

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - FS
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA

BEATRIZ KONO CARVALHO

AVALIAÇÃO DOS POTENCIAIS LARVICIDA E REPELENTE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPECIARIAS CONTRA O MOSQUITO *AEDES AEGYPTI*

BRASÍLIA - DF
2024

BEATRIZ KONO CARVALHO

AVALIAÇÃO DOS POTENCIAIS LARVICIDA E REPELENTE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ESPECIARIAS CONTRA O MOSQUITO *AEDES AEGYPTI*

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao Departamento de Farmácia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof.ª. Dra. Náira da Silva Campos
Coorientador: Prof. Dr. João Paulo Barreto Sousa

BRASÍLIA - DF
2024

FOLHA DE APROVAÇÃO

Beatriz Kono Carvalho

Avaliação dos potenciais larvicida e repelente de óleos essenciais de especiarias contra o mosquito *Aedes aegypti*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção de grau Farmacêutico

_____

Profª. Dra. Náira da Silva Campos
(Universidade de Brasília)

_____

Prof. Dr. João Paulo Barreto Sousa
(Universidade de Brasília)

_____

MSc. Laís da Silva Morais
(Membro Avaliador)

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por ter me proporcionado todas bençãos e lições que tive durante a vida, pois sem elas não estaria aqui. Deus nos manda desafios impossíveis, pois sabe que nós somos capazes de tornar o impossível possível.

À minha mãe e meu avô que estiveram desde o início da minha vida e me viram crescer; fiz questão que estivessem presentes também nesta etapa de conclusão da minha graduação.

À minha avó que me ensinou a ler e a fazer cálculos. Queria que estivesse presente nesse momento, mas Deus tinha planos maiores. Ainda assim, sei que estava presente, em alma, e que está orgulhosa de todos os meus feitos até aqui.

Ao meu pai que me ouviu chorar todos os anos sem saber como seria o futuro: eu consegui!

Ao Arthur, por ficar do meu lado nos momentos bons e ruins; por ter sido meu maior sorriso nos dias felizes e minha maior fortaleza nos dias de luta.

À minha orientadora Profª. Dra. Náira da Silva Campos, por ter sido paciente e ter me explicado várias vezes a mesma coisa, até ter certeza que eu entendi. Obrigada por todo o apoio e por toda ajuda para que esse trabalho ficasse o melhor possível.

Ao meu coorientador Prof. Dr. João Paulo Barreto Sousa, pelo apoio significativo neste trabalho e por me acompanhar durante este processo sempre com boa vontade de ensinar.

À Wanessa, por ter sido um anjo de luz e por ter me acompanhado durante todo o processo, ensinando tudo o que eu precisava saber. Muito obrigada pela paciência e amizade. Ter você ao meu lado foi crucial para a finalização dessa etapa.

A todos que desejaram o meu sucesso.

Muito obrigada.

RESUMO

A dengue é uma das doenças mais preocupantes das Américas, África e sudeste asiático. O Brasil é endêmico desde 2000, e no início de 2024 houve um pico de casos graves e óbitos. Apesar da campanha vacinal ter tido início em 2024 com a nova vacina QDENGA no SUS, o público-alvo é de pessoas com faixa etária entre 4 e 60 anos, sendo contraindicada para grupos de risco como recém-nascidos, gestantes e idosos acima de 60 anos. Para maior segurança contra a doença ainda é necessária uma soma de esforços para controle do vetor: uso de repelentes, inseticidas sintéticos, telas e mosquiteiros. Os inseticidas sintéticos são perigosos podendo causar envenenamento, morte e câncer, além de gerarem resistência de larvas e mosquitos devido ao seu uso exacerbado e tempo de exposição no meio ambiente, liberando compostos tóxicos. Como a flora do Brasil é a maior e mais robusta do mundo, vê-se uma vantagem na busca por inseticidas de origem natural, biodegradáveis e que não causem danos aos seres humanos. Neste trabalho avaliou-se a atividade larvicida e repelente de óleos essenciais e extratos brutos vegetais de 9 especiarias: capim-limão (*Cybopogom citratus*), limão-taiti orgânico (*Citrus latifolia* Tanaka), orégano (*Origanum vulgare*), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L*.),* tomilho (*Thymus* vulgaris), louro (*Laurus nobilis*), sálvia (*Salvia officinalis*), hortelã (*Mentha crispa* L*.)* e manjericão (*Ocimum basilicum* L.). Nos testes larvicidas, os óleos de capim-limão, limão-taiti e hortelã tiveram 100% e 90% de mortalidade em 48h para as concentrações de 250 µg/mL e 125 µg/mL, enquanto o óleo de manjericão só foi efetivo na concentração de 250 µg/mL. Nenhum extrato bruto apresentou atividade larvicida. Nos testes de repelência espacial, os óleos de capim-limão e limão taiti tiveram índice de repelência espacial (SAI) de 0,88 e 0,85, respectivamente, com repelência de nível intermediário classificada pelo índice repelência espacial ponderado (wSAI) de 30,5% e 40,6%. Embora nem todos os testes puderam ter sido concluídos, os óleos essenciais testados sugerem futuras pesquisas, sobretudo o óleo de hortelã, que demonstrou ser o mais potente dentre os quatro testados.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*; arbovírus; dengue, óleo essencial; óleo volátil; especiarias; *Cymbopogom citratus*, *Citrus latifolia Tanaka*, *Mentha crispa L*., *Ocimum basilicum L,* repelência; repelente natural; larvicida.

ABSTRACT

Dengue (break-bone fever) is one of the major concern diseases in the Americas, Africa and Southeast Asia. Brazil has been endemic since 2000 and at the beginning of 2024 there was a peak in severe cases and deaths. Although the vaccination campaign began in 2024 with the new QDENGA vaccine in the brazilian public health system, SUS, the target is people aged between 4 and 60 years old, and is contraindicated for risk groups such as newborns, pregnant women and elderly people. For greater safety against the disease, a combination of efforts is still necessary to control the vector: use of repellents, synthetic insecticides and mosquito nets. Synthetic insecticides are dangerous and can cause poisoning, death and cancer, in addition to generating resistance in larvae and mosquitoes due to their excessive use and exposure time in the environment, releasing toxic compounds. As Brazil's flora is the largest and most robust in the world, there is an advantage in the search for insecticides of natural origin, biodegradable and that do not cause harm to humans. In this work, the larvicidal and repellent activity of essential oils and vegetable extracts of 9 spices were evaluated: lemongrass (*Cybopogom citratus*), organic persian lime (*Citrus latifolia* Tanaka), oregano (*Origanum vulgare*), rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), thyme (*Thymus vulgaris*), bay leaf (*Laurus nobilis*), sage (*Salvia officinalis*), mint (*Mentha crispa* L.) and basil (*Ocimum basilicum* L.). In larvicidal tests results, lemongrass, persian lime and mint oils had 100% and 90% mortality in 48 hours for concentrations of 250 µg/mL and 125 µg/mL, while basil oil was only effective at the concentration of 250 µg/mL. No extract showed larvicidal activity. In spatial repellency tests, lemongrass and persian lime oils had a spatial repellency index (SAI) of 0.88 and 0.85, respectively, with intermediate level repellency classified by a weighted spatial activity index (wSAI) of 30.5% and 40.6%. Although not all tests could have been completed, the essential oils tested suggest future research, especially mint oil, which proved to be the most potent of the four tested.

Keywords: *Aedes aegypti*; arbovirus; dengue, essential oil, volatile oil, condiments; *Cymbopogom citratus*, *Citrus latifolia* Tanaka, *Mentha crispa L*., *Ocimum basilicum L* repellency; natural repellent, larvicide.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Gráfico mostra a relação de casos graves de dengue por estado do Brasil até o dia 6 de julho de 2024. 2

Figura 2 - Amostras das Famílias Poaceae: A - capim-limão (*Citrus latifolia* Tanaka), Rutaceae: B - Limão taiti orgânico (*Cymbopogon citratus*) e Lauraceae: C – Louro (*Laurus nobilis*). 7

Figura 3 - Amostras da Família Laminaceae: A – orégano (Origanum vulgare), B – hortelã (*Mentha crispa* L.), C – manjericão (*Ocimum basilicum* L.), D – alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), E – sálvia (*Salvia officinalis*), F – tomilho (*Thymus vulgaris*). 8

Figura 4 - A- Visão geral do aparelho Clevenger empregado para obtenção dos óleos essenciais e B – Destaque mostrando o óleo essencial. 9

Figura 5 - Processo de extração da amostra de hortelã. A - Filtração e obtenção do extrato B - Rotaevaporação do extrato. 10

Figura 6 - Placa de 12 poços contendo 3 poços de controle e os outros 9 poços para amostras. C = controle, 01 = capim-limão, 02 = limão taiti e 08 = hortelã. 12

Figura 7 - Teste dose-resposta realizado em placa de testes de 12 poços para a amostra de OE de limão taiti orgânico (n = 4). 13

Figura 8 - Esquema adaptado do sistema HITSS (high-throughput screening system). 1- Cilindros metálicos. 2- Cilindro transparente com abertura para entrada dos mosquitos. 3- Tampas laterais. 4- Conectores com válvulas borboleta. 5 – Cilindros metálicos internos. 14

Figura 9 - Sistema HITSS utilizado para o ensaio de repelência espacial, mostrando os cilindros de tratamento (fita vermelha), controle (fita verde) e central. 16

Figura 10 - Cromatógrafo de fase gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC) Shimadzu GC-2010 PRO. 17

Figura 11 - Perfis cromatográficos por CG-DIC. A - Série homóloga de hidrocarbonetos C8-C20. B - Óleo essencial das folhas frescas de capim-limão. A numeração de cada pico corresponde ao estudo de identificação apresentado na tabela 5. 26

Figura 12 - Estruturas químicas dos compostos detectados na amostra de óleo essencial de limão-taiti orgânico. 27

Figura 13 - Perfis cromatográficos por CG-DIC. A - Série homóloga de hidrocarbonetos C_8-C_{20}. B - Óleo essencial das folhas frescas de limão-taiti. A numeração de cada pico corresponde ao estudo de identificação apresentado na tabela 6. 29

Figura 14 - Estruturas químicas dos compostos detectados na amostra de óleo essencial de limão-taiti orgânico. 31

Figura 15 - Perfis cromatográficos por CG-DIC. A - Série homóloga de hidrocarbonetos C8-C20. B - Óleo essencial de folhas frescas de hortelã. A numeração de cada pico corresponde ao estudo de identificação apresentado na tabela 7. 33

Figura 16 - Estruturas químicas dos compostos detectados na amostra de óleo essencial de hortelã. 34

Figura 17 - Perfis cromatográficos por CG-DIC. A - Série homóloga de hidrocarbonetos C8-C20. B - Óleo essencial de folhas frescas manjericão. A numeração de cada pico corresponde ao estudo de identificação apresentado na tabela 8. 36

Figura 18 - Estruturas químicas dos compostos detectados na amostra de óleo essencial de manjericão. 37

LISTA DE QUADROS:

QUADRO 1 - Relação de nomes populares e científicos e a família das plantas utilizadas. 6

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados do teste dose-resposta em larvas de *Ae. Aegypti* após 24 h de exposição. 21

Tabela 2 - Resultados do teste dose-resposta em larvas de *Ae. Aegypti* após 48 h de exposição. 22

Tabela 3 - Resultados do teste dose-resposta em larvas de *Ae. Aegypti* após 72 h de exposição. 23

Tabela 4 - Resultados do teste de repelência espacial das amostras de OE de capim limão e limão em fêmeas de Ae. aegypti. 24

Tabela 5 - Dados para identificação de voláteis por CG-DIC a partir do óleo essencial das folhas frescas de Capim-limão. 27

Tabela 6 - Dados para identificação de voláteis por CG-DIC a partir do óleo essencial de frutos de limão-taiti orgânico. 30

Tabela 7 - Dados para identificação de voláteis por CG-DIC a partir do óleo essencial das folhas frescas de Hortelã. 34

Tabela 8 - Dados para identificação de voláteis por CG-DIC a partir do óleo essencial das folhas frescas de Manjericão. 37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

% v/v	Percentual volume/volume
Ae. aegypti	*Aedes aegypti*
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CG	Cromatografia gasosa
CG-DIC	Cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização de chama
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada ao espectometria de massas
CL50	Concentração letal 50%
CL90	Concentração letal 90%
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DMSO	Dimetilsulfóxido
EM	Espectrometria de massas
HITSS	*High-throughput screening system*
IKcal	Índice de Kovats calculado
IKlit	Índice de Kovats encontrado na literatura
KD	*Knockdown*
OMS	Organização Mundial da Saúde
PERESP	Percentual de mosquitos que apresentaram alguma resposta
SAI	Spatial repellency index
SR	Wilcoxon signed rank
SUS	Sistema Único de Saúde
TR	Tempo de retenção
wSAI	Weighted spatial repellency index

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 1
2 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS 4
2.1 JUSTIFICATIVA 4
2.2 OBJETIVOS 5
3 METODOLOGIA 5
3.1 PROCESSO DE OBTENÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS 8
3.2 PROCESSO DE OBTENÇÃO DOS EXTRATOS SECOS DE PLANTA 9
3.3 ENSAIO LARVICIDA E DE REPELÊNCIA ESPACIAL 10
3.3.1 Manutenção das cepas de Aedes aegypti 10
3.3.2 Ensaio larvicida 11
3.3.3 Ensaio de Repelência Espacial 14
3.4 Caracterização Química das amostras por CG-DIC 17
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES 18
4.1 RENDIMENTO DA EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS 18
4.2 TRIAGEM DAS AMOSTRAS COM POTENCIAL LARVICIDA 19
4.3 TESTE DOSE-RESPOSTA 20
4.4 TESTE DE REPELÊNCIA ESPACIAL 23
4.5 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DAS AMOSTRAS POR CG-DIC 25
4.5.1 Perfis cromatográficos para os extratos 25
4.5.2 Caracterizações químicas para os óleos essenciais 25
5 CONCLUSÃO 38
6 REFERÊNCIAS 40
ANEXO A - CROMATOGRAMAS DOS EXTRATOS OBTIDOS POR CG-DIC 45

1 INTRODUÇÃO

Doenças de clima tropical e subtropical como Dengue, Zika, Chikungunya e Febre Amarela são uma grande preocupação mundial em saúde pública e possuem o mesmo vetor no Brasil: o *Aedes aegypti* (*Diptera: Culicidae*) (Brasil, 2024a). Este mosquito vive em ambientes de altas temperaturas e umidade e possui 4 estágios de maturação: ovos, larvas (de estágios de 1 a 4), pupas e adultos. Em cerca de 10 dias, o mosquito já chega na fase adulta e seus ovos podem durar até 450 dias mesmo sem água (Silvério *et al*, 2020).

A fêmea do mosquito precisa de sangue para a produção e maturação de seus ovos, ação chamada de repasto sanguíneo, e, se estiver infectada com algum vírus, pode transmiti-lo para a corrente sanguínea do indivíduo que picar. É dessa forma que ocorre a transmissão das arboviroses para os seres humanos. Uma vez infectada, ela pode transmitir o vírus durante toda sua vida, cuja expectativa é de cerca de 45 dias (Silvério *et al*, 2020).

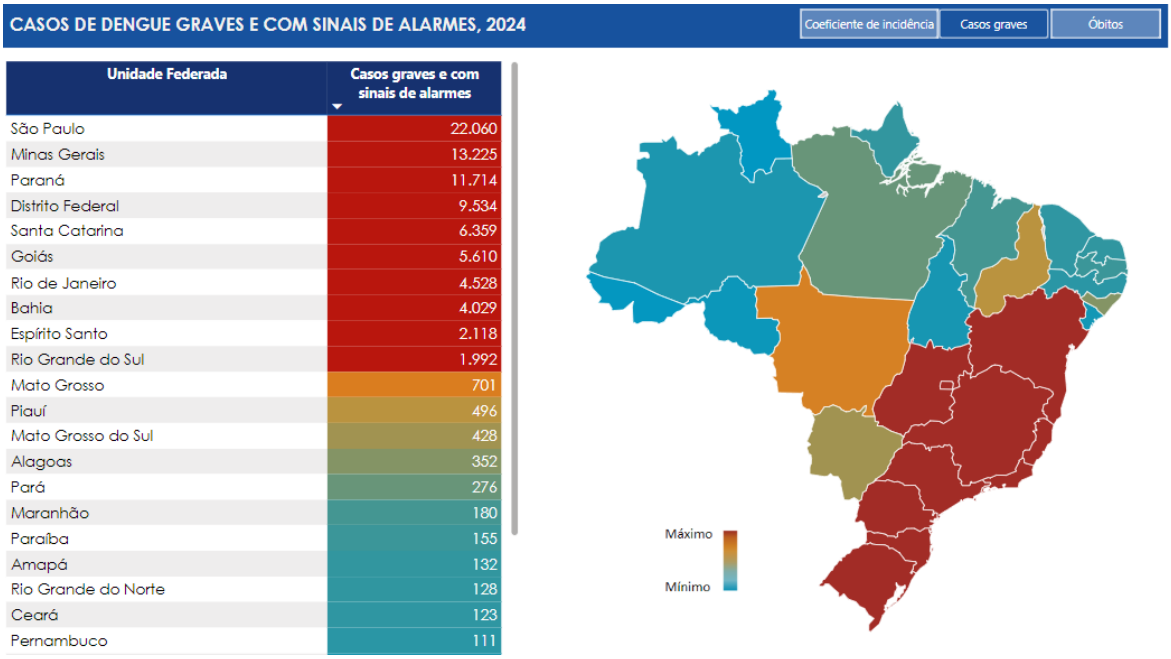
A dengue é uma das arboviroses mais preocupantes pois é endêmica em mais de 100 países e afeta diversos continentes, sobretudo as Américas, a África e o sudeste asiático, com uma estimativa de 100 a 400 milhões de infectados todo ano, (World Health Organization, 2024) sendo o Brasil um dos países mais endêmicos. O vírus causador é um flavivírus e possui 4 sorotipos, denominados DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 (Brasil, 2024b).

Normalmente, a dengue é um problema de saúde autolimitado, sendo o tratamento feito com base no alívio dos sintomas, com analgésicos e antipiréticos. Entretanto, quando a doença evolui para sua forma grave, há uma maior preocupação, pois gera extravasamento de líquido, hemorragias e pode levar à óbito. (Brasil, 2024b). A dengue hemorrágica, como a forma grave da doença é conhecida popularmente, é uma das principais causas de hospitalização e óbitos de crianças e adultos em alguns países da América Latina, o que inclui o Brasil (Sociedade Brasileira de Imunizações, 2024a).

Durante a produção deste presente trabalho, o painel de monitoramento de arboviroses do Ministério da Saúde (Brasil, 2024d) demonstrou a ocorrência de 6.253.553 casos prováveis de dengue no país todo e 4415 óbitos. Atualmente o Brasil passa pela maior epidemia da doença desde 2000 e, só em 2024, os números bateram recordes quando comparados ao ano anterior, 2023. (Brasil, 2024d; Peixoto, 2024).

Diversos estados estão em alerta, sendo a região centro-sul a mais afetada. A Figura 1 apresenta o número de casos graves por estado brasileiro até o dia 6 de julho de 2024. Os estados mais afetados tanto em incidência, quanto em casos graves e óbitos são São Paulo, Minas Gerais, Paraná e Distrito Federal. Só no DF, são 9534 casos graves e 417 óbitos (Brasil, 2024d).

Figura 1 - Gráfico mostra a relação de casos graves de dengue por estado do Brasil até o dia 6 de julho de 2024.



Unidade Federada	Casos graves e com sinais de alarmes
São Paulo	22.060
Minas Gerais	13.225
Paraná	11.714
Distrito Federal	9.534
Santa Catarina	6.359
Goiás	5.610
Rio de Janeiro	4.528
Bahia	4.029
Espírito Santo	2.118
Rio Grande do Sul	1.992
Mato Grosso	701
Piauí	496
Mato Grosso do Sul	428
Alagoas	352
Pará	276
Maranhão	180
Paraíba	155
Amapá	132
Rio Grande do Norte	128
Ceará	123
Pernambuco	111

Fonte: Brasil, 2024d.

Atualmente, há duas vacinas para a dengue liberadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para uso no Brasil. A primeira vacina é a Dengvaxia© da Sanofi Pasteur em 2019, mas é restrita a pessoas que já tiveram dengue anteriormente, ou seja, soropositivas (Brasil, 2024ª; Sociedade Brasileira de Imunizações, 2024a). Mais recentemente, em 2023, foi aprovada a vacina QDENGA©, fabricada pela indústria farmacêutica japonesa Takeda essa podendo ser aplicada tanto em soropositivos quanto em soronegativos, isto é, pessoas que nunca tiveram dengue (Brasil, 2024a). A QDENGA© foi incorporada no Sistema Único de Saúde (SUS) no final de 2023, mas só entrou no calendário vacinal em fevereiro de 2024 (Brasil, 2024b) com 2 doses, subcutâneas sendo tomadas em um intervalo de 3 meses (Sociedade Brasileira de Imunizações, 2024a).

Embora haja muita expectativa com relação à nova vacina, a faixa etária abrangida nos estudos foi de 4 a 16 anos, havendo pouca eficácia para os menores de 4 anos. Para pessoas entre 17 a 60 anos, a aprovação da vacina teve como base a extrapolação de dados de estudos de imunogenicidade, em que se verificou boa resposta imune. Já idosos acima de 60 anos não estavam entre os participantes (Sociedade Brasileira de Imunizações, 2024a). Gestantes e mulheres em fase de amamentação também não foram englobadas, portanto a vacina não é recomendada para esses grupos (Sociedade Brasileira de Imunizações, 2024a). Durante a realização deste estudo, a cobertura vacinal de adultos no SUS ainda não é contemplada, pois o foco está na distribuição das vacinas de segunda dose para os estados previamente listados que já fizeram a vacinação da primeira dose entre os meses de fevereiro e abril na faixa etária definida de 10 a 14 anos (Brasil, 2024e).

Dessa forma, são recomendadas medidas de profilaxia e controle do vetor como o controle físico, como não deixar água parada e utilizar telas em janelas e mosquiteiros sobre as camas (World Health Organization, 2024), e químico, por meio da utilização de inseticidas e larvicidas sintéticos como organofosforados, piretróides, carbamatos (Benelli, Jeffries, Walker, 2016). Porém, além destes compostos serem reconhecidos poluentes ambientais, o mosquito apresenta capacidade de resistência, reduzindo, portanto, a eficácia do produto (Silvério *et al,* 2020). Além disso, os inseticidas sintéticos podem afetar organismos não-alvos, incluindo seres humanos, causando envenenamento, morte, indução de câncer por mecanismos genotóxicos e não-genotóxicos e problemas nos sistemas renal, respiratório e reprodutivo (Hodgson, Levi, 1996).

Nesse sentido, visa-se a necessidade da busca por repelentes e larvicidas alternativos de origem natural que sejam biodegradáveis e com menor taxa de toxicidade para a saúde humana. É de grande interesse a busca pela atividade de óleos essenciais e extratos de plantas, tais como temperos utilizados comumente no dia a dia que possam ser encontrados facilmente no território brasileiro.

Os óleos essenciais (OE) são metabólitos secundários produzidos pelas plantas como uma forma de defesa contra predadores e microrganismos patogênicos bem como agente polinizador, devido aos aromas fortes (Sousa, 2021), e são usados para afastar os insetos a cerca de 3000 anos na Europa (Pavela, 2016). São uma mistura complexa de diversos compostos voláteis cuja maioria são monoterpenos,

sesquiterpenos e seus derivados oxigenados (Santos *et al*, 2023) como aldeídos, álcoois e fenóis, que agem com efeito sinérgico entre si (Pavela, 2016). A atividade biológica dos óleos essenciais contra os insetos, principalmente contra o *Ae. aegypti*, pode ser avaliada através de ensaios larvicidas, adulticidas e de repelência preconizados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (World Health Organization, 2005, World Health Organization, 2013, World Health Organization, 2016).

Muitos óleos essenciais demonstram atividade de repelência, larvicida, e adulticida o que abre um campo de pesquisa imenso nessa área (Santos *et al*, 2022). Seus diversos compostos em sinergia conseguem afetar os processos biológicos de insetos, causando desregulação endócrina, podendo afetar processos neuronais ou de crescimento (Pavela, 2016), causando pouco ou nenhum dano a mamíferos (Santos *et al*, 2023). Além disso, configuram um importante papel evitando a resistência, visto que enquanto os inseticidas sintéticos só possuem um componente ativo, os OEs possuem vários (Osanloo *et al*, 2019).

2 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

2.1 JUSTIFICATIVA

O controle do vetor ainda se mantém como principal estratégia de proteção contra o mosquito *Aedes aegypti* e doenças transmitidas por este visto que, muito embora a nova vacina tenha entrado recentemente no calendário vacinal do SUS, não engloba grupos de risco como recém-nascidos, gestantes, lactantes e idosos acima de 60 anos.

Segundo a OMS, o inseticida ideal além de eficaz, deve ser sustentável, economicamente viável e ter baixa toxicidade em mamíferos. Para os larvicidas, é necessário que suas composições não alterem significativamente as características da água do local em que é utilizado (Organização Mundial da Saúde, 2006). Os óleos essenciais se enquadram nessas características preconizadas com a vantagem de estarem facilmente disponíveis na natureza, principalmente no Brasil, que possui a maior e mais rica flora do mundo (Santos *et al* 2022).

As famílias de plantas Lamiaceae, Rutaceae e Myrtaceae são as mais estudadas para avaliação da atividade larvicida e repelente de combate ao vetor *Ae. Aegypti* nos últimos anos, sendo Myrtaceae e Lamiaceae duas das maiores no Brasil,

em termos de espécies, com 1.038 e 500, respectivamente (Santos *et al*; 2022). Na região centro-oeste, é possível encontrar 249 espécies de Lamiaceae, 213 espécies de Myrtaceae e 56 espécies de Rutaceae (Flora e Funga do Brasil, 2024). Neste trabalho, especiarias das famílias Poaceae, Rutaceae, Lauraceae e Lamiaceae, comumente encontradas no Brasil, sobretudo no Distrito Federal, foram selecionadas para avaliação da atividade larvicida e de repelência espacial de seus extratos e óleos essenciais.

2.2 OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho consiste na avaliação do potencial larvicida e de repelência espacial contra o vetor *Aedes aegypti* de extratos e óleos essenciais obtidos a partir de especiarias.

Os objetivos específicos são:

1. Obter extratos secos vegetais de especiarias;
2. Extrair óleos essenciais de especiarias de interesse comercial e industrial;
3. Desenvolver uma metodologia de análise e identificação dos constituintes prevalentes dos óleos essenciais e dos extratos secos;
4. Avaliar o potencial larvicida e de repelência espacial contra *Ae. aegypti*.

3 METODOLOGIA

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Farmacognosia da Universidade de Brasília - onde foram realizadas as extrações dos óleos essenciais e dos extratos vegetais - e no Laboratório José Elias de Paula, conhecido também como Insetário Arbocontrol, onde foram realizados os testes com larvas e mosquitos adultos do vetor *Aedes aegypti*.

As plantas selecionadas para estudo foram, em sua maioria, da família Lamiaceae, pois é a família com maior número de especiarias. Além disso, foram incluídas também capim limão, limão taiti e louro, as quais são das famílias Poaceae, Rutaceae e Lauraceae, respectivamente. As amostras utilizadas neste trabalho foram adquiridas com produtores locais do Distrito Federal na CEASA-DF, localizada na Cidade de Brasília-DF, nos meses de janeiro e fevereiro de 2024. A amostra de limão

taiti orgânico foi coletada direto do pé na Asa Norte, Brasília-DF. Após a coleta, foram levadas para o Laboratório onde foram codificadas (óleo essencial: ARBO041AXXOE extrato: ARBO041AXXE, onde XX é o número da amostra) e armazenadas sob refrigeração em saco plástico até o momento da extração.

O nome popular e científico de todas as plantas utilizadas neste trabalho, bem como suas receptivas famílias estão listadas no Quadro 1.

QUADRO 1 - Relação de nomes populares e científicos e a família das plantas utilizadas.

Número da Amostra	**Nome Popular**	**Nome Científico**	**Família**	**Códigos**
01	Capim Limão	*Cymbopogon citratus*	Poaceae	ARBO041A01OE
				ARBO041A01E
02	Limão taiti (orgânico)	*Citrus latifolia* Tanaka	Rutaceae	ARBO041A02OE
03	Orégano	*Origanum vulgare*	Lamiaceae	ARBO041A03E
04	Alecrim	*Rosmarinus officinalis L.*	Lamiaceae	ARBO041A04E
05	Tomilho	*Thymus vulgaris*	Lamiaceae	ARBO041A05E
06	Louro	*Laurus nobilis*	Lauraceae	ARBO041A06E
07	Sálvia	*Salvia officinalis*	Lamiaceae	ARBO041A07E
08	Hortelã	*Mentha crispa L.*	Lamiaceae	ARBO041A08OE
				ARBO041A08E
09	Manjericão	*Ocimum basilicum L.*	Lamiaceae	ARBO041A09OE
				ARBO041A09E

Fonte: Flora e Funga do Brasil, 2020; Battistin, 2011

A Figura 2 apresenta as amostras das famílias Poaceae, Rutaceae e Lauraceae, enquanto a Figura 3 apresenta as amostras da família Lamiaceae, utilizadas neste estudo.

Figura 2 - Amostras das Famílias Poaceae: A - capim-limão (*Citrus latifolia* Tanaka), Rutaceae: B - Limão taiti orgânico (*Cymbopogon citratus*) e Lauraceae: C – Louro (*Laurus nobilis*).



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Figura 3 - Amostras da Família Laminaceae: A – orégano (*Origanum vulgare*), B – hortelã (*Mentha crispa* L.), C – manjericão (*Ocimum basilicum* L.), D – alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), E – sálvia (*Salvia officinalis*), F – tomilho (*Thymus vulgaris*).



Fonte: elaborado pelo autor (2024); F - Reavivamente, 2024.

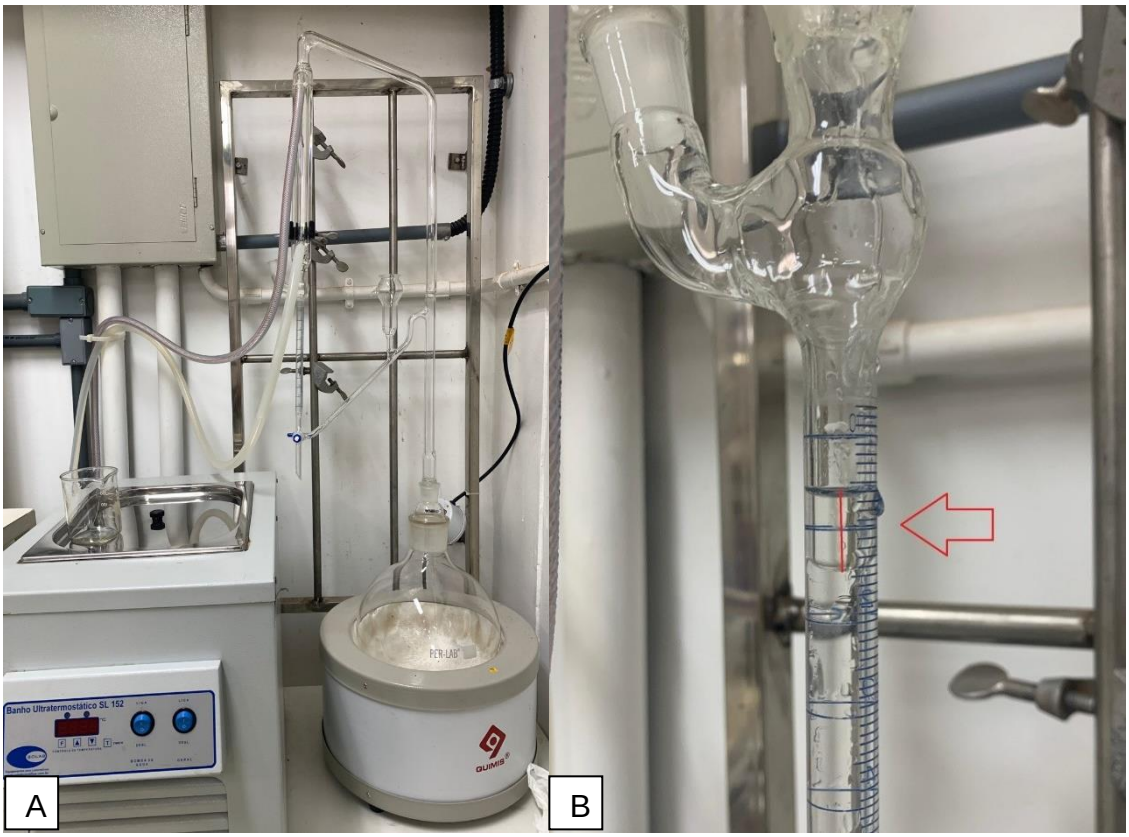
Das amostras capim-limão, hortelã e manjericão foram extraídos tanto óleo essencial quanto extrato vegetal. Do limão taiti orgânico foi extraído apenas o óleo essencial e das amostras orégano, alecrim, tomilho, louro e sálvia, foram extraídos apenas os extratos secos vegetais, por motivos logísticos. Dessa forma, foram utilizadas 9 espécies de plantas, totalizando 12 amostras, sendo 4 óleos essenciais e 8 extratos.

3.1 PROCESSO DE OBTENÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais (OE) foram obtidos por hidrodestilação empregando aparelho Clevenger (FARMACOPEIA BRASILEIRA vol 1, 2020; SIMÕES; 2017), como mostra a Figura 4. Para a obtenção de OE das plantas capim-limão e manjericão, utilizou-se aproximadamente 800 e 400 g das folhas, respectivamente, que foram retiradas dos galhos e recortadas com tesoura. Para a amostra de hortelã, o OE foi extraído empregando folhas e galhos, totalizando cerca de 800 g de material vegetal. O OE da amostra de limão taiti orgânico, empregou-se cerca de 1000 g dos frutos, que foram cortados em 4 partes com auxílio de uma faca de inox. Após a separação

e pesagem, as amostras foram transferidas para um balão de fundo redondo de 6 L de capacidade com posterior adição de 3 L de água potável. A hidrodestilação começou quando a temperatura do sistema atingiu 100 ºC, que foi mantida por 2 h. Os óleos essenciais foram coletados em frascos estéreis de vidro, identificados de acordo com o código da amostra e armazenados no freezer (-20 ºC) até o momento de sua utilização. O rendimento foi calculado em função da massa de OE obtida e da massa de planta inicial.

Figura 4 - A- Visão geral do aparelho Clevenger empregado para obtenção dos óleos essenciais e B – Destaque mostrando o óleo essencial.



Fonte: elaborado pelo autor (2024)

3.2 PROCESSO DE OBTENÇÃO DOS EXTRATOS SECOS DE PLANTA

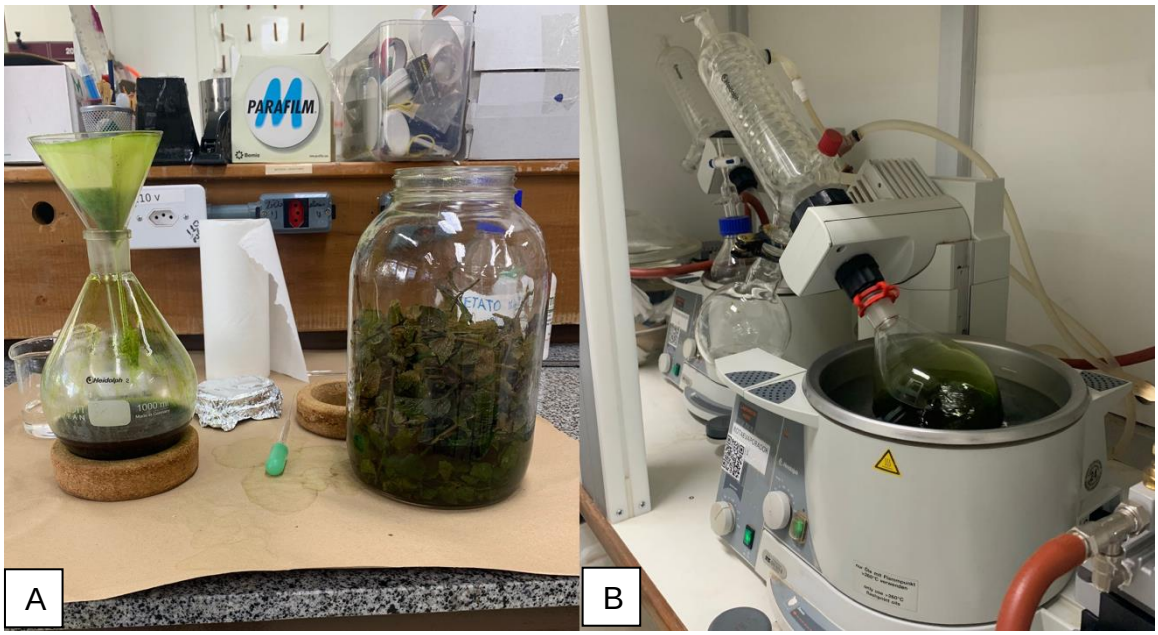
Para obtenção dos extratos empregou-se folhas e galhos das amostras, com massas entre 100 e 200 g. As plantas coletada foram pesadas secas em uma folha de papel alumínio e transferidas para um frasco de vidro previamente pesado, com posterior adição do solvente. Para todas as extrações realizadas, o solvente utilizado

foi a combinação Etanol e Acetato de Etila (1:1) totalizando 2 L. Em seguida, a mistura foi levada para extração em banho ultrassônico à temperatura de 45 º C por 2 h.

Em seguida, fez-se uma filtração empregando papel de filtro qualitativo e o extrato obtido foi acondicionado em um balão de fundo redondo e levado ao rotavapor, com temperatura do banho-maria de 40°C e rotação entre 55 e 100 rpm.

Ao final do ciclo de rotaevaporação, empregou-se pequenos volumes de acetato de etila para remoção do extrato das paredes do balão, que foi então transferido para um recipiente pequeno de vidro e identificado com o código ARBO da amostra extraída. Por fim, o frasco contendo o extrato foi colocado na capela com exaustão, para evaporação do solvente e obtenção dos extratos brutos secos. A Figura 5 ilustra o processo de extração para uma das amostras (hortelã).

Figura 5 - Processo de extração da amostra de hortelã. A - Filtração e obtenção do extrato B - Rotaevaporação do extrato.



Fonte: elaborado pelo autor (2024)

3.3 ENSAIO LARVICIDA E DE REPELÊNCIA ESPACIAL

3.3.1 Manutenção das cepas de Aedes aegypti

Os ensaios larvicida e de repelência foram realizados no Insetário Arbocontrol (Laboratório Professor José Elias de Paula), anexo ao Laboratório de Farmacognosia,

no qual são mantidas cepas Rockfeller de *Aedes aegypti* tratadas conforme preconizado pela Organização Mundial da Saúde (World Health Organization, 2005).

Os mosquitos são tratados sob condições de fotoexposição (12 horas) em sala de criação com umidade e temperatura controladas. São divididos em gaiolas onde são alimentados com solução de água com açúcar a 10% adicionada a um recipiente de vidro com papel filtro. Além disso, as fêmeas do mosquito são alimentadas com sangue de equino para produção e maturação dos ovos.

A eclosão dos ovos para a obtenção de larvas em estágio L3, empregada no teste larvicida, é realizada com 50 mg de ovos obtidos dos papéis de oviposição previamente retirados das gaiolas e secos sob temperatura ambiente. Os ovos pesados são mantidos sob vácuo por 1 hora para melhor homogeneidade do tempo de eclosão e depois transferidos para uma bandeja plástica (dimensões de 50 cm x 35 cm x 8 cm), contendo 4 L de água potável. As larvas são mantidas nestas bandejas em uma sala de criação onde são alimentadas com ração para peixe, com controle de temperatura (25 a 28°C) e umidade relativa do ar (60 a 80 %).

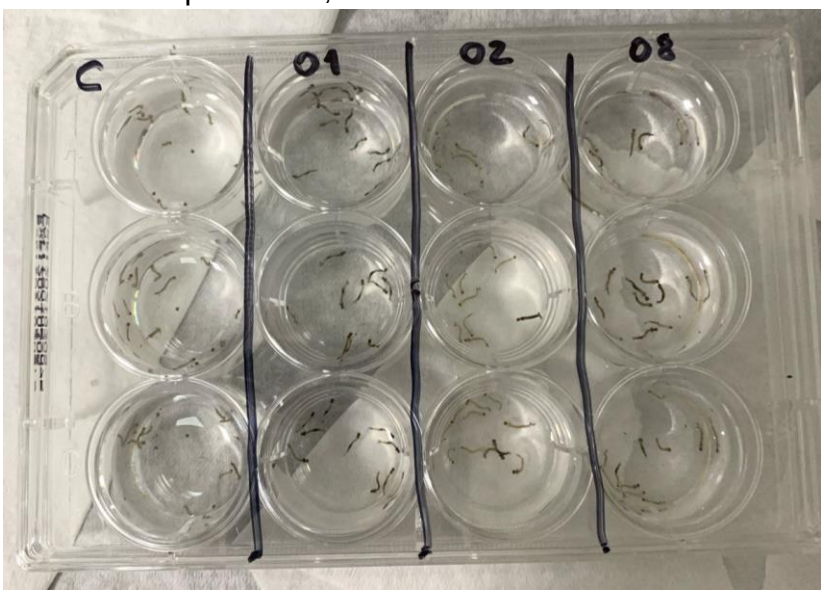
Para realização dos ensaios de repelência espacial, apenas as fêmeas do mosquito adulto são utilizadas. As pupas são coletadas das bandejas e os indivíduos machos são separados das fêmeas, sendo estas transferidas para uma gaiola separada e identificada e alimentadas apenas com solução açucarada (sem contato com sangue).

3.3.2 Ensaio larvicida

3.3.2.1 Triagem das amostras com atividade larvicida

A triagem tem como objetivo a identificação de uma possível atividade larvicida das amostras estudadas e qual sua taxa de mortalidade. Para realização deste ensaio, as amostras foram preparadas na concentração de 15mg/mL diluídas em 1mL de DMSO (Dimetilsulfóxido) 99,7% para que a concentração final no poço fosse de 250 µg/mL após dissolução em DMSO. Preparou-se uma placa de teste de doze poços, com adição de 10 larvas em estágio L3 por poço e 3 mL de água desclorada. Os testes foram realizados em triplicata com adição de 50 µL da amostra por poço e, como controle negativo, utilizou-se 50 µL de DMSO, também em triplicata. A Figura 6 ilustra o ensaio de triagem para algumas amostras de OE.

Figura 6 - Placa de 12 poços contendo 3 poços de controle e os outros 9 poços para amostras. C = controle, 01 = capim-limão, 02 = limão taiti e 08 = hortelã.



Fonte: elaborado pelo autor (2024)

A mortalidade das larvas foi observada após 24, 48 e 72 h com contagem manual, considerando a larva morta quando não mais se movimentava na placa quando agitada. A Equação 1 foi utilizada para o cálculo da porcentagem de mortalidade para cada amostra avaliada bem como para o controle. As amostras foram consideradas ativas quando apresentaram mortalidade acima de 50 %.

$$Mortalidade\ (\%) = \frac{média\ (10 - n°\ larvas\ vivas)}{10\ (n°\ de\ larvas\ total)}\ x\ 100 \quad (1)$$

3.3.2.2 Teste dose-resposta

O teste dose-resposta foi utilizado para avaliar a concentração mínima das amostras OE de capim-limão, hortelã, limão-taiti orgânico e manjericão que cause atividade larvicida. Para isto, preparou-se as amostras de OE na concentração de 15 mg/mL em DMSO com posterior diluição seriada na placa de testes de poços. As concentrações avaliadas de OE foram 250, 125, 63, 31 e 15 µg/mL. Em cada poço contendo 10 larvas L3 e 3 mL de água desclorada, adicionou-se 50 µL da amostra nas diferentes concentrações, em quadruplicata. Como controle negativo utilizou-se DMSO, aplicando 50 µL na placa contendo 3 mL de água desclorada, também em quadruplicata. A mortalidade das larvas foi observada após 24, 48 e 72 horas com

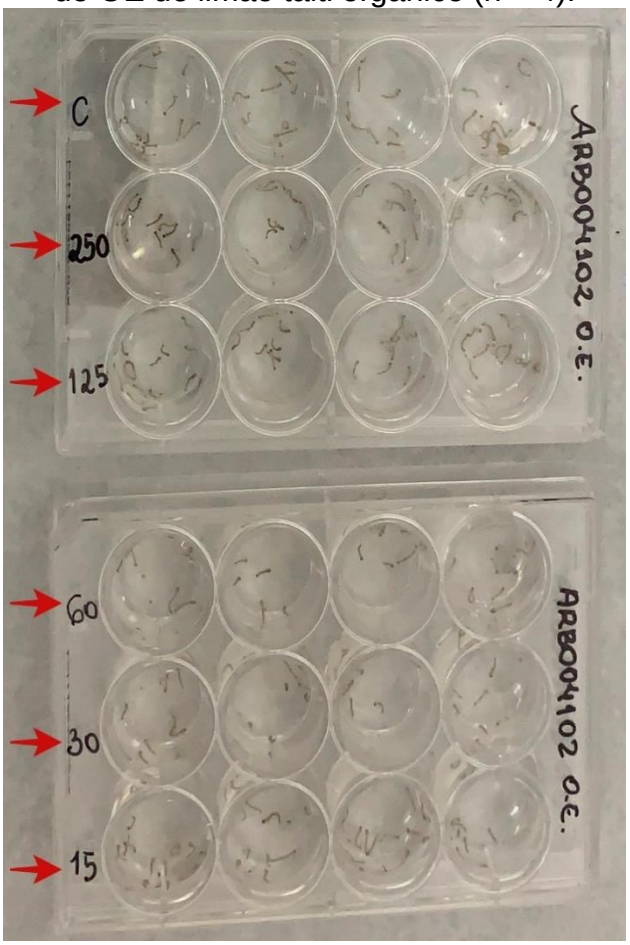
contagem manual, considerando a larva morta quando não mais se movimentava na placa quando agitada. A Equação 1 foi utilizada para o cálculo da porcentagem de mortalidade para cada amostra avaliada bem como para o controle. A Figura 7 apresenta o teste dose-resposta realizado para a amostra de limão taiti orgânico.

Caso haja de 5% a 20% de larvas mortas nos poços de controle negativo, é necessário fazer a correção através da fórmula de Abbott, descrita na Equação 2.

$$Mortalidade\ (\%)\ \frac{X-Y}{X}\ x\ 100 \quad (2)$$

Em que X é porcentagem de larvas sobreviventes no controle e Y a porcentagem de sobreviventes nos poços contendo o tratamento.

Figura 7 - Teste dose-resposta realizado em placa de testes de 12 poços para a amostra de OE de limão taiti orgânico (n = 4).

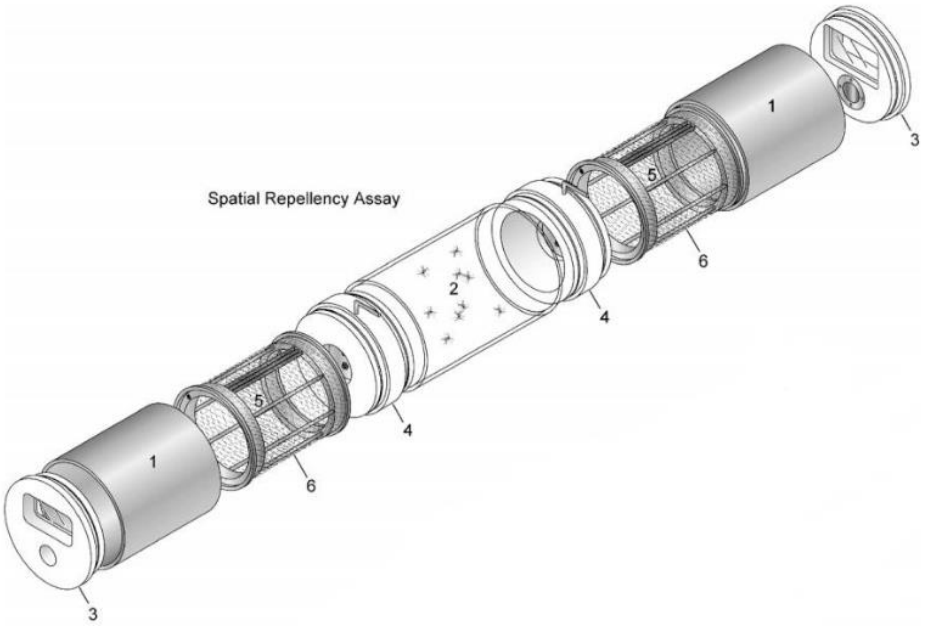


Fonte: elaborado pelo autor (2024)

3.3.3 Ensaio de Repelência Espacial

O ensaio de repelência espacial realizado neste estudo foi desenvolvido em colaboração com pesquisadores da *University of Notre Dame* (Achee, Grieco, 2019) e utiliza o sistema de triagem de alto rendimento, HITSS (do inglês: *high-throughput screening system*). Este sistema é formado por dois cilindros metálicos, que são preenchidos com uma tela impregnada com o solvente (controle negativo) e o tratamento, cujas posições são montadas lateralmente, e um cilindro transparente ao centro. Cada um dos lados possui duas aberturas contendo válvulas borboletas. Dessa forma é possível mantê-los fechados durante a inserção dos mosquitos fêmeas no cilindro central e abrir as válvulas ao mesmo tempo para o experimento (Achee, Grieco, 2019; Magalhães, 2024), como ilustra a Figura 8.

Figura 8 - Esquema adaptado do sistema HITSS (high-throughput screening system). 1- Cilindros metálicos. 2- Cilindro transparente com abertura para entrada dos mosquitos. 3- Tampas laterais. 4- Conectores com válvulas borboleta. 5 – Cilindros metálicos internos.



Fonte: (Adaptado de Achee, 2009; MAGALHÃES, 2020.

O ensaio foi realizado com as fêmeas do mosquito adulto com idade de 4 dias, que foram criadas em gaiolas após separação das pupas, como descrito no item 3, e alimentadas apenas com água açucarada. No dia anterior ao teste, a alimentação foi retirada e, no dia do teste pela manhã, as fêmeas foram transferidas em grupos de 20

± 2 indivíduos para potes de plástico vedados com lençol de borracha. Em seguida foram levadas para a sala de testes para ambientação e mantidas a temperatura de 28ºC e umidade relativa do ar abaixo de 70 %.

O ensaio foi realizado para as amostras de óleos essenciais de capim-limão (ARBO041A01OE) e limão taiti orgânico (ARBO041A02OE) nos meses de abril e maio de 2024. Para o teste, preparou-se uma solução do OE à 10 %v/v em acetona, que foi utilizada como controle negativo. A rede controle (275 cm² de área) foi impregnada com 1,5 mL de acetona, divididos em duas aplicações de 750 µL, enquanto a rede de tratamento foi impregnada com a amostra nas mesmas condições. Em seguida aguardou-se 5 minutos para secagem e transferiu-se as redes para o interior dos cilindros metálicos mostrados na Figura 8, primeiro a de controle e depois a de tratamento.

No cilindro central do sistema foram adicionadas 20 ± 2 fêmeas, as borboletas dos cilindros foram abertas simultaneamente, o sistema foi coberto com um pano escuro e a contagem do tempo (10 minutos) foi iniciada. A luz da sala foi apagada para não houvesse viés em relação ao sentido de direção dos mosquitos e os analistas se deslocaram para outra sala. Após os 10 minutos, as válvulas foram fechadas e realizou-se a contagem dos indivíduos em cada um dos cilindros e no cilindro central. Nas fichas de controle foram registrados dados como idade das fêmeas, temperatura e umidade da sala, número de indivíduos mortos (KD, do inglês *knockdown*) em cada cilindro, ao início e ao final do teste, horário inicial e final do ensaio. O mosquito foi considerado morto quando estava de cabeça para baixo e/ou deitado sem apresentar movimentação. O ensaio foi realizado em 9 réplicas e, após a 5ª réplica, utilizou-se uma nova rede de tratamento impregnada com a amostra de OE como descrito. A Figura 9 apresenta o arranjo experimental utilizado para este ensaio.

Figura 9 - Sistema HITSS utilizado para o ensaio de repelência espacial, mostrando os cilindros de tratamento (fita vermelha), controle (fita verde) e central.



Fonte: elaborado pelo autor (2024)

Para avaliação dos resultados, foram calculados os índices SAI, índice de atividade espacial (do inglês: *spatial activity index*) e o wSAI (do inglês: *weighted spatial activity index*) (Magalhães, 2020).

O SAI é utilizado para avaliar se houve ou não algum efeito migratório das fêmeas em alguma direção no sistema HITSS e é calculado pela Equação 3, onde N_c é o número de fêmeas no cilindro de controle e N_t é o número de fêmeas no cilindro de tratamento.

$$SAI = \frac{(Nc-Nt)}{(Nc+Nt)} \qquad (3)$$

Para avaliar a porcentagem do efeito de repelência espacial ou de atração, caso exista, utiliza-se o wSAI (Equação 4), calculado pelo produto de SAI com a porcentagem de resposta, PERESP (Equação 5).

$$wSAI\ (\%) = PERESP\ x\ SAI \quad (4)$$

$$PERESP(\%) = \frac{(Nc+Nt)}{N}\ x\ 100 \quad (5)$$

3.4 Caracterização Química das amostras por CG-DIC

A caracterização química das amostras de OE e extratos obtidas neste estudo foi realizada por Cromatografia Gasosa com Detector por Ionização de Chama (CG-DIC) empregando um cromatógrafo de fase gasosa com detector de ionização de chama, *Shimadzu GC-2010 PRO* (Figura 10).

Figura 10 - Cromatógrafo de fase gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC) *Shimadzu GC-2010 PRO*.



Fonte: Laboratório de Farmacognosia (2024)

As amostras foram preparadas para análises cromatográficas com concentrações finais variando entre 102 e 158 µg/mL. Como os extratos são polares, utilizou-se o metanol como solvente, já os óleos, por serem apolares, utilizou-se o hexano, sendo ambos em graus cromatográficos.

Para os extratos, utilizou-se a metodologia cromatográfica com o injetor funcionando à 280°C no modo *split,* na proporção de 50:1, e detector mantendo-se a temperatura em 300°C. O gradiente de temperatura para o forno foi desenvolvido de forma linear iniciando-se com a temperatura de 50°C, aumentando gradativamente até 285°C ao longo de cerca de 35 minutos de análise.

Já para os óleos essenciais, a temperatura do injetor era de 250°C no modo *split,* na proporção de 50:1, enquanto o detector foi mantido na temperatura de 280°C.

O gradiente de temperatura para o forno também foi linear iniciando-se com 50°C sendo aumentado gradativamente até 260°C ao longo de cerca 25 minutos de análise.

Para ambas as metodologias, o nitrogênio foi usado como gás de arraste e as separações dos compostos foram obtidas utilizando-se uma coluna cromatográfica capilar SH-5 com comprimento de 30 m, diâmetro interno de 0,25 mm e filme líquido de 0,25 µm contendo a proporção 5 % de difenil e 95 % de dimetilpolisiloxano, com injeção de 1,5 µL amostra.

Para identificar os compostos das amostras analisadas foram calculados os índices de Kovats (IKc) utilizando como base o perfil cromatográfico da série homóloga de hidrocarbonetos da marca *Sigma Aldrich* contendo: *n*-octano C_8, *n*-nonano C_9, *n*-decano C_{10}, *n*-undecano C_{11}, *n*-dodecano C_{12}, *n*-tridecano C_{13}, *n*-tetradecano C_{14}, *n*-pentadecano C_{15}, *n*-hexadecano C_{16}, *n*-heptadecano C_{17}, *n*-octadecano C_{18}, *n*-nonadecano C_{19}, e *n*-eicosano C_{20}. Todos os perfis cromatográficos, tanto da série homóloga como das amostras deste estudo, estavam sob as mesmas condições analíticas.

A seguir, utilizou-se a Equação 6, descrita por Clement (1990) para os cálculos de IKc. Todos os índices foram comparados e confirmados pela literatura disponível (IKlit) na plataforma *Pherobase* (El-Sayed, 2024) em conjunto com os dados disponíveis no *Pubchem* (NCBI, 2024).

$$IK = \left\{\frac{[(Tr_x - Tr_{cn-1})\ x\ (C_n - C_{n-1})\ x\ 100}{(trcn - trcn-1)}\right\} + 100\ x\ C_{n-1} \quad (6)$$

Onde, IK = Índice de Kovats; Tr_x = Tempo de retenção do analito a ser identificado; Tr_{cn} = Tempo de retenção do n-alcano posterior ao analito; Tr_{cn-1} = Tempo de retenção do n-alcano anterior ao analito; C_n = número de carbono do n-alcano posterior; C_{n-1} = número do carbono do n-alcano anterior.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Rendimento da extração dos Óleos Essenciais

Observou-se grande diferença de rendimento para a extração de OE das 4 amostras de especiarias. Para as amostras de capim-limão, hortelã e limão taiti

orgânico, os rendimentos obtidos foram de 0,4 %, 0,08 % e 0,05 %, respectivamente. Por questões operacionais o rendimento para a extração de OE da amostra de manjericão não foi calculado. Contudo, estes resultados já eram esperados, visto que a quantidade de óleo produzida pode variar de planta para planta e até mesmo para a mesma espécie e mesma parte utilizada para a extração. Além disso, fatores como clima, horário de colheita e terra em que foram cultivadas podem afetar a quantidade dos óleos existentes na planta (SIMÕES; 2017). As quantidades de OE obtidas foram suficientes para realização de todos os estudos propostos neste trabalho.

4.2 Triagem das amostras com potencial larvicida

Os resultados observados no teste de triagem não indicaram atividade larvicida para os extratos vegetais obtidos, nos três períodos (24, 48 e 72 h) de exposição na concentração final de 250 µg/mL, pois considerou-se ativas as amostras acima de 50% de mortalidade das larvas. A taxa de mortalidade do extrato seco de capim-limão foi de 0% e a do orégano foi 3% em 72h. Extratos de alecrim e de louro tiveram 3,33% e 10%, respectivamente, em 48h, que mudou drasticamente para 30% em ambas em 72h. O extrato de tomilho apresentou 0% de mortalidade até 48h, aumentando drasticamente para 43% em 72h, indicando morte das larvas por falta de alimentação entre 48h e 72h. Sálvia apresentou 10% de mortalidade em 48h, que subiu para 20% em 72h. Já os extratos de hortelã e de manjericão obtiveram 3,33% e 6,66%, respectivamente, nas últimas 72h avaliadas.

Por outro lado, observou-se potencial de atividade larvicida para as 4 amostras de OE avaliadas. Para as amostras de OE de capim limão, hortelã e limão taiti orgânico, observou-se uma taxa de mortalidade de 100 % dos indivíduos, já nas primeiras 24 h de exposição. Já para o OE da amostra de manjericão, observou-se taxa de mortalidade de 56 % dos indivíduos nas primeiras 24 h, com aumento para 87 % que se manteve em 48h e 72h.

Com base nos resultados do teste de triagem, prosseguiu-se com os ensaios dose-resposta apenas para as amostras de óleos essenciais, visto que todas obtiveram taxa de mortalidade acima de 50%.

4.3 Teste Dose-Resposta

As Tabelas 1, 2 e 3 apresentam a taxa de letalidade das larvas L3 observadas para as diferentes concentrações das amostras de OE de, nos períodos de exposição de 24, 48 e 72 h, respectivamente.

Nas primeiras 24 h de exposição (Tabela 1) observou-se taxa de mortalidade acima de 90 % para as amostras de OE de capim-limão, limão taiti orgânico e hortelã, nas concentrações de 250 e 125 µg/mL, e para o OE de manjericão na concentração de 250 µg/mL. Para as demais concentrações, observou-se taxa de mortalidade acima de 50 % apenas para a concentração de 63 µg/mL de OE de hortelã.

Para o tempo de exposição de 48 h, como mostra a Tabela 2, houve taxa de mortalidade acima de 50 % para a concentração de 63 µg/mL apenas nas amostras de OE capim-limão e hortelã. Já para a concentração de 31 µg/mL, observou-se uma taxa de mortalidade de 50 % para a amostra de OE de hortelã, a única a apresentar letalidade nesse porcentual após 48 de exposição.

Após o período de exposição de 72 h (Tabela 3), não foram observadas diferenças significativas em relação aos resultados obtidos em 48 h.

Devido às porcentagens de letalidade vistas no controle negativo da amostra de limão-taiti estarem entre 5 a 20%, as mesmas foram corrigidas pela fórmula de Abbott (Equação 2).

Com base nestes resultados, a amostra de óleo essencial de hortelã destaca-se por apresentar atividade em uma menor concentração (31 µg/mL) que as demais avaliadas.

O teste dose-resposta permite determinar a concentração letal 50 (CL50) e a concentração letal 90 (CL90), ou seja, a concentração do tratamento que causa letalidade de 50 e 90 % dos indivíduos, respectivamente. Para determinação destes parâmetros em ensaios de atividade larvicida, a OMS recomenda a realização do teste dose-resposta em copo com as medidas realizadas em quadruplicata em 3 dias diferentes, com larvas diferentes, o que não foi realizado neste estudo pois não houve tempo hábil. Contudo, os dados aqui divulgados mostram o potencial larvicida das 4 amostras de OE, em especial da amostra de OE de hortelã. Etapas futuras do projeto serão realizadas para determinação destes parâmetros.

Tabela 1 - Resultados do teste dose-resposta em larvas de *Ae. Aegypti* após 24 h de exposição.

Amostra	Concentração da amostra (µg/mL)	N° de larvas mortas em 24h					
		1	2	3	4	Média	%
Cymbopogon citratus	250	10	10	10	10	10	100
	125	10	10	10	10	10	100
	63	6	4	2	3	3,75	37,5
	31	1	3	0	1	1,25	12,5
	15	1	0	1	2	1	10
	CT (DMSO)	6	4	0	1	2,75	2,75
Citrus latifolia Tanaka	250	10	10	10	10	10	100*
	125	10	10	10	7	9,25	92,1*
	63	1	6	2	6	3,75	34,2*
	31	3	2	4	3	3	26,3*
	15	0	1	2	0	1	5,26*
	CT (DMSO)	1	0	1	0	0,5	5
Mentha crispa L.	250	10	10	10	10	10	100
	125	10	10	9	9	9,5	95
	63	9	4	9	6	7	70
	31	6	5	3	5	4,75	47,5
	15	0	0	0	0	0	0
	CT (DMSO)	0	0	0	0	0	0
Ocimum basilicum L.	250	9	9	9	9	9	90
	125	3	2	2	2	2,25	22,5
	63	0	0	0	0	0	0
	31	0	0	0	0	0	0
	15	0	0	0	0	0	0
	CT (DMSO)	0	0	0	0	0	0

Legenda: CT = Controle. *Corrigido pela fórmula de Abbott.
Fonte: elaborado pelo autor (2024)

Tabela 2 - Resultados do teste dose-resposta em larvas de *Ae. Aegypti* após 48 h de exposição.

Amostra	Concentração da amostra (µg/mL)	N° de larvas mortas em 48h					
		1	2	3	4	Média	%
Cymbopogon citratus	250	10	10	10	10	10	100
	125	10	10	10	10	10	100
	63	8	4	5	3	5	50
	31	1	4	2	3	2,5	25
	15	1	0	2	2	1,25	12,5
	CT (DMSO)	7	4	5	2	4,5	45
Citrus latifolia Tanaka	250	10	10	10	10	10	100*
	125	10	10	10	7	9,25	91,4*
	63	3	6	8	5	5,5	48,6*
	31	3	2	4	3	3	20*
	15	1	1	2	1	1,25	0*
	CT (DMSO)	2	0	1	2	1,25	12,5
Mentha crispa L.	250	10	10	10	10	10	100
	125	10	10	10	10	10	100
	63	10	5	9	8	8	80
	31	6	5	3	6	5	50
	15	0	1	1	0	0,5	5
	CT (DMSO)	0	0	0	0	0	0
Ocimum basilicum L.	250	10	10	10	10	10	100
	125	5	4	3	4	4	40
	63	0	1	0	2	0,75	7,5
	31	1	0	2	0	0,75	7,5
	15	0	0	0	1	0,25	2,5
	CT (DMSO)	0	0	0	0	0	0

Legenda: CT = controle. *Corrigido pela fórmula de Abbott.
Fonte: elaborado pelo autor (2024)

Tabela 3 - Resultados do teste dose-resposta em larvas de *Ae. Aegypti* após 72 h de exposição.

Amostra	Concentração da amostra (µg/mL)	N° de larvas mortas em 72h					
		1	2	3	4	Média	%
Cymbopogon citratus	250	10	10	10	10	10	100,0
	125	10	10	10	10	10	100,0
	63	8	4	5	3	5	50
	31	1	4	2	3	2,5	25
	15	1	0	2	4	1,75	17,5
	CT (DMSO)	7	5	5	2	4,75	47,5
Citrus latifolia Tanaka	250	10	10	10	10	10	100*
	125	10	10	10	7	9,25	91,4*
	63	3	6	8	5	5,5	48,6*
	31	3	2	4	3	3	20*
	15	1	1	2	1	1,25	0*
	CT (DMSO)	2	0	1	2	1,25	12,5
Mentha crispa L.	250	10	10	10	10	10	100
	125	10	10	10	10	10	100
	63	10	7	9	8	8,5	85
	31	8	6	4	6	6	60
	15	0	2	2	1	1,25	12,5
	CT (DMSO)	0	2	6	4	3	30
Ocimum basilicum L.	250	10	10	10	10	10	100
	125	6	5	5	5	5,25	52,5
	63	0	1	2	2	1,25	12,5
	31	2	0	2	0	1	10
	15	1	0	0	1	0,5	5
	CT (DMSO)	0	0	0	0	0	0

Legenda: CT = controle. *Corrigido pela fórmula de Abbott.
Fonte: elaborado pelo autor (2024)

4.4 Teste de Repelência Espacial

A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos no ensaio de repelência espacial aplicado para as amostras de OE de capim-limão e limão-taiti orgânico.

Tabela 4 - Resultados do teste de repelência espacial das amostras de OE de capim limão e limão em fêmeas de *Ae. aegypti*.

Amostra	N° de réplicas (N° de mosquitos)	PERESP[1] (EP[2])	SAI[3] (EP)	wSAI[4] (EP)	SR[5]	P > S
Cymbopogon citratus	9 (173)	32,85 (6,01)	0,88 (0,11)	30,5 (7,90)	18,0	0,0078
Citrus latifolia Tanaka	9 (180)	47,37 (8,37)	0,85 (0,04)	40,6 (5,73)	22,5	0,0039

Legenda: [1]PERESP: Percentual de mosquitos que apresentaram alguma resposta. [2]EP: Erro padrão [3]SAI: Índice de repelência espacial. [4]wSAI: Índice de repelência espacial ponderado. [5]SR: Wilcoxon signed-rank test calculado pelo PROC UNIVARIATE (SAS Studio).
Fonte: elaborado pelo autor (2024).

Os valores de SAI obtidos para as amostras de capim-limão e limão-taiti orgânico foram iguais a 0,88 e 0,85, respectivamente. A determinação do SAI permite identificar se houve algum tipo de efeito migratório das fêmeas de *Ae. Aegypti* no sistema HITSS, de modo que seus valores variam de -1 a 1. Um valor de SAI igual a zero indica que não houve efeito, enquanto valores próximos de -1 indicam migração para o cilindro contendo o tratamento e valores próximos de +1 indicam migração para o cilindro controle. O SAI apenas demonstra para qual cilindro a média dos mosquitos mais se direcionaram, indicando uma atividade espacial (Magalhães, 2020). Já o wSAI, é o índice medido em porcentagem que avalia magnitude dessa atividade, pois relaciona tanto o PERESP, que é a porcentagem de resposta dos mosquitos à atividade, quanto ao SAI. Neste sentido, os valores determinados neste trabalho indicam que, para as duas amostras de OE, houve tendência de migração das fêmeas para o cilindro controle, indicando atividade repelente do tratamento.

O SAI apenas demonstra para qual cilindro a média dos mosquitos mais se direcionaram, indicando uma atividade espacial (Magalhães, 2020). Já o wSAI, é o índice medido em porcentagem que avalia magnitude dessa atividade, pois relaciona tanto o PERESP, que é a porcentagem de resposta dos mosquitos à atividade, quanto ao SAI. Com base nisso, viu-se que a porcentagem de mosquitos que apresentaram resposta ao ensaio, PERESP, ficou abaixo de 50 % para os dois tratamentos, com valores iguais a 32,85% e 47,37% para OE de capim-limão e limão taiti, respectivamente. O wSAI obtido para OE de capim-limão e limão-taiti orgânico foram 30,5% e 40,6% respectivamente. Considera-se que o tratamento apresenta média

atividade repelente espacial quando wSAI está entre 20 e 50 %, o que foi observado para essas duas amostras (Sousa, 2021; Dusi, 2022).

Realizou-se, ainda, a determinação de SR (do inglês, *signed-rank*) através do programa PROC UNIVARIATE pelo *software* SAS Studio (SAS, 2018), sendo este um teste não paramétrico de postos com sinais. Este teste verifica se a média do SAI e do wSAI para cada amostra testada é diferente de zero (Dusi, 2022; Magalhães, 2020). De forma resumida, ele compara se há diferenças entre a média de movimento de um índice e a média do outro do mesmo óleo essencial e se suas distribuições são iguais ou pelo menos semelhantes (DATAtab, 2021; SAS, 2020).

Os valores encontrados do teste SR foram 18,0 e 22,5 para capim-limão e limão taiti, respectivamente. Em ambos os casos, o valor de p foi menor do que 0,05, indicando que a diferença entre SAI e wSAI é estatisticamente significativa (DATAtab, 2021; Ford, 2023).

4.5 Caracterização Química das amostras por CG-DIC

4.5.1 Perfis cromatográficos para os extratos

Todos os extratos deste estudo foram analisados por CG-DIC. Conforme os respectivos cromatogramas (ANEXO A), não foi possível detectar e identificar nenhum pico. A técnica de CG-DIC é utilizada para determinação da composição química de compostos voláteis e/ou termicamente estáveis, portanto o resultado obtido para os extratos já era esperado, visto que costumam ter compostos polares instáveis a altas temperaturas. No entanto, foi feita o uso da técnica como uma tentativa de detecção de alguns compostos fixos com certa estabilidade.

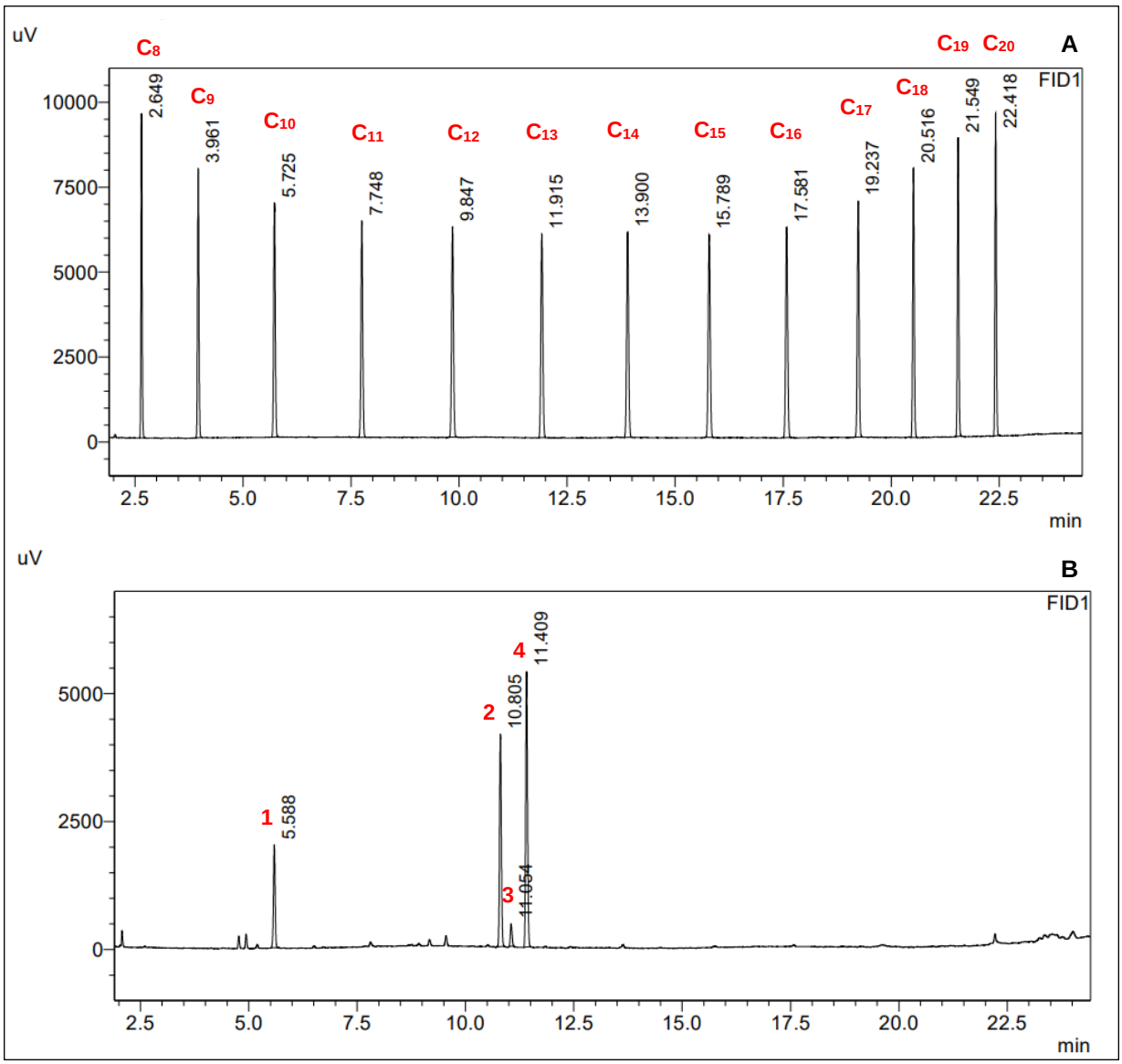
Para estudos futuros, outras técnicas analíticas como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) juntamente com o espectômetro de massas (EM) ou ainda ressonância magnética nuclear (RMN) podem ser utilizadas para identificar os compostos presentes nestes extratos.

4.5.2 Caracterizações químicas para os óleos essenciais

Foram identificados, ao todo, 23 compostos nos óleos essenciais estudados através do método de anotação. Para isso, foram avaliados os tempos de retenção e índices de Kovats calculados, os quais foram comparados com a literatura disponível.

Nas figuras 11 a 18 e nas tabelas 5 a 8, podem ser observados todos os dados cromatográficos, suas identificações e respectivas estruturas químicas. Cabe ressaltar que a grande maioria dos picos majoritários foram comparados com padrões autênticos nas mesmas condições, o que também contribui para uma maior credibilidade da caracterização.

Figura 11 - Perfis cromatográficos por CG-DIC. A - Série homóloga de hidrocarbonetos C8-C20. B - Óleo essencial das folhas frescas de capim-limão. A numeração de cada pico corresponde ao estudo de identificação apresentado na tabela 5.



Fonte: Elaborado pelo autor.

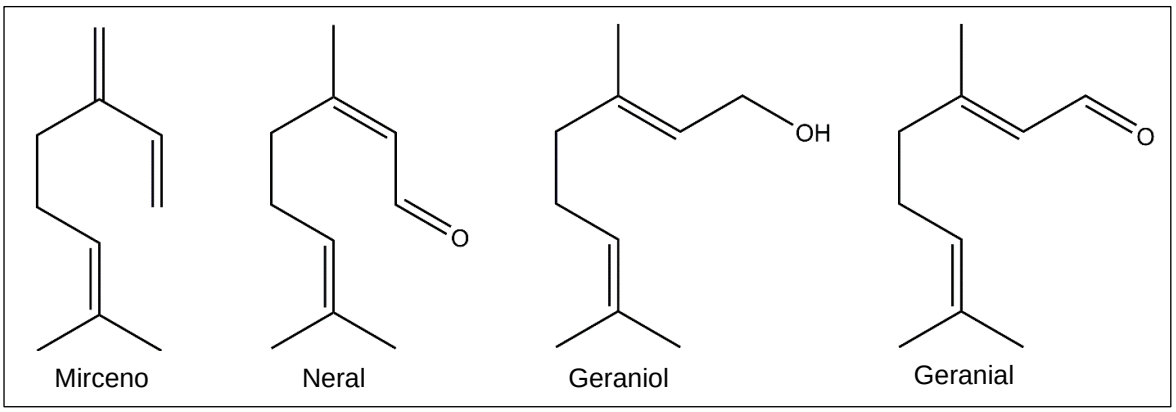
Tabela 5 - Dados para identificação de voláteis por CG-DIC a partir do óleo essencial das folhas frescas de Capim-limão.

N°	Nome do componente	TR	IKcal	IKlit	(%)
1	Mirceno	5,6	992	992	15,37
2	Neral	10,8	1246	1248	35,24
3	Geraniol	11,1	1258	1257	3,53
4	Geranial	11,4	1276	1276	45,85

Legenda: **N°** = Numeração de cada pico no cromatograma (Figura 65); **TR** = tempo de retenção, min.; **IKcal** = Índice de Kovats calculado; **IKlit** = Índice de Kovats da literatura (Shah *et al*, 2011; Dangkulwanich, Charaslertrangsi, 2020; *Pherobase*; *PubChem*); **(%)** = percentual relativo.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 12 - Estruturas químicas dos compostos detectados na amostra de óleo essencial de limão-taiti orgânico.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O composto majoritário do óleo essencial de capim-limão foi o geranial (45,85%) seguido de neral (35,24%) e mirceno (15,37%). Foram encontrados três monoterpenos oxigenados, sendo dois aldeídos e um álcool (geranial, neral e geraniol) e um monoterpeno simples (mirceno) (NCBI, 2024).

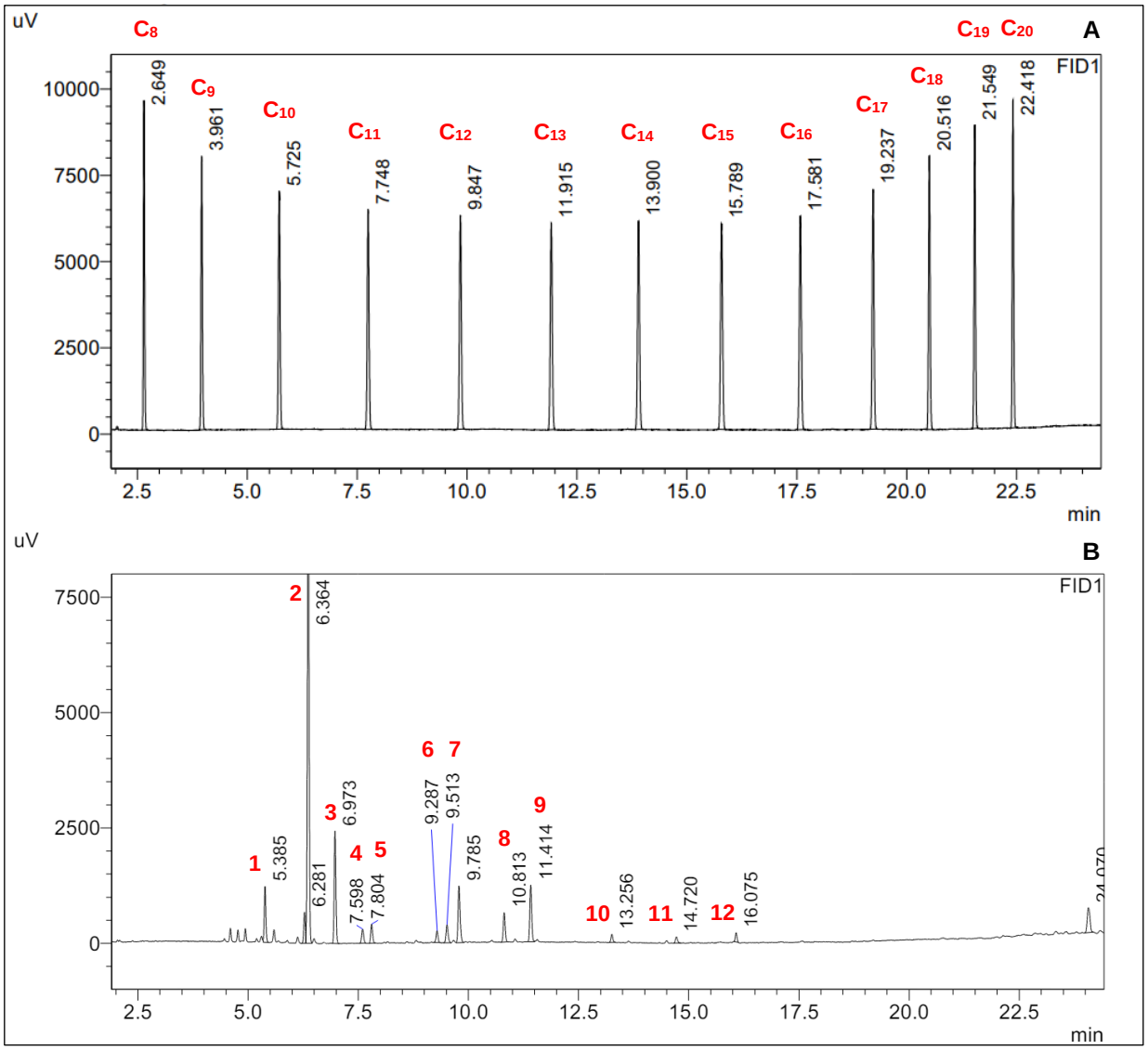
O geranial, também conhecido como *trans*-citral ou citral A, é descrito como um líquido amarelo com cheiro de limão. O neral é o isômero *cis* do geranial, chamado também de *cis*-citral ou citral B. Já o mirceno tem aspecto físico oleoso e amarelado. O geraniol, por sua vez, tem odor floral e doce e é um líquido incolor ou levemente amarelado (NCBI, 2024).

De acordo com a literatura estudada, os óleos essenciais contendo limoneno, 1,8-cineol, eugenol, geraniol e citronelal possuem forte atividade de repelência, enquanto os hidrocarbonetos monoterpênicos foram vistos como sendo os compostos com atividade larvicida (Santos, 2023).

A presença de geraniol, ainda que eu baixa quantidade, no óleo de capim-limão pode explicar seu efeito repelente visto no teste de repelência espacial cujo SAI foi de 0,88 e wSAI 30,5%. Como dito por Pavela (2016), os compostos voláteis presentes nos óleos podem ter efeitos sinérgicos, por isso acredita-se que houve sinergia do geraniol com seus compostos majoritários, sobretudo o geranial, que também está presente no óleo de limão-taiti, cuja repelência se demonstrou semelhante ao do capim-limão.

Essa amostra também obteve potencial larvicida, que pode ser explicada pela presença de 15,37% de mircerno, sendo o único hidrocarboneto monoterpênico encontrado neste óleo na análise química feita neste estudo.

Figura 13 - Perfis cromatográficos por CG-DIC. A - Série homóloga de hidrocarbonetos C_8-C_{20}. B - Óleo essencial das folhas frescas de limão-taiti. A numeração de cada pico corresponde ao estudo de identificação apresentado na tabela 6.



Fonte: Elaborado pelo autor.

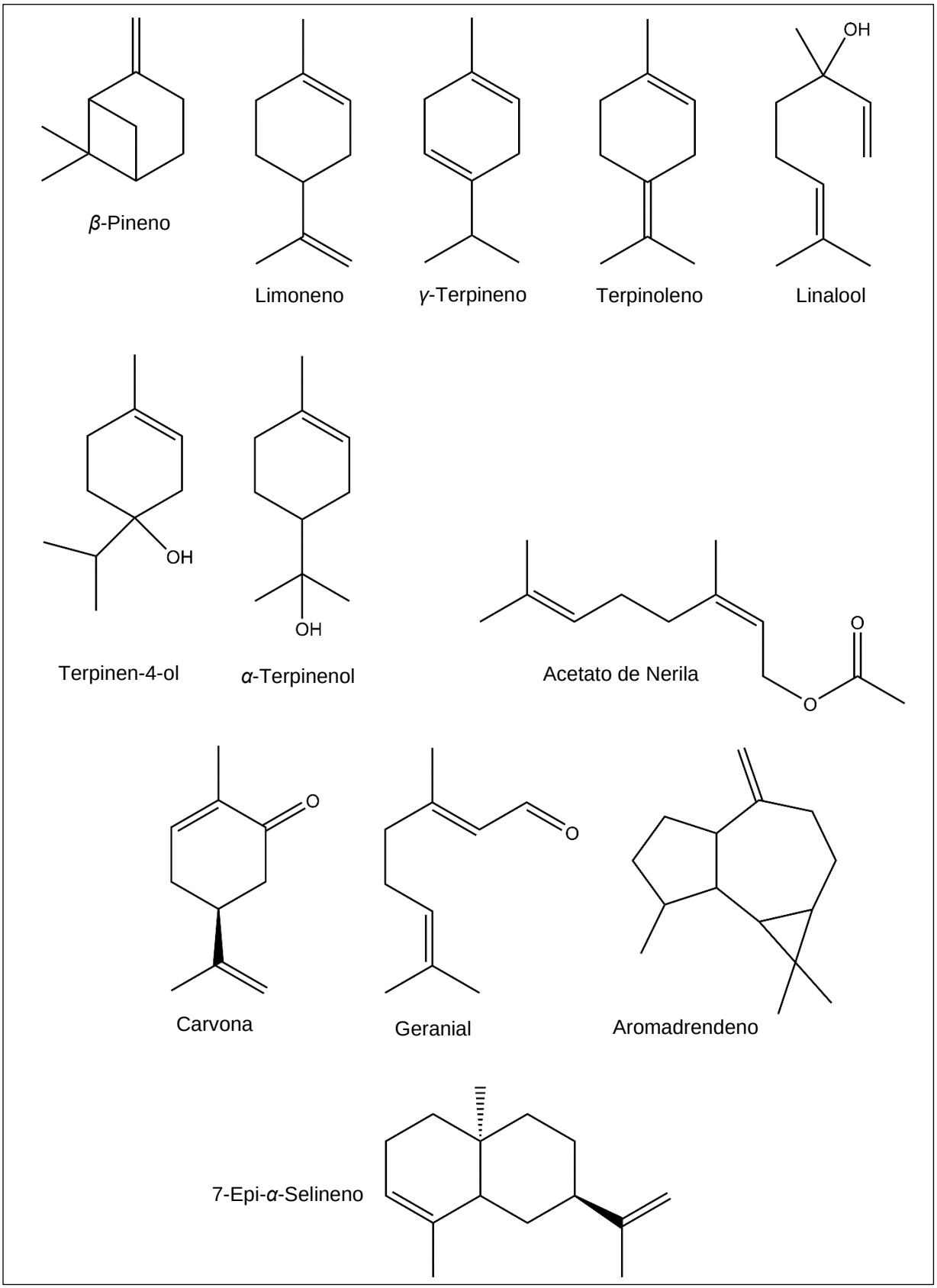
Tabela 6 - Dados para identificação de voláteis por CG-DIC a partir do óleo essencial de frutos de limão-taiti orgânico.

N°	Nome do componente	TR	IKcal	IKlit	(%)
1	*β*-pineno	5,4	981	980	5,42
2	Limoneno	6,4	1032	1031	49,18
3	*γ*-Terpineno	7,0	1062	1062	11,59
4	Terpinoleno	7,6	1093	1088	1,69
5	Linalool	7,8	1103	1098	2,07
6	Terpine-4-ol	9,3	1173	1179	1,36
7	*α*-Terpineol	9,5	1184	1189	2,21
8	Carvona	10,8	1247	1242	3,31
9	Geranial	11,4	1276	1276	6,38
10	Acetato de nerila	13,3	1368	1365	0,92
11	Aromadendreno	14,7	1443	1439	0,77
12	7-epi-*α*-Selineno	16,1	1516	1517	0,99

Legenda: **N°** = Numeração de cada pico no cromatograma (Figura 67); **TR** = tempo de retenção, min.; **IKcal** = Índice de Kovats calculado; **IKlit** = Índice de Kovats da literatura (Adams R. P. 2007; Hognadottir, A. Rouseff, R. L. 2003; *Pherobase*; *PubChem;* Sarmast, E. et al 2019); **(%)** = percentual relativo.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 14 - Estruturas químicas dos compostos detectados na amostra de óleo essencial de limão-taiti orgânico.



Fonte: Elaborado pelo autor.

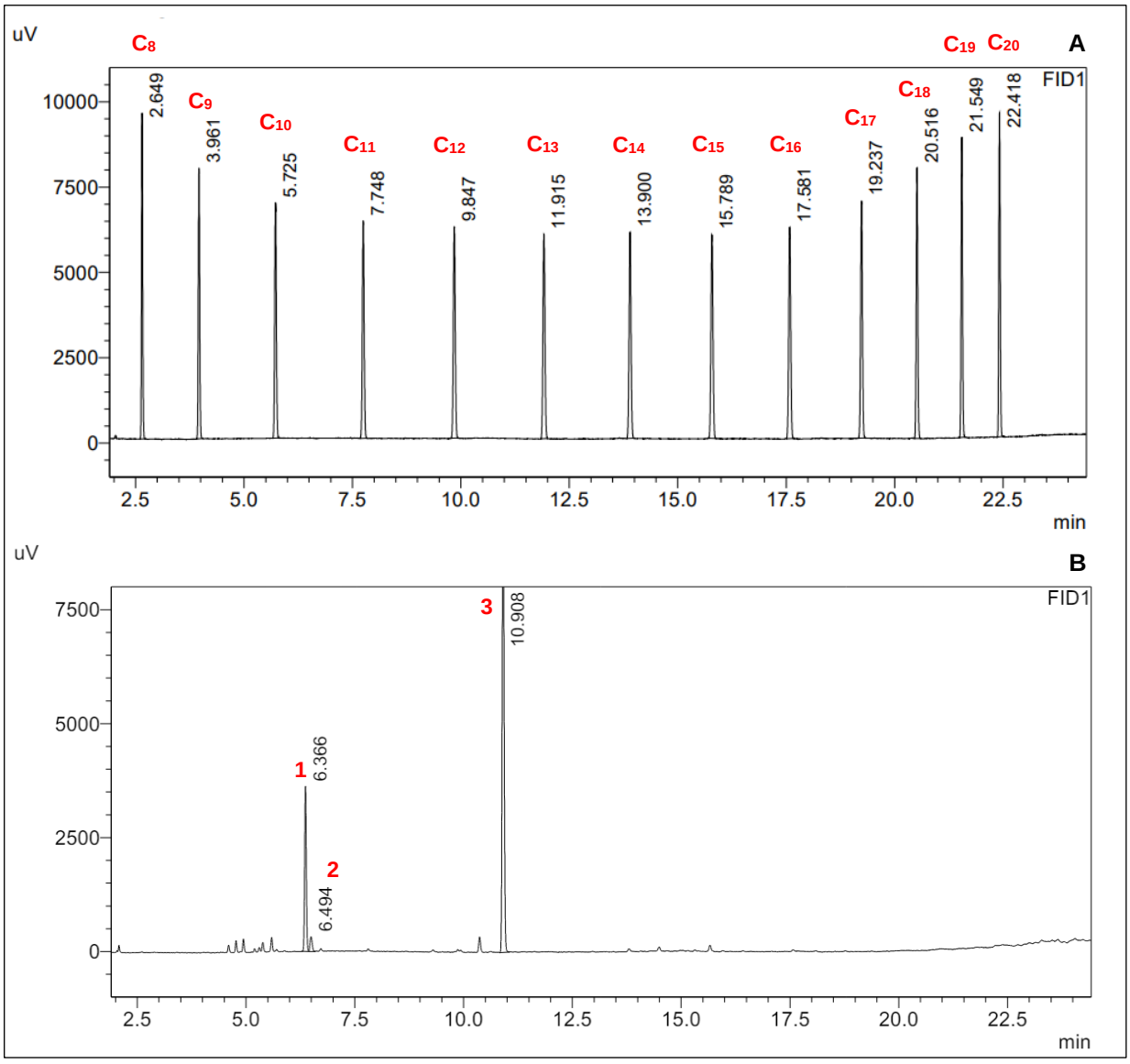
O óleo essencial obtido do pericarpo do limão-taiti orgânico obteve um perfil cromatográfico bastante diversificado quando comparado aos outros óleos testados. Os compostos majoritários foram o limoneno (49,18%) e o *γ*-terpineno (11,59%).

A maioria dos componentes são monoterpenos *(β*-pineno**,** limoneno**,** *γ*-terpineno, terpinoleno), característica bem conhecida para esse óleo, mas também foram vistos álcoois (linalool, terpinen-4-ol e *α*-terpineol), cetona (carvona), aldeído (geranial) e um éster (acetato de nerila). O limoneno, cujo percentual relativo é maior, tem propriedades antibactericidas e antifúngicas (Van, 2024). O aroma do limoneno é justamente o cheiro cítrico conhecido do limão, (NCBI, 2024), sendo inclusive encontrado também em grande quantidade na laranja (Hognadottir, Rouseff, 2003), outro fruto cítrico.

Dada a literatura (Santos, 2023), o limoneno é um composto com atividade tanto repelente como larvicida. O composto majoritário encontrado no óleo de limão-taiti orgânico foi o limoneno, sendo uma explicação para os seus resultados em ambos os ensaios testados. O SAI e wSAI foram 0,85 e 40,6%, respectivamente, revelando média repelência e nas concentrações de 250 µg/mL e 125 µg/mL este óleo obteve acima de 90% de taxa de mortalidade das larvas.

O potencial larvicida dessa amostra também pode ser explicado pela presença de outros hidrocarbonetos monoterpênicos como *β*-pineno, *γ*-terpineno e Terpinoleno, podendo haver efeito sinérgico entre esses compostos.

Figura 15 - Perfis cromatográficos por CG-DIC. A - Série homóloga de hidrocarbonetos C8-C20. B - Óleo essencial de folhas frescas de hortelã. A numeração de cada pico corresponde ao estudo de identificação apresentado na tabela 7.



Fonte: Elaborado pelo autor.

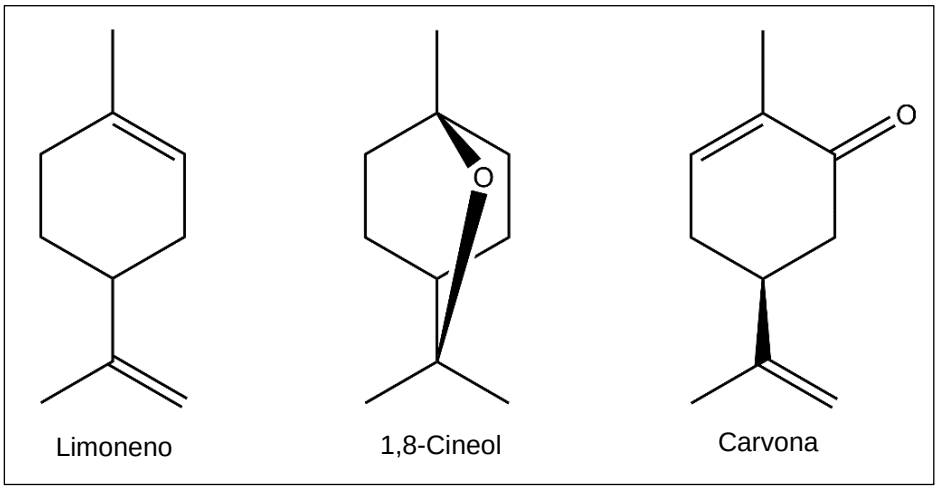
Tabela 7 - Dados para identificação de voláteis por CG-DIC a partir do óleo essencial das folhas frescas de Hortelã.

N°	Nome do componente	TR	IKcal	IKlit	(%)
1	Limoneno	6,4	1032	1031	21,92
2	1,8-cineol	6,5	1038	1039	2,57
3	Carvona	10,9	1251	1242	75,50

Legenda: **N°** = Numeração de cada pico no cromatograma (Figura 69); **TR** = tempo de retenção, min.; **IKcal** = Índice de Kovats calculado; **IKlit** = Índice de Kovats da literatura (Adams R. P. 2007; Battistin, A. *et al*., 2011; *Pherobase*; *PubChem*); **(%)** = percentual relativo.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 16 - Estruturas químicas dos compostos detectados na amostra de óleo essencial de hortelã.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O perfil cromatográfico encontrado é compatível com a espécie *crispa,* chamada popularmente como hortelã ou crespa. Assim como no estudo de Battistin *et al* (2011), o mentol, embora presente em muita quantidade nos óleos essenciais de outras espécies do gênero *Mentha*, como na *Mentha x piperita* e na *Mentha spicata*, não foi descrito nessa análise. O componente majoritário foi a carvona (75,50%), seguido do limoneno (21,92%). Há uma quantidade bem pequena de 1,8-cineol (2,57%), conhecido também como eucaliptol.

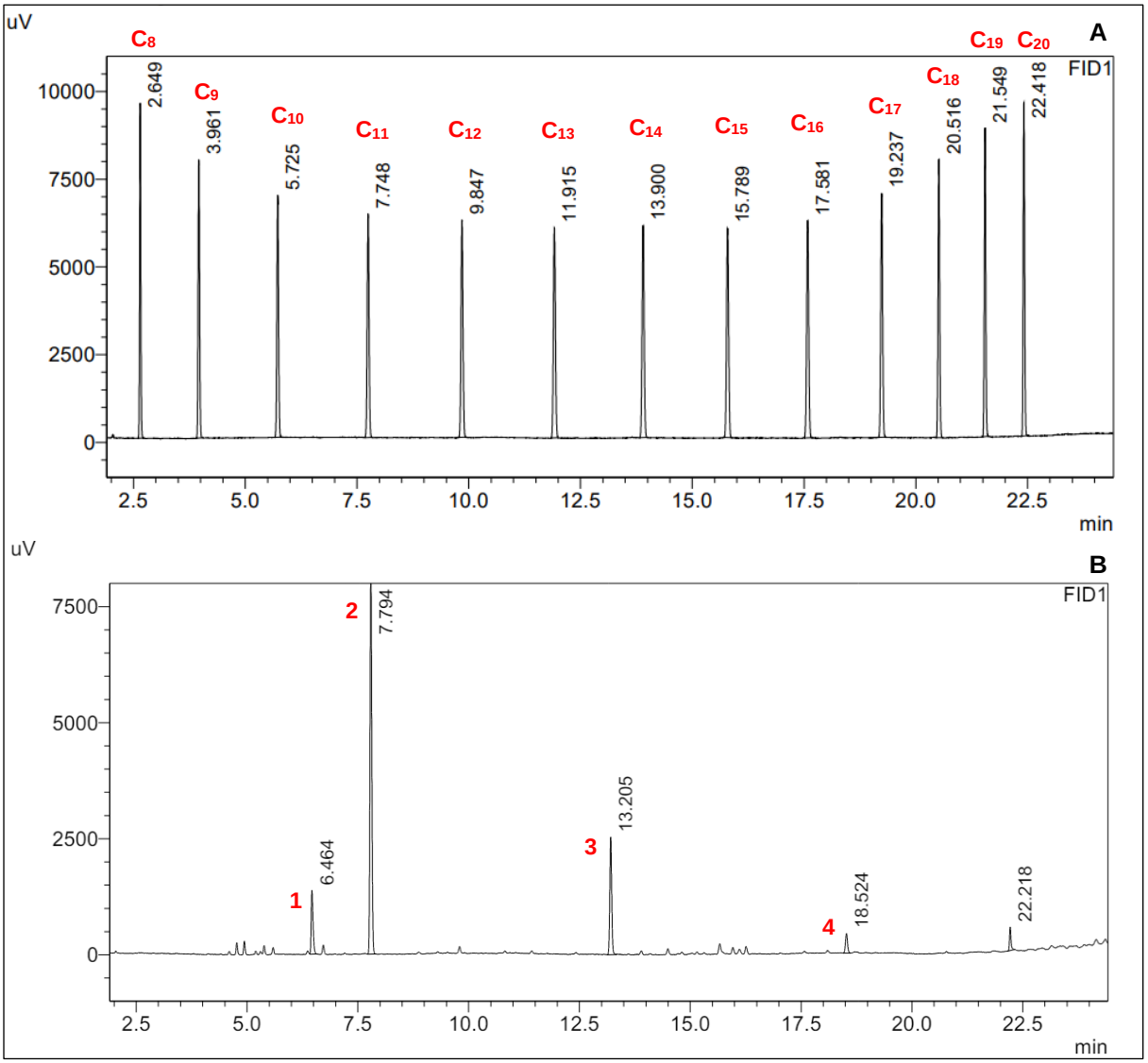
O limoneno é um monoterpeno simples, enquanto o 1,8-cineol e a carvona são monoterpenos oxigenados. Enquanto o limoneno traz um aroma cítrico, o 1,8-cineol tem um cheiro parecido com o da cânfora. Contudo, a carvona é quem leva o odor característico de hortelã (NCBI, 2024).

Não foi possível determinar a repelência do óleo de hortelã, mas sugere-se bons resultados, devido não só a presença de limoneno em boas quantidades, como também a do 1,8-cineol, embora este último esteja em pouca quantidade (2,57%).

Já nos ensaios larvicidas, este óleo foi o melhor dos testados neste estudo, devido ao alcance de 60% de mortalidade na concentração de 31 µg/mL, uma das menores testadas. Acredita-se que este efeito tenha se dado pela presença em boas quantidades de limoneno (21,92%).

A carvona, embora seja o composto majoritário, tem atividade larvicida diferente para seus enantiômeros, R-carvona e S-Carvona, quando testados de forma isolada. Já quando testado em mistura racêmica dos dois, verifica-se maior resposta contra larvas (Santos, 2011). Neste trabalho não foi realizada a identificação dos enantiômeros, entretanto acredita-se que a resposta obtida no teste larvicida para esta amostra tenha sido melhor devido não só a uma mistura racêmica da carvona, bem como da sinergia dela com o limoneno, pois de acordo com a literatura, embora ambos compostos encontrados sejam larvicidas, o limoneno é o que tem maior potencial (Santos, 2011).

Figura 17 - Perfis cromatográficos por CG-DIC. A - Série homóloga de hidrocarbonetos C8-C20. B - Óleo essencial de folhas frescas manjericão. A numeração de cada pico corresponde ao estudo de identificação apresentado na tabela 8.



Fonte: Elaborado pelo autor.

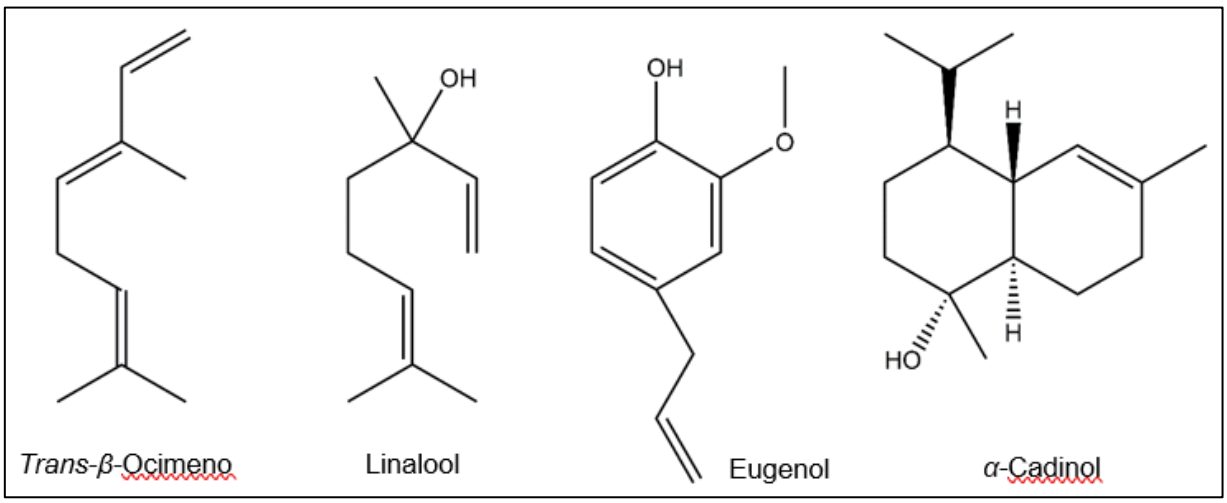
Tabela 8 - Dados para identificação de voláteis por CG-DIC a partir do óleo essencial das folhas frescas de Manjericão.

N°	Nome do componente	TR	IKcal	IKlit	(%)
1	Trans-*β*-ocimeno	6,6	1046	1050	10,58
2	Linalool	7,8	1102	1098	62,58
3	Eugenol	13,2	1365	1356	20,09
4	*α*-cadinol	18,5	1657	1649	3,63

N° = Numeração de cada pico no cromatograma (Figura 71); **TR** = tempo de retenção, min.; **IKcal** = Índice de Kovats calculado; **IKlit** = Índice de Kovats da literatura (Adams R. P. 2007; Hong S.J. *et al*, 2024, Prasannakumar, N. R. *et al*, 2023, Srivastava, S. *et al, 2022,* Veloso, R. A. *et al*, 2014, *Pherobase*; *NIST*; *PubChem*); **(%)** = percentual relativo.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 18 - Estruturas químicas dos compostos detectados na amostra de óleo essencial de manjericão.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O componente majoritário do óleo essencial de manjericão é linalool (62,58%) seguido de eugenol (20,09%) e *trans*-*β*-ocimeno (10,58%). Foram encontrados monoterpenos (trans-*β*-ocimeno, eugenol), monoterpenóides (linalool), sesquiterpenoides (*α*-cadinol).

O elemento n° 1 (Tabela 8), foi identificado como *trans*-*β*-ocimeno de acordo com os estudos de Prasannakumar *et al* (2023) e Srivastava *et al* (2022), que avaliam, respectivamente, o poder inseticida e antibacteriano do óleo essencial de manjericão. Entretanto, existe também a forma *cis* deste mesmo composto. Em outros estudos, a identificação do composto é feita somente como *β*-ocimeno, sem distinção da forma *cis* ou *trans* (Hong *et al*, 2024; Veloso *et al*, 2014). Os índices de retenção de Kovats encontrados na literatura (IKlit) da forma *cis* e da forma *trans* são, respectivamente, 1040 e 1050 (Adams, 2007).

O ensaio de repelência do óleo de manjericão não pode ser feito, entretanto sugere-se boa resposta, pois de acordo com a caracterização química obtida neste trabalho, esse óleo possui 20% de eugenol, um monoterpeno oxigenado com potencial larvicida descrito na literatura (Santos, 2023).

O óleo de manjericão não foi tão efetivo no ensaio de repelência, embora tenha alcançado 100% de taxa de mortalidade na maior concentração testada (250 µg/mL). Na concentração de 125 µg/mL a taxa de mortalidade das larvas em 72h foi de 52,5%, que embora seja considerada ainda ativa, não é tão alta, visto que todos os outros óleos testados neste estudo obtiveram acima de 90% na mesma concentração. Uma possível hipótese é de que o *α*-cadinol é um sesquiterpenóide forte contra larvas do mosquito (Pavela, 2015), mas sua concentração neste óleo é de apenas 3,63%, não obtendo efeito sinérgico com os compostos majoritários.

Após verificação em vários estudos, percebeu-se uma grande variabilidade na composição química, ainda que diferentes autores descrevam o mesmo óleo. O índice de retenção de Kovats é um parâmetro recorrentemente utilizado para identificação de compostos presentes nos óleos essenciais e em extratos vegetais. Entretanto, os índices também variam muito de estudo para estudo, sendo muitas vezes difícil reconhecer certos compostos ou apontar com clareza quais são. Essas variações podem ocorrer devido a diversos fatores como o ambiente em que foram plantadas, aspectos genéticos e fenotípicos das espécies (Veloso *et al*, 2014) as épocas do ano em que foram colhidas, as condições da colheita e o método de extração utilizado (Van *et al*, 2024).

5 CONCLUSÃO

A dengue é uma doença endêmica no Brasil desde 2000 e pesquisas voltadas ao controle do vetor *Aedes aegypti* são de extrema para a saúde pública. Dessa forma, a busca por inseticidas naturais, biodegradáveis e de baixa toxicidade para mamíferos demonstra-se ainda bastante necessária no cenário atual.

Os óleos essenciais extraídos de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), limão-taiti (*Citrus latifolia* Tanaka) e hortelã (*Mentha crispa* L.) mostraram atividade larvicida para o vetor *A. aegypti*, com taxas acima de 90% de mortalidade nas concentrações de 250 µg/mL e de 125 µg/mL. Já o manjericão apresentou atividade apenas na concentração de 250 µg/mL, sendo bem menos ativo nas demais concentrações. O

óleo com maior atividade larvicida foi o de hortelã, com 100% de mortalidade nas concentrações de 250 µg/mL e 125 µg/mL, 85% na concentração de 63 µg/mL e 60% na concentração de 31 µg/mL. Os óleos essenciais de capim-limão e limão-taiti apresentaram tendência repelente com valores de índice de repelência espacial próximos de 1. Os índices ponderados (wSAI) encontrados ficaram abaixo dos 50% e indicam média atividade de repelência espacial, na concentração estudada (10% v/v).

A caracterização química das amostras feitas por CG-DIC contribuiu para identificação dos compostos dos óleos essenciais testados, podendo explicar os resultados os ensaios biológicos testados e sugerir estudos futuros. Foi visto que são necessários estudos futuros referentes tanto a ensaio larvicida para a obtenção do LC50 e LC90, bem como a realização dos ensaios de repelência espacial das amostras de hortelã e manjericão.

6 REFERÊNCIAS

ACHEE, Nicole L., SARDELIS, Michael R., DUSFOUR, Isabelle, CHAUHAN, Kamlesh R., GRIECO, John P. Characterization of Spatial Repellent, Contact Irritant, and Toxicant Chemical Actions of Standard Vector Control Compunds. **Journal of the American Mosquito Control Association**. 25(2), 156-167, 1 jun. 2009.

ACHEE, Nicole L.; GRIECO, John P. Behavior Modifying Compounds for Disease Vector Control. **Training Manuals.** Department of Biological Sciences. University of Notre Dame. 5 dez. 2019. Disponível em: <https://biology.nd.edu/labs/achee-grieco-lab/training-manuals/>. Acesso em: 24 abr. 2024.

ADAMS, Robert P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**, 4th Edition. Illinois USA: Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 2007, 804p.

BATTISTIN, Alice; FERMINO, Maria Helena; SILVEIRA, José Ricar. Pfeifer; GONÇALVES, Reinaldo Simões; PASQUETTI, Mayara Vendramin; SANTOS, Ana Cristina dos; GABRIEL, Luciana Rotta; BARNI, Pauletti Valmor. Espécies de *Mentha* com propriedades medicinais, aromáticas e condimentares. Porto Alegre: FEPAGRO, 2011. Circular Técnica, n. 28.

BENELLI, Giovanni; JEFFRIES, Claire L.; WALKER, Thomas. Biological Control of Mosquito Vectors: Past, Present, and Future. **Insects**, v. 7, n. 4, 2016. Acesso em: 5 abr. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Vacinas registradas**. 20 mar. 2024a. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/campanhas/dengue/vacinas-registradas>. Acesso em: 25 abr. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Dengue**. [2024b]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dengue/dengue>. Acesso em: 25 abr. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Nota Técnica Nº 11/2024-CGIRF/DPNI/SVSA/MS**. 8 fev. 2024c. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/vacinacao/notas-tecnicas/sei-ms-0038843414-nota-tecnica.pdf>. Acesso em: 25 abr. 2024

BRASIL. Ministério da Saúde. **Nota Técnica Nº 81/2024-CGIRF/DPNI/SVSA/MS**. 29 mai. 2024d. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/vacinacao/notas-tecnicas/sei-ms-0038843414-nota-tecnica.pdf>. Acesso em: 21 jun. 2024

BRASIL. Ministério da Saúde. **Painel de Monitoramento das Arboviroses**. 4 jul. 2024e Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/aedes-aegypti/monitoramento-das-arboviroses/painel>. Acesso em: 4 jul. 2024.

CLEMENT, Ray E. **GAS Chromatography: Biocchemical, Biomedical and Clinical applications**. Ed. John Wiley and Sons, Inc. Nova York. 393 p., 1990.

DANGKULWANICH, Manchuta; CHARASLERTRANGSI, Tumnoon. Hydrodistillation and antimicrobial properties of lemongrass oil (*Cymbopogon citratus*, Stapf): An undergraduate laboratory exercise bridging chemistry and microbiology. **Journal of Food Science Education**, v. 19, n. 2, p. 41–48, 2020.

DATAtab. Wilcoxon-Test (Wilcoxon Signed Rank Test). Youtube, 16 de dezembro de 2021. Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=NZsL2eDQiDQ&ab_channel=DATAtab>. Acesso em 20 jun. 2024.

DUSI, Renata Garcia. **Desenvolvimento de protótipos de biopesticidas a partir do alho para o controle vetorial de *Aedes aegypti***. Tese (Doutorado em Ciências Médicas). Programa de pós-graduação em ciências médicas, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília. Brasília, p.179. 2022.

EL-SAYED. Ashraf. M. The Pherobase; Database of Pheromones and Semiochemicals. 13 fev. 2024. Disponível em: <https://pherobase.com/> Acesso em: 11 jun 2024

FARMACOPEIA brasileira. 6° edição, volume 1. Brasília, 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira>. Acesso em: 24 mai. 2024.

FLORA E FUNGA DO BRASIL. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. [2020]. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 9 Mai 2024

FORD, Clay. The Wilcoxon Rank Sum Test. University of Virginia Library, Charllotesville, Estados Unidos. 25 mai. 2023. Disponível em: <https://library.virginia.edu/data/articles/the-wilcoxon-rank-sum-test>. Acesso em: 20 jun. 2024.

HODGSON, Ernest; LEVI, Patrícia E. Pesticides: an important but underused model for the environmental health sciences. **Environmental Health Perspectives**, v. 104, n. Suppl 1, p. 97–106, mar. 1996.

HÖGNADÓTTIR, Aslaug. ROUSEFF, Russel. L. Identification of aroma active compounds in orange essence oil using gas chromatography–olfactometry and gas chromatography– mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 998, p. 201–211, 2003.

HONG, Seong Jun; KIM, Da-Som, JO; Seong Min; YOON, Sojeong; JEONG, Hyangyeon; YOON, Moon Yeon; KIM, Jae Kyeom; KIM, Young Jun; SHIN, Eui-Cheol. Exploration of basil (*Ocimum basilicum*) essential oil profiles using E-nose and GC–MS combined with GC-O and inhalation effects on the human EEG topography and tomography (s-LORETA) and blood pressure. **Journal of Functional Foods**, v. 112, p. 105918, 1 jan. 2024.

MAGALHÃES, Natália Mendes. Gomes. ***Vismia gracilis* Hieron. (Hypericaceae): caracterizações químicas e atividade biológica em *Aedes aegypti***. Tese

(Mestrado em Ciências da Saúde). Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade de Brasília. Brasília, p.106. 2020.

NCBI. National Center for Biotechnology Information. Pubchem. 15 jun. 2024. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>. Acesso em 13 jun. 2024

OSANLOO, Mahmoud; SEDAGHAT, Mohammad Mehdi; SANEI-DEHKORDI, Alireza; *et al*. Plant-Derived Essential Oils; Their Larvicidal Properties and Potential Application for Control of Mosquito-Borne Diseases. **Galen Medical Journal**, v. 8, p. e1532, 2019.

PAVELA, Roman. History, presence and perspective of using plant extracts as commercial botanical insecticides and farm products for protection against insects - a review. **Plant Protection Science**, v. 52, n. 4, p. 229–241, 31 dez. 2016.

PAVELA, Roman. Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: A review. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 174–187, 2015.

PEIXOTO, Roberto. **Brasil passa de 2 mil mortes por dengue em 2024; casos estão em queda em 13 estados e no DF**. 30 abr. 2024. Disponível em: <https://g1.globo.com/saude/dengue/noticia/2024/04/30/brasil-passa-de-2-mil-mortes-por-dengue-em-2024.ghtml>. Acesso em: 2 mai. 2024.

PRASANNAKUMAR, N. R., JYOTHI, N., SAROJA, S., LOKESHA, A. N. Insecticidal properties of *Ocimum basilicum* and *Mentha piperita* essential oils against South American Tomato moth, *Phthorimaea absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelichiidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 190, p. 105329, 1 fev. 2023.

REAVIVAMENTE. Tomilho. Saboroso Tempero. Benefícios Para a Saúde. 21 mai. 2024. Disponível em: <https://reavivamente.com.br/tomilho-saboroso-tempero-beneficios-para-a-saude/> Acesso em: 14 jun. 2024.

SANTOS, Antônia Laires da Silva; Feli SANTOS, Felipe Pereira da Silva; NASCIMENTO, Alyandra de Sousa et al. Chemical composition, actividad larvicide, insecticide and repellent of essential oil *Aedes aegypti.* **Research, Society and Development,** v. 11, n. 2, p. e37611225711–e37611225711, 28 jan. 2022. Acesso em: 09 abr. 2024.

SANTOS, Daiane Rodrigues dos, CHAVES, Luíse Lopes; PIRES, Vinícius Couto, *et al*. New weapons against the disease vector *Aedes aegypti:* From natural products to nanoparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 643, p. 123221, 25 ago. 2023.

SANTOS, Sandra R. L.; MELO, Manuela A.; CARDOSO, Andrea Valença; *et al*. Structure–activity relationships of larvicidal monoterpenes and derivatives against *Aedes aegypti* Linn. **Chemosphere**, v. 84, n. 1, p. 150–153, 2011.

SARMAST, Elham; FALLAH, Aziz A.; HABIBIAN DEHKORDI, Saied; *et al*. Impact of glazing based on chitosan-gelatin incorporated with Persian lime (*Citrus latifolia*) peel

essential oil on quality of rainbow trout fillets stored at superchilled condition. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 136, p. 316–323, 2019.

SAS Institute Inc. SAS Studio. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc.; 2018.

SAS Institute Inc. Tests for location. 12 ago. 2020. Disponível em: <https://documentation.sas.com/doc/en/pgmsascdc/9.4_3.5/procstat/procstat_univariate_details17.htm>. Acesso em 20 jun. 2024.

SHAH, Gagan; SHRI, Richa; PANCHAL, Vivek; *et al*. Scientific basis for the therapeutic use of *Cymbopogon citratus*, stapf (Lemon grass). **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, v. 2, n. 1, p. 3–8, 2011.

SILVÉRIO, Maíra Rosato Silveiral; ESPINDOLA, Laila Salmen; LOPES, Norberto Peporine. Plant Natural Products for the Control of Aedes aegypti: The Main Vector of Important Arboviruses. **Molecules**, v. 25, n. 15, 2020. Acesso em: 5 abr. 2024.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira.; SCHENKEL, Eloir Paulo; MELLO, João Carlos Palazzo de et al. Farmacognosia. Porto Alegre: Grupo A, 2017.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE IMUNIZAÇÕES, SOCIEDADE BRASILEIRA I E SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL. **Nota Técnica Conjunta SBIM, SBI, SBMT**. 21 de março de 2024a. Disponível em: <https://sbim.org.br/images/files/notas-tecnicas/nota-tecnica-sbim-sbi-sbmt-qdenga-v6.pdf>. Acesso em 25 abr. 2024

SOCIEDADE BRASILEIRA DE IMUNIZAÇÕES, SOCIEDADE BRASILEIRA I E SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL. **Vacinação Contra Dengue: perguntas e respostas mais frequentes**. 21 de março de 2024b. Disponível em: <https://sbim.org.br/images/files/notas-tecnicas/perguntas-respostas-qdenga-240229-v3.pdf>. Acesso em 25 abr. 2024

SOUSA, Ana Beatriz Peres. **Avaliação da Repelência Espacial e Toxicidade de Óleos Essenciais comerciais em Aedes Aegypti**. Trabalho de Conclusão de Curso em graduação de Farmácia. Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília. Brasília, 53. 2021.

SRIVASTAVA, Shubham; LAL, R. K.; YADAV, Kamlesh; *et al*. Chemical composition of phenylpropanoid rich chemotypes of *Ocimum basilicum* L. and their antimicrobial activities. **Industrial Crops and Products**, v. 183, p. 114978, 1 set. 2022.

VAN, Chi Khang; NGUYEN, Phu Thuong Nhan; NGUYEN, Thao-Tran Thi; *et al*. Microencapsulation of *Citrus latifolia* peel essential oil by spray-drying using maltodextrin: Characterization, antimicrobial activities, and release profile. **LWT**, v. 197, p. 115825, 1 abr. 2024.

VELOSO, R.A.; CASTRO, H.G.; BARBOSA, L.C.A; CARDOSO, D.P.; CHAGAS JÚNIOR, A.F.; SCHEIDT, G.N. Teor e composição do óleo essencial de quatro acessos e duas cultivares de manjericão (*Ocimum basilicum* L.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Campinas, v.16, n.2, supl. I, p.364-371, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION**. Dengue and Several Dengue**. 23 de abril de 2024. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>. Acesso em 21 de junho de 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for efficacy testing of spatial repellents**. World Health Organization. Geneva; 2013. 58 p. Disponível em: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/78142/9789241505024_eng.pdf;jsessionid=A382A24B87FDC443D18392CDCEC74B29?sequence=1>. Acesso em 4 jul. 2024.

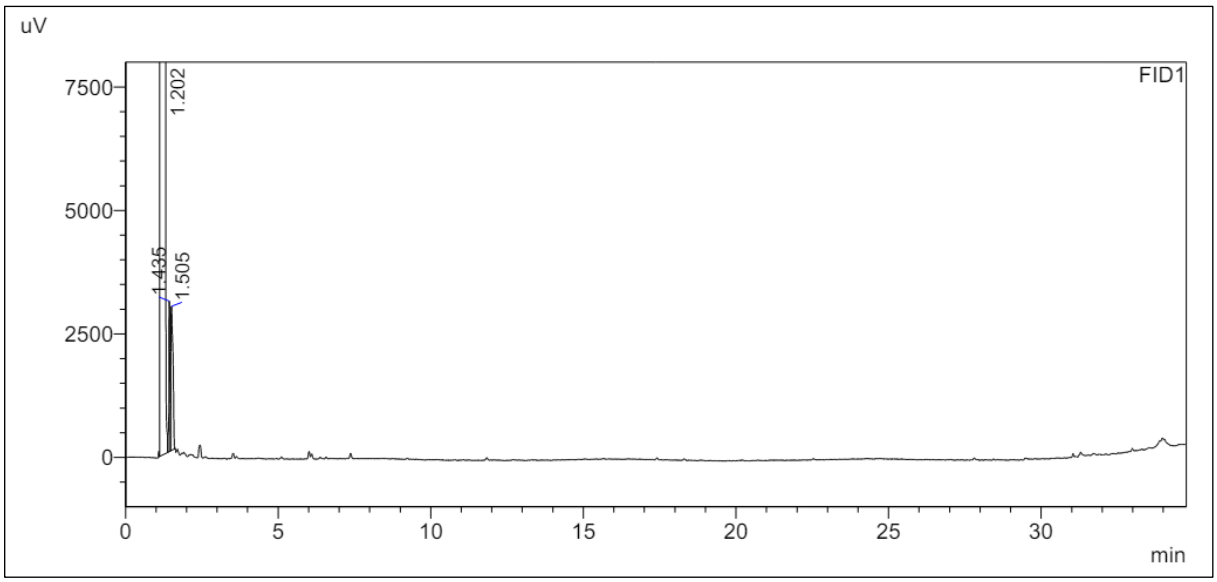
WORLD HEALTH ORGANIZATION. **GUIDELINES FOR LABORATORY AND FIELD TESTING OF MOSQUITO LARVICIDES**. 24 mai. 2005. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-CDS-WHOPES-GCDPP-2005.13>. Acesso em 20 jun. 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Monitoring and Managing Insecticide Resistance in Aedes mosquito Populations - Interim guidance for entomologists**. World Health Organization. 2016. Disponível em: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/204588/WHO_ZIKV_VC_16.1_eng.pdf?sequence=2. Acesso em 4 jul. 2024.

ANEXO A - CROMATOGRAMAS DOS EXTRATOS OBTIDOS POR CG-DIC

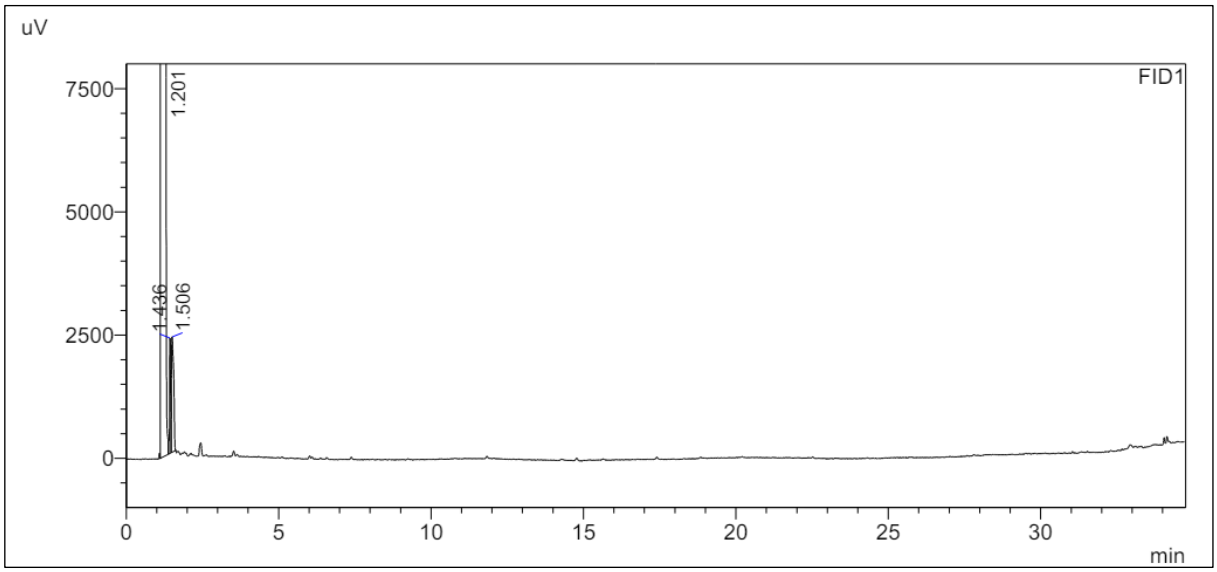
.

Figura A1 - Perfil cromatográfico por CG-DIC. Extrato seco de capim-limão.



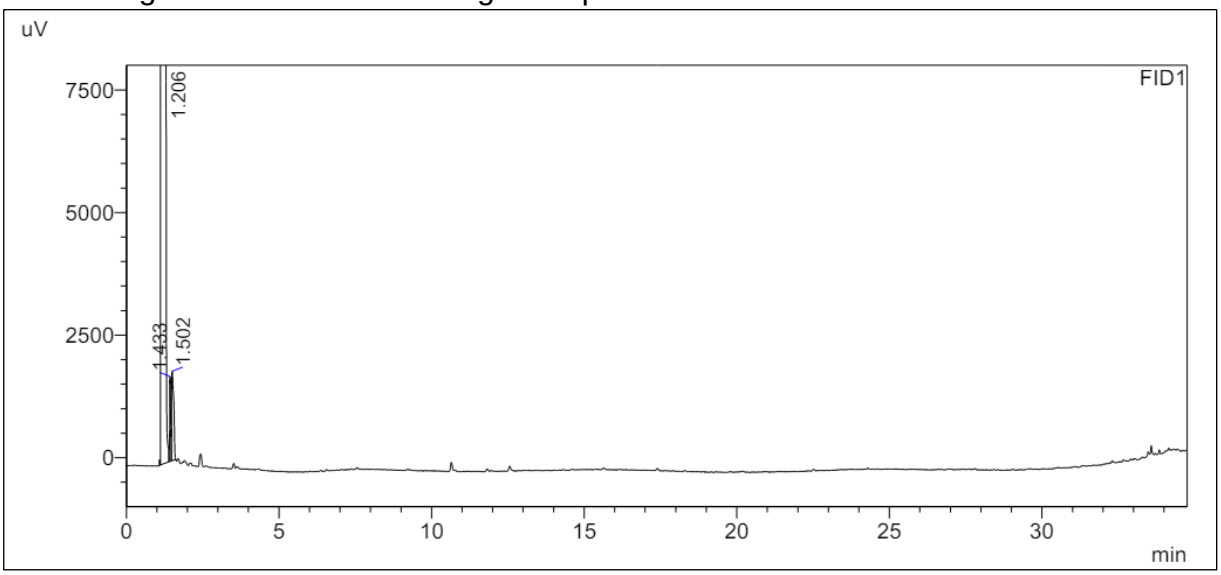
Fonte: elaborado pelo autor (2024)

Figura A2 - Perfil cromatográfico por CG-DIC. Extrato seco de orégano.



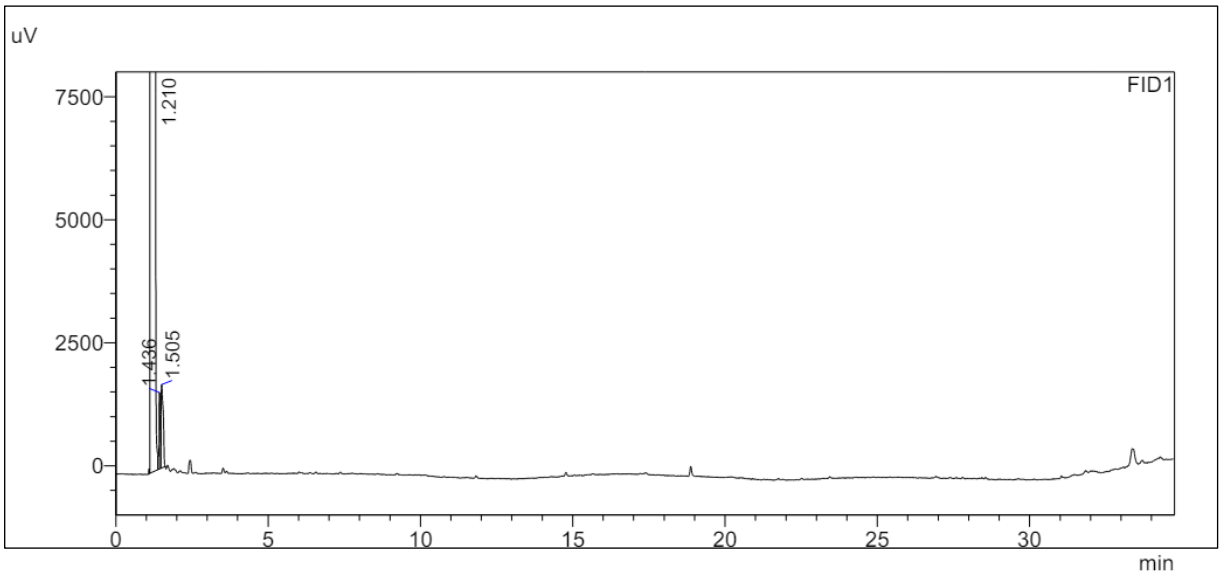
Fonte: elaborado pelo autor (2024)

Figura A3 - Perfil cromatográfico por CG-DIC. Extrato seco de alecrim.



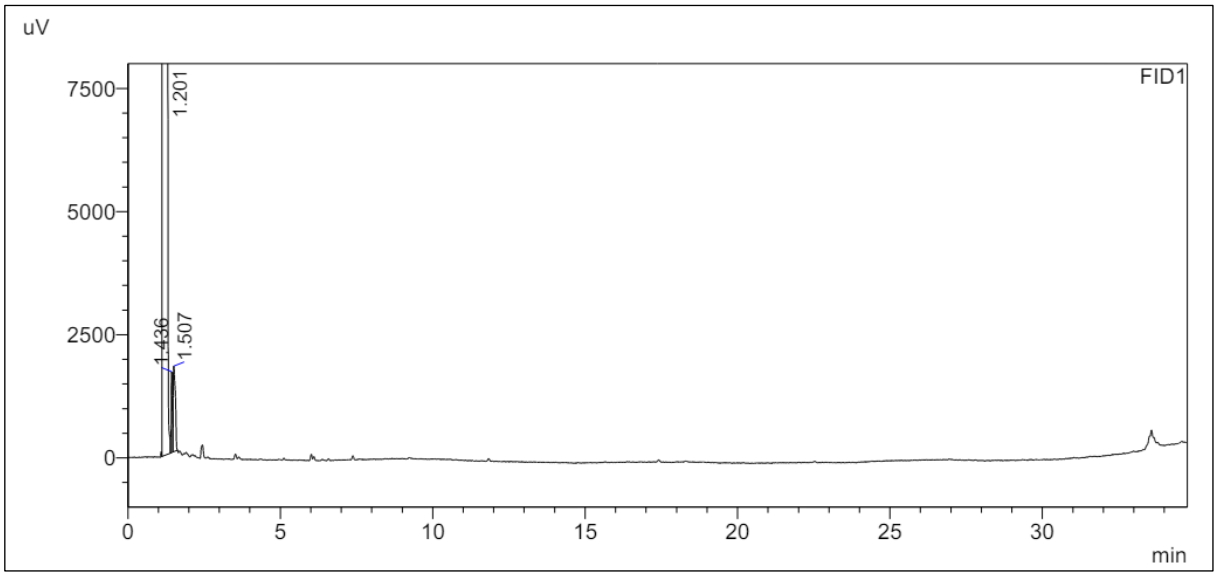
Fonte: elaborado pelo autor (2024)

Figura A4 - Perfil cromatográfico por CG-DIC. Extrato seco de tomilho.



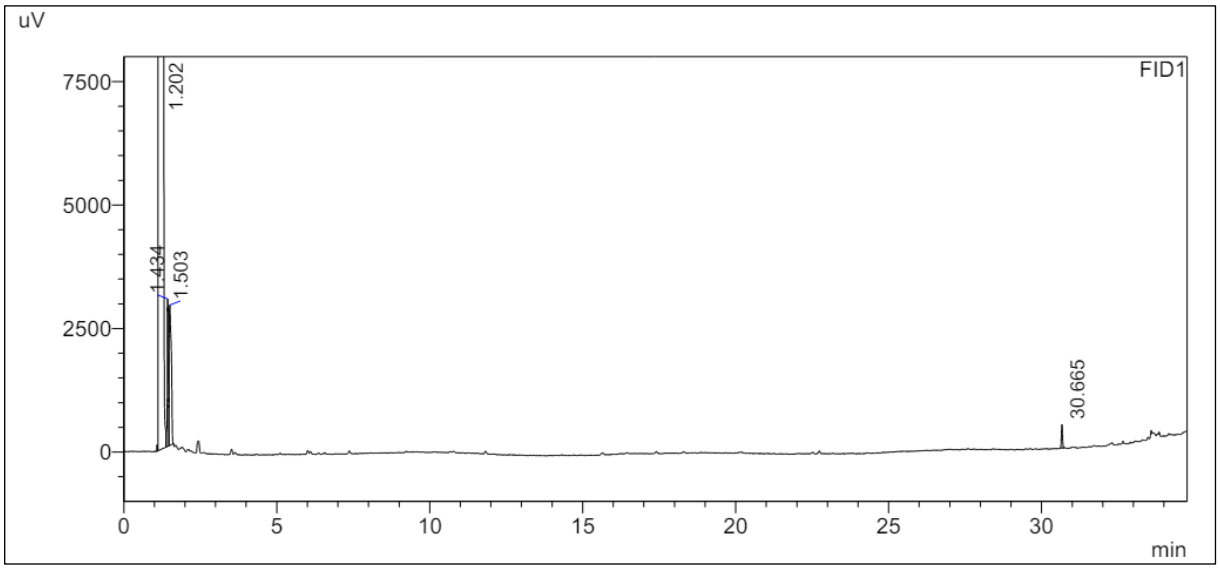
Fonte: elaborado pelo autor (2024)

Figura A5 - Perfil cromatográfico por CG-DIC. Extrato seco de louro.



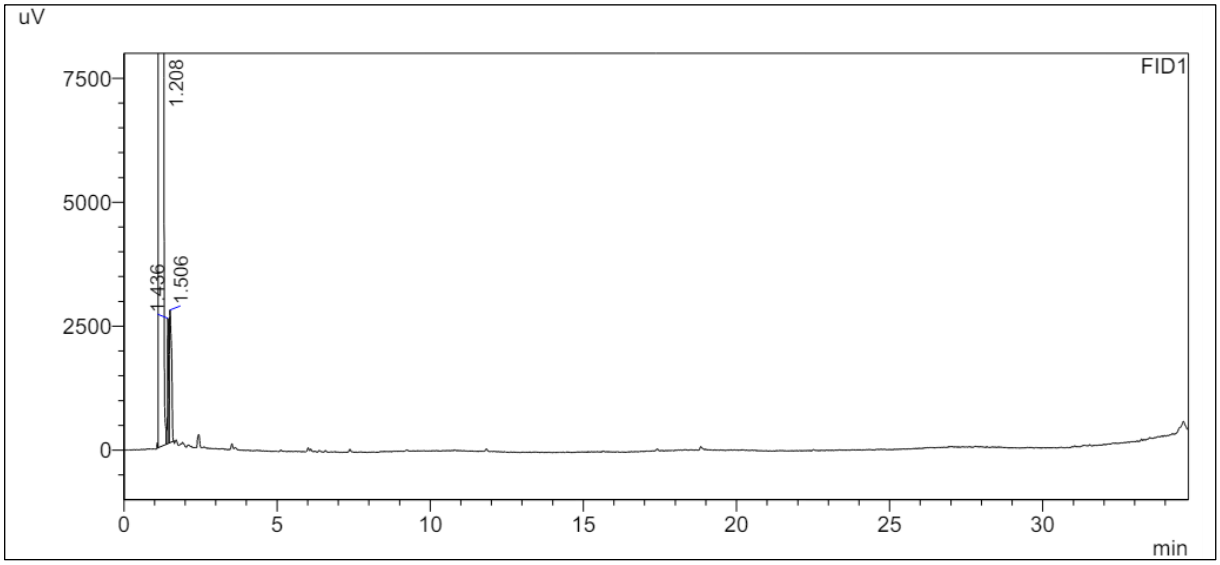
Fonte: elaborado pelo autor (2024)

Figura A6 - Perfil cromatográfico por CG-DIC. Extrato seco de sálvia.



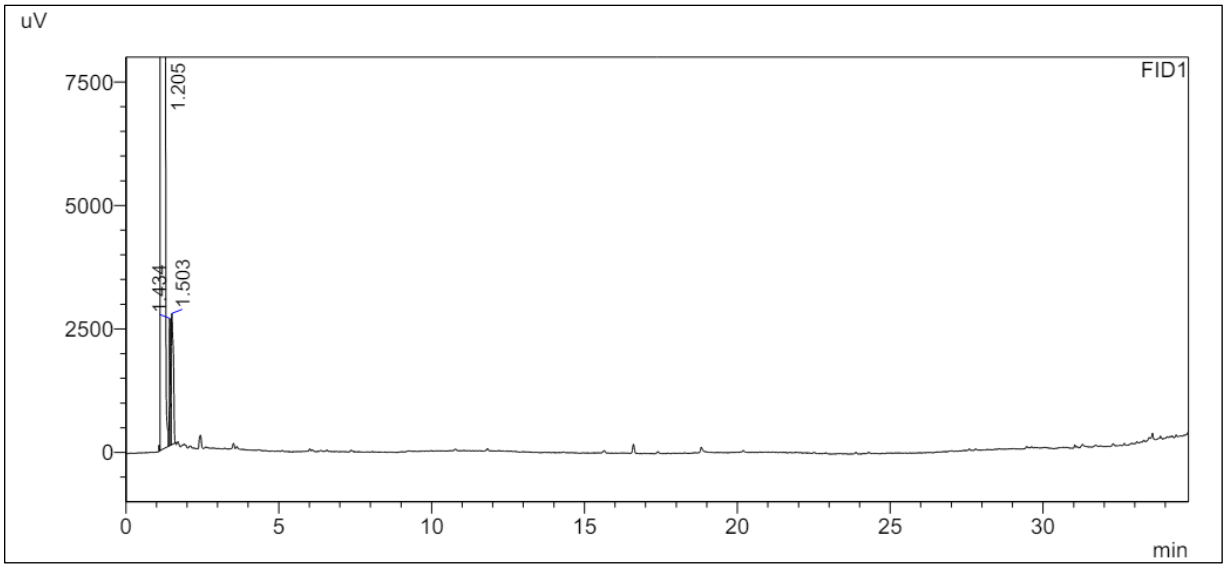
Fonte: elaborado pelo autor (2024)

Figura A7 - Perfil cromatográfico por CG-DIC. Extrato seco de hortelã.



Fonte: elaborado pelo autor (2024)

Figura A8 - Perfil cromatográfico por CG-DIC. Extrato seco de manjericão.



Fonte: elaborado pelo autor (2024)