



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ALLANA HIELLY NEGREIROS LIMA

**NANOEMULSÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Curcuma longa*:
UM PROMISSOR LARVICIDA CONTRA *Aedes aegypti***

Macapá
2025

ALLANA HIELLY NEGREIROS LIMA

**NANOEMULSÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Curcuma longa*:
UM PROMISSOR LARVICIDA CONTRA *Aedes aegypti***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Nonato Picanço Souto

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Alves Soares Cruz

Macapá
2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central/UNIFAP-Macapá-AP
Elaborado por Cristina Fernandes – CRB-2 / 1569

L732n Lima, Allana Hielly Negreiros.

Nanoemulsão do óleo essencial das folhas de *Curcuma longa* um promissor larvicida contra *Aedes aegypti* / Allana Hielly Negreiros Lima. - Macapá, 2025.

1 recurso eletrônico.

94 f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Amapá, Coordenação do Curso Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Macapá, 2025.

Orientador: Raimundo Nonato Picanço Souto.

Coorientador: Rodrigo Alves Soares Cruz.

Modo de acesso: World Wide Web.

Formato de arquivo: Portable Document Format (PDF).

1. Aproveitamento de resíduos. 2. Controle de vetores. 3. Nanotecnologia. I. Souto, Raimundo Nonato Picanço, orientador. II. Universidade Federal do Amapá. III. Título.

CDD 23. ed. – 615.321

LIMA, Allana Hielly Negreiros. **Nanoemulsão do óleo essencial das folhas de *Curcuma longa* um promissor larvicida contra *Aedes aegypti*.** Orientador: Raimundo Nonato Picanço Souto. Coorientador: Rodrigo Alves Soares Cruz. 2025. 94 f. Dissertação (Mestrado) - Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2025.

ALLANA HIELLY NEGREIROS LIMA

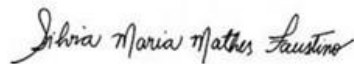
**NANOEMULSÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Curcuma longa*:
UM PROMISSOR LARVICIDA CONTRA *Aedes aegypti***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Data de Aprovação: 27 / 05 / 2025



Raimundo Nonato P. Souto - Orientador e presidente da banca



Silvia Maria Mathes Faustino - Universidade Federal do Amapá



Donald Manigat - Universidade Federal do Amapá

Aos que me deram a vida, meu amor e minha eterna gratidão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por estar comigo em todos os momentos, fortalecendo-me nas dificuldades e iluminando meu caminho com fé e esperança.

À minha família, meu maior propósito e fonte de inspiração, expresso minha profunda gratidão. Em especial à minha mãe, pelo amor, apoio e dedicação incansáveis — sem você, este sonho não seria possível.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Raimundo Nonato, sou imensamente grata pela oportunidade de orientação, pelos valiosos ensinamentos, pelas críticas construtivas e, principalmente, pela paciência e dedicação ao longo desta caminhada. Agradeço também por ter colocado em meu caminho o meu coorientador, Prof. Dr. Rodrigo Cruz, cuja presença foi determinante no momento mais desafiador deste trabalho. Seu amparo e orientação sensível e assertiva foram fundamentais para que eu pudesse concluir este percurso. Minha eterna gratidão a esses dois brilhantes pesquisadores, que generosamente compartilharam seus vastos conhecimentos e foram verdadeiros pilares nesta trajetória.

Aos colegas do programa de pós-graduação, obrigada pela parceria e leveza durante o percurso, em especial, ao grande amigo Breno Aguillar, um dos meus maiores incentivadores ao longo dessa jornada, cuja amizade e apoio constante fizeram toda a diferença.

À equipe do Laboratório de Pesquisa em Fármacos, agradeço pelos ensinamentos técnicos, pela convivência diária e pela oportunidade de participar do Projeto Vira-Lata, um marco desta trajetória.

À técnica Karen, do ArtroLab, e ao pós-doutorando Donald, agradeço pelo suporte nos testes e pelas valiosas contribuições. Às alunas de IC Luane Gabriele, Laysa Barbosa e Camyle, obrigada pela dedicação nos experimentos — vocês têm um futuro brilhante pela frente.

Aos amigos Márcio Pacheco e Tércio Lacerda, minha gratidão por participarem voluntariamente do exigente teste de repelência, mesmo não tendo integrado a versão final.

Aos amigos e pesquisadores Taires Peniche, Keison Cavalcante e Arlindo Matias, agradeço pelos conselhos generosos e por serem fontes constantes de inspiração.

Ao Laboratório de Algas, pela contribuição com esta pesquisa; ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), pelo suporte institucional; e à CAPES, pelo incentivo financeiro fundamental à realização deste trabalho.

***“Esforça-te e sê valente! Não temas nem desanimes, porque o Senhor teu Deus estará contigo onde quer que vás.”
Josué 1:9***

A aplicação de nanoemulsões contendo óleos essenciais e seus compostos bioativos têm se consolidado como uma estratégia eficiente no controle do *Aedes aegypti*, vetor de importantes arboviroses. Dentre as espécies vegetais com potencial inseticida, destaca-se a *Curcuma longa* L., tradicionalmente valorizada pelo uso terapêutico de seu rizoma e amplamente empregada nas indústrias alimentícia, cosmética e medicinal. No entanto, suas folhas, frequentemente descartadas como resíduos agrícolas, também representam uma fonte promissora de óleo essencial, rico em monoterpenoides com propriedades biológicas ainda pouco exploradas. Este estudo tem como objetivo avaliar o potencial larvicida das nanoemulsões contendo o óleo essencial das folhas de *C. longa* e de seus dois principais compostos majoritários contra *Ae. aegypti*. O óleo essencial das folhas frescas de *C. longa*, obtido por hidrodestilação e analisado por CG-MS e CG-DIC, apresentou como compostos majoritários terpinoleno (25,2%), *p*-cimeno (19,7%), α -felandreno (15,0%) e 1,8-cineol (11,4%). Nanoemulsões formuladas com o óleo essencial (EHL 16,7) e seus principais constituintes, terpinoleno (EHL 15) e *p*-cimeno (EHL 15), apresentaram tamanhos médios de gotículas entre 165,4 e 253,7 nm, baixos valores de índice de polidispersidade ($<0,355$), mantendo estabilidade físico-química por até sete dias. Nos bioensaios larvicidas contra *Ae. aegypti*, a nanoemulsão de *C. longa* exibiu CL_{50} de 7,085 ppm e CL_{90} de 10,321 ppm; o *p*-cimeno, CL_{50} de 8,329 ppm e CL_{90} de 12,199 ppm; e o terpinoleno, CL_{50} de 7,736 ppm e CL_{90} de 10,585 ppm, demonstrando eficácia significativa após 24 horas. Alterações morfológicas como torção corporal, destruição das papilas anais, danos cuticulares e deformações no tubo digestivo foram observadas nas larvas tratadas com a nanoemulsão de *C. longa*, ausentes no grupo controle. O óleo essencial também inibiu a acetilcolinesterase com IC_{50} de 300,1 $\mu\text{g/mL}$, indicando possível envolvimento desse mecanismo na atividade larvicida. Em testes de ecotoxicidade com microalgas, a nanoemulsão de *C. longa* apresentou toxicidade inicial com posterior recuperação; o *p*-cimeno foi atóxico, enquanto o terpinoleno mostrou alta toxicidade. Os efeitos antagônicos entre os compostos podem explicar o perfil ecotoxicológico intermediário do óleo essencial. Este estudo propõe o aproveitamento inovador do óleo essencial das folhas de *C. longa* como recurso promissor para o desenvolvimento de nanobiopesticidas vegetais, integrando o reaproveitamento de subprodutos vegetais com foco na sustentabilidade ambiental e no aprimoramento de estratégias para o controle de vetores.

Palavras-chave: Aproveitamento de resíduos; Larvicida botânico; Nanotecnologia; Controle de vetores.

ABSTRACT

The application of nanoemulsions containing essential oils and their bioactive compounds has emerged as an effective strategy for the control of *Aedes aegypti*, a vector of major arboviruses. Among the plant species with insecticidal potential, *Curcuma longa* L. stands out, traditionally valued for the therapeutic use of its rhizome and widely employed in the food, cosmetic, and pharmaceutical industries. However, its leaves, often discarded as agricultural waste, also represent a promising source of essential oil, rich in monoterpenoids with biological properties that remain underexplored. This study aimed to evaluate the larvicidal potential of nanoemulsions containing the essential oil from *C. longa* leaves and its two major constituents against *Ae. aegypti*. The essential oil from fresh leaves of *C. longa* was obtained by hydrodistillation and analyzed by GC-MS and GC-FID, identifying terpinolene (25.2%), *p*-cymene (19.7%), α -felandrene (15.0%), and 1,8-cineole (11.4%) as the main components. Nanoemulsions formulated with the essential oil (HLB 16,7) and its major constituents, terpinolene (HLB 15) and *p*-cymene (HLB 15), showed average droplet sizes ranging from 165.4 to 253.7 nm, low polydispersity indices (<0.355), and maintained physicochemical stability for up to seven days. In larvicidal bioassays against *Ae. aegypti*, the *C. longa* nanoemulsion exhibited LC_{50} of 7.085 ppm and LC_{90} of 10.321 ppm; *p*-cymene had LC_{50} of 8.329 ppm and LC_{90} of 12.199 ppm; and terpinolene showed LC_{50} of 7.736 ppm and LC_{90} of 10.585 ppm, demonstrating significant efficacy after 24 hours. Morphological changes such as body twisting, destruction of anal papillae, cuticular damage, and digestive tract deformation were observed in larvae treated with the *C. longa* nanoemulsion and were absent in the control group. The essential oil also inhibited acetylcholinesterase activity with an IC_{50} of 300.1 $\mu\text{g/mL}$, suggesting a possible mechanism involved in the larvicidal effect. In ecotoxicity tests with microalgae, the *C. longa* nanoemulsion showed initial toxicity followed by recovery; *p*-cymene was non-toxic, while terpinolene was highly toxic. Antagonistic effects among the compounds may explain the intermediate ecotoxicological profile of the essential oil. This study proposes the innovative use of essential oil from *C. longa* leaves as a promising resource for the development of plant-based nanobiopesticides, integrating the reuse of plant by-products with a focus on environmental sustainability and the improvement of vector control strategies.

Keywords: Waste valorization; Botanical larvicide; Nanotechnology; Vector control.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Número de casos prováveis de dengue por semana epidemiológica no Brasil entre 2023 e 2024.....	21
Figura 2 -	Ciclo de vida do <i>Ae. aegypti</i>	22
Figura 3 -	Planta <i>C. longa</i>	32
Figura 4 -	Estrutura química do <i>p</i> -cimeno.....	35
Figura 5 -	Estrutura química do terpinoleno.....	36
Figura 6 -	Tamanho médio das gotículas das nanoemulsões das folhas de <i>C. longa</i> e de seus compostos majoritários.....	51
Figura 7 -	Índice de polidispersão das nanoemulsões das folhas de <i>C. longa</i> e de seus compostos majoritários.....	51
Figura 8 -	Microscopia eletrônica de varredura de larvas de <i>Ae. aegypti</i>	61
Figura 9 -	Microscopia óptica de larvas de <i>Ae. aegypti</i>	62
Figura 10 -	Larvas tratadas com nanoemulsão das folhas de <i>C. longa</i>	63
Figura 11 -	Inibição enzimática da acetilcolinesterase pelo óleo essencial das folhas de <i>C. longa</i>	65
Figura 12 -	Variação da densidade celular de <i>Chlorella vulgaris</i> submetidas a nanoemulsões do óleo essencial das folhas de <i>C. longa</i> e de seus compostos majoritários ao longo do tempo.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das nanoemulsões.....	43
Tabela 2 - Composição química do óleo essencial das folhas de <i>C. longa</i>	49
Tabela 3 - Percentual de mortalidade (média $\pm$ desvio padrão) larval de <i>Ae. aegypti</i> após o tratamento com diferentes concentrações das nanoemulsões das folhas de <i>C. longa</i> nos períodos de 24 e 48 horas.....	55
Tabela 4 - Percentual de mortalidade (média $\pm$ desvio padrão) larval de <i>Ae. aegypti</i> após o tratamento com diferentes concentrações das nanoemulsões do <i>p</i> -cimenos nos períodos de 24 e 48 horas.....	56
Tabela 5 - Percentual de mortalidade (média $\pm$ desvio padrão) larval de <i>Ae. aegypti</i> após o tratamento com diferentes concentrações das nanoemulsões do terpinoleno nos períodos de 24 e 48 horas.....	57
Tabela 6 - Estimativas das concentrações letais (CL ₅₀ e CL ₉₀) das nanoemulsões de <i>C. longa</i> , <i>p</i> -cimenos e terpinoleno após 24 horas de exposição.....	58
Tabela 7 - Resultados do ensaio anticolinesterásico do óleo essencial das folhas de <i>C. longa</i>	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AB	Abdômen
ACh	Acetilcolina
AChE.	Acetilcolinesterase
AP	Papilas anais
ATCI	iodeto de acetiltiocolina
Bti	<i>Bacillus thuringiensis israelenses</i>
CL ₅₀	Concentração letal média
CL ₉₀	Concentração letal de 90%
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
COE	Centro de Operações de Emergências
DDT	Dicloro-difenil-tricloroetano
DIC	Detector de ionização de chama
DTNB	Ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzóico)
EDL	Espalhamento dinâmico de luz
EHL	Equilíbrio hidrofílico-lipofílico
ESTs	Carboxilesterases
GSTs	Glutathione S-transferases
H	Cabeça
IR	Índice de retenção
IEPA	Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá
IPD	Índice de polidispersão
IGRs	Inibidores de crescimento de insetos
LTPN	Laboratório de Tecnologia de Produtos Naturais
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NPK	Nitrogênio/fósforo/potássio
OMS	Organização Mundial da Saúde
p/p	Peso por peso
ppm	Parte por milhão
S	Sifão

SE	Semanas Epidemiológicas
SP	São Paulo
TH	Tórax
TNB	Tionitrobenzóico
TR	Tempo de retenção
v/p	Volume por peso
v/v	Volume por volume
UNIFAP	Universidade Federal do Amapá
UFF	Universidade Federal Fluminense

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Grau Celsius
μm	Micrômetro
eV	Elétron-volt
L	Litro
M	Molar
m ²	Metro quadrado
mm	Milímetro
Mm	Milimolar
mW	Miliwatt
nm	Nanômetro
rpm	Rotações por minuto

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	18
2.1	OBJETIVO GERAL	18
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3	REFERENCIAL TEÓRICO	19
3.1	ARBOVIROSES E SEUS IMPACTOS.....	19
3.1.1	Panorama epidemiológico da dengue.....	19
3.2	<i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> Linnaeus: ASPECTOS GERAIS SOBRE O VETOR.....	21
3.3	ESTRATÉGIAS PARA CONTROLE DE ARBOVIROSES.....	23
3.3.1	Agentes larvicidas.....	24
3.3.1.1	Agentes larvicidas de origem vegetal.....	26
3.3.1.1.2	<i>Aproveitamento de resíduos agroindustriais como alternativa para produção de inseticidas botânicos.....</i>	27
3.4	FAMÍLIA ZINGIBERACEAE.....	30
3.4.1	Gênero <i>Curcuma</i>	30
3.4.1.1	<i>Curcuma longa</i> L.....	31
3.4.1.1.1	<i>Aspectos botânicos.....</i>	32
3.4.1.1.2	<i>Atividade biológica e potencial terapêutico.....</i>	32
3.4.1.1.3	<i>Composição fitoquímica.....</i>	33
3.4.1.1.3.1	<i>p-cimeno.....</i>	34
3.4.1.1.3.2	<i>Terpinoleno.....</i>	35
3.5	NANOEMULSÕES A PARTIR DE ÓLEOS ESSENCIAIS.....	36
3.6	DESENVOLVIMENTO NANOTECNOLÓGICO DE AGENTES LARVICIDAS.....	39
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	41
4.1	MATERIAL VEGETAL.....	41
4.2	PRODUTOS QUÍMICOS.....	41

4.3	EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL.....	41
4.4	DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL.....	42
4.5	PREPARAÇÃO DAS NANOEMULSÕES.....	42
4.6	ANÁLISE DA ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DAS NANOEMULSÕES.....	43
4.7	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA.....	43
4.7.1	Obtenção das larvas de <i>Aedes aegypti</i>	43
4.7.2	Bioensaio de atividade larvicida	43
4.8	ANÁLISE MORFOLÓGICA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) E POR MICROSCOPIA OPTICA.....	45
4.9	ENSAIO ANTICOLINESTERÁSICO.....	45
4.10	ENSAIO TOXICOLÓGICO AMBIENTAL	46
4.11	ANÁLISE ESTATÍSTICA	47
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
5.1	ANÁLISE DE RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA.....	48
5.2	NANOEMULSÕES.....	50
5.3	ATIVIDADE LARVICIDA DAS NANOEMULSÕES.....	54
5.4	ANÁLISE MORFOLÓGICA DAS LARVAS.....	60
5.5	INIBIÇÃO DA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE.....	65
5.6	ANÁLISE DE TOXICIDADE AMBIENTAL COM <i>Chlorella</i> <i>vulgaris</i>	68
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	71
	REFERÊNCIAS.....	73

1 INTRODUÇÃO

O mosquito *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus, 1762) representa um dos maiores desafios para a saúde pública no Brasil e no mundo devido à sua alta eficiência como vetor de arboviroses como dengue, febre amarela urbana, chikungunya e zika. Essas doenças apresentam um amplo espectro clínico, desde manifestações leves a formas graves com risco de óbito. Apesar dos esforços destinados ao controle dessas epidemias, o número expressivo de casos evidencia falhas nas estratégias atualmente empregadas. O manejo desse vetor torna-se cada vez mais complexo, em razão da rápida proliferação da espécie, das condições climáticas favoráveis, do desenvolvimento de resistência a inseticidas sintéticos, além dos efeitos adversos desses compostos sobre o ecossistema.

Os inseticidas botânicos emergem como uma alternativa promissora de controle vetorial, aliando eficácia biológica a um menor impacto ambiental. A partir de fontes vegetais, são produzidos compostos bioativos denominados metabólitos secundários, que desempenham funções ecológicas essenciais, incluindo a defesa contra predadores. Dentre esses, destacam-se os terpenoides, reconhecidos por sua atividade inseticida e por conferirem proteção contra vetores de importância médica, como o *Ae. aegypti*. Esses compostos estão presentes em alguns óleos essenciais, extraídos de diversas partes das plantas. A investigação desses compostos naturais tem sido fortemente incentivada como estratégia para superar as limitações associadas aos inseticidas sintéticos, como resistência e toxicidade ambiental. O desenvolvimento de formulações à base de substâncias extraídas de plantas apresenta potencial para inovações no manejo populacional de vetores, oferecendo novas perspectivas para integração em programas de vigilância entomológica e eventual exploração comercial.

A biodiversidade vegetal abriga uma grande variedade de plantas ainda pouco exploradas, cujos metabólitos secundários apresentam potencial inseticida. *Curcuma longa* L., popularmente conhecida como açafrão-da-terra ou cúrcuma, é extensivamente estudada em função dos curcuminoides presentes em seus rizomas, responsáveis por sua coloração característica e diversas propriedades farmacológicas. O principal uso dos rizomas, no entanto, é como especiaria na culinária, sendo amplamente utilizados como tempero em diversas culturas gastronômicas. Embora menos exploradas, as folhas de *C. longa* também produzem

um óleo essencial rico em compostos bioativos, principalmente monoterpenos e sesquiterpenos. Essas substâncias têm demonstrado atividades biológicas relevantes, incluindo ação larvívica, mostrando-se uma estratégia viável para o controle de vetores de arbovíroses.

A aplicabilidade dos óleos essenciais como larvívicos para controle de mosquitos é comumente restrita por sua baixa solubilidade em água, o que representa um desafio substancial para sua utilização em larga escala em ambientes aquáticos, habitat natural das larvas de mosquitos. Essa restrição compromete a eficácia dos óleos essenciais em formulações aquosas, dificultando a sua dispersão homogênea e reduzindo sua disponibilidade no meio, o que impacta diretamente o desempenho dos produtos. Frente a essa problemática, a nanotecnologia surge como uma ferramenta inovadora, permitindo a criação de sistemas de liberação controlada e aumento da disponibilidade de compostos hidrofóbicos em meios aquosos. As nanoemulsões, em particular, têm sido intensamente analisadas para a formulação de pesticidas vegetais, em razão da sua propriedade de encapsular ingredientes ativos, proporcionando maior estabilidade, eficácia na aplicação, redução na quantidade de produto a ser utilizado e ampliação nas alternativas de manufatura de produtos funcionais. Além disso, a produção de nanoemulsões a partir de resíduos agroindustriais oferece uma solução sustentável e economicamente acessível, alinhada às demandas por tecnologias verdes.

A utilização do óleo essencial das folhas de *C. longa*, um resíduo frequentemente descartado na agroindústria, para o desenvolvimento de um larvívico nanoformulado, representa um avanço significativo tanto para o controle de vetores quanto para a valorização de subprodutos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial larvicida das nanoemulsões contendo o óleo essencial das folhas de *C. longa* e seus compostos majoritários contra *Ae. Aegypti*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estimar das concentrações letais, CL₅₀ e CL₉₀, das nanoemulsões do óleo essencial das folhas de *C. longa* e de seus compostos majoritários contra as larvas de *Ae. aegypti*;
- Avaliar as alterações morfológicas causadas nas larvas de *Ae. aegypti* após o tratamento com a nanoemulsão do óleo essencial das folhas de *C. longa*;
- Determinar a ação inibitória do óleo essencial das folhas de *C. longa* frente a enzima acetilcolinesterase;
- Analisar a ecotoxicidade das nanoemulsões do óleo essencial das folhas de *C. longa* e de seus compostos majoritários contra microalga bioindicadora *Chlorella vulgaris*.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 ARBOVIROSES E SEUS IMPACTOS

Arboviroses são doenças virais transmitidas por artrópodes hematófagos, como mosquitos e carrapatos. Os mosquitos, particularmente dos gêneros *Aedes* e *Culex*, são os vetores mais relevantes, exercendo um impacto significativo na saúde pública. Entre as arboviroses mais importantes, destacam-se o zika, chikungunya, febre amarela urbana e, sobretudo, a dengue, cujas infecções podem variar de assintomáticas a fatais (HUANG et al., 2020a; PAHO, 2023). A disseminação dessas doenças é influenciada por fatores sociais, demográficos e ambientais, que moldam os padrões de transmissão dos patógenos, sendo a dengue a arbovirose urbana de maior proeminência (TAJUDEEN, 2021; BRASIL, 2022).

3.1.1 Panorama epidemiológico da dengue

A dengue é reconhecida como a infecção viral transmitida por mosquitos de maior relevância em termos globais, estimando-se que 50-100 milhões de infecções ocorram anualmente e cerca de 2,5 bilhões de indivíduos residam em áreas endêmicas. Esse cenário afeta mais de 100 países em diferentes regiões e aproximadamente 80% da população mundial está em risco de ser exposta a alguma doença transmitida por vetores (KWEKA et al., 2019). Doenças como a dengue representam aproximadamente 17% da carga global de doenças infecciosas e são responsáveis por mais de 700.000 óbitos por ano, impactando desigualmente as classes mais pobres e restringindo o desenvolvimento econômico de países em razão dos altos custos médicos (KWEKA et al., 2019).

Apesar dos esforços para o controle da doença, a dengue continua representando um desafio significativo para a saúde pública global, com um aumento substancial nos casos relatados ao longo das últimas duas décadas. Durante o período entre 2000 e 2019, o número de casos notificados aumentou consideravelmente, passando de 0,5 milhão para 5,2 milhões. Depois de um breve recuo durante a pandemia de COVID-19 (2020-2022), em 2023 houve um aumento da incidência, com numerosos surtos ocorrendo simultaneamente e afetando regiões

previamente não afetadas, acarretando uma elevação histórica no número de casos notificados, com mais de 5 milhões de casos e 5 mil óbitos associados à dengue registrados em vários países (WHO, 2023).

Até abril de 2024, os casos de dengue alcançaram a marca de mais de 7,6 milhões, sendo 3,4 milhões confirmados, mais de 16.000 graves e mais de 3.000 óbitos. Em nível mundial, o crescimento no número de casos foi considerável; entretanto, o aumento foi especialmente acentuado na região das Américas, contabilizando mais de 7 milhões de notificações apenas nos quatro primeiros meses do ano, ultrapassando o valor anual de 4,6 milhões de 2023. Apesar da expressiva quantidade de casos notificados, a precariedade dos sistemas de detecção e notificação nos países endêmicos conduz à subestimação da real magnitude da dengue, uma vez que inúmeros casos permanecem não registrados (WHO, 2024a).

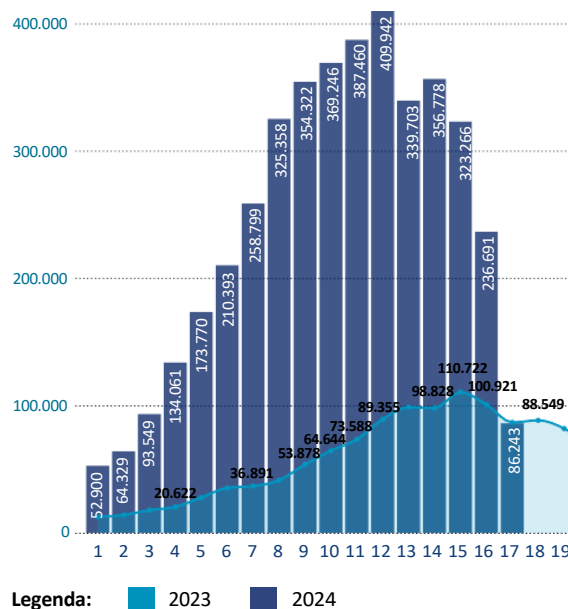
A recente epidemia de dengue relaciona-se com o aumento da densidade do vetor, impulsionada por fatores que incluem: mudanças na distribuição dos vetores em regiões previamente não afetadas; o início antecipado e o prolongamento das temporadas de transmissão da dengue em regiões endêmicas; fenômenos climáticos, responsáveis por aumentar as temperaturas, a pluviosidade e a umidade, colaborando para a alta reprodução do vetor; e sistemas de saúde frágeis, além de instabilidades políticas em países impactados que tornam a resposta à epidemia mais desafiadora (WHO, 2024a).

A maioria dos casos ocorre na Américas, onde a dengue é endêmica e os surtos são recorrentes. A cocirculação dos quatro sorotipos do vírus da dengue (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4) na região aumenta ainda mais a complexidade do controle da doença e destaca a necessidade urgente de medidas de prevenção e controle eficazes (WHO, 2023). Nessa região, o número de casos de dengue notificados nos seis primeiros meses de 2024 é superior à totalidade de casos de dengue notificados durante os 12 meses de todos os anos anteriores (OPAS/OMS, 2024a).

No Brasil, os números de casos de dengue revelam uma situação alarmante. O Centro de Operações de Emergências (COE), colegiado estratégico do Ministério da Saúde responsável por coordenar ações integradas de resposta e prevenção contra as arboviroses, divulgou, por meio do Informe Semanal edição nº 12, que entre janeiro e abril de 2024 foram registrados cerca de 4,2 milhões de casos prováveis de dengue, além de 44.754 casos de dengue grave ou com sinais de alarme. No mesmo período, o número de óbitos confirmados chegou a 2.073, enquanto outros 2.291 seguem em investigação (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2024).

Na Figura 1, pode-se visualizar um paralelo entre os casos prováveis de dengue de 2023 (representados pela curva) e de 2024 (representados pelas colunas) ao decorrer das Semanas Epidemiológicas (SE). Percebe-se um aumento progressivo dos casos em 2024 ao longo das semanas, com um declínio na SE 17, explicada pelo tempo necessário para o registro das informações pelos estados e municípios. A SE 12 de 2024 registrou o maior número de casos do ano, um valor que superou o pico máximo de 2023, observado na SE 15 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2024).

Figura 1 - Número de casos prováveis de dengue por semana epidemiológica no Brasil entre 2023 e 2024



Fonte: MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2024.

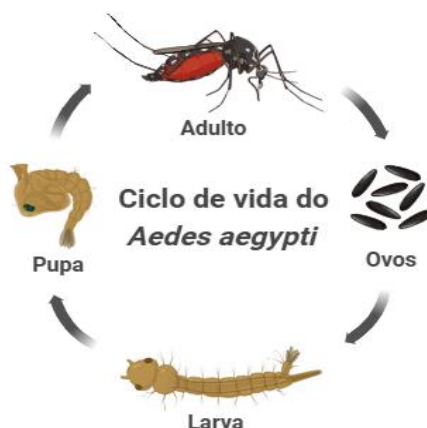
3.2 *Aedes (Stegomyia) aegypti* Linnaeus: ASPECTOS GERAIS SOBRE O VETOR

O *Aedes aegypti* L., comumente conhecido como mosquito da dengue, é o principal vetor de arboviroses urbanas, englobando as quatro de maior prevalência: a febre amarela, chikungunya, zika e a dengue (SOUZA-NETO; POWELL; BONIZZONI, 2019). Originário do Egito, o *Ae. aegypti* foi disseminado para outras partes do globo durante as Grandes Navegações, no século XVI, e foi introduzido no Brasil através do tráfico de escravos no período colonial (IOC, 2022).

Este mosquito pertence à ordem Diptera, família Culicidae e gênero *Aedes* (COATSWORTH et al., 2018). Sua distribuição é cosmopolita, predominando em regiões tropicais e subtropicais, e apresenta diversas características que o tornam um vetor extremamente eficaz de arbovírus. Dentre elas, destacam-se sua adaptação a ambientes urbanos e seu comportamento antropofílico, com alimentação preferencialmente humana. Esse hábito, combinado à capacidade de realizar várias refeições em um único ciclo gonotrófico, potencializa sua eficiência na transmissão de patógenos. Além de usar o sangue para produzir ovos, o mosquito também o utiliza como fonte de energia, preferindo-o ao açúcar. Seus ovos são altamente resistentes à dessecação, podendo sobreviver por meses sem água (KWEKA et al., 2019).

O ciclo de vida do *Ae. aegypti* inicia-se com a oviposição das fêmeas, que depositam ovos em tanques de armazenamento de água ou recipientes temporários, como latas, pneus e vasos de plantas (DAVID et al., 2023). Esses ovos, pretos e alongados, eclodem em larvas que passam pelos estágios L1, L2, L3 e L4. As larvas apresentam cabeça, tórax e abdômen segmentados, com um sifão respiratório. Após a fase larval, elas se transformam em pupas, que não se alimentam, e eventualmente emergem como mosquitos adultos (Figura 2). Os adultos são identificáveis por seu corpo escuro com faixas brancas nos tarsos e um padrão em forma de lira no mesonoto, sendo os machos distinguíveis pelas antenas plumosas e palpos mais longos (FO 2019).

Figura 2 - Ciclo de vida do *Ae. aegypti*



Fonte: Adaptado de IOC/FIOCRUZ, 2019.

A transmissão das arboviroses ocorre quando a fêmea do *Ae. aegypti* se alimenta do sangue de um indivíduo infectado em estado de viremia. O artrópode adquire o vírus e o

transmite para outros humanos através da sua saliva durante uma nova picada. Além disso, o vírus pode ser transmitido entre mosquitos ao se alimentarem de hospedeiros infectados, possibilitando a disseminação do vírus entre eles e, eventualmente, para novos humanos. Também pode ocorrer transmissão transovariana e venérea (KWEKA et al., 2019). Os sintomas predominantes das doenças arbovirais transmitidas pelo *Ae. aegypti* são febre alta, cefaléia frontal, fadiga, dor retroorbital, artralgia, erupção cutânea e trombocitopenia. Em quadros mais graves, a dengue causa elevação da permeabilidade vascular, gerando eventos hemorrágicos e plaquetopenia, com risco de evolução para hipotensão e choque. A chikungunya e o zika vírus são apontados como agentes neuroinvasivos, e este último ainda está associado com má formação neonatal e microcefalia fetal (DHINAKARAN; MATHEW; MUNUSAMY, 2019).

3.3 ESTRATÉGIAS PARA CONTROLE DE ARBOVIROSES

Até o momento, não há medicamentos específicos para o tratamento das doenças transmitidas pelo *Ae. aegypti*. O manejo dessas arboviroses é predominantemente sintomático, com tratamento de suporte voltado para observação rigorosa dos sinais de alerta e reposição de fluidos em casos graves (MARTINS; PRATA-BARBOSA; CUNHA, 2020; NAMIRIMU; KIM, 2024). Em 2024, a vacina contra a dengue foi incorporada ao Programa Nacional de Imunização no Brasil, direcionando os primeiros esforços para regiões com maior incidência da doença e faixas etárias de maior risco de agravamento (BRASIL, 2024a). Apesar desse progresso, a prevenção e o controle dos mosquitos transmissores, além das intervenções baseadas na comunidade, permanecem sendo medidas prioritárias, dada a limitação das opções terapêuticas (NAMIRIMU; KIM, 2024).

As estratégias estabelecidas visando o controle de vetores são os principais métodos para combater as doenças transmitidas por mosquitos, com o objetivo de reduzir ou eliminar o contato homem-vetor e, assim, impedir a transmissão de patógenos (WILSON et al., 2020). Existem diversas abordagens para o controle do *Ae. aegypti* que podem ser aplicadas, englobando os métodos de controle químico, biológico, genético, mecânico e de captura (MCGREGOR; CONNELLY, 2021).

Com o advento dos inseticidas sintéticos em 1940, que substituíram as práticas anteriores fundamentadas em gestão ambiental e remoção de criadouros, os programas de controle vetorial passaram a empregar pesticidas químicos. Historicamente, quatro classes de

inseticidas sintéticos foram utilizadas na saúde pública: organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretroides. Essas classes são aplicadas para controlar tanto os estágios adultos dos mosquitos, por meio da pulverização, quanto os estágios imaturos, com agentes larvicidas (COSTA, 1987; YADAV; DEVI, 2017; WILSON et al., 2020).

Devido aos impactos ambientais e ao crescente problema de resistência causados pelos inseticidas sintéticos, novos agentes de controle foram introduzidos, como os inseticidas inibidores de crescimento de insetos (IGRs) e os inseticidas bacterianos, que são específicos para a fase larval. Assim, pesquisas estão continuamente sendo realizadas para aprimorar e desenvolver alternativas mais eficazes e ambientalmente seguras (VALLE; BELINATO; MARTINS, 2015; PILAQUINGA et al., 2019; MCGREGOR; CONNELLY, 2021).

3.3.1 Agentes larvicidas

Larvicidas são inseticidas utilizados para controlar larvas de insetos, especialmente vetores de doenças, como os mosquitos. Esses produtos incluem tanto substâncias químicas, quanto agentes de controle biológico, e têm a capacidade de interromper o desenvolvimento das larvas, impedindo sua transformação em adultos potencialmente transmissores de arboviroses (MEIER; ROUHIER; HILLYER, 2022).

O controle do *Ae. aegypti* é mais eficaz quando realizado na fase larval devido a um conjunto de características biológicas e comportamentais que tornam o inseto mais vulnerável nesse período, como alimentação e crescimento. Os principais fatores para essa maior suscetibilidade das larvas são: alimentação não seletiva de matéria orgânica em suspensão aderida às paredes ou sedimentos no fundo dos reservatórios, facilitando a ingestão de inseticidas; respiração do ar atmosférico na superfície através do sifão, expondo-se aos agentes de controle; e por fim, a movimentação restrita ao local de oviposição, reduzindo a capacidade de migração (OLIVEIRA, 2015; CARVALHO; MOREIRA, 2017).

O controle vetorial de mosquitos na fase larval teve início com a eliminação de criadouros e avançou no século XX, com a invenção de inseticidas sintéticos, como o dicloro-difenil-tricloroetano (DDT), que resultaram em uma redução significativa nas populações de mosquitos e na incidência de doenças. Nas últimas décadas, o uso de inseticidas como organofosforados e piretroides tornou-se predominante nos programas de saúde pública. No Brasil, o organofosforado Temefós foi amplamente empregado de 2003 a 2014; no entanto, o

surgimento de resistência entre os mosquitos reduziu a eficácia desses produtos, e os impactos ambientais associados a eles provocaram preocupações (VALLE; BELINATO; MARTINS, 2015).

Embora os inseticidas sintéticos sejam eficazes para uma redução rápida na densidade de mosquitos, o uso extensivo acarreta uma série de desvantagens. Esses produtos provocam impactos ambientais significativos, como contaminação do solo, do ar, da água; bioacumulação em níveis tróficos e toxicidade a espécies não-alvo terrestres e marinhas; afeta bactérias essenciais para fixação de nitrogênio; além da saúde humana está diretamente comprometida pelo consumo de alimentos contaminados por inseticidas (YADAV; DEVI, 2017; KAUR et al., 2024). Outra problemática determinante é o surgimento e propagação global de mosquitos resistentes, resultado da vasta e contínua aplicação de inseticidas químicos (MOYES et al., 2017).

Os mecanismos de resistência dos insetos podem se manifestar por modificações no local-alvo, como as mutações *kdr* e na acetilcolinesterase, e pelo aumento da desintoxicação metabólica, devido à superexpressão de monooxigenases do citocromo P450, glutathione S-transferases (GSTs) e carboxilesterases (ESTs) (KWEKA et al., 2019). A resistência dificulta o manejo das populações com os inseticidas atuais e pode potencialmente agravar o impacto das doenças transmitidas por esses vetores em escala mundial, situação na qual exige novas abordagens para garantir a eficácia dos programas de controle (DUARTE et al., 2024a).

Além dos tradicionais larvicidas sintéticos, produtos de outras classes como espinosina, biolarvicidas e IGRs, como inibidores da síntese de quitina e análogos de hormônio juvenil, também são utilizados contra as larvas de *Ae. aegypti*. Atualmente, recomenda-se larvicidas biológicos à base de *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) e de espinosinas para controle de *Ae. aegypti*. Essas alternativas atendem às diretrizes de manejo para evitar o desenvolvimento de resistência a inseticidas (ARAÚJO et al., 2019; BRASIL, 2024b).

Os IGRs, apesar de sua eficácia no controle de larvas, podem afetar outros insetos com fisiologia similar (VALLE; MARTINS, 2015). Similarmente, os inseticidas à base de Bti, embora considerados padrão ouro, enfrentam o risco potencial de resistência, que, ainda pouco frequente, pode comprometer sua eficácia futura (GRIFFITTS; AROIAN, 2005; PAUL et al., 2005). A resistência a espinosinas, por sua vez, é mais documentada e representa um desafio adicional para seu uso contínuo (GENG; WATSON; SPARKS, 2013).

De maneira geral, as abordagens atuais para o controle de larvas estão sujeitas ao desenvolvimento de resistência, eficácia larvicida limitada e impactos indesejados em organismos não-alvo (MEIER; ROUHIER; HILLYER, 2022). Essas limitações evidenciam a necessidade urgente de alternativas eficazes e sustentáveis, fazendo dos larvicidas naturais uma solução inovadora e promissora para diversificar e aprimorar o arsenal de controle de vetores disponíveis (WUILLDA; MARTINS; COSTA, 2019).

3.3.1.1 Agentes larvicidas de origem vegetal

Há uma crescente valorização dos larvicidas de origem vegetal por possibilitarem uma perspectiva mais ecológica no controle de vetores, oferecendo uma alternativa aos inseticidas convencionais por explorar a rica biodiversidade botânica para identificar compostos naturais com atividade inseticida (GHOSH; CHOWDHURY; CHANDRA, 2012). Esse vasto potencial biológico advém dos metabólitos secundários, compostos bioativos sintetizados pelas plantas para proporcionar benefícios adaptativos que favorecem a sobrevivência e a propagação da espécie, como a proteção contra predadores (SIMÕES et al., 2007). Assim, estudos evidenciam que extratos vegetais e óleos essenciais demonstram ser uma fonte promissora para o manejo de mosquitos, devido à elevada presença de metabólitos com eficácia inseticida (GUPTA; GUPTA, 2022).

Dentre as vertentes exploradas no uso de compostos naturais, os óleos essenciais se sobressaem por suas propriedades e características (PAVELA; BENELLI, 2016). Essas substâncias são voláteis, lipofílicos e aromáticos, obtidos de diversas partes das plantas, como folhas, raízes, sementes e flores (HEINZMANN; SPITZER; SIMÕES, 2017). A complexidade química dos óleos essenciais é consequência da variedade de metabólitos secundários presentes, podendo apresentar de 20 a 60 substâncias ativas, com dois ou três componentes majoritários em elevadas concentrações (20-80%) e outros presentes em quantidades mínimas (BAKKALI et al., 2008).

Os terpenoides constituem o maior grupo de metabólitos secundários de plantas, com rico potencial biológico e terapêutico, reconhecido por apresentar ação antimicrobiana, antifúngica, antioxidante, anti-inflamatória, inseticida, entre outras (SIMÕES; SPITZER, 2007; NORIEGA, 2020). Dentre os terpenos, os monoterpenos são os principais responsáveis pelas atividades larvicidas e repelentes. Devido a essa característica, muitos óleos essenciais

contendo monoterpenos se tornaram importantes insumos para o desenvolvimento de produtos fitofarmacêuticos com ação inseticida (PAVELA, 2015a).

Os larvicidas botânicos oferecem uma série de benefícios frente os larvicidas sintéticos convencionais, devido principalmente à sua diversidade química e perfil ecológico. A presença de uma mistura complexa de compostos ativos afeta distintos alvos moleculares nos insetos, complexidade que reduz a probabilidade de resistência, já que os vetores apresentam dificuldade em se adaptar a todos os mecanismos simultaneamente (GHOSH; CHOWDHURY; CHANDRA, 2012; PAVELA; BENELLI, 2016). Essa propriedade também pode influenciar na eficácia, pois os compostos possuem a capacidade de agir de forma sinérgica, interferindo em vários processos fisiológicos e comportamentais dos insetos (SOONWERA et al., 2022). Além disso, os inseticidas naturais tendem a possuir seletividade, direcionando sua ação para os insetos alvo, minimizando assim os impactos sobre organismos não alvo e reduzindo substancialmente a toxicidade para o meio ambiente e a saúde humana (PAVELA; BENELLI, 2016). Outra vantagem importante é a rápida biodegradação desses compostos no ambiente, o que impede o acúmulo de resíduos tóxicos e reduz os riscos de contaminação ambiental (GHARSAN, 2019).

Diversos óleos essenciais de plantas, como *Piper betle* L., *Tinospora rumphii*, *Azadirachta indica*, *Persea americana*, *Piper aduncum*, *Leucas aspera*, *Eucalyptus camaldulensis*, *Ottonia anisum*, *Salvia plebeia*, *Lantana camara* e *Syzygium aromaticum* têm demonstrado uma eficácia significativa no controle de larvas de *Ae. aegypti* após 48 horas de exposição (BUDIMAN et al., 2021). Esta constatação sublinha a relevância da investigação de larvicidas de origem botânica advindos de plantas geradoras de óleos essenciais. A evidência acumulada por estudos como esse, além de outros exemplos descritos na literatura, reforça o potencial dos óleos essenciais como alternativas eficazes para o controle de culicídeos, evidenciando um caminho promissor para o desenvolvimento de soluções larvicidas inovadoras.

3.3.1.1.2 Aproveitamento de resíduos agroindustriais como alternativa para produção de inseticidas botânicos

A geração de resíduos agroindustriais tem se tornado um problema crescente e alarmante, com consequências significativas para o meio ambiente. A poluição decorrente do descarte inadequado desses resíduos afeta gravemente os recursos naturais. Anualmente, um

grande volume de resíduos é produzido durante o processamento de materiais vegetais nas indústrias agroalimentares, gerando desafios para a sua gestão sustentável (BEN-OTHTMAN; JÖUDU; BHAT, 2020; VISAKH et al., 2023).

O aumento da demanda global por alimentos, impulsionado pelo crescimento populacional, intensificou a produção agrícola e, conseqüentemente, o acúmulo de resíduos ao longo de toda a cadeia de suprimentos (MATEI et al., 2021). Esse cenário é agravado pelo fato de que o despejo na terra, aterro e a queima de resíduos agroindustriais são práticas comuns em razão da falta de tratamento adequado, liberando substâncias tóxicas no meio ambiente e contribuindo para problemas de poluição do ar, do solo e da água (ANDINI et al. 2018; ALBAQAMI et al., 2022; YAASHIKAA; KUMAR; VARJANI, 2022). Esses resíduos não tratados podem resultar na liberação de contaminantes no ecossistema, comprometendo a biodiversidade e trazendo riscos para a saúde humana (YAASHIKAA; KUMAR; VARJANI, 2022).

Estima-se que na Europa são geradas cerca de 88 milhões de toneladas de resíduos alimentares por ano, com um impacto econômico de 143 bilhões de euros (STENMARCK et al., 2016). Esse volume de resíduos, quando não gerido adequadamente, contribui para o aumento da emissão de gases de efeito estufa e outros efeitos negativos, destacando a urgência de desenvolver práticas de gestão sustentável (YAASHIKAA; KUMAR; VARJANI, 2022). Entre os principais resíduos gerados estão os resíduos de gado, agroindustriais, colheitas, frutas e vegetais (ZIHARE; SPALVINS; BLUMBERGA, 2018).

Os resíduos de colheita, compostos por folhas, caules e outros restos vegetais, são materiais gerados diretamente no campo agrícola, sendo uma das formas mais baratas e amplamente disponíveis de resíduos. Apesar de seu potencial, esses materiais são altamente perecíveis e, quando descartados inadequadamente, podem causar sérios danos ao ecossistema devido ao risco elevado de contaminação (PRASAD et al., 2020; SRIDHAR et al., 2021). Além disso, a falta de reaproveitamento impede que esses resíduos sejam utilizados de maneira produtiva, limitando seu potencial econômico e ambiental, além de comprometer a sustentabilidade do setor agrícola.

Uma abordagem inovadora para enfrentar esses desafios é a adoção de práticas baseadas na economia circular, que visa integrar o desenvolvimento econômico com a proteção do ecossistema, promovendo o uso eficiente de recursos. A bioeconomia circular surge como um modelo sustentável que maximiza o aproveitamento de energia e materiais nas atividades

agrícolas (YAASHIKAA; KUMAR; VARJANI, 2022). Entre as soluções promissoras, destaca-se o desenvolvimento de biorrefinarias, que utilizam resíduos agroindustriais como matéria-prima para a produção de subprodutos de valor agregado (VISAKH et al., 2023). A valorização dos resíduos agrícolas, como folhas descartadas, que são ricas em compostos bioativos, incluindo óleos essenciais, também representa uma solução inovadora. Esses subprodutos podem ser transformados em ingredientes para novos produtos, contribuindo para a sustentabilidade e redução de desperdícios na agricultura (SULHATH et al., 2024).

Estudos recentes evidenciam o aproveitamento de resíduos agroindustriais para gerar produtos de valor agregado, como óleos essenciais. Esses óleos essenciais têm se mostrado eficazes tanto na produção de alimentos e produtos de higiene, quanto no manejo integrado de pragas agrícolas e vetores de doenças. Jimborean et al. (2016) demonstraram que óleos essenciais extraídos de cascas de frutas cítricas podem ser utilizados como aromatizantes na fabricação de novos tipos de iogurtes. De forma semelhante, González-Díaz e Véliz-Jaime (2020) investigaram o uso da casca de manga para a produção de óleos essenciais, destacando seu potencial na indústria alimentícia. Batista et al. (2023) estudaram o óleo essencial de *Citrus reticulata* Blanco (Ponkan), obtido de resíduos da indústria de sucos, com aplicação na fabricação de produtos de higiene pessoal e de limpeza.

No controle biológico de pragas e vetores de doenças, diversos estudos exploraram o uso de resíduos agroindustriais. Poopathi et al. (2013) investigaram o bagaço de cana-de-açúcar como substrato renovável para a produção do biopesticida Bti, eficaz no controle dos mosquitos vetores *Culex quinquefasciatus*, *Anopheles stephensi* e *Ae. aegypti*. Já Sala et al. (2021) avaliaram a utilização de casca de arroz e bagaço de maçã na produção de conídios fúngicos de *Beauveria bassiana* e *Trichoderma harzianum*, fungos que, além de controlarem pragas agrícolas, como *Spodoptera frugiperda*, promovem o crescimento de plantas e protegem contra patógenos do solo. Ribeiro et al. (2019) revelaram que óleos essenciais de frutas cítricas, como limão e tangerina, possuem atividade contra o ácaro *Tetranychus urticae*, praga agrícola de relevância mundial. Visakh et al. (2022) demonstraram que o óleo essencial de *Citrus maxima* apresentou toxicidade tanto por contato quanto por fumigação contra os mosquitos *Culex tritaeniorhynchus* e *Ae. aegypti*, vetores de encefalite japonesa e dengue, respectivamente.

Além disso, os resíduos agroindustriais de plantas do gênero *Curcuma* também têm sido explorados. Albaqami et al. (2022) estudaram óleos essenciais extraídos das folhas de *C. longa*, *Curcuma aromatica* e *Curcuma angustifolia*, revelando propriedades antioxidantes,

antibacterianas e citotóxicas contra células cancerígenas. Kumar et al. (2018) investigaram o potencial anti-inflamatório do óleo essencial de folhas de *C. longa*, que demonstrou eficácia significativa no tratamento de desordens inflamatórias. Estudos recentes, como o de Visakh et al. (2023), mostraram que o óleo essencial de folhas de *C. longa* possui alta toxicidade contra os insetos de grãos armazenados *Rhizopertha dominica* e *Tribolium castaneum*, além de atividade antioxidante notável. Sulhath et al. (2024) investigaram a ação inseticida do óleo de *C. aromatica*, que apresentou maior toxicidade por contato e fumigação contra o besouro *Callosobruchus chinensis*, praga de leguminosas armazenadas. Por fim, Flexa-Ribeiro et al. (2025) avaliaram a repelência do óleo essencial de *C. longa* e seus constituintes contra *Tribolium castaneum*, sugerindo que esse óleo pode ser utilizado como matéria-prima para o desenvolvimento de biopesticidas ecológicos.

3.4 FAMÍLIA ZINGIBERACEAE

A Zingiberaceae é a maior família pertencente à ordem Zingiberales, e segundo Plants of the World (2024), compreende 57 gêneros e mais de 1800 espécies. A família é amplamente distribuída nos trópicos, principalmente na região dos trópicos asiáticos, apresentando alta concentração na diversidade e número de gêneros e espécies (LARSEN et al., 1998). No aspecto ornamental, os gêneros Zingiber, Alpinia, Curcuma, Etlingera, Hedychium e Kaempferia se sobressaem pela beleza das folhagens e das inflorescências (WOOD, 1995). O gênero *Zingiber* (gênero do gengibre) e as espécies de *Curcuma* destacam-se por seu uso como especiarias e medicinal (LARSEN et al., 1998; RAVINDRAN; BABU; SIVARAMAN, 2007).

3.4.1 Gênero *Curcuma*

O gênero *Curcuma* se sobressai por ser um dos membros mais difundidos da família Zingiberaceae, abrangendo cerca de 167 espécies (RAVINDRAN; BABU; SIVARAMAN, 2007; PRASAD; AGGARWAL, 2011). A *C. longa*, *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma amada*, *Curcuma xanthorrhiza*, *C. angustifolia*, *C. aromatica*, *Curcuma caesia* e *Curcuma zedoaria*, são plantas do gênero que possuem relevância econômica devido às suas propriedades medicinais e nutricionais, sendo empregadas em diversos ramos industriais, como o

farmacêutico, cosmético e alimentício (RAVINDRAN; BABU; SIVARAMAN, 2007; PRASAD; AGGARWAL, 2011; AYATI et al., 2019).

A *C. longa*, em particular, é destacada como a espécie mais investigada e amplamente cultivada para fins comerciais. É muito utilizada como especiaria em todo o mundo, não apenas pela sua capacidade de conferir sabor e cor aos alimentos, mas também por seus potenciais biológicos e farmacológicos (RAVINDRAN; BABU; SIVARAMAN, 2007; PRASAD; AGGARWAL, 2011; AYATI et al., 2019).

3.4.1.1 *Curcuma longa* L.

A planta *C. longa*, conhecida por denominações populares como “cúrcuma”, “açafrão”, “gingibre dourado” e “açafrão-da-terra”, é uma espécie nativa do sudeste asiático, especialmente de florestas tropicais da Índia (BRASIL, 2020). Os rizomas desta planta são caracterizados pela cor amarelo-alaranjado intenso, sabor marcante e propriedades medicinais, distinguindo-se como a parte mais utilizada para uma variedade de aplicações (PRASAD; AGGARWAL, 2011).

Há mais de 4.000 anos, a cúrcuma foi pioneiramente empregada na Índia, tanto como corante, quanto como tempero culinário, uma tradição que perdura até os tempos atuais. Na indústria, é comercializada como condimento culinário, corante alimentar natural e conservante em uma variedade de produtos. Além disso, sua aplicação abrange outras áreas, sendo extensivamente utilizada em produtos cosméticos e dermatológicos. O potencial terapêutico dos rizomas da *C. longa* tem origem marcada pela medicina tradicional chinesa e indiana, que explorou a especiaria para uma variedade de condições, incluindo distúrbios hepáticos, gastrointestinais, artrite, reumatismo, doenças de pele (PRASAD; AGGARWAL, 2011).

O uso de *C. longa* é geralmente restrito aos rizomas, embora em alguns países asiáticos também se utilizem as folhas como tempero (BRAGA et al., 2023). Durante a colheita da parte comercial, as folhas são tratadas como resíduos agroindustriais, sendo descartadas e/ou queimadas e conseqüentemente, gerando poluição ambiental (VISAKH et al., 2023). Apesar desse subaproveitamento, pesquisas indicam que as folhas de *C. longa* contêm compostos químicos ativos com potencial valioso o que as torna candidatas promissoras para a transformação de resíduos agrícolas em produtos de maior valor agregado (KUMAR et al., 2018). A adoção dessa prática não só minimizaria o desperdício agroindustrial, mas também

reduziria a poluição, promovendo uma abordagem sustentável e compatível com os princípios da bioeconomia circular (VISAHK et al., 2023).

3.4.1.1.1 Aspectos botânicos

A *C. longa* é uma planta herbácea e perene, caracterizada por seu rizoma tuberoso e suas flores vistosas, crescendo até 1 metro de altura (AYATI et al., 2019). Os rizomas subterrâneos, de casca áspera e segmentada, apresentam uma coloração marrom-amarelada no exterior e laranja fosco na parte interna. Quando secos, esses rizomas podem ser moídos para produzir um pó amarelo com sabor amargo e aroma forte. Suas folhas em bainhas que caracterizam a família Zingiberaceae, são longas, oblongas, verde-escura e lanceoladas são glabras, reunindo-se na base da planta para formar um pseudocaule (Figura 3). As flores, pequenas e de cor branca a amarela, estão dispostas em espigas cilíndricas, enquanto os frutos se desenvolvem em cápsulas globulares, vistas ocasionalmente (GOVINDARAJAN; STAHL, 1980; RAVINDRAN; BABU; SIVARAMAN, 2007; PRASAD; AGGARWAL, 2011).

Figura 3 - Planta *C. longa*



Fonte: autoria própria.

3.4.1.1.2 Atividade biológica e potencial terapêutico

A planta tem sido objeto de numerosos estudos que avaliam os efeitos dos extratos, óleos essenciais e suplementos derivados de seus rizomas. Entre as propriedades destacadas, a planta demonstra atividade antioxidante (ALTIR et al., 2021; AMIN et al., 2022), efeito

hiperglicêmico (GUERRERO-ROMER et al., 2020), efeitos anti-inflamatórios, cicatrizantes (LEE et al., 2020; AMIN et al., 2022; BOUCHAMA et al., 2023), atividade antinociceptiva (LIJU; JEENA; KUTTAN, 2011) e anticancerígena (YANG et al., 2020; ABUALHASAN et al., 2023). Também foi identificada atividade antifúngica (MURUGESH et al., 2019), antimicrobiana (JALALUDDIN et al., 2019; TELES et al., 2019; OGBONNA; ÖZGOR, 2022), antiviral (SHENGGE; OBI; SALAWU, 2021) e antileishmania, (TELES et al., 2019). Além de ser benéfico o seu uso no tratamento de condições como osteoartrite (SRIVASTAVA et al., 2016), artrite (ANNA et al., 2011), doença de Parkinson (MA; GUO, 2017) e psoríase (SARAFIAN et al., 2015).

As folhas da *C. longa*, ainda que menos exploradas em comparação aos rizomas, apresentam diversas propriedades benéficas. Os óleos essenciais e extratos apresentam atividade antioxidantes (MOHD -NOR et al., 2009; ALTIR et al., 2021; VISAKH et al., 2023), anti-inflamatórias, antitumorais (LIU, 2012), antibacteriana (ESSIEN et al., 2015; ALBAQAMI et al., 2022), antifúngica, (SINDHU et al., 2011; ESSIEN et al., 2015; SHARMA et al., 2022). Adicionalmente, apresentam atividade citotóxica (ESSIEN et al., 2015; ALBAQAMI et al., 2022), propriedades antidiabéticas (SHARA et al., 2022), antidermatófico (PANDEY et al., 2010) e fitotóxica (VISAKH et al., 2023).

Estudos revelam que o óleo essencial da *C. longa* têm efeitos inseticidas, incluindo repelência e ação fumigante para *Tribolium castaneum* (VISAKH et al., 2023), e toxicidade e repelência contra formigas de fogo (*Solenopsis invicta*) (ALI et al., 2024). Além disso, os óleos essenciais demonstraram potencial larvicida contra larvas de *Cochliomyia macellaria* (CHAABAN et al., 2019) e mosquitos como *Anopheles gambiae*, *An. quadrimaculatus* e *Ae. aegypti* (AJAIYEGBA et al., 2008; ALI et al., 2015).

3.4.1.1.3 Composição fitoquímica

Os membros do gênero *Curcuma* são reconhecidos por conter uma variedade de compostos bioativos, incluindo fenilpropanoides, monoterpenoides, sesquiterpenoides e outras substâncias aromáticas (RAVINDRAN, BABU, SIVARAMAN, 2007). Os principais constituintes ativos do rizoma são o óleo essencial, responsável pelo aroma característico, e os curcuminoides, que conferem a cor amarelo brilhante (GOVINDARAJAN; STAHL, 1980; DOSOKY; SETZER, 2018). Entre os curcuminoides, destacam-se a curcumina (77%), a

desmetoxicurcumina (17%) e a bisdesmetoxicurcumina (3%), pertencentes à família dos diarilheptanoides. A concentração desses compostos varia de 2% a 9%, dependendo da origem e das condições de cultivo (RAVINDRAN; BABU; SIVARAMAN, 2007; IWEALAA, 2023). No óleo essencial, ar-turmerona, α -turmerona e β -turmerona são os principais constituintes (AVANÇO et al., 2017; DOSOKY; SETZER, 2018).

No que se refere às folhas, segundo Essien e colaboradores (2015) os componentes principais do óleo essencial de *C. longa* são α -pineno, β -pineno, mirceno, α -felandreno, α -terpineno, *p*-cimeno, limoneno, 1,8-cineol, γ -terpineno, terpinoleno, linalol, terpineno-4-ol, α -terpineol, β -cariofileno, *ar*-curcumeno, α -zingibereno, β -sesquifelandreno, *ar*-turmerona, β -turmerona, germacrona e α -turmerona. Por outro lado, a análise química do óleo essencial das folhas de *C. longa* nos estudos de Sindhu, et al. (2011) indicaram a presença de α -felandreno, *p*-cimeno, terpinoleno como compostos majoritários. Diversos estudos possuem resultados semelhantes, porém se diferem em alguns compostos e percentuais encontrados (DOSOKY; SETZER, 2018; ALBAQAMI et al., 2022; VISAKH et al., 2023).

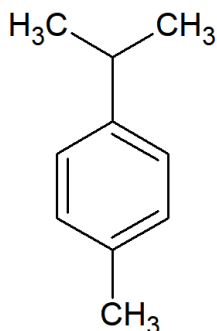
A diferença de composição química pode ocorrer devido a existência de sete quimiotipos diferentes dos óleos essenciais da folha de *C. longa* relatados até o momento: (1) quimiotipo rico em ar-turmerona; (2) quimiotipo rico em α -felandreno; (3) quimiotipo rico em terpinoleno; (4) quimiotipo rico em β -sesquifelandreno; (5) quimiotipo rico em *p*-cimeno; (6) quimiotipo rico em 1,8-cineol; (7) quimiotipo rico em mirceno (ESSIEN et al., 2015).

3.4.1.1.3.1 *p*-cimeno

O *p*-cimeno, (também conhecido como *p*-isopropiltolueno, 4-isopropiltolueno, 1-isopropil-4-metilbenzeno ou 1-metil-4-isopropilbenzeno), é um hidrocarboneto aromático pertencente a classe dos monoterpenos monocíclicos (MARSECHE et al., 2017; BALAHBIB et al., 2021). Presente de forma natural nos óleos essenciais de uma infinidade de plantas aromáticas, como *Artemisia argyi* (CHIZZOLA; GANSINGER, 2023), *Protium* spp. (SANTANA et al., 2020), *Origanum vulgare* (NAPOLI et al., 2020) e *Thymus piperella* L. (LLORENS-MOLINA et al., 2022). O *p*-cimeno também é comumente encontrado em alimentos, como cenoura, tomate, aipo, pepino, framboesa, sucos cítricos e diversas especiarias como orégano (CAO; SPARLING; DABEKA et al., 2019; BALAHBIB et al., 2021). A Figura

4 exibe a estrutura química desse terpeno, caracterizada por um anel benzênico com substituições de metila e isopropila.

Figura 4 - Estrutura química do *p*-cimeno



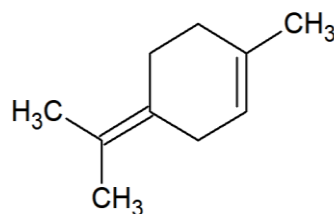
Fonte: autoria própria.

O composto *p*-cimeno apresenta uma variedade de ações biológicas, incluindo atividades antinociceptivas (QUINTANS et al., 2013), anti-inflamatórias, antioxidantes, imunomoduladoras, citoprotetoras (FORMIGA et al., 2020), antitumoral (JIN et al., 2021), antimicrobiana (MARCHESE et al., 2017), antifúngica (TIAN et al., 2018), antiviral (PANAGIOTOPOULOS et al., 2021), antiparasitária (SHANG et al., 2016) e inseticida (GONG; REN, 2020), além de demonstrar atividade larvicida contra *Ae. aegypti* (DUARTE et al., 2024a) e *Cx. quinquefasciatus* (PAVELA et al., 2018), além de toxicidade contra *Blattella Germanica* (CHANG et al., 2012). Segundo a Food and Drug Administration (FDA) dos EUA (2023), o *p*-cimeno pode ser utilizado com segurança em alimentos quando utilizado como agente aromatizante.

3.4.1.1.3.2 Terpinoleno

O terpinoleno (1-metil-4-propan-2-ilidenociclohexeno) é um monoterpreno monocíclico, formado por uma estrutura com cadeia principal cíclica, apresentando duas unidades de isopreno ligadas e substituições metil e propano (Figura 5) (MENEZES et al., 2021). O composto está presente na natureza, encontrado em plantas aromáticas como pinheiro (*Pinus pinea*), noz-moscada (*Myristica fragrans*) e o açafrão (*C. longa*) (ESSEIN et al., 2015; IBRAHIM et al., 2020; GAD; AL-SAYED; AYOUB, 2021).

Figura 5 - Estrutura química do terpinoleno



Fonte: autoria própria.

O terpinoleno foi avaliado quanto à genotoxicidade, toxicidade de dose repetida, toxicidade reprodutiva, toxicidade respiratória local, fototoxicidade/fotoalergenicidade, sensibilização cutânea e segurança ambiental. Os dados mostram que não há preocupações de segurança. Além disso, não há evidências de sensibilização cutânea ou fototoxicidade/fotoalergenicidade em decorrência do seu uso. Quanto à segurança ambiental, o terpinoleno não é persistente, bioacumulável e tóxico de acordo com os padrões ambientais (API et al., 2022).

Em uma revisão de literatura conduzida por Menezes et al. (2021) sobre as propriedades biológicas do terpinoleno, entre a variedade de atividades identificadas, destacam-se as pesquisas sobre suas propriedades antioxidantes, inseticidas e larvicidas, sendo esses tópicos amplamente investigados para o composto. Assim, foi constatada a toxicidade do terpinoleno em relação a uma variedade de insetos, incluindo os culicídeos. Estudos relataram o efeito inseticida e/ou larvicida do terpinoleno contra *Culex quinquefasciatus* (PAVELA et al., 2018), *Ae. aegypti* (SILVA et al., 2016), *Anopheles quadrimaculatus* (ALI et al., 2015), *Ae. albopictus* (CONTI et al., 2012), *Anopheles gambia* (KWEKA et al., 2016), *Culex pipens pallens* (PERUMALSAMY; KIM; AHN, 2009), *Blattella Germanica* (CHANG et al., 2012), além de efeito fumigante contra *Sitophilus zeamais* (WANG et al., 2009).

3.5 NANOEMULSÕES A PARTIR DE ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais são consideravelmente atrativos no estudo e identificação de novos ativos, caracterizando-se por sua diversidade estrutural e interações com múltiplos alvos biológicos. No entanto, muitos desses compostos enfrentam desafios significativos em seu desenvolvimento devido à baixa solubilidade em água, alta lipofilicidade, alta volatilidade,

rápida degradação e instabilidade estrutural no meio biológico, o que restringe fortemente sua aplicabilidade (BILIA; PIAZZINI; BERGONZI, 2020).

Os monoterpenos, compostos biotivos presentes nos óleos essenciais, possuem propriedades inerentes, como a reduzida solubilidade em água e elevada volatilidade, o que transforma a possibilidade de formulações um obstáculo complexo (DUARTE et al., 2024b). A solubilidade restrita decorre das propriedades físico-químicas intrínsecas, dificultando a absorção satisfatória, ao passo que a permeabilidade é afetada por variáveis como peso molecular e interações com transportadores de membrana. A nanotecnologia apresenta-se como uma alternativa promissora para tais dificuldades, proporcionando nanoformulações que aprimoram características dos ativos de interesse e permitindo a otimização da eficácia terapêutica ou biológica (SAKA; CHELLA, 2020).

As nanoemulsões são sistemas coloidais formados pela dispersão de dois líquidos imiscíveis, onde um deles é suspenso em gotículas de tamanho nanométrico, tipicamente entre 20 e 200 nm. Nanoemulsões são classificadas como dispersões isotrópicas e apresentam alta estabilidade cinética e instabilidade termodinâmica, e resistem à separação de fases por longos períodos pela estabilização por tensoativos, que atuam na interface entre os líquidos, reduzindo a tensão interfacial e promovendo a formação de um sistema estável. Além disso, essas dispersões são comumente referidas como miniemulsões em algumas literaturas, e encontram ampla aplicação na encapsulação e transporte de moléculas bioativas (BARRADAS; SILVA, 2020; GUPTA, 2020).

Nanoemulsões possuem uma aparência distinta devido ao tamanho reduzido de suas gotículas, esse tamanho diminuto faz com que a maioria dessas dispersões sejam opticamente transparentes ou translúcidas, já que as gotículas são pequenas o suficiente para não dispersarem significativamente a luz visível. Nanoemulsões são amplamente utilizadas na entrega de compostos lipofílicos, chamadas nanoemulsões óleo-em-água (O/A), onde gotículas de óleo (fase dispersa) são suspensas em água (fase contínua), como fármacos e ativos bioativos de baixa solubilidade em água. Sua capacidade de melhorar a solubilidade e a estabilidade desses ativos torna-as ferramentas poderosas na formulação de medicamentos e produtos cosméticos, permitindo a liberação controlada e o aumento da biodisponibilidade dos compostos encapsulados (BARRADAS; SILVA, 2020; GUPTA, 2020).

A produção de nanoemulsões pode ser realizada por dois métodos principais: alta energia e baixa energia. Os métodos de alta energia utilizam força mecânica para criar

nanoemulsões, como homogeneização em alta pressão e ultrassom. Em contraste, os métodos de baixa energia aproveitam propriedades físico-químicas dos componentes, como mudanças na composição ou na temperatura do sistema, sendo mais eficientes energeticamente. Dentre os métodos de baixa energia, o método de inversão de fase se destaca, pois permite a formação de nanoemulsões com agitação simples e sem a necessidade de grandes equipamentos. Esse método é vantajoso por operar em condições suaves, como temperatura ambiente, e por promover a formação de gotículas pequenas através da mudança espontânea na curvatura do surfactante, resultando em uma produção eficiente e de baixo custo (GUPTA, 2020).

As nanoemulsões oferecem diversas vantagens em formulações com óleos essenciais, tornando-se uma opção atraente para a entrega de compostos bioativos. Elas aumentam a estabilidade e melhoram a biodisponibilidade de compostos lipofílicos, facilitando a solubilização de ingredientes ativos pouco solúveis e ampliando a atividade farmacológica. A biocompatibilidade é outra característica das nanoemulsões que é fundamental para garantir a segurança em aplicações farmacêuticas, enquanto a eficiência de carregamento proporcionada permite a encapsulação de quantidades significativas de fármacos hidrofóbicos. Além disso, proporcionam uma liberação direcionada e sustentada dos ativos, diminuem a toxicidade, reduzindo efeitos adversos e ambientais, e protegem os ativos contra degradação causada por luz, calor, oxigênio e umidade excessiva, o que ajuda a superar limitações associadas aos compostos de interesse e expande suas aplicações, ampliando as possibilidades de fabricação (BARRADAS; SILVA, 2020; GONÇALVES et al., 2020).

Alguns estudos têm explorado o uso da nanotecnologia aplicada a óleos essenciais e extratos da planta *C. longa*, com resultados promissores. Essas pesquisas mostram que as nanoformulações baseadas em *C. longa* têm sido eficazes em diversas áreas. Sindhu et al. (2023) mostraram que o encapsulamento do óleo essencial dos rizomas de *C. longa* em quitosana melhora a eficiência antimicrobiana contra patógenos alimentares. Patala et al. (2023) investigaram nanoemulsões do extrato etanólico dos rizomas de *C. longa*, revelando aumento na biodisponibilidade e eficácia analgésica e anti-inflamatória. Mossmann et al. (2024) relataram atividade anti-inflamatória in vitro com baixa citotoxicidade ao usar nanoemulsões do óleo das folhas de *C. longa*. Maghimaa e Alharbi (2020) avaliaram nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso das folhas de *C. longa*, destacando sua eficácia antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* e atividade cicatrizante. Aly et al. (2017) demonstraram que a nanoemulsão do extrato etanólico de *C.*

longa aumentou a solubilidade da curcumina e apresentou atividade antiparasitária promissora contra *Schistosoma mansoni*. Flexa-Ribeiro et al. (2025) desenvolveram uma nanoemulsão do óleo essencial das folhas de *C. longa*, que mostrou atividade repelente significativa contra *Tribolium castaneum*, configurando-se como uma alternativa ecológica para biopesticidas.

3.6 DESENVOLVIMENTO NANOTECNOLÓGICO DE AGENTES LARVICIDAS

A aplicação de nanoemulsões como agentes larvicidas botânicos representa uma nova e promissora vertente nas estratégias de controle de vetores. Uma das principais vantagens desse sistema está na capacidade de encapsular ingredientes ativos hidrofóbicos, como óleos essenciais, em uma matriz aquosa, permitindo uma dispersão controlada e maior eficiência na eliminação. Além disso, os nanocarreadores empregados em nanoemulsões devem ser ecologicamente corretos, visando minimizar o impacto ambiental, o que é crucial para evitar danos ao ecossistema aquático. Outro benefício importante é o controle preciso da dosagem dos agentes larvicidas, o que pode ajudar a prevenir o desenvolvimento de resistência nas populações de mosquitos ao longo do tempo, uma preocupação crescente na área de controle de pragas. A liberação controlada dos ativos permite que o larvicida tenha ação prolongada, aumentando sua eficácia no combate a larvas em estágios imaturos (KAH; HOFMANN, 2014; WONG et al., 2019).

Estudos demonstram que o tamanho reduzido das nanoformulações favorece sua toxicidade e penetração no corpo dos insetos. Essas formulações afetam tanto a integridade externa quanto os processos internos das larvas. Externamente, causam danos à pigmentação e à estrutura da cutícula, enquanto internamente desencadeiam respostas imunológicas e modificam a expressão gênica, afetando o metabolismo de proteínas, lipídios e carboidratos. Isso resulta em desordens no desenvolvimento e na reprodução das larvas, interferindo em funções vitais, como a ingestão de nutrientes e gerar espécies reativas de oxigênio (SHAHZAD; MANZOOR, 2018). Dessa forma, o uso de nanoemulsões como larvicidas oferece uma abordagem eficaz e direcionada, potencialmente menos prejudicial a organismos não-alvo e capaz de proteger os ingredientes ativos da degradação prematura, o que contribui para a sustentabilidade e persistência do efeito inseticida de compostos ativos (KAH; HOFMANN, 2014).

Diversos estudos recentes corroboram a eficácia das nanoemulsões à base de óleos essenciais no controle de larvas de mosquitos. Ferreira et al. (2019) desenvolveram uma nanoemulsão do óleo de *Lippia alba*, apresentando eficácia larvicida com valores de CL₅₀ de 38,22 ppm para *Culex quinquefasciatus* e 31,02 ppm para *Ae. aegypti*. Ferreira et al. (2020) constataram que a nanoemulsão do óleo essencial de *Siparuna guianensis* aumentou significativamente a atividade larvicida contra *Ae. aegypti*, com um valor de CL₅₀ de 24,76 µg/ml, em comparação com 86,52 µg/ml para o óleo bruto. Peniche et al. (2022) destacaram que a nanoemulsão do óleo de *Hyptis suaveolens* apresentou alta eficácia larvicida contra *Culex quinquefasciatus*, com valores de CL₅₀ de 102,41 ppm e 70,81 ppm após 24 e 48 horas, respectivamente. Botas et al. (2017) investigaram a eficácia de nanoemulsões do óleo essencial de *Baccharis reticularia* contra *Ae. aegypti*, com um valor de CL₅₀ de 118,94 µg/mL após 48 horas de tratamento. Oliveira et al. (2016) relataram a eficácia de nanoemulsões à base de oleoresina de *Pterodon emarginatus* contra *Culex quinquefasciatus*, com um valor de CL₅₀ de 34,75 mg/L após 48 horas.

Portanto, o desenvolvimento de nanoemulsões à base de óleos essenciais como agentes larvicidas botânicos têm demonstrado grande potencial na literatura, com diversas pesquisas destacando sua eficácia e aplicabilidade no controle de vetores. O uso de nanoformulações ecologicamente corretas, aliados à capacidade de promover a liberação controlada e aumentar a toxicidade de compostos hidrofóbicos, posiciona essas formulações como alternativas promissoras no combate à resistência dos mosquitos aos inseticidas convencionais. Assim, a nanoemulsão do óleo essencial das folhas de *C. longa*, proveniente de um resíduo agroindustrial, representa uma abordagem inovadora e sustentável que pode contribuir para avanços significativos no controle de vetores, especialmente em cenários de saúde pública e preservação ambiental.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. MATERIAL VEGETAL

As folhas de *Curcuma longa* foram coletadas em março de 2023, no município de Macapá, estado do Amapá, Brasil (coordenadas 0°01'24''N; 51°09'31''W). A identificação botânica foi realizada a partir de um espécime voucher, depositado no herbário do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá (IEPA), sob o código de registro 019430.

4.2 PRODUTOS QUÍMICOS

O terpinoleno (pureza $\geq 95\%$) e *p*-cimeno (pureza $\geq 97\%$) foram adquiridos da Merck (São Paulo, SP, Brasil). Os tensoativos polissorbato 20 e polissorbato 80, assim como o padrão fisostigmina, iodeto de acetiltiocolina (pureza $\geq 99.0\%$), 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzóico (pureza $\geq 98.0\%$), sulfato de sódio anidro (pureza $\geq 99.0\%$), clorofórmio (pureza $\geq 99.5\%$), metanol (pureza $\geq 99.8\%$) e formaldeído foram obtidos da Sigma-Aldrich (São Paulo, SP, Brasil). Apenas a solução de lugol foi obtida do Labimport (Piracicaba, SP, Brasil).

4.3 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

As folhas frescas de *C. longa* (700 g) foram trituradas em um turbolisador com 3 L de água destilada. Em seguida, o material (água e folhas trituradas) foi transferido para um balão de destilação de 5 L, acoplado a um aparelho do tipo Clevenger, equipado com um condensador refrigerado a água para evitar perdas por evaporação. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação. Após a extração, o óleo foi centrifugado, seco com sulfato de sódio anidro e armazenado em frasco de vidro a -17 ± 1 °C.

4.4 DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

A análise qualitativa por cromatografia gasosa (CG) foi realizada utilizando um cromatógrafo gasoso (GC-MS-QP2010) equipado com uma coluna capilar ZB-5 (diâmetro interno = 0,25 mm, comprimento = 30 m, espessura do filme = 0,25 μ m) e acoplado a um espectrômetro de massas (EM) (Shimadzu, Barueri, SP, Brasil) usando ionização de elétrons a 70 eV (1 varredura/s). A temperatura da coluna foi programada da seguinte forma: 60 °C por 5 minutos, e aumentada a 3 °C por minuto até 290 °C. A amostra foi diluída em clorofórmio (1:100, v/v), injetada na coluna e transportada por hélio a uma vazão de 1 mL por minuto (razão de injeção dividida 1:40). Os índices de retenção foram calculados pela interpolação do tempo de retenção de cada substância e do tempo de retenção de uma mistura de hidrocarbonetos alifáticos analisados nas mesmas condições (VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963). A identificação dos constituintes do óleo essencial foi realizada pela comparação de seus índices aritméticos e espectros de massa com dados da literatura (ADAMS, 2017). A análise quantitativa dos constituintes químicos foi realizada pelo método de normalização da área relativa usando um CG acoplado a um detector de ionização de chama (DIC) (Shimadzu, Barueri, SP, Brasil). As condições foram as mesmas da análise CG-EM, com exceção do gás de arraste, que era hidrogênio no CG-DIC.

4.5 PREPARAÇÃO DAS NANOEMULSÕES

As nanoemulsões contendo o óleo essencial das folhas de *C. longa* e seus compostos majoritários, terpinoleno e *p*-cimeno, foram obtidas pelo método de emulsificação por inversão de fases, com modificação da fração volumétrica, utilizando baixa energia por meio de agitação mecânica. As formulações foram preparadas conforme descrito por Flexa-Ribeiro e colaboradores (2025). O óleo essencial das folhas de *C. longa* ou seus compostos majoritários foram homogeneizados com um tensoativo específico, formando a fase oleosa (2,5%, p/p). Para a formulação contendo o óleo essencial, foi utilizado polissorbato 20 (EHL 16,7); já para as formulações contendo os compostos majoritários, empregou-se polissorbato 80 (EHL 15), ambos na proporção 1:1 (óleo ou composto:tensoativo). Posteriormente, a água destilada foi adicionada à fase oleosa de forma gradual, por gotejamento, sob agitação contínua em vórtex (Vórtex AP 59, Phoenix-Luferco, EUA) a 1900 rpm, até completar a massa final de 2,0 g).

Além das formulações contendo o óleo essencial ou os compostos majoritários, também foram preparadas nanoemulsões controle, obtidas sob as mesmas condições, porém sem a adição dos ativos. A nanoemulsão controle 1 foi formulada utilizando apenas polissorbato 20, enquanto a nanoemulsão controle 2 empregou exclusivamente polissorbato 80. A Tabela 1 apresenta a composição detalhada das formulações:

Tabela 1 - Composição das nanoemulsões

Formulações	Ativo (g)	Polissorbato 80 (g)	Polissorbato 20 (g)	Água (g)
Nanoemulsão de <i>C. longa</i>	0,05	-	0,05	1,900
Nanoemulsão de <i>p</i> -cimeno	0,05	0,05	-	1,900
Nanoemulsão de terpinoleno	0,05	0,05	-	1,900
Nanoemulsão controle 1	-	-	0,05	1,950
Nanoemulsão controle 2	-	0,05	-	1,950

Fonte: autoria própria.

4.6 ANÁLISE DA ESTABILIDADE FÍSICO-QUÍMICA DAS NANOEMULSÕES

As nanoemulsões obtidas foram diluídas em água destilada na proporção 1:25 e avaliadas em triplicata utilizando o equipamento Zetasizer Nano Series (Malvern Instruments, Worcestershire, Reino Unido) equipado com um laser "vermelho" de 10 mW ($\lambda = 632,8$ nm). O tamanho das gotículas e o índice de polidispersão (IPD) foram avaliados por espalhamento dinâmico de luz (EDL) a 90°. As análises foram realizadas nos dias 0, 1 e 7 após a produção das formulações, armazenadas à temperatura ambiente. Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão. As atividades foram desenvolvidas no Laboratório de Pesquisa em Fármacos da UNIFAP e Laboratório de Tecnologia de Produtos Naturais (LTPN) da Universidade Federal Fluminense (UFF).

4.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA

4.7.1 Obtenção das larvas de *Aedes aegypti*

As larvas da espécie *Ae. aegypti* utilizadas no bioensaio foram obtidas da colônia da cepa Rockefeller, proveniente do insetário localizado no Laboratório de Arthropoda – ARTHROLAB (UNIFAP). Para o experimento, foram utilizadas larvas no terceiro instar, mantidas em condições climáticas padronizadas em uma sala de 12 m² (3m x 4m), com temperatura e umidade controladas ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $75 \pm 5\%$, respectivamente), e fotoperíodo de 12 horas (claro:escuro) (WHO, 2005).

4.7.2 Bioensaio de atividade larvicida

A metodologia seguida foi adaptada conforme o protocolo padrão da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2005). Inicialmente, foi realizado um teste preliminar utilizando uma ampla faixa de concentrações da nanoemulsão do óleo essencial das folhas de *C. longa* e de seus compostos majoritários, variando entre 25 e 250 ppm, para determinar a faixa de atividade. Após avaliar a mortalidade das larvas dentro dessa faixa de concentrações, uma faixa mais estreita (que produz entre 10% e 95% de mortalidade em 24 h ou 48 h) foi selecionada para determinar os valores de CL₅₀ e CL₉₀. Com base na mortalidade observada na faixa de atividade definida pelo teste preliminar, as concentrações da nanoemulsão do óleo essencial e de seus compostos majoritários foram testadas no ensaio de atividade larvicida, nas concentrações de 6, 8 e 12 ppm para as nanoemulsões de *C. longa* e 6, 8 e 10 ppm para as nanoemulsões dos compostos majoritários. Os grupos controle foram compostos pelas nanoemulsões controle 1 e 2, às quais foi adicionado volume correspondente ao das nanoemulsões com ativo, além de um grupo controle sem ativos, composto apenas por água destilada.

O teste foi realizado em quintuplicata e, para cada tratamento, utilizou-se um béquer de 100 mL, no qual foram adicionados 80 mL de água destilada, seguidos das concentrações da nanoemulsão a ser utilizada. Em seguida, as larvas de *Ae. aegypti* foram introduzidas e o volume foi completado até 100 mL com água destilada. As leituras de mortalidade foram realizadas após 24 e 48 horas de exposição. Consideraram-se mortas as larvas moribundas, que eram aquelas incapazes de subir à superfície ou que não apresentavam a reação característica de

mergulho quando a água era agitada. O controle manteve a mortalidade igual ou abaixo de 20% para validação do teste (WHO, 2006).

O percentual de mortalidade foi determinado pela fórmula:

$$\frac{\text{Número de larvas mortas}}{\text{Número de larvas testadas}} \times 100 = \% \text{ Mortalidade}$$

4.8 ANÁLISE MORFOLÓGICA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) E POR MICROSCOPIA OPTICA

Para a análise da morfologia externa, as larvas foram coletadas após o teste de atividade larvívora nos grupos tratados (CL₉₀) e nos grupos controle. Os seguintes achados morfológicos foram destacados: cabeça, tórax, segmentos do abdômen, sifão e papilas anais. A fixação das larvas foi realizada em solução de formaldeído a 10%, conforme a metodologia adaptada de Oliveira et al. (2017a), para a aplicação da técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) a baixo vácuo, utilizando o modelo Tabletop Microscope TM3030Plus (Hitachi, Japão), no Laboratório de Pesquisa em Fármacos da UNIFAP, e pela microscopia óptica (Mod. BX41, Olympus).

4.9 ENSAIO ANTICOLINESTERÁSICO

A atividade inibitória do óleo essencial das folhas de *C. longa* sobre a enzima acetilcolinesterase (AChE) foi avaliada por espectrofotometria, utilizando o método colorimétrico de Ellman et al. (1961), conforme descrito por Rhee et al. (2001), com adaptações. No ensaio, o iodeto de acetiltiocolina (ATCI) sofre reação de hidrólise catalisada pela AChE, resultando em tiocolina, que reage com o agente colorimétrico, ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzóico) (DTNB), formando um composto amarelo, o ácido tionitrobenzóico (TNB).

As amostras de óleo essencial foram solubilizadas em metanol, e 340 µL dessa solução foram incubados com 1660 µL de tampão fosfato (0,1 M, pH 7,5), solução enzimática (30 mU/mL) e 1000 µL da solução de DTNB (0,68 mM; concentração final de 0,2 mM), durante 15 minutos. Após esse período, adicionaram-se 200 µL de solução aquosa de ATCI (17 mM), e

as leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1601), a 412 nm, utilizando cubeta de 1 cm e metanol como branco. O cálculo da atividade enzimática seguiu a seguinte equação:

$$\text{Atividade enzimática} = \frac{\Delta \text{Abs}/\text{min}}{\epsilon \cdot b/1000} \times V$$

Onde: $\Delta \text{Abs}/\text{min}$ é a variação de absorvância por minuto, correspondendo à média das variações de absorvância obtidas a cada 30 segundos, ao longo de quatro leituras consecutivas; V é o volume total da amostra (3,4 mL); ϵ é a absortividade molar do TNB ($14150 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$); e b é o caminho ótico da cubeta (1 cm).

Para estimar a concentração necessária para inibir 50% da atividade enzimática (IC_{50}) do óleo essencial das folhas de *C. longa* e do padrão fisostigmina, as amostras foram testadas em 4 concentrações diferentes. O cálculo da percentagem de inibição das amostras ou do padrão em relação ao controle (metanol) foi feito da seguinte forma:

$$\% \text{ de inibição} = 100 - \left(\frac{A2}{A1} \right) \times 100$$

Onde $A1$ é a atividade do controle (mU/mL) e $A2$ é a atividade da amostra (mU/mL).

4.10 ENSAIO TOXICOLÓGICO AMBIENTAL

A alga *Chlorella vulgaris* foi criada no Laboratório de Cultivo de Algas (UNIFAP). As condições de cultivo das algas verdes foram: solução aquosa de nitrogênio/fósforo/potássio (NPK, 15:05:05), fotoperíodo constante (2.000 Lux) e temperatura de 24 ± 1 °C. As amostras das nanoemulsões do óleo essencial das folhas de *C. longa* e de seus compostos majoritários foram solubilizadas em 50 mL do meio, atingindo uma concentração final de 25 ppm. O meio de cultura dos grupos controle e teste foi preparado com a mesma densidade celular (aproximadamente 50.000 células por mililitro). Após 1, 2, 3, 5, 10 e 15 dias foram medidas as densidades celulares para o controle (não tratado) e para as amostras, em triplicata. As células foram contadas em câmara de Neubauer acoplada a microscópio óptico Quimis® (BA410) com adição de lugol para melhor visualização. A inibição do crescimento celular foi determinada pela comparação dos valores de densidade celular entre os grupos de teste e controle (ABNT, 2023).

4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para determinar as concentrações letais de CL₅₀ E CL₉₀, os dados foram submetidos à análise de regressão Probit. As comparações entre resultados foram realizadas por análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey, ao nível de 95% de confiança. Resultados com $p < 0.05$ serão considerados estatisticamente significativos. Os programas utilizados para os cálculos foram: IBM SPSS Statistics 25.0 e GraphPad Prism 8.4.3.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE DE RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA

O óleo essencial extraído das folhas de *C. longa* apresentou um rendimento de 0,26% (p/p), com coloração transparente e aroma intenso. Estudos anteriores reportaram diferentes rendimentos para a extração do óleo essencial dessa espécie. Babu et al. (2007) descreveram um rendimento semelhante, variando entre 0,25% e 0,28% (v/p). Por outro lado, Essien et al. (2015) relataram um rendimento de 0,67% (p/p), enquanto Albaqami et al. (2022) e Visahk et al. (2023) encontraram valores consideravelmente superiores, de $1,62 \pm 0,34\%$ (v/p) e $2,08 \pm 0,037\%$ (v/p), respectivamente. Além disso, Albaqami et al. (2022) observaram que o óleo essencial obtido apresentava coloração castanho-claro, diferindo da coloração transparente observada no presente estudo.

As variações nos rendimentos e nas características qualitativas dos óleos essenciais podem ser atribuídas a fatores como o estado do material vegetal, o método de extração utilizado e as condições experimentais (COHEN et al., 2018). Dentre esses, o teor de umidade em plantas frescas é uma variável crítica, uma vez que a maior força de ligação das moléculas de óleo aos tecidos vegetais úmidos pode reduzir a eficiência da extração (FATHI; SEFIDKON, 2012).

No presente estudo, a hidrodestilação foi o método de extração escolhido, apesar de apresentar algumas limitações, como a perda de compostos polares por evaporação e a possível alteração da estrutura química do óleo essencial. Por outro lado, métodos inovadores, como a extração assistida por ultrassom, por fluidos supercríticos e por micro-ondas, têm demonstrado maior eficiência na obtenção de rendimentos superiores. Contudo, essas técnicas apresentam desvantagens, como altos custos, risco de formação de radicais livres e geração de compostos potencialmente nocivos. A hidrodestilação, embora menos eficiente em termos de rendimento, destaca-se pelo baixo custo e pela facilidade de aplicação, oferecendo um equilíbrio entre eficiência e viabilidade operacional (CRUZ et al., 2022).

O óleo essencial das folhas de *C. longa* foi analisado por CG-EM, resultando na identificação de 25 constituintes, os quais correspondem a 92,3% da composição química total. Os compostos identificados pertencem às classes dos monoterpenos e monoterpenoides

oxigenados. Os compostos majoritários foram terpinoleno (25,2%), *p*-cimeno (19,7%), α -felandreno (15,0%) e 1,8-cineol (11,4%). A Tabela 2 apresenta todos os constituintes identificados no óleo essencial das folhas de *C. longa*, com seus tempos de retenção (TR), porcentagem de área relativa (%) e índice de retenção (IR), conforme obtido por CG-EM.

Tabela 2 - Composição química do óleo essencial das folhas de *C. longa*

Nº	Compostos	Área relativa (%)	IR _c	IR _l	Larvicida contra <i>Aedes aegypti</i>
1	α -pineno	2,2	934	932	Perumalsamy; Kim; Ahn (2009)
2	Sabineno	0,5	973	969	Rajkumar; Jebanesan (2010)
3	β -pineno	3,5	980	974	Govindarajan (2010)
4	Mirceno	1,6	988	988	Duarte et al. (2024a)
5	δ -2-careno	0,4	998	1001	NI
6	α - felandreno	15,0	1008	1002	Perumalsamy; Kim; Ahn (2009)
7	δ -3-careno	1,3	1011	1008	Lee; Ahn (2013)
8	α -terpineno	0,8	1018	1014	Almadiy (2020)
9	<i>p</i> -cimeno	19,7	1025	1020	Duarte et al. (2024a)
10	Limoneno	2,4	1030	1024	Hoi et al. (2020)
11	1,8-cineol	11,4	1033	1026	Borrero-Landazabal; Duque; Mendez-Sanchez (2020)
12	(E)- β -ocimeno	0,2	1045	1044	NI
13	γ -terpineno	0,9	1058	1054	Dhinakaran; Mathew; Munusamy (2019)
14	Terpinoleno	25,2	1087	1086	Ali et al. (2015)
15	<i>p</i> -cimeneno	0,3	1092	1089	NI
16	Linalol	0,5	1100	1095	Govindarajan (2010); Huang et al. (2020b)
17	cis-tujona	0,2	1104	1101	NI
18	trans-dihidro- β -terpineol	0,0	1132	1134	NI
19	(E)-epóxi-ocimeno	1,1	1144	1137	NI
20	Borneol	0,3	1175	1155	Rajkumar; Jebanesan (2010)
21	terpinen-4-ol	0,3	1182	1174	Perumalsamy; Kim; Ahn (2009)
22	ρ -metil-acetofenona	0,0	1187	1179	NI
23	ρ -cimen-8-ol	2,1	1188	1179	NI
24	o-cumenol	0,5	1197	1196	NI
25	γ -terpineol	1,9	1205	1199	NI
Monoterpenos		74,0			
Monoterpenoides oxigenados		17,0			
Total		92,3			

Fonte: autoria própria.

Legenda: Índice de retenção calculado (IR_c), índice de retenção relatado em trabalhos anteriores (IR_l) (Adams, 2017), Não identificado (NI).

De acordo com a literatura, α -felandreno é o composto majoritário da maioria dos óleos das folhas de *C. longa* analisados, apesar de apresentar terpinoleno, *p*-cimeno e 1,8-cineol em

diferentes concentrações (SINDHU et al., 2011; DOSOKY; SETZER, 2018; ALBAQAMI et al., 2022; VISAHK et al., 2023). Essien et al. (2015) em análise de cluster de diversos estudos apontou que a diferença na composição química entre as extrações pode ocorrer devido a existência de sete quimiotipos diferentes dos óleos essenciais das folhas de *C. longa* relatados até o momento: (1) quimiotipo rico em ar-turmerona; (2) quimiotipo rico em α -felandreno; (3) quimiotipo rico em terpinoleno; (4) quimiotipo rico em β -sesquifelandreno; (5) quimiotipo rico em *p*-cimeno; (6) quimiotipo rico em 1,8-cineol; (7) quimiotipo rico em mirceno.

Essas variações na composição química dos óleos essenciais de *C. longa* podem ser influenciadas por diversas variáveis, como época do ano em que as plantas são colhidas, o estágio de crescimento da planta, às condições ambientais, o local de cultivo e a parte da planta. Dessa forma, a diversidade de quimiotipos pode justificar as diferenças observadas nos perfis de compostos bioativos e, conseqüentemente, nas propriedades terapêuticas e biológicas desses óleos essenciais (FAUSTINO et al., 2020; VISAHK et al., 2023). Os resultados mostram que o óleo usado neste trabalho se enquadra no quimiotipo rico em terpinoleno.

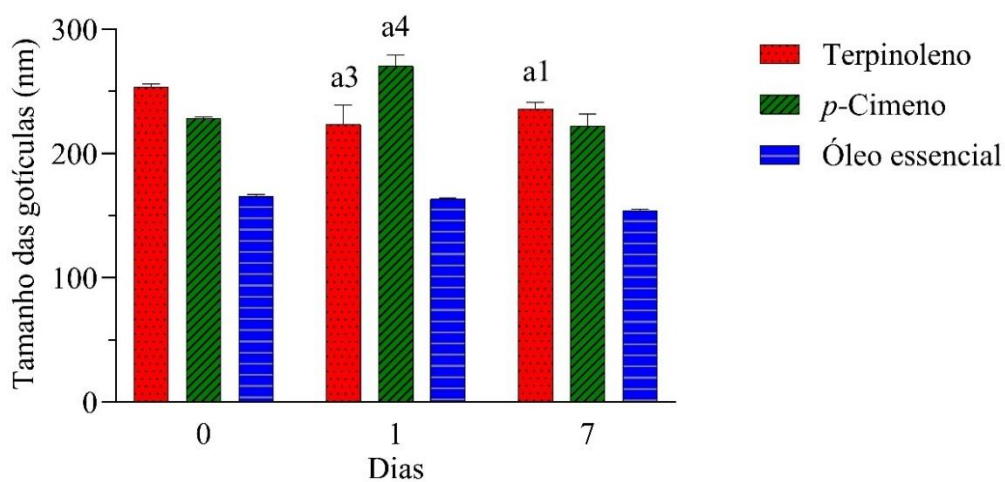
A Tabela 2 apresenta estudos anteriores sobre a atividade larvica de compostos isolados identificados no óleo essencial das folhas de *C. longa* contra *Ae. aegypti*. A partir desses dados, observa-se que uma parcela significativa dos compostos detectados no óleo apresenta ação larvica, incluindo os constituintes majoritários. Essa evidência reforça o potencial do óleo essencial extraído das folhas de *C. longa* como um candidato promissor para o controle desse vetor, sobretudo considerando a possível ação sinérgica entre suas substâncias ativas (PAVELA, 2015a). Dessa forma, a caracterização química dos constituintes associada aos dados de atividade biológica fornece suporte para investigações acerca do potencial larvica do óleo.

5.2 NANOEMULSÕES

As propriedades voláteis dos óleos essenciais e de seus constituintes químicos motivaram a preparação de nanoemulsões por meio de um método isento de solventes e de baixa energia. Esse processo utilizou tensoativos não iônicos e foi realizado à temperatura ambiente, evitando perdas por volatilização. As formulações seguiram a metodologia descrita por Flexa-Ribeiro et al. (2025), com equilíbrio hidrofílico-lipofílico (EHL) de 16,7 para a nanoemulsão do óleo essencial das folhas da *C. longa*, e EHL 15 para as nanoemulsões dos

compostos majoritários (*p*-cimeno e terpinoleno). As Figuras 6 e 7 apresentam os dados referentes ao tamanho médio das gotículas e ao índice de polidispersão (IPD) das nanoemulsões formuladas com óleo essencial de *C. longa*, bem como das nanoemulsões contendo os constituintes majoritários terpinoleno e *p*-cimeno.

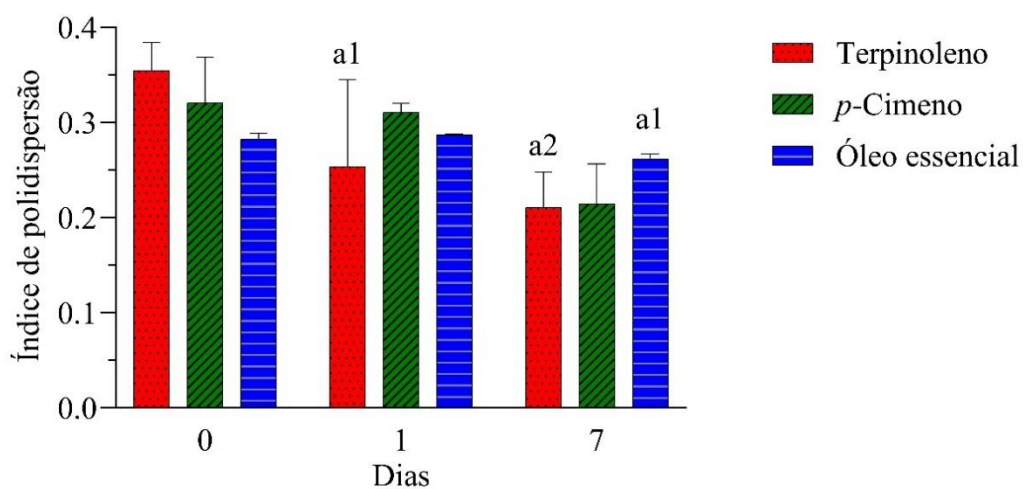
Figura 6 - Tamanho médio das gotículas das nanoemulsões das folhas de *C. longa* e de seus compostos majoritários



Fonte: autoria própria.

Legenda: a1: $p < 0,05$, a3: $p < 0,001$, a4: $p < 0,0001$, em comparação ao dia 0. $n = 3$.

Figura 7 - Índice de polidispersão das nanoemulsões das folhas de *C. longa* e de seus compostos majoritários



Fonte: autoria própria.

Legenda: a1: $p < 0,05$, a2: $p < 0,01$, em comparação ao dia 0. $n = 3$.

A nanoemulsão do óleo essencial das folhas da *C. longa* apresentou aspecto visual característico, com coloração branca e reflexo azulado, sem evidências de sedimentação ou separação de fases, indicando boa estabilidade macroscópica.

O tamanho hidrodinâmico das nanoemulsões é determinado por meio da técnica de EDL, que se fundamenta no movimento browniano das partículas em suspensão. Em termos amplos, sistemas cujas gotículas apresentam tamanhos entre 20 e 300 nm podem ser classificados como nanoemulsões (SY et al., 2018). No dia 0, a análise de tamanho de partícula revelou que a nanoemulsão contendo o óleo essencial das folhas de *C. longa* apresentou diâmetro hidrodinâmico médio de $165,4 \pm 1,735$ nm. Essa formulação demonstrou estabilidade ao longo dos 7 dias, sem variações significativas no tamanho das gotículas. Em relação às nanoemulsões formuladas com os compostos majoritários isolados, observou-se comportamento distinto. A nanoemulsão de terpinoleno apresentou diâmetro inicial de $253,7 \pm 2,2$ nm, com uma redução significativa no 1º dia ($223,5 \pm 15,4$ nm, $p < 0,001$), seguida de aumento no 7º dia para $236,2 \pm 5,2$ nm, ainda com diferença estatisticamente significativa em relação ao dia 0 ($p < 0,05$). Na nanoemulsão de *p*-cimeno, o diâmetro inicial das gotículas foram de $228,2 \pm 1,5$ nm, com um aumento significativo no 1º dia ($270,3 \pm 8,8$ nm, $p < 0,0001$), seguido por redução no 7º dia para $222,2 \pm 9,6$ nm, valor que não diferiu significativamente do dia 0. Apesar das variações observadas ao longo do tempo, ambas as formulações com os compostos isolados apresentaram, ao final de 7 dias, tamanhos de gotícula comparáveis aos valores iniciais, sugerindo estabilidade. Os dados indicam que o terpinoleno mostrou maior instabilidade inicial, com variações estatisticamente significativas nos dias 1 e 7, enquanto o *p*-cimeno exibiu uma alteração significativa apenas no dia 1, com recuperação do perfil original até o final do período.

O IPD é um parâmetro que avalia a uniformidade na distribuição dos tamanhos das gotículas. Esse índice varia de 0 a 1, sendo que valores mais baixos ($< 0,6$) indicam uma distribuição mais homogênea ou próxima de monodispersa, enquanto valores mais altos ($> 0,7$) sugerem uma distribuição mais heterogênea ou polidispersa, frequentemente relacionada à presença de gotículas maiores ou agrupadas (FLEXA-RIBEIRO et al., 2025). Distribuições com IPD abaixo de 0,25 são indicativas de estreita uniformidade, o que pode favorecer a estabilidade das nanoemulsões a longo prazo (SHARMA et al., 2020). Nanoemulsão de *C. longa* apresentou IPD inicial de $0,283 \pm 0,006$, com ligeiro aumento no 1º dia ($0,287 \pm 0,002$) e redução no 7º dia ($0,262 \pm 0,005$). A diferença observada no 7º dia foi estatisticamente

significativa ($p < 0,05$), indicando melhora na uniformidade das gotículas ao longo do tempo. A nanoemulsão de terpinoleno apresentou IPD inicial de $0,355 \pm 0,029$, reduzindo para $0,321 \pm 0,048$ no 1º dia ($p < 0,05$), e para $0,254 \pm 0,091$ no 7º dia, com diferença estatisticamente significativa em relação ao dia 0 ($p < 0,01$). Essa evolução demonstra aumento na estabilidade coloidal, com melhor dispersão e menor heterogeneidade das gotículas ao final do período. Por fim, a nanoemulsão de *p*-cimeno apresentou IPD inicial de $0,311 \pm 0,0092$, com redução significativa já no 1º dia para $0,211 \pm 0,037$, valor que se manteve estável no 7º dia ($0,215 \pm 0,042$), embora sem diferenças estatisticamente significativas após o dia 1. Esse comportamento indica uma rápida estabilização e boa homogeneidade da formulação. De maneira geral, todos os sistemas nanoemulsionados apresentaram valores de IPD dentro ou próximos dos limites aceitáveis ao longo do tempo, evidenciando boa qualidade das formulações e tendência à estabilização. Embora termodinamicamente instáveis, as nanoemulsões apresentaram estabilidade cinética ao longo do tempo, o que reforça a importância do monitoramento regular dos parâmetros físico-químicos para garantir sua estabilidade durante o armazenamento (FAUSTINO et al., 2020).

Os óleos essenciais são compostos com baixa solubilidade em água, alta lipofilicidade e volatilidade, rápida degradação e instabilidade estrutural no meio biológico, o que restringe fortemente sua aplicabilidade biológica (BILIA; PIAZZINI; BERGONZI, 2020). Especificamente, os monoterpenos possuem propriedades inerentes, como a reduzida solubilidade em água e elevada volatilidade, o que transforma a possibilidade de formulações um obstáculo complexo (DUARTE et al., 2024b). Os métodos de emulsificação de baixa energia são amplamente utilizados para desenvolver nanoemulsões estáveis, especialmente para encapsular compostos sensíveis ao calor, como óleos essenciais (FAUSTINO et al., 2020). Contudo, a estabilidade dessas formulações pode ser comprometida pelo amadurecimento de Ostwald, fenômeno em que componentes da fase oleosa apresentam solubilidade na fase aquosa, resultando na fusão de gotículas menores e no aumento do tamanho das estruturas; O amadurecimento composicional, que atua como uma força contrária ao amadurecimento de Ostwald, favorecendo a estabilidade em sistemas com óleos essenciais (RAO; MCCLEMENTS, 2012). Para minimizar esse efeito, a utilização de misturas de tensoativos, como polissorbatos e sorbitanos, tem se mostrado eficaz, permitindo a formação de sistemas altamente estáveis com durabilidade superior a 12 meses (PENICHE et al., 2022). Além disso, a preparação sem solventes apresenta benefícios ambientais, alinhando-se a práticas

sustentáveis e reduzindo impactos ecológicos (OLIVEIRA et al., 2017b). Assim, a nanoemulsão desenvolvida combina estabilidade e sustentabilidade, sendo uma estratégia promissora para o encapsulamento eficiente de óleos essenciais.

Óleos essenciais, devido à sua volatilidade, enfrentam desafios em aplicações de longo prazo, como no controle de mosquitos. A utilização de tecnologias como nanoemulsões tem aumentado a eficácia e a durabilidade desses compostos. A nanoemulsão, que utiliza tensoativos não iônicos, é ideal para encapsular pesticidas, pois esses tensoativos são mais estáveis em condições de pH e força iônica variáveis, além de promoverem uma entrega eficaz de ingredientes bioativos às pragas. Em relação ao controle de mosquitos, a nanoemulsão atua como um sistema de entrega que melhora a estabilidade e a liberação dos ingredientes ativos, aumentando sua eficácia. A nanoformulação ainda oferece vantagens como maior solubilidade e proteção contra a degradação prematura dos compostos ativos (HIKAL et al., 2023).

De acordo com os dados apresentados por Mossmann et al. (2024), todas as nanoemulsões formuladas com o óleo essencial das folhas de *C. longa* exibiram características de estabilidade e uniformidade, com tamanho de gotícula inferior a 300 nm e IPD menor que 0,2. Esses resultados corroboram com os encontrados no presente estudo e indicam que as nanoemulsões apresentaram uma distribuição monodispersa, sem tendência à agregação das gotículas, o que reforça a qualidade e a estabilidade das formulações preparadas.

5.3 ATIVIDADE LARVICIDA DAS NANOEMULSÕES

Para avaliar a atividade larvicida das nanoemulsões de *C. longa* e dos seus principais constituintes, *p*-cimeno e terpinoleno, foi realizado inicialmente um ensaio preliminar (screening) (WHO, 2005). Nesse ensaio, larvas de *Ae. aegypti* no terceiro instar foram expostas a uma ampla gama de concentrações das nanoemulsões, além dos controles com as nanoemulsões brancas (sem ativo) e de água destilada, com o objetivo de determinar a faixa de atividade larvicida dos compostos testados. A definição das primeiras concentrações testadas foi baseada em estudos prévios que avaliaram o efeito larvicida do óleo essencial das folhas de *C. longa* (AJAIYEGBA et al., 2008; ALI et al., 2015).

Foi necessário realizar sucessivos ensaios preliminares, pois as primeiras concentrações selecionadas, variando entre 25 e 250 ppm, resultaram em 100% de mortalidade em todas as amostras, evidenciando a alta atividade larvicida dos compostos testados. Um segundo ensaio

preliminar foi então conduzido utilizando concentrações entre 1 e 25 ppm, identificando-se uma faixa de atividade larvicida entre 6 e 12 ppm para a nanoemulsão do óleo essencial das folhas de *C. longa* e entre 6 e 10 ppm para os compostos majoritários *p*-cimeno e terpinoleno. A partir dos resultados obtidos nos testes preliminares, foi realizado o ensaio de atividade larvicida com uma faixa de concentração mais estreita (geralmente entre 10% e 95% de mortalidade em 24 h ou 48 h) a fim de determinar os valores de CL₅₀ e CL₉₀ (WHO, 2005).

As Tabelas 3, 4 e 5 apresentam os percentuais de mortalidade larvicida induzidos por três diferentes concentrações das nanoemulsões contendo óleo essencial das folhas de *C. longa* e seus compostos majoritários, *p*-cimeno e terpinoleno. Após 24 horas de exposição, os tratamentos com a nanoemulsão de *C. longa* apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si ($p < 0,05$), com percentuais de mortalidade de $24 \pm 19,49\%$ a 6 ppm, $74 \pm 5,48\%$ a 8 ppm e $94 \pm 5,48\%$ a 12 ppm (Tabela 3). Todos os tratamentos também se mostraram significativamente diferentes dos grupos controle ($p < 0,05$). No entanto, não houve diferença significativa entre as mortalidades observadas após 24 e 48 horas.

Tabela 3 - Percentual de mortalidade (média $\pm$ desvio padrão) larval de *Ae. aegypti* após o tratamento com diferentes concentrações das nanoemulsões das folhas de *C. longa* nos períodos de 24 e 48 horas

Tempo de exposição (horas)	Controle Água destilada	Controle Nanoemulsão 1	Controle Nanoemulsão 2	Grupos expostos - Nanoemulsão de <i>C. longa</i>		
				6 ppm	8 ppm	12 ppm
24	0,0 $\pm$ 0,0 ^a	0,0 $\pm$ 0,0 ^a	0,0 $\pm$ 0,0 ^a	24 $\pm$ 19,49 ^b	74 $\pm$ 5,477 ^c	94 $\pm$ 5,477 ^d
48	0,0 $\pm$ 0,0 ^a	0,0 $\pm$ 0,0 ^a	0,0 $\pm$ 0,0 ^a	28 $\pm$ 14,83 ^b	74 $\pm$ 5,477 ^c	94 $\pm$ 5,477 ^d

Fonte: autoria própria.

Legenda: letras sobrescritas diferentes representam diferenças significativas ($p < 0,05$).

A Tabela 4 apresenta os percentuais de mortalidade causados pelo tratamento com nanoemulsões de *p*-cimeno. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos controle e os tratados com 6 ppm, tanto após 24 quanto 48 horas de exposição ($p > 0,05$), com mortalidade de $10 \pm 0\%$ em ambos os casos. Por outro lado, as concentrações de 8 e 10 ppm apresentaram mortalidades significativamente maiores em relação ao grupo

controle em ambos os períodos ($p < 0,05$), com valores de $54 \pm 13,42\%$ e $68 \pm 10,95\%$, respectivamente. Não houve diferença significativa entre os tempos (24 h e 48 h) para essas duas concentrações, nem entre os próprios grupos de 8 e 10 ppm.

Tabela 4 - Percentual de mortalidade (média $\pm$ desvio padrão) larval de *Ae. aegypti* após o tratamento com diferentes concentrações das nanoemulsões de *p*-cimenos nos períodos de 24 e 48 horas

Tempo de exposição (horas)	Controle Água destilada	Controle Nanoemulsão 1	Controle Nanoemulsão 2	Grupos expostos - Nanoemulsão de <i>p</i> -cimenos		
				6 ppm	8 ppm	10 ppm
24	0,0 $\pm$ 0,0 ^a	0,0 $\pm$ 0,0 ^a	0,0 $\pm$ 0,0 ^a	10 $\pm$ 0,0 ^a	54 $\pm$ 13,42 ^b	68 $\pm$ 10,95 ^b
48	0,0 $\pm$ 0,0 ^a	0,0 $\pm$ 0,0 ^a	0,0 $\pm$ 0,0 ^a	10 $\pm$ 0,0 ^a	54 $\pm$ 13,42 ^b	68 $\pm$ 10,95 ^b

Fonte: autoria própria.

Legenda: letras sobrescritas diferentes representam diferenças significativas ($p < 0,05$).

A indução de mortalidade causada pelas três concentrações da nanoemulsão de terpinoleno foi estatisticamente diferente do grupo controle em ambos os tempos de exposição ($p < 0,05$), sem variação significativa entre os períodos de 24 e 48 horas (Tabela 5). O maior percentual de mortalidade foi observado no grupo tratado com 10 ppm, que atingiu $100 \pm 0\%$ após 24 horas. A concentração de 6 ppm resultou em mortalidades de $40 \pm 14,14\%$ e $58 \pm 8,37\%$, enquanto o grupo tratado com 8 ppm apresentou $86 \pm 26,08\%$ e $90 \pm 22,36\%$ de mortalidade após 24 e 48 horas, respectivamente. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos com 8 e 10 ppm.

Tabela 5 - Percentual de mortalidade (média $\pm$ desvio padrão) larval de *Ae. aegypti* após o tratamento com diferentes concentrações das nanoemulsões de terpinoleno nos períodos de 24 e 48 horas

Tempo de exposição (horas)	Grupos expostos - Nanoemulsão de terpinoleno					
	Controle Água destilada	Controle Nanoemulsão 1	Controle Nanoemulsão 2	6 ppm	8 ppm	10 ppm
24	0,0 $\pm$ 0,0 ^a	0,0 $\pm$ 0,0 ^a	0,0 $\pm$ 0,0 ^a	40 $\pm$ 14,14 ^b	86 $\pm$ 26,08 ^c	100 $\pm$ 0,0 ^c
48	0,0 $\pm$ 0,0 ^a	0,0 $\pm$ 0,0 ^a	0,0 $\pm$ 0,0 ^a	58 $\pm$ 8,367 ^b	90 $\pm$ 22,36 ^c	100 $\pm$ 0,0 ^c

Fonte: autoria própria.

Legenda: letras sobrescritas diferentes representam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Na avaliação da atividade larvicida das nanoemulsões, observou-se que não há diferença significativa entre as mortalidades registradas em 24 e 48 horas, indicando que o tempo não é um fator determinante na eficácia larvicida, e que os compostos exercem sua ação tóxica predominantemente nas primeiras 24 horas após a exposição. Não foi registrada mortalidade nos grupos controle, sugerindo que o efeito larvicida é diretamente atribuído ao óleo essencial incorporado na nanoformulação avaliada. Adicionalmente, observou-se que os efeitos larvicidas variaram de acordo com a concentração empregada, com diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos com nanoemulsões de *C. longa* e terpinoleno, indicando uma resposta dose-dependente para essas formulações. Por outro lado, nas nanoemulsões de *p*-cimeno, apenas as concentrações de 8 e 10 ppm diferiram do grupo controle, sem diferenças significativas entre si, nem em relação ao tempo de exposição, indicando uma resposta larvicida eficaz, mas não estritamente dose-dependente nessa faixa de concentração.

Os ensaios de mortalidade realizados permitiram o cálculo das concentrações letais para diferentes nanoemulsões testadas em larvas de *Ae. aegypti* após 24 horas de exposição. A Tabela 6 apresenta as concentrações em ppm (partes por milhão) que resultaram na mortalidade de 50% (CL₅₀) e 90% (CL₉₀) das larvas. No tratamento com a nanoemulsão de *C. longa*, a CL₅₀ foi determinada em 7,085 ppm, enquanto a CL₉₀ foi de 10,321 ppm. Para a nanoemulsão de *p*-cimeno, a CL₅₀ registrada foi de 8,329 ppm, com uma CL₉₀ de 12,199 ppm. Por fim, o tratamento com a nanoemulsão de terpinoleno resultou em uma CL₅₀ de 7,736 ppm e uma CL₉₀

de 10,585 ppm. Não foi possível calcular as concentrações letais após 48 horas de exposição devido ao alto percentual de mortalidade.

Tabela 6 - Estimativas das concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₀) das nanoemulsões de *C. longa*, *p*-cimeno e terpinoleno após 24 horas de exposição

Nanoemulsão	CL ₅₀ (ppm)	CL ₉₀ (ppm)
<i>C. longa</i>	7,085 (6,523-7,602)	10,321 (9,376-12,086)
<i>p</i> -cimeno	8,329 (7,794-8,972)	12,199 (10,835-15,257)
Terpinoleno	7,736 (7,109-8,990)	10,585 (9,073-16,331)

Fonte: autoria própria.

Legenda: CL₅₀ e CL₉₀ expressas em ppm (limite inferior–limite superior).

A OMS não determinou um critério padronizado para avaliar a atividade larvicida de produtos naturais. No entanto, diversos pesquisadores têm adotado parâmetros amplamente aceitos para essa classificação, sendo que compostos com CL₅₀ > 100 mg/L são classificados como inativos, enquanto aqueles com CL₅₀ < 100 mg/L são considerados ativos, e os que apresentam CL₅₀ < 50 mg/L são descritos como altamente ativos (CHENG et al., 2003; DIAS; MORAES, 2014; PAVELA, 2015a). Dessa forma, é possível concluir que a nanoemulsão do óleo essencial das folhas de *C. longa* é altamente ativo contra *Ae. aegypti*, apresentando CL₅₀ < 6 ppm, mais 8 vezes menor que o valor exposto.

Estudos anteriores com o óleo essencial das folhas de *C. longa* demonstraram atividade larvicida para *Ae. aegypti* e *Anopheles quadrimaculatus*. Para *Ae. aegypti*, foram obtidos valores de CL₅₀ de 138,3 ppm e CL₉₀ de 169,1 ppm, enquanto para *An. quadrimaculatus* os valores de CL₅₀ foram de 26,2 ppm e CL₉₀ de 46,0 ppm. No mesmo estudo, o terpinoleno apresentou CL₅₀ de 14,0 ppm e CL₉₀ de 21,4 ppm para *Ae. aegypti*, e CL₅₀ de 20,9 ppm e CL₉₀ de 36,8 ppm para *An. quadrimaculatus* (ALI et al., 2015). Além disso, a atividade larvicida do óleo essencial das folhas de *C. longa* foi avaliada contra *Anopheles gambiae*, apresentando CL₅₀ de 29 ppm (AJAIYEGBA et al., 2008). Esses resultados indicam que a nanoemulsão testada no presente estudo exibiu atividade larvicida significativamente superior quando comparadas aos dados disponíveis na literatura sobre o óleo isolado.

O *p*-cimeno e o terpinoleno são monoterpenos de hidrocarbonetos que já demonstraram alto potencial como agentes larvicidas contra *Ae. aegypti* (SERDEIRO et al., 2023; DUARTE et al., 2024a) outros mosquitos vetores de arboviroses como *Cx. quinquefasciatus* (PAVELA et al., 2018), mas devido à característica lipofílica dos terpenos e sua alta volatilidade, eles podem oferecer uma eficácia limitada contra mosquitos em um ambiente natural (DUARTE et al., 2024a). A incorporação desses terpenos em nanoemulsões se mostra como uma alternativa para alcançar maior estabilidade e eficácia em meio aquoso.

Serdeiro et al. (2023) encontrou um valor de CL₅₀ de 23 ppm para o *p*-cimeno contra larvas de *Ae. aegypti*, enquanto Duarte et al. (2024a) apresentou o valor de 14 mg/L. Já Pavela et al. (2018) encontrou uma CL₅₀ de 20,6 µl/l) *Culex quinquefasciatus*. O presente estudo apresentou um valor significativamente menor quando usada a nanoemulsão de *p*-cimeno, de 4,608 ppm, principalmente ao comparar com a nanoemulsão testada por Duarte et al. (2024a) CL₅₀ 14,0 ppm.

A ação inseticida do terpinoleno contra larvas de mosquitos vetores têm sido amplamente investigada. Silva et al. (2016) e Ali et al. (2015) avaliaram a eficácia larvicida do terpinoleno em *Ae. aegypti*, registrando valores de CL₅₀ de 31,16 ppm e 14,0 ppm, respectivamente. Outros estudos abordaram diferentes espécies de vetores: *Culex quinquefasciatus*, com CL₅₀ de 25,71 ppm (PAVELA et al., 2018); *Anopheles quadrimaculatus*, com 20,9 ppm (ALI et al., 2015); *Anopheles gambiae*, com 404,71 ppm (KWEKA et al., 2016); e *Culex pipiens pallens*, com 11,85 ppm (PERUMALSAMY; KIM; AHN, 2009). Menezes et al. (2021) considera o terpinoleno isolado um composto promissor no desenvolvimento de formulações inseticidas comerciais, atuando tanto como princípio ativo quanto como adjuvante, dada sua elevada eficácia contra larvas de mosquitos. Dessa forma, a nanoemulsão de terpinoleno utilizada neste estudo pode potencializar a eficácia do óleo essencial.

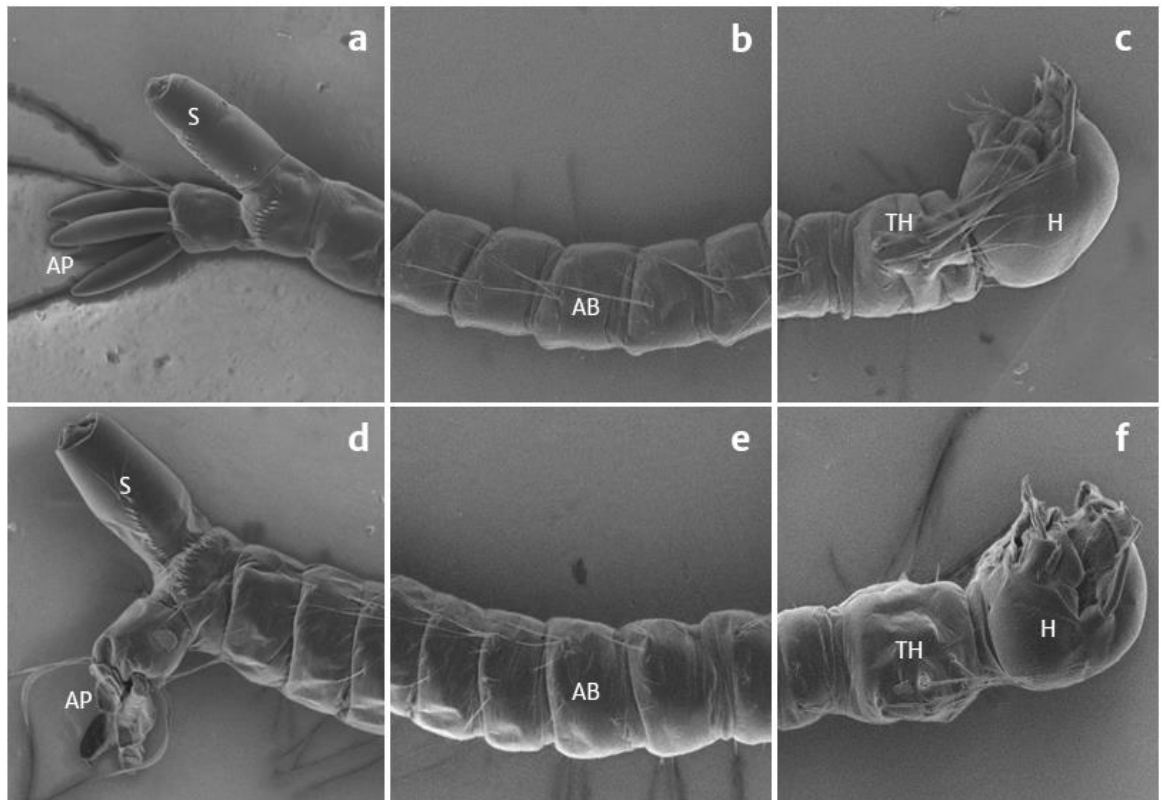
Vários estudos que avaliaram a atividade larvicida de óleos essenciais de plantas identificaram a presença de *p*-cimeno e terpinoleno em suas composições. Por exemplo, *Trachyspermum ammi*, *Sison amomum* e *Echinophora spinosa* mostraram eficácia contra *Culex quinquefasciatus* (PAVELA et al., 2018). Da mesma forma, *Cryptomeria japonica* demonstrou atividade contra *Ae. aegypti* e *Aedes albopictus* (CHENG et al., 2009), enquanto espécies de Piper foram eficazes contra *Ae. aegypti* (PEREIRA-FILHO et al., 2021). Além disso, foi comprovado *p*-cimeno e terpinoleno possuem efeito sinérgico contra larvas de *Culex*

quinquefasciatus (PAVELA, 2015b), sendo possível que a ação larvícida observada na nanoemulsão das folhas de *C. longa* seja resultado do efeito sinérgico desses constituintes.

5.4 ANÁLISE MORFOLÓGICA DAS LARVAS

As imagens por MEV (Figura 8 a-f) e microscopia óptica (Figura 9 a–c) demonstraram que as larvas do grupo controle permaneceram com aparência normal nas regiões da cabeça, tórax, segmentos do abdômen, papilas anais e sifão respiratório, além da cutícula não apresentar alterações nesse grupo. No grupo tratado com a nanoemulsão de *C. longa*, a microscopia eletrônica de varredura evidenciou alteração na cutícula da larva nas regiões do tórax, segmentos do abdômen e sifão respiratório, bem como destruição das papilas anais (Figura 8 d). A estrutura da cabeça não exibiu alteração na morfologia. A análise por microscopia óptica do grupo tratado revelou alterações internas nas regiões do abdômen e tórax (Figura 8 e-f) ao longo de todo tubo digestivo, bem como a destruição das papilas anais (Figura 8 d). Entretanto, não foram visualizados danos no sifão, segmentos do abdômen, cabeça e cutícula.

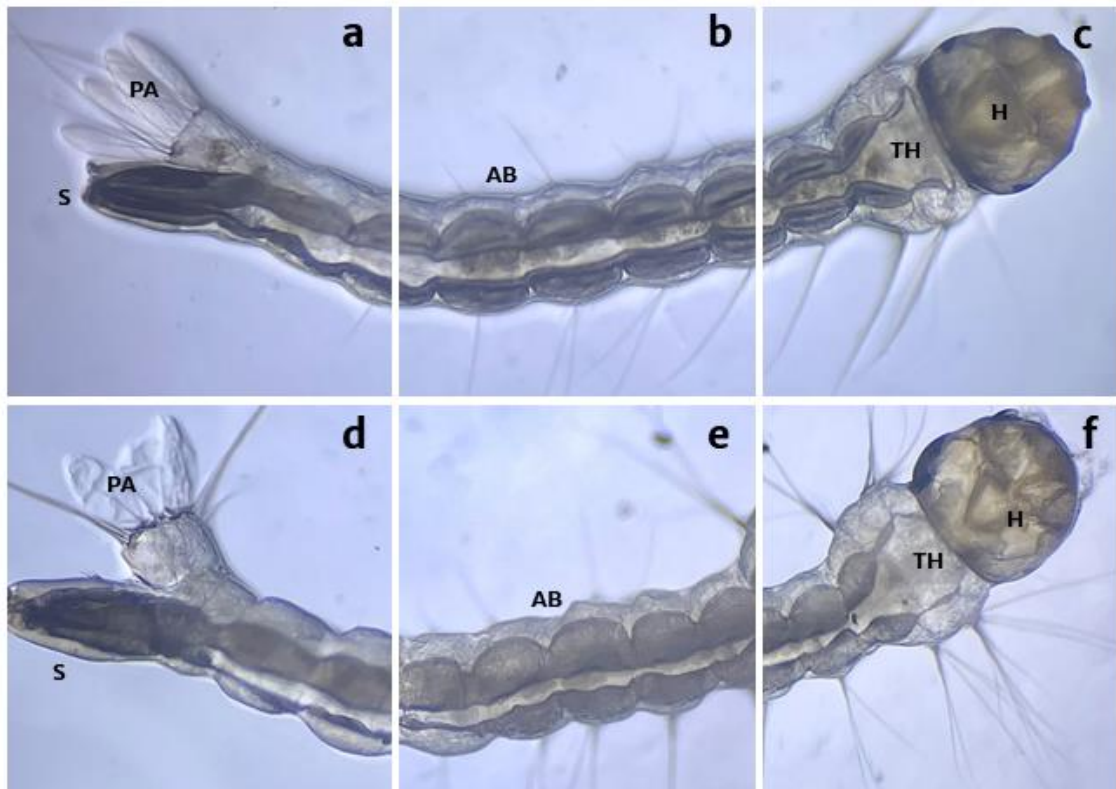
Figura 8 - Microscopia eletrônica de varredura de larvas de *Ae. aegypti*



Fonte: autoria própria.

Legenda: Controle (a–c) sem alterações morfológicas na cabeça (H), tórax (TH), segmentos do abdômen (AB), sifão (S) e papilas anais (AP). Larvas tratadas com nanoemulsão de *C. longa* a 12 ppm (d–f) mostrando alterações nas cutículas e papilas anais (AP).

Figura 9 - Microscopia óptica de larvas de *Ae. aegypti*



Fonte: autoria própria.

Legenda: Controle (a–c) sem alterações morfológicas na cabeça (H), tórax (TH), segmentos do abdômen (AB), sifão (S) e papilas anais (AP). Larvas tratadas com nanoemulsão de *C. longa* a 12 ppm (d–f) mostrando alterações nas papilas anais (AP) e tubo digestivo.

Há compostos fitoquímicos provenientes de plantas que possuem potencial para causar mortalidade aos mosquitos em diferentes fases de desenvolvimento, provocando modificações morfológicas durante a morte do inseto (SOONWERA et al., 2022). A cutícula é uma membrana secretada pela epiderme que recobre o corpo dos insetos. Essa barreira possui função protetora e estrutural, sofrendo renovação durante o crescimento dos insetos, além de auxiliar na mobilidade (MOUSSIAN, 2010; LIAO et al., 2017). As deformações cuticulares observadas no *Ae. aegypti* por MEV sugerem a possível atuação da nanoemulsão de *C. longa* na cutícula da larva, este comprometimento estrutural pode influenciar a motilidade e o desenvolvimento larval, além de auxiliar na letalidade (MACHADO et al., 2023). A penetração por meio da cutícula é uma das vias de ação dos larvicidas (KASAI et al., 2014). Uma vez dentro das larvas, os inseticidas têm a capacidade de atingir alvos específicos ou causar efeitos sistêmicos através da difusão em diversos tecidos (SOUZA et al., 2012). Observou-se alterações similares em

estudos que avaliaram a atividade larvicida de nanoemulsões de óleos essenciais contra larvas de *Ae. aegypti* e *Culex quinquefasciatus* (PENICHE et al., 2022; MACHADO et al., 2023).

A análise por microscopia óptica revelou deformações ao longo do tubo digestivo das larvas tratadas com a nanoemulsão de *C. longa* (Figura 9 e). Estudos sugerem que essas alterações no tubo digestivo são resultantes da ação larvicida dos inseticidas, que causam danos fisiológicos e morfológicos nas células epiteliais do intestino médio das larvas, região possivelmente envolvida na absorção desses compostos (ALVES; SERRÃO; MELO, 2010). Além disso, essas alterações estão associadas à atividade antialimentar, conforme relatado por Lade et al. (2019). Combinações de óleos essenciais de plantas também induziram danos no trato gastrointestinal de *Ae. aegypti* e *Aedes albopictus* (SOONWERA et al., 2022). Constatou-se também um leve estreitamento do tubo digestivo (Figura 9 e). Alterações morfológicas semelhantes foram relatadas por Barreto et al. (2006), sendo possível que essa modificação seja uma resposta defensiva da larva para reduzir o contato com o larvicida ou ainda o resultado de movimentos peristálticos destinados a expulsar o agente agressor do tubo digestivo.

As papilas anais são responsáveis pela osmorregulação e excreção de resíduos metabólicos nas larvas de *Ae. aegypti* (SOHAL; COPELAND, 1966; DURANT et al., 2021). Nas larvas tratadas com a nanoemulsão de *C. longa*, observou-se a destruição total dessas estruturas (Figura 8-f e Figura 9-f). Dados semelhantes ao presente estudo foram identificados em análise sobre a atividade larvicida de nanoemulsões híbridas à base de sulfeto de cobre e óleo de eucalipto, que revelaram a ruptura completa das papilas anais em larvas de *Ae. aegypti* (SANDHU; VASHISHAT; KOCHER, 2023). De acordo com Chaithong et al. (2006), danos severos na estrutura morfológica das papilas anais levam a disfunção e comprometem a regulação osmótica e iônica, o que pode estar associado à morte das larvas.

Figura 10 - Larvas tratadas com nanoemulsão das folhas de *C. longa*



Fonte: autoria própria.

A análise morfológica revelou que as larvas tratadas com a nanoemulsão de *C. longa* apresentaram torção do corpo (Figura 10). De maneira semelhante, a nanoemulsão de *Thymus vulgaris* aplicada em larvas de *Anopheles stephensi*, *Ae. aegypti* e *Cx. tritaeniorhynchus* causou encurtamento e distorção do corpo, além de distorção abrupta em direção à região anal (GUPTA et al., 2022). Da mesma forma, o óleo essencial de *Origanum vulgare* e *Thymus vulgaris* causou curvatura do abdômen em larvas (OLIVEIRA et al., 2021a). Ragavendran et al. (2019) investigaram os efeitos de extratos vegetais sobre larvas e relataram alterações morfológicas e comportamentais significativas, incluindo distorções corporais e danos nas estruturas anais. As larvas expostas a esses extratos exibiram comportamentos anormais, como inquietação e excitação excessiva, além de movimentos alterados, como automordidas e contorções. Esses resultados indicam que os extratos vegetais utilizados podem causar toxicidade neurocomportamental e morfológica em larvas, similar aos achados do presente estudo.

Os experimentos conduzidos por Silva et al. (2016) para avaliar o efeito do terpinoleno nas enzimas intestinais de larvas de *Ae. aegypti* revelaram que essa substância é capaz de inibir a atividade das proteases no intestino larval, incluindo enzimas similares à tripsina. Esse efeito inibitório sugere que o terpinoleno interfere diretamente nas funções digestivas das larvas, atuando como um bloqueador das proteases, o que prejudica a hidrólise de proteínas e compromete a absorção de aminoácidos essenciais. Essa interrupção é crucial para o crescimento e desenvolvimento das larvas, levando-as à morte por inanição. Além disso, o terpinoleno, em combinação com o óleo essencial de *Piper corcovadensis*, demonstrou eficácia na inibição dessas proteases, indicando que o bloqueio das enzimas digestivas é um dos principais mecanismos de ação larvicida do composto.

A análise da ultraestrutura das larvas L3 de *Ae. aegypti* expostas ao *p*-cimeno revelou modificações significativas. Não foram identificados os contornos celulares, junções ou organelas, evidenciando uma completa desorganização dos tecidos. A cutícula da parede corporal apresentou deformações visíveis. Também foram observadas inclusões eletrondensas, mitocôndrias alteradas e vacuolização intensa. Sendo assim, as larvas tratadas mostraram alterações na camada externa do tegumento, sugerindo que essas substâncias afetam diretamente a estrutura da cutícula (SERDEIRO et al., 2023).

5.5 INIBIÇÃO DA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE

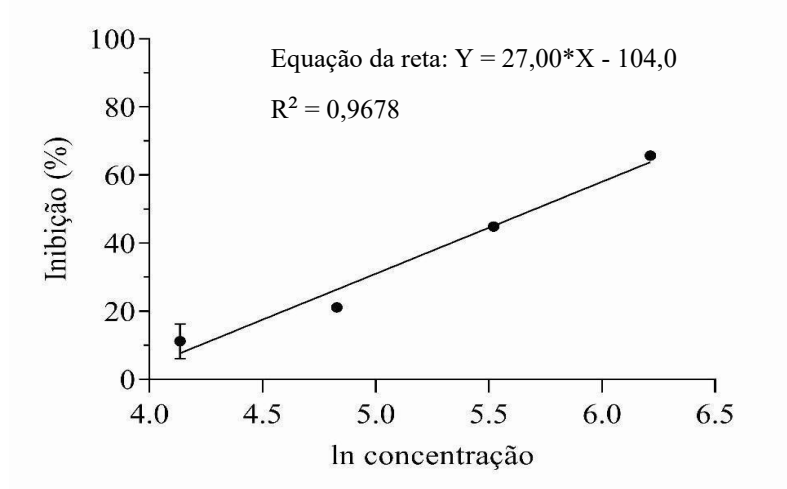
Com o objetivo de investigar um possível mecanismo de ação larvicida contra *Ae. aegypti*, foi avaliada a capacidade de inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) pelo óleo essencial das folhas de *C. longa*. O ensaio foi realizado utilizando concentrações de 62,5, 125,0, 250,0 e 500,0 µg/mL para verificar o potencial de inibição enzimática, conforme descrito na Tabela 7 e Figura 11. Os resultados demonstraram que o óleo essencial causou a inibição da AChE, com um valor de IC₅₀ calculado em 300,1 µg/mL (intervalo de confiança: 256,5–363,6; $p < 0,05$). Este valor reflete a concentração necessária para inibir 50% da atividade enzimática. Os achados sugerem que, a inibição da AChE pode ser um dos fatores responsáveis pelo efeito larvicida, porém outros mecanismos de ação podem estar envolvidos na letalidade observada, indicando a necessidade de investigações adicionais para elucidar as vias bioquímicas responsáveis pela atividade do óleo essencial.

Tabela 7 - Resultados do ensaio anticolinesterásico do óleo essencial das folhas de *C. longa*

Concentração (µg/mL)	ln concentração	Inibição enzimática (%)	
		Média	Desvio padrão
62,5	4,14	11,22	5,13
125,0	4,83	21,12	0,47
250,0	5,52	44,89	0,467
500,0	6,21	65,68	1,41

Fonte: autoria própria.

Figura 11 - Inibição enzimática da acetilcolinesterase pelo óleo essencial de *C. longa*



Fonte: autoria própria.

O gráfico apresenta a relação entre a concentração do óleo essencial de *C. longa* e a inibição da AChE. Como esperado, observa-se que, à medida que a concentração do óleo essencial aumenta, a inibição enzimática também se intensifica, evidenciando um comportamento dose-dependente. A equação da reta, $Y = 27,00 \cdot X - 104,0$, representa a relação linear entre a concentração do óleo essencial e o percentual de inibição da AChE. O valor de $R^2 = 0,9678$ indica que a equação ajusta muito bem aos dados experimentais, explicando 96,78% da variação na inibição enzimática com base nas concentrações utilizadas. Isso sugere uma forte correlação entre a concentração do óleo e a atividade inibitória observada.

A acetilcolina (ACh) é um neurotransmissor chave na comunicação entre neurônios e entre neurônios e músculos involuntários. Quando liberada nas sinapses, a ACh interage com receptores na membrana pós-sináptica, despolarizando-a e permitindo a transmissão do impulso nervoso. No entanto, para evitar uma estimulação contínua, a AChE, uma enzima presente na fenda sináptica, degrada rapidamente a acetilcolina em colina e acetato, encerrando a transmissão do sinal nervoso. Esse processo é crucial para a regulação da função neuromuscular e a restauração das condições normais na sinapse após cada estímulo (LEGAY, 2018). A inibição da atividade da AChE é um dos mecanismos mais relevantes em agentes de controle de pragas, pois compostos que bloqueiam essa enzima causam o acúmulo de acetilcolina nas sinapses colinérgicas, levando à excitação prolongada das fibras nervosas, resultando em paralisia e, eventualmente, na morte do inseto (RIBEIRO; VENDRAMIM; BALDIN, 2023).

Os óleos essenciais podem exercer efeitos neurotóxicos em insetos, resultando em sintomas similares aos causados por inseticidas convencionais (RIBEIRO; VENDRAMIM; BALDIN, 2023). Uma das principais ações de alguns grupos de inseticidas, como organofosforados e carbamatos, é a inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), essencial para o funcionamento normal do sistema nervoso dos insetos (SOUZA et al., 2021; KUMAR; BAGGI; ZUGHAI, 2022).

A ação dos compostos derivados de plantas, como os terpenoides, na inibição da AChE tem sido amplamente investigada em função de seu possível uso como agentes inseticidas. Um fator crucial na atividade inibitória da AChE é a afinidade de ligantes hidrofóbicos pelo sítio ativo da enzima, que apresenta sensibilidade a interações apolares. Os monoterpenos, com sua estrutura de hidrocarbonetos, podem favorecer essas interações, o que contribui para sua ação anticolinesterásica (MUKHERJEE; KUMAR; HOUGHTON, 2007). Alguns monoterpenoides também podem induzir uma inibição reversível da AChE, com a

função enzimática recuperada depois de 15 minutos de incubação (LOPEZ; PASCUAL-VILLALOBOS, 2010).

A inibição da acetilcolinesterase causada por extratos do rizoma de *C. longa* já foram extensivamente estudados (KHATTAK et al., 2005; HAJIMEHDIPOOR; TEHRANIFAR; SHAFAROODI, 2013; JUGREET et al., 2020; SUDEEP et al., 2020). Oliveira et al. (2021b), estudou os efeitos da enzima acetilcolinesterase sobre extratos das folhas de *C. longa* com diferentes solventes, apresentando valores de 99 ± 1 % (Mentol + Ácido láctico) e 30 ± 4 % (Mentol + Ácido acético) de inibição. Contudo, até onde sabemos, não há estudos que explorem essa atividade utilizando o óleo das folhas da planta.

Alguns estudos já exploraram o potencial inibitório dos compostos majoritários das folhas de *C. longa* sobre a enzima acetilcolinesterase, utilizando diferentes metodologias. Bonesi et al. (2010) investigaram a atividade inibitória do terpinoleno, obtendo uma concentração inibitória de 50% (IC₅₀) de $156,4 \pm 2,8$ µg/mL. Peschiutta et al. (2016) relataram que o *p*-cimeno apresentou uma inibição com IC₅₀ de $0,048 \pm 0,015$ mg/mL. Além disso, Gharib et al. (2024) demonstraram que o *p*-cimeno inibiu a atividade da AChE *in vivo* em larvas de *Musca domestica*, com um valor de $338,3 \pm 4,2$ µg AchBr/min/mg de proteína.

Atualmente, a maioria dos inseticidas disponíveis utilizam mecanismos de ação semelhantes, pertencentes às principais classes de compostos (piretróides, carbamatos, organofosforados e organoclorados). Isso resulta em um arsenal limitado para combater a resistência crescente, tornando urgente a pesquisa e exploração de compostos orgânicos com novos modos de ação (DUARTE et al., 2024a). Nesse cenário, é fundamental buscar alternativas mais eficientes e sustentáveis para o controle de vetores, pois o uso prolongado de inseticidas com o mesmo mecanismo de ação contribui para o desenvolvimento de resistência dos mosquitos.

Neste contexto, o óleo essencial de *C. longa* surge como uma alternativa promissora no controle de mosquitos, especialmente em estratégias de manejo integrado de vetores. Embora a inibição observada da AChE tenha sido moderada, o óleo essencial pode enriquecer o portfólio de produtos de controle ao oferecer mecanismos de ação distintos, reduzindo assim a probabilidade de resistência. Portanto, é crucial dar continuidade às investigações sobre a eficácia do óleo essencial, especialmente em combinação com outras abordagens, e avaliar sua aplicabilidade na formulação de novos agentes larvicidas e inseticidas naturais.

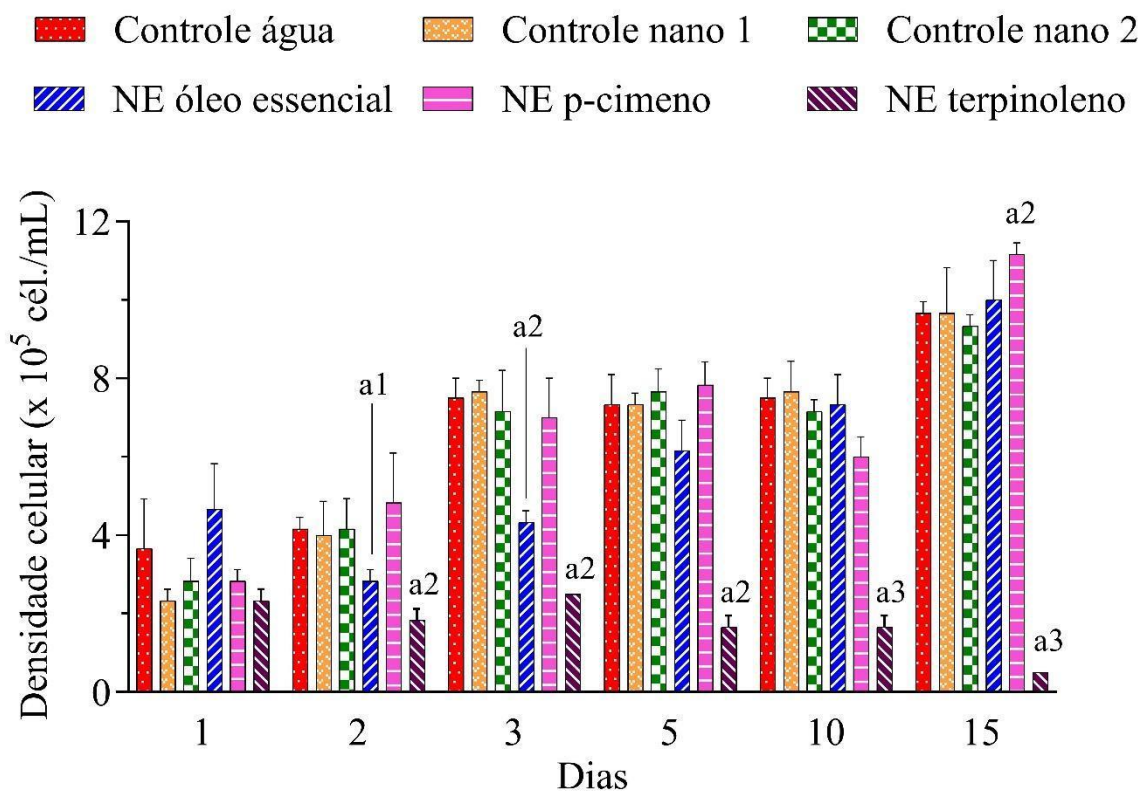
5.6 ANÁLISE DE TOXICIDADE AMBIENTAL COM *Chlorella vulgaris*

Os humanos são vulneráveis à poluição ambiental pela exposição a produtos químicos contaminantes presentes no ar, água, solo e alimentos, que se inserem na cadeia alimentar (SILVA et al., 2009). Entre os principais poluentes aquáticos estão pesticidas, metais pesados e produtos farmacêuticos (PRADO et al., 2015). As emissões destes compostos em corpos hídricos elevam temporariamente suas concentrações em águas superficiais, sendo capaz de gerar toxicidade em organismos aquáticos (PRADO et al., 2015). No caso de pesticidas, a aplicação no ambiente é direcionada para organismos alvos, mas há inevitavelmente dispersão desses produtos no ecossistema (SILVA et al., 2009). Sendo assim, os efeitos tóxicos impactam primeiramente organismos fitoplancônicos, que compõem o nível basal da cadeia alimentar, influenciando com efeitos tóxicos de natureza aditiva, sinérgica ou antagônica, entretanto, a bioacumulação é maior em organismos que representam o nível superior da cadeia alimentar (SILVA et al., 2009; PABLOS; GARCIA-HORTIGUELA; FERNANDEZ, 2015).

As microalgas planctônicas são uma alternativa vantajosa para testes de toxicidade em ambientes aquáticos devido à sua alta sensibilidade a mudanças ambientais, ciclo de vida curto (viabilizando a análise em diferentes gerações) e elevada densidade celular, permitindo análises reprodutíveis e confiáveis. Além disso, oferecem uma abordagem eficaz, ecológica e acessível em bioensaios *in vitro*, sendo uma opção viável frente a métodos analíticos mais dispendiosos e longos (SILVA et al., 2009; PRADO et al., 2015). A microalga *Chlorella vulgaris*, amplamente utilizada em estudos ecotoxicológicos, destaca-se por sua resposta rápida a poluentes e facilidade de cultivo, tornando-se um modelo interessante para testes de toxicidade (ADOCHITE; ANDRONIC, 2021; AJITHA et al., 2021).

Diante disso, foi conduzido um teste ecotoxicológico com o objetivo de avaliar a toxicidade ambiental da nanoemulsão do óleo essencial das folhas de *C. longa*, bem como de seus compostos majoritários, *p*-cimeno e terpinoleno, considerando sua potencial aplicação como pesticida em ambientes naturais. O ensaio baseou-se na comparação da densidade celular de *Chlorella vulgaris* na presença e ausência das nanoemulsões ao longo de 15 dias (Figura 12). Para esse teste, foi utilizada a concentração de 25 ppm, valor escolhido por representar mais que o dobro da CL₅₀ obtida para a nanoemulsão do óleo contra larvas de *Ae. aegypti*, permitindo, assim, avaliar a toxicidade em um cenário de exposição acentuada

Figura 12 - Variação da densidade celular de *Chlorella vulgaris* submetidas a nanoemulsões do óleo essencial das folhas de *C. longa* e de seus compostos majoritários ao longo do tempo



Fonte: autoria própria.

Legenda: a1 $p < 0,05$, a2 $p < 0,01$, a3 $p < 0,001$ em comparação ao controle não tratado (água). $n = 3$.

A nanoemulsão do óleo essencial das folhas da *C. longa* demonstrou toxicidade nos primeiros dias do experimento, com redução da densidade celular no 2º ($p < 0,05$) e 3º dia ($p < 0,01$) em relação ao controle. No entanto, a partir do 5º dia, observou-se um aumento na densidade celular, que se manteve sem diferenças significativas em comparação ao controle até o 15º dia, sendo, portanto, considerada não tóxica.

A nanoemulsão do majoritário *p*-cimeno não apresentou toxicidade ao longo dos 15 dias, apresentando no 15º dia maior densidade que controle ($p < 0,01$). Por outro lado, a nanoemulsão de terpinoleno foi a mais tóxica para o ambiente, reduzindo progressivamente a densidade celular após 1º dia. No 10º e 15º dia, essa redução tornou-se altamente significativa em relação ao controle ($p < 0,0001$), evidenciando seu maior impacto ecotoxicológico. As nanoemulsões brancas não apresentaram diferença significativa em relação ao controle contendo apenas água, indicando que os tensoativos utilizados na formulação não exerceram efeito tóxico sobre as microalgas.

Dessa forma, ao analisar o teste de ecotoxicidade das nanoemulsões do óleo essencial das folhas de *C. longa* e de seus compostos majoritários, observa-se que o comportamento intermediário do óleo pode ser atribuído à presença simultânea dos isolados: enquanto o *p*-cimeno promove o aumento da densidade celular, o terpinoleno provoca sua redução, o que sugere um possível equilíbrio entre efeitos antagônicos na composição final.

O teste de ecotoxicidade de uma nanoemulsão do óleo essencial das folhas de *C. longa* foi realizado anteriormente por Flexa-Ribeiro et al. (2025), com duração de três dias, avaliando a toxicidade aguda da formulação. A concentração utilizada neste estudo (36,5 ppm) foi superior à empregada no presente trabalho (25 ppm). Durante o experimento, não foram observadas diferenças significativas entre as densidades celulares da microalga *Chlorella vulgaris* em nenhum dos dias ($p > 0,05$), sugerindo que a nanoemulsão apresentou baixo potencial de causar impactos ambientais em ecossistemas aquáticos. Apesar de ambos os estudos utilizarem nanoemulsões compostas por óleo com os mesmos constituintes majoritários, as proporções diferem. No estudo de Flexa-Ribeiro et al. (2025), o *p*-cimeno foi o composto predominante (26,0%), seguido do terpinoleno (15,5%). Já na presente pesquisa, o terpinoleno é o composto majoritário (25,2%), enquanto o *p*-cimeno aparece em menor proporção (19,7%). Essa diferença na composição pode justificar a maior toxicidade observada em nosso teste, uma vez que, ao serem avaliadas isoladamente, a nanoemulsão de terpinoleno demonstrou toxicidade significativa sobre as células de *C. vulgaris*, ao contrário do *p*-cimeno, que apresentou comportamento não tóxico. Esse achado reforça a influência do perfil químico na resposta ecotoxicológica do óleo essencial.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente pesquisa evidenciou a alta eficácia larvicida da nanoemulsão de óleo essencial das folhas de *C. longa* contra *Ae. aegypti*, com valores de CL₅₀ e CL₉₀ de 7,085 ppm e 10,321 ppm, respectivamente. Esses valores são significativamente inferiores aos reportados na literatura para o óleo essencial isolado, indicando que a nanoformulação pode ter potencializado a atividade larvicida. Além disso, a nanoemulsão apresentou estabilidade cinética ao longo do tempo, com tamanho médio de gotículas abaixo de 300 nm e IPD inferior a 0,6, características que garantem sua aplicabilidade. A análise morfológica das larvas tratadas revelou danos na cutícula, tubo digestivo e papilas anais, sugerindo que a ação larvicida ocorre por meio de múltiplos mecanismos, incluindo a interferência na regulação osmótica e a desorganização do trato digestivo. A inibição da AChE pelo óleo essencial, com um valor de IC₅₀ de 300,1 µg/mL, também aponta para um possível mecanismo neurotóxico envolvido na letalidade das larvas.

Um dos principais aportes desta pesquisa consiste na utilização das folhas de *C. longa*, material vegetal frequentemente negligenciado e descartado pela cadeia produtiva, como insumo para a formulação de um produto larvicida inovador. Enquanto a maioria dos estudos concentra-se no rizoma da planta, reconhecido por seu valor terapêutico e comercial, o presente trabalho destaca o potencial inseticida de suas folhas, promovendo o aproveitamento integral da espécie vegetal. Essa abordagem está em consonância com os princípios da sustentabilidade, da economia circular e da bioeconomia, ao transformar um subproduto agroindustrial em uma alternativa viável e ecologicamente correta para o controle de vetores. Dessa forma, a valorização de um resíduo agrícola por meio da nanotecnologia aplicada reforça o caráter inovador e ambientalmente responsável desta proposta.

Esses resultados representam um avanço significativo na área de controle de vetores, pois demonstram que a nanoemulsão de *C. longa* é uma alternativa eficaz e sustentável aos inseticidas convencionais, que frequentemente enfrentam problemas de resistência e toxicidade ambiental. A utilização de nanoemulsões não apenas supera as limitações de volatilidade e instabilidade dos óleos essenciais, mas também permite a entrega controlada dos compostos ativos, aumentando sua eficácia e durabilidade. Além disso, a identificação dos mecanismos de

ação, como a inibição da AChE e os danos morfológicos nas larvas, fornece informações valiosas para o desenvolvimento de novos agentes larvicidas com modos de ação distintos, reduzindo a probabilidade de resistência.

Por fim, este estudo reforça a importância de estratégias integradas e sustentáveis para o controle de doenças transmitidas por vetores, alinhando-se às demandas globais por soluções ecologicamente corretas e socialmente responsáveis. A nanoemulsão de *C. longa* representa um avanço promissor não apenas para a área de entomologia médica, mas também para a grande área de ciências ambientais e da saúde, ao propor uma alternativa viável e de baixo impacto ambiental para o controle de mosquitos. Futuras pesquisas devem focar na otimização dessas formulações, avaliação de sinergismos entre compostos e testes em campo, visando sua aplicação em larga escala e contribuindo para o desenvolvimento de políticas públicas mais eficazes no combate a doenças como dengue, zika e chikungunya.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR 12648:2023: Ecotoxicologia aquática — Toxicidade crônica — Método de ensaio com algas (Chlorophyceae)**. Rio de Janeiro: ABNT, 2023.

ABUALHASAN, M.; JARADAT, N.; HAWASH, M.; SHRAIM.; ASAAD, M.; MOUSA, A.; MOUSA, Z.; TOBEH, R.; MLITAT, B. Chromatographic analysis of the chemical composition and anticancer activities of Curcuma longa extract cultivated in Palestine. **Open Life Sciences**, v. 18, n. 1, p. 20220767, 2023.

ADAMS, Robert P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 5 online ed. **Gruver, TX USA: Texensis Publishing**, p. 46-52, 2017.

ADOCHITE, C.; ANDRONIC, L. Aquatic toxicity of photocatalyst nanoparticles to green microalgae Chlorella vulgaris. **Water**, v. 13, n. 1, p. 77, 2021.

AJAIYEGBA, E. O.; SAMA, W.; ESSIEN, E. E.; OLAYEMI, J. O.; EKUNDAYO, O.; WALKER, T. M.; SETZER, W. N. Larvicidal Activity of Turmerone-Rich Essential Oils of Curcuma longa. Leaf and Rhizome from Nigeria on Anopheles gambiae. **Pharmaceutical Biology**, v. 46, n. 4, p. 279-282, 2008.

AJITHA, V.; SREEVIDYA, C. P.; SARASAN, M.; PARK, J. C.; MOHANDAS, A.; SINGH, I. S. B.; PUTHUMANA, J.; LEE, J.-S. Effects of zinc and mercury on ROS-mediated oxidative stress-induced physiological impairments and antioxidant responses in the microalga Chlorella vulgaris. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 32475-32492, 2021.

ALBAQAMI, J. J.; HAMDY, H.; NARAYANANKUTTY, A.; VISAKH, N. U.; SASIDHARAN, A.; KUTTITHODI, A. M.; FAMUREWA, A. C.; PATHROSE, B. Chemical composition and biological activities of the leaf essential oils of Curcuma longa, Curcuma aromatica and Curcuma angustifolia. **Antibiotics**, v. 11, n. 11, p. 1547, 2022.

ALI, A.; SHAH, F. M.; RADWAN, M. M.; ELHENDAWY, M. A.; ELSOHLY, M. A.; KHAN, I. A. Curcuma longa essential oils: toxicity and repellency against imported fire ants (Formicidae: Hymenoptera). **Journal of Medical Entomology**, v. 61, n. 1, p. 191-200, 2024.

ALI, A.; TABANCA, N.; OZEK, G.; OZEK, T.; AYTAC, Z.; BERNIER, U. R.; AGRAMONTE, N. M.; BASER, K. H. C.; KHAN, I. A. Essential oils of Echinophora lamondiana (Apiaceae: Umbelliferae): A relationship between chemical profile and biting deterrence and larvicidal activity against mosquitoes (Diptera: Culicidae). **Journal of medical entomology**, v. 52, n. 1, p. 93-100, 2015.

ALMADIY, A. A. Chemical composition, insecticidal and biochemical effects of two plant oils and their major fractions against *Aedes aegypti*, the common vector of dengue fever. **Heliyon**, v. 6, n. 9, 2020.

ALTIR, N. K. M.; ALI, A.; M. A.; GAAFAR, A. R. Z.; QAHTAN, A. A.; ABDEL-SALAM, E. M.; ALSHAMERI, A.; HODHOD, M. S.; ALMUNQEDHI, B. Phytochemical profile, in vitro antioxidant, and anti-protein denaturation activities of *Curcuma longa* L. rhizome and leaves. **Open Chemistry**, v. 19, n. 1, p. 945-952, 2021.

ALVES, S. N.; SERRÃO, J. E.; MELO, A. L. Alterations in the fat body and midgut of *Culex quinquefasciatus* larvae following exposure to different insecticides. **Micron**, v. 41, n. 6, p. 592-597, 2010.

ALY, N.; HUSSEIN, A.; EMAM, H.; RASHED, G. *Curcuma longa* extract nanoemulsion preparation and demonstration of its in vitro activity against *Schistosoma mansoni* cercariae, schistosomules and adult stages. **Parasitologists United Journal**, v. 10, n. 1-2, p. 44-51, 2017.

AMIN, I.; RASHID, S.M.; SHUBEENA, S.; HUSSAIN, I.; AHMAD, S.B.; MIR, M.U.R.; ALSHEHRI, S.; BUKHARI, S.I.; MIR, T.M.; REHMAN, M.U. TLR4/NFκB-Mediated Anti-Inflammatory and Antioxidative Effect of Hexanic and Ethanolic Extracts of *Curcuma longa* L. in Buffalo Mammary Epithelial Cells. **Separations**, v. 9, n. 12, p. 414, 2022.

ANDINI, A.; BONNET, S.; ROUSSET, P.; HASANUDIN, U. Impact of open burning of crop residues on air pollution and climate change in Indonesia. **Current Science**, v. 115, n. 12, p. 2259-2266, 2018.

ANNA, K. T.; SUHANA, M.R. E.; FAIZAH, S. O.; HAMZAINI, A.H. Anti-inflammatory effect of *Curcuma longa* (turmeric) on collagen-induced arthritis: an anatomico-radiological study. **Clin Ter**, v. 162, n. 3, p. 201-207, 2011.

API, A. M.; BELSITO, D.; BOTELHO, D.; BRUZE, M.; BURTON JR., G. A.; CANCELLIERI, M. A.; CHON, H.; DAGLI, M. L.; DATE, M.; DEKANT, W.; DEODHAR, C.; FRYER, A. D.; JONES, L.; JOSHI, K.; KUMAR, M.; LAPCZYNSKI, A.; LAVELLE, M.; LEE, I.; LIEBLER, D. C.; MOUSTAKAS, H.; NA, M.; PENNING, T. M.; RITACCO, G.; ROMINE, J.; SADEKAR, N.; SCHULTZ, T. W.; SELECHNIK, D.; SID ARAÚJO, A. P. de; PAIVA, M. H. S.; CABRAL, A. M.; CAVALCANTI, A. E. H. D.; PESSOA, L. F. F.; DINIZ, D. F. A.; HELVECIO, E.; SILVA, E. V. G.; SILVA, N. M.; ANASTÁCIO, D. B.; PONTES, C.; NUNES, V.; SOUZA, M. de F. M. de; MAGALHÃES, F. J. R.; SANTOS, M. A. V. de M.; AYRES, C. F. J. RIFM fragrance ingredient safety assessment, terpinolene, CAS Registry Number 586-62-9. **Food and Chemical Toxicology**, v. 167, p. 113195, 2022.

AVANÇO, G. B.; FERREIRA, F. D.; BOMFIM, N. S.; SANTOS, P. A. S. R.; PERALTA, R. M.; BRUGNARI, T.; MALLMANN, C. A.; ABREU FILHO, B. A.; MIKCHA, J. M. G.; MACHINSKI JR., M. *Curcuma longa* L. essential oil composition, antioxidant effect, and effect on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production. **Food control**, v. 73, p. 806-813, 2017.

AYATI, Z.; RAMEZANI, M.; AMIRI, M. S.; MOGHADAM, A. T.; RAHIMI, H.; ABDOLLAHZADE, A.; SAHEBKAR, A.; EMAMI, S. A. Ethnobotany, phytochemistry and traditional uses of *Curcuma* spp. and pharmacological profile of two important species (*C. longa* and *C. zedoaria*): a review. **Current pharmaceutical design**, v. 25, n. 8, p. 871-935, 2019.

BABU, G. D. K.; SHANMUGAM, V.; RAVINDRANATH, S. D.; JOSHI, V. P. Comparison of chemical composition and antifungal activity of *Curcuma longa* L. leaf oils produced by different water distillation techniques. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 22, n. 3, p. 191-196, 2007.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BALAHBIB, A.; EL OMARI, N.; EL HACHLAFI, N.; LAKHDAR, F.; EL MENYIY, N.; SALHI, N.; MRABTI, H. N.; BAKRIM, S.; ZENGIN, G.; BOUYAHYA, A. Health beneficial and pharmacological properties of p-cymene. **Food and Chemical Toxicology**, v. 153, p. 112259, 2021.

BARRADAS, T. N.; SILVA, K. G. H. Nanoemulsions as optimized vehicles for essential oils. In: PANDA, A. K.; SANEJA, A.; LICHTFOUSE, E. **Sustainable Agriculture Reviews 44: Pharmaceutical Technology for Natural Products Delivery Vol. 2 Impact of Nanotechnology**, cap. 4, p. 115-167, 2020.

BARRETO, C. F.; CAVASIN, G. M.; SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G. Estudo das alterações morfo-histológicas em larvas de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) submetidas ao extrato bruto etanólico de *Sapindus saponaria* Lin (Sapindaceae). **Rev. patol. trop**, p. 37-57, 2006.

BATISTA, M. G. F.; KOLICHESKI, M. B.; FIORANI, J. M.; CORAZZA, M. L.; VOLL, F. A. P. Ponkan essential oil from peels and agro-industrial waste of *Citrus reticulata* Blanco. **Journal of Essential Oil & Plant Composition**, p. 220-227, 2023.

BEN-OTHTMAN, S.; JÕUDU, I.; BHAT, R. Bioactives from agri-food wastes: Present insights and future challenges. **Molecules**, v. 25, n. 3, p. 510, 2020.

BILIA, A. R.; PIAZZINI, V.; BERGONZI, M. C. Nanotechnology Applications for Natural Products Delivery. In: PANDA, A. K.; SANEJA, A.; LICHTFOUSE, E. **Sustainable Agriculture Reviews 44: Pharmaceutical Technology for Natural Products Delivery Vol. 2 Impact of Nanotechnology**, cap. 1, p. 1-46, 2020.

BONESI, M.; MENICHINI, F.; TUNDIS, R.; LOIZZO, M. R.; CONFORTI, F.; PASSALACQUA, N. G.; STATTI, G. A.; MENICHINI, F. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity of *Pinus* species essential oils and their constituents. **Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry**, v. 25, n. 5, p. 622-628, 2010.

BOTAS, G. S.; CRUZ, R. A. S.; ALMEIDA, F. B.; DUARTE, J. L.; ARAÚJO, R. S.; SOUTO, R. N. P.; FERREIRA, R.; CARVALHO, J. C. T.; SANTOS, M. G.; ROCHA, L.;

PEREIRA, V. L. P.; FERNANDES, C. P. Baccharis reticularia DC. and limonene nanoemulsions: promising larvicidal agents for Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) control. **Molecules**, v. 22, n. 11, p. 1990, 2017.

BORRERO-LANDAZABAL, M. A.; DUQUE, J. E.; MENDEZ-SANCHEZ, S. C. Model to design insecticides against Aedes aegypti using in silico and in vivo analysis of different pharmacological targets. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 229, p. 108664, 2020.

BOUCHAMA, C.; ZINEDINE, A.; ROCHA, J.M.; CHADLI, N.; EL GHADRAOUI, L.; CHABIR, R.; RAOUI, S.M.; ERRACHIDI, F. Effect of phenolic compounds extracted from turmeric (*Curcuma longa* L.) and ginger (*Zingiber officinale*) on cutaneous wound healing in Wistar rats. **Cosmetics**, v. 10, n. 5, p. 137, 2023.

BRAGA, M. C.; BELO, L.; SOARES JÚNIOR, M. S.; SÁNCHEZ, G. D. G.; PEREIRA, J.; OLIVEIRA, T. F. Volatile organic compounds and antioxidant capacity of *Curcuma longa* L. and *Curcuma caesia* Roxb. leaves: exploring bioactivity in natural products. **Brazilian Journal of Agriculture**, v. 98, n. 2, p. 80-107, 2023.

BRASIL. Arboviroses Urbanas Causadas por Vírus Transmitidos pelo Aedes: Dengue, Chikungunya e Zika. In: BRASIL. **Guia de vigilância em saúde**. 5ª ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2022. cap. 7, p. 685-768.

BRASIL. **Informações sistematizadas da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS: Curcuma longa L., Zingiberaceae – Açafrão-da-terra**. Brasília: Ministério da Saúde, 2020. 182 p.

BRASIL. Larvicidas. **Gov.br**, 2024b. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/aedes-aegypti/vigilancia-entomologica/larvicidas#:~:text=O%20Minist%C3%A9rio%20da%20Sa%C3%BAde%20atualmente,prevenir%20a%20resist%C3%Aancia%20a%20inseticidas.>>. Acesso em: 14 de mai. de 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde anuncia estratégia de vacinação contra a dengue. **Gov.br**, 2024a. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2024/janeiro/ministerio-da-saude-anuncia-estrategia-de-vacinacao-contra-a-dengue>>. Acesso em: 05 de mai. de 2024.

BUDIMAN; ISHAK, H.; STANG; IBRAHIM, E.; DAUD, A.; AMIRUDDIN, R. Essential oil as a new tool for larvicidal Aedes aegypti: A systematic review. **Gaceta Sanitaria**, v. 35, p. S459-S462, 2021.

CAO, X-L.; SPARLING, M.; DABEKA, R. p-Cymene, a natural antioxidant, in Canadian total diet foods: occurrence and dietary exposures. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 12, p. 5606-5609, 2019.

CARVALHO, F. D.; MOREIRA, L. A. Why is Aedes aegypti Linnaeus so Successful as a Species?. **Neotropical entomology**, v. 46, n. 3, p. 243-255, 2017.

CHAABAN, A.; RICHARDI, V. S.; CARRER, A. R.; BRUM, J. S.; CIPRIANO, R. R.; MARTINS, C. E. N.; SILVA, M. A. N.; DESCHAMPS, C.; MOLENTO, M. B. Insecticide activity of *Curcuma longa* (leaves) essential oil and its major compound α -phellandrene against *Lucilia cuprina* larvae (Diptera: Calliphoridae): Histological and ultrastructural biomarkers assessment. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 153, p. 17-27, 2019.

CHAITHONG, U.; CHOOCHOTE, W.; KAMSUK, K.; JITPAKDI, A.; TIPPAWANGKOSOL, P.; CHAIYASIT, D.; CHAMPAKAEW, D.; TUETUN, B.; PITASAWAT, B. Larvicidal effect of pepper plants on *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Journal of vector ecology**, v. 31, n. 1, p. 138-144, 2006.

CHANG, K.-S.; SHIN, E.-H.; PARK, C.; AHN, Y.-J. Contact and fumigant toxicity of *Cyperus rotundus* steam distillate constituents and related compounds to insecticide-susceptible and-resistant *Blattella germanica*. **Journal of Medical Entomology**, v. 49, n. 3, p. 631-639, 2012.

CHENG, S. S.; CHANG, H. T.; CHANG, S. T.; TSAI, K. H.; CHEN, W. J. Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Bioresource Technology**, v. 89, n. 1, p. 99-102, 2003.

CHENG, S. S.; CHUA, M. T.; CHANG, E. H.; HUANG, C. G.; CHEN, W. J.; CHANG, S. T. Variations in insecticidal activity and chemical compositions of leaf essential oils from *Cryptomeria japonica* at different ages. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 1, p. 465-470, 2009.

CHIZZOLA, R.; GANSINGER, D. Chemical composition and antioxidant activity of *Artemisia argyi* essential oil and hydrolate. **Compounds**, v. 3, n. 3, p. 521-531, 2023.

COATSWORTH, H.; CAICEDO, P. A.; VAN ROSSUM, T.; OCAMPO, C. B.; LOWENBERGER, C. The composition of midgut bacteria in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) that are naturally susceptible or refractory to dengue viruses. **Journal of Insect Science**, v. 18, n. 6, p. 12, 2018.

COHEN, S. M.; EISENBRAND, G.; FUKUSHIMA, S.; GOODERHAM, N. J.; GUENGERICH, F. P.; HECHT, S. S.; RIETJENS, I. M. C. M.; DAVIDSEN, J. M.; HARMAN, C. L.; TAYLOR, S. V. Updated procedure for the safety evaluation of natural flavor complexes used as ingredients in food. **Food and chemical toxicology**, v. 113, p. 171-178, 2018.

CONTI, B.; BENELLI, G.; FLAMINI, G.; CIONI, P. L.; PROFETI, R.; CECCARINI, L.; MACCHIA, M.; CANALE, A. Larvicidal and repellent activity of *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae) essential oil against the mosquito *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). **Parasitology research**, v. 110, p. 2013-2021, 2012.

COSTA, L. G. Toxicology of pesticides: a brief history. *In: Toxicology of pesticides: Experimental, clinical and regulatory perspectives*. Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1987. p. 1-10.

CRUZ, A. S. L.; BARRERA-CORTÉS, J.; LINA-GARCÍA, L. P.; RAMOS-VALDIVIA, A. C.; SANTILLÁN, R. Nanoemulsified formulation of Cedrela odorata essential oil and its larvicidal effect against Spodoptera frugiperda (JE Smith). **Molecules**, v. 27, n. 9, p. 2975, 2022.

DAVID, M. R.; MACIEL-DE-FREITAS, R.; PETERSEN, M. T.; BRAY, D.; HAWKES, F. M.; FERNÁNDEZ-GRANDON, G. M.; YOUNG, S.; GIBSON, G.; HOPKINS, R. J. Aedes aegypti oviposition-sites choice under semi-field conditions. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 37, n. 4, p. 683-692, 2023.

DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C. Essential oils and their compounds as Aedes aegypti L.(Diptera: Culicidae) larvicides. **Parasitology research**, v. 113, p. 565-592, 2014.

DHINAKARAN, S. R.; MATHEW, N.; MUNUSAMY, S. Synergistic terpene combinations as larvicides against the dengue vector Aedes aegypti Linn. **Drug development research**, v. 80, n. 6, p. 791-799, 2019.

DOSOKY, N. S.; SETZER, W. N. Chemical composition and biological activities of essential oils of Curcuma species. **Nutrients**, v. 10, n. 9, p. 1196, 2018.

DUARTE, J. L.; DUCHON, S.; DI FILIPPO, L. D.; CHORILLI, M.; CORBEL, V. Larvicidal properties of terpenoid-based nanoemulsions against the dengue vector Aedes aegypti L. and their potential toxicity against non-target organism. **Plos one**, v. 19, n. 2, p. e0293124, 2024a.

DUARTE, J. L.; FILIPPO, L. D.; OLIVEIRA, A. E. M. F. M.; SÁBIO, R. M.; MARENA, G. D.; BAUAB, T. M.; DUQUE, C.; CORBEL, V.; CHORILLI, M. Development and characterization of potential larvicidal nanoemulsions against Aedes aegypti. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, v. 15, n. 1, p. 104-114, 2024b.

DURANT, A. C.; GUARDIAN, E. G.; KOLOSOV, D.; DONINI, A. The transcriptome of anal papillae of Aedes aegypti reveals their importance in xenobiotic detoxification and adds significant knowledge on ion, water and ammonia transport mechanisms. **Journal of Insect Physiology**, v. 132, p. 104269, 2021.

ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES JR., V.; FEATHERSTONE, R. M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical pharmacology**, v. 7, n. 2, p. 88-95, 1961.

ESSIEN, E. E.; NEWBY, J. S.; WALKER, T. M.; SETZER, W. N.; EKUNDAYO, O. Chemotaxonomic characterization and in-vitro antimicrobial and cytotoxic activities of the leaf essential oil of Curcuma longa grown in southern Nigeria. **Medicines**, v. 2, n. 4, p. 340-349, 2015.

FATHI, E.; SEFIDKON, F. Influence of drying and extraction methods on yield and chemical composition of the essential oil of Eucalyptus sargentii. **Journal of Agricultural Science and Technology (JAST)**, v. 14, n. 5, p. 1035-1042, 2012.

FAUSTINO, C. G.; MEDEIROS, F. A.; GALARDO, A. K. R.; RODRIGUES, A. B. L.; MARTINS, R. L.; LIMA, Y. M. S.; TAVARES, J. F.; MEDEIROS, M. A. A.; CRUZ, J. S.;

ALMEIDA, S. S. M. S. Larvicide activity on *Aedes aegypti* of essential oil nanoemulsion from the *Protium heptaphyllum* resin. **Molecules**, v. 25, n. 22, p. 5333, 2020.

FERREIRA, R. M. A.; D'HAVELOOSE, N. P.; CRUZ, R. A. S.; ARAÚJO, R. S.; CARVALHO, J. C. T.; ROCHA, L.; FERNANDES, L. P.; COSTA, T. S.; FERNANDES, C. P.; SOUTO, R. N. P. Marcelo dos Anjos et al. Nano-emulsification enhances the larvicidal potential of the essential oil of *Siparuna guianensis* (Laurales: Siparunaceae) against *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 57, n. 3, p. 788-796, 2020.

FERREIRA, R. M. A.; DUARTE, J. L.; CRUZ, R. A. S.; OLIVEIRA, A. E. M. F. M.; ARAÚJO, R. S.; CARVALHO, J. C. T.; MOURÃO, R. H. V.; SOUTO, R. N. P.; FERNANDES, C. P. A herbal oil in water nano-emulsion prepared through an ecofriendly approach affects two tropical disease vectors. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, p. 778-784, 2019.

FLEXA-RIBEIRO, Bianca et al. Essential Oil from *Curcuma Longa* Leaves: Using Nanotechnology to Make a Promising Eco-Friendly Bio-Based Pesticide from Medicinal Plant Waste. **Molecules**, v. 30, n. 5, p. 1023, 2025.

Food and Drug Administration. **21 CFR Part 172: Synthetic flavoring substances and adjuvants**. 2023. Disponível em: <<https://www.ecfr.gov/current/title-21/part-172>>. Acesso em: jun de 2024.

FORMIGA, R. O.; ALVES JÚNIOR, E. B.; VASCONCELOS, R. C.; GUERRA, G. C. B.; ARAÚJO, A. A.; CARVALHO, T. G.; GARCIA, V. B.; ARAÚJO JUNIOR, R. F.; GADELHA, F. A. A. F.; VIEIRA, G. C.; SOBRAL, M. V.; BARBOSA FILHO, J. M.; FOSTER, W. A.; WALKER, E. D. Mosquitoes (Culicidae). In: MULLEN, G. R.; DURDEN, L. A. (Eds.). **Medical and veterinary entomology**. 3. ed. Cambridge: Academic press, 2019. p. 261-325.

GAD, H.; AL-SAYED, E.; AYOUB, I. Phytochemical discrimination of *Pinus* species based on GC–MS and ATR-IR analyses and their impact on *Helicobacter pylori*. **Phytochemical Analysis**, v. 32, n. 5, p. 820-835, 2021.

GENG, C.; WATSON, G. B.; SPARKS, T. C. Nicotinic acetylcholine receptors as spinosyn targets for insect pest management. In: COHEN, E. (Ed.). **Advances in insect physiology**. Vol. 44. Oxford: Academic Press, 2013. cap. 3, p. 101-210.

GHARIB, A. M.; EL-SHEWY, A. M.; HAMOUDA, S. S. A.; GAD, H. A.; ABDELGALEIL, S. A. M. Insecticidal, biochemical and histological effects of monoterpenes against *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 27, n. 2, p. 102256, 2024.

GHARSAN, F. N. A review of the bioactivity of plant products against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Entomological Science**, v. 54, n. 3, p. 256-274, 2019.

GHOSH, A.; CHOWDHURY, N.; CHANDRA, G. Plant extracts as potential mosquito larvicides. **Indian journal of medical research**, v. 135, n. 5, p. 581-598, 2012.

GONÇALVES, A. C. S.; FERREIRA, A. S. M.; DIAS, A.; SÁRRIA, M. P.; GOMES, A. C. Nanotechnology-inspired bionanosystems for valorization of natural origin extracts. *In*: PANDA, A. K.; SANEJA, A.; LICHTFOUSE, E. **Sustainable Agriculture Reviews 44: Pharmaceutical Technology for Natural Products Delivery Vol. 2 Impact of Nanotechnology**, cap. 2, p. 47-71, 2020.

GONG, X.; REN, Y. Larvicidal and ovicidal activity of carvacrol, p-cymene, and γ -terpinene from *Origanum vulgare* essential oil against the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 18708-18716, 2020.

GONZÁLEZ-DIAZ, Y.; VÉLIZ-JAIME, M. Y. Extracción y caracterización del aceite esencial de mango obtenido de residuos agroindustriales. **Tecnología Química**, v. 40, n. 3, p. 488-501, 2020.

GOVINDARAJAN, V. S.; STAHL, W. H. Turmeric—chemistry, technology, and quality. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, v. 12, n. 3, p. 199-301, 1980.

GOVINDARAJAN, M. Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oil from *Clausena anisata* (Willd.) Hook. f. ex Benth (Rutaceae) against three mosquito species. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 3, n. 11, p. 874-877, 2010.

GRIFFITTS, J. S.; AROIAN, R. V. Many roads to resistance: how invertebrates adapt to Bt toxins. **Bioessays**, v. 27, n. 6, p. 614-624, 2005.

GUERRERO-ROMERO, F.; SIMENTAL-MENDÍA, L. E.; MARTÍNEZ-AGUILAR, G.; SÁNCHEZ-MERAZ, M. A.; GAMBOA-GÓMEZ, C. I. Hypoglycemic and antioxidant effects of five commercial turmeric (*Curcuma longa*) supplements. **Journal of Food Biochemistry**, v. 44, n. 9, p. e13389, 2020.

GUPTA, A. Nanoemulsions. *In*: **Nanoparticles for Biomedical Applications**. Elsevier, 2020. p. 371-384

GUPTA, M.; GUPTA, D. Essential oils: As potential larvicides. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, v. 12, n. 3, p. 193-201, 2022.

GUPTA, P.; PREET, S.; ANANYA, A.; SINGH, N. Preparation of *Thymus vulgaris* (L.) essential oil nanoemulsion and its chitosan encapsulation for controlling mosquito vectors. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 4335, 2022.

HAJIMEHDIPOOR, H.; TEHRANIFAR, T.; SHAFAROODI, H. Acetylcholinesterase inhibitory effect of some medicinal herbs used in Iranian traditional medicine for memory improvement. **Global Journal of Botanical Science**, v. 1, n. 1, p. 18-21, 2013.

HEINZMANN, B. M.; SPITZER, V.; SIMÕES, C. M. O. Óleos voláteis. *In*: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmagnocopia: Do Produto Natural ao Medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. cap. 12, p. 167-184.

HIKAL, W. M.; BAZ, M. M.; ALSHEHRI, M. A.; BAHATTAB, O.; BAESHEN, R. S.; SELIM, A. M.; ALHWITY, L.; BOUSBIB, R.; ALSHOURBAJI, M. S.; SAID-AL AHL, H. A. H. Sustainable pest management using novel nanoemulsions of honeysuckle and patchouli essential oils against the West Nile Virus vector, *Culex pipiens*, under laboratory and field conditions. **Plants**, v. 12, n. 21, p. 3682, 2023.

HOI, T. M.; HUONG, L. T.; CHINH, H. V.; HAU, D. V.; SATYAL, P.; TAI, T. A.; DAI, D. N.; HUNG, N. H.; HIEN, V. T.; SETZER, W. N. Essential oil compositions of three invasive *Conyza* species collected in Vietnam and their larvicidal activities against *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and *Culex quinquefasciatus*. **Molecules**, v. 25, n. 19, p. 4576, 2020.

HUANG, Y. S.; VANLANDINGHAM, D. L.; BILYEU, A. N.; AFIADO, H. M.; HETTENBACH, S. M.; HIGGS, S. SARS-CoV-2 failure to infect or replicate in mosquitoes: an extreme challenge. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 11915, 2020a.

HUANG, Y.; LIN, M.; JIA, M.; HU, J.; ZHU, L. Chemical composition and larvicidal activity against *Aedes* mosquitoes of essential oils from *Arisaema fargesii*. **Pest management science**, v. 76, n. 2, p. 534-542, 2020b.

IBRAHIM, M. A.; CANTRELL, C. L.; JELIAZKOVA, E. A.; ASTATKIE, T.; ZHELJAZKOV, V. D. Utilization of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) seed hydrodistillation time to produce essential oil fractions with varied compositions and pharmacological effects. **Molecules**, v. 25, n. 3, p. 565, 2020.

INSTITUTO OSWALDO CRUZ (IOC). **Dengue: vírus e vetor**. Rio de Janeiro: Fiocruz, [s.d.]. Disponível em: <<https://www.ioc.fiocruz.br/dengue/textos/longatraje.html>> Acesso em: 15 de dez de 2022.

INSTITUTO OSWALDO CRUZ (IOC/FIOCRUZ). **Como É o Ciclo de Vida Do Mosquito 'Aedes Aegypti'?**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2019. Disponível em: <<https://fiocruz.br/pergunta/como-e-o-ciclo-de-vida-do-mosquito-aedes-aegypti>> Acesso em: 13 de nov de 2024.

IWEALA, E. J.; UCHE, M. E.; DIKE, E. D.; ETUMNU, L. R.; DOKUNMU, T. M.; OLUWAPELUMI, A. E.; OKORO, B. C.; DANIA, O. E.; ADEBAYO, A. H.; UGBOGU, E. A. *Curcuma longa* (Turmeric): Ethnomedicinal uses, phytochemistry, pharmacological activities and toxicity profiles—A review. **Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine**, v. 6, p. 100222, 2023.

JALALUDDIN, M.; JAYANTI, I.; GOWDAR, I. M.; ROSHAN, R.; VARKEY, R. R.; THIRUTHERI, A. Antimicrobial activity of *Curcuma longa* L. extract on periodontal pathogens. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 11, n. Suppl 2, p. S203-S207, 2019.

JIMBOREAN, M. A.; SALANȚĂ, L. C.; TOFANĂ, M.; POP, C. R.; ROTAR, A. M.; FETTI, V. Use of essential oils from *Citrus sinensis* in the development of new type of yogurt. **Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science and Technology**, vol. 73, n. 1, p. 24-27, 2016.

JIN, H.; LENG, Q.; ZHANG, C.; ZHU, Y.; WANG, J. P-cymene prevent high-fat diet-associated colorectal cancer by improving the structure of intestinal flora. **Journal of Cancer**, v. 12, n. 14, p. 4355, 2021.

JUGREET, B. S.; MAHMOODALLY, M. F.; SINAN, K. I.; ZENGİN, G.; ABDALLAH, H. H. Chemical variability, pharmacological potential, multivariate and molecular docking analyses of essential oils obtained from four medicinal plants. **Industrial crops and products**, v. 150, p. 112394, 2020.

KAH, M.; HOFMANN, T. Nanopesticide research: current trends and future priorities. **Environment international**, v. 63, p. 224-235, 2014.

KASAI, S.; KOMAGATA, O.; ITOKAWA, K.; SHONO, T.; NG, L. C.; KOBAYASHI, M.; TOMITA, T. Mechanisms of pyrethroid resistance in the dengue mosquito vector, *Aedes aegypti*: target site insensitivity, penetration, and metabolism. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 6, p. e2948, 2014.

KAUR, R.; CHOUDHARY, D.; BALI, S.; BANDRAL, S. S.; SINGH, V.; AHMAD, M. A.; RANI, N.; SINGH, T. G.; CHANDRASEKARAN, B. Pesticides: An alarming detrimental to health and environment. **Science of The Total Environment**, p. 170113, 2024.

KHATTAK, S.; SAEED-UR-REHMAN, S.; SHAH, H. U.; KHAN, T.; AHMAD, M. In vitro enzyme inhibition activities of crude ethanolic extracts derived from medicinal plants of Pakistan. **Natural Product Research**, v. 19, n. 6, p. 567-571, 2005.

KUMAR, A.; AGARWAL, K.; SINGH, M.; SAXENA, A.; YADAV, P.; MAURYA, A. K.; YADAV, A.; TANDON, S.; CHANDA, D.; BAWANKULE, D. U. Essential oil from waste leaves of *Curcuma longa* L. alleviates skin inflammation. **Inflammopharmacology**, v. 26, p. 1245-1255, 2018.

KUMAR, S.; BAGGI, T. R.; ZUGHAIPI, T. Forensic toxicological and analytical aspects of carbamate poisoning—A review. **Journal of forensic and legal medicine**, v. 92, p. 102450, 2022.

KWEKA, E. J.; LIMA, T. C.; MARCIALE, C. M.; SOUSA, D. P. Larvicidal efficacy of monoterpenes against the larvae of *Anopheles gambiae*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6, n. 4, p. 290-294, 2016.

KWEKA, E. J.; BARAKA, V.; MATHIAS, L.; MWANG'ONDE, B.; BARAKA, G.; LYARUU, L.; MAHANDE, A. Ecology of *Aedes* mosquitoes, the major vectors of arboviruses in human population. In: ALCÓN-LEZAMA, J. A.; BETANCOURT-CRAVIOTO, M.; TAPIA-CONYER, R. (Eds). **Dengue Fever: a Resilient Threat in the Face of Innovation**. IntechOpen, 2019. cap. 3, p. 39-56.

LADE, B. D.; GOGLE, D. P.; LADE, D. B.; MOON, G. M.; NANDESHWAR, S. B.; KUMBHARE, S. D. Nanobiopesticide formulations: Application strategies today and future perspectives. In: KOUL, O. **Nano-biopesticides today and future perspectives**. San Diego: Academic Press, 2019. p. 179-206.

LARSEN, K.; LOCK, J. M.; MAAS, H.; MAAS, P. J. M. Zingiberaceae. *In: Flowering Plants· Monocotyledons: Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae)*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1998. p. 474-495.

LEE, D. C.; AHN, Y.-J. Laboratory and simulated field bioassays to evaluate larvicidal activity of *Pinus densiflora* hydrodistillate, its constituents and structurally related compounds against *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens pallens* in relation to their inhibitory effects on acetylcholinesterase activity. **Insects**, v. 4, n. 2, p. 217-229, 2013.

LEE, S. Y.; CHO, S. S.; LI, Y.; BAE, C. S.; PARK, K. M.; PARK, D. H. Anti-inflammatory effect of *Curcuma longa* and *Allium hookeri* co-treatment via NF- κ B and COX-2 pathways. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 5718, 2020.

LEGAY, C. Congenital myasthenic syndromes with acetylcholinesterase deficiency, the pathophysiological mechanisms. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1413, n. 1, p. 104-110, 2018.

LIAO, C.; UPADHYAY, A.; LIANG, J.; HAN, Q.; LI, J. 3, 4-Dihydroxyphenylacetaldehyde synthase and cuticle formation in insects. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 83, p. 44-50, 2018.

LIJU, V. B.; JEENA, K.; KUTTAN, R. An evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, and antinociceptive activities of essential oil from *Curcuma longa* L. **Indian journal of pharmacology**, v. 43, n. 5, p. 526-531, 2011.

LIU, Y.; NAIR, M. G. *Curcuma longa* and *Curcuma mangga* leaves exhibit functional food property. **Food chemistry**, v. 135, n. 2, p. 634-640, 2012.

LLORENS-MOLINA, J. A.; VACAS, S.; ESCRIVÁ, N.; VERDEGUER, M. Seasonal variation of *Thymus piperella* L. essential oil composition. Relationship among γ -terpinene, p-cymene and carvacrol. **Journal of Essential Oil Research**, v. 34, n. 6, p. 502-513, 2022.

LÓPEZ, M. D.; PASCUAL-VILLALOBOS, M. J. Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. **Industrial Crops and Products**, v. 31, n. 2, p. 284-288, 2010.

MA, X-W.; GUO, R.-Y. Dose-dependent effect of *Curcuma longa* for the treatment of Parkinson's disease. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 13, n. 5, p. 1799-1805, 2017.

MACHADO, F. P.; FOLLY, D.; SALAS ENRIQUEZ, J. J.; MELLO, C. B.; ESTEVE, R.; ARAÚJO, R. S.; TOLEDO, P. F. S.; MANTILLA-AFANADOR, J. G.; SANTOS, M. G.; OLIVEIRA, E. E.; RICCI-JUNIOR, E.; ROCHA, L. Nanoemulsion of *Ocotea indecora* (Shott) Mez essential oil: Larvicidal effects against *Aedes aegypti*. **Industrial Crops and Products**, v. 192, p. 116031, 2023.

MAGHIMAA, M.; ALHARBI, S. A. Green synthesis of silver nanoparticles from *Curcuma longa* L. and coating on the cotton fabrics for antimicrobial applications and wound healing activity. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 204, p. 111806, 2020.

MARCHESE, A.; ARCIOLA, C. R.; BARBIERI, R.; SILVA, A. S.; NABAVI, S. F.; SOKENG, A. J. T.; IZADI, M.; JAFARI, N. J.; SUNTAR, I.; DAGLIA, M.; NABAVI, S. M. Update on monoterpenes as antimicrobial agents: A particular focus on p-cymene. **Materials**, v. 10, n. 8, p. 947, 2017.

MARTINS, M. M.; PRATA-BARBOSA, A.; CUNHA, Antonio J. L. A. Arboviral diseases in pediatrics. **Jornal de pediatria**, v. 96, n. 1, p. 2-11, 2020.

MATEI, E.; RÂPA, M.; PREDESCU, A. M.; TURCANU, A. A.; VIDU, R.; PREDESCU, C.; BOBIRICA, C.; BOBIRICA, L.; ORBECI, C. Valorization of agri-food wastes as sustainable eco-materials for wastewater treatment: Current state and new perspectives. **Materials**, v. 14, n. 16, p. 4581, 2021.

MCGREGOR, B. L.; CONNELLY, C. R. A review of the control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the continental United States. **Journal of medical entomology**, v. 58, n. 1, p. 10-25, 2021.

MEIER, C. J.; ROUHIER, M. F.; HILLYER, J. F. Chemical control of mosquitoes and the pesticide treadmill: a case for photosensitive insecticides as larvicides. **Insects**, v. 13, n. 12, p. 1093, 2022.

MENEZES, I. O.; SCHERF, J. R.; MARTINS, A. O. B. P. B.; RAMOS, A. G. B.; QUINTANS, J. D. S. S.; COUTINHO, H. D. M.; RIBEIRO-FILHO, J.; MENEZES, I. R. A. Biological properties of terpinolene evidenced by in silico, in vitro and in vivo studies: A systematic review. **Phytomedicine**, v. 93, p. 153768, 2021.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Informa Semanal - Edição Nº 12 | SE 01 a 17/2024. **Centro de Operação de Emergências (COE)**, 2024. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/arboviroses/informe-semanal/informe-semanal-no-12-coe.pdf/view>>. Acesso em: 30 de abr. de 2024.

MOHD-NOR, F.; MOHAMED, S.; IDRIS, N. A.; ISMAIL, R. Fatihanim et al. Antioxidative properties of *Curcuma longa* leaf extract in accelerated oxidation and deep frying studies. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 86, p. 141-147, 2009.

MOSSMANN, V.; WEIMER, P.; NUNES, K. A. A.; ROSSI, R. C.; KOESTER, L. S.. Essential Oil Extracted from the Leaves of *Curcuma Longa* L.: Application of an Agro-Industrial Residue in the Development of Anti-Inflammatory Nanoemulsions Intended for Skin Delivery. **Chemistry Africa**, v. 7, n. 4, p. 1849-1864, 2024.

MOUSSIAN, B. Recent advances in understanding mechanisms of insect cuticle differentiation. **Insect biochemistry and molecular biology**, v. 40, n. 5, p. 363-375, 2010.

MOYES, C. L.; VONTAS, J.; MARTINS, A. J.; NG, L. C.; KOOU, S. Y.; DUSFOUR, I.; RAGHAVENDRA, K.; PINTO, J.; CORBEL, V.; DAVID, J.-P.; WEETMAN, D.

Contemporary status of insecticide resistance in the major Aedes vectors of arboviruses infecting humans. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 11, n. 7, p. e0005625, 2017.

MUKHERJEE, P. K.; KUMAR, V.; HOUGHTON, P. J. Screening of Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 21, n. 12, p. 1142-1145, 2007.

MURUGESH, J.; ANNIGERI, R. G.; MANGALA, G. K.; MYTHILY, P. H.; CHANDRAKALA, J. Evaluation of the antifungal efficacy of different concentrations of Curcuma longa on Candida albicans: An: in vitro: study. **Journal of Oral and Maxillofacial Pathology**, v. 23, n. 2, p. 305, 2019.

NAMIRIMU, T.; KIM, S. Dengue fever: epidemiology, clinical manifestations, diagnosis, and therapeutic strategies. **Annals of Clinical Microbiology**, v. 27, n. 2, p. 131-141, 2024.

NAPOLI, E.; GIOVINO, A.; CARRUBBA, A.; SIONG, V. H. Y.; RINOLDO, C.; NINA, O.; RUBERTO, G. Variations of essential oil constituents in oregano (Origanum vulgare subsp. viridulum (= O. heracleoticum) over cultivation cycles. **Plants**, v. 9, n. 9, p. 1174, 2020.

NORIEGA, P. Terpenes in essential oils: Bioactivity and applications. *In*: PERVEEN, S.; AL-TAWEEL, A. M. (Eds.). **Terpenes and terpenoids—Recent advances**. IntechOpen, 2020. cap. 2, p. 13-26.

OGBONNA, C.; ÖZGÖR, E. Detection of Biological Activity of Methanol Extract and Its Antibacterial effect on. **The EuroBiotech Journal**, v. 5, n. 2, p. 56-62, 2021.

OLIVEIRA, A. A.; FRANÇA, L. P.; RAMOS, A. S.; FERREIRA, J. L. P.; MARIA, A. C. B.; OLIVEIRA, K. M. T.; ARAÚJO JR, E. S.; SILVA, J. N.; BRANCHES, A. D. S.; BARROS, G. A.; SILVA, N. G.; TADEI, W. P.; AMARAL, A. C. F.; SILVA, J. R. A. Larvicidal, adulticidal and repellent activities against Aedes aegypti L. of two commonly used spices, Origanum vulgare L. and Thymus vulgaris L. **South African Journal of Botany**, v. 140, p. 17-24, 2021a.

OLIVEIRA, A. E. M. F. M.; DUARTE, J. L.; AMADO, J. R. R.; CRUZ, R. A. S.; ROCHA, C. F.; SOUTO, R. N. P.; FERREIRA, R. M. A.; SANTOS, K.; CONCEIÇÃO, E. C.; OLIVEIRA, L. A. R. de; KELECOM, A.; FERNANDES, C. P.; CARVALHO, J. C. T. Development of a larvicidal nanoemulsion with Pterodon emarginatus Vogel oil. **PLoS One**, v. 11, n. 1, p. e0145835, 2016.

OLIVEIRA, A. E. M. F. M.; DUARTE, J. L.; CRUZ, R. A. S.; SOUTO, R. N. P.; FERREIRA, R. M. A.; PENICHE, T.; CONCEIÇÃO, E. C.; OLIVEIRA, L. A. R.; FAUSTINO, S. M. M.; FLORENTINO, A. C.; CARVALHO, J. C. T.; FERNANDES, C. P. Pterodon emarginatus oleoresin-based nanoemulsion as a promising tool for Culex quinquefasciatus (Diptera: Culicidae) control. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 15, p. 1-11, 2017a.

OLIVEIRA, A. E. M. F. M.; DUARTE, J. L.; CRUZ, R. A. S.; CONCEIÇÃO, E. C. da; CARVALHO, J. C. T.; FERNANDES, C. P. Utilization of dynamic light scattering to

evaluate *Pterodon emarginatus* oleoresin-based nanoemulsion formation by non-heating and solvent-free method. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 3, p. 401-406, 2017b.

OLIVEIRA, G.; MARQUES, C.; OLIVEIRA, A.; SANTOS, A. A.; AMARAL, W.; INEU, R. P.; LEIMANN, F. V.; PERON, A. P.; IGARASHI-MAFRA, L.; MAFRA, M. R. Extraction of bioactive compounds from *Curcuma longa* L. using deep eutectic solvents: In vitro and in vivo biological activities. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 70, p. 102697, 2021b.

OLIVEIRA, R. Biologia e comportamento do vetor. *In*: VALLE, D.; PIMENTA, D. N.; CUNHA, R. V. (Orgs). **Dengue: teorias e práticas**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2015. Cap. 3, p. 75–92.

Organização Pan-Americana da Saúde (PAHO). **Recommendations for Laboratory Detection and Diagnosis of Arbovirus Infections in the Region of the Americas**. Washington: PAHO, 2023.

Organização Pan-Americana da Saúde/ Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS). Atualização Epidemiológica: Aumento de casos de dengue na Região das Américas 18 de junho de 2024. **OPAS/OMS**, 2024a. <Disponível em: <https://www.paho.org/sites/default/files/2024-06/2024-junho-19-phe-atualizacao-dengue-port2.pdf>>. Acesso em: 30 de abr. de 2024.

PABLOS, M. V.; GARCÍA-HORTIGÜELA, P.; FERNÁNDEZ, C. Acute and chronic toxicity of emerging contaminants, alone or in combination, in *Chlorella vulgaris* and *Daphnia magna*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, p. 5417-5424, 2015.

PANAGIOTOPOULOS, A.; TSELIU, M.; KARAKASILLOTIS, I.; KOTZAMPASI, D. M.; DASKALAKIS, V.; KESESIDIS, N.; NOTAS, G.; LIONIS, C.; KAMPA, M.; PIRINTSOS, S.; SOURVINOS, G.; CASTANAS, E. p-cymene impairs SARS-CoV-2 and Influenza A (H1N1) viral replication: In silico predicted interaction with SARS-CoV-2 nucleocapsid protein and H1N1 nucleoprotein. **Pharmacology research & perspectives**, v. 9, n. 4, p. e00798, 2021.

PANDEY, K. P.; MISHRA, R. K.; KAMRAN, A.; MISHRA, P.; BAJAJ, A. K.; DIKSHIT, A. Studies on antidermatophytic activity of waste leaves of *Curcuma longa* L. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 16, p. 177-185, 2010.

PATALA, R.; ANGGI, V.; PAULA, I.; SAKINA, N. Aktivitas Analgesik dan Antiinflamasi Nanoemulsi Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L.) secara In Vivo. **Journal of Pharmaceutical and Sciences**, p. 1795-1803, 2023.

PAUL, A.; HARRINGTON, L. C.; ZHANG, L.; SCOTT, J. G. Insecticide resistance in *Culex pipiens* from New York. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 21, n. 3, p. 305-309, 2005.

PAVELA, R. Acute toxicity and synergistic and antagonistic effects of the aromatic compounds of some essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say larvae. **Parasitology research**, v. 114, p. 3835-3853, 2015b.

PAVELA, R. Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: a review. **Industrial crops and products**, v. 76, p. 174-187, 2015a.

PAVELA, R.; BENELLI, G. Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. **Trends in plant science**, v. 21, n. 12, p. 1000-1007, 2016.

PAVELA, R.; MAGGI, F.; CIANFAGLIONE, K.; BRUNO, M.; BENELLI, G. Larvicidal activity of essential oils of five Apiaceae taxa and some of their main constituents against *Culex quinquefasciatus*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 15, n. 1, p. e1700382, 2018.

PENICHE, T.; DUARTE, J. L.; FERREIRA, R. M. A.; SIDÔNIO, I. A. P.; SARQUIS, R. S. F. R.; SARQUIS, Í. R.; OLIVEIRA, A. E. M. F. M.; CRUZ, R. A. S.; FERREIRA, I. M.; FLORENTINO, A. C.; CARVALHO, J. C. T.; SOUTO, R. N. P.; FERNANDES, C. P. Larvicidal Effect of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. Essential Oil Nanoemulsion on *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Molecules**, v. 27, n. 23, p. 8433, 2022.

PEREIRA-FILHO, A. A.; PESSOA, G. C. D. Á.; YAMAGUCHI, L. F.; STANTON, M. A.; SERRAVITE, A. M.; PEREIRA, R. H. M.; NEVES, W. S.; KATO, M. J. Larvicidal activity of essential oils from *Piper* species against strains of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) resistant to pyrethroids. **Frontiers in plant science**, v. 12, p. 685864, 2021.

PERUMALSAMY, H.; KIM, N. J.; AHN, Y. J. Larvicidal activity of compounds isolated from *Asarum heterotropoides* against *Culex pipiens pallens*, *Aedes aegypti*, and *Ochlerotatus togoi* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 46, n. 6, p. 1420-1423, 2009.

PESCHIUTTA, M. L.; ARENA, J. S.; SANCHEZ, A. R.; TORRES, E. G.; PIZZOLITTO, R. P.; MERLO, C.; ZUNINO, M. P.; OMARINI, A. B.; DAMBOLENA, J. S.; ZYGADLO, J. A. Effectiveness of Mexican oregano essential oil from the Dominican Republic (*Lippia graveolens*) against maize pests (*Sitophilus zeamais* and *Fusarium verticillioides*). **Agriscientia**, v. 33, n. 2, p. 89-97, 2016.

PILQUINGA, F.; MOREJÓN, B.; GANCHALA, D.; MOREY, J.; PIÑA, N.; DEBUT, A.; NEIRA, M. Green synthesis of silver nanoparticles using *Solanum mammosum* L. (Solanaceae) fruit extract and their larvicidal activity against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Plos one**, v. 14, n. 10, 2019.

PLANTS OF THE WORLD. Zingiberaceae. **Plants of the world**, 2024. Disponível em: <<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30004541-2#source-KB>>. Acesso em: 16 de fev. de 2024.

POOPATHI, S.; MANI, C.; RAJESWARI, G. Potential of sugarcane bagasse (agro-industrial waste) for the production of *Bacillus thuringiensis israelensis*. **Tropical Biomedicine**, p. 504–515, 2013.

- PRADO, R.; GARCÍA, R.; RIOBOO, C.; HERRERO, C.; CID, A. Suitability of cytotoxicity endpoints and test microalgal species to disclose the toxic effect of common aquatic pollutants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 114, p. 117-125, 2015.
- PRASAD, S.; AGGARWAL, B. B. Turmeric, the Golden Spice: From Traditional Medicine to Modern Medicine. In: BENZIE, I. F. F; WACHTEL-GALOR, S. (Eds.). **Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects**. 2 Ed. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, 2011. cap. 13, p. 285-310.
- PRASAD, S.; SINGH, A.; KORRES, N. E.; RATHORE, D.; SEVDA, S.; PANT, D. Sustainable utilization of crop residues for energy generation: A life cycle assessment (LCA) perspective. **Bioresource technology**, v. 303, p. 122964, 2020.
- QUINTANS, J. S. S.; MENEZES, P. P.; SANTOS, M. R. V.; BONJARDIM, L. R.; ALMEIDA, J. R. G. S.; GELAIN, D. P.; ARAÚJO, A. A. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Improvement of p-cymene antinociceptive and anti-inflammatory effects by inclusion in β -cyclodextrin. **Phytomedicine**, v. 20, n. 5, p. 436-440, 2013.
- RAGAVENDRAN, C.; MANIGANDAN, V.; KAMARAJ, C.; BALASUBRAMANI, G.; PRAKASH, J. S.; PERUMAL, P.; NATARAJAN, D. Larvicidal, histopathological, antibacterial activity of indigenous fungus *Penicillium* sp. against *Aedes aegypti* L and *Culex quinquefasciatus* (Say) (Diptera: Culicidae) and its acetylcholinesterase inhibition and toxicity assessment of zebrafish (*Danio rerio*). **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 427, 2019.
- RAJKUMAR, S.; JEBANESAN, A. Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oil from *Clausena dentata* (Willd) M. Roam.(Rutaceae) against the chikungunya vector, *Aedes aegypti* Linn.(Diptera: Culicidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 13, n. 2, p. 107-109, 2010.
- RAO, J.; MCCLEMENTS, D. J. Impact of lemon oil composition on formation and stability of model food and beverage emulsions. **Food chemistry**, v. 134, n. 2, p. 749-757, 2012.
- RAVINDRAN, P. N.; BABU, K. N.; SIVARAMAN, K. **Turmeric: the genus Curcuma**. Boca Raton: CRC Press, 2007.
- RIBEIRO, L. P.; VENDRAMIM, J. D.; BALDIN, E. L. L. **Inseticidas botânicos no Brasil: aplicações, potencialidades e perspectivas**. Piracicaba: Fealq, 2023.
- RIBEIRO, N. C.; CAMARA, C. A. G. da; MELO, J. P. R.; DE MORAES, M. M. Acaricidal properties of essential oils from agro-industrial waste products from citric fruit against *Tetranychus urticae*. **Journal of applied entomology**, v. 143, n. 7, p. 731-743, 2019.
- RHEE, I. K.; VAN DE MEENT, M.; INGGANINAN, K.; VERPOORTE, R. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. **Journal of chromatography A**, v. 915, n. 1-2, p. 217-223, 2001.
- SAKA, R.; CHELLA, N. Nanocarriers as tools for delivery of nature derived compounds and extracts with therapeutic activity. In: PANDA, A. K.; SANEJA, A.; LICHTFOUSE,

E. Sustainable Agriculture Reviews 44: Pharmaceutical Technology for Natural Products Delivery Vol. 2 Impact of Nanotechnology, cap. 3, p. 73-114, 2020.

SALA, A.; VITTONI, S.; BARRENA, R.; SÁNCHEZ, A.; ARTOLA, A.. Scanning agro-industrial wastes as substrates for fungal biopesticide production: Use of *Beauveria bassiana* and *Trichoderma harzianum* in solid-state fermentation. **Journal of Environmental Management**, v. 295, p. 113113, 2021.

SANDHU, K. K.; VASHISHAT, N.; KOCHER, D. K. Potential larvicidal bioefficacy of copper sulfide-based hybrid nanoemulsions of eucalyptus oil against *Aedes aegypti* (Linnaeus). **Journal of Vector Borne Diseases**, v. 60, n. 1, p. 79-87, 2023.

SANTANA, R. C.; ROSA, A. S.; MATEUS, M. H. S.; SOARES, D. C.; ATELLA, G.; GUIMARÃES, A. C.; SIANI, A. C.; RAMOS, M. F. S.; SARAIVA, E. M.; PINTO-DASILVA, L. H. In vitro leishmanicidal activity of monoterpenes present in two species of *Protium* (Burseraceae) on *Leishmania amazonensis*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 259, p. 112981, 2020.

SARAFIAN, G.; AFSHAR, M.; MANSOURI, P.; ASGARPANAH, J.; RAOUFINEJAD, K.; RAJABIA, M. Topical turmeric microemulgel in the management of plaque psoriasis; a clinical evaluation. **Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR**, v. 14, n. 3, p. 865, 2015.

SERDEIRO, M. T.; DIAS, T. D.; LIMA, N. T. R. de; BARBOSA-FILHO, J. M.; BELATO, R. d. S.; SANTOS-MALLET, J. R. d.; MALECK, M. Study on Morphological Changes and Interference in the Development of *Aedes aegypti* Caused by Some Essential Oil Constituents. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 8, n. 9, p. 440, 2023.

SHAHZAD, K.; MANZOOR, F. Nanoformulations and their mode of action in insects: a review of biological interactions. **Drug and chemical toxicology**, v. 44, n. 1, p. 1-11, 2021.

SHANG, X.; WANG, Y.; ZHOU, X.; GUO, X.; DONG, S.; WANG, D.; ZHANG, J.; PAN, H.; ZHANG, Y.; MIAO, X. Acaricidal activity of oregano oil and its major component, carvacrol, thymol and p-cymene against *Psoroptes cuniculi* in vitro and in vivo. **Veterinary parasitology**, v. 226, p. 93-96, 2016.

SHARMA, N.; GUPTA, N.; ORFALI, R.; KUMAR, V.; PATEL, C. N.; PENG, J.; PERVEEN, S. Evaluation of the antifungal, antioxidant, and anti-diabetic potential of the essential oil of *Curcuma longa* leaves from the North-Western Himalayas by in vitro and in silico analysis. **Molecules**, v. 27, n. 22, p. 7664, 2022.

SHARMA, S.; LOACH, N.; GUPTA, S.; MOHAN, L. Phyto-nanoemulsion: An emerging nano-insecticidal formulation. **Environmental nanotechnology, monitoring & management**, v. 14, p. 100331, 2020.

SHENGGE, J. A.; OBI, R. K.; SALAWU, K. M. Assessment of antiviral activity of *Curcuma longa* on two RNA viruses. **Nig. J. Pure & Appl. Sci**, vol. 34, n. 1, 2021.

SILVA, A.; FIGUEIREDO, S. A.; SALES, M. G.; DELERUE-MATOS, C. Ecotoxicity tests using the green algae *Chlorella vulgaris*—a useful tool in hazardous effluents management. **Journal of Hazardous Materials**, v. 167, n. 1-3, p. 179-185, 2009.

SILVA, M. F. R.; BEZERRA-SILVA, P. C.; LIRA, C. S.; ALBUQUERQUE, B. N. L.; NETO, A. C. A.; PONTUAL, E. V.; MACIEL, J. R.; PAIVA, P. M. G.; NAVARRO, D. M. A. F. Composition and biological activities of the essential oil of *Piper corcovadensis* (Miq.) C. DC (Piperaceae). **Experimental parasitology**, v. 165, p. 64-70, 2016.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (org.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre: Editora da Universidade UFRGS/ Editora da UFSC, 2007.

SINDHU, M.; RAJKUMAR, V.; ANNAPOORANI, C. A.; GUNASEKARAN, C.; KANNAN, M. Functionalized nanoencapsulated *Curcuma longa* essential oil in chitosan nanopolymer and their application for antioxidant and antimicrobial efficacy. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 251, p. 126387, 2023.

SINDHU, S.; CHEMPAKAM, B.; LEELA, N. K.; SUSEELA BH, R. Chemoprevention by essential oil of turmeric leaves (*Curcuma longa* L.) on the growth of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. **Food and Chemical toxicology**, v. 49, n. 5, p. 1188-1192, 2011.

SOHAL, R. S.; COPELAND, E. Ultrastructural variations in the anal papillae of *Aedes aegypti* (L.) at different environmental salinities. **Journal of Insect Physiology**, v. 12, n. 4, p. 429-434, 1966.

SOONWERA, M.; MOUNGTHIPMALAI, T.; AUNGTIKUN, J.; SITTICHOK, S. Combinations of plant essential oils and their major compositions inducing mortality and morphological abnormality of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **Heliyon**, v. 8, n. 5, 2022.

SOUZA, T. M.; CUNHA, A. P.; FARIAS, D. F.; MACHADO, L. K.; MORAIS, S. M.; RICARDO, N. M. P. S.; CARVALHO, A. F. U. Insecticidal activity against *Aedes aegypti* of m-pentadecadienyl-phenol isolated from *Myracrodruon urundeuva* seeds. **Pest management science**, v. 68, n. 10, p. 1380-1384, 2012.

SOUZA-NETO, J. A.; POWELL, J. R.; BONIZZONI, M. *Aedes aegypti* vector competence studies: A review. **Infection, genetics and evolution**, v. 67, p. 191-209, 2019.

SRIDHAR, A.; KAPOOR, A.; SENTHIL KUMAR, P.; PONNUCHAMY, M.; BALASUBRAMANIAN, S.; PRABHAKAR, S. Conversion of food waste to energy: A focus on sustainability and life cycle assessment. **Fuel**, v. 302, p. 121069, 2021.

SRIVASTAVA, S.; SAKSENA, A. K.; KHATTRI, S.; KUMAR, S.; DAGUR, R. S. *Curcuma longa* extract reduces inflammatory and oxidative stress biomarkers in osteoarthritis of knee: a four-month, double-blind, randomized, placebo-controlled trial. **Inflammopharmacology**, v. 24, p. 377-388, 2016.

STENMARCK, Å.; JENSEN, C.; QUESTED, T.; MOATES, G. Estimates of European food waste levels. **IVL Swedish Environmental Research Institute**, 2016.

SUDEEP, H. V.; RAJ, A.; GOUTHAMCHANDRA, K.; CHANDRAPPA, S.; SHYAMPRASAD, K. Kinetics and computational analysis of cholinesterase inhibition by REVERC3, a bisdemethoxycurcumin-rich *Curcuma longa* extract: Relevance to the treatment of Alzheimer's disease. **SAGE Open Medicine**, v. 8, p. 2050312120973499, 2020.

SULHATH, T. A. A.; VISAKH, N. U.; PATHROSE, B.; GEORGE, S. B. Investigating the insecticidal properties of essential oils extracted from wild turmeric (*Curcuma aromatica* salisb) leaves waste against three key stored product pests. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 38, p. 101482, 2024.

SY, P. M.; ANTON, N.; IDOUX-GILLET, Y.; DIENG, S. M.; MESSADDEQ, N.; ENNAHAR, S.; DIARRA, M.; VANDAMME, T. F. Papa Mady et al. Pickering nano-emulsion as a nanocarrier for pH-triggered drug release. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 549, n. 1-2, p. 299-305, 2018.

TAJUDEEN, Y. A.; OLADUNJOYE, I. O.; MUSTAPHA, M. O.; MUSTAPHA, X. T.; AJIDE-BAMIGBOYE, N. T. Tackling the global health threat of arboviruses: An appraisal of the three holistic approaches to health. **Health Promotion Perspectives**, v. 11, n. 4, p. 371, 2021.

TELES, A. M.; ROSA, T. D. S.; MOUCHREK, A. N.; ABREU-SILVA, A. L.; CALABRESE, K. S.; ALMEIDA-SOUZA, F. *Cinnamomum zeylanicum*, *Origanum vulgare*, and *Curcuma longa* essential oils: chemical composition, antimicrobial and antileishmanial activity. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2019, p. 12, 2019.

TIAN, F.; WOO, S. Y.; LEE, S. Y.; CHUN, H. S. p-Cymene and its derivatives exhibit antiaflatoxic activities against *Aspergillus flavus* through multiple modes of action. **Applied Biological Chemistry**, v. 61, p. 489-497, 2018.

VALLE, D.; BELINATO, T. A.; MARTINS, A. J. Controle químico de *Aedes aegypti*, resistência a inseticidas e alternativas. In: VALLE, D.; PIMENTA, D. N.; CUNHA, R. V. (Orgs). **Dengue: teorias e práticas**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2015. Cap. 4, p. 93-126.

VAN DEN DOOL, H. A. N. D.; KRATZ, P. Dec. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of chromatography**, 1963.

VISAKH, N. U.; PATHROSE, B.; CHELLAPPAN, M.; RANJITH, M. T.; SINDHU, P. V.; MATHEW, D. Extraction and chemical characterisation of agro-waste from turmeric leaves as a source of bioactive essential oils with insecticidal and antioxidant activities. **Waste Management**, v. 169, p. 1-10, 2023.

VISAKH, N. U.; PATHROSE, B.; NARAYANANKUTTY, A.; ALFARHAN, A.; RAMESH, V. Utilization of pomelo (*Citrus maxima*) peel waste into bioactive essential oils: Chemical composition and insecticidal properties. **Insects**, v. 13, n. 5, p. 480, 2022.

WANG, J. L.; LI, Y.; LEI, C. L. Evaluation of monoterpenes for the control of *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motschulsky. **Natural Product Research**, v. 23, n. 12, p. 1080-1088, 2009.

WHO. Guidelines for testing mosquito adulticides for indoor residual spraying and treatment of mosquito nets. WHO/CDS/NTD/WHOPES/GCDPP/2006.3. **World Health Organization**, 2006.

WHO. Disease Outbreak News; Dengue – Global situation Available at. **World Health Organization**, 2023a. Disponível em: <<https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON498>>. Acesso em: 02 de mai. de 2024.

WHO. Disease Outbreak News; Dengue – Global situation Available. **World Health Organization**, 2024a. Disponível em: <<https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2024-DON518>>. Acesso em: 30 de abr. de 2024.

WHO. **Global plan for insecticide resistance management in malaria vectors**. Geneva: World Health Organization, 2012.

WILSON, A. L.; COURTENAY, O.; KELLY-ESPERANÇA, L. A.; SCOTT, T. W.; TAKEN, W.; TORR, S. J.; LINDSAY, S. W. The importance of vector control for the control and elimination of vector-borne diseases. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 14, n. 1, 2020.

WONG, S. T. S.; KAMARI, A.; YUSOFF, S. N. M.; JUMADI, J.; ABDULRASOOL, M. M.; KUMARAN, S.; ISHAK, S. Brief review on materials used as carrier agents for larvicide formulations. In: **Journal of Physics: Conference Series**. IOP Publishing, 2019. p. 012025. WOOD, T. Ornamental Zingiberaceae. **Ornamental Horticulture**, v. 1, n. 1, p. 12-13, 1995.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides**. Geneva: WHO, 2005. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/WHO-CDS-WHOPES-GCDPP-2005.13>>. Acesso em: 18 fev. 2022.

WUILLDA, A. C. J.; MARTINS, R. C. C.; COSTA, F. N. Larvicidal activity of secondary plant metabolites in *Aedes aegypti* control: An overview of the previous 6 years. **Natural Product Communications**, v. 14, n. 7, 2019.

YAASHIKAA, P. R.; KUMAR, P. S.; VARJANI, S. Valorization of agro-industrial wastes for biorefinery process and circular bioeconomy: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 343, p. 126126, 2022.

YADAV, I. C.; DEVI, N. L. Pesticides classification and its impact on human and environment. **Environmental science and engineering**, v. 6, n. 7, p. 140-158, 2017.

YANG, Q. Q.; CHENG, L. Z.; ZHANG, T.; YARON, S.; JIANG, H. X.; SUI, Z. Q.; CORKE, H. Phenolic profiles, antioxidant, and antiproliferative activities of turmeric (*Curcuma longa*). **Industrial crops and products**, v. 152, p. 112561, 2020.

ZIHARE, L.; SPALVINS, K.; BLUMBERGA, D. Multi criteria analysis for products derived from agro-industrial by-products. **Energy Procedia**, v. 147, p. 452-457, 2018.