 2012). Entre os ectoparasitas de bovinos, a infestação por *R. microplus* continua a ser uma das principais causas de perdas econômicas da pecuária brasileira (GRAF *et al.*, 2004; RECK JÚNIOR *et al.*, 2009).

3.5 Atividade carrapaticida de produtos naturais e o uso de óleos essenciais no controle do *Rhipicephalus microplus*

O desenvolvimento de acaricidas químicos vem de longa data, aproximadamente no ano de 1949, quando foram lançados os carrapaticidas arsênicos. Estes foram sendo substituídos por exemplares como fosforados, amidinas e ultimamente os piretróides e os quimioterápicos com ação inseticida (FURLONG, 2005). O uso indiscriminado destes acaricidas traz problemas como o desenvolvimento da resistência por parte dos carrapatos aos carrapaticidas químicos, fato que incentiva a busca de novos produtos para esta finalidade.

O mercado de parasiticidas no Brasil movimenta cerca de US\$ 960 milhões por ano e constitui 34% do mercado de produtos veterinários (SINDAN, 2010). Para serem registrados, os novos produtos para o controle do carrapato devem apresentar pelo menos 95% de eficácia, segundo critérios do Ministério da Agricultura e Abastecimento (Mapa).

No Brasil, a resistência dos carrapatos aos acaricidas está amplamente difundida (OLIVEIRA *et al.*, 2000; MENDES *et al.*, 2001; MENDES, 2005). Há relatos de resistência para diversos compostos nos mais importantes estados produtores de carne e leite do país, tornando a situação alarmante (GRAF *et al.*, 2004). Casos de resistência aos carrapaticidas já foram relatados em vários estados brasileiros como Distrito Federal, Goiás, Minas Gerais e Rio Grande do Sul (SILVA *et al.*, 2000; FARIAS, 1999; FURLONG, 1999; MOLENTO e DIAS, 2000; MARTINS e FURLONG, 2001).

A necessidade de redução do uso de acaricidas sintéticos, visto que os mesmos não são mais tão eficientes, bem como a necessidade da criação de novos produtos que controlem a população de carrapatos e que sejam menos nocivos ao meio ambiente, torna os produtos naturais uma alternativa bastante valiosa. Esta afirmação é de senso comum, principalmente devido ao fato que há um grande número de plantas e seus derivados com ações farmacológicas, os quais se incluem os efeitos acaricidas desejados para o controle de carrapatos. Soma-se a este fato, o risco de intoxicação e a maior predisposição a outras doenças, quando no manejo do gado submetido a banhos com carrapaticidas químicos. Para realizar este procedimento os animais sofrem grande estresse físico, trazendo problemas na produção de carne (CLARK, 1982).

A utilização de plantas medicinais e aromáticas no controle de carrapatos tem sido foco de pesquisas em vários países. Os óleos essenciais destas plantas possuem atividade terapêutica, bactericida, fungicida e inseticida e, recentemente, também está sendo testada sua atividade carrapaticida. Algumas vezes o efeito carrapaticida é atribuído aos constituintes isolados em maior quantidade no óleo essencial que são os componentes majoritários. Porém, é possível que a atividade do componente principal seja modulada por outros compostos que estão em menor quantidade (CAMPOS *et al.*, 2012)

A utilização de biocarrapaticidas oriundos do metabolismo secundário das plantas apresenta inúmeras vantagens quando comparado ao emprego de produtos organossintéticos. Dentre estas podemos citar: são obtidos a partir de recursos renováveis, são rapidamente degradáveis, o desenvolvimento da resistência a essas substâncias compostas da associação de vários princípios ativos é um processo lento, não deixam resíduos nos alimentos e, são de fácil acesso e obtenção (ROEL, 2001).

Óleos essenciais pertencentes a várias espécies de plantas têm sido extensivamente testados para avaliar as suas propriedades como um valioso recurso natural no controle de carrapatos. Silva *et al.* (2009) testaram a toxicidade da espécie *Piper aduncum* (Piperaceae) proveniente da floresta amazônica em fêmeas ingurgitadas e larvas de *R. microplus* e demonstraram que a mortalidade das larvas desta espécie foi devida a um constituinte do óleo das folhas, derivado de um fenilpropanóide. Para Cardona *et al.* (2007) o uso do óleo essencial das folhas de *Sapindus saponaria* (Sapindaceae) é uma ferramenta promissora para o controle de carrapatos em bovinos, pois causam mortalidade nas fêmeas ingurgitadas e reduzem a eficiência reprodutiva destas. Broglio-Micheletti *et al.* (2009) observaram que o óleo extraído das sementes de *Annona muricata* foi eficaz em baixas concentrações no controle do carrapato bovino *in vitro*.

Para Bueno (2005), o uso de produtos naturais deve ser incentivado, mas antes devem ser submetidos a todos os procedimentos de segurança da mesma forma que os produtos sintéticos.

4. PARTE EXPERIMENTAL

Essa pesquisa foi desenvolvida no Pavilhão Tecnológico da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) em parceria com o Laboratório de Parasitologia Animal do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais (CCAA) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Campos IV Chapadinha – MA e Laboratório de Engenharia de Produtos Naturais (LEPRON / UFPA).

4.1 Equipamentos Analíticos e Acessórios

A metodologia adotada envolveu atividades usuais em um tratamento analítico de plantas aromáticas, bem como os testes *in vitro* de atividade carrapaticida usando óleos essenciais.

- **Liquidificador Industrial**

Utilizou-se um liquidificador industrial METVISA, modelo LAR.4 para a trituração da amostra.

- **Analisador de Umidade por Infra-Vermelho**

Utilizou-se um analisador de umidade por infra-vermelho GEHAKA, modelo IV2500 para determinação da umidade da planta, afim de calcular o seu rendimento.

- **Refratômetro**

Utilizou-se um refratômetro marca AABE, modelo 2 WAJ, para a medida de índice de refração.

- **Banho Termostático**

Utilizou-se Banho Ultratermostático com Circulador, modelo Q214S, QUIMIS, para resfriamento dos condensadores na destilação do óleo essencial por circulação externa.

- **Extrator de Clevenger**

Utilizou-se extratores de Clevenger de vidro, acoplado a balões de fundo redondo de 1000 mL, para extração do óleo essencial, acoplado a mantas que foram usadas como fonte de calor.

- **Centrífuga**

Foi utilizada uma centrífuga FANEM, modelo 206, para separação do hidrolato contido no óleo essencial.

- **Picnômetro**

Utilizou-se um picnômetro de 1 mL para a determinação da densidade do óleo essencial.

- **Estufa**

Utilizou-se uma estufa Eletrolab com fotoperíodo, modelo 121FC BOD, para a realização dos testes de sensibilidade larvar e o teste de imersão de fêmeas ingurgitadas.

- **Balança Analítica**

Utilizou-se uma balança analítica Electronic Balance Bioprecisa, modelo FA-2104N, para a pesagem das teleóginas.

- **Compressor a Vácuo**

Foi utilizado um compressor a vácuo Prismatec, modelo 131b, adaptado com uma pipeta para contagem das larvas vivas e mortas.

- **Cromatógrafo a Gás acoplado a Espectrômetro de Massas (CG-EM)**

O óleo essencial foi analisado por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrômetro de massas no Laboratório de Engenharia de Produtos Naturais – (LEPRON / UFPA) (tabela 1).

Tabela 1. Sistema CG-EM utilizado na análise do óleo essencial

Sistema do cromatógrafo	
Instrumento	FOCUS (Thermo electron)
Auto-injetor	AI 3000
Espectrômetro de Massas	
Instrumento	DSQ II
Fonte de ionização	Impacto eletrônico
Software	Xcalibur
Bibliotecas de dados	NIST (National Institute of Standards and Technology, Gaithersbury, USA) ADAMS (Allrued Publishing Corporation, Carol Stream, IL, 804 p., 2007)

4.2 Materiais e Reagentes

- Sulfato de sódio anidro P. A, Na₂SO₄, 99% de pureza; MERCK.
- Etanol, 99% de pureza; MERCK.
- Triton 2%, SIGMA ALDRICH e MERCK.
- Benzoato de benzila P.A, SIGMA ALDRICH.
- Pipetadores automáticos DIGIPET e EPPENDORF (2-10 µL, 10-100 µL).
- Tubos de ensaio (10x100 mm).
- Ampolas de vidro âmbar.
- Papéis de filtro com tamanho 2 x 2cm (4cm²).
- Placas de Petri.

4.3 Metodologia Experimental

A seguir descrevem-se os procedimentos efetuados experimentalmente para a realização desse trabalho.

4.3.1 Coleta das folhas da *Cinnamomum zeylanicum*

As folhas verdes desta planta foram coletadas em março de 2012 no município de Santa Inês, Maranhão. As exsicatas dos mesmos foram identificadas por comparação com exemplar registrado no Herbário João Murça Pires do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), em Belém - PA, sob o registro MG 165477. As folhas foram secas sob ventilação normal e em seguida trituradas e armazenadas em recipientes de polietileno.

4.3.2 Extração do óleo essencial e cálculo do rendimento

O óleo essencial foi extraído das folhas previamente secas e trituradas da *Cinnamomum zeylanicum*. Foram pesados 100g do material seco para obtenção do óleo essencial. A extração do óleo foi feita por hidrodestilação em processo contínuo por período de 3,0h, usando-se sistemas de vidro do tipo Clevenger modificado, acoplados a sistemas de refrigeração, com temperatura da água de condensação em torno de 10 °C (figura 5). Os óleos obtidos foram centrifugados e secos com sulfato de sódio anidro, armazenados em ampolas de vidro âmbar, na ausência de oxigênio e conservados em ambiente refrigerado de 5 – 10 °C.

Figura 5. Extrator de Clevenger acoplado a sistema de refrigeração



O rendimento do óleo foi calculado através da relação do volume de óleo obtido, com a massa do material vegetal utilizado na hidrodestilação com a base do material livre de umidade (b.l.u.) subtraindo-se da massa de amostra a quantidade de água.

4.3.3 Características físicas do óleo essencial

Na caracterização das propriedades físicas do óleo essencial foram determinadas a umidade, a densidade, o índice de refração, a solubilidade em etanol a 90% v/v, cor e aparência.

4.3.3.1 Umidade (%)

Foi pesado 2,0 g da planta seca (folhas) e colocado no analisador de umidade por infravermelho a uma temperatura de análise de 115°C por 30 minutos com taxa de secagem de 0,01%/min.

4.3.3.2 Densidade

Para o cálculo da densidade, utilizou-se um picnômetro de 1,0mL, previamente seco, tarado e aferido, onde se adicionou a amostra do óleo essencial.

Para cálculo da densidade empregou-se a seguinte fórmula:

$$\text{Densidade (g/mL)} = \frac{M1 - M}{1 \text{ mL}}$$

Onde: M 1 - massa do picnômetro contendo o OECZ.

M - massa do picnômetro vazio.

4.3.3.3 Solubilidade em etanol a (90%)

Para a determinação da solubilidade, utilizou-se uma mistura de álcool/água a 90% (v/v) mantendo-se constante o volume de óleo e adicionando-se volumes crescentes da mistura alcoólica até sua completa solubilização.

4.3.3.4 Índice de refração

Para a determinação do índice de refração, foram utilizados tubos capilares de vidro para adicionar a amostra do óleo diretamente sobre o prisma de Flint do refratômetro, a uma temperatura de 25°C. Os resultados foram corrigidos para essas condições experimentais e temperatura (IAL, 2005).

4.3.3.5 Cor

A técnica realizada é a visual, feita por comparação das cores das essências com as cores conhecidas.

4.3.3.6 Aparência

A técnica realizada também é a visual, onde se faz uma comparação das essências no que diz respeito a sua transparência.

4.4 Análise dos Componentes do Óleo Essencial

Para a amostra foi injetado 0,1µL de óleo em hexano (10 ng na coluna) no sistema CG-EM nas condições descritas na tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros para a análise por CG-EM do óleo essencial

Instrumento	DSQ II
Coluna	Coluna capilar de sílica DB-5 MS (30m x 0,25 mm x 0,25 µm)
Gás de arraste	Hélio
Fluxo do gás de arraste	1,2 mL/min
Modo de injeção	Splitless (Split flow 20:1)
Energia de ionização EIMS	70 ev
Temperatura da coluna	60 a 240°C (variação de 3°C/min)
Temperatura do injetor	250° C
Temperatura da fonte de íons	200° C
Temperatura da MS-interface	200° C

Cada composto existente nos íonscromatogramas foi identificado através da comparação de seu espectro de massas (massa molecular e o padrão de fragmentação) com os espectros existentes na biblioteca do sistema (NIST) e na literatura (ADAMS, 2007). Os índices de retenção (IR) foram determinados através da equação 4.1 que relaciona o tempo de retenção de uma série de hidrocarbonetos homólogos. Foi plotada uma curva de calibração com uma série de n-alcenos (C_8 - C_{24}) injetados nas mesmas condições cromatográficas das análises das amostras.

$$AI(x)=100 \text{ Pz}+100.[(RT(X)- RT (PZ))] / [(RT (Pz+1)-RT(Pz))] \quad \text{equação 4.1}$$

AI: índice de retenção aritmético

Pz: índice de retenção aritmético do hidrocarboneto anterior a X

RT(x): tempo de retenção do composto desconhecido

RT(Pz): Tempo de retenção do hidrocarboneto anterior a X

RT(Pz +1): tempo de retenção do hidrocarboneto posterior a X

4.5 Testes *in vitro* de atividade carrapaticida

4.5.1 Infestação artificial de *Rhipicephalus microplus* em bezerros

Três bezerros mestiços, Holandês X Zebu, com quatro meses de idade foram utilizados para manutenção da população de *Rhipicephalus microplus*. Esses procedimentos foram aprovados pelo comitê de ética de uso e experimentação animal, sob o registro CEUA/UFMA nº 23115018061/2011-01 (figura 6). Cada bezerro foi infestado quinzenalmente com 4000 larvas de carrapato e as fêmeas ingurgitadas foram coletadas após 21 dias da infestação. Durante as infestações, os bezerros foram mantidos em baias com piso suspenso, com água e sal mineral, e alimentados com capim elefante e ração balanceada. Esses ensaios foram realizados no Centro de Ciências Agrárias e Ambientais da Universidade Federal do Maranhão, Campus IV Chapadinha - MA.

Figura 6. Infestação artificial de *Rhipicephalus microplus* em bezerros



4.5.2 Teste de sensibilidade larvar

O teste de sensibilidade larvar foi realizado de acordo com a técnica desenvolvida por Stone e Haydock (1962) e adaptado pela FAO (1984) e Leite (1988). Foram utilizadas aproximadamente 100 larvas de carrapato de 14 a 21 dias de idade. Estas foram colocadas entre dois papéis de filtro com tamanho 2 x 2cm (4cm²), impregnados com 400 µl de cada concentração do óleo essencial e do padrão benzoato de benzila (Sigma-Aldrich), os quais formaram um “sanduíche”. Este sanduíche foi colocado dentro de um envelope de papel filtro não impregnado de tamanho 7,5 x 7,5cm, e vedado com pregadores plásticos, segundo metodologia. Os envelopes foram acondicionados em estufa BOD com temperatura de 27 ± 1 °C e UR ≥ 80%, por um período de 24 horas. Após este período, as larvas vivas e mortas foram contadas com a ajuda de um compressor a vácuo adaptado com uma pipeta. Para cada tratamento foram utilizados quatro repetições e os controles foram realizados com o diluente utilizado para preparação do óleo essencial (triton 2%). Foram testadas as concentrações de 50, 25, 10, 5 e 1 mg.mL⁻¹ do óleo essencial e do padrão benzoato de benzila. Os resultados do teste de sensibilidade larvar foram corrigidos de acordo com a fórmula de Abbott (Abbott, 1925).

As concentrações letais (CL₅₀) e o intervalo de confiança, foram calculados para o óleo essencial através do software GraphPad Prism 5.0 .

4.5.3 Teste de imersão de fêmeas ingurgitadas

O teste de imersão de fêmeas de *Rhipicephalus microplus* foi realizado de acordo com a técnica desenvolvida por Drummond *et al.* (1973). As teleóginas (cepa sensível) coletadas dos bezerros infestados artificialmente foram lavadas em água corrente, secas em papel toalha, e pesadas em grupos de 10 espécimes, procurando-se obter os pesos dos grupos o mais homogêneo possível.

Cada grupo de carrapato foi submerso durante 5 minutos em 5 mL, nas diferentes concentrações do óleo essencial e do padrão benzoato de benzila (Sigma-Aldrich), 75, 50, 25, 10 e 5 mg.mL⁻¹. O controle foi realizado com o diluente utilizado para preparação do óleo essencial (triton 2%). Após este período, as fêmeas ingurgitadas foram secas em papel toalha, acondicionadas em placas de Petri e levadas a estufa BOD com temperatura de 27 ± 1 °C e UR ≥ 80%, por 23 dias, quando as posturas foram coletadas, pesadas e acondicionadas em seringas descartáveis modificadas para este uso. As seringas também foram acondicionadas em estufa BOD, 27 ± 1 °C e UR ≥ 80%, por mais 25 dias, para a eclosão das larvas. Após a eclosão, as larvas foram avaliadas visualmente obtendo o percentual de eclosão. Os dados como Peso das Teleóginas (PT), Peso dos Ovos (PO) e Percentual de Eclosão (%E), foram avaliados e posteriormente calculados o percentual de Eficiência do Produto (EP) (Drummond *et al.*, 1973).

$$ER = \frac{PO}{PT} \times \%E \times 20000*$$

* = Número de larvas por um grama de ovos.

$$EP = \frac{ER \text{ Grupo Controle} - ER \text{ Grupo Tratado}}{ER \text{ do Grupo Controle}} \times 100$$

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento e características físicas do óleo essencial

O óleo essencial obtido das folhas de *C. zeylanicum* por hidrodestilação apresentou um rendimento de 1,03% em relação ao peso de material seco utilizado (b.l.u.). O valor de rendimento para o óleo e algumas características (densidade, índice de refração, solubilidade, cor e aparência) são apresentados na tabela 3, e comparados com dados da literatura.

Tabela 3. Características físicas do óleo essencial extraído das folhas de *Cinnamomum zeylanicum*

Propriedades Físico-químicas	Óleo essencial ^(a)	Óleo essencial ^(b)	Óleo essencial ^(c)
Rendimento (%)	1,03	1,3	1,1
Densidade (g. mL ⁻¹)	1,055	1,023	1,048
Índice de refração (N _D ^{25°})	1,533	1,533	1, 533
Solubilidade em etanol	1:1 90% (v/v)	1:1 70%(v/v)	1:1 70%(v/v)
Cor	Amarelo	Amarelo	Amarelo
Aparência	Límpido	Límpido	Límpido

^(a) Dados do autor; ^(b) Reis (2011); ^(c) Dias (2009)

Comparando os valores para os óleos essenciais das folhas de *C. zeylanicum* com os da literatura, pode-se observar que há uma similaridade entre eles, no que diz respeito aos parâmetros analisados. Pequenas diferenças nos valores encontrados podem ser atribuídas a fatores tais como época de coleta, quimiotipo, diferentes tipos de solo, condições e tempo de armazenamento das folhas, entre outros.

5.2 Composição química do óleo essencial das folhas *Cinnamomum zeylanicum*

Os constituintes químicos foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM). A identificação foi feita com base na análise dos espectros de massa e do índice de retenção (IR) em comparação com os dados da literatura (ADAMS, 2007).

Foram identificados no total 36 diferentes compostos com concentrações de 0,04 a 65,39%, correspondendo a 99,88% da composição total do óleo, que é apresentado na tabela 4, com 41,62% de monoterpenos alifáticos, 5,55% de monoterpenos aromáticos, 30,52% de sesquiterpenos, 13,87% de fenilpropanóides e 8,32% de ésteres aromáticos. Com percentagens superiores a 2%, os principais compostos encontrados no óleo da folha de *C. zeylanicum* foram Benzoato de Benzila (65,39%), Linalol (5,37%), E-Cinamaldeído (3,97%), α -Pineno (3,95%), β -Felandreno (3,42%), Eugenol (3,36%) e Benzaldeído (2,68%).

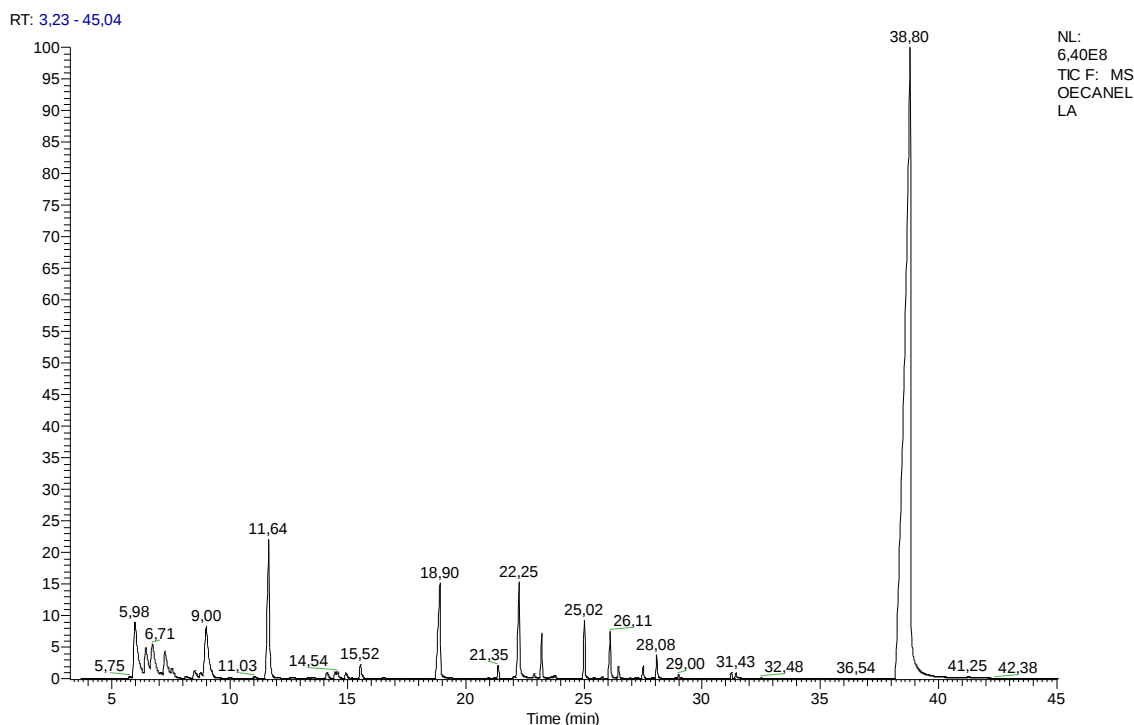
Tabela 4. Constituintes identificados no óleo essencial de *Cinnamomum zeylanicum*

Constituintes	IR*	%
α -Pineno	932	3,95
Canfeno	946	1,68
Benzaldeído	952	2,68
β -Pineno	974	1,51
Mirceno	988	0,46
α -Felandreno	1002	0,09
α -Terpineno	1014	0,34
p-Cimeno	1020	0,2
β -Felandreno	1025	3,42
γ -Terpineno	1054	0,04
Terpinoleno	1086	0,08
Linalol	1095	5,37
cis- <i>p</i> -Menth-2-en-1-ol	1118	0,06
Cânfora	1141	0,05
2-etenil-3-metil Fenol	1166	0,21
Benzoato de etila	1169	0,18
Borneol	1165	0,23
Terpinen-4-ol	1174	0,19
α -Terpineol	1186	0,43
Z-Cinamaldeído	1217	0,05
E- Cinamaldeído	1267	3,97
δ -Elemeno	1335	0,31
α -Cubebeno	1345	0,09
Eugenol	1356	3,36
Acetato de 3-fenil-propan-1-ol	1359	0,14
α -Copaeno	1374	1,05
β -Elemeno	1389	0,18
E-Cariofileno	1417	1,4
E-Acetato de cinamila	1443	1,27
α -Humuleno	1452	0,31
D-Germacreno	1484	0,27
Biciclogermacreno	1500	0,53
δ -Candineno	1522	0,1
Espatulenol	1577	0,13
Epóxido de humuleno	1608	0,16
Benzoato de benzila	1759	65,39
Monoterpenos alifáticos		41,62
Monoterpenos aromáticos		5,55
Sesquiterpenos (hidrocarbonetos e oxigenados)		30,52
Fenilpropanóides		13,87
Ésteres aromáticos		8,32
Total		99,88

* IR: índice de retenção biblioteca Adams

O cromatograma do óleo essencial extraído das folhas da espécie de *C. zeylanicum* é mostrado na Figura 7 seguindo a ordem de eluição.

Figura 7. Cromatograma do óleo essencial da espécie *Cinnamomum zeylanicum*

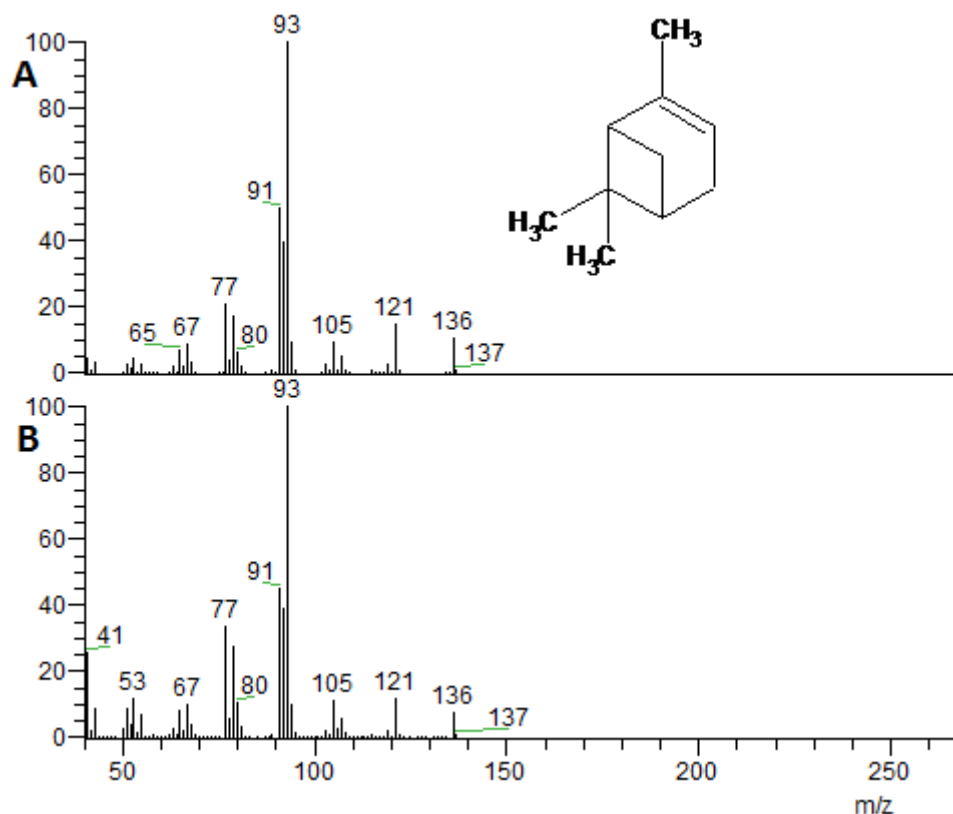


O pico 36 do cromatograma com o tempo de retenção em 38,80 min, corresponde ao benzoato de benzila. Todos os picos referidos ao cromatograma do óleo essencial das folhas de *C. zeylanicum* foram identificados por meio de seus espectros de massas.

É notável o alto teor relacionado ao pico 36 (TR=38,80) do cromatograma (65,39%), posteriormente identificado como sendo o benzoato de benzila, o que evidencia esse composto como o componente majoritário do óleo essencial.

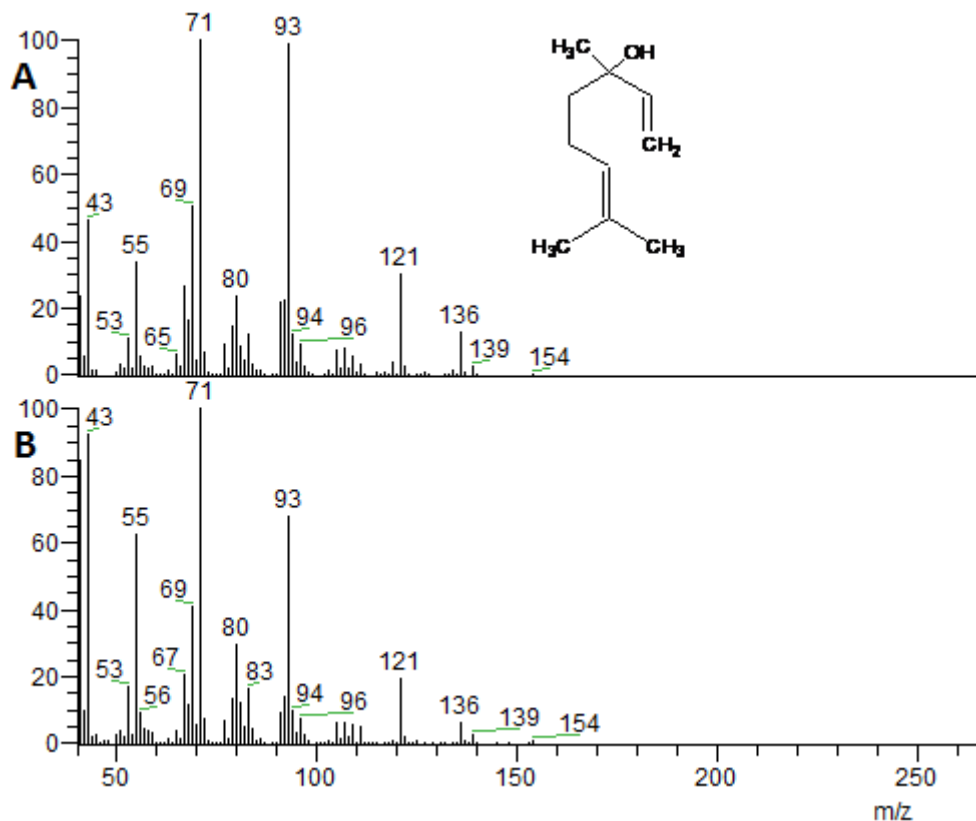
Abaixo estão relacionados os espectros de massas dos principais picos apresentados na Figura 7, seguindo a ordem do tempo de retenção, e as respectivas propostas de identificação através da comparação com os dados da literatura (ADAMS, 2007) e das espectrotescas NIST e Adams.

Figura 8. Espectros de massas de (A) composto com TR=5,98 do cromatograma da figura 7 e (B) propostas de identificação através das espectrotescas NIST e ADAMS (α -Pineno).



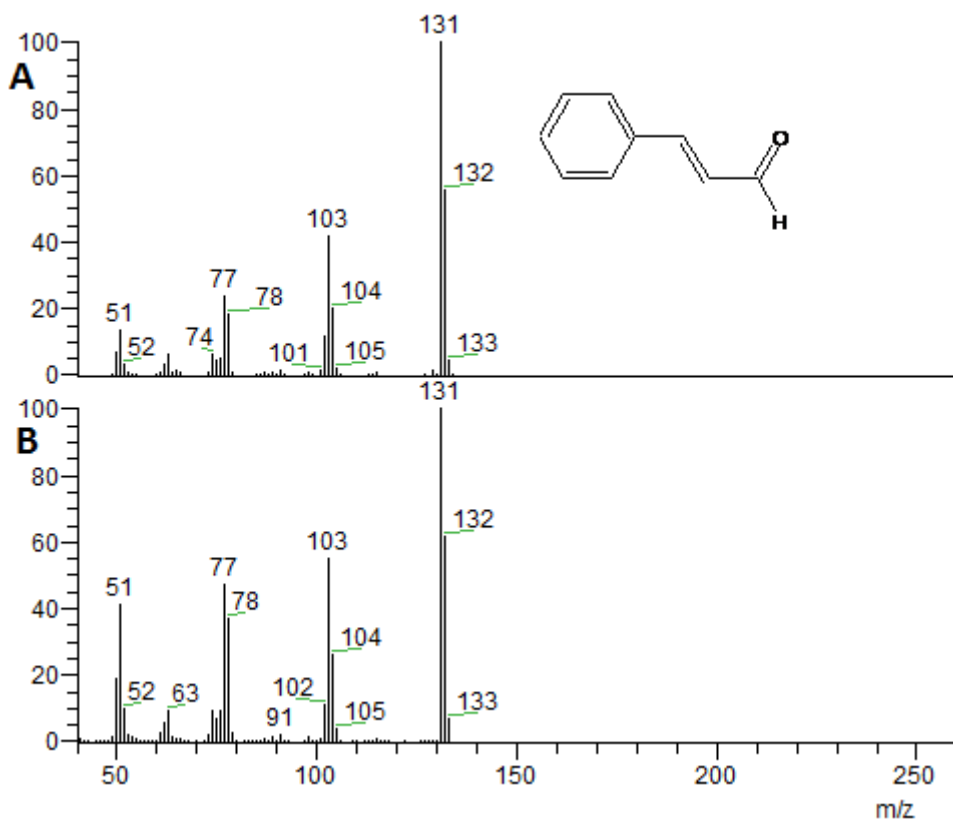
Os espectros de massas referentes à figura 8 indicam, com base na literatura (ADAMS, 2007) e nas espectrotescas NIST e ADAMS, a presença no óleo essencial do composto α -pineno. O pico do íon molecular apresenta $m/z=136$, confirmando a fórmula $C_{10}H_{16}$. O pico de $m/z=93$ para o α -pineno é provavelmente produzido por uma estrutura de fórmula $C_7H_9^+$ formada por isomerização, seguida por clivagem alílica (SILVERSTEIN *et al.*, 2007).

Figura 9. Espectros de massas de (A) composto com TR=11,64 do cromatograma da figura 7 e (B) propostas de identificação através das espectrotescas NIST e ADAMS (Linalol).



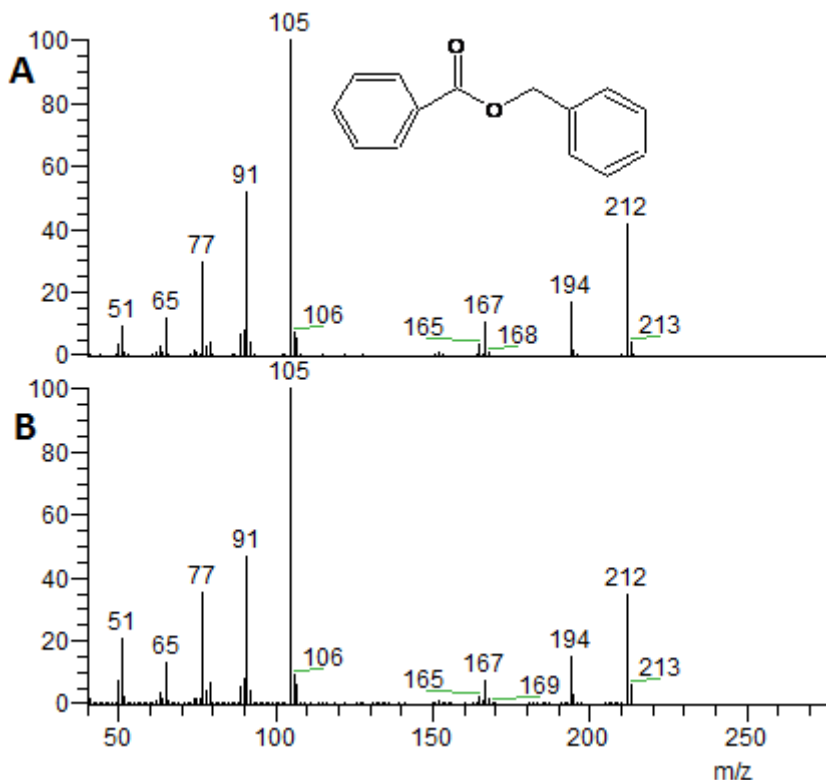
Os espectros de massas referentes à figura 9 indicam, com base na literatura (ADAMS, 2007) e nas espectrotescas NIST e ADAMS, a presença no óleo essencial do composto linalol. Segundo a literatura, o pico do íon molecular é de difícil visualização no caso de alcoóis terciários, o que é o caso do linalol. Para este composto, cuja fórmula molecular é C₁₀H₁₈O, o pico do íon molecular é m/z =154 [M]. O pico 136 [M – 18], corresponde à perda de água, enquanto o pico m/z = 121 [M – 18 – 15] é correspondente à perda de água e grupo metila. O linalol é um álcool terciário, e para compostos dessa natureza é frequente a quebra de ligação carbono-carbono vizinha ao átomo de oxigênio, com eliminação do maior grupo, o que fica evidenciado no pico de m/z=71 (H₂C=CH-COH⁺-CH₃) e pelo pico de m/z=83 [(CH₃)₂C=CH-CH₂-CH₂]. O pico com m/z=93 é devido à eliminação de água (M - 18) e do grupo C₃H₈⁺ (M - 44) (SILVERSTEIN *et al.*, 2007).

Figura 10. Espectros de massas de (A) composto com TR=18,90 do cromatograma da figura 7 e (B) propostas de identificação através das espectrotescas NIST e ADAMS (E-Cinamaldeído).



Os espectros de massas referentes à figura 10 indicam, com base na literatura (ADAMS, 2007) e nas espectrotescas NIST e ADAMS, a presença no óleo essencial do composto E-Cinamaldeído. O pico do íon molecular apresenta $m/z=132$, confirmando a fórmula C_9H_8O . Aldeídos aromáticos exibem picos de íon molecular intensos, e a perda de um átomo de hidrogênio por segmentação α é um processo muito favorável (PAVIA *et al.*, 2010). O pico M-1 resultante pode ser mais intenso do que o pico do íon molecular, e este é o caso do E-Cinamaldeído. É comum também para aldeídos aromáticos a formação do fragmento M-29, no caso do E-Cinamaldeído o pico com $m/z= 103$. É possível observar na figura 10 a presença do pico com $m/z=77$, corresponde ao íon $C_6H_5^+$, típico de aromáticos, que, por sua vez, elimina $HC\equiv CH$ para dar o íon $C_4H_3^+$ ($m/z= 51$) (SILVERSTEIN *et al.*, 2007).

Figura 11. Espectros de massas de (A) composto com TR=38,80 do cromatograma da figura 7 e (B) propostas de identificação através das espectrotescas NIST e ADAMS (Benzoato de Benzila).



Os espectros de massas referentes à figura 11 indicam, com base na literatura (ADAMS, 2007) e nas espectrotescas NIST e ADAMS, a presença no óleo essencial do composto benzoato de benzila. O pico do íon molecular apresenta $m/z=212$, confirmando a fórmula $C_{14}H_{12}O_2$. O pico com $m/z=194$ é resultante da eliminação de H_2O [$M - 18$]. Já o pico base, $m/z=105$, é em decorrência da formação do íon estável $C_6H_5C\equiv O^+$, característico de ésteres. O pico com $m/z=91$ é característico do cátion tropílio ($C_7H_7^+$) e o pico de $m/z=65$ é resultante da eliminação neutra de acetileno (C_2H_2) do íon tropílio. Já o pico com $m/z=77$, corresponde ao íon $C_6H_5^+$, típico de aromáticos (SILVERSTEIN *et al.*, 2007).

De acordo com trabalhos anteriores sobre o óleo de *C. zeylanicum*, percebe-se que o quimiotipo mais comum encontrado no óleo das folhas é o eugenol. Em outros trabalhos foi observado que o óleo das folhas de *C. zeylanicum* revelou quantidades significativas de eugenol, safrol, benzoato de benzila, acetato de (E)-cinamila e acetato de hidrocinamila (DIAS, 2009, LIMA *et al.*, 2005, REIS, 2012, MORSBACH *et al.*, 1997, NATH *et al.*, 1996, MAIA *et al.*, 2007). Portanto, deve-se considerar que estes quimiotipos de *C. zeylanicum* podem resultar do genótipo da planta, levando em consideração, principalmente, a estação do ano, o clima e o local de coleta.

A espécie de *C. zeylanicum* estudada pertence ao quimiotipo benzoato de benzila, que segundo literatura, é utilizado comercialmente como um medicamento sarnicida de uso tópico

que possui ação acaricida contra várias parasitoses, o que sugere o uso potencial deste óleo para esta finalidade (SILVA *et al.*, 2009), portanto, pode apresentar interesse para a farmacêutica tradicional. No presente trabalho, obteve-se uma ação carrapaticida com este componente no controle do carrapato bovino *R. microplus*. Já em um trabalho recente no município de Olinda – PE (NEVES *et al.*, 2009), relataram que o óleo essencial das fohas de *C. zeylanicum* contendo como componente majoritário o benzoato de benzila (64,4%), obteve uma ação acaricida contra o ácaro rajado (*Tetranychus urticae*). *C. zeylanicum* contendo elevada porcentagem de benzoato de benzila (65,4%) no óleo das folhas foram coletadas no Vale de Brahmaputra, Índia (NATH *et al.*, 1996). No entanto, embora esse tipo de óleo de folhas contendo benzoato de benzila tenha sido relatado anteriormente, a sua ocorrência como um componente principal é pouco conhecida. Glichitch, citado por (GUENTHER, 1950) observou, baseado em investigação de amostras de diferentes origens, que óleos com baixos teores de eugenol continham, em geral, quantidades relativamente grandes de benzoato de benzila e de ésteres cinamílicos, como é o caso do exemplar estudado e também os exemplares estudados por (NATH *et al.*, 1996 e NEVES *et al.*, 2009), onde valores surpreendentemente altos de benzoato de benzila são encontrados para o óleo essencial de folhas de *C. zeylanicum*.

5.3 Avaliação da atividade larvicida

No teste com óleo essencial de *C. zeylanicum* foi observado que nas concentrações de 50, 25, 10, 5 e 1 mg.mL⁻¹ a taxa de mortalidade das larvas foi de 100%, 99,8%, 99%, 98,9% e 41,1%, respectivamente (tabela 5). Diante deste resultado, o intervalo testado foi reduzido para concentrações abaixo de 1mg.mL⁻¹, onde constatou-se que o óleo não demonstrou uma boa eficiência sobre larvas de *R. microplus*. Já para o padrão de benzoato de benzila, componente majoritário do óleo essencial, a atividade larvicida foi testada nas seguintes concentrações 25, 15, 10, 5, 4 mg.mL⁻¹, onde a taxa de mortalidade das larvas foi de 100%, 100%, 100%, 85% e 68,2%, respectivamente (tabela 5). Em concentrações abaixo de 4 mg.mL⁻¹ também constatou-se que o padrão não apresentou resultado satisfatório para larvas de *R. microplus*.

Analisando o óleo e o padrão do seu constituinte majoritário, constatou-se que nas concentrações a partir de 5 mg.mL⁻¹ e 4 mg.mL⁻¹, obteve-se um percentual de mais de 50% para as taxas de mortalidade, apresentando eficiência sobre as larvas de *R. microplus*.

Balbino *et al.*, (2008), reportaram a atividade larvica de óleo essencial de *Piper xylosteoides* rico em safrol, α -pineno, limoneno, aristoleno e zingibereno sobre as larvas de *R. microplus*, constatando que na concentração mais elevada, este óleo chegou a matar 97% do total de larvas do carrapato. No presente estudo o α -pineno apresentou um teor de 3,97%.

A concentração letal para 50% da população foi de 1,005 mg.mL⁻¹ para o óleo de *C. zeylanicum* (tabela 5) e 3,368 mg.mL⁻¹ para o padrão do seu componente majoritário (tabela 5). Comparando-se estas taxas de mortalidades, percebe-se que o óleo essencial das folhas de *C. zeylanicum* demonstrou melhor atividade larvica contra o *R. microplus*, indicando que a mistura de componentes do óleo age de maneira mais eficaz que o padrão isolado, ou seja, isto sugere que os demais constituintes do óleo podem ter interagido de forma sinérgica ou aditiva com o benzoato de benzila, contribuindo para seus efeitos tóxicos. De fato, é frequentemente observado que as complexas composições químicas dos óleos essenciais são mais eficazes do que compostos puros (DON-PEDRO, 1996, MIRESMAILLI *et al.*, 2006, SINGH *et al.*, 2009). Combinações de compostos são em geral mais desejáveis, de vez que não somente o espectro de ação é aumentado, mas também porque várias pragas tornam-se mais suscetíveis a elas (SINGH *et al.*, 2009).

Apel *et al.*, (2009), testaram o óleo essencial das folhas de cinco espécies de *Cunila* em concentrações de 2,5, 5 e 10 μ L.mL⁻¹ ($\approx$ 0,25, 0,5 e 1%). *C. angustifolia* e *C. incana* causaram 100% de mortalidade de larvas de *R. microplus* na concentração mais baixa e *C. spicata*, a uma concentração de 5 μ L.mL⁻¹, *C. incisa* e *C. microcephala* tiveram ação insignificante. Os principais compostos encontrados nestas plantas foram α -pineno, β -pineno, sabineno, mentofurano e 1,8-cineol. Neste estudo também encontrou-se os compostos α -pineno (3,97%), β -pineno (1,51%).

Embora o modo de ação da grande maioria dos óleos essenciais não seja conhecido (KIM *et al.*, 2004), a rápida ação de alguns óleos contra os ácaros é indicativa de uma ação neurotóxica (ISMAN, 2006). A ação do óleo essencial de *C. zeylanicum* poderia estar associada a uma resposta neurotóxica, contudo estudos adicionais são necessários para esclarecer esta hipótese.

Tabela 5. Percentual de mortalidade e CL₅₀ do óleo essencial de *C. zeylanicum* e de Benzoato de Benzila (padrão) para larvas de *R. microplus*.

Amostra		Larvas			
		Mortalidade (%)	CL ₅₀ (mg.mL ⁻¹)	IC 95%	R ²
Óleo essencial de <i>C. zeylanicum</i>	Controle Triton 2%	0,0			
	50 mg.mL ⁻¹	100,0			
	25 mg.mL ⁻¹	99,8			
	10 mg.mL ⁻¹	99,0			
	5 mg.mL ⁻¹	98,9	1,005	0,989-1,021	0,8421
	1 mg.mL ⁻¹	41,1			
	0,95 mg.mL ⁻¹	1,9			
	0,85 mg.mL ⁻¹	1,6			
	0,75 mg.mL ⁻¹	1,1			
	Controle Triton 2%	0,0			
Benzoato de Benzila (padrão)	25 mg.mL ⁻¹	100,0			
	15 mg.mL ⁻¹	100,0			
	10 mg.mL ⁻¹	100,0			
	5 mg.mL ⁻¹	84,9	3,368	3,14-3,60	0,9700
	4 mg.mL ⁻¹	68,1			
	3 mg.mL ⁻¹	36,7			
	2 mg.mL ⁻¹	1,7			
	1 mg.mL ⁻¹	0,0			
	Controle Triton 2%	0,0			

CL₅₀ = Concentração (mg.mL⁻¹), IC = Intervalo de Confiança, R² = Coeficiente de Correlação

5.4 Ação sobre fêmeas ingurgitadas

No que se refere ao teste de imersão de adultos, foi observado que, tanto o óleo essencial como o padrão benzoato de benzila não ocasionaram mortalidade direta nas fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*, mas interferiram no processo de reprodução dos carrapatos, ocasionando diminuição na produção de ovos e diminuição na eclodibilidade e mortalidade das larvas.

De acordo com a tabela 6, observou-se que, conforme as concentrações do óleo essencial e do padrão de benzoato de benzila aumentavam, a oviposição foi reduzindo e a diminuição da eclodibilidade foi se tornando mais acentuada, demonstrando aqui que ambos agiram prioritariamente na eclosão dos ovos e, conseqüentemente, suas eficiências também foram aumentando, portanto, apresentando assim um controle parcial sobre o carrapato bovino.

Assim como no teste de larvas, percebeu-se que o óleo essencial das folhas de *C. zeylanicum* demonstrou ser mais eficiente que o padrão benzoato de benzila contra o *R. microplus*, fator que pode ser atribuído à presença dos componentes minoritários do óleo.

No presente trabalho, assim como descrito por Gazim *et al* (2011), observou-se que os óleos essenciais de algumas plantas aromáticas podem interferir nos processos reprodutivos dos carrapatos, ocasionando diminuição do número e peso dos ovos, diminuição de eclosão de larvas e mortalidade de larvas.

Não foram encontrados trabalhos na literatura que reportem a atividade carrapaticida de *C. zeylanicum* com o quimiotipo benzoato de benzila, mas são conhecidas atividades acaricida e inseticida dos diversos componentes químicos do óleo essencial das folhas desta planta. Um estudo sobre a relação de monoterpenos estrutura/atividade como acaricida contra *Psoroptes cuniculi* (PERRUCI *et al.*, 1995) mostrou uma alta atividade *in vitro* do linalol e eugenol nessa espécie de ácaro. Em estudos realizados por Yang *et al.* (2005), linalol e acetato de cinamila mostraram atividade inseticida contra *Pediculus humanus capitis*, confirmando assim os relatórios anteriores sobre propriedades inseticidas de acetato de cinamila (CHENG *et al.*, 2004). Recentemente (NEVES *et al.*, 2009) relataram que o óleo das folhas de *C. zeylanicum*, contendo como componentes majoritários benzoato de benzila, E-cariofileno e α -copaeno, exercem ação fumigante contra o ácaro rajado (*Tetranychus urticae*), os quais podem ser usados no controle integrado deste ácaro. Oh *et al.* (2012) demonstraram que o óleo essencial e extratos de *Lindera melissifolia* (Lauraceae), que apresenta frações de β -cariofileno, α -humuleno, germacreno-D e β -elemeno, apresentaram uma repelência significativa em carrapatos e um efeito repelente moderado em mosquitos.

O óleo essencial de *Copaifera reticulata*, a árvore de copaíba, apresenta atividade carrapaticida sobre larvas de *R. microplus* (FERNANDES *et al.*, 2007). Segundo Gazim *et al.* (2011), a planta *Tetradenia riparia* (Lamiaceae) apresenta alta atividade carrapaticida sobre *R. microplus*. Estes autores observaram alta mortalidade de fêmeas ingurgitadas em baixas concentrações do óleo essencial desta planta, redução do número e peso de ovos, diminuição de eclosão de larvas e mortalidade de larvas. Soares (2003) testando *Azadirachta indica* (neem) *in vitro* sobre fêmeas ingurgitadas de *R. (B) microplus* obteve eficácia acima de 95% tanto para solução aquosa quanto para alcoólica. No entanto, testando o *Cymbopogon citratus* (capim cidreira) obteve eficácia de apenas 48%.

Assim como no presente experimento, existem diversos óleos essenciais de várias plantas aromáticas, que em baixas concentrações, não apresentam 100% de eficácia sobre o *R. microplus*, mas poderiam ser utilizados de forma auxiliar no manejo, uma vez que possuem

ação acaricida e apresentam controle parcial do parasita. Portanto, o uso de óleos essenciais é uma interessante opção para diminuir a aplicação de acaricidas químicos, embora geralmente apresentem uma eficácia inferior a estes produtos.

Desse modo, estes resultados indicam que o óleo de *C. zeylanicum* poderia representar uma alternativa possível para o controle do *R. microplus* e incentivar ainda mais estudos para avaliar a sua eficiência também em outros tipos de ácaros.

Estes resultados sugerem que o óleo essencial de *C. zeylanicum* é uma alternativa promissora para o manejo sustentável de carrapatos bovinos, pois a utilização destes compostos tendem a apresentar menor toxicidade aos mamíferos, rápida degradação ao meio ambiente, desenvolvimento lento de resistência, eficácia e segurança para os aplicadores e consumidores. Constata-se, no entanto, a necessidade de se realizar novos estudos para otimizar a aplicação do óleo de *C. zeylanicum* como agente acaricida.

Tabela 6. Eficiência do óleo essencial de *C. zeylanicum* e de Benzoato de Benzila (padrão) no teste de fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*

Amostra		Fêmeas Ingurgitadas			
		IPO	Red. O	Eclodibilidade	EP (%)
Óleo essencial de <i>C. zeylanicum</i>	Controle Triton 2%	53,2		100,0%	
	75 mg/ml	48,0	9,9%	49,6%	55,3
	50 mg/ml	48,4	9,1%	58,5%	46,8
	25 mg/ml	55,4	0,0%	69,9%	27,3
	10 mg/ml	57,6	0,0%	75,5%	18,3
	5 mg/ml	56,2	0,0%	85,0%	10,4
Benzoato de Benzila (padrão)	Controle Triton 2%	62,4		96,0%	
	25 mg/ml	53,7	14,0%	83,8%	24,9
	15 mg/ml	57,5	7,8%	92,8%	10,9
	10 mg/ml	58,1	6,9%	94,0%	8,8
	5 mg/ml	59,0	5,4%	94,8%	6,6
	1 mg/ml	59,4	4,8%	96,3%	4,5

IPO = Índice de Produção de Ovos, Red. O = Redução da Oviposição, EP = Eficiência do Produto

6. CONCLUSÕES

A análise da composição química do óleo essencial por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) permitiu a identificação de monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanóides e ésteres aromáticos, confirmando a diversidade metabólica existente na espécie de *C. zeylanicum*.

O óleo essencial de *C. zeylanicum* mostrou uma composição em que Benzoato de Benzila, Linalol, E-Cinamaldeído, α -Pino e β -Felandreno foram os principais constituintes, onde o Benzoato de Benzila foi caracterizado como quimiotipo.

O presente estudo demonstrou que a espécie *C. zeylanicum* forneceu um óleo essencial cujo rendimento foi de 1,03% (m/m), o qual foi considerado de valor elevado em relação à extração de outros óleos essenciais de plantas aromáticas, e as constantes físicas apresentaram valores semelhantes aos valores obtidos pela literatura e pelo padrão usado para as suas comparações.

A atividade larvívica do óleo essencial das folhas de *C. zeylanicum* contra as larvas de *R. microplus* foi maior que o padrão benzoato de benzila, fator que pode ser atribuído à presença dos componentes minoritários do óleo. Já para o teste de imersão de adultos, observou-se que tanto o óleo essencial como o padrão benzoato de benzila não ocasionaram mortalidade direta nas fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*, mas interferiram no processo de reprodução desses carrapatos, ocasionando diminuição na produção de ovos e diminuição na eclodibilidade e mortalidade das larvas, apresentando assim, controle parcial para o carrapato bovino.

Considerando-se os resultados obtidos, constatou-se que este é o primeiro trabalho que registra a atividade carrapaticida do óleo essencial de *C. zeylanicum* sobre *R. microplus*, configurando-o como uma possível alternativa para produtos convencionais sintéticos, e que podem fazer parte de nova geração de compostos biologicamente ativos com potencial para utilização no controle sustentável de carrapatos bovinos. No entanto, apesar das vantagens da utilização de biocarrapaticidas convencionais, é preciso que se desenvolvam mais pesquisas para comprovar a eficiência destes novos produtos com carrapatos.

REFERÊNCIAS

ABBOTT, W.S. **A method of computing the effectiveness of an insecticide.** Journal of Economic Entomology, 1925; 18 (2): 265-267.

ADAMS, R.P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**, 4th ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation; 2007.

ANDREOTTI, R. **BmTI antigens induce a bovine protective immune response against *Boophilus microplus* tick.** International Immunopharmacology, 2002; vol (2): 557- 563.

APEL, M.A. **Composição química e toxicidade dos óleos essenciais de *Cunila* espécies (Lamiaceae) sobre o carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.** Parasitologia Research, 2009; 105 (3): 863-868,. PMID: 19421776. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-009-1455-4>.

ASSIS, C. P. O. **Toxicidade de óleos essenciais sobre *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) e *Suidasia pontifica* Oudemans (acari: astigmata).** [Dissertação]. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2010.

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

BALBINO, J. M., GOULART, C., DIAS, J., FERRAZ, A. B. F., BORDIGNON, S., POSER, G.V., ZINI, C. A. **Composição química e atividade acaricida do óleo essencial de *Piper xylosteoides* sobre as larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.** Salão de iniciação científica. UFRGS, Porto Alegre. 2008.

BALMÉ, F. **Plantas Medicinais.** São Paulo: Hemus, 1978.

BARBOSA, M. de A. **Avaliação antimicrobiana “in vitro” da *Punica granatum* Linn. frente à *Enterococcus faecalis* isolados clinicamente.** [Monografia]. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, 2010.

BELL, E.A. e CHARLWOOD, B. V. **Secondary Plant Products**. New York: Springer-Verlag, 1980.

BERNARD, T., PERINEAU, F., DELMAS, M., GASSET, A. **Extraction of essential oils by refining of plant materials. II. Processing of products in the dry state: *Illicium verum* Hooker (fruit) and *Cinnamomum zeylanicum* Nees (bark)**. *Flav. Fragr. J.*, 1989; vol (4): 85-90.

BIEGELMEYER, P., NIZOLI, L.Q., CARDOS, F.F., DIONELLO, N.J.L. **Aspectos da resistência de bovinos a carrapatos *Rhipicephalus (boophilus) microplus***. *Arch Zootec*, 2012; 61 (1): 11.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução 104/99, de 26/04/1999. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 14/05/99, 1999.

BRENNA, E., FUGANTI, C., SERRA, S. **Enantio selective perception of chiral odorants**. *Tetrahedron: Asymmetry*. 2003; 14 (1).

BROGLIO-MICHELETTI, S.M.F., NEVES-VALENTE, E.C., SOUZA, L.A., SILVA-DIAS, N., GIRÓN-PÉREZ, K., PRÉDES-TRINDADE, R.C. **Control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) con extractos vegetales**. *Rev Colombiana Entomol*, 2009; vol (135): 145-149.

BUENO, O.C. **Plantas inseticidas no controle de formigas cortadeiras**. *Agroecologia, Botucatu*, 2009; vol (28): 20-22.

BURT, S. **Essential oils: there antibacterial properties and potential applications in foods**. *Int. J.Food Microbiology*. 2004; vol (94): 223.

CAMPOS, R.N.S., BACCI, L., ARAÚJO, A.P.A., BLANK, A.F., ARRIGONI-BLANK, M.F., SANTOS, G.R.A.; RÖNER, M.N.B. **Óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas no controle do carrapato *Rhipicephalus microplus***. *Archivos de zootecnia*. 2012; 61 (8).

CARDONA, E.Z., TORRES, F.R., ECHEVERRI, F.L. **Evaluación *in vitro* de los extractos crudos de sapindus saponaria sobre hembras ingurgitadas de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae)**, Scientia et Technica, 2007; vol (13): 51-55.

CASTRO, R. D. **Atividade antifúngica do óleo essencial *Cinnamomum zeylanicum* Blume(canela) e sua associação com antifúngicos sintéticos sobre espécies de *cândida***. [Tese]. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, 2010.

CHENG, S.S., LIU, J.T., TSAI, K.H., CHEN, W.J., CHANG, S.T.,. **Chemical composition and mosquito larvicidal activity of essential oils from leaves of different *Cinnamomum osmophloeum* provenances**. J. Agric. Food Chem. 2004; 52 (14), 4395–4400.

CLARK, L.G. **Association of pesticide toxicosis with some health factors during the tick eradication program in Puerto Rico**. In: International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics, 1982, Arlington. Proceedings... Edwardsville: Veterinary Medicine Publishing. 1982.

CORAZZA, S. **Aromacologia: uma ciência de muitos cheiros**. São Paulo: SENAC, 2002.

CUNHA, A. P., RIBEIRO, J. A., ROUQUE, O. R. **“Plantas Aromáticas em Portugal – caracterização e utilizações”**. ed. Fundação Calouse Gulbenkian, Lisboa, 2007.

DIAS, V. L. N. **Fitodisponibilidade de metais, caracterização nutricional, constituição química, avaliação da atividade antioxidante e antibacteriana do óleo essencial extraído das folhas da *Cinnamomum zeylanicum* Breyn**. [Dissertação]. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, 2009.

DON-PEDRO, K.N. **Investigation of single and joint fumigant insecticidal action of citrus peel oil components**. Pestic. Sci. 1996 vol (46): 79–84.

DRUMMOND, R.O., ERNST, S.E., TREVINO, J.L., GLADNEY, W.J., GRAHAM, O.H. ***Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus***. Journal of Economic Entomology, 1973; vol(66): 130–133.

FAO, **Ticks and Tickborne Disease Control: A Practical Field Manual**. FAO, Roma, 1984.

FARIAS, N.A.R. **Situación de la resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* en la región sur de Rio Grande Del Sur, Brazil**. In: RESUMOS DO IV SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE PARASITOLOGIA ANIMAL, Mérida, México. 1999. p. 25-30.

FERNADES, F.J., JORGE, I., CALVO, E.V.A., ALEJJO, E., CARBU, M., CAMAFEITA, E., GARRIDO, C., LOPEZ, J.A., JORRIN. J.; CANTORAL, J.M. **Proteomic analysis of phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea* as a potential tool for identifying pathogenicity factors, therapeutic targets and for basic research**. Arch Microbiol, 2007; vol (187): 207-215.

FIGUEIREDO, A.C., BARROSO, J.G., PEDRO, L.G. **Potencialidades e Aplicações Aromáticas e Medicinais**. Curso Teórico-prático, 3ª Ed., Lisboa, Portugal, 2007.

FLETCHMANN, C.H.W. **Ácaros de importância médico veterinária**. 3ª ed. Editora Nobel. São Paulo. Brasil. 1990.

FURLONG, J. **Diagnosis of the susceptibility of the cattle tick *Boophilus microplus* to acaricides in Minas Gerais state, Brazil**. In: IV Seminário Internacional de Parasitologia Animal, Puerto Vallarta, Jalisco, México, 1999.

FURLONG, J. e MARTINS, J.R.S. **Resistência dos carrapatos aos carrapaticidas**. Embrapa Gado de Leite. Juiz de Fora, MG. 2005.

GAZIM, Z.C., DEMARCHI, I.G., LONARDONI, M.V.C., AMORIM, A.C.L., HOVELL, A.M.C., REZENDE, C.M., FERREIRA, G.A., LIMA, E.L., COSMO, F.A.; CORTEZ, D.A.G. **Acaricidal activity of the essential oil from *Tetradenia riparia* (Lamiaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari; Ixodidae)**. Exp Parasitol, 2011; vol (129): 175-180.

GRAF, J.F., GOGOLEWSK, N., LEACH-BING, G.A., SABATINI, M.B., MOLENTO, E.L., ARANTES, G.J. **Tick control: an industry point of view**. Parasitology, 2004; vol (129): 427-442.

GRISI, L., MASSARD, C.L., MOYA-BORJA, G. E., PEREIRA, J. B. **Impacto das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil.** A Hora Veterinária, 2002; 21 (125): 8-10.

GUENTHER, E. **Oil of Cinnamon.** In: **The Essential Oils.** New York: D. Van Nostrand, 1950; vol (4): 213-240.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz.** 4 ed. São Paulo, 2005.

ISMAN, M.B. **Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world.** Annual Review of Entomology, 2006; vol(51): 45-66.

JANTAN, I.B., YEOH, E.L., SURIANI, R., NOORSIHA, A., ABU SAID, A. **A comparative study of the constituents of the essential oils of three *Cinnamomum* species from Malaysia.** J Essent Oil Res. 2003; vol (15): 387–391.

JANTAN, I.B., MOHARAM, B.A., SANTHANAM, J., JAMAL, J.A. **Correlation between chemical composition and antifungal activity of the essential oils of eight *Cinnamomum* species.** Pharmaceutical Biology. 2008; vol (46): 406-412.

JIROVETZ, L., BUCHBAUER, G., RUZICKA, J., SHAFI, M. P., ROSAMMA, M. K. **Analysis of *Cinnamomum zeylanicum* Blume leaf oil from south India.** J. Essent. Oil Res., 13: 442-443, 2001.

KIM, H.K., KIM, J.R.; AHN, Y.J. **Acaricidal activity of cinnamaldehyde and its congeners against *Tyrophagus putrescentiae* (Acari: Acaridae).** J. Stored Prod. Res. 2001; vol (40): 55–63.

KOKETSU, M., GONÇALVES, S.L., GODOY, R.L.O. **The bark and leaf essential oils of cinnamom (*Cinnamomum verum* Presl) grown at Paraná, Brazil.** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 1997; 7 (3): 281-285.

LEITE, R. C. ***Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). Susceptibilidade, uso atual e retrospectivo de carrapaticidas em propriedades das regiões fisiográficas da Baixada do Grande Rio e Rio de Janeiro: uma abordagem epidemiológica.** [Tese]. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1988.

LIMA, M.P., ZOGHBI, M.G.B., ANDRADE, E.H.A., SILVA, T. M.D., FERNANDES, C.S. **Volatile constituents from leaves and branches of *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae).** Acta Amazônica, 2005; 35 (3).

MAIA, J.G.S., ANDRADE, E.H.A., SILVA, J.K.R., LIRA, P.N.B. **Constituintes voláteis de três espécimes de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae).** 47º Congresso Brasileiro de Química, 2007.

MARQUES, C. A.; **Importância econômica da família Lauraceae.** Floresta e Ambiente. 2001; vol (8): 195.

MARTINS, J.R. e FURLONG, J. **Avermectin resistance of the cattle tick *Boophilus microplus* in Brazil.** The Veterinary Record, 2001; 149 (92).

MENDES, M. C., VERÍSSIMO, C. J., KANETO, C. N., PEREIRA, J. R. **Bioassays for measuring the acaricides susceptibility of cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) in São Paulo State, Brazil.** Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, 2001; vol (68): 23-27.

MENDES, M.C. **Resistência do carrapato *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) aos piretróides e organofosforados e o tratamento carrapaticida em pequenas fazendas.** [Tese]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2005.

MENDES, S.S., BONFIM, R.R., JESUS, H.C.R., ALVES, P.B., BLANK, A.F., ESTEVAM, C.S., ANTONIOLLI, A.R. AND THOMAZI, S.M. **Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Lippia gracilis* leaves,** *J Ethnopharmacol*, 2010; vol (129): 391-397.

MIRESMAILLI, S., BRADBURY, R., ISMAN, M.B. **Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants.** Pest Manag. Sci. 2006; vol (62): 366–371.

MOLENTO, M.B. e DIAS, B. **Avaliação da eficácia de produtos carrapaticidas contra o *Boophilus microplus* na região de Umuarama, Paraná.** Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia – UNIPAR, 2000; vol. (3): 231.

MÖLLENBECK, S., KÖNIG, T., SCHREIER, P., SCHWAB, W., RAJAONARIVONY, J., RANARIVELO, L. **Chemical composition and analyses of enantiomers of essential oils from Madagascar.** *Flav. Fragr. J.*, 1997; vol (12): 63-69.

MORSBACH, N., KOKETSU, M., GONÇALVES, S. L., GODOY, R. L.; LOPES, D. **Óleos essenciais de cascas e folhas De canela (*Cinnamomum verum* Presl) cultivada no Paraná.** *Ciências Tecnologia de Alimentos*, 1997; vol. (17).

NATH, S.C., MODON, G., BARUAH, P. **Benzyl benzoate, the major component of the leaf and stem bark oil of *Cinnamomum zeylanicum* Blume.** *J. Essent. Oil. Res.*, 1996; vol (8): 327–328.

NEVES, R. C. S., NEVES, I. A., MORAES, M. M., GOMES, C. A., BOTELHO, P. S., JÚNIOR, C. P. A.; CÂMARA C. A. G. **Atividade acaricida do óleo essencial de *Eugenia uniflora* L. e *Cinnamomum zeylanicum* sobre *Tetranychus urticae*.** 32^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Recife-PE, 2009.

NIST, Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH), **National Institute of Standards and Technology**, Gaithersburg, Md, USA, 2005.

OH, J., BOWLING, J.J., CARROLL, J.F. **Natural product studies of U.S. endangered plants: Volatile components of *Lindera melissifolia* (Lauraceae) repel mosquitoes and ticks.** *Phytochemistry*, 2012; vol (80): 28-36.

OLIVEIRA, D. R., LEITÃO, G. G., SANTOS, S. S., BIZZO, H. R., ALVIANO, D. C. S., ALVIANO, D. S., LEITÃO, S. G. **Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia origanoides* H.B.K.** *J Ethnopharmacol.* 2006; vol (108).

OLIVEIRA, O.R., MENDES, M.C., JENSEN, J.R., VIEIRA-BRESSAN, M.C.R. **Determination of minimum immersion times of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) engorged females for *in vitro* resistance tests with amitraz at 50% effective concentration (EC 50).** *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 2000; 9 (1): 41-43.

PAVIA, D. L., LAMPMAN, G. M., KRIZ, G. S., VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia.** 4 ed. São Paulo, CENGAGE. 2010.

PEREIRA, M.C. *Boophilus microplus* – **Revisão taxonômica e morfo-biológica**. 1^a ed. Químio Divisão Veterinária. São Paulo. 1982.

PEREIRA, M.C.; LABRUNA, M.B.; SZABÓ, M.P E KLAFKE, G.M. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Biologia, Controle e Resistência**. Editora Med Vet. São Paulo. Brasil. 2008.

PERRUCCI, S., MACCHIONI, G., CIONI, P.L., FLAMINI, G., MORELLI, I. **Structure/activity relationship of some natural monoterpenes as acaricides against Psoroptes cuniculi**. J. Nat. Prod. 1995; 8 (58): 1261–1264.

PICHERSKY, E., NOEL, J.P., DUDAREEVA, N. **Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity**. *Science*, 2006; vol (311): 808-811.

PIMENTEL, F.A., CARDOSO, M.G., ZACARONI, L.M., ANDRADE, M.A., GUIMARÃES, L.G..L., SALGADO, A.P.S.P., FREIRE, J.M., MUNIZ, F.R., MORAIS, A.R., NELSON, D.L. **Influência da temperatura de secagem sobre o rendimento e a composição química do óleo essencial de *Tanaecium nocturnum* (barb. Rodr.) bur. e K. Shum**. Química Nova. 2008; 31 (3).

RAO, Y. R., PAUL, S. C., DUTTA, P. K. **Major constituents of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum***. *Indian Perfum.*, 1988; vol (32): 86-89.

RECK JÚNIOR, J.; BERGES, M.; TERRA, R.M.S.; MARKS, F.S.; VAZ JÚNIOR, I.S.; GUIMARAES, J.A.; TERMIGNONI, C. **Systemic alterations of bovine hemostasis due to *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* infestation**. *Res Vet Sci*, 2009; vol (86): 56-62.

REIS, J. B. **Estudo analítico, avaliação da toxicidade e atividade moluscicida do óleo essencial *Cinnamomum Zeylanicum* Blume (canela) frente ao caramujo *biomphalaria glabrata***. [Dissertação]. São Luís: Universidade Federal do Maranhão, 2012.

RIBEIRO, S.S.S.; SANTOS, P.A.D.; SANTOS, G.Q.; MARINHO, R.S.; KORRES, A.M.N. **Ação do extrato aquoso de canela-da-índia (*cinnamomum zeylanicum* Blume)**

sobre *Escherichia coli*. Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil, Caxambu – MG, 2007.

ROEL, A.R. **Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável.** *Interações: Rev Int Desenv Local*, 2001; vol (1): 43-50.

SANTOS, R. I. **Metabolismo básico e origem dos metabolitos secundários.** In: SIMÕES, C. M. **Farmacognosia da planta ao medicamento.** Porto Alegre: UFRGS, 2000. 323- 354p.

SANTURIO, J.M. **Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de Salmonella entérica de origem avívola.** *Ciência Rural*, 2007; 37 (3): 803-808.

SCHIPER, L.P. **Segredos e virtudes das plantas medicinais.** Rio de Janeiro: Reader's Digest Brasil, 1999.

SENANAYAKE, U. M., LEE, T. H., WILLS, R. B. H. **Volatile constituents of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) oils.** *J. Agric. Food Chem.*, 1978; vol (26): 822-824.

SEQUEIRA, T. e AMARANTE, A. **Parasitologia animal.** CD-ROM. São Paulo: Epub, 2002.

SERAFINI, L. A. **Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria.** Caxias do Sul: EDUCS, 2002.

SILVA, J. K. R., SOUSA, P. J. C., ANDRADE, E. H. A., MAIA, J. G. S., *J. Agric. Food Chem.* 2009; vol (55): 9422.

SILVA, M.C.L., SOBRINHO, R.N., LINHARES, G.F.C. **Avaliação *in vitro* da eficácia do clorfenvinfós e da cialotrina sobre o *Boophilus microplus* colhidos em bovinos da bacia leiteira da microrregião de Goiânia, Goiás.** *Ciência Animal Brasileira*, 2000; vol (1): 143–148.

SILVERSTEIN, R. M., WEBSTER F.X., KIEMLE D.J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos.** 7. ed. Rio de Janeiro, Livros Técnicos e Científicos S.A., 2007.

SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G., MELLO, J. C. P., MENTZ, L. A. PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Ed. 6a, Porto Alegre, ED. UFRGS, 2007.

SINDAN. **Sindicato Nacional da Indústria de produtos para Saúde Animal, 2010**. Mercado veterinário por classe terapêutica e espécie animal, 2009. Disponível em: < <http://www.sindan.org.br/sd/sindan/index.html> >. Acesso em: 12 maio 2013.

SINGH, R., KOUL, O., RUP, P.J., JINDAL, J. **Toxicity of some essential oil constituents and their binary mixtures against *Chilo partellus* (Lepidoptera: Pyralidae)**. Int. J. Trop. Insect Sci. 2009; vol (29): 93–101.

SOARES, M. C. S. C. **Avaliação comparativa da eficácia de fitoterápicos e produtos químicos carrapaticidas no controle de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) por meio do biocarrapaticidograma**. [Dissertação]. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2003.

STONE, B.F. e HAYDOCK, K.P. **A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle *B. microplus* (Can.)**. Bull. Entomol. Res. 1962; vol (53): 563–578.

THOMAS, J., GREETHA, K., SHYLARA, K. S. **Studies on leaf oil and quality of *Cinnamomum zeylanicum***. Indian Perfum., 1987; vol (1): 249-251.

TORRES, F. C. **Avaliação da atividade carrapaticida das frações dos óleos essenciais de citronela (*C. winterianus*), alecrim (*R. officinalis*) e aroeira (*S. molle*)**. [Dissertação]. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2010.

VARIYAR, P. S. e BANDYOPADHYAY, C. **On some chemical aspects of *Cinnamomum zeylanicum***. PAFAI J., 1989; vol(10): 35-38.

WERFF, H.W. e RICHTER, H. G. **Toward and improved classification of Lauraceae**. Annals of the Missouri Botanical Garden, 1996; vol (8): 419 – 432.

WIJESEKERA, R.O.B. **The Chemistry and Technology of Cinnamon**. CRC Critical Review in Food Science and Nutrition, 1978; vol (10): 1–30.

WIJESEKERA, R.O.B., JAYEWARDENE, A.L., RAJAPAKSE, L.S. **Volatile constituents of leaf, stem and root oils of cinnamon (*C. zeylanicum*)**. *J. Sci. Food Agric.*, 1974; vol (5): 1211–1220.

YANG, Y.C., LEE, H.S., LEE, S.H., CLARK, J.M., AHN, Y.J. **Ovicidal and adulticidal activities of *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil compounds and related compounds against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae)**. *Int. J. Parasitol.* Sept., 2005; vol (23).

YUNES, R.A. e FILHO, V.C. **Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 2.ed.-Itajaí, 2009.