



UNIVERSIDADE FEDERAL DO NORTE DO TOCANTINS-UFNT  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ARAGUAÍNA  
CURSO DE GRADUAÇÃO LICENCIATURA EM QUÍMICA

**ELDER SILVA PAZ MONTEIRO**

**ESTUDO E ANÁLISE DOS VOLÁTEIS DAS FOLHAS DE NIM POR  
CLEVINGER E CG-EM**

**ARAGUAÍNA-TO**

**2023**


**ELDER SILVA PAZ MONTEIRO**

**ESTUDO E ANÁLISE DOS VOLÁTEIS DAS FOLHAS DE NIM POR  
CLEVENGER E CG-EM**

Monografia apresentada à UFNT-  
Universidade Federal do Norte do  
Tocantins - campus universitário de  
Araguaína para a obtenção do título de  
graduado em Licenciatura em Química sob  
orientação da Professora Doutora Flamys  
Lena do Nascimento Silva


Aprovado em: 05/12/2023

Banca examinadora:

Documento assinado digitalmente  
 **FLAMYS LENA DO NASCIMENTO SILVA**  
Data: 19/12/2023 11:42:43-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


---

Orientador: Profa. Dra. Flamys Lena do Nascimento Silva  
Universidade Federal do Norte do Tocantins

Documento assinado digitalmente  
 **DANIEL BARBOSA ALCANTARA**  
Data: 19/12/2023 12:56:43-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Dr. Daniel Barbosa Alcântara  
Universidade Federal do Norte do Tocantins

Documento assinado digitalmente  
 **MARCOS WILSON VICENTE DE ASSIS**  
Data: 19/12/2023 13:58:02-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Marcos Wilson Vicente de Assis  
Universidade Federal do Norte do Tocantins

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

S586e Silva Paz Monteiro, Elder.  
ESTUDO E ANÁLISE DOS VOLÁTEIS DAS FOLHAS DE NIM POR  
CLEVINGER E CG-EM. / Elder Silva Paz Monteiro. – Araguaína, TO, 2023.  
47 f.

Monografia Graduação - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus  
Universitário de Araguaína - Curso de Química, 2023.

Orientadora : Flamys Lena do Nascimento Silva

1. Neem. 2. Clevenger. 3. HS-MEFS/CG-EM. 4. Voláteis. I. Título

**CDD 540**

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer  
forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte.  
A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184  
do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da  
UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus por me possibilitar a conclusão deste Curso. À minha amada esposa que deu apoio e teve compreensão em todos os momentos nessa caminhada, à minha família por apoiar, ajudar e incentivar a seguir perseverando pelo percurso dessa jornada. Agradeço a Dra. Professora Flamys Lena pela orientação, paciência e incentivo. Aos técnicos Ana Rosa, Gildeth, Gilberto, pelo suporte durante os experimentos, assim como o Dr. Professor Paiva por ensinar e orientar a utilizar os métodos de extração do óleo e o Dr. Professor Niculau pela permissão do uso da fibra MEFS.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química da Azadirachtina .....	9
Figura 2: Extrator tipo Clevenger .....	14
Figura 3: Extrator tipo Soxhlet .....	16
Figura 4: CO <sub>2</sub> Supercrítico .....	17
Figura 5: Nim no campus Cimba – Araguaína -TO .....	19
Figura 6: Folhas de nim selecionadas.....	20
Figura 7: Mensuração da folha de nim.....	20
Figura 8: Processo de filtração.....	21
Figura 9: Extração dos voláteis por HS-MEFS .....	22
Figura 10: Injeção manual da amostra com a fibra MEFS no CG-EM.....	23
Figura 11: Estrutura do composto acetato de etila .....	26
Figura 12: Estrutura do composto n-Hexano.....	27

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Relação dos compostos voláteis detectados por CG-EM.....	27
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
°C	Graus Celsius
Cm	Centímetro
HP-5MS	5%-phenyl–methylpolysiloxane
HS	Headspace
IDE	Identificado
IRL	Índice de Retenção Linear
OE	Óleo Essencial
MEFS	Microextração de fase sólida
µm	Micrômetro
mL	Militros
m/z	Massa Carga
NIST	National Institute of Standards and Technology
P. A	Para Análise
µL	Microlitro
UFNT	Universidade Federal do Norte do Tocantins
UV	Ultravioleta
V/V	Volume/Volume
Tr	Tempo de Retenção

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	5
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	7
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	8
3.1 Química do nim.....	8
3.1.1 O nim como bioprotetor natural.....	8
3.1.2 O princípio ativo do nim .....	9
3.1.3 A composição volátil das folhas de nim .....	10
3.2 Aplicação da cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM)	11
3.3 Tipos de extratores .....	12
3.3.1 Extrator tipo Clevenger.....	14
3.3.2 Extrator tipo Soxhlet.....	15
3.3.3 Extração com CO <sub>2</sub> supercrítico.....	16
3.4 Contexto econômico e biológico .....	17
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	19
4.1 Amostragem.....	19
4.2 Extração do óleo.....	19
4.4 Determinação de índice de Kovats.....	24
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	25
5.1 Rendimento do óleo de nim .....	25
5.2 Análise de substâncias voláteis por CG-EM.....	25
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	31
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	32



## RESUMO

A árvore nim (*Azadirachtina indica* A. Juss) é popularmente conhecida por suas propriedades medicinais, terapêuticas, farmacológicas, biocontroladora, antisséptica, cicatrizante e imunostimulante, devido a presença de compostos orgânicos pertencentes à várias classes químicas com atividades biológicas. Devido a estes atributos, o nim possui grande potencial econômico e tem sido utilizada em todo o mundo. No presente trabalho, realizou-se a extração e caracterização química do óleo das folhas de nim coletadas na Universidade Federal do Norte do Tocantins (UFNT), Campus Cimba, localizada em Araguaína, Tocantins. Para extração do óleo foi empregado o sistema *Clevenger*, já para a concentração e caracterização dos voláteis utilizou-se o método HS-MEFS/CG-EM. O rendimento médio obtido do óleo foi de 0,3 g. Comparando-se com do óleo de sementes de nim este rendimento é inferior, entretanto para as análises realizadas foi satisfatória. Um total de 52 compostos voláteis foram detectados, sendo que destes, cinco tiveram sua identificação confirmadas pelo índice de Kovats: acetato de etila, 96,3 %; (E)-1(Prop-1-eno-1-il) -3-propiltrisufano, 76,6 %; n-hexano, 62,7 %; 2,4-hexenol Z, 68,9 %; 2-metil, 2-ciclopenteno 6 %. Alguns voláteis tiveram suas bioatividades reportadas e correspondem com os benefícios conhecidos do nim. Desse modo, considera-se esses constituintes químicos parte do efeito sinérgico da planta.

**Palavras-chaves:** *Neem. Clevenger. HS-MEFS/CG-EM.*

## ABSTRACT

The neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) is mainly recognized for its therapeutic, pesticide, fertilizer and pharmacological chemical properties, because of its abundance of organic compounds belonging to various chemical classes with biological activities. Due to these attributes, this neem plant has great economic potential and continues to be used worldwide. In the present work, the extraction and chemical characterization of oil from neem leaves collected at the Universidade Federal Norte do Tocantins (UFNT) campus Cimba, located in Araguaína, Tocantins, was carried out. For oil extraction, the Clevenger system was used, while for the extraction and characterization of volatiles, the HS-MEFSCG-EM method was used. The average yield obtained from the oil was 0.3g of neem essential oil. Compared to neem seed oil, this yield is lower, however for the analyzes carried out it was satisfactory. A total of 52 volatile compounds were detected, of which 5 were identified by Kovats index: ethyl acetate, 96.3%; (E)-1(prop-1-em-1-yl) -3-propyltrisufane, 76.6%; n-hexano, 62.7%; 2,4-hexenol, Z, 68.9%; 2-Cyclopenten-one, 2-methyl, 60.%. Some volatiles have had their bioactivities reported and correspond with the known benefits of neem. Thus, these chemical constituents are considered part of the synergistic effect on the plant.

**Keywords:** Neem. Clevenger. HS-MEFS/CG-EM.

## 1 INTRODUÇÃO

O Nim (*Azadirachtina indica* A. Juss), é uma árvore nativa da Índia e Mianmar, país asiático, introduzida no Brasil a vinte e cinco anos (Neves *et al.*, 2009). O nim tem um crescimento rápido, tronco reto e resistente, galhas bastante espalhadas e que podem alcançar entre 10 a 25 m de altura dependendo do tipo de solo e das condições climáticas favoráveis no desenvolvimento da planta (Neves *et al.*, 2009). Segundo Neves *et al.*, 2003, com aproximadamente um ano de idade, a planta pode atingir 1,5 m de comprimento, já com cerca de 5 anos atinge 8 m de altura e um sistema radicular com 15 m de profundidade.

Sua madeira é avermelhada, dura e resistente e suas folhas verde-escuras são compostas e sem folíolo terminal, com regularidade aglomerada nas suas extremidades dos ramos simples e sem estípulas. Já as flores apresentam coloração branca e aromáticas, formam um tubo por união feitas pelos filamentos actinomórficas, pentâmeras e hermafroditas. O fruto, uma baga ovalada que varia entre 1,5 a 2,0 cm de comprimento, quando maduro, apresenta uma polpa amarelada e casca branca dura englobando um óleo marrom no interior de sua semente com raramente duas sementes (Neves, et al 2003).

O nim se tornou o ponto central de interesse da comunidade científica. A planta vem interessando cientistas de várias áreas, ao passo que seus biocompostos encontram uso na agricultura, pecuária e medicina. Os compostos extraídos do nim se mostram seletivos, não mutagênicos, rapidamente biodegradáveis, baixa toxicidade para organismos não alvo e benéficos, com mínimo distúrbio à natureza (Forim, 2006). Além disso, outras utilidades estão sendo estudadas para comprovar que os constituintes presentes em seus compostos são alternativos na medicina moderna para o tratamento de diversas infecções metabólicas ou doenças de câncer a partir de extratos metanólicos das folhas dessa planta (Schumacher, 2011). Os fitoquímicos contidos na *Azadirachtina indica* (nim) possuem atividades antimicrobiana contra diversos organismos patogênicos (Raut et al., 2014, Koona; Budida, 2011).

Timothy et al. (2011) observaram a presença de vários fitoquímicos, incluindo flavonóides, açúcares e terpenóides no extrato etanólico de nim. O extrato metanólico desta planta contém vários fitoquímicos, incluindo fenólicos, antroquinonas, flavonóides e taninos (Malar et al., 2020).

O extrato das folhas de *Azadirachtina indica* é uma importante fonte de compostos com propriedades antimicrobiana, antioxidante, antitumoral, antimalárico, antifúngico, anti-inflamatório e antivirais. Os resultados indicam que o uso das folhas de nim tem um efeito útil

no controle de microrganismos patogênicos e, portanto, poderá ser utilizada em formulações terapêuticas em um futuro próximo (Raut et al., 2014). O óleo de nim é o extrato mais importante da árvore, e bastante utilizado em todo o mundo para atividades de controle de pragas (Benelli e Pavela, 2018).

Nesse sentido, estudos recentes indicam que os extratos de nim indiano também apresentam potencial atividade antiviral, além disso, é estudado como alternativa de tratamento de sintomas clínicos relacionados à Covid-19, podendo agregar valor ao desenvolvimento de novos tratamentos contra a SARS-CoV-2 (Roy & Bhattacharyya, 2020; Da Silva Neto et al., 2021). Desse modo, dada a dimensão da existência e utilização importante destes compostos, o presente trabalho tem por objetivo, estudo e análise dos voláteis das folhas de nim por clevenger e CG-EM por meio do sistema Clevenger, a caracterização do perfil dos compostos voláteis por microextração em fase sólida modo *headspace* (HS), seguida de análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (HS-MEFS/CG-EM). Ademais, realizou-se a problematização do impacto do nim no contexto econômico e biológico.

## 2 OBJETIVOS

### Objetivo geral

- Estudar e analisar os compostos voláteis das folhas de nim (*Azadirachtina indica*).

### Objetivos específicos

- Extrair o óleo de folha de nim utilizando o sistema Clevenger com solvente hexano;
- Detectar os compostos voláteis do óleo de nim por CG-EM;
- Caracterizar e refletir sobre o contexto econômico e biológico da (*Azadirachtina indica*.)

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Química do nim

Tem-se observado um crescimento no número de estudos e trabalhos científicos relacionados a correlação química inseto-planta, empregando metabólitos secundários ou aleloquímicos de vegetais objetivando o controle de pragas (Harbone, 1982).

Nesse sentido, destaca-se que o princípio ativo dos inseticidas botânicos é composto decorrente do metabolismo secundário dos vegetais, sendo aglomerado em poucas quantidades nos tecidos vegetais (Yoshida e Toscano, 1994; Hare e Morse, 1997; Zang et al., 1997). A defesa direta inclui as substâncias como fitoquímicos, enzimas e proteínas, além de órgãos como tricomas e espinhos que afetam diretamente a capacidade desenvolvimento de insetos. Substâncias liberadas de plantas que atraem insetos herbívoros parasitas e predadores estão envolvidas na defesa indireta. Terpenos e fenilpropanóides voláteis sintetizados por espécies vegetais podem apresentar propriedades atrativas (nutrição, polinização) e/ou repelentes e pesticidas, dependendo do inseto em estudo (Simas et al., 2004).

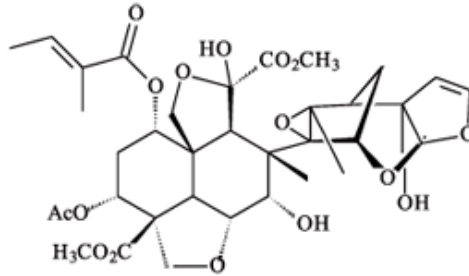
De forma geral, os efeitos do nim podem estar relacionados a metabólitos secundários, presentes nas sementes, folhas, casca, flores e frutos como, por exemplo, flavonoides, saponinas, taninos, alcaloides e antraquinonas, o que colabora com o interesse de serem continuamente investigados, a finalidade de identificar e conhecer suas propriedades medicinais e toxicológicas (Dash; Dixit; Sahoo, 2017). Algumas substâncias do óleo do nim já foram isoladas como: neemola ( $C_{15}H_{30}O_3S$ ); margosin ( $C_{28}H_{48}O_{10}$ ), um glicosídeo; ácido palmítico; ácido oléico, ácido totradecoico. Também do óleo do nim foram isolados os princípios ativos: nimbim (0,1%), nimbinim (0,01%) e nimbidim (1,1%) (Neves et al., 2003). Das flores do nim foram isolados Na, K, Ca, Fe, Cl,  $CO_2$ ,  $SO_4^{2-}$  e  $SiO_2$  além de nimbosterol ( $C_{20}H_{34}O$ ) (0,03%), glicosídeo nimbosterim (0,005%), flavonóide nimbicetim ( $C_{15}H_6O_2(OH)_4$ ) (0,05%) e sesquiterpenos (0,5%) (Neves et al., 2003).

##### 3.1.1 O nim como bioprotetor natural

A molécula bioativa e mais potente do nim chamada *azadirachtina*, ilustrado na figura 1, que atua inibindo o apetite dos insetos, interfere no desenvolvimento larval, retarda o crescimento, reduz a fertilidade do adulto e altera o funcionamento biológico do inseto, pois causa várias anormalidades nas funções fisiológicas das células dos insetos e causa a morte dos

ovos. Devido sua eficácia e baixíssima toxicidade, esta molécula é um excelente repelente natural para uso na medicina veterinária também (Martinez, 2002).

Figura 1: Estrutura da *azadiractina*



Fonte: Autoria própria adaptada

O óleo de nim é caracterizado como uma nova classe de produtos ecologicamente corretos para uso agrícola. Revelou-se completamente livre dos efeitos nocivos em todos os animais de sangue quente, peixes, várias espécies de minhocas e outros organismos do solo (Garcia, 2000). As vantagens no uso do nim estão relacionadas a composição química formada pelos compostos fitoquímicos, antioxidantes, flavonóides e outras substâncias (Gomes et al, 2019).

Logo, os agricultores podem realizar alguns procedimentos no momento do manejo de culturas com o propósito de realizar proteção e fortalecimento das plantas. Esses procedimentos são impedimentos para que insetos, pragas e doenças possam causar prejuízos em suas plantações. Ao recompor o equilíbrio do ecossistema, colaboram para reestruturação da fertilidade do solo, uma vez que não eliminam os microrganismos que são benéficos às lavouras e podem controlar os microrganismos que não são desejados (Ribeiro et al, 2015). Além disso, os biopesticidas podem ter resultados positivos na redução de custos no processo de produção, na prevenção de danos provocados por insetos nas culturas, no meio ambiente e para os consumidores, que por sua vez, não correm riscos de contraírem grãos, hortaliças ou frutas com resíduos intoxicados (Ucr-Ne, 2010).

### 3.1.2 O princípio ativo do nim

Estudos acerca da estrutura da *azadirachtina*, levando em consideração a sua complexidade, prolongaram-se por quase 20 anos. Solúvel em água e álcool, bastante sensível aos raios ultravioleta (UV) e aos meios mais ácidos ou básicos, a *azadirachtina* apresenta acelerada biodegradação, sustentando o impacto antialimentar por cerca de 15 dias. É estruturado por um grupo fechado de isômeros relativos denominados AZ-A até AZ-G. O

isômero AZ-A é o componente considerado mais importante no que concerne à quantidade no extrato de sementes de nim (Neves et al., 2003).

O nim pode proteger contra um grande número de parasitas graças a um grupo de compostos bioativos. Seus principais elementos químicos são misturas de 3 ou 4 compostos relacionados, que podem ser transformados em mais de 20 compostos menores, mas não menos ativos. Em geral, esses compostos pertencem a um grupo de produtos naturais chamados triterpenos, mais especificamente limonóides. Na verdade, foi demonstrado que pelo menos nove variedades de limonóides do nim inibem o crescimento de pragas agrícolas. Destes, o limonóide *azadiractina* ou tetranortriterpenóide é o mais estudado e tem os efeitos mais fortes. Embora os compostos bioativos no nim sejam encontrados em toda a planta, aqueles presentes principalmente nas sementes e folhas são os mais concentrados e acessíveis, facilmente obtidos através de processos de extração com solventes orgânicos como hidrocarbonetos, álcoois, cetonas ou éter (Mossini, Kemmelmeier, 2005).

### 3.1.3 A composição volátil das folhas de nim

O óleo de nim tem característica amarga e isto se dá pela presença dos compostos nimbinin, nimbin, nimbidiol e nimbidin, esse último composto é obtido pelo processo de hidrólise, forma ácida da nimbinin que contém enxofre e é responsável pelo caráter amargo. Os compostos citados são responsáveis pelo aroma, bem como os compostos que são constituídos de enxofre (Chaudhari et al., 2013; Fernandes, 2014; Rukmini, 1987). Conforme menciona Balandrin, Lee e Klocke (1988) os compostos organossulfurados voláteis têm um provável potencial de defesa química contra invasores, desse modo, é usado como bioinseticida, da mesma forma que a folha possui voláteis que permitem usá-la como defensivo contra pragas. Além do mais, atribui-se parcialmente as propriedades de antibiótico e farmacológicas aos voláteis organossulfurados. Rao e Seshadri (1942) escrevem que os trabalhos que tratam sobre a composição de ácidos graxos têm resultados similares, e os ácidos graxos com maior proporção são o ácido linoleico, oleico, palmítico e esteárico.

O ácido linoleico e oleico está entre os essenciais, pois estes não são produzidos pelos humanos, apenas são adquiridos pela alimentação, também são responsáveis pela síntese de biomoléculas que possui funções importantes para o organismo (Berg et al., 2014; Motta, 2011). Os ácidos palmítico, esteárico e oleico são mencionados por Mank e Polonska (2016) por serem utilizados em cosméticos, esses compostos possuem diferentes funções, respectivamente: emulsificante e emoliente; auxilia na restauração da pele e é responsável pelo reparo da barreira



da epiderme e conservar a umidade. A presença de hidrocarbonetos entre os compostos do óleo de nim, como tolueno, dodecano e undecano por exemplo é relatada em diversos trabalhos científicos. O tolueno é um composto que inibe a ação da bactéria *R. solanacearum* (Ebrahimi; Safaralizade; Valizadegan, 2013), outras substâncias como etilbenzeno e 1,3-dimetilbenzeno obtiveram uma excelente atividade antibacteriana e antifúngica (Mohamadpoor et al., 2022; Raza et al., 2016).

O undecano é um volátil detectado no óleo da semente de *Buchanania lanzan* (noz charoli) (Desai et al., 2022) e o composto dodecano no óleo da folha de *Strychnos nux-vomica* (noz-vômica) (Suganthi; Gajendra, 2020), mas nenhum artigo detectou essas substâncias voláteis no óleo de nim. Jishma et al. (2017) detectaram dodecano e undecano em *Pseudomonas spp.* Avaliaram o impacto das substâncias voláteis na promoção do crescimento destas plantas, *Vigna radiata*, os benefícios destas duas substâncias para as plantas são que contribuem para o seu crescimento, criam resistência sistêmica e efeito antibacteriano

### 3.2 Aplicação da cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM)

Esta técnica é utilizada por sua capacidade de analisar várias substâncias (dependendo de propriedades moleculares) de uma amostra complexa, com alto poder de resolução, em concentrações em torno de picogramas e miligramas, sua sensibilidade dá resultados quantitativos (Collins; Braga; Bonato, 2006). A espectrometria de massas (MS) é uma técnica que permite a identificação de compostos previamente separados por cromatografia gasosa e é o resultado da conversão e fragmentação de substâncias da amostra em íons por uma fonte de ionização EM. O analisador seleciona os íons de acordo com sua relação massa-carga ( $m/z$ ). Na etapa final, os íons isolados são detectados e o sistema produz um gráfico contendo a intensidade dos íons versus ( $m/z$ ) (Skoog; Holler; Nieman, 2002). As aplicações dessa técnica são muito amplas, abrangendo os campos da química, farmacologia, medicina e forense, pois tratam de moléculas orgânicas (Pavia et al., 2010).

Utilizando a tecnologia de microextração em fase sólida (MEFS), o processamento da amostra é realizado sem a necessidade de solventes, permitindo a amostragem e extração de pequenas quantidades de material contendo quantidades mínimas de analito de forma simples e em pouco tempo. (Peng et al., 2022). Uma das técnicas utilizadas para extrair voláteis é o sistema *headspace* (HS) com microextração em fase sólida. Nesse sistema, a fibra do suporte fica exposta ao *headspace* da amostra no recipiente fechado e capta os voláteis emitidos pela

amostra. Essa tecnologia protege a coluna de não voláteis, prolonga a vida útil das colunas cromatográficas e elimina a necessidade de etapas de lavagem da matriz (Aulakh et al., 2005; Monteiro, 2012). Com isso, esta técnica HS-MEFS pode ser utilizada com GC-MS, que é amplamente utilizada para a análise de fitoquímicos (Burzynski-Chang et al., 2018). Outro método analítico é a injeção direta de solvente utilizada quando a amostra contém compostos simples e é termicamente estável (Kyle, 2017; Poole, 2021).

Considerando as capacidades analíticas de cada uma das técnicas acima, o método CG-EM é capaz de analisar diferentes compostos voláteis de diferentes classes químicas no óleo de nim tais como alcalóides, terpenos, fenóis, aminas, hidrocarbonetos, flavonoides, ésteres, compostos de enxofre, ácidos graxos e aminas (Perera; Ka-Runaratne; Chinthaka, 2018; TULASHIE et al., 2021). Entre estes, alcaloides, flavonoides, fenóis e terpenos são conhecidos por sua atividade promotora da saúde e biopesticida (Dillard; German, 2000; Egbuna et al., 2018).

Um estudo de Tulashie et al. (2021) para verificar o potencial dos extratos de nim como inseticida natural contra a lagarta-do-cartucho detectou cerca de 34 compostos com maior proporção de compostos voláteis na composição tais como esqualeno (21,6%); oleato de etila (18,99%); octadecanoato de etila (14%) e hexadecanoato de etila (12,9%). Alguns dos voláteis mencionados têm propriedades bem conhecidas. O esqualeno é um agente antitumoral, anticâncer e antioxidante que previne doenças cardiovasculares, reduz os níveis de LDL no sangue e reduz os danos à pele induzidos por UV (Lo-Zano-Grande et al., 2018; Narayan bhilwade et al., 2010). O hexadecanoato de etila atua como antioxidante, anti-hemolítico, hipocolesterolêmico, nematocida e antiandrogênico (Tyagi; Agarwal, 2017). A substância (z)-9,17-octadecadienal tem atividade antibacteriana (Mehranian et al., 2017).

### 3.3 Tipos de extratores

Existem diversas formas de extrair óleos essenciais, que variam dependendo da região onde a planta é encontrada e onde o processo é aplicado. Entre os principais e mais utilizados métodos de extração de óleos essenciais estão: hidrodestilação, extração com solvente orgânico, destilação a vapor, extração com fluido supercrítico, floração, prensagem a frio, entre outros (Moura, et. al., 2019). Os óleos essenciais consistem em uma mistura complexa de substâncias voláteis lipossolúveis, extraídas de diversas plantas, podendo ser extraídos de raízes, rizomas, folhas, flores, caule, casca, frutos e outros, sendo geralmente encontrados em baixas

concentrações em glândulas especiais da planta e é amplamente utilizado em diversos procedimentos terapêuticos (Maldonado, 2022).

Por conseguinte, há uma crescente busca por métodos práticos de extração de óleos vegetais com o objetivo de obter bons rendimentos de óleo. A extração com solvente orgânico é recomendada para uso em amostras derivadas de plantas devido ao seu alto rendimento, simplicidade e capacidade de extrair múltiplos compostos bioativos. Estudos avaliando diversos parâmetros mostraram respostas significativas para o desempenho do processo de extração (Awolu *et al.*, 2013).

O aumento nos custos dos fertilizantes químicos exerce uma exploração natural em busca de melhorar a qualidade das pessoas e do meio ambiente. Um desses recursos é a exploração do nim (*Azadirachtina indica* A. Juss). Os biopesticidas produzidos à base de nim são fáceis de preparar, baixo custo e bastante eficazes e, desse modo, possuem uma importante fonte de biopesticidas para a agricultura nos países do terceiro mundo de economia consideradas pobres (Brahmachari, 2004). O interesse contínuo no investimento em pesquisas técnicas com plantas e métodos de extração padronizados visando o aumento da produtividade do agrotóxico natural padronizado pela agroindústria, e a escala de produção industrial gradativa no Brasil além de contribuir para o aumento da demanda interna na produção de alimentos orgânicos com base no uso de agrotóxicos naturais, o estudo contribuirá para o monitoramento do que é uma tendência mundial de desenvolvimento nesse aspecto (Gomes e Borém, 2015).

Os bioquímicos do nim oferecem proteção a longo prazo às plantas contra pragas, insetos polinizadores, abelhas e outros organismos benéficos não são afetados por biopesticidas à base de nim. O nim tem diversas substâncias bioativas conhecidas como antialérgicas, anti-inflamatórias, inseticidas e tantos outros ingredientes bioativos. Durante a extração, há um gradiente de concentração entre o solvente e o soluto. O período de exposição do material ao solvente ocorre quando o óleo se move até atingir o equilíbrio no gradiente e todo material lipídico que pode ser varrido pelo solvente já está nele (Figueiredo *et al.*, 2015; Rodrigues, 2017). Isso mostra que o tempo e o solvente são os principais fatores relacionados à eficiência da extração.

Tesfaye *et al.*, (2017), na extração do óleo de nim, utilizando Clevenger, usam os solventes orgânicos hexano e etanol, esses solventes possibilitam 60% de óleo extraído, uma quantidade relevante comparando com outros métodos, a exemplo da extração por prensagem mecânica. A mistura de solventes e sua associação com período de extração proporcionou padrões idênticos ao uso de somente um solvente, o que possibilita uma possibilidade eficaz quanto aos custos na extração de óleo essencial. Ademais, por meio dos resultados obtidos de

Ayoola *et al.*, (2014), comprova-se que a eficácia de alguns solventes se encontra limitado pelo tempo que o mesmo é sujeito, dependendo da importância e aplicação dos óleos essenciais, alguns tipos de extratores mais adequados, como Clevenger, Soxhlet e Extração com CO<sub>2</sub> supercrítico, são exemplos dos equipamentos mais utilizados no laboratório, essas técnicas são abordadas a seguir.

### 3.3.1 Extrator tipo Clevenger

Um método bastante utilizado para produção em laboratório e em pequena escala, é usando equipamentos do tipo Clevenger (figura 2). Segundo Biasi e Deschamps (2009), o dispositivo de Clevenger consiste em um balão de vidro de capacidade variável conectado ao condensador por um dispositivo também feito de vidro. A manta de aquecimento conectada à fonte de alimentação está em contato com o bulbo de vidro e a temperatura é controlada pelo termostato. As dimensões do dispositivo de vidro do frasco e do dispositivo Clevenger dependem da densidade do óleo essencial e devem ser consideradas para aumentar a eficiência da extração (Biasi; Deschamps, 2009).

Figura 2- Extrator tipo Clevenger



Fonte: Autoria própria (2023)

Os destiladores de óleo essencial do tipo Clevenger são mais comumente usados em pequena escala para bons resultados, são embutidos no vidro e operam em pequenas quantidades, impossibilitando a produção em massa e longas horas (Braga, 1990 e Cremasco,

2003). Os componentes dos óleos essenciais da planta extraídos entram em contato com a água aquecida, são expostos à pressão de moléculas de vapor que entram em ebulição e são atraídos para o refrigerador pelas moléculas de água. Em seguida, é condensado por um corte de água. Depois o óleo coletado é tratado com sulfato de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4^{2-}$ ) com o intuito de evitar perdas por hidrólise durante o armazenamento dos compostos (Biasi; Deschamps, 2009). Rodrigues *et al.*, (2020) realizaram um trabalho que teve como objetivo avaliar o potencial antimicrobiano do óleo essencial (OE) das folhas de *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf. sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* utilizando o sistema extrator tipo Clevenger.

### 3.3.2 Extrator tipo Soxhlet

Um dos métodos mais antigos conhecidos é baseado em interação entre a planta e um determinado solvente. Para obter óleo é essencial colocar a planta em contato com o solvente à temperatura ambiente. Quando o solvente penetra nos poros da planta, os óleos essenciais são removidos. Este é um método muito comum e como grande vantagem de manter o aroma mais próximo no ambiente origens de flores e plantas e métodos como destilação a vapor. Por outro lado, você precisa ter cuidado nos seguintes casos: seleção de solvente, eficiência de remoção, ponto de ebulição, dentre outros (Biasi; Deschamps, 2009).

Uma maneira de realizar a extração com solvente é por meio do sistema chamado Soxhlet. Silva et al., (2006), afirma que para se realizar a extração por Soxhlet, deve-se inicialmente pesar o material que se deseja extrair o óleo essencial e transferir para um cartucho que será tampado com algodão. Então, quando o cartucho é colocado no extrator e o solvente é aquecido, quando ferve, entra no condensador e retorna à fase líquida. Os métodos de extração variam e podem levar até 6 horas. O extrator Soxhlet (figura 3) utiliza um solvente para sua operação. Esses solventes são preferencialmente apolares, mas atraem outros compostos lipofílicos além dos óleos voláteis (Silva et al., 2005).

Figura 3- Extrator tipo Soxhlet



Fonte: Autoria própria (2023)

O método Soxhlet é considerado o método mais utilizado porque preserva o aroma do material vegetal, é econômico porque é relativamente simples de usar. Entretanto, apresenta limitações relacionadas principalmente à pureza do material resultante, principalmente por extrair outros compostos ao mesmo tempo que o óleo essencial. A extração Soxhlet é a técnica mais eficaz, permitindo obter maiores rendimentos de óleos essenciais (Maldonado, 2022).

### 3.3.3 Extração com CO<sub>2</sub> supercrítico

A extração com fluido supercrítico produz óleo de altíssima pureza, contudo, esta metodologia analítica é bastante cara para ser usada frequentemente. A extração utilizando solvente tem muitas vantagens. Ela dá maior rendimento que a extração mecânica, por exemplo, e tem um custo operacional comparativamente baixo em relação a extração com fluido supercrítico. Por esses motivos incentivaram o desenvolvimento de um mecanismo rápido e sensível para a quantificação de azadiractina (1) e 3-tigloilazadiractol em grãos e óleo de nim plantados no Brasil para controle de qualidade e melhor comercialização de sementes e óleo). Fluidos supercríticos são substâncias que são mantidas acima de sua temperatura e pressão críticas. Ou seja, em temperaturas máximas, você pode converter um gás em líquido aumentando a temperatura e pressão máxima (Araújo, 2008) que pode converter um líquido em gás aumentando a pressão e a temperatura do líquido. (Biasi; Deschamps, 2009).

Filippis et al., (2001) afirma em seu trabalho que os solventes de extração de CO<sub>2</sub> são altamente lipofílicos, e substâncias polares como sais orgânicos e inorgânicos, açúcares,

glicosídeos, aminoácidos, soro fisiológico, taninos e fosfolipídios são completamente como polímeros e proteínas, polissacarídeos e politerpenos. Isso proporciona a vantagem de obter um extrato que é substancialmente livre dessas substâncias e, portanto, fornece seletividade na extração.

Figura 4 – CO<sub>2</sub> Supercrítico



Fonte: <https://www.depamupumps.com/co2-supercritical-for-laboratory>

Fonte: <https://www.depamupumps.com/co2-supercritical-for-laboratory>.

O CO<sub>2</sub> supercrítico, conforme ilustrado na figura 4 é obtido sob condições de alta pressão e alta temperatura de acima de 31°C. Nessas condições, o CO<sub>2</sub> atinge um estado em que sua viscosidade é a de um gás, mas sua solubilidade é a de um líquido (Biasi; Deschamps, 2009). Depois da extração é necessário apenas diminuir a pressão estimulando o CO<sub>2</sub> a retornar ao estado gasoso e seja eliminado (Biasi; Deschamps, 2009).

### 3.4 Contexto econômico e biológico

Matias et al., 2021; Moraes e Marinho-Prado (2016), afirmam que por motivo de preocupação com impactos ambientais e saúde humana provocado por pesticidas sintéticos, os pesticidas vegetais conquistaram espaço como possibilidade de ser alternativa para essa demanda. Além disso, a sociedade está cada vez mais preocupada com a qualidade e segurança dos alimentos, com o objetivo de cuidar e preservar a saúde humana e o meio ambiente, tornando o uso dessas substâncias indesejável pelos consumidores, pois esses compostos podem causar fraqueza, dores abdominais, vômitos, espasmos musculares e convulsões (Rodrigues et al., 2017). A árvore nim é uma referência entre os pesticidas naturais visto que seus

fitoquímicos são naturais. Em meados do século XX foi o biopesticida botânico mais estudado e com maior interesse em pesquisa e comercialização (Isman, 1997), o óleo da folha de nim como biopesticida natural aponta ter um grande potencial para controle de pragas e desenvolvimento sustentável (Gupta, 2022).

Dessa maneira, a maior parte das patentes registradas são para preservação de cultivos indicando que há um aumento no interesse por biopesticida, este segmento cresceu 10 % no mundo (Kumar; Singh, 2015), assim estima-se que o desenvolvimento continuará cerca de 15 % por ano, podendo ultrapassar o crescimento de pesticidas sintéticos (Marrone, 2014). O mercado de pesticida já alcançou o lucro de U\$ 56 bilhões, já o biopesticidas U\$ 3 bilhões (Marrone, 2014), há uma previsão de um aumento de produção de “US\$ 8,82 bilhões nos Estados Unidos até 2022, US\$ 8 bilhões na Europa até 2024 e US\$ 1,363 bilhão na China até 2025” (Azizbekyan, 2019, p. 2). Entre os pesticidas no mercado, os que possuem maior destaque comercial são os que possuem a substância azadiractina na fórmula do produto (Kilani-Morakchi; Morakchi-Goudjil; Sifi, 2021).

No entanto, o mercado de pesticida natural pode enfrentar um grande desafio que é o monopólio das grandes indústrias agroquímicas, pois estas empresas fazem fusões e aquisições com a finalidade de permanecerem firmadas no mercado, desse modo, diminuem a concorrência e oferecem ao mercado soluções mais lucrativas e que não consideram a sustentabilidade econômica (Faber, 2020). Bayer, Basf e Syngenta são multinacionais que investem em soluções biopesticidas, firmando contrato de venda de soluções biológicas com muitos países, criando departamento e realizando aquisições e fusões com outras empresas, assim, validam interesse nesse segmento (Azizbekyan, 2019).



## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Amostragem

Foram coletadas manualmente as folhas das árvores de nim situada no Campus Cimba da Universidade Federal do Norte do Tocantins em Araguaína (figura 5), Av. Paraguai, s/n – Bairro Cimba, Araguaína – TO, no período matutino entre os meses de novembro de 2021 a fevereiro de 2022, (Latitude: -7,18149 S 7°10'53,35212". Longitude: -4,19799 W 48°11'52,77588". Após a coleta, as folhas foram levadas para o Laboratório de Química Orgânica e Química Analítica do curso de licenciatura de química, em seguida selecionadas e pesadas.

Figura 5: nim no campus Cimba – Araguaína -TO



Fonte: Autoria própria (2023)

### 4.2 Extração do óleo

Todo o material coletado (figura 6), para ser utilizado na extração foi selecionado com os seguintes critérios; as folhas verdes em bom estado com cerca de cinco centímetros de comprimento (figura 7) e que não apresentassem características apodrecidas, ressecadas ou amareladas.

Figura 6: folhas de nim selecionadas



Fonte: Autoria própria (2023)

Em seguida, as folhas foram cortadas individualmente e pesadas em uma balança analítica, após a pesagem foram colocadas em um balão de fundo redondo.

Figura 7: mensuração da folha de nim



Fonte: Autoria própria (2023)

O método utilizado para extração do óleo das folhas de nim foi o sistema Clevenger, onde foi utilizado 238 g de folhas do nim pesadas em balança analítica (Modelo AUY220, marca Shimadzu), em seguida as folhas foram introduzidas no balão de fundo redondo do sistema, depois foi adicionado cerca 450 mL de água destilada. Depois de ligar o sistema

Clevenger, adicionou-se 50 mL de solvente Hexano no coletor de óleo para separar a água do óleo essencial, após uma hora, notou-se a primeira gotícula de óleo essencial percorrendo pelo aparelho.

Figura 8: Processo de filtração



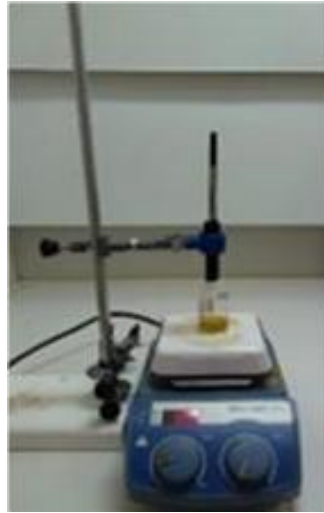
Fonte:Autoria própria (2023)

Depois de duas horas de coleta do óleo, retirou-se a água pela torneira, coletou-se o óleo com o Hexano, adicionou-se cerca de 1g de sulfato de sódio anidro P.A (Para Análise) ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) para retenção de gotículas de água ainda existente, em seguida, filtrou-se para retirada do  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , após a coleta foi direcionado para a capela em um *becker* de vidro de 50 ml (figura 8), aqueceu-se numa manta para a evaporação do hexano, ficando apenas o óleo essencial para, em seguida, ser analisada, o processo demorou cerca de 4 horas, considerando o momento da pesagem das folhas até a retirada do Hexano.

#### 4.3 Análise por microextração em fase sólida do headspace (HS-MEFS/CG-EM)

Para a aplicação do HS-MEFS/GC-MS, a fim de analisar o óleo, pesou-se cerca de 0.3 g do óleo de nim, transferiu-se para um *vial* para *headspace* de 10 mL de vidro transparente de tampa de silicone. Em seguida, posicionou-se o *vial* sobre o agitador magnético (Modelo, IKA C-mag HS 4) por 15 minutos a uma temperatura aproximada de 45 °C monitorada com termômetro infravermelho (modelo ST-600, marca Incoterm).

Figura 9 - Extração dos voláteis por HS-MEFS



Fonte: Autoria própria (2023)

Posteriormente, inseriu-se a agulha do *holder* no *vial*, expondo a fibra MEFS (revertida por filme de carboxen/polidimethylsiloxano) ao *headspace* do *vial* por 15 minutos para capturar os voláteis (Figura 9). Depois, recolheu-se a fibra retirando-se o *holder* do frasco e transferiu-se para o CG-EM para análise dos voláteis (figura 10).

A separação das substâncias voláteis, ocorreu utilizando o cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM *Agilent Technologies 7890B CG system* e o EM 5977B MSD) (figura 10). Anteriormente à realização da corrida cromatográfica, efetuou-se o condicionamento da fibra de MEFS conforme as recomendações contidas no manual. A configuração da corrida cromatográfica foi aplicada conforme a literatura para óleos e alimentos: injetor, 250 °C; temperatura do forno inicial 40 °C, com uma taxa de aumento 4 °C/min até os 220 °C e após 20 °C/min finalizando em 280 °C, a corrida teve com tempo total 50 minutos; a temperatura da fonte de ionização foi 230 °C e quadrupolo 150 °C. O gás de arraste utilizado foi o hélio (99,999 % de pureza) modo de injeção *split* 1:50, injeção manual; a coluna foi do tipo capilar HP-5MS (5 % fenilmetilpolissiloxano) com dimensões 30 m x 25,0 µm x 0.25 µm. A fonte de ionização do espectrômetro de massas emitiu uma energia ionização de 70 eV.

Para a identificação dos compostos utilizou a biblioteca NIST 2014 presente no programa disponibilizado pela Agilent e o NIST Chemistry Book on the Web, a confirmação foi dada por cálculo e confirmação por referência do índice de Kovats.

Figura 10 - Injeção manual da amostra com a fibra MEFS no CG-EM



Fonte: Autoria própria (2023)

A análise o óleo também foi realizado por de injeção direta em solvente, diluiu-se o óleo na razão 1/100 em hexano (V/V) utilizando-se de uma micropipeta 10-100 µL e 100-1000 µL. A injeção ocorreu no modo *split* 1:50, e cerca de 1 µL da amostra foi injetada no modo

automático utilizando uma seringa de vidro de 10 µL. As condições cromatográficas empregadas foram aplicadas conforme o trabalho de Hossain *et al.*, 2013.

A temperatura inicial do forno foi 45 °C, permanecendo por 3 minutos, com taxa de aquecimento 3 ° C/minuto, até o aquecimento de 150 °C com variação de 20 °C/minutos finalizando em 250 °C, o tempo de análise com duração de 48 minutos. A temperatura do injetor, 155 °C e fonte de ionização 230 °C e quadrupolo 150 °C. Utilizando o espectro de massas a energia de ionização foi de 70 °C utilizado no sistema de ionização de elétrons.

#### 4.4 Determinação de índice de Kovats

Foi utilizada uma mistura de padrão de n-alcano (C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub>) para determinar o índice de *Kovats* de cada composto detectado na análise dos óleos, por meio dos tempos de retenção dos n-alcenos, dos compostos e comparando os resultados da literatura que tinham fase estacionária da coluna capilar similar. Os critérios das corridas cromatográficas utilizados foram os mesmos das análises dos óleos, à exceção para injeção da fibra MEFS, que, nesse caso, ocorreu no modo automático. O Cálculo do índice de *Kovats* foi realizado aplicando a Equação (1):

$$IK = \frac{trX - trN}{trN + 1 - trN} \times 100 \quad n \quad \text{Equação (1)}$$

Onde:

IK: Índice de *Kovats*;

trX: Tempo de retenção do composto estudado;

trN: Tempo de retenção do alceno N com o valor tempo de retenção (tr) anterior ao do trX;

trN+1: Tempo de retenção do alceno N com o valor tempo de retenção (tr) posterior ao do trX; e

n: número de átomos de carbono do alceno N com tr anterior ao trX.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Rendimento do óleo de nim

Realizou-se a extração do óleo de nim através do sistema Clevenger obtidas na UFNT unidade Cimba em Araguaína-Tocantins, a média dos rendimentos foi de 0,03 %. O trabalho de extração do óleo das sementes de nim utilizando o sistema Soxhlet, obteve rendimento de 23,73 %, resultado superior ao de nosso trabalho (Simyão M. C. 2023).

Entretanto, houve alguns desafios durante a amostragem, dentre eles a coleta das folhas de nim devido à altura dos galhos das árvores e para isto, foi utilizada uma escada e um dispositivo de corte para coletar as folhas inteiras dos galhos mais altos, pois há uma seletividade para obter maior êxito na extração. Na etapa de extração do óleo de nim pelo sistema Clevenger o maior desafio foi o adicionamento e principalmente as retiradas das folhas do balão após a extração, pois a espessura do gargalo é muito estreita.

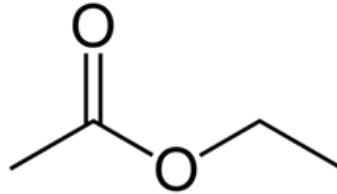
O baixo rendimento do óleo pode estar relacionado as condições do ambiente de desenvolvimento da árvore, bem como o clima, precipitação de chuva, características do solo; genótipo; condições de coleta e armazenamento do material vegetal (Fernandes et al., 2019; Neves; Carpanezzi, 2008; Saha Tchinda et al., 2021). Consequentemente, essas variáveis impactaram no resultado do rendimento da extração do óleo das folhas de nim.

### 5.2 Análise de substâncias voláteis por CG-EM

No trabalho de análise das substâncias voláteis por CG-EM levando em conta o óleo de nim, detectou-se 52 compostos, dentre eles os que obtiveram maior área percentual relativa foram, na injeção direta, sendo eles: acetato de etila, 96,3 %; (E)-1(Propenil) -3-propiltrisulfano, 76,6 %; n-Hexano, 62,70 %; 2,4-Hexeno-1-ol, Z, 68,9 %; 2-Ciclopenteno- 1-one, 2-metil, 60 %.

O acetato de etila, por exemplo, cuja estrutura é mostrada na figura 11, é um solvente orgânico usado como reagente em reações de síntese orgânica, para extração e purificação de produtos orgânico e em técnicas analíticas de separação, como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). É de grande importância na indústria química devido às suas versáteis propriedades químicas.

Figura 11 – Estrutura do composto acetato de etila.



Fonte: A autoria própria (2023)

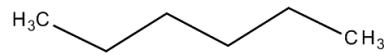
EtOAc é um éster líquido em temperatura ambiente, incolor, volátil, com odor frutado característico, moderadamente polar e não higroscópico, e instável na presença de bases fortes e ácidos aquosos, tem a fórmula molecular  $C_4H_8O_2$ , peso molecular 88,10 g/mol, ponto de ebulição  $77\text{ }^\circ\text{C}$ , ponto de fusão  $-83\text{ }^\circ\text{C}$ , densidade relativa a  $25\text{ }^\circ\text{C}$  0,898 g/cm. O acetato de etila também conhecido como acetato de etila é parcialmente solúvel em água e na maioria dos solventes orgânicos, como etanol, acetona, éter e clorofórmio (De lucas chazin 2012). Sua toxicidade pode variar de baixa a moderada, e o contato com os olhos pode provocar irritação, lacrimejamento, vermelhidão e dor. Devido a sua ocorrência natural em várias plantas, é utilizado como flavorizante na indústria de alimentos e, como aromatizante, na indústria de cosméticos (De lucas chazin 2012).

Quando em contato com a pele o EtOAc pode ressecá-la e levar ao seu desengorduramento, provocando, assim, erupções cutâneas, rachaduras e dermatites, e facilitando o desenvolvimento de infecções secundárias. Este solvente pode ser absorvido através da pele, se inalado pode causar irritação do nariz e garganta, tosse, tontura e dor de cabeça. Exposição a altas concentrações pode resultar em dor de cabeça, náuseas, perda de apetite e sonolência. A ingestão pode provocar irritação do trato digestivo superior, náuseas, vômitos, dor abdominal, diarreia, tonturas e sonolência. A aspiração pode resultar em pneumonia química e edema pulmonar (Lucas Chazin, 2012).

No que diz respeito ao n-hexano um hidrocarboneto volátil e combustível, incompatível com agentes oxidantes fortes (Windholz et al., 1983) sendo um dos principais componentes do éter de petróleo. Ele é muito empregado em separações cromatográfica em fase normal e na purificação de extratos vegetais para extração de compostos lipofílicos, como lipídios, ceras, esteroides, ácidos graxos, dentre outros.



Figura 12: Estrutura do composto n-Hexano



Fonte: A autoria própria (2023)

Este composto é amplamente utilizado pela indústria química em seu estado puro comercial, encontrado em uma variedade de produtos, ou seja, adesivos, tintas, vernizes, produtos de revestimento, cimento e em outro tipo de indústria, como a de calçados ou de petróleo (Fedtke & Bolt, 1987). No entanto, não foi encontrado trabalho referente a aplicação do n-Hexano como inseticida, herbicida no âmbito da agricultura, hortaliças ou pecuária. Por outro lado, é usado na indústria de calçados porque é um dos ingredientes de alguns materiais como a cola, a tinta e produtos de limpeza.

No que se refere à indústria petrolífera o n-hexano está presente na composição do petróleo bruto e do gás natural em medidas diferentes. Após o processamento das matérias primas e extração do produto final, supõe-se que o n-hexano encontra-se presente em gasóleo/gasolina sem chumbo (11,6%) e no combustível designado à aviação (2%). Posto que este tipo de materiais é usado no dia a dia e em grande proporção, a população de modo geral está sujeita à exposição a este produto por meio da inalação devido a poluição (Brugnone et al., 1991). A Tabela 1 estão listados os 52 compostos voláteis detectadas.

Tabela 1 - Lista de compostos voláteis detectados por CG-EM no óleo da folha do nim.

Composto	Fórmula molecular	Tr (min)	IRL Nist	Área (%)	IDE
Dimetil diazeno	$C_2H_6N_2$	2,24	*	15,30	*
n-Hexano	$C_6H_{14}$	2,71	629	62,70	1
Acetato de etila	$C_4H_8O_2$	2,85	106	96,30	1
1,3 Ciclopentandieno	$C_5H_6$	3,12	*	20,00	*
1,3,5 Hexatrieno	$C_6H_8$	3,47	*	18,00	*
2,5-Dimetilfurano	$C_6H_8O$	4,03	*	15,90	*
2,4- Dimetilfurano	$C_6H_8O$	4,14	*	13,60	*
6-Hidroxi 2-Hexanona	$C_6H_{12}O_2$	5,5	795	0,49	1

2,4-Hexadienol	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	5,63	*	0,17	*
2- Metil 2-Pentenol	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	5,95	*	0,17	*
4-Metil 3-Pentenol	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	6,7	*	0,13	*
3-Hexeno-2,5-diol	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	7,7	*	0,35	*
2,4-Hexadienol	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	8,1	678	0,59	
3-Metil 4-Pentenol	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	9,1	*	0,09	*
2-Etil 2-Butenal	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O	9,63	*	0,19	*
2-metil 2-Ciclopentana	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O	10,25	914	0,60	
3,6-Dimetil, Octan-2-one	C <sub>10</sub> H <sub>22</sub>	11,14	*	0,09	*
1,2-Epoxi, Ciclooctano	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O	12,31	*	0,05	*
1-(Ciclopropil-nitro-metil) ciclopropanol	C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	12,48	*	0,13	*
1-Metilpentil hidroperóxido,	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	12,61	*	0,37	*
6-Metil-biciclo [4.2.0] octan-7-ol	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O	12,94	*	0,07	*
5,7-Dimetil-1,6-octadieno	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub>	13,1	*	6.21%	*
Ester undec-2-enil do ácido tricloro acético	C <sub>13</sub> H <sub>21</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	13,31	*	0,13	*
2 Metileno, olestan-3-ol,	C <sub>27</sub> H <sub>48</sub> O	13,65	*	0,05	*
Acetato, 9-Tetradecenol, (E)	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	14,75	*	0,05	*
4-Cloro-3-n-butiltetrahidropirano	C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> ClO	15,4	893	0,19	
2-Heptanona	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O	17,55	*	0,06	*
7-Hexadecenal, (Z)	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O	19,5	*	0,49	*
2-Hexil-ácido ciclopropanoacetico	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	19,71	*	5,63%	*
1,2,3,4-Tetrametil benzeno	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	20,2	*	0,16	*
1-Etil-2,3-dimetil benzeno	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	20,4	*	0,18	*
4-Etil-1,2-dimetil benzeno	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	21,2	*	0,08	*
Isopulegol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	22,07	*	0,06	*
O-decil hidroxilamina	C <sub>10</sub> H <sub>23</sub> NO	24,3	*	7.74%	*
Ácido eicosatrienoico	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	26,6	*	0,08	*
9,12- Cloreto de Octadecadienoila	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	29,8	*	0,31	*
2,4-Dodecadienal	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O	30,1	*	0,13	*
(E)-1(Prop-1-en-1-il)-3-propiltrisufano	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> S <sub>3</sub>	30,38	*	0,06	*
2 Metileno ciclopentanopropanol	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub>	32,64	*	0,34	*
Acetato de etilpentil	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	33,74	*	0,12	*

2 Etil, 3 metoximetoxi, 1 noneno	$C_{13}H_{26}O_2$	34,28	*	0,11	*
Ester metílico do ácido metoxi, 3 metil, 2 butenóico	$C_6H_{10}O_2$	34,4	*	0,09	*
$\gamma$ -Elemeno	$C_{15}H_{24}$	34,71	*	0,09	*
1 Noneno, 2 etil 3 metoximetoxi	$C_{13}H_{26}O_2$	35,4	*	0,11	*
Ester metílico do ácido eicosatrienoico	$C_{21}H_{34}O_2$	36,9	*	0,07	*
Beta Guaieno	$C_{15}H_{24}$	37,8	*	0,16	*
Colestano 3-ol, 2-metileno, 3 $\beta$ 5 $\alpha$	$C_{27}H_{48}O$	38,27	*	0,32	*
3,7(11) - Dieno selina	$C_{15}H_{24}$	39,16	*	0,06	*
$\beta$ ) Guaiene	$C_{15}H_{24}$	45,32	*	0,21	*
4.4-Dimetil-3(3-metilbut-3-enilideno)	$C_{15}H_{22}$	45,71	*	0,11	*
$\alpha$ -Vetivol	$C_{15}H_{24}O$	46,5	*	0,11	*
Etil iso allocholate	$C_{26}H_{44}O_5$	47,8	*	0,11	*

Tentativa de identificação \*

(IDE) Identificado <sup>1</sup>

IRL: Índice de Retenção Linear

Tr: Tempo de Retenção

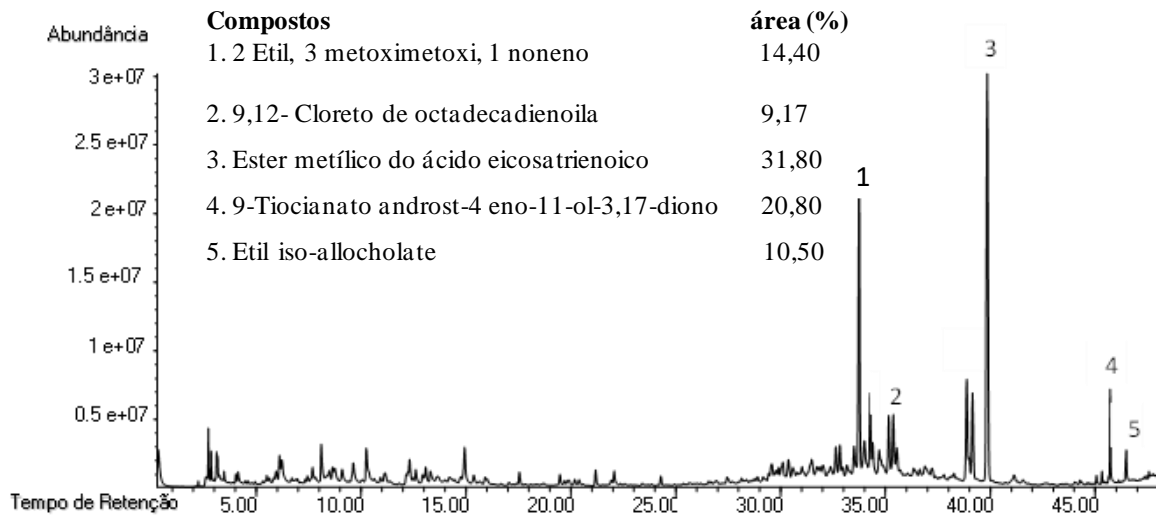
Fonte: Autoria própria (2023)

O acetato de etila (AcOEt) é uma substância que possui diversas aplicações na indústria química, com técnicas analíticas e em laboratórios de síntese orgânica como solvente e reagente. O AcOEt é utilizado como solvente na indústria farmacêutica como solvente de extração e para a concentração e purificação de antibióticos devido a sua ocorrência natural em diversas plantas, é utilizado como flavorizante na indústria de alimentos e, como aromatizante, na indústria de cosméticos (De Lucas Chazin 2012).

Balandrin, Lee e Klocke (1988) analisaram, em suas pesquisas, por CG-EM os voláteis de óleo de nim e identificaram os compostos 2-metil-2-pentenal, 3,4-dimetiltiofeno, cis e trans do propenilpropiltrissulfeto e di-(1-propenil) -trissulfeto. Esses últimos compostos, que são os organossulfurados, fazem parte do mecanismo de defesa da planta contra ataques de insetos. O composto 3,4-dimetiltiofeno foi detectado empregando HS- MEFS/CG-EM em voláteis na folha de nim (Perera; Karunaratne; Chinthaka, 2018) e identificado no óleo essência de alho (*Allium sativum*) (Satyal et al., 2017). O volátil mencionado acima e o 2-metil-2-pentenal foram identificados em óleo de folhas de nim (Mubarak; Kulatilleke, 1990) também em amostra de cebola por MEFS (Choi et al., 2017). O 2- metil-2-petenal teve a atividade antifúngica confirmada, no combate *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* raça 4 (Zhang; Mallik; Zeng,

2013). A Figura 13 mostra o cromatograma da amostra da folha de nim por HS- MEFS. Nesta figura estão enumerados os voláteis com maior área percentual.

Figura 13. Cromatograma de íons totais do óleo da folha de nim.



Fonte: Autoria própria (2023)

Em nosso trabalho foi detectado alguns compostos importantes, no entanto, não foi encontrado trabalhos referentes aos compostos identificados no cromatograma acima, exceto os compostos ácido eicosatrienoico e o etil iso-allocholate. O ácido eicosatrienoico, por exemplo, foi relatado no trabalho de Sousa, et al., (2014) como um composto presente no azeite de oliva. Ruíz Hernández (2018) em um estudo de identificação de compostos químicos por GC-MS identificou esse ácido na erva cidreira (*Melissa officinalis*), além disso, foi encontrado pesquisa sobre esse composto nas sementes da *X. americana* que foi determinado por cromatografia gasosa acoplada a espectômetro de massas (CG-EM), (De Souza Luna, 2006).

O composto etil iso-allocholate é identificado como uma substância antimicrobiana presente no arroz as variedades medicinais, possuem propriedades defensivas e terapêuticas contra muitas doenças humanas. Conforme este estudo, *Escherichia coli* desenvolveu resistência à maioria dos os antibióticos, inclusive os sulfonamidas que possuem como alvo a diidropteroato. Os compostos isolados com atividade antimicrobiana citada foram submetidos a ensaios moleculares e procedimentos de acoplamento para compreender o comportamento de ligação dos ligantes com o alvo. Esses estudos mostraram que o etil iso-allocholate e o éster 2,3-dihidroxipropílico do ácido 9,12,15-octadecatrienóico foram os melhores compostos de ligação (Malathi et al., 2017).

## 6 CONCLUSÃO

Este estudo buscou abordar os principais pontos na extração e separação dos compostos químicos do óleo da folha de nim. A extração eficiente do óleo de folha de nim foi realizada pelo sistema Clevenger com solvente hexano, obtendo-se um rendimento de 0,3 g. Um total de 52 compostos voláteis foram detectados no óleo de folha de nim usando a técnica HS-MEFS/CG-EM.

Os objetivos desse estudo foram alcançados visto que foi possível identificar os compostos químicos, utilizar de forma efetiva o sistema de extração do óleo essencial e o levantamento de dados relacionados ao contexto econômico e biológico. Os extratos podem ser extraídos por diferentes métodos, o sistema Clevenger, método utilizado no nosso trabalho, por exemplo, mostrou-se eficaz em todas as etapas, atendendo as nossas expectativas, no entanto há limitações quanto a quantidade de óleo extraído, a introdução as folhas no balão e o tempo para se obter a óleo. Alguns compostos não foram identificados na biblioteca Nist. Determinados compostos identificados em nosso trabalho, também foram encontrados e isolados em outras pesquisas como o acetato de etila e o n-Hexano. No ponto de vista técnico, as etapas das pesquisas que realizamos foram satisfatórias tanto para este, quanto para futuros trabalhos.

Com isso, portanto, pode-se afirmar que os resultados desse trabalho podem, de alguma forma, contribuir para sociedade e para futuras pesquisas, visto que as substâncias estudadas apresentam soluções para controle de pragas na lavoura sem afetar o meio ambiente e demonstraram eficiências nos setores cosméticos e fármacos. Considerando que o conhecimento é importante para evolução do homem, como perspectiva para futuras pesquisas, recomenda-se maior aprofundamento referente a esse tema, com vista a identificar novas informações sobre os compostos presentes no óleo de nim, isolar e avaliar atividades biopesticidas dos compostos detectados.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. P. *et al.* Explorando a química e a atividade antifúngica de óleos essenciais: Uma proposta de projeto para a Educação Básica. **Latin American Journal of Science Education**, v. 2, p. 22059, 2015.
- ALVES, P. D. *et al.* Avaliação cromatográfica e atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de folhas de Nim (*Azadirachta indica* A. Juss., Meliaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 510-515, 2009.
- AULAKH, J. S. *et al.* A Review on Solid Phase Micro Extraction-High Performance Liquid Chromatography (SPME-HPLC) Analysis of Pesticides. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 35, n. 1, p. 71-85, 1 jan. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408340590947952>. Acesso em: 23 out. 2022.
- AWOLU, O.; OLONIYO, R.; AYODELE, B. S. Optimization of solvent extraction of oil from neem (*Azadirachta indica*) and its characterizations. **Journal Science Research Reports.**, v. 2, p. 304-314, 10 maio 2013. Disponível em: <https://journaljsrr.com/index.php/JSRR/article/view/21169>. Acesso em: 6 fev. 2022.
- AYOOLA, A. A. *et al.* A Search for Alternative Solvent To Hexane During Neem Oil Extraction. **International Journal of Science and Technology**, v. 4, n. 4, p. 66-70, abr. 2014. Disponível em: <https://core.ac.uk/reader/32224850>. Acesso em: 09 dez. 2021.
- AZIZBEKYAN, R. R. Biological Preparations for the Protection of Agricultural Plants (Review). **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 55, n. 8, p. 816–823, 1 dez. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1134/S0003683819080027>. Acesso em: 25 out. 2022.
- BALANDRIN, M. F.; LEE, S. M.; KLOCKE, J. A. Biologically active volatile organosulfur compounds from seeds of the neem tree, *Azadirachta indica* (Meliaceae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 36, n. 5, p. 1048-1054, 1 set. 1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf00083a035>. Acesso em: 28 ago. 2022.
- Benelli, G., e Pavela, R. (2018). Repellence of essential oils and selected compounds against ticks: a systematic review. **Acta Tropica**, 17, 47-54.
- BERG, J. M. *et al.* **Bioquímica**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014. 1097 p. E-book.
- BIASI, L. A.; DESCHAMPS, C. (Ed.). Plantas aromáticas: do cultivo à produção de óleo essencial. Curitiba: **Layer Graf**, 2009. p. 7, 8.
- BRAGA, N. P. e CREMASCO, M. A. (2003), Estudo do Tempo de Secagem das Folhas da Decomposição do Óleo Essencial *Eucalyptus citriodora*. Anais do 30 Congresso Brasileiro de Sistema Particulados (ENEMP), São Carlos – SP. (In CD-Rom).
- BRAHMACHARI, G. Neem - An Omnipotent Plant: **A Retrospection**. **ChemBioChem**, v. 5, n. 4, p. 408-421, 2004. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cbic.200300749>. Acesso em: 18 dez. 2021.

Brugnone, F., Maranelli, G., Romeo, L., Giuliani, C., Gobbi, M., Malesani, F., ... Alexopoulos, C. (1991). Ubiquitous pollution by n-hexane and reference biological levels in the general population. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, 63, 157–160. doi:10.1007/BF00381562

BURZYNSKI-CHANG, E. A. *et al.* HS-SPME-GC-MS Analyses of Volatiles in Plant Populations-Quantitating Compound × Individual Matrix Effects. **Molecules: A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry**, v. 23, n. 10, p. 2436, 23 set. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6222754/>. Acesso em: 26 out. 2022.

CHAUDHARI, A. B. *et al.* Synthesis, characterization and application of Azadirachta indica juss (neem oil) fatty amides (AIJFA) based polyurethanes coatings: A renewable novel approach. **Progress in Organic Coatings, Coatings Science International** 2012. v. 76, n. 12, p. 1779-1785, 1 dez. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300944013001355>. Acesso em: 20 jun. 2022.

CHOI, S. M. *et al.* Volatile composition and sensory characteristics of onion powders prepared by convective drying. **Food Chemistry**, v. 231, p. 386-392, 15 set. 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814617305289>. Acesso em: 30 jun. 2022.

COLLINS, C. H. Cem anos das palavras cromatografia e cromatograma. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 889–890, 2006<sup>a</sup>.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução a métodos cromato-gráficos**. 1. ed. Campinas, São Paulo: Editora da UNICAMP, 2006. 456 p. *E-book*.

DA SILVA NETO, I. R.; RICARDINO, I. E. F.; SANTOS, I. T.; LIMA, E. V. M.; SOUZA, M. N. C.; ANA MARQUES, E. F.; SILVA, M. R. A review of the antiviral activity of the Indian Nim and its potential in front of the new coronavirus (Sars-CoV-2). **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 17, n. 1, p.1-19, 2021.

DASH, S. P.; DIXIT, S.; SAHOO, S. Phytochemical and biochemical characterizations from leaf extracts from Azadirachta Indica: an important medicinal plant. **Biochemistry & Analytical Biochemistry**, v. 6, n. 323, p. 1-4, 2017. DOI: 10.4172/2161-1009.1000323.

DE LUCAS CHAZIN, Eliza. Acetato de Etila (CAS No. 141-78-6). **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 6, p. 872-883, 2012.

DELGADO, F. J. *et al.* Characterisation by SPME-GC-MS of the volatile profile of a Spanish soft cheese P.D.O. Torta del Casar during ripening. **Food Chemistry**, v. 118, n. 1, p. 182-189, 1 jan. 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814609005512>. Acesso em: 30 out. 2022.

DE SOUZA LUNA, Josiane. **Estudo de plantas bioativas**. 2006.

DILLARD, C. J.; GERMAN, J. B. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 12, p. 1744-1756, 28 jul. 2000. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/1097-0010%2820000915%2980%3A12%3C1744%3A%3AAID-JSFA725%3E3.0.CO%3B2-W>. Acesso em: 23 maio. 2022.

Disponível em: <https://www.phytojournal.com/archives/2017.v6.i1.1079/phyto-chemical-screening-and-gc-ms-analysis-of-bioactive-constituents-in-the-ethanolic-ex-tract-of-pistia-stratiotes-l-and-eichhornia-crassipes-mart-solms>. Acesso em: 18 set. 2022.

DJIBRIL, D. et al. Physical characteristics, chemical composition and distribution of constituents of the neem seeds (*Azadirachta indica* A. Juss) collected in Senegal. **Research Journal of Chemical Sciences**, v. 5, n. 7, p. 52-58, 2015. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20153330058>. Acesso em: 21 jun. 2022.

EGBUNA, C. et al. **Phytochemistry: Marine Sources, Industrial Applications, and Recent Advances**. 1. ed. Nova York: Apple Academic Press, 2018. v. 3. 502 p. Disponível em: <https://www.taylorfrancis.com/books/edit/10.1201/9780429426155/phytochemistry-chukwuebuka-egbuna-jonathan-chinenye-ifemeje-shashank-kumar-nadia-sharif>. Acesso em: 20 jun. 2022.

EMBRAPA. Visão 2014-2034: o futuro do desenvolvimento tecnológico da agricultura brasileira: síntese. Brasília, DF: **EMBRAPA 2014**. 53p.

ETTRE, L. S. Chromatography: the separation technique of the 20th century. **Chromatographia**, v. 51, n. 1/2, p.7–17, 2000.

EVANGELISTA FRANCO, B., C. **EXTRAÇÃO DE SOLÚVEIS DA FOLHA DE NIM (*Azadirachta indica*) PARA AGROINDÚSTRIA**. 2017. Tese de Doutorado.

FABER, D. Poisoning the World for Profit: Petro-Chemical Capital and the Global Pesticide Crisis. **Capitalism Nature Socialism**, v. 31, n. 4, p. 1-17, 1 out. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10455752.2020.1829794>. Acesso em: 24 out. 2022.

Fedtke, N., & Bolt, H. M. (1987). The relevance of 4,5-dihydroxy-2-hexanone in the excretion kinetics of n-hexane metabolites in rat and man. **Archives of Toxicology**, 61, 131–137.

FERNANDES, S. R. et al. Chemistry, bioactivities, extraction and analysis of azadirachtin: State-of-the-art. **Fitoterapia**, v. 134, p. 141-150, 1 abr. 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF01922438>. Acesso em: 22 jun. 2022.

FERNANDES, S. **Doseamento da Azadiractina e avaliação da atividade antimicrobiana em produtos contendo óleo de Neem**. 2014. Dissertação (Mestrado em Bioquímica em Saúde ramo de Biotecnologia) - Instituto Politécnico do Porto, Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Porto, Porto, Portugal, set. 2014. Disponível em: <https://recipp.ipp.pt/handle/10400.22/5755>. Acesso em: 09 jul. 2022.

FERREIRA, A. M. et al. Utilização dos ácidos graxos no tratamento de feridas: uma revisão integrativa da literatura nacional. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 46, p. 752-



760, jun. 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/reeusp/a/QTP7Znpf4L64MwzPGFLDz8G/?lang=pt>. Acesso em: 27 set. 2022.

FIGUEIREDO, A. M.; SANTOS, M. L. D.; LIMA, J. F. D. Importância do agronegócio para o crescimento econômico de Brasil e Estados Unidos. **Gestão & Regionalidade**. v. 28, n. 82, p. 5-17, 2012.

FILIPPIS, Flavia Molardi de. Extração com CO<sub>2</sub> supercrítico de óleos essenciais de Hon-sho e Ho-sho: experimentos e modelagem. 2001.

FILHO, L. V. Agronegócio sustenta a economia. **Safra Revista do Agronegócio** (on-line), n.192, Goiania: ANATEC, 2017. 46p.

Filser, J. G., Peter, H., Bolt, H. M., & Fedtke, N. (1987). Pharmacokinetics of the neurotoxin n-hexane in rat and man. **Archives of Toxicology**, 60, 77–80.

FORIM, M. R., **Estudo Fitoquímico do Enxerto de Azadirachta indica sobre a Melia azadirach: Quantificação de substâncias Inseticidas**. Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Química. (2006). Tese de Doutorado.

FRAGOSO, R. R. et al. Genômica funcional. In: FALEIRO, F. G. et al. **Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2011. Cap. 5, p. 143–173.

GARCIA, JLM. O nim indiano: o bioprotetor natural. **Série Agricultura Alternativa**. Junho, 2000.

GOMES, R. U. *et al.* **Produção do óleo da semente de Nim (Azadirachta indica) na mesorregião do sertão Alagoano: efeito da secagem e do método de extração**. 2019.

GOMES, W. S.; BORÉM, A. Biotecnologia: novo paradigma do agronegócio brasileiro. **Revista de Economia e Agronegócio**. v.11, n.1, p. 115-136. 2015.

GUPTA, A. K. Use of neem and neem based products in organic farming. **Indian Farming**, v. 72, n. 1, 22 fev. 2022. Disponível em: <https://epubs.icar.org.in/index.php/IndFarm/article/view/121692>. Acesso em: 22 ago. 2022.

HARBONE, J. B. 1982. **Introduction to ecological biochemistry**. 2.ed. London: Academic Press, 318p.

HARE, J. D.; MORSE, J. G. 1997. Toxicity, persistence, and potency of sabadilla alkaloid formulations to citrus thrips (Thysanoptera: Thripidae). **Journal of Economic Entomology**, 90:326-332.

HOSSAIN, M. A. et al. Identification and characterization of chemical compounds in different crude extracts from leaves of Omani neem. **Journal of Taibah University for Science**, v. 7, n. 4, p. 181-188, 1 out. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jtusci.2013.05.003>. Acesso em: 15 fev. 2022.

- HORN, Martha Beatriz. Nano-microencapsulamento por precipitação polimérica do óleo de Nim: caracterizações e aplicações para o controle de ácaro *Tetranychus urticae* (ACARI: Tetranychidae). 2019.
- ISMAN, M. B. Neem and other Botanical insecticides: Barriers to commercialization. **Phytoparasitica**, v. 25, n. 4, p. 339-344, 1 dez. 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF02981099>. Acesso em: 23 ago. 2022.
- JISHMA, P. et al. Strain-specific variation in plant growth promoting volatile organic compounds production by five different *Pseudomonas* spp. as confirmed by response of *Vigna radiata* seedlings. **Journal of Applied Microbiology**, v. 123, n. 1, p. 204-216, 2017. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jam.13474>. Acesso em: 24 set. 2022.
- JÚNIOR, C. V. 2003. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, 26(3):390-400.
- KILANI-MORAKCHI, S.; MORAKCHI-GOUDJIL, H.; SIFI, K. Azadirachtin-Based Insecticide: Overview, Risk Assessments, and Future Directions. **Frontiers in Agronomy**, v. 3, p. 1-13, 2021. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fagro.2021.676208>. Acesso em: 28 abr. 2022.
- KOONA, Saradhajyothi; BUDIDA, Subbarao. Antibacterial Potential of the Extracts of the Leaves of *Azadirachta indica* Linn. **Notulae Scientia Biologicae**, v. 3, n. 1, p. 65-69, 2011.
- KYLE, P. B. Toxicology: GCMS. In: NAIR, H.; CLARKE, W. (org.). **Mass Spectrometry for the Clinical Laboratory**. San Diego: Academic Press, 2017. p. 131-163. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128008713000079>. Acesso em: 08 nov. 2022.
- KUMAR, S.; SINGH, A. Biopesticides: Present Status and the Future Prospects. **J Fertil Pestic**, v. 6, n. 2, p. 2, 2015. Disponível em: <https://www.longdom.org/archive/jbfbpvolume-6-issue-2-year-2015.html>. Acesso em: 26 out. 2022.
- LOZANO-GRANDE, M. A. *et al.* Plant Sources, Extraction Methods, and Uses of Squalene. **International Journal of Agronomy**, v. 2018, p. e1829160, 1 ago. 2018. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ija/2018/1829160/>. Acesso em: 18 set. 2022.
- DE LUCAS CHAZIN, Eliza. Acetato de Etila (CAS No. 141-78-6). **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 6, p. 872-883, 2012.
- MALAR, TRJ Jeba et al. In-vitro phytochemical and pharmacological bio-efficacy studies on *Azadirachta indica* A. Juss and *Melia azedarach* Linn for anticancer activity. **Saudi journal of biological sciences**, v. 27, n. 2, p. 682-688, 2020.
- MALATHI, K.; ANBARASU, Anand; RAMAIAH, Sudha. Ethyl iso-allocholate from a medicinal rice *Karungkavuni* inhibits dihydropteroate synthase in *Escherichia coli*: A molecular docking and dynamics study. **Indian J Pharm Sci**, v. 78, n. 6, p. 780-8, 2017.

MALDONADO, Gabriela. Estudo sobre os métodos de extração de óleos essenciais: uma revisão integrativa. 2022. **Trabalho de Conclusão de Curso**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

MANK, V.; POLONSKA, T. Use of natural oils as bioactive ingredients of cosmetic products. **Ukrainian food journal**, v. 5, n. 2, p. 281-289, 2016. Disponível em: [http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis\\_nbuv/cgiirbis\\_64.exe?I21DBN=LINK &P21 DBN=UJRN&Z21ID=&S21 REF=10&S21CNR= 20&S21STN=1&S21FMT= ASP\\_meta&C21COM=S&2\\_S21P03=FILA=&2\\_S21STR=UFJ\\_2016\\_5\\_2\\_7](http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK &P21 DBN=UJRN&Z21ID=&S21 REF=10&S21CNR= 20&S21STN=1&S21FMT= ASP_meta&C21COM=S&2_S21P03=FILA=&2_S21STR=UFJ_2016_5_2_7). Acesso em: 02 set. 2022.

MARRONE, P. G. The Market and Potential for Biopesticides. In: GROSS, A. D. et al. (ed.). **Biopesticides: State of the Art and Future Opportunities**. Washington, DC: **American Chemical Society**, v. 1172. 2014. p. 245-258. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/bk-2014-1172.ch016>. Acesso em: 24 out. 2022.

MATIAS, T. P. et al. Os agrotóxicos mais vendidos no Brasil: Implicações em meio ambiente e saúde. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, p. 1–12, 7 jul. 2021. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/17082>. Acesso em: 17 nov. 2021.

Martinez S.S. 2002. (ed.) O NIM – Azadirachta indica: natureza, usos múltiplos, produção. Londrina, **IAPAR Instituto Agrônomo do Paraná**, 142p.

MEHRANIAN, M. *et al.* Isolation and identification of cuticular compounds from the mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), their antibacterial activities and biological functions. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 50, n. 1-2, p. 47-61, 20 jan. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03235408.2016.1253264>. Acesso em: 28 out. 2022.

MENEZES, E. D. L. A. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica, RJ: **EMBRAPA**. Documentos 205, 2005. 31p.

MONTEIRO, C. M. P. **Análise de substâncias voláteis com interesse forense: validação de um método analítico por GC-FID**. 2012. Dissertação (Mestrando em Medicina Legal) - Universidade de Coimbra, Coimbra, 2017. Disponível em: <https://estudogeral.sib.uc.pt/handle/10316/44171>. Acesso em: 1 out. 2022.

MORAIS, L. A. S. DE; MARINHO-PRADO, J. S. Plantas com Atividade Inseticida. In: HALFELD-VIEIRA, B. de A. et al. (ed.). **Defensivos agrícolas naturais: uso e perspectivas**. Brasília, DF: **Embrapa**, 2016. cap. 19, p. 542-593. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1061215>. Acesso em: 08 nov. 2021.

MOSSINI, S. A. G.; KEMMELMEIER, C.A. árvore Nim (*Azadirachta indica* A. Juss): Múltiplos Usos. **ACADEMIA Accelerating the world's research**, 2005.

MOTTA, V. T. **Bioquímica**. 2. ed. MedBook, 2011. E-book.

MOURA, R. M. R.; SILVA, F. H. M.; COSTA, M. C. S; VIEIRA, M. D.; CASTRO, D. C. Óleos essenciais: da extração à utilização. **Editora Realize**.

[http://editorarealize.com.br/editora/anais/join/2019/TRABALHO\\_EV124\\_MD1\\_SA43\\_ID412\\_12082019004006.pdf](http://editorarealize.com.br/editora/anais/join/2019/TRABALHO_EV124_MD1_SA43_ID412_12082019004006.pdf) Acesso e 12 out. 2022.

MOHAMADPOOR, M. et al. Evaluation of biocontrol potential of *Achromobacter xylosoxidans* strain CTA8689 against common bean root rot. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 117, p. 1-9, 1 jan. 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0885576521001703>. Acesso em: 26 set. 2022.

MULLA, M. et al. Utilization of novel and rapid techniques for characterization of neem *Azadirachta indica* seed oil and palm oil blends. **International Journal of Food Engineering**, v. 16, n. 10, 1 out. 2020. Disponível em: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/ijfe-2020-0047/html>. Acesso em: 08 dez. 2022.

MUBARAK, A. M.; KULATILLEKE, C. P. Sulphur constituents of neem seed volatiles: A revision. **Phytochemistry**, v. 29, n. 10, p. 3351-3352, 1 jan. 1990. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/003194229080213Z>. Acesso em: 04 set. 2022.

NARAYAN BHILWADE, H. et al. Squalene as Novel Food Factor. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 11, n. 8, p. 875-880, 1 dez. 2010. Disponível em: <https://www.ingentaconnect.com/content/ben/cpb/2010/00000011/00000008/art00011>. Acesso em: 28 out. 2022.

NEVES, B. P. D.; OLIVEIRA, I. P. D.; NOGUEIRA, J. C. M. Cultivo e Utilização do Nim Indiano. Santo Antônio de Goiás, GO: EMBRAPA - **Circular Técnica** 62, 2003. 12p.

NEVES, E. J. M.; CARPANEZZI, A. A, APARECIDO A. **Prospecção sobre o cultivo do nim** (*Azadirachta indica*) no Brasil. 2009.

NEVES, E. J. M.; CARPANEZZI, A. A. **A cultura do nim**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, 2008.

Norma Gamarra Mendoza et al., “**EXTRACCIÓN POR FLUIDO SUPERCRTICO DE CO<sub>2</sub> Y CUANTIFICACIÓN DE CAPSAICINOIDES DE ROCOTO** (*Capsicum Pubescen*) DEL VALLE DEL MANTARO,” *Prospectiva Universitaria* 8, no. 1 (January 15, 2022): 13–19, accessed July 1, 2022, <https://revistas.uncp.edu.pe/index.php/prospectiva/article/view/1243>.

OIANO NETO, J. et al. Purificação do n-hexano comercial para aplicação em investigações fitoquímicas. 2014.

PARSHURAM, Christopher S. et al. Effect of a pediatric early warning system on all-cause mortality in hospitalized pediatric patients: the EPOCH randomized clinical trial. **Jama**, v. 319, n. 10, p. 1002-1012, 2018.

PAVIA, D. L. et al. **Introdução à espectroscopia**. 1. ed. Cengage Learning, 2010. 708 p. *E-book*.

PENG, S. et al. Novel solid-phase microextraction fiber coatings: A review. **Journal of Separation Science**, v. 45, n. 1, p. 282-304, 2022. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jssc.202100634>. Acesso em: 06 out. 2022.

PERERA, A. G. W. U.; KARUNARATNE, M. M. S. C.; CHINTHAKA, S. D. M. Bio-activity and Volatile Profiling of *Azadirachta indica* Leaves for the Management of Maize Weevil, *Sitophilus zeamais* (Motsch.) Infestations. **Journal of Tropical Forest and Environment**, v. 8, n. 1, 30 jun. 2018. Disponível em: <http://journals.sjp.ac.lk/index.php/JTFE/article/view/3479>. Acesso em: 21 maio 2022.

POOLE, C. F. Sample preparation for gas chromatography. In: POOLE, C. F. (org.). **Gas Chromatography (Second Edition)**. Handbooks in Separation Science. Amsterdam: Elsevier, 2021. p. 615-653. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128206751000058>. Acesso em: 01 nov. 2022.

PRIMO YUFERA, E. 1989. Los métodos no contaminantes de la lucha contra las plagas van a provocar un cambio en los tratamientos. **Phytoma España**,5:4.

RAO, C. J. D.; SESHADRI, T. R. Fatty acids of Neem oil. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences - Section A**, v. 15, n. 3, p. 161-167, 1 mar. 1942. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF03051848>. Acesso em: 30 ago. 2022.

RAUT, Ranjit R.; SAWANT, Ajit R.; JAMGE, Bhagyashree B. Antimicrobial activity of *Azadirachta indica* (Neem) against pathogenic microorganisms. **Journal of academia and industrial Research**, v. 3, n. 7, p. 327-329, 2014.

RAZA, W. et al. Volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* WR-1 restrict the growth and virulence traits of *Ralstonia solanacearum*. **Microbiological Research**, v. 192, p. 103-113, 1 nov. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501316300489>. Acesso em: 26 set. 2022.

REIS, André Miguel Souto. **Doenças neurodegenerativas associadas à exposição ao n-Hexano**. 2016. Tese de Doutorado.

RIBEIRO, A. P. et al. **Controle de insetos e doenças na agricultura** caldas, extratos, biofertilizantes e plantas repelentes. Viçosa, MG: UFV, 2015.

RODRIGUES, G.S.; SANTOS, N.O.; FORTUNA, J.L., 2020. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf. (Capim-Santo) sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Revista Ciência, Tecnologia e Ambiente**, vol. 10, e10177. <https://doi.org/10.4322/2359-6643.10177>

RODRIGUES, Joerlandes de Sousa; SILVA, Maria Gilzete Guimarães da; CASTRO, Rosemary Maria de. Atividade inseticida de extratos vegetais e seletividade a insetos benéficos. **Revista Semiárido De Visu**, v. 5, n. 3, p. 138-148, 2017| ISSN 2237-1966 138- 148, 2017.

ROY, S.; BHATTACHARYYA, P. Possible role of traditional medicinal plant Neem (*Azadirachta indica*) for the management of COVID-19 infection. **International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences**, v. 11, n. SPL1, p. 122-125, 2020.

RUIZ HERNÁNDEZ, Ana Karen. Identificación por GC-MS de compuestos químicos presentes en extractos orgánicos de *Melissa officinalis* y evaluación de su actividad antimicrobiana. 2018.

RUKMINI, C. Chemical and nutritional evaluation of neem oil. **Food Chemistry**, v. 26, n. 2, p. 119-124, 1 jan. 1987. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0308814687901221>. Acesso em: 29 jun. 2022.

SAHA TCHINDA, J.-B. et al. Fatty acid profiles, antioxidant, and phenolic contents of oils extracted from *Acacia polyacantha* and *Azadirachta indica* (Neem) seeds using green solvents. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 2, p. 1-13, 2021. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jfpp.15115>. Acesso em: 12 fev. 2022.

SANTOS, A. S. et al. Descrição de Sistema e de Métodos de Extração de Óleos Essenciais e Determinação de Umidade de Biomassa em Laboratório. **Comunicado Técnico. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. 2004.

SANTOS, A. S. et al. Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório. **Embrapa Amazônia Oriental- Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2004.

SATYAL, P. et al. The Chemical Compositions of the Volatile Oils of Garlic (*Allium sativum*) and Wild Garlic (*Allium vineale*). **Foods**, v. 6, n. 8, p. 63, ago. 2017. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/6/8/63>. Acesso em: 29 jun. 2022.

SOUSA, CINARA TANHOTE; CRIZEL-CARDOZO, MICHELE MACIEL; ZAMBIAZI, RUI CARLOS. PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DE AZEITES DE OLIVA CV. KORONEIKI OBTIDOS AO LONGO DA MATURAÇÃO DOS FRUTOS.

SHAPIRO, J. P. 1991. Phytochemicals at the plant-insect interface. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, 17:191-200.

SHIVASHANKAR, S.; ROY, T. K.; MOORTHY, P. N. K. Headspace Solid Phase Micro Extraction and GC/MS Analysis of the Volatile Components in Seed and Cake of *Azadirachta indica* A. juss. **Chem Bull Politech Univ Timisoara**, v. 57, n. 1, p. 6, 2012. Disponível em: [http://chemicalbulletin.upt.ro/Chemical-Bulletin-Article\\_GfEDd.html](http://chemicalbulletin.upt.ro/Chemical-Bulletin-Article_GfEDd.html). Acesso em: 18 jul. 2022.

SCHUMACHER, M.; CERELLA, C.; REUTER, S.; DICATO, M.; DIEDERICH, M. Antiinflammatory, Pro-apoptotic, and Anti-proliferative Effects of a Methanolic Neem **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, n.17; p. 2013.

SILVA, L. A. G. C. Biomassas presentes no estado do Tocantins. **Consultoria Legislativa Nota Técnica Câmara dos Deputados, Brasília, DF, Brasil**, p. 2-9, 2007.

SIMAS, N. K. et al. 2004. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue – atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenoides e fenilpropanoides. **Química Nova**, 27(1):46-49.

SIMYÃO M. C. 2022. Extração e Caracterização Química do Óleo de Sementes de Nim (*Azadirachta Indica*).

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. *E-book*.

TESFAYE, B.; TEFERA, T. Extraction of Essential Oil from Neem Seed by Using Soxhlet Extraction Methods. **International Journal of Advanced engineering, Management and Science**, v. 3, n. 6, p. 646-650, 2017. Disponível em: <http://ijaems.com/detail/extraction-of-essential-oil-from-neem-seed-by-using-soxhlet-extraction-methods/>. Acesso em: 1 maio 2022.

TIMOTHY, S. Y. et al. Antibacterial and phytochemical screening of the ethanolic leaf extract of *azadirachta indica* (neem)(meliaceae). 2011.

TRANCOSO, M. D. et al. Projeto Óleos Essenciais: extração, importância e aplicações no cotidiano. **Revista Práxis**, v. 5, n. 9, 2013.

TYAGI, T.; AGARWAL, M. Phytochemical screening and GC-MS analysis of bioactive constituents in the ethanolic extract of *Pistia stratiotes* L. and *Eichhornia crassipes* (Mart.) solms. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 6, n. 1, p. 195-206, 2017.

TULASHIE, S. K. et al. Potential of neem extracts as natural insecticide against fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)). **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, v. 4, p. 1-7, 1 dez. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666016421000529>. Acesso em: 09 maio 2022.

Disponível em: <https://www.phytojournal.com/archives/2017.v6.i1.1079/phyto-chemical-screening-and-gc-ms-analysis-of-bioactive-constituents-in-the-ethanolic-extract-of-pistia-stratiotes-l-and-eichhornia-crassipes-mart-solms>. Acesso em: 18 set. 2022.

UCR-NE, biopesticidas pesquisados na **Embrapa** são boas oportunidades para investidores privados, disponível em: <http://hossites.sct.embrapa.br/proeta/author/genesio>. Acesso em: 22 maio 2022.

WINDHOLZ, M.; BUDAVARI, S.; BLUMETTI, R. F.; OTTERBEIN, E. S. **The Merck Index**. New Jersey: Merck & Co., 1983, p. 10.

VAN HOOGEVEST, P.; WENDEL, A. The use of natural and synthetic phospholipids as pharmaceutical excipients. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 116, n. 9, p. 1088-1107, 2014. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ejlt.201400219>. Acesso em: 27 set. 2022.

VILLALOBOS, M. J. P. 1996. Plaguicidas naturales de origen vegetal: estado actual de la investigación. Madrid: **Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación**, 35 p. (Monografias INIA, 92).

VILLAVERDE, J. J.; SANDIN-ESPANA, P.; SEVILLA-MORAN, B.; LOPEZ-GOTI, C.; ALONSO-PRADOS, J. L. **Biopesticides from Natural Products**: Current Development, Legislative Framework, and Future Trends. *Bioresources*, v. 11, n. 2, p. 5618-5640, 2016.

WINDHOLZ, M.; BUDAVARI, S.; BLUMETTI, R. F.; OTTERBEIN, E. S. *The Merck Index*. New Jersey: **Merck & Co.**, 1983, p. 10.

YADAV, D. K.; BHARITKAR, Y. P.; CHATTERJEE, K.; GHOSH, M.; MONDAL, N. B.; SWARNAKAR, S. Importance of Neem Leaf: An insight into its role in combating diseases. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 54, n. 11, p. 708-718, 2016.

ZHANG, H.; MALLIK, A.; ZENG, R. S. Control of Panama Disease of Banana by Rotating and Intercropping with Chinese Chive (*Allium Tuberosum* Rottler): Role of Plant Volatiles. **Journal of Chemical Ecology**, v. 39, n. 2, p. 243-252, 1 fev. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10886-013-0243-x>. Acesso em: 24 set. 2022.

ZANG, X. J.; FUKUDA, E. K.; ROSEN, J. D. 1997. Method for the determination of veratridine and cevadine, major components of the natural insecticide sabadilla, in lettuce and cumpers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 45(5):1758- 1761.