



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

JÚLIO CÉSAR RIBEIRO DE OLIVEIRA FARIAS DE AGUIAR

Caracterização e avaliação dos óleos essenciais de *Artemisia judicia* e *Ziziphura teniour* nas atividades larvicida e de oviposição sobre *Aedes aegypti*

Recife
2021

JÚLIO CÉSAR RIBEIRO DE OLIVEIRA FARIAS DE AGUIAR

Caracterização e avaliação dos óleos essenciais de *Artemisia judicia* e *Ziziphura teniour* nas atividades larvicida e de oviposição sobre *Aedes aegypti*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Química da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química Orgânica

Orientadora: Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro

Recife
2021

Catálogo na fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

A282c Aguiar, Júlio César Ribeiro de Oliveira Farias de.
Caracterização e avaliação dos óleos essenciais de *Artemisia judicia* e *Ziziphura teniour* nas atividades larvídica e de oviposição sobre *Aedes aegypti* / Júlio César Ribeiro de Oliveira Farias de Aguiar. – 2021.
87 f.: il., fig., tab.

Orientadora: Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.
CCEN, Programa de Pós-graduação em Química. Recife, 2021.
Inclui referências.

1. Óleo essencial. 2. Atividade larvídica. 3. Atividade deterrente. 4. *Artemisia judici*. 5. *Ziziphura teniou*. I. Navarro, Daniela Maria do Amaral Ferraz (Orientadora). II. Título.

547

CDD (23. ed.)

UFPE- CCEN 2021 - 183

JÚLIO CÉSAR RIBEIRO DE OLIVEIRA FARIAS DE AGUIAR

**Caracterização e avaliação dos óleos essenciais de *artemisia*
judicia e *ziziphura teniour* nas atividades larvicida e de oviposição
sobre *Aedes aegypti***

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação no
Departamento de Química
Fundamental da Universidade
Federal de Pernambuco como
requisito parcial para a obtenção do
título de Mestre em Química. Área
de concentração: Química
Orgânica

Aprovada em: 22/11/2021

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro (Orientadora)

Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr Darlisson de Alexandria Santos

Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

Profa. Dra Rosângela Maria Rodrigues Barbosa

FIOCRUZ - Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Ageu Magalhães

Dedico este trabalho a Deus, por sempre está ao meu lado nos momentos mais difíceis ao longo da minha caminhada, aos meus pais, Júlia e Aguiar, por todo amor, carinho e por sempre me apoiar em todos os momentos da minha vida; À minha irmã, Juliana, e ao meu cunhado, André, pelo incentivo, confiança e compreensão. À Amanda e à Ágata, minha esposa e filha respectivamente, pelo companheirismo, paciência, compreensão, carinho e todo o apoio mesmo durante os momentos da minha ausência.

AGRADECIMENTOS

À professora Dr^a Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro pela compreensão e companheirismo em momentos difíceis, pelas orientações, pelos ensinamentos e pela ajuda durante a confecção deste trabalho.

À minha família pela paciência e compreensão por vários momentos de ausência para a elaboração deste trabalho.

Ao professor Dr Ricardo Oliveira pelos esclarecimentos das minhas dúvidas e questionamentos

Aos amigos do Laboratório de Ecologia Química do Departamento de Química Fundamental pelo apoio durante os experimentos e as disciplinas.

Aos pesquisadores Mohammad Sanad Abu-Darwish, Amer Hussein Tarawneh, Hatem Taifour, Ligia Salgueiro e Thomas Efferth pelo material vegetal e óleos essenciais fornecidos para o desenvolvimento desta pesquisa

RESUMO

O mosquito do *Aedes aegypti* é o vetor responsável pela transmissão de arboviroses causadoras de várias doenças como Chikungunhya, Dengue, Zika vírus e Febre Amarela, as quais atingem milhões de pessoas ao redor do mundo. Essas doenças trazem graves consequências à população e à economia local como, por exemplo, o Chikungunhya que debilita o trabalhador, dificultando a execução de suas atividades cotidianas. Enquanto o Zika vírus é responsável pelo dano permanente na má formação do cérebro dos recém-nascidos, microcefalia. *Ae. aegypti* se adaptou muito bem às grandes cidades, sendo considerado pela Organização Mundial de Saúde como um dos principais problemas de saúde pública no mundo. Além disso, com a seleção natural de um número maior de mosquitos mais imunes aos inseticidas convencionais, há um aumento pelo interesse de se encontrar compostos químicos de origem natural que combatam o *Ae. aegypti*. Assim, a busca por novas substâncias se torna fundamental para reduzir os crescentes números de contaminações e danos ocasionados por esse vetor, sendo o uso de óleos essenciais extraídos de materiais vegetais, uma ótima alternativa por possuírem uma menor toxicidade e apresentarem uma gama de atividades biológicas. O objetivo desse trabalho, portanto, foi avaliar a atividade larvicida e deterrente de oviposição dos óleos essenciais, obtidos por hidrodestilação, e extratos das folhas de *Artemisia judicia* e *Ziziphura tenuior* frente ao mosquito *Ae. aegypti*. Os óleos essenciais e os extratos metanólico, aquoso e em diclorometano obtidos não apresentaram atividade larvicida significativa ($LC_{50} > 100\text{ppm}$). Todavia os óleos *A. Judicia* e *Z.tenuior* demonstraram atividade deterrente em 10 e em 100ppm. A análise cromatográfica identificou um total de 48 e 35 compostos totalizando 94,15% e 90,20% dos constituintes dos óleos das espécies *Z. tenuior* e *A. judicia* respectivamente. Os principais compostos majoritários foram o 1,8-cineole (6,6%), timol (11%), α -cedrol (11,87%) e pulegona (25%) para o *Z. tenuior* e piperitona (37,24%), (E)-etilcinamato (13,61%), (Z)-etilcinamato (5,77%) e cânfora (13,14%) para a *A. judicia*. Testes de oviposição com os padrões destes componentes majoritários apresentaram deterrência nas concentrações proporcionais aos encontrados nos óleos, demonstrando que os mesmos são uma

promissora fonte para desenvolvimento de materiais deterrentes e/ou repelentes diante de fêmeas de *Ae. aegypti* que buscam locais para ovipositarem.

Palavras-chave: óleo essencial; atividade larvicida; atividade deterrente; *Artemisia judicia*; *Ziziphura tenui*; *Aedes aegypti*.

ABSTRACT

The *Aedes aegypti* mosquito is the vector responsible for the transmission of arboviruses that cause various diseases such as Chikungunya, Dengue, Zika virus and Yellow Fever, which affect millions of people around the world. These diseases bring serious consequences to the population and the local economy, such as Chikungunya, which weakens workers, making it difficult to carry out their daily activities. While the Zika virus is responsible for the permanent damage in newborn brain malformations, microcephaly. *Ae. aegypti* adapted very well to large cities, being considered by the World Health Organization as one of the main public health problems in the world. Furthermore, with the natural selection of a greater number of mosquitoes that are more immune to conventional insecticides, there is an increase in the interest of finding chemical compounds of natural origin that fight *Ae. aegypti*. Thus, the search for new substances becomes essential to reduce the growing numbers of contamination and damage caused by this vector, and the use of essential oils extracted from plant materials is a great alternative because they have less toxicity and present a range of biological activities. The objective of this work, therefore, was to evaluate the larvicidal and oviposition deterrent activity of essential oils, obtained by hydrodistillation, and extracts from leaves of *Artemisia judicia* and *Ziziphura tenuior* against the mosquito *Ae. aegypti*. The essential oils and methanol, aqueous and dichloromethane extracts obtained did not present significant larvicidal activity ($LC_{50} > 100\text{ppm}$). However, *A. judicia* and *Z. tenuior* oils showed deterrent activity at 10 and 100ppm. The chromatographic analysis identified a total of 48 and 35 compounds totaling 94.15% and 90.20% of the constituents of the oils of the species *Z. tenuior* and *A. judicia* respectively. The main major compounds were 1,8-cineole (6.6%), timol (11%), α -cedrol (11.87%) and pulegone (25%) for *Z. tenuior* and piperitone (37.24 %), (E)-ethylcinamate (13.61%), (Z)-ethylcinamate (5.77%) and camphor (13.14%) for *A. judicia*. Oviposition tests with the patterns of these major components showed deterrence in concentrations proportional to those found in oils, demonstrating that they are a promising source for the development of deterrent materials in front of *Ae. aegypti* females that seek places to lay eggs.

Keywords: essential oil; larvicidal activity; deterrent activity; *Artemisia judicia*; *Ziziphura teniou*; *Aedes aegypti*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Distribuição geográfica do mosquito <i>Aedes aegypti</i> e <i>Aedes albopictus</i> no mundo.	17
Figura 2-	Ciclo de vida do mosquito <i>Aedes aegypti</i>	18
Figura 3-	Ovos de <i>Aedes</i>	19
Figura 4-	Larva de <i>Aedes</i>	20
Figura 5-	Pupa de <i>Aedes</i>	21
Figura 6-	Diferença entre o adulto macho (a) e fêmea (b) de <i>Aedes aegypti</i>	22
Figura 7-	Diferentes terpenos formados a partir das unidades básicas do isopreno	25
Figura 8-	(a) cabeça e cauda da unidade de isopreno e (b) monoterpreno, mirceno, “construído” a partir de duas unidades do isopreno conectadas por uma ligação entre a cabeça e a cauda de cada uma delas.	26
Figura 9-	(a) estrutura do pirofosfato de dimetilalila; (b) estrutura do pirofosfato de isopentenila; (c) grupo pirofosfato, bom grupo de saída, por ser uma base fraca	27
Figura 10-	Formação do pirofosfato de geranila, precursor dos monoterpenos, e do pirofosfato de farnesila, precursor dos sesquiterpenos e diterpenos	28
Figura 11-	Esquema de funcionamento da extração por arraste de vapor	30
Figura 12-	Esquema de funcionamento do extrator de óleo essencial por hidrodestilação	31
Figura 13-	Esquema de uma extração usando dióxido de carbono, CO ₂ , supercrítico	32
Figura 14-	Regiões do globo onde é característica a presença de <i>Ziziphora tenuior</i>	34
Figura 15-	Regiões do globo onde é característica a presença de <i>Artemisia. judaica</i>	35
Figura 16-	Esquema dos componentes de um CGEM	37

Figura 17-	Ilustração de um câmara de ionização com impacto de elétrons (EI)	38
Figura 18-	Ilustração da formação de um cátion e seus fragmentos na câmara de ionização com impacto de elétrons (EI) na espectroscopia de massas (EM)	38
Figura 19-	Ilustração de um analisador de massas (quadrupolo)	39
Figura 20-	Ilustração de um detector de ionização em chamas (DIC)	40
Figura 21-	Localização geográfica e mapa da Jordânia	44
Figura 22-	Sistema de hidroddestilação usando um aparelho do tipo Clevenger	45
Figura 23-	Cromatografo gasoso acoplado à espectrometria de massas (CG/EM) e cromatografo gasoso com detector de ionização em chamas (GC-DIC) utilizados na identificação e quantificação dos óleos essenciais respectivamente	46
Figura 24-	Esquema dos testes preliminares larvicidas	49
Figura 25-	Figura esquemática do recipiente usado nos bioensaios de oviposição	50
Figura 26-	Posições dos copos de teste e do controle para as oito gaiolas durante o experimento	51
Figura 27-	Coleta e contagem dos ovos ovipositados das fêmeas de <i>Aedes aegypti</i> após 16hs em ausência de luz.	51
Figura 28-	Cromatograma do óleo essencial da <i>A. judaica</i> obtido por CG/EM	54
Figura 29-	Cromatograma do óleo essencial da <i>Z. tenuior</i> obtido por CG/EM.	54
Figura 30-	Estruturas químicas dos principais constituintes majoritários dos óleos essenciais extraídos das folhas da <i>Z. tenuior</i> e da <i>A. judaica</i>	58
Figura 31-	Espectros de massas obtidos (a) experimentalmente e (b) encontrados na literatura para o pulegone	59
Figura 32-	Proposta de fragmentação do pulegone por espectrometria de massas	60
Figura 33-	Espectros de massas para o timol (A) e para o carvacrol (B)	61

- Figura 34- Possíveis estruturas do fragmento $m/z=135$ após a perda de uma metila do carvacrol 62
- Figura 35- Histograma com o percentual médio de ovos depositados por gaiolas e o respectivo desvio para soluções controle (água destilada e acetona) e teste (óleo essencial de *A. judicia* e *Z. tenuis* a 10 e 100ppm em água e acetona). O valor de n representa o número total de ovos 64
- Figura 36- Histograma com o percentual médio de ovos depositados por gaiolas e o respectivo desvio para soluções controle (água destilada e acetona) e teste (padrões vendidos comercialmente). O valor de n representa o número total de ovos 68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Classificação dos terpenos em função da quantidade de unidades de isoprenos e alguns exemplos e aplicações	26
Tabela 2-	Composição química do óleo essencial da <i>Z. tenuior</i>	55
Tabela 3-	Composição química do óleo essencial da <i>A. judicia</i>	56
Tabela 4-	Mortalidade em função da concentração para os diferentes extratos da <i>Z. tenuior</i> testados	63
Tabela 5-	Mortalidade em função da concentração para os diferentes extratos da <i>A. judaica</i> testados	63
Tabela 6-	Mortalidade em função da concentração do óleo para a <i>A. judaica</i> e <i>Z. tenuior</i> testados	63
Tabela 7-	Dados estatísticos dos ensaios de oviposição de <i>A. aegypti</i> para <i>A. judicia</i> e <i>Z. tenuior</i> a 10 e 100ppm	65
Tabela 8-	Dados estatísticos dos ensaios de oviposição de <i>A. aegypti</i> para os constituintes da <i>A. judicia</i> e <i>Z. tenuior</i>	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ARJ	<i>Artemisia judicia</i>
CG/EM	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
CG/DIC	Cromatografia Gasosa acoplada ao Detector de Ionização de Chamas
CL50	Concentração letal que ocasiona 50% de mortalidade dos organismos alvo
DMSO	Dimetilsulfóxido
%ER	Percentual do efeito repelente
IAO	Índice de Atividade de Oviposição
OE	Óleo essencial
OMS	Organização Mundial de Saúde
PA	Para análise
PPM	Partes por milhão
TWEEN®80	Monooleato de Sorbitan Etoxilado 20
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
W.H.O	World Health Organization
ZT	<i>Ziziphura teniour</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	<i>Aedes aegypti</i> (LINNAEUS, 1762)	17
1.2	CICLO DE VIDA DO MOSQUITO <i>Aedes aegypti</i>	18
1.3	FORMAS DE COMBATE AO VETOR <i>Aedes aegypti</i>	22
1.4	ÓLEOS ESSENCIAIS	24
1.4.1	Terpenos: principais componentes dos óleos essenciais	24
1.4.2	Biossíntese dos terpenos	27
1.4.3	Extração de Óleos Essenciais	28
1.4.4	Destilação por arraste de vapor	29
1.4.5	Hidrodestilação	30
1.4.6	Extração por solvente	31
1.4.7	Extração com Fluido Supercrítico (EFS)	32
1.5	CONSIDERAÇÕES SOBRE O GÊNERO, FAMÍLIA E ESPÉCIE: <i>Ziziphora tenuior</i>	33
1.6	CONSIDERAÇÕES SOBRE O GÊNERO, FAMÍLIA E ESPÉCIE: <i>Artemisia judaica</i>	34
1.7	TÉCNICAS PARA IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS	36
1.7.1	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa (CG/EM)	36
2	OBJETIVOS	42
2.1	OBJETIVO GERAL	42
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	42
3	METODOLOGIA	43
3.1	COLETA DO MATERIAL VEGETAL	43
3.2	EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL	44
3.3	IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL	45
3.4	PREPARAÇÃO DE EXTRATO	47
3.5	MANUTENÇÃO E CRIAÇÃO DA COLÔNIA DE <i>Ae. aegypti</i>	47
3.6	BIOENSAIOS LARVICIDAS	48
3.7	ENSAIO DE OVIPOSIÇÃO	50

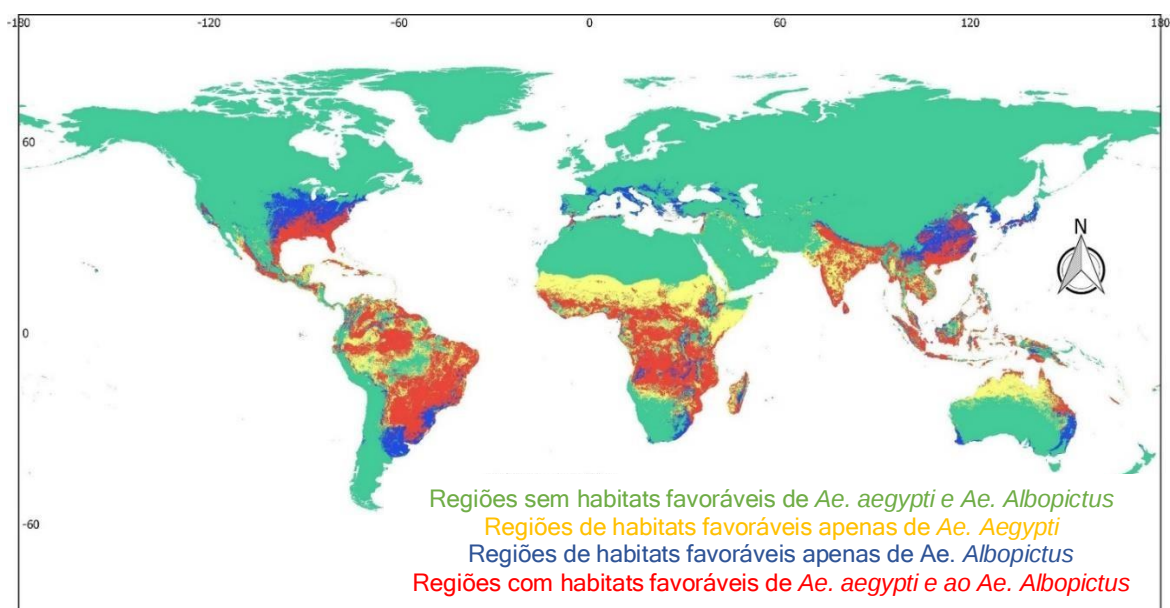
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4.1	IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL	53
4.2	BIOENSAIOS LARVICIDAS	63
4.3	ENSAIO DE OVIPOSIÇÃO	64
4.3.1	Ensaio de oviposição dos óleos essenciais das folhas da <i>A. judicia</i> e <i>Z. teniour</i>	64
4.3.2	Ensaio de oviposição dos padrões adquiridos comercialmente de alguns dos constituintes dos óleos essenciais das folhas da <i>A. judicia</i> e <i>Z. teniour</i>	68
5	CONCLUSÃO	71
	REFERENCIAS	72

1 INTRODUÇÃO

1.1 *Aedes aegypti* (LINNAEUS, 1762)

A espécie *A. aegypti* da classe insecta, ordem díptera, família culicidae e gênero *Aedes* é um mosquito cuja provável origem é atribuída à região etiópica, no nordeste da África, o qual se adaptou muito bem as áreas urbanas, principalmente aquelas onde há precariedade em saneamento básico. (WILKE; CHASE; VASQUEZ; CARVAJAL; MEDINA; PETRIE; BEIER, 2019; ZARA; SANTOS; FERNANDES-OLIVEIRA; CARVALHO; COELHO, 2016). Esse vetor é o responsável pela disseminação de diversas arboviroses, como os vírus da dengue, Zika, Chikungunya e febre amarela. Doenças que ameaçam anualmente, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2019), cerca da metade da população mundial, ocasionando sérios impactos de mortalidade, além de afetar a economia local (BENELLI; DUGGAN, 2018; KRAEMER; REINER; BRADY; MESSINA; GILBERT; PIGOTT; YI; JOHNSON; EARL; MARCZAK, 2019). “Assim, o mosquito é considerado uma preocupação de saúde pública uma vez que o mesmo está disseminado em mais de 120 países (Figura 1) e ainda não há uma vacina eficaz contra as doenças” (BEZERRA-SILVA; DUTRA; SANTOS; SILVA; IULEK; MILET-PINHEIRO; NAVARRO, 2016; KRAEMER; SINKA; A DUDA; MYLNE; SHEARER; BARKER; MOORE; CARVALHO; COELHO; VAN BORTEL, 2015; SILVÉRIO; ESPINDOLA; LOPES; VIEIRA, 2020).

Figura 1. Distribuição geográfica do mosquito *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* no mundo.



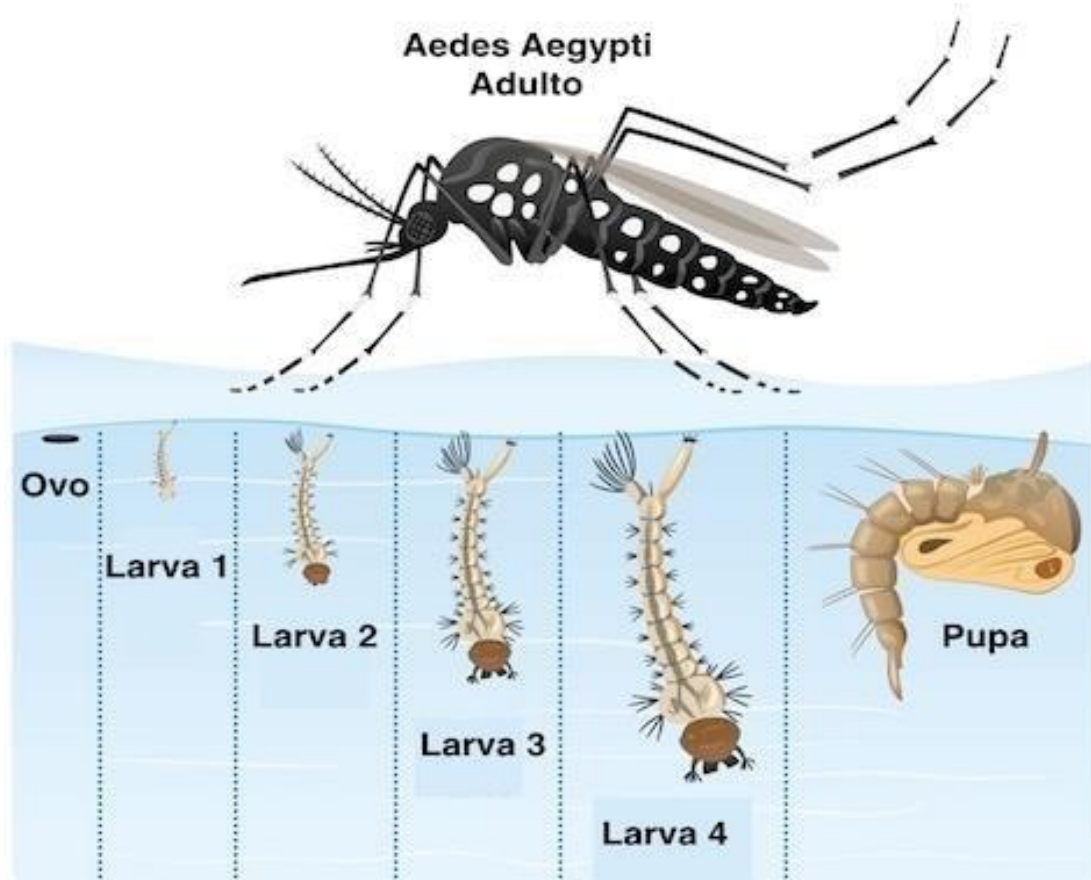
Fonte: LETA; BEYENE; CLERCQ; AMENU; KRAEMER; REVIE, 2018

Nota-se, observando-se a Figura 1, por exemplo, que no Brasil a transmissão de arboviroses está presente em todas as unidades da federação. E segundo o informe de monitoramento epidemiológico do ministério da saúde para o mês de abril de 2019, por exemplo, cerca de mil cidades do país estão sujeitas a surtos de dengue, Zika vírus e Chikungunhya, o que representa um aumento de 340% quando comparando com o mesmo período do ano anterior. (MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL, 2019)

1.2 CICLO DE VIDA DO MOSQUITO *Aedes aegypti*

O Ciclo de vida do mosquito acontece com metamorfose total (holometabólico) em quatro estágios: ovo, larvas, pupa e por fim, adulto (Figura 2).

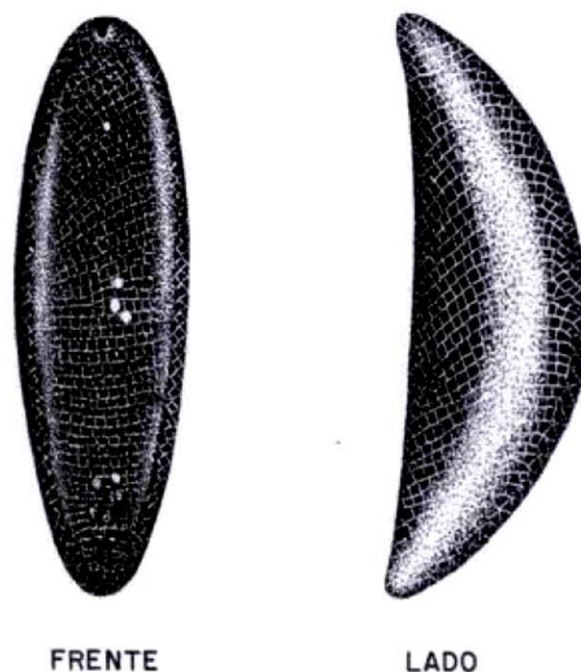
Figura 2: Ciclo de vida do mosquito *Aedes aegypti*



Fonte: <https://www.tuasaude.com/ciclo-de-vida-do-aedes-aegypti/>

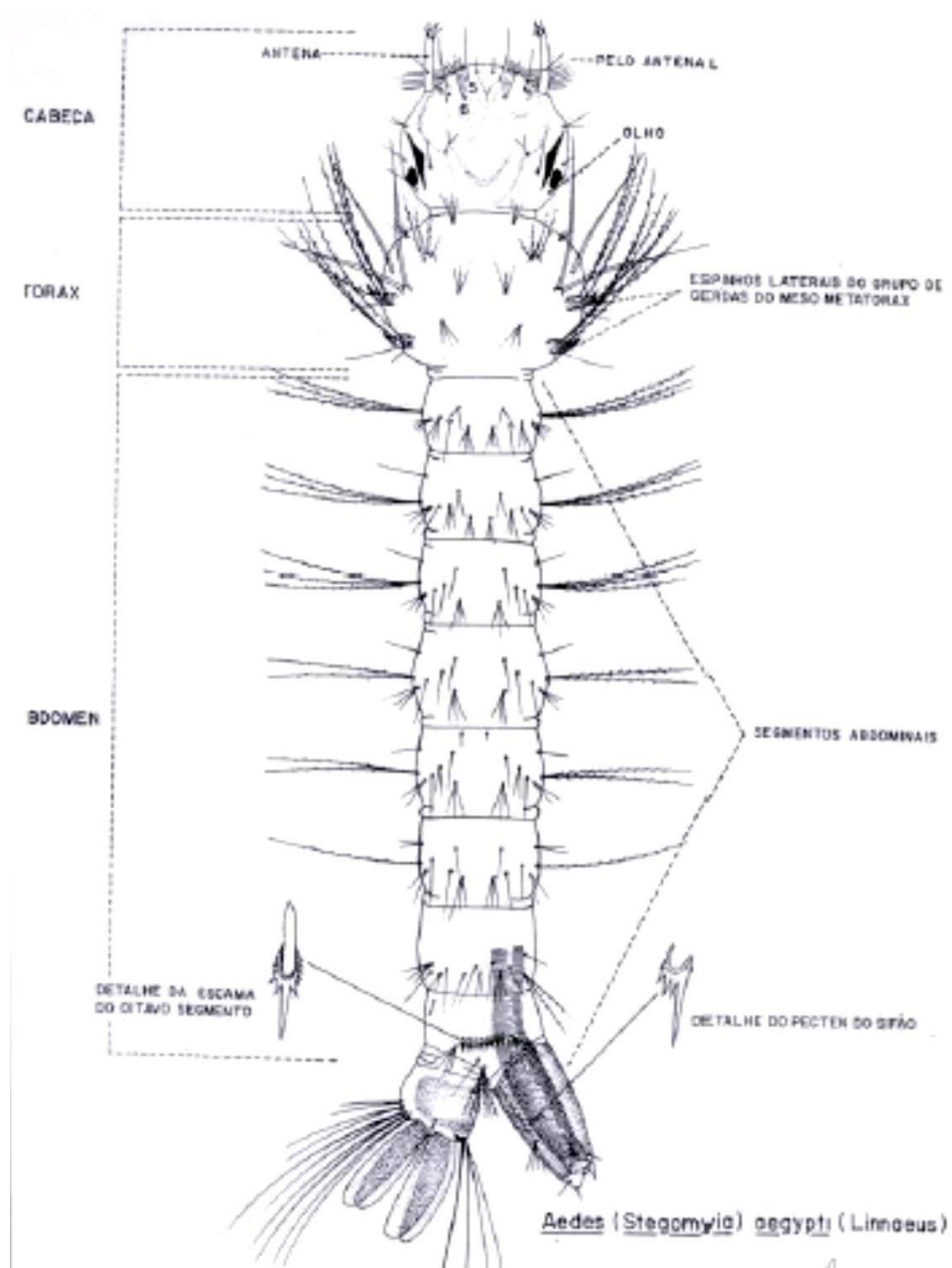
Os ovos (Figura 3) são depositados pelas fêmeas grávidas após a maturação em criadouros próximos da água limpa ou suja. Eles apresentam um tamanho médio de 1mm e um forma alongada e fusiforme os quais passam da cor branca no momento da postura para a cor negra rapidamente, figura 3. A eclosão dos ovos pode ocorrer em mais de 450 dias após a oviposição, possibilitando o transporte destes e consequentemente prejudicando bastante a eliminação desse vetor (Fundação Nacional de Saúde, 2001).

Figura 3: Ovos de *Aedes*



Fonte: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/man_dengue.pdf

Na fase larval ocorre o desenvolvimento e a alimentação com material orgânico disponível no criadouro. Esse estágio possui 4 subestágios e pode durar dias ou semanas dependendo das condições de temperatura, umidade, quantidade de alimentos e de indivíduos presentes. Nesse estágio geralmente ocorre a aplicação dos larvicidas. As larvas são divididas em partes: cabeça, tórax e abdômen (Figura 4). (Fundação Nacional de Saúde, 2001).

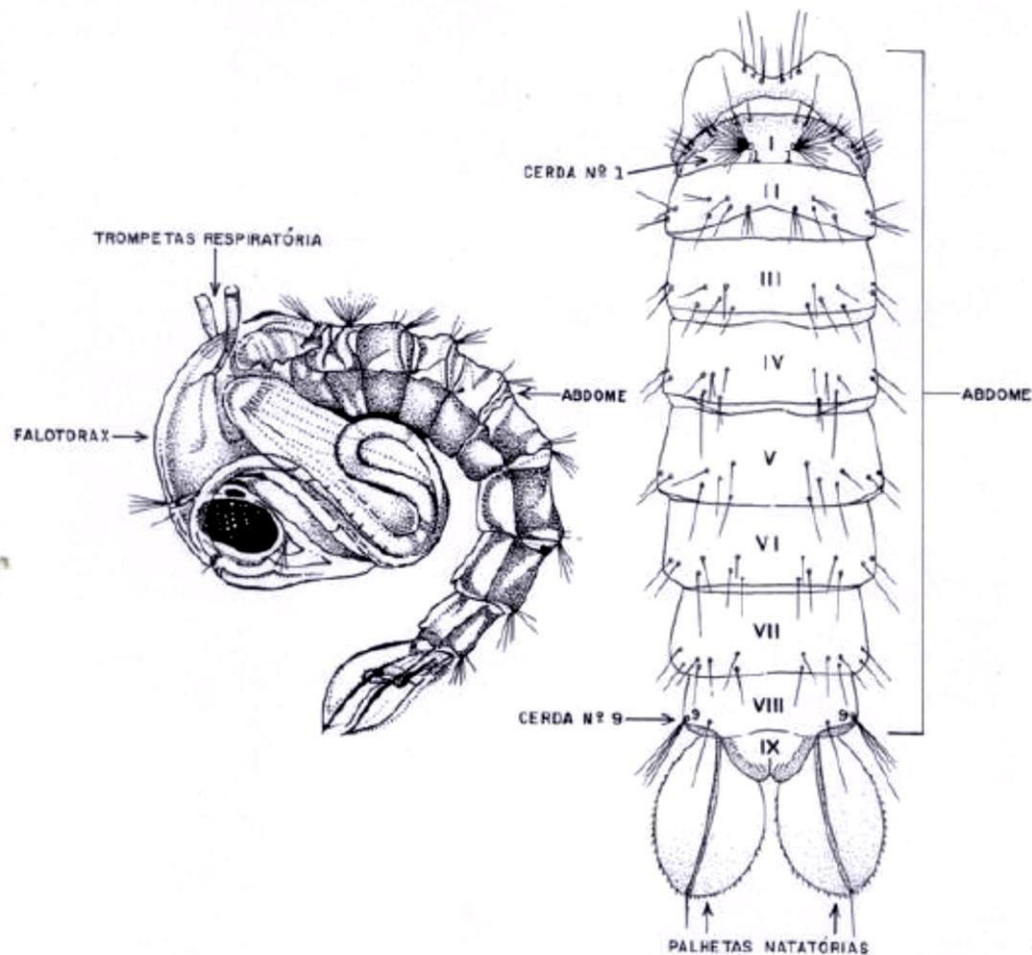
Figura 4: Larva de *Aedes*

Fonte: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/man_dengue.pdf

O abdômen possui oito segmentos, sendo o posterior e o anal dotados de quatro brânquias lobuladas, responsáveis pela regulação osmótica e um sifão, curto, grosso e mais escuro que o corpo para a respiração da larva na superfície da água na posição quase vertical. A larva se desloca em forma de S. Este é o último estágio em que há alimentação. (Fundação Nacional de Saúde, 2001).

“No terceiro estadio, fase da pupa (Figura 5), não há alimentação. Elas se mantem na superfície nesse estadio por dois a três dias antes de mudar para o adulto. A pupa é composta por cefalotórax e abdômen, figura 5”. (Fundação Nacional de Saúde, 2001).

Figura 5: Pupa de *Aedes*

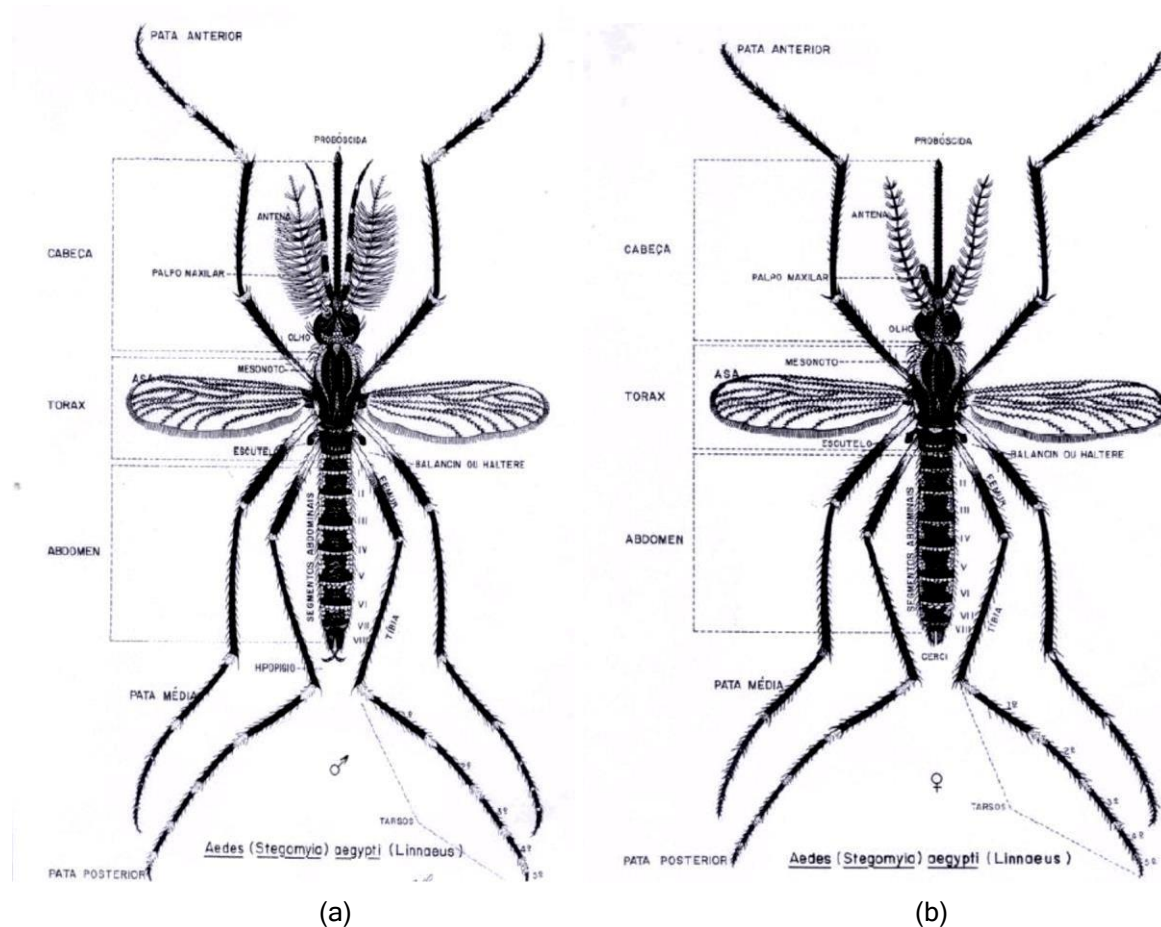


Fonte: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/man_dengue.pdf

A fase de adulto do *A. aegypti* (Figura 6) representa a fase reprodutora do inseto, porém a fase dispersiva para essa espécie acontece mais na fase dos ovos. É característico deste mosquito ser escuro com faixas brancas, onde as diferenças das antenas plumosas e palpos mais longos dos espécimes machos permitem a distinção entre os sexos (Figura 6). O acasalamento ocorre durante o voo e às vezes, sobre superfícies. A fêmea se alimenta de soluções açucaradas (néctar e seiva) e sangue para a maturação dos ovos, sendo o repasto sanguíneo do homem uma opção preferencial (antropofilia) devido à adaptação ao meio urbano. As fêmeas se

alimentam de sangue para obter as proteínas necessárias para a maturação e postura dos ovos, em geral, após três dias. Comumente, ela se alimenta do repasto sanguíneo ao amanhecer e ao entardecer. As fêmeas costumam colocar de 50 a 70 ovos a cada oviposição, enquanto o macho só se alimenta de seiva de plantas e carboidratos dos vegetais. (Fundação Nacional de Saúde, 2001)

Figura 6: Diferença entre o adulto macho (a) e fêmea (b) de *Aedes aegypti*



Fonte: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/man_dengue.pdf

1.3 FORMAS DE COMBATE AO VETOR *Aedes aegypti*

Há diversas formas de combater o mosquito, as quais vão, por exemplo, desde campanhas de conscientização, mapeamento de áreas com maior incidência de casos registrados, inseticidas naturais e sintéticos, radiação, modificação genética de mosquitos, uso de bactérias e vírus, repelentes, roupas e telas contendo substâncias repelentes, armadilhas, dentre outras alternativas mecânicas, biológicas ou químicas

(SANTANA; TRINDADE; STABELI; SILVA; MILITÃO; FACUNDO, 2015; GOMES; SILVA; PINHEIRO; CARVALHO; LIMA; SILVA; SILVA; LOUZEIRO; OLIVEIRA; .E.M. FILHO, 2016). “Porém esse combate deve ser realizado em várias frentes, sendo constantemente realizado, uma vez que, mesmo reduzindo muito a presença do vetor, sempre haverá o risco do seu retorno em grande escala”. (GOVINDARAJAN; RAJESWARY; SENTHILMURUGAN; VIJAYAN; ALHARBI; KADAIKUNNAN; KHALED; BENELLI, 2018). Isso já aconteceu, por exemplo, em 1958 e 1973, quando o Brasil conseguiu reduzir o número de casos de febre amarela. Porém, em 1976, novos casos surgiram por falha na vigilância dos focos do mosquito e pelo crescimento populacional desordenado, além da reintrodução de sorotipos do vírus pelo fluxo de pessoas contaminadas oriundas de países vizinhos (ZARA; SANTOS; FERNANDES-OLIVEIRA; CARVALHO; COELHO, 2016) .

Dessa forma, uma vez que vacinas ainda não estão à disposição para prevenção dessas arboviroses, até o presente momento, a forma preventiva mais comumente usada é a ruptura e eliminação do ciclo do mosquito, o elo mais fraco entre o vírus e o homem. Isso ocorre, por exemplo, com o emprego de larvicidas (NAQQASH; GÖKÇE; BAKHSH; SALIM, 2016). “Os larvicidas normalmente utilizados para tal finalidade pertencem a classe dos organofosfatos, organoclorados, piretroides e carbamatos” (BRAGA; VALLE, 2007). “Porém, o uso em grande escala desses compostos sintéticos vem despertando preocupações sobre a segurança e os impactos toxicológicos no meio ambiente, nos seres humanos e em outros organismos” (AZEEM; ZAMAN; TAHIR; HARIS; IQBAL; BINYAMEEN; NAZIR; SHAD; MAJEED; MOZHRAITIS, 2019).

Além disso, devido a seleção de cada vez mais um número maior de mosquitos resistentes a esses inseticidas ao redor do mundo, vem aumentando o interesse por novos agentes de controle de insetos a partir de produtos naturais, tais como os óleos essenciais extraídos de plantas (SANTOS; NASCIMENTO; SANTOS; MARRIEL; BEZERRA-SILVA; ROCHA; SILVA; CORREIA; PAIVA; MARTINS, 2017; YU; WONG; AHMAD; JANTAN, 2015). Um exemplo disso é o uso do *Bacillus thuringiensis subsp. israelensis* (Bti) como larvicida. Na literatura há estudos que demonstram uma resistência de *Aedes* (*Aedes rusticus*, *Aedes sticticus* e *Aedes vexans*) às toxinas isoladas (Cry4Aa, Cry4Ba, Cry11Aa and Cyt1Aa) deste larvicida. (TETREAU;

BAYYAREDDY; JONES; STALINSKI; A RIAZ; PARIS; DAVID; ADANG; DESPRÉS, 2012; WIRTH, 2013)

1.4 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais tem despertado grande interesse na busca de alternativas de baixo custo, de fácil obtenção, renováveis e menos poluentes ou tóxicas, uma vez que estes possibilitam produzir inseticidas eficazes e seguros para a população e meio ambiente. (PIPLANI; BHAGWAT; SINGHVI; SANKARANARAYANAN; BALANAFUCE; VATS; CHANDER, 2019; SILVÉRIO; ESPINDOLA; LOPES; VIEIRA, 2020). “Os óleos essenciais são uma mistura de substâncias voláteis característicos de plantas aromáticas, localizando-se nas partes aéreas (folhas e ramos finos), cascas, troncos, raízes, frutos e flores” (CASTILLO; STASHENKO; DUQUE, 2017). A mistura contém hidrocarbonetos terpênicos, aldeídos, álcoois simples e terpênicos, cetonas, ésteres, éteres, fenóis, óxidos e peróxidos, apresentando-se líquidos de aspecto oleoso à temperatura ambiente e dotados de aroma (SARMA; ADHIKARI; MAHANTA; KHANIKOR, 2019)

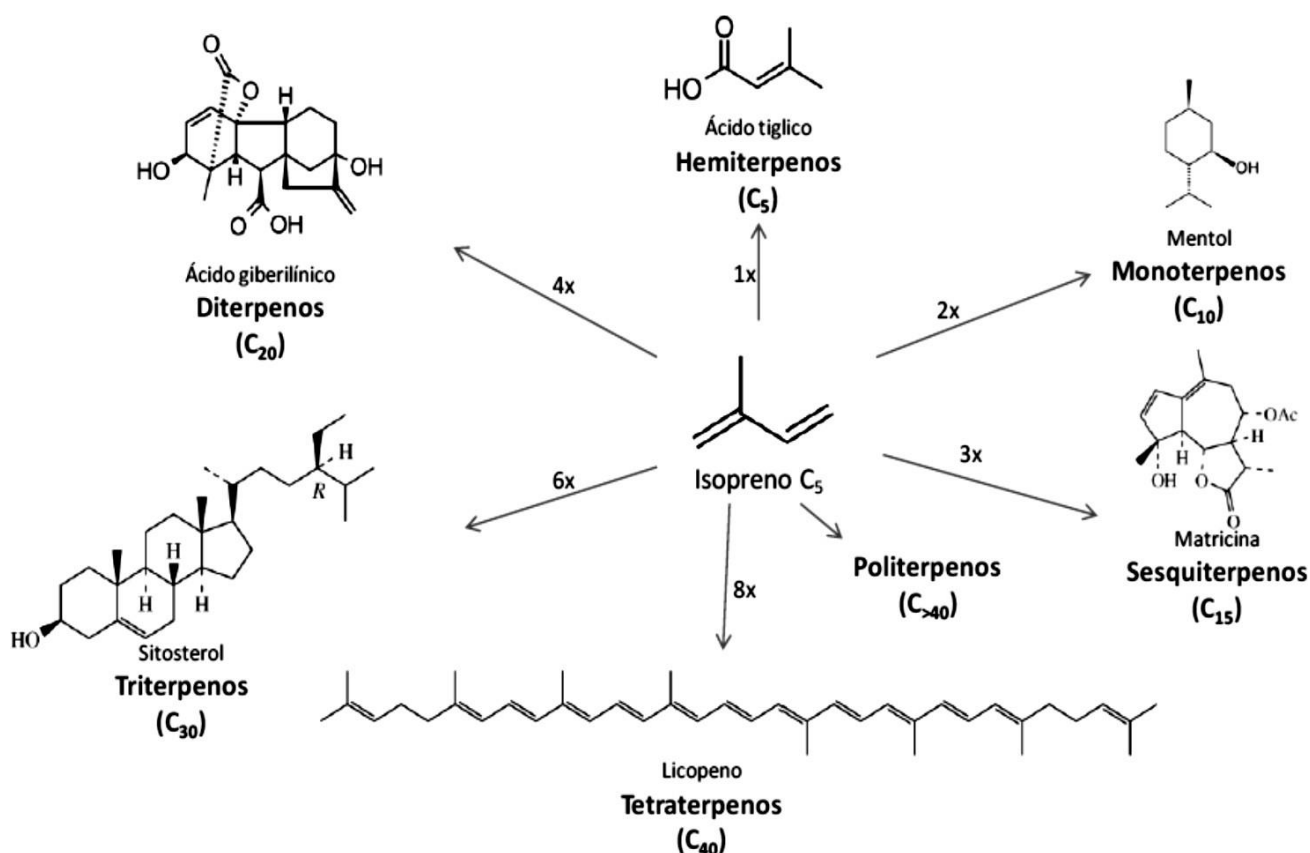
Pesquisas e estudos realizados comprovam a ação medicinal de óleos essenciais, assim como sua importante função antibacteriana e inseticida, destacando também sua função ecológica, pois, contribuem para atrair polinizadores e protegem as plantas contra herbívoros (BASAIID; CHEBLI; MAYAD; FURZE; BOUHARROUD; KRIER; BARAKATE; PAULITZ, 2020) A composição química do óleo apresenta variações de acordo com a localização do órgão da planta, a época de colheita, condições de temperatura, umidade relativa e composição química do solo, regime de exposição ao sol são fatores que influenciam de forma direta os componentes do óleo essencial extraído do mesmo órgão de uma mesma espécie vegetal (DONALD; FERNANDES; BOYLAN, 2016).

1.4.1 Terpenos: principais componentes dos óleos essenciais

“Os terpenos são utilizados em diversos setores da sociedade como, por exemplo, em temperos, perfumes, remédios e cosméticos há milhares de anos” (FELIPE;

BICAS, 2017). Eles compõem um grupo variado de compostos químicos (por exemplo, hidrocarbonetos, alcenos, cetonas, aldeídos, álcoois), encontrados em diversas plantas e seus produtos naturais, que comungam de aspectos em comum conforme a regra do isopreno. De acordo com essa regra, os terpenos podem ser considerados originados a partir da junção de unidades do isopreno, o qual é formado por 5 átomos de carbono (C_5) (Figura 7). (TONGNUANCHAN; BENJAKUL, 2014)

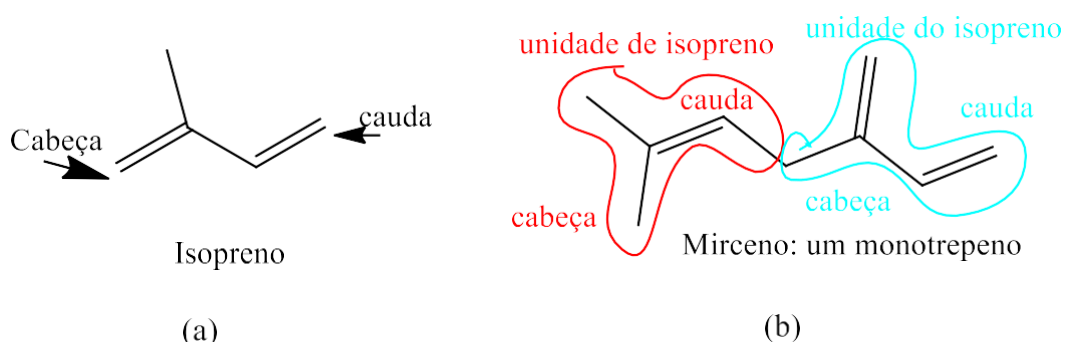
Figura 7: Diferentes terpenos formados a partir das unidades básicas do isopreno



Fonte: GALDEANO; KLEINGESINDS, 2012

Dessa forma, os derivados da junção das unidades de isopreno podem ser classificados em monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpenos dependendo das quantidades de isoprenos ligados entre si pela “cabeça a cauda”, conforme observado nas Figuras 8a e 8b e na Tabela 1.

Figura 8: (a) cabeça e cauda da unidade de isopreno e (b) monoterpreno, mirceno, “construído” a partir de duas unidades do isopreno conectadas por uma ligação entre a cabeça e a cauda de cada uma delas.



Fonte: adaptado de BRUICE, 2010; KLEIN, 2016

Tabela 1: Classificação dos terpenos em função da quantidade de unidades de isoprenos e alguns exemplos e aplicações

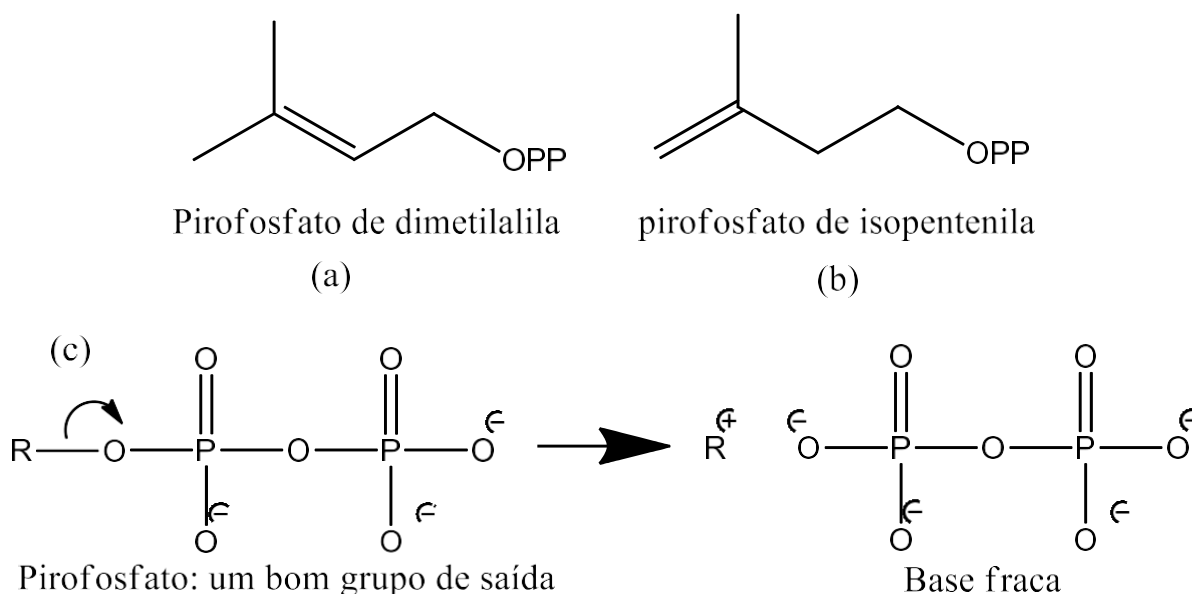
Classificação	Bloco de isopreno	Quantidade de carbono	Exemplos e aplicações
Hemiterpenos	1	5	Isopreno (monômero empregado na fabricação de borracha), prenol (odor frutado e utilizado na fabricação de perfumes) e ácido isovalérico (aroma característico de “queijo velho/chulé”).
Monoterpenos	2	10	Limoneno (aroma característico de fruta cítrica) e α -terpineol (aroma característico floral/pinho).
Sesquiterpenos	3	15	Farneseno (“diesel da cana”), nootkatona (aroma característico de toranja) e bisabolol (essência de camomila).
Diterpenos	4	20	Esteviosídeo (produção de adoçante natural a base de stevia) e sclareol (proveniente da sálvia - <i>Salvia sclarea</i>)
Triterpenos	6	30	Esqualeno (encontrado no óleo de fígado de tubarão)
Tetraterpenos	8	40	Carotenoides como o β -caroteno (pigmento da cenoura) e a zeaxantina (pigmento predominante em vegetais amarelos).

Fonte: FELIPE; BICAS, 2017

1.4.2 Biossíntese dos terpenos

A biossíntese dos terpenos ocorre pela reação entre o pirofosfato de isopentenila e o pirofosfato de dimetila (Figuras 9a e 9b, respectivamente). Em ambas as vias, o grupo pirofosfato (OPP), é um bom grupo abandonador, grupo de saída, por se tratar de uma base fraca (figura 9c).

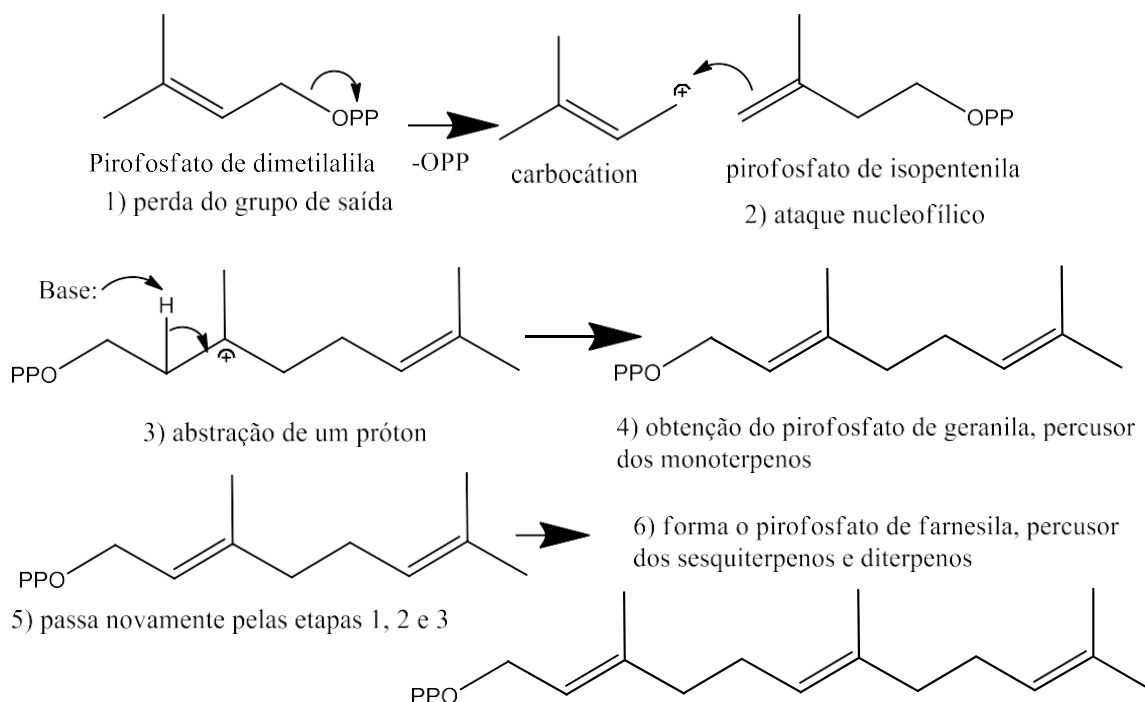
Figura 9: (a) estrutura do pirofosfato de dimetilalila; (b) estrutura do pirofosfato de isopentenila; (c) grupo pirofosfato, bom grupo de saída, por ser uma base fraca



Fonte: adaptado de BRUICE, 2010; KLEIN, 2016

A partir da perda desse grupo de saída, é formado um carbocátion alílico estabilizado por ressonância o qual é atacado nucleofilicamente por uma molécula de pirofosfato de isopentenila seguido por último de uma abstração de próton conforme ilustrado na Figura 10. O produto dessa reação é o pirofosfato de geranila, responsável pela formação de todos os monoterpenos. E este, por sua vez, pode sofrer uma nova perda de um grupo de saída, seguidos por um ataque nucleofílico da ligação pi de um pirofosfato de isopentenila e posterior transferência de próton, formando um sesquiterpeno, o pirofosfato de farnesila, precursor de outros sesquiterpenos e diterpenos (Figura 10). (BRUICE, 2010; KLEIN, 2016; FELIPE; BICAS, 2017)

Figura 10: formação do pirofosfato de geranila, precursor dos monoterpênos, e do pirofosfato de farnesila, precursor dos sesquiterpênos e diterpênos



Fonte: adaptado de BRUICE, 2010; KLEIN, 2016

1.4.3 Extração de Óleos Essenciais

“Os métodos mais conhecidos de extração de óleo essencial são: hidrodestilação, arraste à vapor, ultrassom, micro-ondas, prensagem a frio, extração com fluido supercrítico” (ELYEMNI; LOUASTE; NECHAD; ELKAMLI; BOUIA; TALEB; CHAOUCH; ELOUTASSI, 2019). “Para a escolha do método, entretanto, deve-se levar em consideração o desempenho quanto ao rendimento, qualidade, tempo de operação e custo” (SARTOR, 2009). “Dentre essas técnicas, destacam-se a hidrodestilação e a extração com solventes voláteis, por serem de pouca complexidade e custo reduzido” (BOUKHATEM, 2020)

“O método aplicado deve levar em consideração aspectos da planta como órgão de armazenamento do óleo, propriedades físicas e químicas” (TONGNUANCHAN; BENJAKUL, 2014). O conhecimento dos métodos de extração permite que o produtor aumente sua produtividade obtendo o máximo de rendimento na obtenção dos óleos. Existem vários métodos para extrair OE, a depender do valor

comercial do produto e órgão da planta onde está localizado o óleo (STRATAKOS; KOIDIS, 2016).

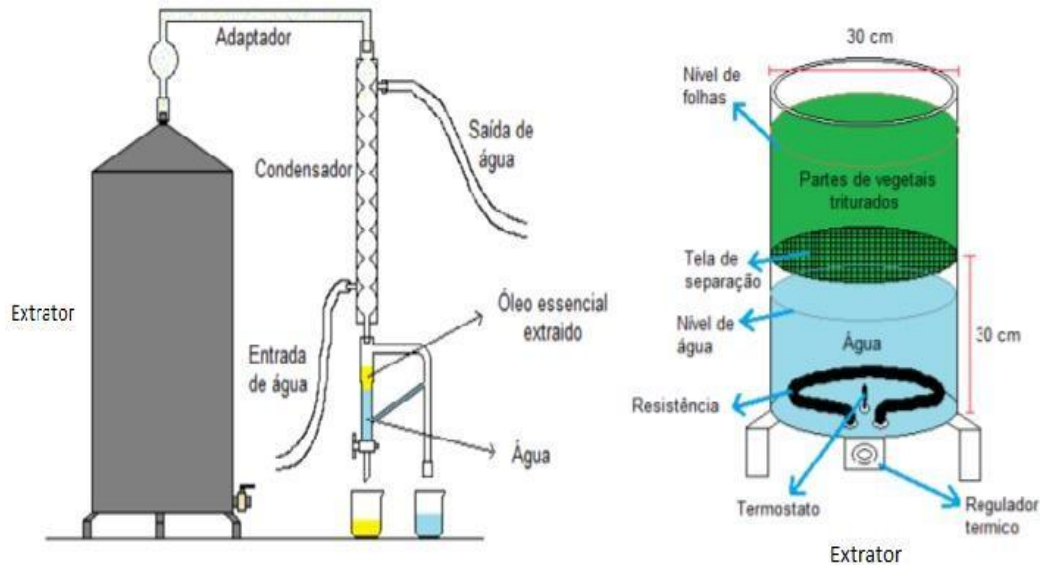
O processo mais comum utilizado na extração de OE é a destilação por arraste de vapor e a hidrodestilação, ambos relativamente fáceis de operar e de baixo custo. Esses dois métodos são semelhantes, pois, em ambos os casos, são uma operação unitária baseada na diferença de volatilidade entre os componentes do extrato (TONGNUANCHAN; BENJAKUL, 2014).

A diferença entre eles é que, no método da hidrodestilação o material de partida a ser destilado permanece em contato direto com a água em ebulição, enquanto que no método de arraste à vapor, a matéria prima é encontrada submetida a uma corrente de vapor d'água, de modo que evita o contato direto com a água em ebulição, podendo, assim, extrair substâncias de baixo peso molecular (AZIZ; AHMAD; SETAPAR; KARAKUCUK; AZIM; LOKHAT; RAFATULLAH; GANASH; KAMAL; ASHRAF, 2018)

1.4.4 Destilação por arraste de vapor

A extração dos óleos essenciais pelo processo de destilação por arraste à vapor (Figura 11), ocorre devido à diferença da pressão de vapor, de modo que a água não fica em contato com o material vegetal. Neste processo, a difusão do óleo essencial ocorre quando o vapor passa pela matéria prima, promovendo a dissolução do óleo que atravessa a membrana plasmática por osmose. Por fim, os óleos se volatilizam conforme o ponto de ebulição específico (STRATAKOS; KOIDIS, 2016).

Figura 11. Esquema de funcionamento da extração por arraste de vapor

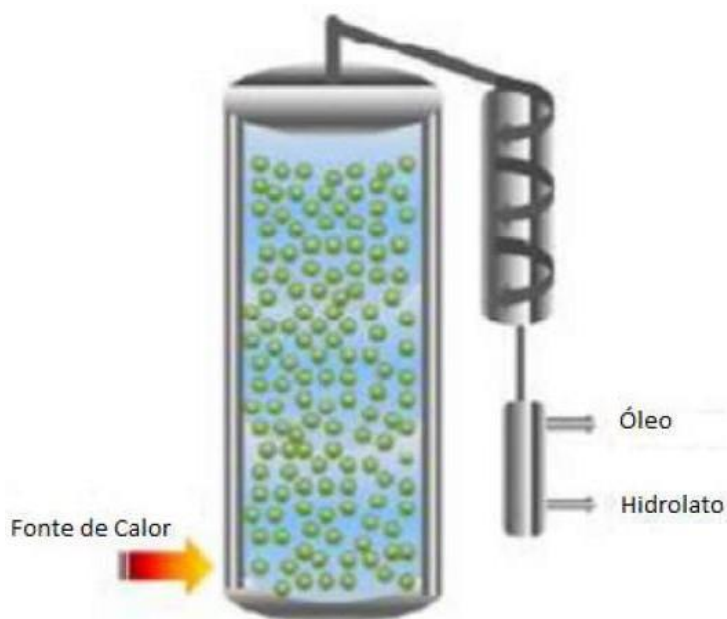


Fonte: (SILVA; BERTINI; ALVES; MOURA; BARBOSA; FERNANDES, 2014)

1.4.5 Hidrodestilação

Este método é semelhante à destilação por arraste à vapor, a única diferença está no funcionamento do extrator (Figura 12). Neste caso o constituinte do óleo essencial do material vegetal, em contato com a água aquecida, receberá pressão e calor das moléculas de vapor d'água entrando em ebulição e em seguida são condensados. Já na forma líquida e na temperatura adequada, a mistura condensada de água e óleo formam duas fases e neste momento ocorre a separação do óleo essencial e da água. Esta água contém alguns componentes do óleo essencial, guardando algumas características do mesmo e é chamada de hidrolato. No entanto, a água que fica no balão é chamada de extrato bruto (AZIZ; AHMAD; SETAPAR; KARAKUCUK; AZIM; LOKHAT; RAFATULLAH; GANASH; KAMAL; ASHRAF, 2018). “Deve-se ter cuidado ao utilizar esta metodologia, porque pode provocar degradação de alguns compostos de baixo peso molecular, visto que o material vegetal permanece em contato direto com a água quente por períodos longos”. (IBÁÑEZ; BLÁZQUEZ, 2020)

Figura 12. Esquema de funcionamento do extrator de óleo essencial por hidrodestilação



Fonte: SARTOR, 2009

1.4.6 Extração por solvente

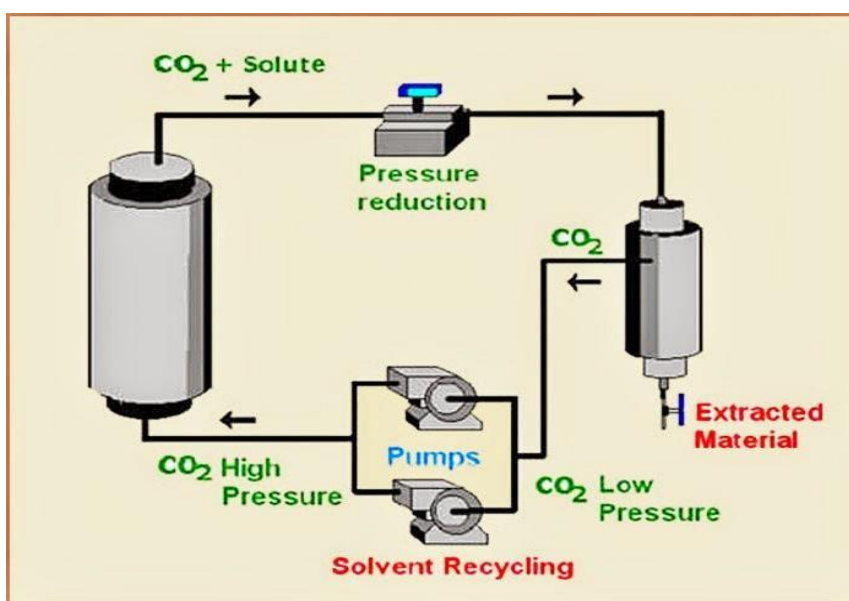
“Alguns componentes não conseguem suportar o aumento de temperatura e acabam degradando e modificam a qualidade do óleo. Neste caso, recomenda o uso de solventes apolares como hexano, propanol, acetona *etc*”. (SILVEIRA; BUSATO; COSTA; JUNIOR, 2012). A escolha do solvente não pode ser aleatória, devendo ser levado em consideração a baixa temperatura de ebulição do solvente, que deve ser inerte quimicamente e de baixo custo. Além das características do solvente, deve-se ainda considerar as especificidades de cada solvente, evitando que ocorram reações indesejadas (SILVEIRA; BUSATO; COSTA; JUNIOR, 2012).

Steffani (2003) afirma que o método consiste em misturar o solvente com o material vegetal, que após um tempo ocorre transferência dos componentes solúveis e, por fim, o óleo é separado pela evaporação do solvente na fase líquida. Por outro lado, outros compostos da célula são solúveis, como as ceras e pigmentos. Outros problemas são: requer bastante tempo para realizar a extração, baixa reprodutibilidade, consumo elevado de solvente, o qual pode ser tóxico (HESHAM, ABDURAHMAN, ROSLI, 2016).

1.4.7 Extração com Fluido Supercrítico (EFS)

“Esta técnica de extração baseia-se nas características dos fluidos supercríticos (Figura 13), que, nestas condições, possuem baixa viscosidade e elevada densidade, o que permite a utilização em processos de extração a partir de matrizes sólidas” (CASAGRANDE, 2014).

Figura 13. Esquema de uma extração usando dióxido de carbono, CO₂, supercrítico



Fonte: CASAGRANDE, 2014

“EFS é uma técnica que adiciona um fluido supercrítico como meio de extração de uma amostra, utilizando a diferença de solubilidade em comparação com o meio de extração” (CASAGRANDE, 2014). A grande vantagem deste método está no fato de ser uma tecnologia limpa, atóxica e não residual e fácil de separar e é capaz de manter a composição química original da matéria prima, além de poder ser aplicado a quaisquer partes das plantas. Milet-Pinheiro, Silva, Navarro, Machado e Gerlach (2018) afirmam que ao utilizar este método, obtêm-se óleos essenciais com melhor qualidade, pois mantém a integridade dos compostos ativos.

“Na extração supercrítica, os compostos orgânicos são solubilizados em fluidos e o mais utilizado é o CO₂ que é extremamente volátil, não tóxico, não inflamável, barato e inodoro” (STEFFANI, 2003; YOUSEFI; RAHIMI-NASRABADI;

POURMORTAZAVI; WYSOKOWSKI; JESIONOWSKI; EHRLICH; MIRSADEGHI, 2019). “Além dessas características, pode-se melhorar a eficiência da extração diminuindo o tempo e oferecendo fácil eliminação do solvente e processos de concentração” (NUNES, 2002). Azambuja (2020) descreve a metodologia da extração supercrítica no momento que se coloca a biomassa dentro de um cilindro cujas extremidades são feitas de metal poroso que permite a livre circulação do fluido. Nesse caso, o fluido passa através do material vegetal, onde os óleos são extraídos até um nível de solubilidade de equilíbrio e, em seguida, a solução gasosa é conduzida para fora do extrator, passando por uma válvula redutora de pressão que separa o fluido do óleo essencial (YOUSEFI; RAHIMI-NASRABADI; POURMORTAZAVI; WYSOKOWSKI; JESIONOWSKI; EHRLICH; MIRSADEGHI, 2019)

“Como a temperatura crítica do CO₂ é 31,3°C ou superior, a extração pode ocorrer em temperatura próxima a do ambiente ou dentro de uma atmosfera de dióxido de carbono desprovido de oxigênio” (NUNES, 2002). Este fato, torna o SFE uma técnica ideal para materiais que apresentam instabilidade térmica ou de componentes que são suscetíveis à oxidação, todavia, é um método ambientalmente correto que não faz uso de solventes perigosos (AZAMBUJA, 2020). O EFS realiza extração de componentes ativos, incluindo aromas e componentes medicinais de produtos naturais, o ácido docosahexaenóico (DHA), ácido graxos como o ácido eicosapentaenoico (EPA), vitaminas lipossolúveis e produtos farmacêuticos (NUNES, 2002). Também pode ser aplicado ao pré-processamento de amostras para análise, incluindo HPLC e GC (SILVA; MILET-PINHEIRO; SILVA; SILVA; SILVA; NAVARRO; SILVA, 2015)

1.5 CONSIDERAÇÕES SOBRE O GÊNERO, FAMÍLIA E ESPÉCIE: *Ziziphora tenuior*

O gênero *Ziziphora* (Lamiaceae) engloba uma série de plantas medicinais largamente espalhadas pela Ásia Central, sul da Rússia, Cáucaso, oeste da Sibéria, Ásia menor, Irã, oeste da China e regiões próximas do mediterrâneo (Figura 14). Elas são plantas herbáceas aromáticas utilizadas em várias aplicações, como no tratamento de resfriado, bronquite, tosse, dor de cabeça, disenteria, diarreia, infecções no útero, náusea, tifo e doenças cardiovasculares, antisséptico, antimicrobiano,

sedativos, hipertensão, cicatrização de feridas (GINTZBURGER; TODERICH; MARDONOV; MAHMUDOV, 2003; MAHBOUBI; BOKAEE; DEHDASHTI; MOHAMMAD, 2012; GHASSEMI; GHANADIAN; GHAEMMAGHAMI; KIANI, 2013). Ela ainda é usada até no preparo e conservação de alimentos. Em árabe é conhecida como *Zizfran*. Entre os principais constituintes do óleo essencial dessa planta encontrados na literatura através de cromatografia gasosa acoplada ao espectro de massa (CG/EM) e que possuem propriedades medicinais estão a pulegona, 1,8-cineol, timol, carvacrol, *p*-cimeno e o limoneno (ABU-DARWISH; CABRAL; GONÇALVES; CAVALEIRO; CRUZ; PAOLI; TOMI; EFFERTH; SALGUEIRO, 2016; MOHAMMADHOSSEINI, 2017)

Figura 14: Regiões do globo onde é característica a presença de *Ziziphora tenuior*

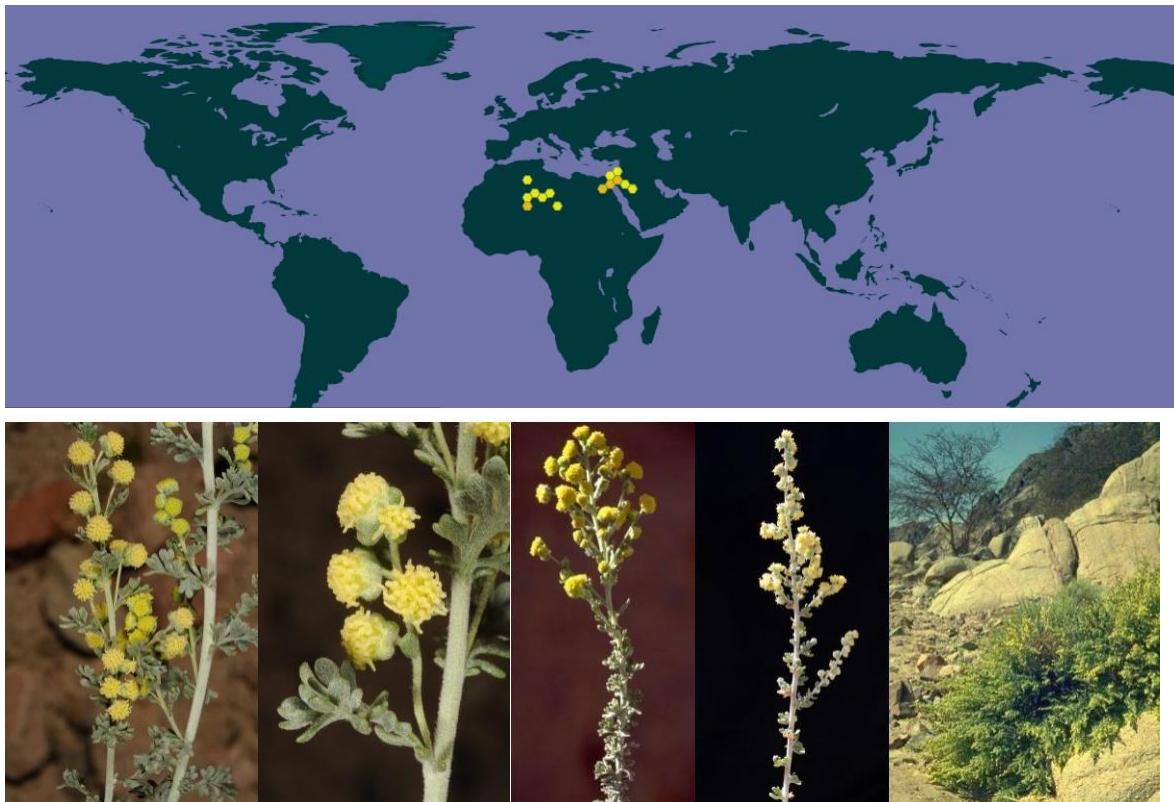


Fonte: https://uses.plantnet-project.org/en/Ziziphora_tenuior

1.6 CONSIDERAÇÕES SOBRE O GÊNERO, FAMÍLIA E ESPÉCIE: *Artemisia judaica*

Artemisia judaica. (nome árabe: *Beithran*), é uma planta medicinal e aromática a qual é encontrada em vales de áreas desérticas, em especial no deserto do sul da Jordânia, próximo às fronteiras da Jordânia e Arábia Saudita (Figura 15). Na Jordânia, *A. judaica* é amplamente utilizado na medicina tradicional para o tratamento de dores de estômago, doenças cardíacas, fraqueza sexual, diabetes, distúrbios gastrointestinais e ferimentos externos. Adicionalmente, outros medicamentos populares da região árabe usam habitualmente esta planta aromática para o tratamento de doenças relacionadas com inflamação, por exemplo, infecções fúngicas, diabetes, aterosclerose, cancro e artrite. Também é utilizada como bactericida, anti-inflamatória, analgésica e anti-helmínticas. (ABU-DARWISH; CABRAL; GONÇALVES; CAVALEIRO; CRUZ; PAOLI; TOMI; EFFERTH; SALGUEIRO, 2016; EL-AMIER; BORKI; ELAGAMI, 2019)

Figura 15: Regiões do globo onde é característica a presença de *Artemisia judaica*



Fonte: <https://flora.org.il/en/plants/ARTJUD/>

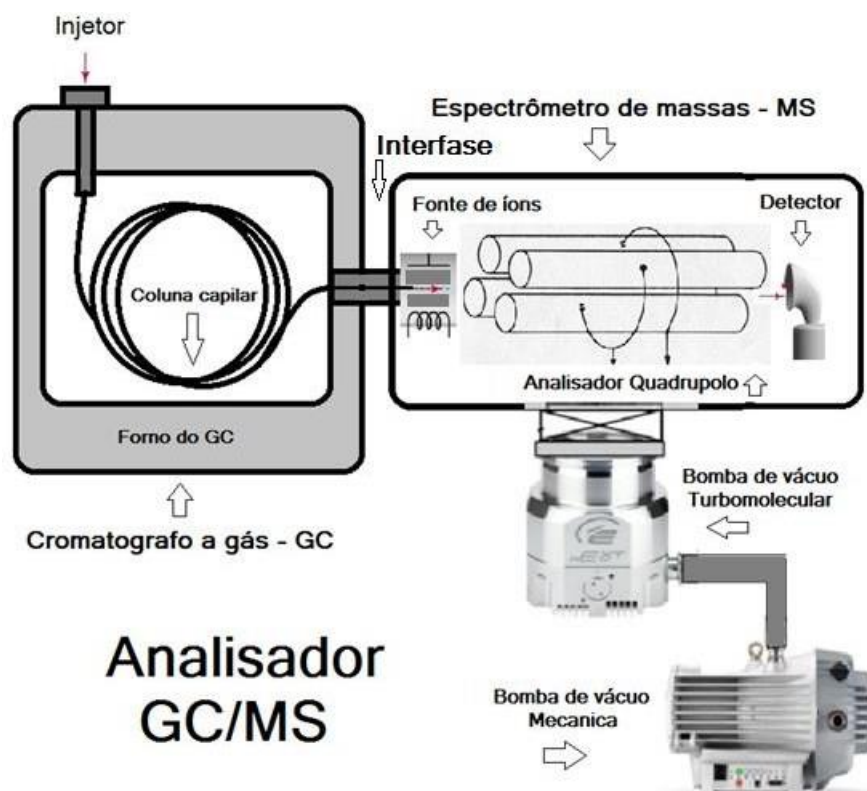
1.7 TÉCNICAS PARA IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS

1.7.1 Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa (CG/EM).

A técnica cromatográfica tem uma enorme variedade de aplicações que vão desde o auxílio juntamente com a ressonância magnética nuclear e o infravermelho da elucidação estrutural de compostos orgânicos, análise de derivados de petróleo como, por exemplo, os hidrocarbonetos policromáticos, análises de agrotóxicos e outros tipos de contaminantes ambientais, testes antidoping, análise de alimentos, nos exames toxicológicos, na decomposição dos fármacos entre inúmeras outras aplicações (MEURER, 2020). Essa versatilidade da cromatografia permite a combinação da mesma com outros diferentes tipos de sistemas como a espectroscopia de massas. Isso possibilitou a união da alta seletividade e eficiência de separação cromatográfica com a aquisição de informações estruturais, massa molar, e o aumento adicional da seletividade (CHIARADIA; COLLINS; JARDIM, 2008; LANÇAS, 2019).

O cromatografo a gás acoplado ao espectrômetro de massas (CGEM) é basicamente composto por um injetor, uma coluna capilar, um forno, uma interface, uma fonte de íons, um analisador de massas e um detector. O sistema do espectrômetro de massas fica sob alto vácuo. (Figura 16)

Figura 16: Esquema dos componentes de um CGEM

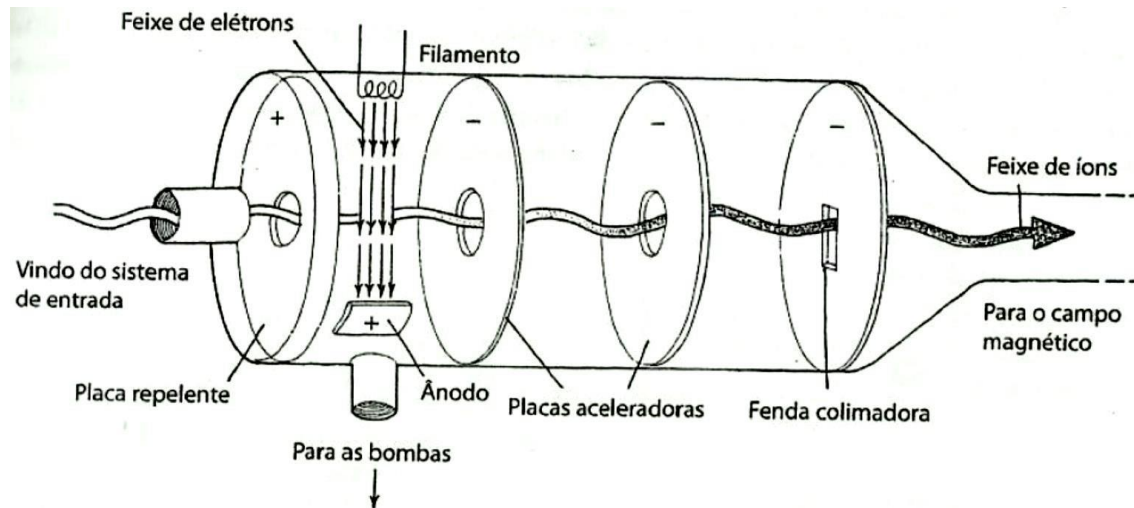


Fonte: <https://revistaanalytica.com.br/a-cromatografia-a-gas-acoplada-a-espectrometria-de-massas-gc-ms/>

Um dos tipos de fontes de ionização mais comum é a ionização por impacto de elétrons (EI) (Figura 17). Nele um feixe de elétrons originados por um filamento de tungstênio de alta energia, cerca de 70eV atinge as moléculas orgânicas no estado gasoso, as quais sofrem ionizações e fragmentações (Figura 18). Os íons formados geralmente são cátions radicalares, os quais posteriormente sofrem fragmentações. Esse íon é atraído por placas aceleradoras, enquanto outros tipos de íons ou moléculas neutras são descartados pela sucção das bombas de vácuo (LANÇAS, 2019; MEURER, 2020). Esse tipo de fonte de íons tem a vantagem de produzir padrões de fragmentação reprodutíveis, possibilitando a comparação dos espectros obtidos experimentalmente com espectrotescas de massas de forma rápida. Porém essa fonte tem a desvantagem de requerer uma volatilidade elevada, termoestabilidade e em alguns casos os fragmentos possuem tempos de vida de

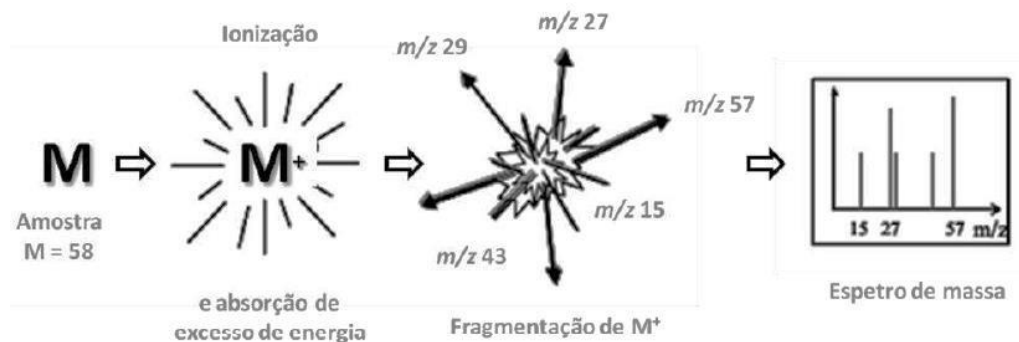
curtíssima duração para serem identificados (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007; PAVIA; LAMPMAN; KRIZ; VYVYAN, 2010)

Figura 17: Ilustração de um câmara de ionização com impacto de elétrons (EI)



Fonte: (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ; VYVYAN, 2010)

Figura 18: Ilustração da formação de um cátion e seus fragmentos na câmara de ionização com impacto de elétrons (EI) na espectroscopia de massas (EM)

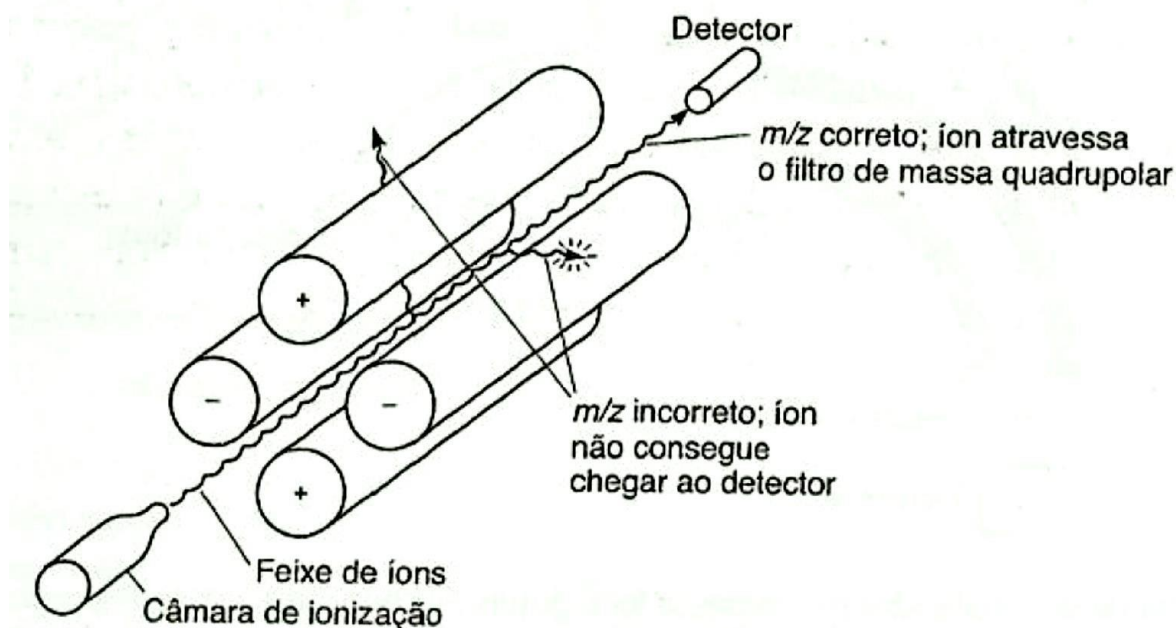


Fonte: ALVES, 2014

Já para selecionar a razão massa carga (m/z), a ser identificada utiliza-se algum tipo de analisador de massas. Entre os disponíveis comercialmente, destaca-se o do tipo quadrupolo, Figura 19. Esse analisado é constituído por quatro hastes sólidas paralelas ao feixe de íons cujo campo eletrostático oscilante possibilita a escolha da m/z desejada (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007; PAVIA; LAMPMAN; KRIZ; VYVYAN, 2010). Aquelas razões massa/carga indesejadas são eliminadas nas hastes

sólidas do quadrupolo, enquanto os fragmentos e/ou íons de m/z selecionados seguem para o detector. Esse tipo de analisador permite uma varredura geralmente de até 1000 m/z . (LANÇAS, 2019; MEURER, 2020).

Figura 19: Ilustração de um analisador de massas (quadrupolo)

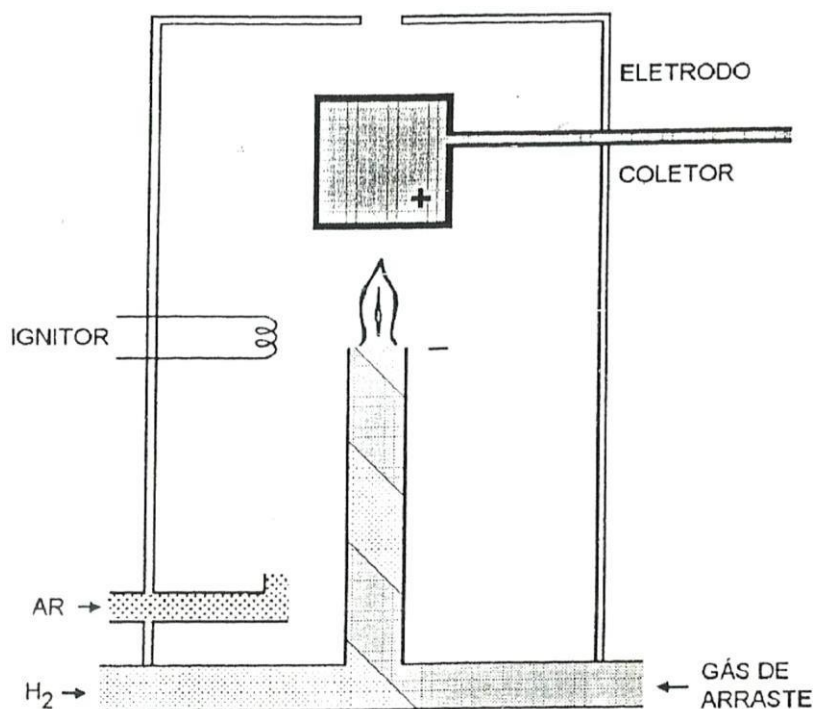


Fonte: (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ; VYVYAN, 2010)

Após selecionados no analisador, os íons de m/z selecionados seguem para o detector, onde uma corrente elétrica é gerada proporcionalmente a quantidades de íons advindos do quadrupolo. Essa corrente é amplificada em fotomultiplicadores e a transformada num gráfico pelo computador (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007; PAVIA; LAMPMAN; KRIZ; VYVYAN, 2010). Outro tipo de detector bastante empregado na quantificação é o detector de ionização em chamas, DIC. Nesse tipo de detector, o sinal é gerado a partir da combustão dos analitos presentes na chama. Isso altera a condutividade elétrica dos gases de modo direto e proporcional à quantidade de material presente na chama. A chama é gerada pela queima do gás hidrogênio, o comburente, o ar sintético, o combustível e a ignição, calor, (Figura 20). Geralmente o gás carreador é o nitrogênio por ser um gás de menor custo e por não interferir no sinal da chama durante a queima do analito. O ideal é manter uma proporção de 1:1:10 (H_2 ; N_2 ; Ar). Esse detector tem a vantagem quantificar bem compostos orgânicos na ordem do nanogramas ou menos. A desvantagem dele é o

maior custo por utilizar três diferentes tipos de gases para a manutenção da chama. (LANÇAS, 1993; COLINS; BRAGA; BONATO, 1995)

Figura 20: Ilustração de um detector de ionização em chamas (DIC)



Fonte: LANÇAS, 1993

Assim a combinação da cromatografia gasosa (CG) com a espectrometria de massa (EM) permite a análise dos constituintes voláteis presentes nos óleos essenciais (OE). Onde o CG faz a separação dos componentes de diversos picos através de um processo físico e químico e o MS faz a identificação por comparação dos padrões de fragmentação desses picos com outros espectros disponíveis em especrotecas (PATEL; PATEL; PATEL; RAJPUT; PATEL, 2010; AZAMBUJA 2020). No CG a separação ocorre na coluna cromatográfica, onde os componentes do OE vão sendo separados pelas diferentes partições diferenciais dos analitos, cujo ritmo e grau dependem da pressão de vapor do analito e das afinidades deles na fase estacionária, tipo de material que forma o recheio da coluna, e na fase móvel, o gás de arraste (COLINS; BRAGA; BONATO, 1995). Lanças (2009) descreve a fase estacionária como um material líquido de aparência oleosa ou sólida que propicia a separação das substâncias presentes na amostra através das diferenças de

solubilidade e volatilidade. Como fase móvel, é utilizado um gás de arraste, transportando a amostra através da coluna de separação até o detector, onde os compostos separados são detectados (BROCHINI E LAGO, 2007).

“Comumente a identificação de componentes do OE é realizada através da comparação dos valores de tempo de retenção dos compostos com o tempo de retenção de uma série de hidrocarbonetos homólogos” (PATEL; PATEL; PATEL; RAJPUT; PATEL, 2010). “Os dados gerados podem ser comparados diretamente com os valores de índice de retenção obtidos e com espectros de massas dos constituintes voláteis apresentados na literatura” (ADAMS, 2007). Na mistura constituinte dos óleos essenciais, após análise e identificação, apresentam-se em diferentes concentrações e o qual está em maior quantidade é considerado o componente majoritário. Para maior precisão e exatidão em quantificações de compostos orgânicos se utiliza detectores do tipo de ionização em chamas (DIC) (SIMÕES et al, 2004).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Elucidar a composição química e avaliar as atividades larvícida e de oviposição dos óleos essenciais, obtidos por hidrodestilação, das folhas de *Artemisia judicia* e *Ziziphura teniour* frente ao mosquito *Ae. aegypti*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Extrair por hidrodestilação o óleo essencial e preparar extratos com solventes orgânicos das folhas de *Artemisia judicia* e *Ziziphura teniour*;
- ❖ Avaliar a atividade larvícida dos óleos essenciais e extratos obtidos frente às larvas em estágio L4 do mosquito *Ae. aegypti*;
- ❖ Avaliar a atividade de oviposição dos óleos essenciais diante das fêmeas do mosquito *Ae. aegypti*;
- ❖ Determinar a composição química dos óleos essenciais folhas de *A. judicia* e *Z. teniour* pela técnica de Cromatografia gasosa acoplada a espectrômetria de massa (CG-EM);
- ❖ Quantificar a composição química dos óleos essenciais folhas de *A. Judicia* e *Z. teniour* pela técnica de Cromatografia Gasosa usando um detector tipo ionização em chama (DIC);
- ❖ Avaliar a atividade deterrente de oviposição dos componentes dos óleos essenciais que provocaram respostas frente às antenas das fêmeas do mosquito *A. aegypti*;

3 METODOLOGIA

3.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL

As plantas utilizadas para o desenvolvimento desse estudo foram coletadas, identificadas, catalogadas e fornecidas pelos pesquisadores Mohammad Sanad Abu-Darwish, Amer Hussein Tarawneh, Hatem Taifour, Ligia Salgueiro e Thomas Efferth em colaboração internacional. O material vegetal de *Ziziphora tenuior* foi coletado em várias partes da cidade de Shoubak, no sul da Jordânia (Figura 21) latitude (30° 31'4,52 "N), longitude (35° 33'25,59" E), altitude (1,359 m acima do nível do mar), enquanto as folhas da *Artemisia judaica* foram coletadas aleatoriamente em vários locais no deserto ao sul da Jordânia, perto das fronteiras da Arábia Saudita, na primavera de 2016, a fim de obter uma amostra representativa da região. A amostra da planta foi identificada por Hatem Taifour, botânico chefe no Royal Botanic Garden, na Jordânia. Os vouchers das espécimes de *Z. tenuior* e *A. judaica* foram depositados no Herbário da Universidade Shoubak, Universidade Aplicada Al-Balqa, Jordânia, sob o número de registro # 00014-Zt-sh-2015 e # 0002-Aj-SD-2016, respectivamente. As folhas das plantas coletadas foram secadas em temperatura ambiente e trituradas em pequenos pedaços com o auxílio de um moinho de martelos.

Figura 21: Localização geográfica e mapa da Jordânia



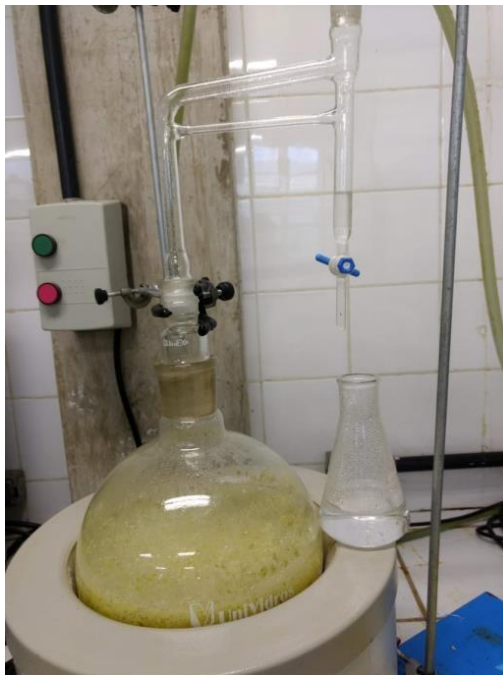
Fonte: <https://www.joaoleitao.com/viagens/mapa-jordania/>

3.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

As extrações dos óleos foram realizadas pelo Prof. Dr. Mohammad Sanad Abu-Darwish e colaboradores. Para isolar o óleo essencial, os materiais vegetais secos e triturados de *Z. tenuior* e *A. judaica* foram submetidos a hidrodestilação (Figura 22), separadamente. De acordo com o procedimento descrito na Farmacopeia Europeia (Conselho da Europa, 1997), os óleos essenciais foram isolados por destilação por 3h, utilizando um aparelho do tipo Clevenger, figura 22, com rendimento de 0,74% e 1,60%, respectivamente. Os óleos obtidos após a extração foram secos sobre sulfato de sódio anidro e mantidos a 4°C até serem analisados e testados (VERAS; OLIVEIRA; LIMA; NAVARRO; AGUIAR; MOURA; SILVA; ASSIS; GORLACH-LIRA;

ASSIS, 2021)

Figura 22. Sistema de hidrodestilação usando um aparelho do tipo Clevenger



Fonte: O autor, Laboratório de Ecologia Química/UFPE, 2021.

3.3 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

Os óleos extraídos pelo Prof. Dr. Mohammad Sanad Abu-Darwish e colaboradores foram analisados no laboratório de cromatografia do departamento de química fundamental da Universidade Federal de Pernambuco por cromatografia gasosa (CG-DIC) e por cromatografia gasosa acoplada por espectrometria de massa (CGEM) (figura 23).

Figura 23: Cromatografo gasoso acoplado à espectrometria de massas (CG/EM) e cromatografo gasoso com detector de ionização em chamas (GC-DIC) utilizados na identificação e quantificação dos óleos essenciais respectivamente



Fonte: O autor, Laboratório de Cromatografia /UFPE,2021.

O cromatógrafo gasoso acoplado a um quadrupolo Agilent série 5975C GC / MSD (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EUA), equipado com uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 não polida Agilent J & W (filme de 30 m × 0,25 mm e espessura: 0,25 µm) (Agilent Tecnologias, Palo Alto, CA, EUA) cujo volume de injeção foi de 1 µL no modo dividido (50: 1) sendo a temperatura do injetor de 250 °C. A coluna do CG foi ajustada para 40 °C, inicialmente durante 2 minutos e posteriormente aquecida até 230 °C a uma taxa de 4 °C/min e cuja temperatura foi mantida durante 5 min. O gás Hélio foi utilizado como fase móvel numa vazão de 1 mL/ min, mantido a uma pressão constante de 7.0 psi. A fonte do MS e as temperaturas quadripolares foram definidas para 230 °C e 150 °C, respectivamente. Os espectros de massa foram realizados a 70 eV (no modo EI) com uma velocidade de varredura de 1.0s para um intervalo de m/z 35-350.

A identificação dos picos foi realizada em comparação com os valores de índices de retenção previamente reportados, obtidos por co-injeção de amostras do óleo com uma serie homologa de hidrocarbonetos (C₉-C₃₂) (adquiridos comercialmente da Sigma Aldrich) e calculados de acordo com a equação de Van denDool e Kratz (1963), equação 1.

$$IR = 100 \times I \times \frac{(Tr_a - Tr_n)}{(Tr_{(n+1)} - Tr_n)} + 100N \text{ (Equação 1)}$$

Equação de Van Den Dool e Kratz

Onde **Tr(a)** é o tempo de retenção do composto a sob análise; **Tr(n)** é o tempo de retenção do hidrocarboneto que elui antes de a; **Tr(n+1)** é o tempo de retenção do hidrocarboneto que elui depois de a; **i** é diferença do número de carbonos entre os hidrocarbonetos que eluem depois e antes do composto de a e **N** é número de carbonos presente no hidrocarboneto que elui antes de a.

Posteriormente, os espectros de massa adquiridos para cada componente foram comparados com os dados disponíveis na biblioteca espectral de massa do sistema GC-MS (MassFinder 4, consultoria científica Dr. Hochmuth, Hamburgo, Alemanha); Biblioteca Espectral de Massa NIST08 (ChemSW Inc. Fairfield, CA, EUA); Wiley Registry TM da Relação Espectral de Massa 9ª Edição (Wiley, Hoboken, NJ, EUA) e com outros dados espectrais de massa publicados (ADAMS, 2007).

Os óleos foram quantificados através da injeção em triplicata de 1 µL em modo *splitless* de uma solução do óleo adicionada do padrão da série de alcanos em um CG equipado com detector tipo DIC a 250°C e coluna apolar VB-5 (Thermo trace GC ultra, 60 m × 0.25 mm diâmetro interno; espessura do filme 0.25 µm). A programação da temperatura do forno e do injetor do GC(DIC) foi igual à do CG/EM. O gás de arraste utilizado foi o nitrogênio, a fluxo constante de 1mL.min⁻¹. (SILVA; VERAS; ASSIS; NAVARRO; DINIZ; SANTOS; AGUIAR; SILVA; CORREIA, 2020; VERAS; SANTOS; OLIVEIRA; ALMEIDA; SILVA; CORREIA; DINIZ; OLIVEIRA; LIMA; NAVARRO, 2019)

3.4 PREPARAÇÃO DE EXTRATO

Os extratos metanólico, aquoso e em diclorometano foram realizadas pelo Prof. Dr. Mohammad Sanad Abu-Darwish e colaboradores. Para tal finalidade, 200g de folhas de material vegetal foram pulverizados em um liquidificador e a extração foi realizada usando-se metanol e diclorometano como solventes orgânicos. As folhas de *Z. tenuior* e *A. judaica* foram totalmente submersas em cada solvente. A extração se deu em 5dias. Após esse período o material vegetal foi filtrado e concentrado num rotaevaporador. Já o extrato aquoso foi obtido como subproduto da hidrodestilação e foi concentrado pelo processo de liofilização. Todos os extratos foram armazenados a -4°C em uma geladeira para posterior bioensaio.

3.5 MANUTENÇÃO E CRIAÇÃO DA COLÔNIA DE *Ae. aegypti*

Todo material biológico, larvas e mosquitos, usados nos testes deste trabalho são provenientes da colônia de *Ae. aegypti* Linneaus (cepa Rockefeller) mantido no laboratório de bioensaios do departamento de química fundamental da UFPE. O início do ciclo da colônia deu-se pela eclosão dos ovos de *Ae. aegypti* em copinhos de vidro de 10cm de diâmetro contendo cerca de 30mL de água destilada suficiente para cobri-los integralmente e um pouco de ração de gato Whiskas® sabor peixe para estimular a eclosão mais rapidamente. O desenvolvimento do ciclo larval foi acompanhado pela troca da água destilada e reposição da comida após dois dias. O final e reinício do ciclo foi realizado juntando-se as larvas e as pupas num copo de vidro de 10 cm de diâmetro com 40mL de água destilada e ração em gaiolas. Na semana seguinte, retiram-se os copinhos. A coleta de ovos novos foi feita em um papel de filtro e o qual é seco a temperatura ambiente de $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade de 75%. Os mosquitos foram mantidos vivos com um pedaço de algodão embebido com solução de sacarose a 10%. (MONTE; NAVARRO; AGUIAR; NASCIMENTO; SCOTTI; SCOTTI; BARROS; SANTOS; PEREIRA; FALCÃO, 2020)

3.6 BIOENSAIOS LARVICIDAS

Os ensaios larvicidas foram realizados conforme adaptação do método estabelecido pela organização mundial de saúde para ensaios larvicidas em laboratórios e em campo (WHO, 2005). Inicialmente realizou-se testes preliminares de solubilidade para uma alíquota da amostra a ser testada usando-se co-solventes como, por exemplo, tween 80 ou acetona que melhor auxiliar a solubilizar a amostra em água.

Após esse teste, prepara-se uma solução estoque de concentração igual a 100 ppm, dissolvendo 5,0 mg do óleo em 3 gotas de tween 80 (melhor co-solvente). O conteúdo foi então transferido do béquer para um balão volumétrico de 50 mL, completando-se o volume com água destilada. Os testes larvicidas preliminares foram realizados em concentrações de 10, 50 e 100 ppm com a finalidade de observar a faixa de concentração onde o composto é mais ativo (Figura 24).

Figura 24. Esquema dos testes preliminares larvicidas



Fonte: O autor, Laboratório de Bioensaios /UFPE, 2021.

Os ensaios larvicidas foram realizados com 20 larvas no estágio L4. Elas foram colocadas em recipientes plásticos contendo 20 mL de solução nas concentrações anteriormente citadas em ambiente cujo fotoperíodo claro: escuro foi de 12 horas e temperatura e umidade controladas ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ e 75% respectivamente). Realizou-se um ensaio simultaneamente com um grupo controle negativo com a mesma quantidade de larvas em água destilada e tween 80 usados nos testes. Também realizou-se um controle positivo com uma solução de temefós a 1ppm. A contagem da mortalidade das larvas foi realizada após 24 e 48h de exposição ao óleo. As larvas que não responderam aos estímulos foram consideradas mortas. (SANTOS; NASCIMENTO; SANTOS; MARRIEL; BEZERRA-SILVA; ROCHA; SILVA; CORREIA; PAIVA; MARTINS, 2017)

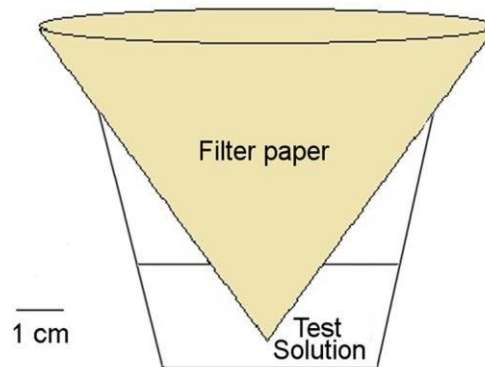
Já para determinar a concentração letal para 50% da população de larvas, CL₅₀, realizou-se mais ensaios em triplicata para as concentrações que apresentaram uma mortalidade de 20 a 80% nos ensaios preliminares. A construção da curva mortalidade em função da concentração para determinar o valor de CL₅₀ foi realizada através do tratamento dos dados obtidos experimentalmente, aplicando-se a análise de sobrevivência Probit com o programa estatístico StatPlus Pro 6.2.5.0 para Windows a

um nível de confiança de 95%. (MONTE; NAVARRO; AGUIAR; NASCIMENTO; SCOTTI; SCOTTI; BARROS; SANTOS; PEREIRA; FALCÃO, 2020)

3.7. ENSAIO DE OVIPOSIÇÃO

Para a realização do ensaio foram utilizadas oito gaiolas de dimensões de 33cmx21cmx30cm limpas, contendo 10 fêmeas grávidas em cada. Papéis de filtro foram cortados em forma de quadrados de 10cm de lado, dobrados em forma cônica e colocados em cada copo de vidro de 10 cm de diâmetro (figura 25).

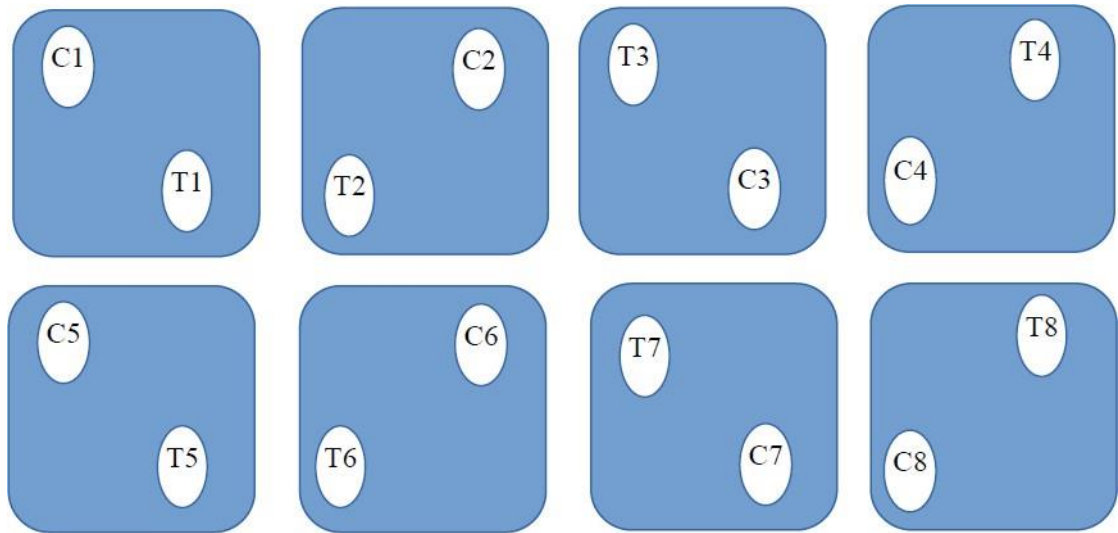
Figura 25: Figura esquemática do recipiente usado nos bioensaios de oviposição



Fonte: AFIFY; GALIZIA, 2014

Em seguida, foram preparados 200mL de solução controle e teste na concentração desejada para cada ensaio (foram feitos dois ensaios para o óleo essencial um a 10ppm e outro a 100ppm) utilizando 1,4mL de acetona como co-solvente em ambos para auxiliar na homogeneização da solução. Para cada gaiola foram colocados copos, distribuídos aos pares (C1 e T1, C2 e T2, e assim sucessivamente) em diagonal, de forma oposta e alternada (Figura 26). (BEZERRA-SILVA; DUTRA; SANTOS; SILVA; IULEK; MILET-PINHEIRO; NAVARRO, 2016)

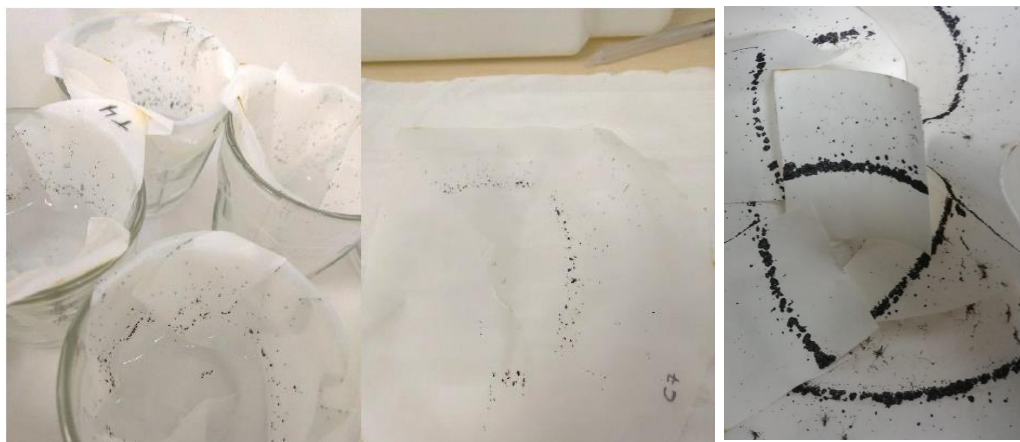
Figura 26 Posições dos copos de teste e do controle para as oito gaiolas durante o experimento



Fonte: O autor, Laboratório de Bioensaios /UFPE,2021.

Em cada copo transferiu-se 25mL de solução tanto no controle quanto no teste. Durante o ensaio, os mosquitos permaneceram sob uma temperatura de $27 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $75 \pm 0,4\%$ e 16h na ausência de luz. Após esse intervalo, determinou-se o número de ovos depositados nos controles e nos testes para as oito gaiolas (figura 27)

Figura 27: Coleta e contagem dos ovos ovipositados das fêmeas de *Aedes aegypti* após 16hs em ausência de luz.



Fonte: O autor, Laboratório de Bioensaios /UFPE,2021.

Os resultados obtidos foram tratados e analisados usando-se o teste *t*-Student considerando-se significativos os ensaios com $p < 0,05$. O software estatístico utilizado na análise de oviposição foi o MINITAB Release 14. Também foram determinados a percentagem de repelência efetiva para cada concentração (equação 2) e o índice de atividade de oviposição (IAO) (equação 3) a partir dos números de ovos obtidos nos bioensaios (KUMUDA; KUMAR; VIJAYAN, 2019)

$$ER\% = \frac{NC-NT}{NT} \times 100 \text{ (Equação 2)} \quad OAI = \frac{NT-NC}{NT+NC} \text{ (Equação 3)}$$

Onde ER % é a porcentagem de efeito repelente, NC é o número de ovos no controle e NT é o número de ovos no teste e IAO é o índice de atividade de oviposição. O índice de atividade de oviposição, IAO, indica se um composto é atraente ou repelente. Para índices onde o IAO é negativo ($NC > NT$), há uma preferência pela oviposição no controle do que no teste da substância em estudo, indicando deterência e o IAO se aproxima mais de -1. Enquanto índices positivos ($NT > NC$) indicam que há preferência pela oviposição nos recipientes do teste e o IAO se aproxima mais de +1. Caso o número de ovos do controle e do teste forem próximos não haverá uma indicação de preferência e o IAO se aproxima mais do zero (SOONWERA; PHASOMKUSOLSIL, 2017).

Os ensaios de oviposição com os padrões adquiridos comercialmente junto a Sigma Aldrich foram realizados nas mesmas concentrações dos componentes majoritários presentes nos óleos. Isso foi realizado dissolvendo-se uma massa adequada do padrão em um volume final de 200mL de solução aquosa. Um volume de 1,4mL de acetona e 3 gotas de Tween®80 foram utilizados como co-solventes para auxiliar na homogeneização e solubilidade dos compostos em água.

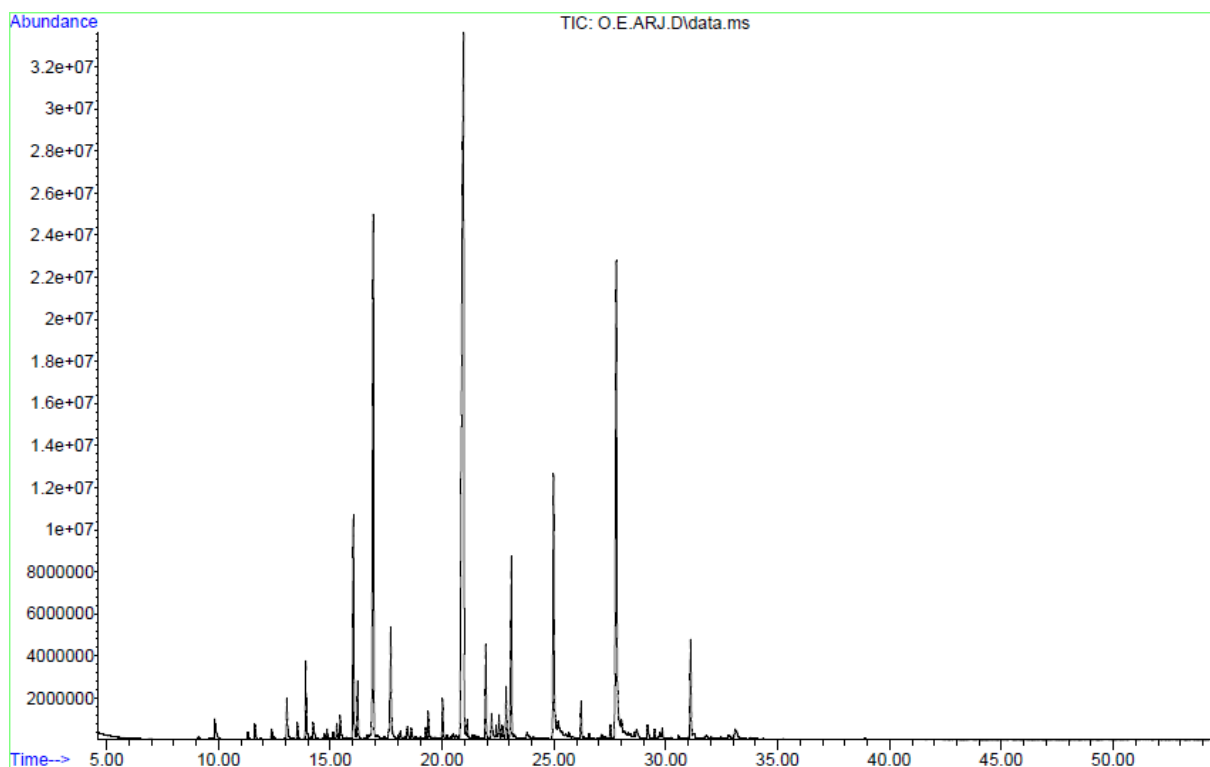
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL

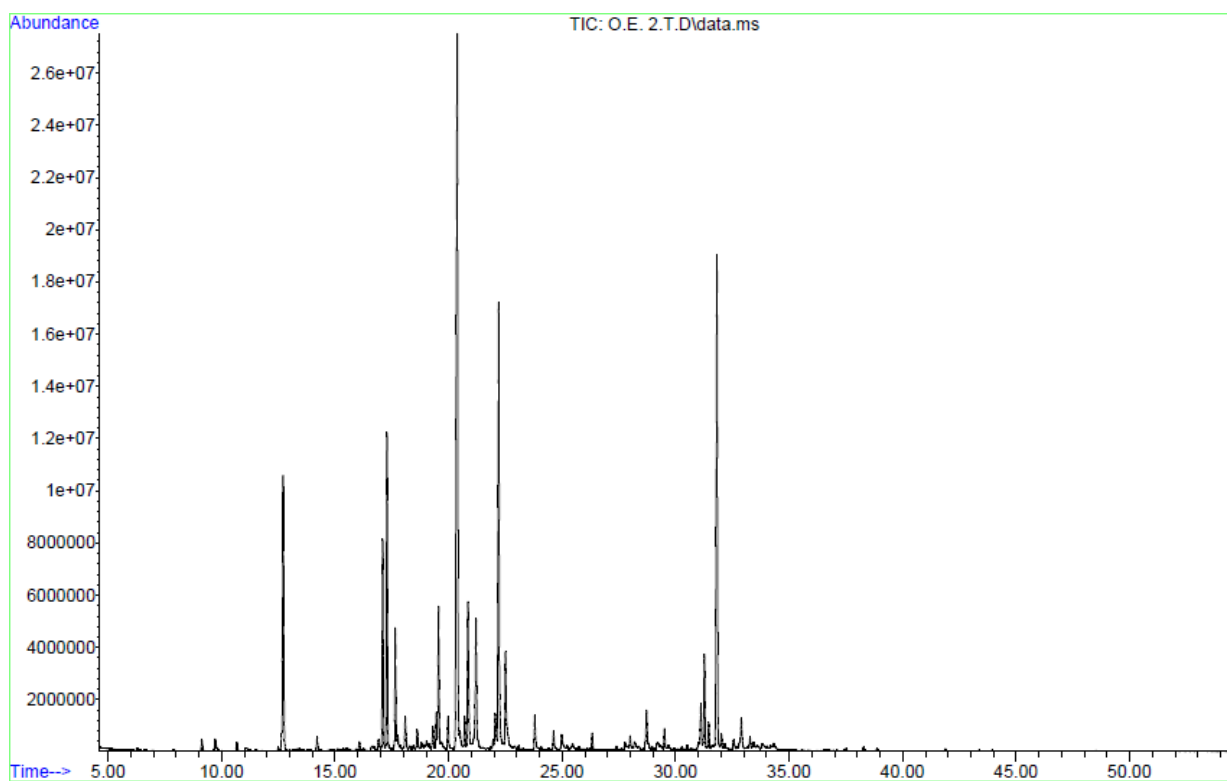
A caracterização dos constituintes dos óleos essenciais é normalmente realizada através da comparação dos tempos de retenção e dos espectros de massa adquiridos experimentalmente do constituinte a ser identificado com os tempos de retenção e espectros de massa disponíveis em bibliotecas comerciais tais como, por exemplo, Webbook, Flavornet, Pherobase, Adams, Wiley e NIST. (BIZZO; BARBOZA; SANTOS; GAMA, 2020).

Porém, o uso do índice de retenção, obtido pelas injeções de séries homologas como, por exemplo, padrões de referência de alcanos é uma ferramenta importante a ser considerada no momento da identificação cuja finalidade é mitigar os erros da caracterização. Usualmente utiliza-se dois tipos de índices de retenção: o índice de Kovats para análises isotérmicas e o índice de Van den Doll e Kratz, empregado em metodologias com condições de programação linear de temperaturas (DOOL; KRATZ, 1963).

Dessa forma analisando-se os espectros de massa adquiridos experimentalmente para cada pico a ser identificado com os espectros de massa disponíveis em bibliotecas comerciais, assim como o seu respectivo índice Van den Doll e Kratz, foi possível caracterizar por cromatografia acoplada ao espectro de massa (CGEM) os óleos essenciais obtidos das folhas de *Z. tenuior* e *A. judaica* por hidrodestilação e quantificá-los num cromatografo gasoso com um detector de ionização em chamas (CG-DIC). Os cromatogramas e as tabelas contendo os constituintes identificados dos óleos *Z. tenuior* e *A. judaica* podem ser observados nas Figuras 28 e 29 e nas Tabelas 2 e 3, respectivamente.

Figura 28. Cromatograma do óleo essencial da *A. judaica* obtido por CG/EM

Fonte: O autor, Laboratório de cromatografia /UFPE,2021.

Figura 29. Cromatograma do óleo essencial da *Z. tenuior* obtido por CG/EM.

Fonte: O autor, Laboratório de cromatografia /UFPE,2021

Tabela 2: Composição química do óleo essencial da *Z. tenuior*

Composto ^a	R.I Lit ^b .	RI Cal ^c .	%	S.D.
α -pinene	932	930	0,43	0,02
3-methyl-cyclohexanone	945	947	0,50	0,00
β -pinene	974	973	0,31	0,01
3-octanol	988	997	0,01	0,00
O-cymene	1022	1023	0,09	0,00
1,8-cineole	1026	1029	6,64	0,21
santolina alcohol	1034	1036	0,01	0,00
lavender lactone	1034	1040	0,01	0,00
γ -terpinene	1054	1058	0,01	0,00
mentha-3,8-diene	1068	1069	0,34	0,02
Terpinolene	1086	1084	0,01	0,00
2-nonanone	1087	1093	0,01	0,00
cis-thujone	1101	1104	0,01	0,00
trans-thujone	1112	1115	0,01	0,00
Isophorone	1118	1119	0,19	0,01
Nopinone	1135	1135	0,01	0,10
Camphor	1141	1142	0,39	0,20
p-meth-3-en-8-ol	1145	1148	4,16	0,04
Menthone	1148	1153	6,38	0,14
menthone-isso	1158	1163	3,17	0,08
α -terpineol	1162	1166	0,97	0,02
Naphthalene	1178	1180	0,36	0,01
p-cymene-8-ol	1179	1185	0,65	0,02
α -terpineol	1186	1190	4,27	0,14
Myrtenal	1195	1195	0,73	0,03
Pulegone	1233	1240	25,30	0,00
Piperitone	1249	1254	0,85	0,03
Timol	1289	1293	11,00	0,11
Carvacrol	1298	1302	2,55	0,33
Myrtenylacetate	1324	1325	0,01	0,00

Piperitenone	1340	1341	0,98	0,02
trans-cariofileno	1717	1420	0,41	0,01
α -humulene	1452	1454	0,50	0,05
Caryphyllene-9-epi-E	1464	1461	0,01	0,00
E-Ethyl cinnamate	1465	1467	0,27	0,08
Cuparene	1504	1506	0,01	0,00
β -bisabolene	1505	1509	0,01	0,00
Δ -cadinene	1522	1524	0,36	0,01
α -calacorene	1544	1544	0,01	0,00
Elemol	1549	1550	0,01	0,00
Germacrene B	1559	1558	0,01	0,00
Spatulenol	1577	1579	1,19	0,13
Cariofileno oxide	1582	1584	2,38	0,04
α -cedrol	1600	1603	11,87	0,21
Humulene oxide II	1608	1610	0,46	0,04
Epi- α -cadinol	1638	1642	0,92	0,05
α -Cadinol	1652	1656	0,19	0,03
ar-Turmerone	1668	1667	0,17	0,00
89,14				

^a Constituintes listados em ordem de eluição numa coluna apolar DB-5; ^b Índices de retenção calculados através dos tempos de retenção em relação aos da série de n-alcanos (C9-C30), em 30 minutos, em uma coluna DB-5; ^c Valores obtidos da literatura, Adams, 2007

Fonte: O autor, Laboratório de cromatografia /UFPE,2021.

Tabela 3: Composição química do óleo essencial da *A. judicia*

Composto ^a	R,I Lit ^b ,	RI Cal ^c ,	%	S,D,
α -pinene	932	930	0,01	0,00
Camphene	946	944	0,01	0,00
Benzene, 1,2,3-trimethyl-	998	991	0,12	0,00
yomogi alcohol	999	1000	0,36	0,01
p-Cymene	1020	1023	0,01	0,00
Lavender lactone	1034	1038	0,98	0,05
Cis-Arbusculone	1046	1051	0,36	0,06

Artemisia ketone	1056	1061	1,34	0,01
Trans-Arbusculone	1066	1070	0,18	0,01
artemisia alcohol	1080	1083	0,14	0,02
filifolone	1106	1102	0,56	0,03
α -Thujone	1112	1115	0,01	0,00
Isophorone	1118	1118	4,11	0,06
chrysanthenone	1124	1123	1,13	0,02
Camphor	1141	1143	13,14	0,17
camphene hydrate	1145	1146	0,01	0,00
Sabine ketone	1154	1156	0,28	0,01
Borneol	1165	1164	2,24	0,06
(-)-4-Terpineol	1174	1176	0,11	0,01
ρ -Cymene-8-ol	1179	1100	0,44	0,01
α -Terpineol	1186	1190	0,23	0,06
myrtenal	1195	1195	0,01	0,00
Verbenone	1204	1208	0,82	0,02
carveol (cyclocitral-beta)	1217	1220	0,01	0,00
nordavanone	1228	1230	0,79	0,02
trans -Chrysanthenyl acetate	1235	1235	0,19	0,02
Piperitone	1249	1256	37,24	0,76
Isobornylacetate	1283	1285	1,71	0,03
Timol	1289	1293	0,69	0,01
(Z)-patchenol	1316	1312	1,15	0,02
Piperitenone (trace)	1340	1341	0,01	0,00
Z]-Etilcinamato	1376	1377	5,77	0,12
Methyl(E) Cinnamate	1376	1384	0,01	0,00
E]-Etilcinamato	1465	1467	13,61	0,18
Spathulenol	1577	1579	2,44	0,08
			90,20	

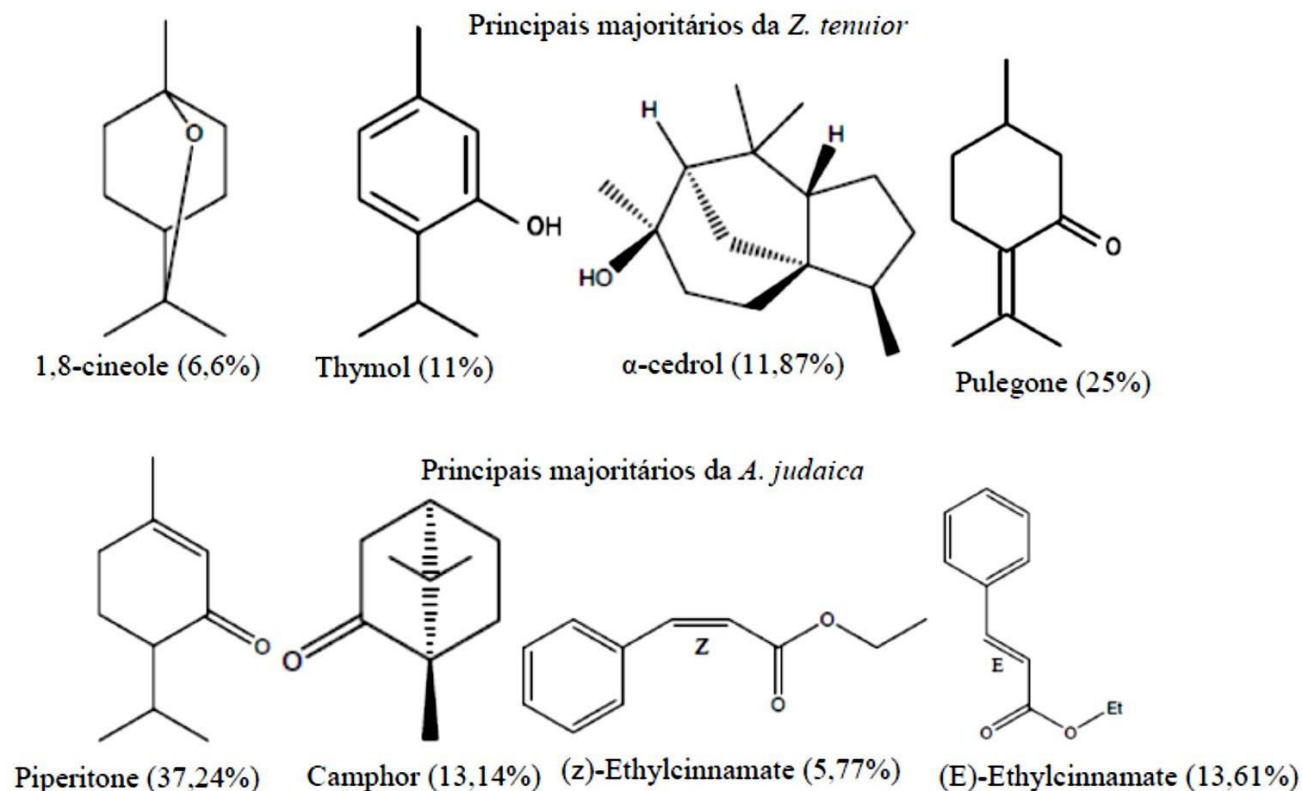
^a Constituintes listados em ordem de eluição numa coluna apolar DB-5; ^b Índices de retenção calculados através dos tempos de retenção em relação aos da série de n-alcenos (C9-C30), em 30 minutos, em uma coluna DB-5; ^c Valores obtidos da literatura, Adams, 2007

Fonte: O autor, Laboratório de cromatografia /UFPE, 2021.

A partir das análises cromatográficas foi possível observar um total de 48 e 35 compostos identificados das espécies *Z. tenuior* e *A. judaica*, totalizando 89,14 e 90,20% dos óleos, respectivamente. Nota-se que os monoterpenos e sesquiterpenos são as classes predominantes nos óleos, uma vez que esses derivados de terpenóides comumente constituem a maior parte dos compostos dos óleos essenciais (FABIANE; FERRONATTO; SANTOS; ONOFRE, 2008).

Abu-Darwish, Cabral, Gonçalves, Cavaleiro, Cruz, Paoli, Tomi, Efferth e Salgueiro (2016) também apresentaram os mesmos compostos majoritários com uma proporção diferente para esses óleos. Os principais majoritários para o *Z. tenuior* são 1,8-cineole (6,60%), Timol (11,00%), α -cedrol (11,87%) e Pulegone (25,00%), enquanto para a *A. judaica* são Piperitona (37,24%), (E)-Etilcinamato (13,61%), (z)-Etilcinamato (5,77%) e Cânfora (13,14%). (Figura 30).

Figura 30. Estruturas químicas dos principais constituintes majoritários dos óleos essenciais extraídos das folhas da *Z. tenuior* e da *A. judaica*

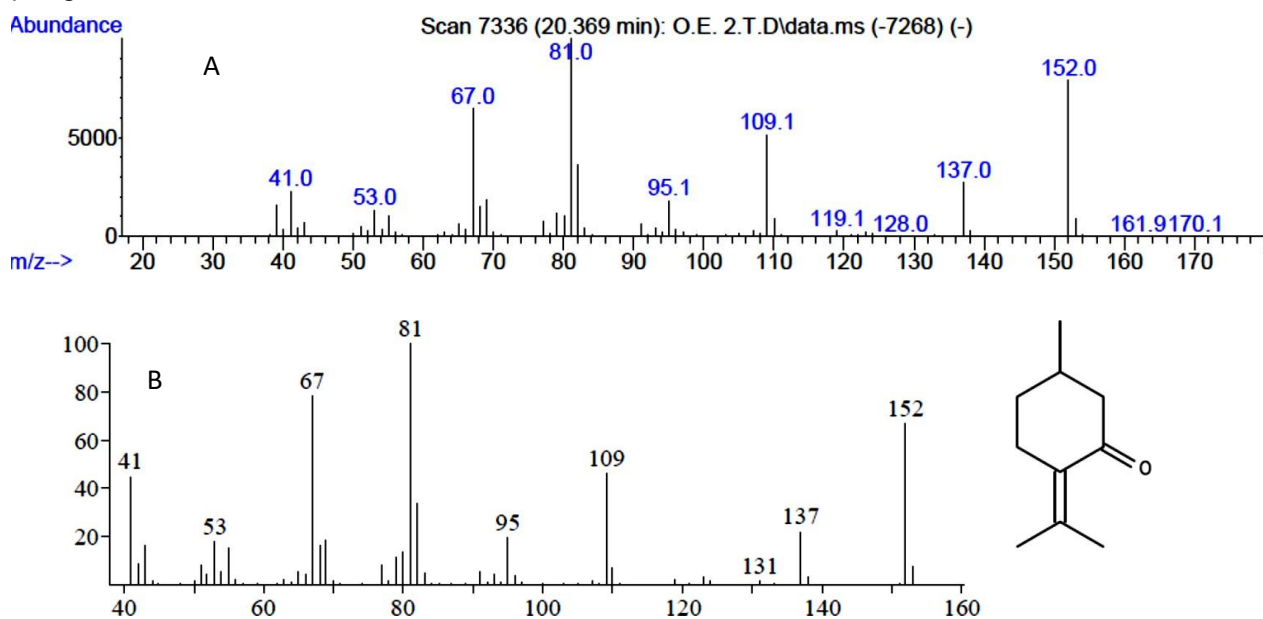


Fonte: ADAMS, 2007.

Diferenças na composição ou na proporção química dos óleos estão relacionadas com os fatores abióticos e bióticos aos quais as plantas estão submetidas. Alguns desses fatores são o ciclo vegetativo da planta, o processo de obtenção do óleo essencial, o ambiente no qual a espécie se desenvolve, o tipo de cultivo, a temperatura, umidade relativa, a quantidade de água e os nutrientes no terreno, o armazenamento e conservação do óleo entre outros fatores (DHIFI; BELLILI; JAZI; BAHLOUL; MNIF, 2016).

A identificação dos compostos voláteis dos óleos também foi realizada através da comparação do espectro de massas obtido experimentalmente (Figura 31A) com os padrões de fragmentação disponíveis na literatura (Figura 31B).

Figura 31. Espectros de massas obtidos (a) experimentalmente e (b) encontrados na literatura para o pulegone

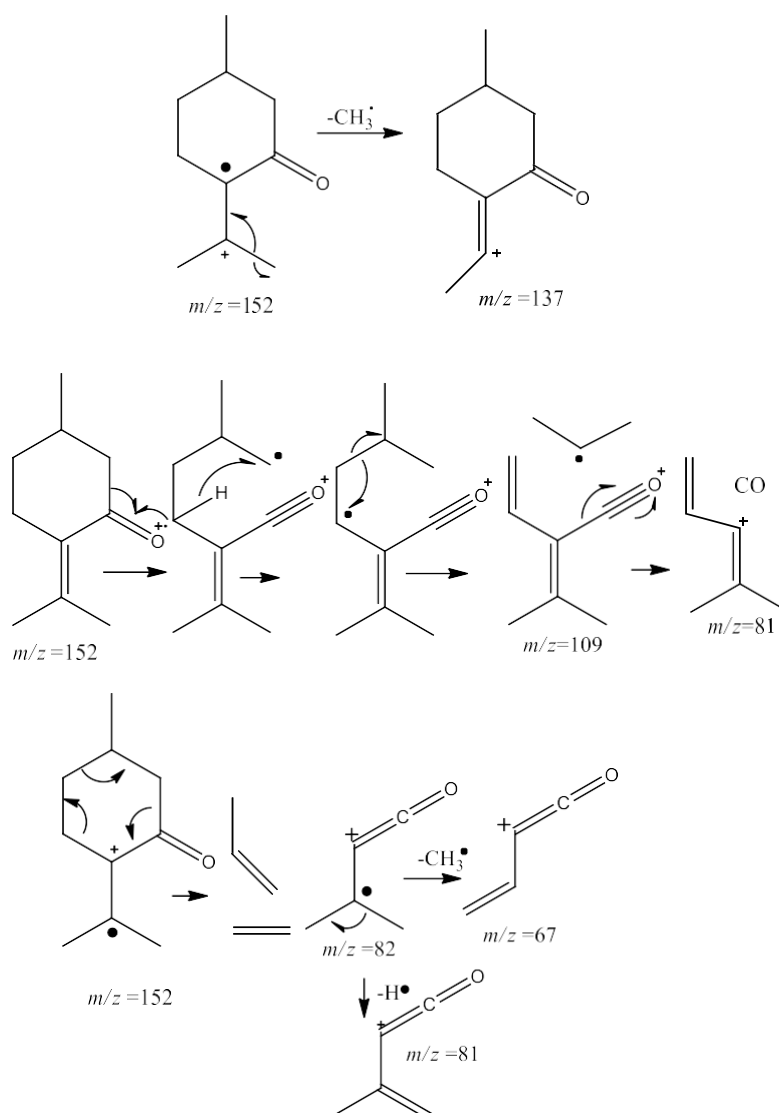


Fonte: ADAMS, 2007.

Um exemplo é o pulegone, $C_{10}H_{16}O$; MM:152, uma cetona cíclica com uma ligação dupla conjugada. No espectro de massa para o pulegone (figura 32), por exemplo, o pico do íon molecular ($M^+=152$) é relativamente intenso como esperado para cetonas cíclicas. Outro pico de significativa abundância é relativo à perda de uma metila para formar o íon ($M^+-15=137$). Os picos cuja razão m/z iguais a 81 e 109 são originados de uma fragmentação da segmentação alfa ao grupo carbonila. O

grupo formado sofre, em seguida, mais quebras cuja finalidade é a formação de um cátion ou radical mais estáveis ou moléculas neutras. Para a formação destes fragmentos, por exemplo, há a migração de um hidrogênio para a conversão de um radical primário em outro secundário formando um radical mais estável para a fragmentação e um cátion com ligações conjugadas. Já para a obtenção dos fragmentos cuja razão m/z iguais a 67 e 81 podem ser originados de fragmentações simultâneas do anel de seis membros do pulegone gerando novamente a formação de um cátion ou radical mais estáveis ou moléculas neutras bem como fragmentos com ligações conjugadas as quais ajudam em sua estabilidade e abundância.

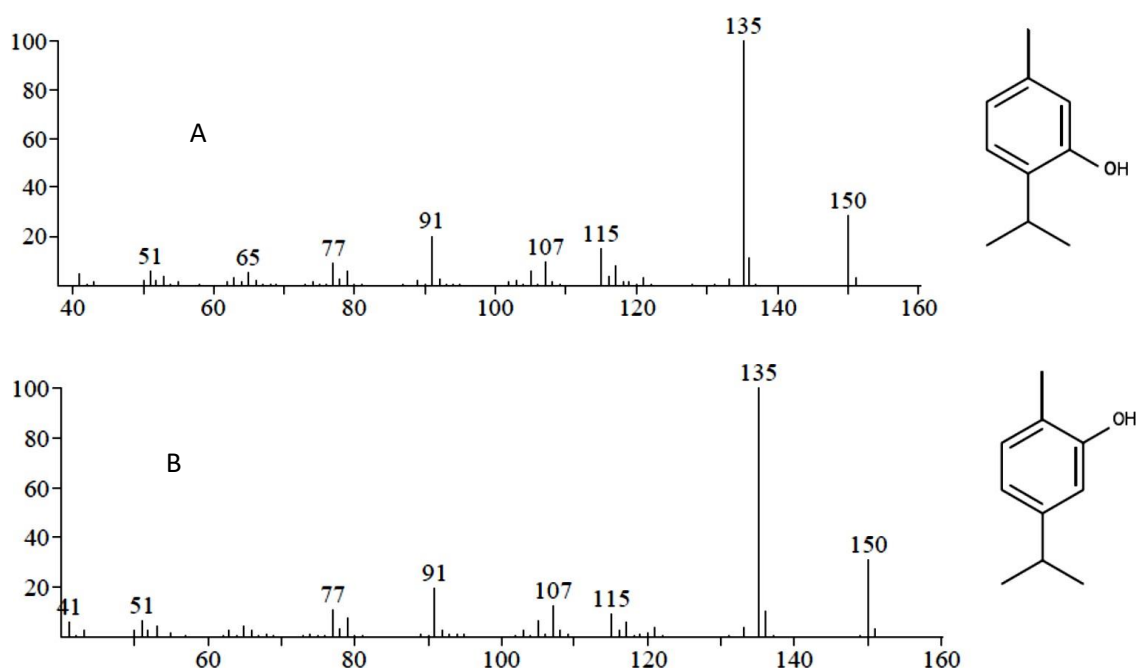
Figura 32. Proposta de fragmentação do pulegone por espectrometria de massas



Fonte: O autor, Laboratório de cromatografia /UFPE,2021.

Outro parâmetro utilizado para fazer a identificação dos constituintes dos óleos foi o uso do índice de retenção de Kratz para os casos de isomeria como, por exemplo, aplicados no caso dos espectros do carvacrol e do timol. Ambos são fenóis de fórmula molecular iguais a: $C_{10}H_{14}O$ e massa molar iguais a 150, só diferindo entre si pelo posicionamento da hidroxila. O grupo OH se encontra na posição orto para o carvacrol e na posição meta para o timol, Figuras 33A e 33B respectivamente.

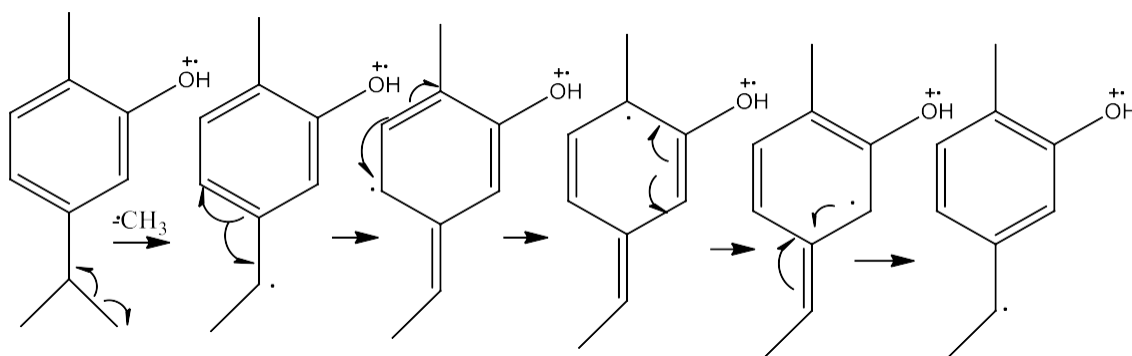
Figura 33. Espectros de massas para o timol (A) e para o carvacrol (B)



Fonte: ADAMS, 2007.

Ambos os espectros de massas apresentam dois picos de abundância relativa significantes: um é o próprio íon molecular ($M^+ = 150$) e o outro em 135 ($M^+ - CH_3$) uma vez que o grupo metila é eliminado de forma mais fácil do que um átomo de hidrogênio alfa (Figura 34).

Figura 34. Possíveis estruturas do fragmento $m/z=135$ após a perda de uma metila do carvacrol



Fonte: O autor, Laboratório de cromatografia /UFPE, 2021.

Entretanto, apesar de terem espectros de massas muito similares, o carvacrol e o timol possuem índices de retenção de Kratz diferentes, o índice de 1299 refere-se ao carvacrol, enquanto o índice igual a 1290 refere-se ao timol possibilitando a distinção entre eles. Dessa forma, o índice de Kratz funciona analogamente como uma curva analítica a qual permite identificar, estimar e/ou avaliar, dentro de alguns limites como as condições de temperatura programadas para o forno, tipo de coluna, entre outros parâmetros qual é o composto químico desconhecido para aquele tempo de retenção. Uma vez que a identificação inequívoca de alguns terpenos e/ou terpenóides não pode ser feita com base apenas em seus espectros de massa com a tecnologia atual. Por enquanto, o uso de tempos de retenção usado para determinar o índice de Kratz é uma boa ferramenta no auxílio da identificação dos constituintes dos óleos essenciais.

4.2 BIOENSAIOS LARVICIDAS

Foram realizados ensaios larvicidas com os óleos essenciais e os extratos: aquoso, metanólico e em diclometano liofilizados da *Z. tenuior* e *A. judaica*. As larvas foram monitoradas e observadas durante 24 e 48 horas nas soluções dos óleos essenciais e dos extratos sem, no entanto, apresentarem alterações morfológicas e motoras. Na solução aquosa do controle não houve nenhuma mortalidade ou quaisquer alterações mesmo utilizando 3gotas de Tween 80 como co-solvente para auxiliar na solubilização dos óleos. Os resultados dos bioensaios larvicidas podem ser observados nas tabelas 4, 5 e 6.

Tabela 4: Mortalidade em função da concentração para os diferentes extratos da *Z. tenuior* testados

Extrato	Concentração (ppm)						
	10	50	100	200	300	400	500
Metanólico	0%	0%	0%	0%	0%	10%	15%
Aquoso	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Em diclorometano	0%	0%	0%	0%	10%	40%	45%

Fonte: O autor, Laboratório de Bioensaios /UFPE,2021

Tabela 5: Mortalidade em função da concentração para os diferentes extratos da *A. judaica* testados

Extrato	Concentração (ppm)						
	10	50	100	200	300	400	500
Metanólico	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Aquoso	0%	0%	0%	0%	0%	5%	5%
Em diclorometano	0%	0%	0%	0%	0%	15%	15%

Fonte: O autor, Laboratório de Bioensaios /UFPE,2021

Tabela 6: Mortalidade em função da concentração do óleo para a *A. judaica* e *Z. tenuior* testados

Óleo	Concentração (ppm)				
	10	50	100	150	200
<i>A. judaica</i>	0%	0%	0%	0%	0%
<i>Z. tenuior</i>	0%	0%	0%	0%	0%

Fonte: O autor, Laboratório de Bioensaios /UFPE,2021

Óleos essenciais ou extratos vegetais que possuam atividades larvicidas, cujo intervalo de LC_{50} esteja entre 50 e 100 ppm podem ser considerados ativos e os que apresentam LC_{50} inferior a 50 ppm são considerados altamente ativos (CHENG, 2003; SILVÉRIO; ESPINDOLA; LOPES; VIEIRA, 2020). Dessa forma, nenhum dos extratos e óleos testados apresentaram atividade larvicida significativa, mesmo em concentrações maiores. Esse resultado, entretanto, era inesperado, já que na literatura sobre o gênero *Ziziphora* em muitas das suas espécies aparecem como fontes ricas de compostos bioativos como, por exemplo, esteróis, ácidos graxos, derivados de cafeína, flavonoides, entre outros gerando uma expectativa quanto a sua

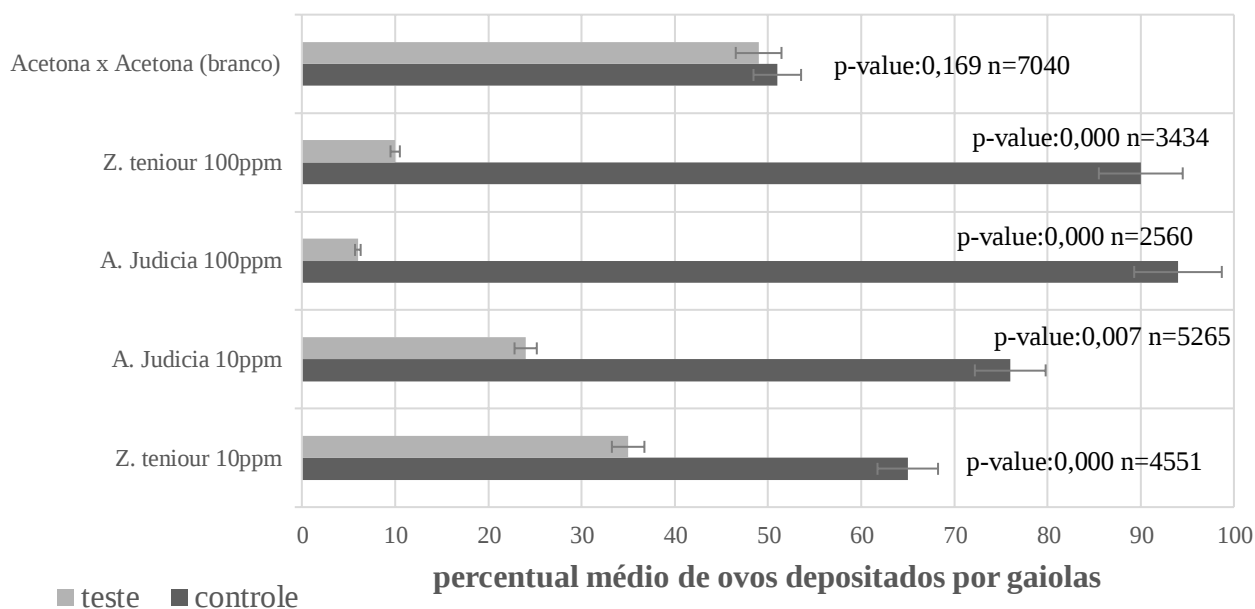
atividade que não foi ratificada experimentalmente (ABU-DARWISH; CABRAL; GONÇALVES; CAVALEIRO; CRUZ; PAOLI; TOMI; EFFERTH; SALGUEIRO, 2016)

4.3 ENSAIO DE OVIPOSIÇÃO

4.3.1 Ensaios de oviposição dos óleos essenciais das folhas da *A. judicia* e *Z. tenuior*

Testes comportamentais foram realizados com soluções a 10 e 100ppm dos óleos essenciais diante das fêmeas do *A. aegypti* com a finalidade de avaliar a resposta de oviposição das fêmeas para compostos voláteis presentes no óleo nas concentrações testadas. Na Figura 35, em função do percentual do número de ovos, e na Tabela 7 podem ser observados os resultados obtidos nos ensaios de oviposição para os óleos essenciais das espécies *A. judaica* e *Z. tenuior* nas concentrações de 10 e 100ppm respectivamente e o teste branco.

Figura 35: Histograma com o percentual médio de ovos depositados por gaiolas e o respectivo desvio para soluções controle (água destilada e acetona) e teste (óleo essencial de *A. judicia* e *Z. tenuior* a 10 e 100ppm em água e acetona). O valor de n representa o número total de ovos



Fonte: O autor, Laboratório de Bioensaios /UFPE,2021

Tabela 7: Dados estatísticos dos ensaios de oviposição de *A. aegypti* para *A. judicia* e *Z. tenuior* a 10 e 100ppm

Ziziphura tenuior 100ppm (p-value: 0,000)					
Número de ovos	Total	Média	Desvio	ER%	IAO
Controle	3101 (90,3%)	388	55		
Teste	333 (9,7%)	42	17		
Total	3434	429		89,3	-0,81
Ziziphura tenuior 10ppm (p-value: 0,028)					
Número de ovos	Total	Média	Desvio		
Controle	2885 (63,4%)	361	51		
Teste	1666 (36,6%)	208	36		
Total	4551	569		42,2	-0,27
Artemisia Judicia 100ppm (p-value:0,000)					
Número de ovos	Total	Média	Desvio		
Controle	4969 (94,4%)	621	68		
Teste	296 (5,6%)	37	14		
Total	5265	658		94,0	-0,89
Artemisia Judicia 10ppm (p-value:0,028)					
Número de ovos	Total	Média	Desvio		
Controle	1945 (76%)	243	61		
Teste	615 (24%)	77	31		
Total	2560	320		68,4	-0,52

Fonte: O autor, Laboratório de Bioensaios /UFPE,2021

Observando-se a figura 35, nota-se que houve uma significativa preferência pelos controles do que nos testes para todos os ensaios principalmente em concentrações maiores (p-value:0,028 a 10ppm e p-value:0,000 a 100ppm). Observa-se também que o ensaio de escolha usando apenas água destilada e acetona como co-solventes não apresentou diferença significativa (p-value: 0,248), excluindo assim interferentes provenientes do local dos ensaios.

Esse fato é confirmado também através dos cálculos do índice de repelência (equação 2) e do índice de atividade de oviposição (equação 3). Para concentrações maiores, os óleos essenciais apresentam efeitos repelentes de 89 e 94% a 100ppm, enquanto a 10ppm esses efeitos são menores e iguais a 42 e 68% para *A. judaica* e *Z. tenuior*, respectivamente. Esse fenômeno é explicado pela maior concentração dos constituintes dos óleos e consequentemente maior ação deterente.

Efeito semelhante da concentração dos óleos também foi observado quando determina-se o Índice Ativo de Oviposição, IAO. Esse índice quando positivo, o composto é considerado como atrativo, enquanto o composto com índice negativo é

considerado repelente (SOONWERA; PHASOMKUSOLSIL, 2017; KUMUDA; KUMAR; VIJAYAN, 2019). Dessa forma, os valores calculados de IAO para *A. judaica* e *Z. tenuior* foram a 100ppm de -0,9 e -0,8 e para 10ppm de -0,5 e -0,3, respectivamente. Estes valores indicam que mais ovos foram depositados nos copos de controle do que nos testes, evidenciando a repelência dos óleos nas concentrações dos ensaios testados para todos os bioensaios realizados.

Comparando-se os resultados de oviposição obtidos experimentalmente com resultados disponíveis na literatura utilizando a mesma metodologia empregada nesse estudo, nota-se que os resultados obtidos para os ensaios de deterência de oviposição para os óleos da *A. judaica* (ARJ) e *Z. tenuior* (ZT) foram semelhantes aos relatados na literatura para o óleo da espécie *Piper corcovadencesis* cuja deterencia atinge os 90% para concentrações de 50ppm e deterencia maiores que 60% a 5ppm. Já, entretanto, quando comparado aos ensaios de oviposição realizados com a mesma metodologia também para outra espécie de piper, observou-se que os óleos em estudo possuem efeito deterrente mais pronunciado e numa menor concentração do que os ensaios relatados para a *piper marginatum* cuja deterencia é maior que 60% para as concentrações de 50 e 100ppm (AUTRAN; NEVES; DASILVA; SANTOS; CAMARA; NAVARRO, 2009; NAVARRO; SILVA; SILVA; NAPOLEAO; PAIVA, 2014; BEZERRA-SILVA; DUTRA; SANTOS; SILVA; IULEK; MILET-PINHEIRO; NAVARRO, 2016). Comparando-se os resultados da oviposição dos óleos do presente estudo com os resultados relatados para a *Alpinia purpurata*, observa-se que a deterencia observada para os óleos do ARJ e ZT têm magnitude semelhante as observadas para os óleos essenciais das variantes rosa e vermelha respectivamente só que numa concentração dez vezes menor. (SANTOS; DUTRA; BARROS; CÂMARA; LIRA; GUSMÃO; NAVARRO, 2012). Já comparando-se resultados de oviposição entre diferentes óleos numa mesma concentração, a 100ppm, nota-se que enquanto os óleos da *A. judaica* e *Z. tenuior* possuem deterencia de 90%, os óleos de *Croton rhamnifolioides*, *Commiphora leptophloeos* e *Etlintera elatior* obtiveram deterencia de 80%, 70% e 78% (variedade rosa) e 82% (variedade vermelha) respectivamente. (SANTOS; DUTRA; LIRA; LIMA; NAPOLEÃO; PAIVA; MARANHÃO; BRANDÃO; NAVARRO, 2014; BEZERRA-SILVA; SANTOS; SANTOS; DUTRA; SANTANA;

MARANHÃO; NASCIMENTO; NAVARRO; BIEBER, 2015; BEZERRA-SILVA; DUTRA; SANTOS; SILVA; IULEK; MILET-PINHEIRO; NAVARRO, 2016).

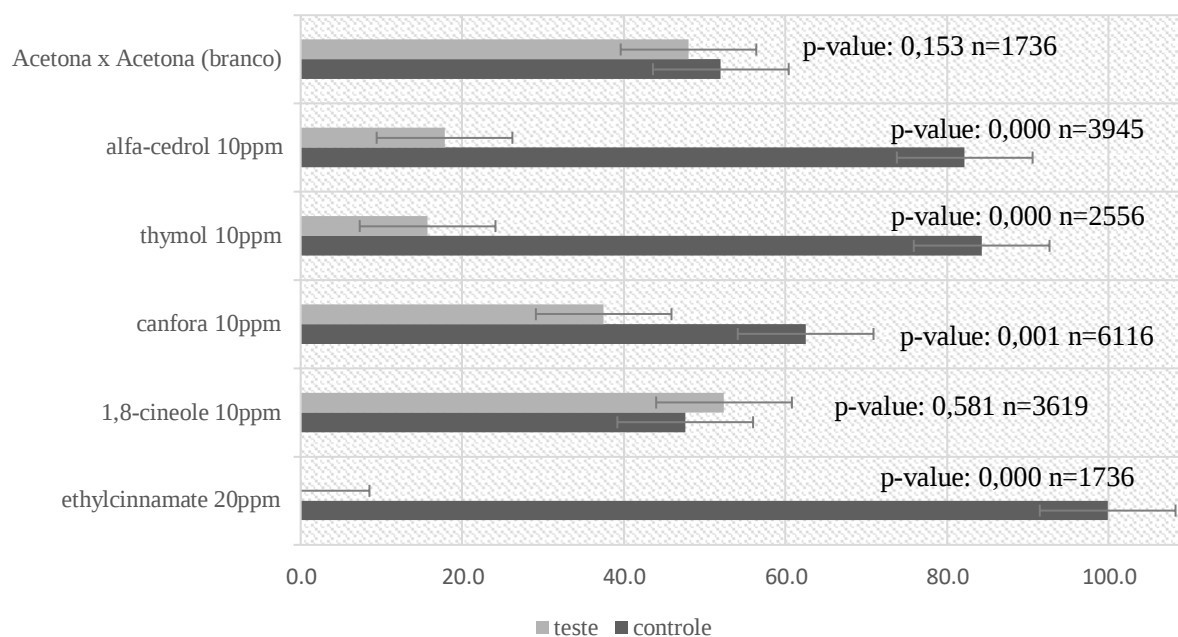
Outro parâmetro que pode ser utilizado na literatura para comparar a atividade de oviposição entre óleos e compostos puros é o índice de atividade de oviposição (IAO). Onde os óleos essenciais de ARJ (IAO -0,89 e -0,52 a 100 e 10ppm respectivamente) e ZT (IAO -0,81 e -0,27 a 100 e 10ppm respectivamente) alcançaram valores de IAO mais deterrentes do que os ensaios de oviposição encontrados na literatura para *Syagrus coronata* a 50ppm (IAO -0,35) (SANTOS; NASCIMENTO; SANTOS; MARRIEL; BEZERRA-SILVA; ROCHA; SILVA; CORREIA; PAIVA; MARTINS, 2017) ou para o temefos a 10ppm (IAO -0,21). Todavia não possuem atividade de oviposição acentuada tanto quanto o óleo de *Zanthoxylum limonella* a 10, 50 e 100ppm (IAO iguais a -0,89; -0,99 e -1,00 respectivamente). (SOONWERA; PHASOMKUSOLSIL, 2017)

Assim, os óleos essenciais testados, portanto, possuem o potencial repelente limitando a transmissão viral de doenças pelo vetor. Visto que os mosquitos, além de serem sensíveis aos fatores ambientais, também reagem à presença de compostos químicos capazes de inibir, minimizar ou prejudicar a oviposição e consequente o ciclo reprodutivo desse vetor. (BEZERRA-SILVA; DUTRA; SANTOS; SILVA; IULEK; MILET-PINHEIRO; NAVARRO, 2016).

4.3.2 Ensaios de oviposição dos padrões adquiridos comercialmente de alguns dos constituintes dos óleos essenciais das folhas da *A. judicia* e *Z. tenuior*

Para avaliar quais dos componentes são responsáveis pelo efeito deterente de oviposição do óleo, realizou-se ensaios com padrões vendidos comercialmente dos principais compostos majoritários nas concentrações do óleo. Na figura 36, em função do percentual do número de ovos, e na tabela 8 podem ser observados os resultados obtidos nos ensaios de oviposição para alguns dos constituintes dos óleos essenciais das espécies *A. judaica* e *Z. tenuior* nas concentrações encontradas no óleo e o teste em branco.

Figura 36: Histograma com o percentual médio de ovos depositados por gaiolas e o respectivo desvio para soluções controle (água destilada e acetona) e teste (padrões vendidos comercialmente). O valor de n representa o número total de ovos.



Fonte: O autor, Laboratório de Bioensaios /UFPE,2021

Tabela 8: Dados estatísticos dos ensaios de oviposição de *A. aegypti* para os constituintes da *A. judicia* e *Z. teniour*

Alfa-cedrol a 10ppm (p-value:0,000)					
Número de ovos	Total	Média	Desvio	ER%	IAO
Controle	3430 (82,2%)	429	23		
Teste	515(17,8%)	64	26		
Total	3945	493		85	-0,74
Timol a 10ppm (p-value:0,000)					
Número de ovos	Total	Média	Desvio	ER%	IAO
Controle	2073(84,3%)	259	23		
Teste	483(15,7%)	60	26		
Total	2556	320		76,7	-0,62
Canfora a 10ppm (p-value:0,011)					
Número de ovos	Total	Média	Desvio	ER%	IAO
Controle	3965 (62,5%)	496	72		
Teste	2151 (37,5%)	269	29		

Total	6116	765	45,8	-0,30	
1,8-cineole a 10ppm (p-value:0,500)					
Número de ovos	Total	Média	Desvio	ER%	IAO
Controle	1686 (47,6%)	211	25		
Teste	1933 (52,4%)	242	37		
Total	3619	452		-14,7	0,07
Etilcinamato a 20ppm (p-value:0,000)					
Número de ovos	Total	Média	Desvio	ER%	IAO
Controle	1734 (99,9%)	217	18		
Teste	2 (0,1%)	0,3	0,25		
Total	1736	217		99,9	-1,00

Fonte: O autor, Laboratório de Bioensaios /UFPE,2021

Observando-se a figura 36 nota-se que houve uma significativa preferência pelos controles do que nos testes para quatro dos cinco padrões testados, sendo que o etilcinamato (ER 99,9%; IAO -0,998), canfora (ER 45,8%; IAO -0,297), timol (ER 76,7%; IAO -0,622) e o alfa-cedrol (ER 85,0%; IAO -0,739) apresentaram propriedades deterrentes confirmadas pelos cálculos do índice de repelência e do índice de atividade de oviposição, já que o índice ativo de oviposição positivo é considerado como atrativo, enquanto índice negativo é considerado deterrente (SOONWERA; PHASOMKUSOLSIL, 2017; KUMUDA; KUMAR; VIJAYAN,2019), enquanto o padrão de 1,8-cineole (ER -14,7%; IAO +0,068) não foi deterrente conforme os índices obtidos para ele. Observa-se também que o ensaio de escolha usando apenas água destilada e acetona como co-solvente, ensaio do branco, não apresentou diferença significativa (p-value: 0,248), excluindo assim interferentes provenientes do local dos ensaios.

Esses resultados corroboram com a atividade deterrente dos terpenos experimentalmente testados e cujas atividades larvicidas e deterrentes para alguns deles estão descritos na literatura. Entretanto, apesar do 1,8-cineol e do eucaliptol não apresentarem deterrência constatada experimentalmente, eles são relatados na literatura como deterrente para *A. aegypti* em concentrações de 0,2%, 0,4% e 0,8% (m/v) (KLOCKE; DARLINGTON; BALANDRIN, 1987). Nos bioensaios realizados com

o padrão da Sigma-Aldrich na concentração de 10ppm, todavia, não houve diferenças significativas entre o número de ovos depositados tanto no controle quanto no teste. Isso pode ser justificado talvez pelo fato da perda da eficiência da ação deterrente do 1,8-cineol com o passar do tempo devido a sua alta volatilidade e consequentemente a diminuição da concentração de 10µg/mL destes compostos no sítio de oviposição. É uma vez que o efeito da concentração do 1,8-cineol testada ser bem menor do que a menor concentração relatada na literatura para ensaios de oviposição diante do *A. aegypti*, 0,2% que em massa volume corresponde a uma concentração de 2mg/mL a qual é muito maior que a utilizada experimentalmente nos bioensaios. De modo que Klocke, Darlington e Balandrin (1987) observaram a ação deterrente em seus ensaios por utilizarem concentrações mais elevadas do que as usadas neste estudo uma vez que estes constituintes se encontram em menores concentrações no óleo essencial.

Os constituintes como o eugenol, o timol, borneol e o pulegone são compostos relatados como deterrentes e apresentaram impedimento de oviposição e/ou atividades repelentes (WALIWITIYA; KENNEDY; A LOWENBERGER, 2008). Outros compostos constituintes dos óleos em estudo como trans-cariofileno, limoneno, carvacrol, mentone e o α -humulene também são relatados como deterrentes para o *A. aegypti* em concentrações próximas às encontradas no óleo (SAXENA; SHARMA, 1972; BEZERRA-SILVA; DUTRA; SANTOS; SILVA; IULEK; MILET-PINHEIRO; NAVARRO, 2016).

Entretanto a oviposição da canfora apresentou uma resposta atangonica em relação ao relatado por Waliwitiya, Kennedy e A Lowenberger (2008), onde consta o aumento do número de ovos nos testes ao invés do controle a 20ppm. Algo não evidenciado experimentalmente nesse estudo. Porém esse efeito relatado foi obtido

em condições metodológicas diferentes uma vez que os autores avaliam o efeito deterrente apenas no terceiro e no quinto dias de ensaio, enquanto o presente

trabalho avalia o efeito deterrente com 16h. De forma que o efeito deterrente observado para a canfora está relacionado com a concentração e com o tempo para avaliação da contagem dos ovos nos sítios de oviposição. (KNIGHT; CORBET, 1991).

Vale ainda destacar que este trabalho é o primeiro relato da atividade deterrente de oviposição para os compostos isolados do alfa-cedrol e do etilcianamato nas concentrações do óleo.

5 CONCLUSÃO

Os óleos essenciais das folhas de *Artemisia Judicia* e *Ziziphura teniour* testados possuem atividade deterrente de oviposição nas concentrações de 10 e 100ppm. Eles são ricos em compostos derivados de terpenóides, principalmente, monoterpenos e sequiterpenos, cujo alguns dos seus constituintes funcionam como deterrentes de oviposição diante de fêmeas de *Aedes aegypti*. Este trabalho é pioneiro no relato das atividades larvicidas para extratos e óleos aqui estudados além da deterrência determinada nos ensaios de oviposição para estes óleos e para alguns dos seus constituintes, inclusive de forma inédita para os constituintes alfa cedrol e etilcinamato. Os óleos da *A. Judicia* e *Z. teniour* apresentam efeito deterrente mais pronunciado do que outras espécies disponíveis na literatura tais como *Piper corcovadencesis*, *piper marginatum*, *Alpinia purpurata*, *Croton rhamnifolioides*, *Commiphora leptophloeos* e *Etlingera elatior* em concentrações iguais ou menores. Os constituintes majoritários tais como eugenol, timol e pulegone, entre outros constituintes em menor proporção como trans-cariofileno e o α -humulene, apresentaram na literatura potencialidade para inibir a oviposição da fêmea do *A. aegypti* em concentrações iguais às encontradas nos óleos da *A. Judicia* e *Z. teniour*. Estes óleos são, portanto, uma promissora fonte para o desenvolvimento de repelentes usados para proteção em humanos.

REFERENCIAS

ABU-DARWISH, M.s.; CABRAL, C.; GONÇALVES, M.J.; CAVALEIRO, C.; CRUZ, M.T.; PAOLI, M.; TOMI, F.; EFFERTH, T.; SALGUEIRO, L.. Ziziphora tenuior L. essential oil from Dana Biosphere Reserve (Southern Jordan); Chemical characterization and assessment of biological activities. **Journal Of Ethnopharmacology**, [S.L.], v. 194, p. 963-970, dez. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.10.076>.

ABU-DARWISH, M.s.; CABRAL, C.; GONÇALVES, M.J.; CAVALEIRO, C.; CRUZ, M.T.; ZULFIQAR, Ali; KHAN, I.A.; EFFERTH, T.; SALGUEIRO, L.. Chemical composition and biological activities of Artemisia judaica essential oil from southern desert of Jordan. **Journal Of Ethnopharmacology**, [S.L.], v. 191, p. 161-168, set. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.06.023>.

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

AFIFY, Ali; GALIZIA, C. Gravid females of the mosquito Aedes aegypti avoid oviposition on m-cresol in the presence of the deterrent isomer p-cresol. **Parasites & Vectors**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 315, 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/1756-3305-7-315>.

ALVES, Sofia Isabel Cotovia. **Validação de um método analítico para a identificação de ácidos gordos voláteis em águas intersticiais de sedimentos marinhos por spme-gc-ms**. 2014. 88 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Departamento de Química e Bioquímica, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2014.

AUTRAN, E; NEVES, I; DASILVA, C; SANTOS, G; CAMARA, C; NAVARRO, D. Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities against Aedes aegypti of essential oils from Piper marginatum Jacq. (Piperaceae). **Bioresource**

Technology, [S.L.], v. 100, n. 7, p. 2284-2288, abr. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2008.10.055>.

AZAMBUJA, W. **Métodos de extração de Óleos Essenciais**. Disponível em: <http://www.oleosessenciais.org/metodos-de-extracao-de-oleos-essenciais/>. Acessado em: 24 de fevereiro de 2020.

AZEEM, Muhammad; ZAMAN, Tariq; TAHIR, Muhammad; HARIS, Abdullah; IQBAL, Zafar; BINYAMEEN, Muhammad; NAZIR, Abdul; SHAD, Sarfraz Ali; MAJEED, Shahid; MOZ̃RAITIS, Raimondas. Chemical composition and repellent activity of native plants essential oils against dengue mosquito, *Aedes aegypti*. **Industrial Crops And Products**, [S.L.], v. 140, p. 111609, nov. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111609>.

AZIZ, Zarith Asyikin Abdul; AHMAD, Akil; SETAPAR, Siti Hamidah Mohd; KARAKUCUK, Alptug; AZIM, Muhammad Mohsin; LOKHAT, David; RAFATULLAH, Mohd.; GANASH, Magdah; KAMAL, Mohammad A.; ASHRAF, Ghulam Md. Essential Oils: extraction techniques, pharmaceutical and therapeutic potential - a review. **Current Drug Metabolism**, [S.L.], v. 19, n. 13, p. 1100-1110, 23 nov. 2018. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/1389200219666180723144850>.

BASAID, Khadija; CHEBLI, Bouchra; MAYAD, El Hassan; FURZE, James N.; BOUHARROUD, Rachid; KRIER, François; BARAKATE, Mustapha; PAULITZ, Timothy. Biological activities of essential oils and lipopeptides applied to control plant pests and diseases: a review. **International Journal Of Pest Management**, [S.L.], v. 67, n. 2, p. 155-177, 8 jan. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/09670874.2019.1707327>.

BENELLI, Giovanni; DUGGAN, Mary Frances. Management of arthropod vector data – Social and ecological dynamics facing the One Health perspective. **Acta Tropica**, [s.l.], v. 182, p.80-91, jun. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.02.015>.

BEZERRA-SILVA, Patrícia C.; SANTOS, Jefferson C.; SANTOS, Geanne K.N.; DUTRA, Kamilla A.; SANTANA, Andrea L.B.D.; MARANHÃO, Claudia A.; NASCIMENTO, Márcia S.; NAVARRO, Daniela M.A.F.; BIEBER, Lothar W.. Extract of *Bowdichia virgilioides* and *maackiain* as larvicidal agent against *Aedes aegypti* mosquito. **Experimental Parasitology**, [S.L.], v. 153, p. 160-164, jun. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2015.03.018>.

BEZERRA-SILVA, Patrícia C.; DUTRA, Kamilla A.; SANTOS, Geanne K. N.; SILVA, Rayane C. S.; IULEK, Jorge; MILET-PINHEIRO, Paulo; NAVARRO, Daniela M. A. F.. Evaluation of the Activity of the Essential Oil from an Ornamental Flower against *Aedes aegypti*: electrophysiology, molecular dynamics and behavioral assays. **Plos One**, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 1-15, 29 fev. 2016. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0150008>.

BIZZO, Humberto; BARBOZA, Eduardo; SANTOS, Marcelly; GAMA, Paola. UM CONJUNTO DE PLANILHAS ELETRÔNICAS PARA IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CONSTITUINTES DE ÓLEOS ESSENCIAIS. **Química Nova**, [S.L.], v. 43, n. 1, p. 98-105, 2020. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170458>.

BOUKHATEM, Mohamed. Scientific Findings: The Amazing use of Essential Oils and their Related Terpenes as Natural Preservatives to Improve the Shelf- Life of Food. **Ciência Alimentar e Nutrição Tecnologia** 5 .1-13. 2020. Doi 10.23880/fsnt-16000215.

BRAGA, Ima Aparecida; VALLE, Denise. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, [S.L.], v. 16, n. 4, p. 279-293, dez. 2007. Instituto Evandro Chagas. <http://dx.doi.org/10.5123/s1679-49742007000400006>

BRASIL, Boletim Epidemiológico. Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde 3 Volume 50. Nº 13. Abr. 2019.

BROCHINI, Claudia B.; LAGO, João Henrique G.. Aplicação de técnicas cromatográficas e espectrométricas como ferramentas de auxílio na identificação de componentes de óleos voláteis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [S.L.], v. 17, n. 2, p. 266-270, jun. 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-695x2007000200022>.

BRUICE, Paula Yurkanis. Química orgânica. 4.ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2010. v.2. 641 p.

CASAGRANDE, E..**Extração de Óleos Essenciais**. Disponível em: <http://elisabethperfumes.blogspot.com/2014/08/extracao-de-oleos-essenciais.html>. Acesso em: 21 de junho de 2020.

CASTILLO, Ruth M.; STASHENKO, Elena; DUQUE, Jonny E.. Insecticidal and Repellent Activity of Several Plant-Derived Essential Oils Against *Aedes aegypti*. **Journal Of The American Mosquito Control Association**, [s.l.], v. 33, n. 1, p.25-35, mar. 2017. The American Mosquito Control Association. <http://dx.doi.org/10.2987/16-6585.1>.

CHENG, S. Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 89, n. 1, p. 99-102, ago. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0960-8524\(03\)00008-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0960-8524(03)00008-7).

CHIARADIA, Mariza C.; COLLINS, Carol H.; JARDIM, Isabel C. S. F.. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química Nova**, [S.L.], v. 31, n. 3, p. 623-636, 2008. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422008000300030>.

Conselho da Europa, 1997. European Farmacopeia, terceira ed. Conselho da Europa, Estrasburgo

COLINS, Carol H.; BRAGA, Gilberto L.; BONATO, Pierina S. **Introdução aos métodos cromatográficos**. 6. ed. São Paulo: Editora da Unicamp, 1995. 280 p.

DHIFI, Wissal; BELLILI, Sana; JAZI, Sabrine; BAHLOUL, Nada; MNIF, Wissem. Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: a critical review. **Medicines**, [S.L.], v. 3, n. 4, p. 25, 22 set. 2016. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/medicines3040025>.

DONALD, Graciela Rocha; FERNANDES, Patrícia Dias; BOYLAN, Fabio. Antinociceptive Activity of *Zanthoxylum piperitum* DC. Essential Oil. **Evidence-based Complementary And Alternative Medicine**, [s.l.], v. 2016, p.1-8, 2016. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/3840398>.

DOOL, H. van Den; KRATZ, P. Dec.. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal Of Chromatography A**, [S.L.], v. 11, p. 463-471, 1963. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9673\(01\)80947-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0021-9673(01)80947-x).

EL-AMIER, Yasser A.; BORKI, Abd El-Nasser S. Al; ELAGAMI, Shrouk A.. Potential of wild plant *Artemisia judaica* L. as sustainable source of antioxidant and antimicrobial compounds. **Journal Of Experimental Sciences**, [S.L.], p. 04-08, 2019. TathQeef Scientific Publishing. <http://dx.doi.org/10.25081/jes.2019.v10.5425>.

ELYEMNI, Majda; LOUASTE, Bouchra; NECHAD, Imane; ELKAMLI, Taha; BOUIA, Abdelhak; TALEB, Mustapha; CHAOUCH, Mahdi; ELOUTASSI, Nouredine. Extraction of Essential Oils of *Rosmarinus officinalis* L. by Two Different Methods: hydrodistillation and microwave assisted hydrodistillation. **The Scientific World Journal**, [S.L.], v. 2019, p. 1-6, 1 abr. 2019. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2019/3659432>.

FABIANE, Kely Cristina; FERRONATTO, Regina; SANTOS, Ana Cristina dos; ONOFRE, Sideney Becker. Physicochemical characteristics of the essential oils of

Baccharis dracunculifolia and *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [S.L.], v. 18, n. 2, p. 197-203, jun. 2008. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-695x2008000200009>.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, Dengue instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas. 3. ed., rev. Brasília: Ministério da Saúde, 2001.84 p.

FELIPE, Lorena O.; BICAS, Juliano L.. Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. **Química Nova na Escola**, [S.L.], v. 39, n. 2, p. 120-130, 2017. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0104-8899.20160068>.

GALDEANO, Diogo; KLEINGESINDS, Carolina. Botânica no Inverno 2013: Microrganismos x Planta: guerra ou parceria? Org. de Alejandra Matiz Lopez et al. São Paulo. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 2012. 202 p.

GOMES, P.R.B.; SILVA, A.L.s.; PINHEIRO, H.A.; CARVALHO, L.L.; LIMA, H.s.; SILVA, E.F.; SILVA, R.P.; LOUZEIRO, C.H.; OLIVEIRA, M.B.; V.E.M. FILHO,. Avaliação da atividade larvicida do óleo essencial do *Zingiber officinale* Roscoe (gengibre) frente ao mosquito *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [S.L.], v. 18, n. 21, p. 597-604, 2016. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/1983-084x/15_214

GOVINDARAJAN, Marimuthu; RAJESWARY, Mohan; SENTHILMURUGAN, Sengamalai; VIJAYAN, Periasamy; ALHARBI, Naiyf S.; KADAIKUNNAN, Shine; KHALED, Jamal M.; BENELLI, Giovanni. Larvicidal activity of the essential oil from *Amomum subulatum* Roxb. (Zingiberaceae) against *Anopheles subpictus*, *Aedes albopictus* and *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: culicidae), and non-target impact on four mosquito natural enemies. **Physiological And Molecular Plant Pathology**, [S.L.], v. 101, p. 219-224, jan. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pmpp.2017.01.003>

GINTZBURGER, G., TODERICH, K.N; MARDONOV, B.K.; MAHMUDOV, M.M.,. **Cordilheiras das zonas áridas e semi-áridas do Uzbequistão**. CIRAD - ICARDA. 432p, 2003. ISBN 978-2-7592-0673-5

GHASSEMI, Nasrollah; GHANADIAN, Mustafa; GHAEMMAGHAMI, Lili; KIANI, Haran. Development of a Validated HPLC/Photodiode Array Method for the Determination of Isomenthone in the Aerial Parts of *Ziziphora tenuior* L. **Jundishapur Journal Of Natural Pharmaceutical Products**, [S.L.], v. 8, n. 4, p. 180-186, 2 nov. 2013. Kowsar Medical Institute. <http://dx.doi.org/10.17795/jjnpp-12504>.

HESHAM H. A. Rassem, ABDURAHMAN H. Nour, ROSLI M. Yunus., Techniques For Extraction of Essential Oils From Plants: **A Review. Aust. J. Basic & Appl. Sci.**, 10(16): 117-127, 2016

IBÁÑEZ, María Dolores; BLÁZQUEZ, María Amparo. Curcuma longa L. Rhizome Essential Oil from Extraction to Its Agri-Food Applications. A Review. **Plants**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 44, 28 dez. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/plants10010044>.

LANÇAS, Fernando M..**Cromatografia em fase gasosa**. São Carlos: Acta, 1993. 235 p.

LANÇAS, F. A **Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: finalmente “compatíveis”** ScientiaChromatographica, v.1, n.2, p. 35-61, 2009

LANÇAS, Fernando M..**Espectrometria de massas: fundamentos, instrumentação e aplicações**. Campinas,Sp: Átomo, 2019. 353 p.

LETA, Samson; BEYENE, Tariku Jibat; CLERCQ, Eva M. de; AMENU, Kebede; KRAEMER, Moritz U.G.; REVIE, Crawford W. Global risk mapping for major diseases transmitted by *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **International Journal Of Infectious Diseases**, [S.L.], v. 67, p. 25-35, fev. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2017.11.026>

MAHBOUBI, Mohaddese; BOKAEE, Saeed; DEHDASHTI, Hoda; FEIZABADI, MOHAMMAD Mehdi. Antimicrobial activity of Mentha piperitae, Zsummeria majdae, Ziziphora tenuior oils on ESBLs producing isolates of Klebsiella pneumoniae. **Biharean Biologist**, 6 (1): pp.5-9, Oradea, Romania, 2012 Article No.: 111128 <http://biozoojournals.3x.ro/bihbiol/index.html>

MEURER, Eduardo César. **Espectroscopia de massas para iniciantes**. Curitiba: Appris, 2020. 165 p.

MONTE, Zenaide; NAVARRO, Daniela; AGUIAR, Júlio; NASCIMENTO, Jessica; SCOTTI, Marcus; SCOTTI, Luciana; BARROS, Renata; SANTOS, Aline; PEREIRA, Valéria; FALCÃO, Emerson. Pyrimidine Derivatives: qsar studies of larvicidal activity against aedes aegypti. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, [S.L.], p. 3-10, 2020. Sociedade Brasileira de Quimica (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20200039>.

MOHAMMADHOSSEINI, Majid. The ethnobotanical, phytochemical and pharmacological properties and medicinal applications of essential oils and extracts of different Ziziphora species. **Industrial Crops And Products**, [S.L.], v. 105, p. 164-192, out. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.009>.

MAHBOUBI, M.; BOKAEE, S.; DEHDASHTI, H.. FEIZABADI, M. M. Antimicrobial activity of Mentha piperitae, Zsummeria majdae, Ziziphora tenuior oils on ESBLs producing isolates of Klebsiella pneumoniae. **Biharean Biologist**, Oradea, Romania, v. 1, n. 6, p.5-9, 2012. Article No.: 111128

MINISTÉRIO DA SAÚDE, informe epidemiológico 23 abril 2019, Monitoramento dos casos de Arboviroses urbanas transmitidas pelo Aedes (dengue, chikungunya e Zika) até a Semana Epidemiológica 15 de 2019. Secretaria de Vigilância em Saúde <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/abril/30/informe-arboviroses-15.pdf>

NAVARRO, Daniela; SILVA, Patrícia; SILVA, Marcelo; NAPOLEAO, Thiago; PAIVA, Patrícia. Larvicidal Activity of Plant and Algae Extracts, Essential Oils and Isolated Chemical Constituents against *Aedes aegypti*. **The Natural Products Journal**, [S.L.], v. 3, n. 4, p. 268-291, 31 mar. 2014. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/221031550304140328113732>.

NAQQASH, Muhammad Nadir; GÖKÇE, Ayhan; BAKHSH, Allah; SALIM, Muhammad. Insecticide resistance and its molecular basis in urban insect pests. **Parasitology Research**, [S.L.], v. 115, n. 4, p. 1363-1373, 13 jan. 2016. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-015-4898-9>.

NUNES, Gilvanda Silva; SANTOS, Teresa Cristina R.; BARCELÓ, Damiá; PIMENTA, Alexandre Santos; RIBEIRO, Maria Lúcia. Extração por fluido supercrítico de alguns inseticidas carbamatos em amostras de batata, com determinação por HPLC/fluorescência e confirmação por HPLC/espectrometria de massas. **Química Nova**, [S.L.], v. 25, n. 2, p. 214-220, maio 2002. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422002000200008>.

PAVIA, Donald L.; LAMPMAN, Gary M.; KRIZ, George S.; VYVYAN, James R.. **Introdução à espectroscopia**. São Paulo: Cengage Learnig, 2010. 700 p.

PATEL, Kalpeshn; PATEL, Jayvadank; PATEL, Manishp; RAJPUT, Ganeshc; PATEL, Hitesha. Introduction to hyphenated techniques and their applications in pharmacy. **Pharmaceutical Methods**, [S.L.], v. 1, n. 1, p. 2, 2010. EManuscript Services. <http://dx.doi.org/10.4103/2229-4708.72222>.

MILET-PINHEIRO, Paulo; SILVA, João Batista F.; NAVARRO, Daniela M.A.F.; MACHADO, Isabel C.s.; GERLACH, Günter. Notes on pollination ecology and floral scent chemistry of the rare neotropical orchid *Catasetum galeritum* R chb.f. **Plant Species Biology**, [S.L.], v. 33, n. 2, p. 158-163, 9 mar. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1442-1984.12202>.

PIPLANI, Mona; BHAGWAT, Deepak P.; SINGHVI, Gautam; SANKARANARAYANAN, Murugesan; BALANA-FOUCE, Rafael; VATS, Tarini; CHANDER, Subhash. Plant-based larvicidal agents: an overview from 2000 to 2018. **Experimental Parasitology**, [S.L.], v. 199, p. 92-103, abr. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2019.02.014>.

KLEIN, D. Química Orgânica. 2.ed. Rio de Janeiro: LTC Editora, 2016. Vol 2, 600p.

KLOCKE, James A.; DARLINGTON, Mark V.; BALANDRIN, Manuel F.. 1,8-Cineole (Eucalyptol), a mosquito feeding and ovipositional repellent from volatile oil of *Hemizonia fitchii* (Asteraceae). **Journal Of Chemical Ecology**, [S.L.], v. 13, n. 12, p. 2131-2141, dez. 1987. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/bf01012562>

KRAEMER, Moritz Ug; SINKA, Marianne e; A DUDA, Kirsten; MYLNE, Adrian Qn; SHEARER, Freya M; BARKER, Christopher M; MOORE, Chester G; CARVALHO, Roberta G; COELHO, Giovanini e; VAN BORTEL, Wim. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. **Elife**, [S.L.], v. 4, p. 1-18, 30 jun. 2015. ELife Sciences Publications, Ltd. <http://dx.doi.org/10.7554/elife.08347>.

KRAEMER, Moritz U. G.; REINER, Robert C.; BRADY, Oliver J.; MESSINA, Jane P.; GILBERT, Marius; PIGOTT, David M.; YI, Dingdong; JOHNSON, Kimberly; EARL, Lucas; MARCZAK, Laurie B.. Past and future spread of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **Nature Microbiology**, [S.L.], v. 4, n. 5, p. 854-863, 4 mar. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41564-019-0376-y>.

KUMUDA, S.S., Mohan Kumar, T.K. and Vijayan, V. A. Larvicidal, Ovicidal and Oviposition deterrent efficacy of extracts of two plant species against *Culex quinquefasciatus* Say, at Mysuru, India **International Journal of Current Research**, Vol. 11, Issue, 02, pp.1484-14889, February, 2019. DOI: <https://doi.org/10.24941/ijcr.34298.02.2019>.

KNIGHT JC, CORBET SA. Compounds affecting mosquito oviposition: structure-activity relationships and concentration effects. *J Am Mosq Control Assoc.* 1991 Mar;7(1):37-41. PMID: 1675257.

SANTANA, Ht.; TRINDADE, Ftt.; STABELI, Rg.; SILVA, Aae.; MILITÃO, Jstl.; FACUNDO, Va.. Essential oils of leaves of Piper species display larvicidal activity against the dengue vector, *Aedes aegypti* (Diptera: culicidae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, [S.L.], p. 105-111, 2015. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/1983-084x/13_052.

SANTOS, Leilane M.M.; NASCIMENTO, Jéssica S.; SANTOS, Mirela A.G.; MARRIEL, Nadja B.; BEZERRA-SILVA, Patrícia C.; ROCHA, Suyana K.L.; SILVA, Alexandre G.; CORREIA, Maria T.s.; PAIVA, Patrícia M.G.; MARTINS, Gustavo F.. Fatty acid-rich volatile oil from *Syagrus coronata* seeds has larvicidal and oviposition-deterrent activities against *Aedes aegypti*. **Physiological And Molecular Plant Pathology**, [S.L.], v. 100, p. 35-40, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pmpp.2017.05.008>.

SANTOS, Geanne K.N.; DUTRA, Kamilla A.; BARROS, Rosângela A.; CÂMARA, Claudio A.G. da; LIRA, Diana D.; GUSMÃO, Norma B.; NAVARRO, Daniela M.A.F.. Essential oils from *Alpinia purpurata* (Zingiberaceae): chemical composition, oviposition deterrence, larvicidal and antibacterial activity. **Industrial Crops And Products**, [S.L.], v. 40, p. 254-260, nov. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.03.020>.

SANTOS, Geanne; DUTRA, Kamilla; LIRA, Camila; LIMA, Bheatriz; NAPOLEÃO, Thiago; PAIVA, Patrícia; MARANHÃO, Claudia; BRANDÃO, Sofia; NAVARRO, Daniela. Effects of *Croton rhamnifolioides* Essential Oil on *Aedes aegypti* Oviposition, Larval Toxicity and Trypsin Activity. **Molecules**, [S.L.], v. 19, n. 10, p. 16573-16587, 14 out. 2014. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules191016573>.

SARMA, Riju; ADHIKARI, Kamal; MAHANTA, Sudarshana; KHANIKOR, Bulbuli. Combinations of Plant Essential Oil Based Terpene Compounds as Larvicidal and Adulticidal Agent against *Aedes aegypti* (Diptera: culicidae). **Scientific Reports**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1-12, 1 jul. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-45908-3>.

SARTOR, R. B. **Modelagem, simulação e otimização de uma unidade industrial de extração de óleos essenciais por arraste de vapor**. Dissertação de Mestrado. Porto Alegre, RS: UFRS, 2009.

SAXENA, K. N.; SHARMA, R. N.. Embryonic Inhibition and Oviposition Induction in *Aedes aegypti* by Certain Terpenoids¹. **Journal Of Economic Entomology**, [S.L.], v. 65, n. 6, p. 1588-1591, 1 dez. 1972. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/jee/65.6.1588>.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª Ed. Rev. e Ampl.; Porto Alegre, Editora da universidade/UFSC, cap.16, p. 467-495, 2004.

SILVA, Graziela Claudia da; VERAS, Bruno Oliveira de; ASSIS, Caio Rodrigo Dias de; NAVARRO, Daniela Maria do Amaral Ferraz; DINIZ, Dyana Leal Veras; SANTOS, Fábio André Brayner dos; AGUIAR, Júlio César Ribeiro de Oliveira Farias de; SILVA, Márcia Vanusa da; CORREIA, Maria Tereza dos Santos. Chemical composition, antimicrobial activity and synergistic effects with conventional antibiotics under clinical isolates by essential oil of *Hymenaea rubriflora* Ducke (FABACEAE). **Natural Product Research**, [S.L.], p. 1-5, 21 fev. 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2020.1729150>.

SILVA, Marcelo Felipe Rodrigues da; BEZERRA-SILVA, Patrícia Cristina; LIRA, Camila Soledade de; ALBUQUERQUE, Bheatriz Nunes de Lima; AGRA NETO, Afonso Cordeiro; PONTUAL, Emmanuel Viana; MACIEL, Jefferson Rodrigues; PAIVA, Patrícia Maria Guedes; NAVARRO, Daniela Maria do Amaral Ferraz. Composition and biological activities of the essential oil of *Piper corcovadensis* (Miq.) C. DC

(Piperaceae). **Experimental Parasitology**, [S.L.], v. 165, p. 64-70, jun. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2016.03.017>.

SILVA, Rayane Cristine Santos da; MILET-PINHEIRO, Paulo; SILVA, Patrícia Cristina Bezerra da; SILVA, Alexandre Gomes da; SILVA, Marcia Vanusa da; NAVARRO, Daniela Maria do Amaral Ferraz; SILVA, Nicácio Henrique da. (E)-Cariofileno and α -Humulene: aedes aegypti oviposition deterrents elucidated by gas chromatography-electrophysiological assay of commiphora leptophloeos leaf oil. **Plos One**, [S.L.], v. 10, n. 12, p. 1-14, 9 dez. 2015. Public Library of Science (PLoS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0144586>.

SILVA, Felipe Maia; BERTINI, Luciana Medeiros; ALVES, Leonardo Alcântara; MOURA, Luciano Fernandes; BARBOSA, Plínio Tavares; FERNANDES, Alexandre Bruno Dantas. ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM SANTO (*Cymbopogon citratus*) OBTIDO ATRAVÉS DE EXTRATOR POR ARRASTE COM VAPOR D'ÁGUA CONSTRUÍDO COM MATERIAS DE FÁCIL AQUISIÇÃO E BAIXO CUSTO. **Holos**, [S.L.], v. 4, p. 144, 14 ago. 2014. Instituto Federal de Educacao, Ciencia e Tecnologia do Rio Grande do Norte (IFRN). <http://dx.doi.org/10.15628/holos.2014.1762>.

SILVÉRIO, Maíra Rosato Silveiral; ESPINDOLA, Laila Salmen; LOPES, Norberto Peporine; VIEIRA, Paulo César. Plant Natural Products for the Control of Aedes aegypti: the main vector of important arboviruses. **Molecules**, [S.L.], v. 25, n. 15, p. 3484, 31 jul. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25153484>.

SILVEIRA, J. C.; BUSATO, N. V.; COSTA, A. O. S.; JUNIOR, E. F. C.. **Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais**. Enciclopédia Biosfera, v 8, n 15, 2012.

SILVERSTEIN, Robert M.; WEBSTER, Francis X.; KIEMLE, David J.. **Identificação Espectrométrica de compostos Orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: Ltc, 2007. 490 p.

SERAFINI, L. A.; SANTOS, A. C. A. dos; TOUGUINHA, L. A.; AGOSTINI, G; DALFOVO, V.. **Extrações e Aplicações de Óleos Essenciais de Plantas Aromáticas e Medicinais**. Caxias do Sul: EDUCS, 55p. 2002.

SOONWERA, Mayura; PHASOMKUSOLSIL, Siriporn. Adulticidal, larvicidal, pupicidal and oviposition deterrent activities of essential oil from *Zanthoxylum limonella* Alston (Rutaceae) against *Aedes aegypti* (L.) and *Culex quinquefasciatus* (Say). **Asian Pacific Journal Of Tropical Biomedicine**, [S.L.], v. 7, n. 11, p. 967-978, nov. 2017. Medknow. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.09.019>.

STEFFANI, Evandro. **Modelagem matemática do processo de extração supercrítica de óleo essencial de Ho-Sho (*Cinnamomum camphora* Nees & Ebermvar .*Linaloolífera* Fujita) Utilizando CO₂**. Tese de Doutorado. Florianópolis, SC: UFSC, 2003.

STRATAKOS, Alexandros Ch; KOIDIS, Anastasios. Methods for Extracting Essential Oils. **Essential Oils In Food Preservation, Flavor And Safety**, [S.L.], p. 31-38, 2016. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-416641-7.00004-3>.

TONGNUANCHAN, Phakawat; BENJAKUL, Soottawat. Essential Oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. **Journal of Food Science**, [S.L.], v. 79, n. 7, p. 1231-1249, 2 jun. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1750-3841.12492>.

TETREAU, Guillaume; BAYYAREDDY, Krishnareddy; JONES, Christopher M; STALINSKI, Renaud; A RIAZ, Muhammad; PARIS, Margot; DAVID, Jean-Philippe; ADANG, Michael J; DESPRÉS, Laurence. Larval midgut modifications associated with Bti resistance in the yellow fever mosquito using proteomic and transcriptomic approaches. **Bmc Genomics**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 248, 2012. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-13-248>.

VERAS, Bruno Oliveira de; SANTOS, Yago Queiroz dos; OLIVEIRA, Fernanda Granja da Silva; ALMEIDA, Jackson Roberto Guedes da Silva; SILVA, Alexandre Gomes da; CORREIA, Maria Tereza dos Santos; DINIZ, Katharina Marques; OLIVEIRA, João

Ricardhis Saturnino de; LIMA, Vera Lúcia de Menezes; NAVARRO, Daniela Maria do Amaral Ferraz. Algrizea Minor Sobral, Faria & Proença (Myrteae, Myrtaceae): chemical composition, antinociceptive, antimicrobial and antioxidant activity of essential oil. **Natural Product Research**, [S.L.], v. 34, n. 20, p. 3013-3017, 23 abr. 2019. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2019.1602832>.

VERAS, Bruno Oliveira de; OLIVEIRA, João Ricardhis Saturnino de; LIMA, Vera Lúcia de Menezes; NAVARRO, Daniela Maria do Amaral Ferraz; AGUIAR, Júlio César Ribeiro de Oliveira Farias de; MOURA, Geovanna Maria de Medeiros; SILVA, José Wellinton da; ASSIS, Caio Rodrigo Dias de; GORLACH-LIRA, Krystyna; ASSIS, Priscilla Anne Castro de. The essential oil of the leaves of *Verbesina macrophylla* (Cass.) S.F.Blake has antimicrobial, anti-inflammatory and antipyretic activities and is toxicologically safe. **Journal of Ethnopharmacology**, [S.L.], v. 265, p. 113248, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2020.113248>.

YOUSEFI, Mohammad; RAHIMI-NASRABADI, Mehdi; POURMORTAZAVI, Seied Mahdi; WYSOKOWSKI, Marcin; JESIONOWSKI, Teofil; EHRLICH, Hermann; MIRSADEGHI, Somayeh. Supercritical fluid extraction of essential oils. **Trac Trends In Analytical Chemistry**, [S.L.], v. 118, p. 182-193, set. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2019.05.038>.

YU, Ke-Xin; WONG, Ching-Lee; AHMAD, Rohani; JANTAN, Ibrahim. Larvicidal activity, inhibition effect on development, histopathological alteration and morphological aberration induced by seaweed extracts in *Aedes aegypti* (Diptera: culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, [S.L.], v. 8, n. 12, p. 1006-1012, dez. 2015. Medknow. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtm.2015.11.011>.

WALIWITIYA, Ranil; KENNEDY, Christopher J; A LOWENBERGER, Carl. Larvicidal and oviposition-altering activity of monoterpenoids, trans-anethole and rosemary oil to the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: culicidae). **Pest Management Science**, [S.L.], v. 65, n. 3, p. 241-248, mar. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ps.1675>.

World Health Organization. Dengue and Severe Dengue. 2019. Available: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>.

WILKE, André B. B.; CHASE, Catherine; VASQUEZ, Chalmers; CARVAJAL, Augusto; MEDINA, Johana; PETRIE, William D.; BEIER, John C.. Urbanization creates diverse aquatic habitats for immature mosquitoes in urban areas. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1-11, 25 out. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-51787-5>.

WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13

WIRTH, Margaret C.. Mosquito Resistance to Bacterial Larvicidal Toxins. **The Open Toxinology Journal**, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 126-140, 1 nov. 2013. Bentham Science Publishers Ltd.. <http://dx.doi.org/10.2174/1875414701003010126>.

ZARA, Ana Laura de Sene Amâncio; SANTOS, Sandra Maria dos; FERNANDES-OLIVEIRA, Ellen Synthia; CARVALHO, Roberta Gomes; COELHO, Giovanini Evelim. Estratégias de controle do Aedes aegypti: uma revisão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, [S.L.], v. 25, n. 2, p. 1-2, jun. 2016. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.5123/s1679-49742016000200017>.