

## PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DE *Lucilia sericata* (MEIGEN, 1826) EM DIFERENTES SUBSTRATOS DE DESENVOLVIMENTO – UMA APLICAÇÃO NA ENTOMOLOGIA FORENSE

WILLIAN DOS SANTOS NASCIMENTO<sup>1</sup>; KATHLEEN TAVARES WINKEL<sup>2</sup>; MARCO AURELIO ZIEMANN DOS SANTOS<sup>2</sup>; TONY SILVEIRA<sup>3</sup>; VINICIUS FARIAS CAMPOS<sup>3</sup>; CLAUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia – willian\_nsantos@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA) – kathwinkel@gmail.com, marcziemann@gmail.com, claudiochemistry@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas, Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTec) – tony8.9@hotmail.com, fariascampos@gmail.com.

### 1. INTRODUÇÃO

A entomologia forense é conhecida por ser o estudo dos insetos e outros artrópodes ligados a questões criminais (PUJOL-LUZ; ARANTES; CONSTANTINO, 2008). Podem servir como ferramenta para estimar o intervalo pós morte (IPM), principalmente após 72 h (ANDERSON; WANLAERHOVEN, 1996), após o período de colonização destes insetos em um cadáver.

Uma das espécies de dípteros que apresenta importância forense é *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) (Calliphoridae), primeiramente descrita como *Phaenicia sericata*, possui caráter sinantrópico e ocorrência mundial (GRASBERGER; REITER, 2001). Esta espécie também tem sido estudada para aplicação em terapia larval, nas quais os imaturos se alimentam do tecido necrosado, limpando e ajudando na cicatrização de feridas (GOLEBIEWSKI et al., 2012a).

Os insetos são constituídos de ácidos graxos (AGs), os quais possuem uma vasta importância (GILBERT, 1967), sendo na constituição de estruturas celulares, atuando no sistema hormonal ou formando importantes reservas energéticas. Reservas essas, essenciais em atividades com alto gasto metabólico, tais como produção de ovos e no exercício do voo (ARRESE et al., 2001). Como proteção, a presença de camada cerosa produzida pela cutícula pode agir como linha de defesa contra fungos patogênicos (GOLEBIEWSKI et al., 2012a).

A identificação acurada das espécies é o primeiro passo para uma eficiente aplicação de insetos tanto na área da saúde quanto na forense (SMITH, 1986). Em vista que a identificação morfológica dos espécimes requer especialistas na área, a quimiotaxonomia pode trazer alguns avanços para facilitar o trabalho dos investigadores (DRIJFHOUT, 2010). Através dessa técnica é possível diferenciar ordens de insetos através de seu perfil lipídico (NELSON; BLOMQUIST, 1995) pelo fato que é característica de cada inseto (BARLOW, 1964). Diante disto, esse trabalho teve como objetivo analisar qualitativamente a composição de ácidos graxos presentes em *Lucilia sericata* a partir dos substratos ingeridos quando imaturos e adultos.

### 2. METODOLOGIA

#### Coleta e Manutenção dos espécimes

Exemplares de *Lucilia sericata* foram coletados em ambiente natural, através de armadilhas propostas por MORETTI et al. (2009) iscados com fígado bovino.

Após a coleta, os indivíduos foram mantidos em gaiolas plásticas e transparentes. Foram alimentados com dietas à base de açúcar e proteína (ESTRADA et al., 2009), onde ficaram mantidos sob temperatura controlada ( $\pm 25^\circ\text{C}$ ), umidade relativa ( $70 \pm 10\%$ ) e fotoperíodo de 12 horas.

O estímulo para postura foi realizado disponibilizando fígado bovino no interior das gaiolas por aproximadamente 2 horas. Após esse período a carne com postura foi retirada das gaiolas e colocada em um sistema duplo fechado com organza, contendo serragem úmida, até o período de pupariação. Posteriormente as pupas foram transferidas para potes de vidros até a emergência dos adultos.

### Extração e identificação de Ácidos Graxos

O preparo das amostras iniciou com o armazenamento em ultra freezer e posterior liofilização. Foram pesados 1 g, em triplicata, por amostra para extração de ácidos graxos através da metodologia de BLIGHT; DYER (1959). As amostras continham: Substrato das larvas (fígado bovino), substrato dos adultos (dieta), adultos recém emergidos não alimentados e de adultos alimentados.

A fim de analisar os ácidos graxos por cromatografia gasosa, essas moléculas foram derivatizadas seguindo a metodologia descrita por HARTMANN; LAGO (1973). Posteriormente, as amostras foram diluídas em hexano e inseridas para análise em um cromatógrafo a gás com detector por ionização em chama, modelo GC-2010 Shimadzu, coluna SP- 2560. Os resultados foram comparados por tempo de retenção de acordo com padrão FAME 37-Mix (Supelco, Bellefonte, Pensilvânia, EUA).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise cromatográfica revelou um perfil de ácidos graxos (AGs) nas matrizes analisadas, conforme explicitado na Tabela.

**Tabela.** Perfil de ácidos graxos em substratos de desenvolvimento e adultos de *Lucilia sericata* (Diptera, Calliphoridae).

Ácidos Graxos	Fígado bovino (% em área)	Adultos não alimentados (% em área)	Dieta dos adultos (% em área)	Adultos alimentados (% em área)
C16:0 palmítico	20,00	22,00	33,10	20,10
C16:1 palmitoleico	2,57	14,00	3,83	27,36
C18:0 esteárico	25,00	4,05	13,34	4,87
C18:1n9c oleico	15,00	32,00	24,43	30,88
C18:2n9c linoleico	5,00	7,25	-	-
C20:4n6 araquidônico	7,00	4,39	-	1,48
C20:5n3 eicosapentanóico EPA	5,45	7,25	-	2,90
Outros*	19,98	9,06	25,30	12,41
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>

\*Outros – ácidos graxos que apresentaram menos que 7% de concentração em área.

Com base nos dados obtidos se pode observar a presença de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados em todas as amostras analisadas cuja cadeia carbônica variou entre C10 e C22. Além disso, foi possível observar que o substrato de desenvolvimento dos imaturos (fígado bovino) continha uma variedade de AGs superior a dieta ofertada aos adultos de *L. sericata*.

De uma forma geral, os ácidos graxos insaturados foram prevalentes nas amostras de fígado bovino (68,8%), de adultos alimentados (66,7%) e de adultos não alimentados (62,5%). Somente na dieta dos adultos ocorreu uma prevalência (55,6%) de AG saturados. Destaca-se a grande presença (% em área) de ácido palmítico (C16:0) em todas as amostras.

Os substratos de desenvolvimento dos insetos (fígado bovino e dieta dos adultos) apresentaram baixa quantidade de ácido palmitoleico (C16:1), enquanto que as amostras de dípteros apresentaram altas proporções deste. Esta é uma característica já observada em dípteros, na qual apresentam uma alta proporção de C16:1, enquanto outras ordens, em sua maioria, apresentam não mais que 2.2% deste ácido (BARLOW, 1964).

Os três AGs mais prevalentes nas amostras de dípteros corroboram os resultados encontrados por GOLEBIOWSKI et al. (2012b), em machos e fêmeas de *L. sericata*, os quais observaram a maior prevalência de C18:1n9, C16:1n9 e C16:0. Estes resultados também se assemelham ao encontrado em *Aeshna cyanea* (Muller, 1764) (Odonata, Aeshnidae), uma espécie de libélula, os quais mostraram que as células intestinais absorvem preferencialmente ácido oléico (18:1), seguido pelo ácido palmítico (16:0) e ácido esteárico (18:0) (KIRFEL; KOMNICK, 1999).

Diante do potencial desta metodologia para extração e análise de ácidos graxos em moscas, maiores estudos estão em andamento, a fim de determinar e comparar ácidos graxos de *L. sericata* desenvolvida em diferentes substratos, como carne de porco e de peixe, visando uma possível aplicação forense.

#### 4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, se pode concluir que a metodologia utilizada para extração e identificação de ácidos graxos das amostras mostrou-se eficiente. Observou-se que todos os AGs encontrados nas amostras de dípteros estavam presentes em algum dos substratos de desenvolvimento. Dessa forma, tornam-se necessárias outras análises comparando o perfil e metabolismo de ácidos graxos em diferentes substratos.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, G.; VANLAERHOVEN, S. Initial Studies on Insect Succession on Carrion in Southwestern British Columbia, **Journal of Forensic Sciences**, British Columbia, v.41, n.4, p.617-625, 1996.
- ARRESE, E. L.; CANAVOSO, L. E.; JOUNI, Z. E.; PENNINGTON, J. E.; TSUCHIDA, K.; WELLS, M. A. Lipid storage and mobilization in insects: current status and future directions. **Insect biochemistry and molecular biology**, Oxford, v.31, n.1, p.7-17, 2001.
- BARLOW, J. S. Fatty in some insects and spider fact. **Canadian Journal of Biochemistry**, Toronto, v.42, n.10, 1964.
- BLIGH, E.G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraciton and purification.

**Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Toronto, v.37, n.8, p.911-917, 1959.

DRIJFHOUT, F. P. Cuticular Hydrocarbons: A New Tool in Forensic Entomology?. In: AMENDT, J.; CAMPOBASSO, C. P.; GOFF, M. L.; GRASSBERGER, M. **Current Concepts in Forensic Entomology**. Springer, 2010.

ESTRADA, D. A.; GRELLA, M. D.; THYSSEN, P. J.; LINHARES, A. X. Taxa de Desenvolvimento de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) em Dieta Artificial Acrescida de Tecido Animal para Uso Forense. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 38. n.2. p. 203-207, 2009.

GILBERT, L. I. **Lipids Metabolism and Function in Insects**, Evanston, 1967.

GOLEBIEWSKI, M.; MIECZYSLAWA, I. B.; PASZKIEWIEZ, M.; WIELOCH, W.; WTÓKA, E.; STPENOSWKI, P. The composition of the cuticular and internal free fatty acids and Alcohols from *Lucilia sericata* males and females. **Lipids**, Gdansk, v.47, p.613–622, 2012b.

GOLEBIEWSKI, M.; PASZKIEWICZ, M.; GRUBBA, A.; GASIEWSKA, D.; BOGUS, M. Q.; WLÓKA, E.; WIELOCH, W.; STEPNOWSKI, P. Cuticular and internal n-alkane composition of *Lucilia sericata* larvae, pupae, male and female imagines: application of HPLC-LLSD and GC/MS-SIM, **Bulletin of Entomological Research**, Warsaw, v.102, p.453-460, 2012a.

GRASSBERGER, M.; REITER, C. Effect of temperature on *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) development with special reference to the ismogalen- and isomorphen-diagram. **Forensic Science International**, Viena, v.120, p. 32-36, 2001.

HARTMANN, L.; LAGO, R. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids, **Laboratory practice**, Campinas, 1973.

KIRFEL, G.; KOMNICK, H. Differential absorption and esterification of dietary long-chain fatty acids by larvae of the dragonfly, *Aeshna cyanea*. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, Bonn, v.40, p.183-193, 1999.

MORETTI, T.C.; THYSSEN, P.J.; SOLIS, D.R. Breeding of the Scuttle Fly *Megaselia scalaris* in a fish Carcass and Implications for the use in Forensic Entomology (Diptera: Phoridae). **Entomologia Generalis**, São Paulo, v.31, p349-353, 2009.

NELSON, D. R., BLOMQUIST, J. G. Insect Waxes. In: Hamilton, R.J. (Ed.), *Waxes: Chemistry, Molecular Biology and Functions*. **The Oily Press Ltd.**, Dundee, Scotland, pp. 1–90, 1995.

PUJOL-LUZ, J. R.; ARANTES, L.; CONSTANTINO, R. Cem anos da entomologia forense no Brasil (1908-2008). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v.52, n.4, p. 485-492, 2008.

SMITH K. G. V. **A Manual of Forensic Entomology**, Ithaca, Cornell University Press, 205 pp. 1986.