



## AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE ATIVIDADE DETERRENTE DE OVIPOSIÇÃO A PARTIR DO ÓLEO ESSENCIAL E NANOEMULSÕES DE *Eugenia caryophyllata* (CRAVO-DA-ÍNDIA) EM CAMPO FRENTE AO COMBATE DO MOSQUITO *Aedes aegypti*

Nicole A. F. da Silva<sup>1</sup>; Abraão A. da Silva<sup>1</sup>; Keila P. de Oliveira<sup>1</sup>; Maria Clara A. V. Negreiros<sup>1</sup>; Vânia N. Nunes<sup>2</sup>; Márcio Vilar<sup>1</sup>; Jaqueline R. da Silva<sup>3</sup>; Nereide S. S. Magalhães<sup>3</sup>; Sofia S. F. B. Rodrigues<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto Federal de Pernambuco (IFPE-Recife)

<sup>2</sup> Secretaria de Saúde do Recife - Centro de Vigilância Ambiental e o Controle de Zoonose (CVA)

<sup>3</sup> Laboratório de Sistema de Liberação Controlada - Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - SLC-NF/LIKA (UFPE)

**Palavras-Chave:** Ovitrapas, controle, ovos.

### Introdução

A saúde humana e ambiental está intrinsecamente ligada às condições ecológicas. A fragmentação dos ecossistemas, intensificada pela crescente urbanização, força espécies a migrarem para áreas urbanas e favorece a proliferação de vetores de doenças, como o mosquito *Aedes aegypti*. O comportamento sinantrópico e o hábito antropofílico desse vetor promovem sua dispersão em zonas urbanas ao redor do mundo (Zwiebel; Takken, 2004). Essa conjuntura resulta em uma proximidade preocupante que aumenta o risco de transmissão de doenças como dengue, zika e chikungunya, visto que a capacidade adaptativa desse inseto, aliada a fatores climáticos favoráveis, torna o controle do vetor um desafio global.

Diante desse cenário, produtos inseticidas e repelentes de origem sintética têm sido amplamente utilizados para a defesa contra diversos tipos de insetos, sendo um dos métodos mais adotados como parte do manejo sustentável e integrado para o controle de vetores em Saúde Pública (Rose, 2001). No entanto, sua aplicação comprovadamente causa danos ao ar, solo, água e à saúde humana, gerando um impacto ambiental, social e econômico significativo e crescente (BOHNER et al., 2013), além de contribuir para o desenvolvimento de resistência por parte dos vetores (Jintana et al., 2015).

Considerando a impossibilidade de restaurar integralmente os ecossistemas originais, torna-se urgente a adoção de medidas eficazes contra o mosquito para prevenir a disseminação de diversas doenças, uma vez que é papel da Saúde Pública evitar a infecção, seja por meio do bloqueio ou da redução da transmissão (Braga; Valle, 2007; Cavalli et al., 2019). Devem-se criar estratégias que minimizem os impactos ambientais, ao mesmo tempo em que promovam avanços científicos, tecnológicos e melhorias sociais.

O uso de plantas medicinais, por exemplo, como alternativa de tratamento, tem ganhado destaque na área de saúde ambiental, envolvendo profissionais de diversas áreas do conhecimento e fomentando a conscientização ambiental. Muitas pesquisas têm demonstrado a eficácia dos óleos essenciais como agentes antimicrobianos, inseticidas, repelentes, atraentes e até mesmo tóxicos para insetos e microrganismos (Cansian et al., 2023).

Destaca-se, nesse campo, a espécie *Eugenia caryophyllata*, conhecida como cravo-da-índia, devido ao seu elevado potencial exploratório em razão de suas propriedades biológicas, tais como atividades antifúngica, anti-inflamatória, analgésica, inseticida, antimutagênica, antiviral, antisséptica e antibacteriana, sendo amplamente utilizada nas indústrias farmacêutica, alimentícia, de perfumes e cosméticos (Singh; Baghotia; Goel, 2012; Figueiredo; Silva; Morais, 2021). Salienta-se que o extrato de *Eugenia caryophyllata* com maior interesse analítico é o óleo essencial obtido a partir do broto, também designado *Caryophylli floris aetheroleum*. Entretanto, também pode ser obtido através da folha, caule ou fruto da planta. Portanto, faz-se

importante um estudo dos aspectos agrônômicos deste vegetal, visando a estabilidade e rendimento do óleo essencial produzido, bem como o aproveitamento da biomassa gerada do processo extrativo (Bizzo; Hovell; Rezende, 2009).

Os óleos essenciais são compostos líquidos sensíveis a diversos fatores, como temperatura, oxigênio e interações químicas. Essas substâncias podem ser facilmente alteradas por processos como oxidação e volatilização, comprometendo a qualidade do produto final. A microencapsulação, técnica que envolve o encapsulamento do composto ativo em uma matriz protetora, oferece uma solução eficaz para minimizar a degradação e garantir a liberação controlada do óleo essencial. Por serem termodinamicamente instáveis, os óleos essenciais muitas vezes são estabilizados pelo uso de surfactantes (McClements e Rao, 2011). As nanoemulsões, por sua vez, podem ser produzidas por duas abordagens principais: alta energia e baixa energia (Porto, 2015; Porto 2020; Ferreira, 2011) cuja classificação baseia-se na organização espacial relativa das fases oleosa e aquosa, similarmente às emulsões convencionais.

Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo principal realizar uma avaliação comparativa da atividade deterrente de oviposição do *Aedes aegypti* utilizando o óleo essencial e nanoemulsões de *Eugenia caryophyllata* (cravo-da-índia) em condições de campo, busca-se investigar a eficácia dessas duas formulações na prevenção da postura de ovos por esse vetor e determinar qual formulação apresenta vantagens significativas em termos de estabilidade, liberação controlada e efetividade prolongada contribuindo para o desenvolvimento de estratégias mais eficientes no controle desse mosquito e na mitigação dos impactos ambientais associados ao uso de inseticidas sintéticos.

## Material e Métodos

### Obtenção do material botânico e extração do óleo essencial por hidrodestilação

Os frutos secos de cravo-da-índia foram adquiridos diretamente do produtor, em Valença, Bahia. A extração do OE foi realizada por uma adaptação do sistema de Clevenger (manta aquecedora, balão de destilação, separador de óleo e condensador), utilizando 300 g do vegetal em 3,5 L de água destilada, com separação do extrato após condensação, seguido de tratamento com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e armazenamento refrigerado em frasco de vidro âmbar.

### Cromatografia Gasosa (GC e GC-MS)

A cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (GC-MS) será desenvolvida em um Finnigan GCQ Mat tipo quadrupolo-ion trap operando com 70 eV de energia de ionização com uma coluna capilar DB5 (25m x 0,32mm x0,52m). As condições de programação são: 0 min a 60° C, variando 10° C/min até 275° C, aguardando 30 min. A temperatura do injetor é de 250° C e o gás de arraste será o hélio.

### Instalação das armadilhas do tipo ovitrampas e contagem de ovos do vetor

A captura por ovitrampa — recipiente plástico preto (cerca de 2500 mL), contendo água para atrair as fêmeas dos mosquitos — é uma armadilha mecânica destinada ao depósito de ovos pelos mosquitos. No experimento, 15 ovitrampas fornecidas pelo Centro de Vigilância Ambiental da Prefeitura do Recife foram distribuídas em diferentes áreas do CRCN-NE e do CETENE, na Cidade Universitária. Uma palheta de madeira é inserida na ovitrampa, facilitando a adesão dos ovos devido à sua superfície enrugada. O bioinseticida *Bacillus thuringiensis israelenses* é adicionado à água para eliminar as larvas de *Aedes aegypti* em caso de eclosão, prevenindo o desenvolvimento de pupas e causando a morte das larvas em até 24 horas.

As armadilhas foram deixadas expostas ao ambiente por 15 dias, tempo suficiente para a eclosão dos ovos e o desenvolvimento parcial das larvas, permitindo a detecção de focos de

infestação. Após esse período, as palhetas foram substituídas, as armadilhas higienizadas, e novas foram instaladas para reiniciar o ciclo quinzenal de oviposição. As palhetas anteriores são secas e, posteriormente, os ovos foram contados, com um estereomicroscópio binocular (oferece visão tridimensional), uma lâmina lisa (delimita a área da palheta), e um contador manual.

### Preparo de nanoemulsões de óleos essenciais

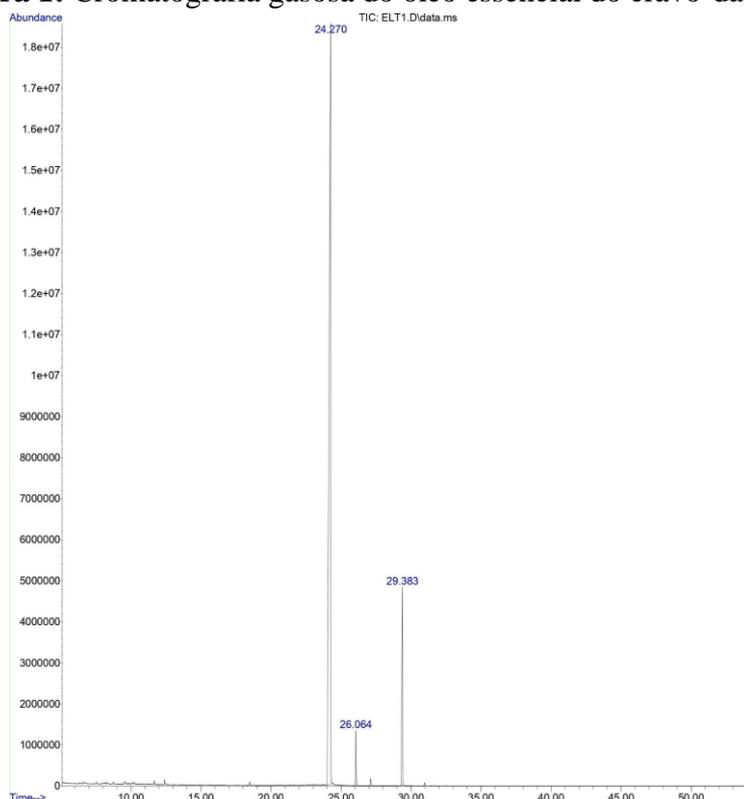
Os óleos essenciais e o tensoativo nas diferentes concentrações testadas em cada um dos estudos conduzidos foram adicionados na fase aquosa. A mistura foi homogeneizada até a completa homogeneização dos constituintes da emulsão e submetida ao método de alta energia de emulsificação, utilizando-se Microfluidizador Microfluidics M110P (USA) com a micro-ponta na frequência ultrassônica de 20 khz, variando o número de ciclos.

### Resultados e Discussão

#### Caracterização química (Análise e interpretação do óleo essencial por CG-MS acoplada a espectrometria de massa)

A análise quantitativa e qualitativa do óleo essencial de *Eugenia caryophyllata*, realizada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS), baseando-se no tempo de retenção e área percentual do pico cromatográfico das substâncias, resultou no isolamento de três componentes principais que são expressos na Figura 1:

**Figura 1:** Cromatografia gasosa do óleo essencial do cravo-da-índia.



Fonte: Laboratório da UFPE (2024).

Na Tabela 1, são apresentados os componentes químicos identificados para cada pico cromatográfico, juntamente com seus respectivos tempos de retenção. A quantificação dos três

principais picos foi realizada por meio da integração da área de cada um, conforme a ordem de eluição da amostra no cromatógrafo gasoso. Esses resultados foram comparados com os dados disponíveis nas bibliotecas NIST, ADAMS e WILEY, confirmando a identificação dos compostos. Vale destacar que, conforme Morais (2009), a composição do óleo essencial extraído está sujeita a diversas variáveis, a exemplo dos fatores ambientais, como temperatura, umidade relativa do ar, composição do solo, ciclo vegetativo da planta, origem geográfica, estação do ano, variedade e qualidade da matéria-prima e o método de extração utilizado, o que pode influenciar significativamente os perfis químicos observados.

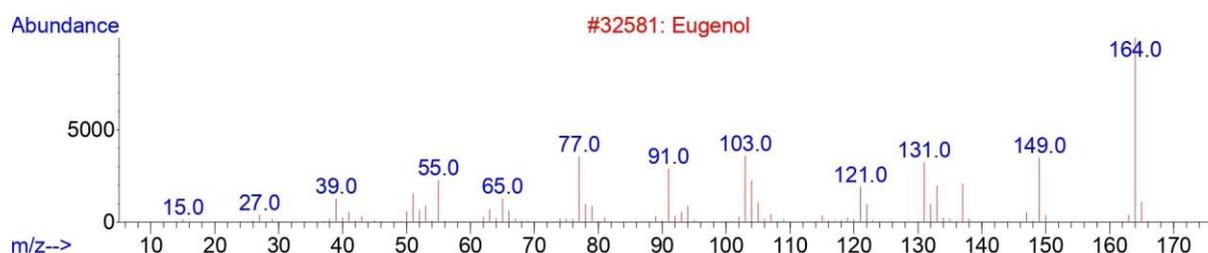
**Tabela 1:** Composição química do óleo essencial de cravo-da-índia.

Pico	Tempo de retenção (min)	Substância identificada	Teor de similaridade analisado
1	24,27	Eugenol	98%
2	26,06	Cariofileno	99%
3	29.38	Acetato de eugenol	97%

Fonte: Laboratório da UFPE (2024).

Na Figura 2, observa-se que o eugenol é o composto majoritário do óleo essencial.

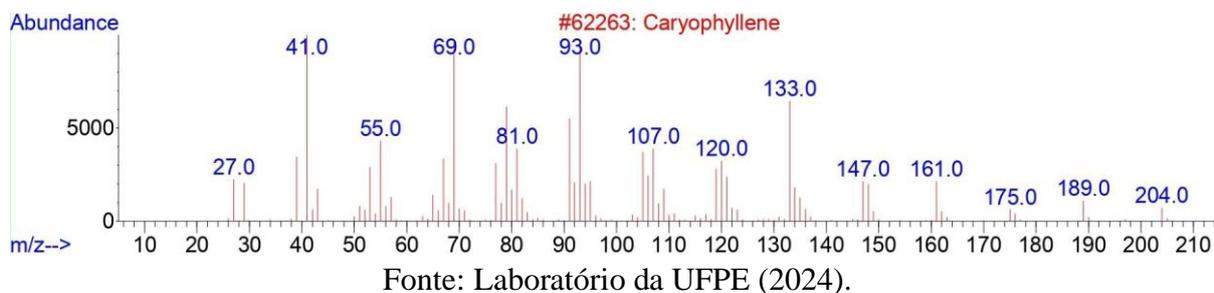
**Figura 2:** CG-MS - Pico de abundância do componente Eugenol.



Fonte: Laboratório da UFPE (2024).

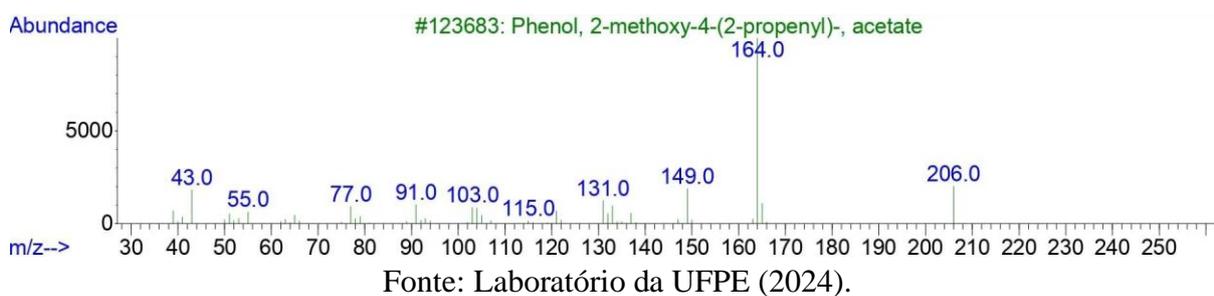
O  $\beta$ -cariofileno também se destaca como um dos componentes majoritários do óleo essencial, sendo um sesquiterpeno natural amplamente presente, conforme demonstrado na Figura 3.

**Figura 3:** CG-MS - Pico de abundância do componente  $\beta$ -Cariofileno.



O acetato de eugenol é um fenilpropanóide abundante na composição química do cravo-da-índia, conforme verificado na Figura 4.

**Figura 4:** CG-MS - Pico de abundância do componente acetato de eugenol.



Esses resultados sugerem o potencial dos componentes químicos do cravo-da-índia no controle do vetor, reforçando seu uso como um agente natural eficaz. Sua eficácia como repelente é atribuída à sua interação com os receptores olfativos do *Aedes aegypti*. Existem três receptores principais: os receptores ionotrópicos (RI), os receptores gustativos (RG) e os receptores de odor (RO) (HILL; IGNELL, 2021; WHEELWRIGHT; WHITTLE; RIABININA, 2021), que ao detectar um odor diferente e desagradável, o mosquito tende a evitar a área, o que reduz sua presença e, conseqüentemente, a propensão à reprodução nesse ambiente (KLINE et al., 2003).

### Aplicação do óleo essencial e da nanoemulsão em campo

A resposta de oviposição foi avaliada com base no número de ovos depositados em cada uma das palhetas das ovitrampas (de contagem quinzenal), durante todo o período experimental. Nos casos em que houve aumento do nível de infestação, adicionou-se uma maior quantidade de óleo essencial nas ovitrampas teste. As nanoemulsões, descritas na literatura como sistemas translúcidos ou transparentes, apresentam diferentes tamanhos de partículas. Para o presente experimento, a nanoemulsão foi preparada a uma concentração de 0,1% (0,1 g/mL). Considerando a capacidade de 2500 mL por ovitrampa, foi calculada uma concentração de 100 ppm, uma vez que a dosagem em campo deve ser superior à testada em laboratório, resultando na adição de 0,25 gramas de nanoemulsão por ovitrampa.

Na Tabela 2, percebe-se a efetividade da deterrência utilizando o óleo essencial de cravo-da-índia frente ao mosquito *Aedes aegypti* gerando uma redução significativa na quantidade de ovos, como é o caso da ovitrampa n°8, que vinha apresentando ao longo dos ciclos de controle valores acima de 200 ovos depositados.

**Tabela 2** - Comparativo de ciclos e quantidade de ovos no controle e a aplicação do OE.



Nº da ovitrampa	Ciclo 1 (Controle)	Ciclo 2 (Controle)	Ciclo 3 (Controle)	Ciclo 15 (OE)	Ciclo 16 (OE)	Ciclo 17 (OE)
1	63	244	0	56	1	0
3	1	0	2	1	0	0
8	342	294	628	5	0	2
12	0	0	0	17	17	95
13	2	56	200	0	301	35
Total de ovos	408	594	830	79	319	132

Fonte: De autoria própria (2024).

Entre o ciclo 1 e o ciclo 3, foi utilizado exclusivamente o controle bioinseticida *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti), resultando em um número superior a 400 ovos por ciclo. No entanto, entre o ciclo 15 e o ciclo 17, ao se adicionar o óleo essencial, observou-se uma redução significativa na reprodução do vetor em comparação aos ciclos controle. Nos três ciclos com Bti, foram contabilizados 1.832 ovos de *Aedes aegypti*, enquanto nos ciclos com óleo essencial o total foi de 530 ovos, resultando em uma diminuição de 1.302 ovos, o que corresponde a uma redução percentual de aproximadamente 71,02%.

**Tabela 3** - Comparativo de ciclos e quantidade de ovos utilizando controle e a aplicação da nanoemulsão.

Nº da ovitrampa	Ciclo 1 (Controle)	Ciclo 2 (Controle)	Ciclo 3 (Controle)	Ciclo 15 (Nano)	Ciclo 16 (Nano)	Ciclo 17 (Nano)
1	63	244	0	0	0	0
3	1	0	2	66	107	145
8	342	294	628	0	0	0
12	0	0	0	0	0	1
13	2	56	200	0	121	88
Total de ovos	408	594	830	66	228	264

Percebe-se, na Tabela 3, que, assim como o óleo essencial a nanoemulsão também gerou uma redução significativa na quantidade de ovos, como é possível observar no comparativo do ciclo 1 ao ciclo 3 que foi o ciclo controle do BTI e o ciclo 15 ao ciclo 17

utilizando nanoemulsão. Os três ciclos do BTI somam o total de 1.832 ovos *Aedes aegypti*, enquanto a nanoemulsão somam 558 ovos, apresentou 1274 ovos a menos e o percentual de redução de aproximadamente 69,44%.

### Conclusões

Este estudo apresentou bons resultados quanto à deterrência dos dois métodos de sistema de liberação controlada. De acordo com os resultados obtidos, podemos afirmar que tanto o óleo essencial quanto a nanoemulsão, cumpriram o objetivo deterrente, pois reduziram o número de ovos por ciclo significativamente se comparado as ovitrampas de controle utilizando apenas o bioinseticida *Bacillus thuringiensis israelenses*. O estudo mostrou que o sistema de liberação controlada possui uma forte atividade deterrente de oviposição em campo, o óleo essencial de cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata*) se comparado a nanoemulsão se sobressai, havendo uma diferença de apenas 28 ovos e o percentual de diferença de atividade deterrente de aproximadamente 2,15%. Ao contrário de muitos inseticidas sintéticos, o óleo essencial de cravo-da-índia é um composto natural e biodegradável, o que reduz o impacto ambiental podendo ser uma alternativa natural e promissora para programas de controle da dengue.

### Agradecimentos

Ao IFPE Campus Recife pela concessão da bolsa de extensão - PIBEX, ao Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste (CRCN-NE) e do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE) por autorizar a instalação das ovitrampas e ao Centro de Vigilância Ambiental da Prefeitura do Recife pelo apoio na pesquisa de campo.

### Referências

- BIZZO, Humberto R.; HOVELL, Ana Maria C.; REZENDE, Claudia M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química nova**, v. 32, p. 588-594, 2009.
- BOHNER, Tanny Oliveira Lima; ARAÚJO, Luiz Ernani Bonesso; NISHIJIMA, Toshio. O impacto ambiental do uso de agrotóxicos no meio ambiente e na saúde dos trabalhadores rurais. **Revista eletrônica do curso de direito da UFSM**, v. 8, n. 3, p. 329-341, 2013.
- CANSIAN, R.L ; STAUDT, A ; BERNARDI, J.L ; PUTON, B.M.S ; OLIVEIRA, D ; DE OLIVEIRA, J.V ; GOMES, A.C.C ; ANDRADE, B.C.O.P ; LEAL, I.C.R ; SIMAS, N.K ; ZENI, J ; JUNGUES, A ; DALLAGO, R.M ; BACKES, G.T ; PAROUL, N. Toxicity and larvicidal activity on *Aedes aegypti* of citronella essential oil submitted to enzymatic esterification . **Brazilian journal of biology**, v. 83, 2023.
- CAVALLI, Filipe Steimbach et al. Controlling the Vector *Aedes Aegypti* and Handling Dengue Fever Bearing Patients/Controle do Vetor *Aedes Aegypti* e Manejo dos Pacientes com Dengue. **Revista de Pesquisa Cuidado é Fundamental Online**, Brasília, v. 11, n. 5, p. 1333-1339, 2019.
- FERREIRA, Maira Silva. Caracterização estrutural de sistemas formados por compostos siliconados= mesofases, microemulsões e nano emulsões. 2011. Tese de Doutorado. [sn].
- FIGUEIREDO, AR de; DA SILVA, Leirson Rodrigues; DE MORAIS, Lilia Aparecida Salgado. Bioatividade do óleo essencial de *Eugenia caryophyllus* sobre *Cladosporium herbarum*, agente etiológico da verrugose em maracujá. 2021.
- MCCLEMENTS, David Julian; RAO, Jiajia. Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 51, n. 4, p. 285-330, 2011.
- MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 6, 2009.
- PORTO, Alice Sperandio et al. Nanoemulsões formuladas para uso tópico: estudo de síntese e toxicidade. 2020.



ROSE, R.I. Pesticides and public health: integrated methods of mosquito management. *Emerging Infectious Diseases*, v. 7, p. 17-23, 2001.

SINGH, Jitender; BAGHOTIA, Anupama; GOEL, S. P. *Eugenia caryophyllata* Thunberg (family myrtaceae): a review. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 3, n. 4, p. 1469-1475, 2012.

YANOLA, Jintana et al. Insecticides resistance in the *Culex quinquefasciatus* populations from northern Thailand and possible resistance mechanisms. **Acta Tropica**, v. 149, p. 232-238, 2015.

ZWIEBEL, L. J.; TAKKEN, W. Olfactory regulation of mosquito–host interactions. **Insect biochemistry and molecular biology**, v. 34, n. 7, p. 645-652, 2004.

WHEELWRIGHT, M.; WHITTLE, C. R.; RIABININA, O. Olfactory systems across mosquito species. *Cell and Tissue Research*, v. 383, n. 1, p. 75–90, jan. 2021.

Mosquitoes. *Neuron*, v. 108, n. 6, p. 1163- 1180.e12, 23 dez. 2020.

KLINE, D. L. et al. Olfactometric evaluation of spatial repellents for *Aedes aegypti*.