

## Complexos de inclusão de óleos essenciais de *Psidium* para aplicação larvicida, herbicida e citogenotóxica



<https://doi.org/10.56238/tecnolocienagrariabiosoci-003>

### Luiza Alves Mendes

Mestre  
Universidade Federal de Viçosa

### Loren Cristina Vasconcelos

Mestre  
Universidade Federal do Espírito Santo

### Milene Miranda Praça-Fontes

Doutora  
Universidade Federal do Espírito Santo

### Marcia Flores da Silva Ferreira

Doutora  
Universidade Federal do Espírito Santo

### Róbson Ricardo Teixeira

Doutor  
Universidade Federal de Viçosa

### Renata Pereira Lopes Moreira

Doutora  
Universidade Federal de Viçosa

### RESUMO

As plantas do gênero *Psidium* (Myrtaceae) apresentam, dentre seus usos relevantes, atividades biológicas relacionadas aos seus compostos ativos, com destaque ao óleo essencial (OE) presente na

folha. Os OEs extraídos das folhas de *Psidium* guajava, *Psidium cattleianum* e *Psidium gaudichaudianum* possuem aplicações em larvas de *Aedes aegypti*, herbicida e citogenotóxica. Para ampliar as aplicações do OE, que é insolúvel em água e facilmente degradado por fatores externos, métodos de proteção podem ser utilizados para formar cápsulas ou complexos de inclusão (CIs). Um oligossacarídeo que pode ser utilizado para complexar o OE é a 2-hidroxiopropil- $\beta$ -ciclodextrina (HP $\beta$ CD), que é derivada do amido. Para produzir os CIs, os métodos físicos como maceração (KN) e liofilização (FD) podem ser empregados. A fim de comprovar se os CIs foram preparados corretamente, técnicas analíticas podem ser utilizadas, como a espectroscopia na região do UV-Vis, FTIR, TGA, DLS e XRD. Os OEs e CIs de *Psidium* produzidos podem ser aplicados em larvas de *Aedes aegypti*, em plantas invasoras como *Lolium multiflorum* e *Bidens pilosa* e em células meristemáticas da raiz de *Lactuca sativa*, sendo verificado a influência na normalidade do ciclo celular. Considerando a importância dos óleos essenciais, dos complexos de inclusão e de suas potenciais aplicações, este capítulo aborda os assuntos mais relevantes numa revisão da literatura sobre esse assunto.

**Palavras-chave:** Goiabeira, Araçá, Produto natural, Encapsulamento, Complexo de inclusão, Dengue, Plantas daninhas.

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 GOIABEIRA

As goiabeiras (*Psidium guajava* Linnaeus) pertencem à família Myrtaceae, que compreende cerca de 120 gêneros e 7000 espécies, que se distribuem predominantemente nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (“WCSP”, 2020). As goiabeiras são classificadas como árvores de tamanho médio, perenes e frutíferas (Fig. 1). Suas folhas apresentam até cerca de 20 cm de comprimento, com pecíolo curto e nervuras na parte inferior. Possuem flores hermafroditas e geralmente brancas



(GRESSLER; PIZO; MORELLATO, 2006). O fruto da goiabeira é constituído por casca, polpa e semente.

Figura 1. Cultivar Século XXI da espécie *Psidium guajava*.



Fonte: O autor.

O Brasil está entre os principais produtores mundiais de goiaba e a maior parte da produção do país é destinada à indústria de alimentos para produzir doces, sucos, geleias e polpa congelada (VITTI; LIMA; MARTINES FILHO, 2020). *Psidium* é originário da palavra “psídion”, que significa morder, em referência ao sabor agradável dos frutos (FRANZON *et al.*, 2009). Além de ser rica em antioxidantes e vitaminas, a goiabeira é considerada uma planta medicinal, contribuindo com o tratamento de diversas doenças: distúrbios respiratórios e gastrointestinais, anti-inflamatório, antidiarreico, anti-hipertensivo, entre outras (BARBALHO *et al.*, 2012; JOSEPH, 2011). A ação fitoterápica da planta pode ser atribuída à presença dos compostos biologicamente ativos.

No entanto, para utilizar as plantas de forma mais eficiente é imprescindível estudá-las de forma aprofundada dentro do reino vegetal. Deve-se considerar que, dentro de uma espécie de planta, existem grandes quantidades de variedades ou cultivares. Cada uma delas possui características únicas, pois em toda a estrutura da planta a composição química dos diferentes tecidos é variável para cada cultivar. Alguns fatores contribuem para essa diferenciação, podendo ser genéticos, ambientais, estágio de desenvolvimento, tipo de tecido e os tratamentos pré e pós-colheita da planta (KÜLHEIM *et al.*, 2015; MORAIS, 2009). Todavia, o controle genético parece ser de longe a fonte dominante de variação dentro de uma espécie (MANGANARIS *et al.*, 2018). Assim, a genética da planta deve ser estudada, visto que cada cultivar terá particularidades que a distingue das demais. Com isso, é possível direcionar



o uso das plantas de acordo com as maiores concentrações dos princípios ativos e com outras características de interesse dos produtores, como produtividade e resistência.

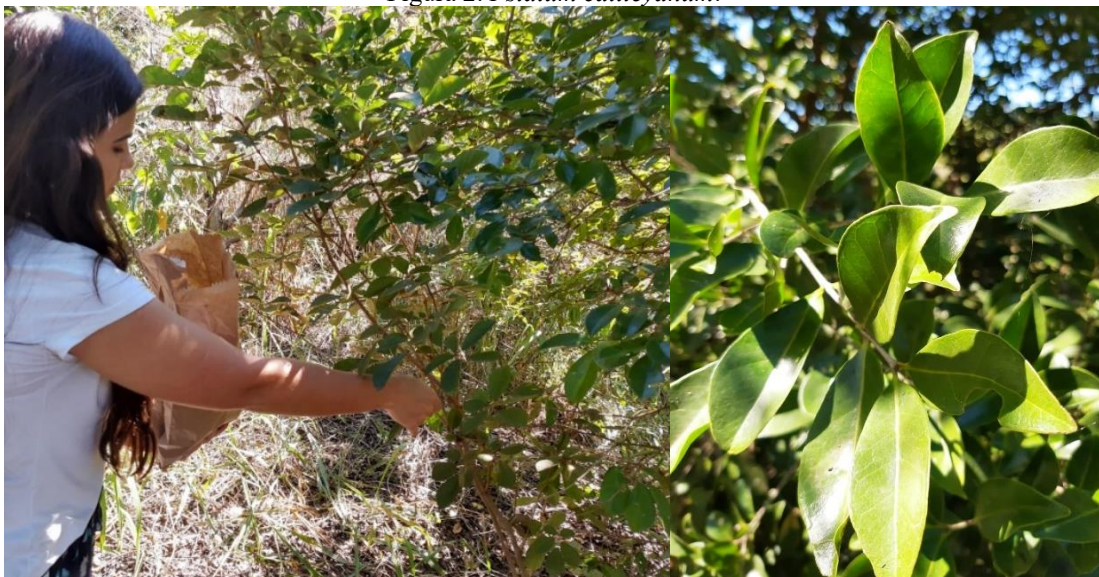
Ao estudar a espécie *Psidium guajava* verifica-se a existência de muitas cultivares registradas. Porém, as mais plantadas no Brasil, segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), são: Paluma, Pedro Sato, Rica, Século XXI, variações da Cortibel (Estado do Espírito Santo), Tailandesa, Ogawa, Sassaoka e Kumagai (FLORI, 2016). Neste trabalho foi utilizada a variedade Século XXI.

## 2 ARAÇÁ

*Psidium cattleyanum* Sabine é uma planta que pertence à família Myrtaceae e é conhecida popularmente como araçazeiro, produzindo frutos denominados como goiaba morango ou araçá (Fig. 2) (CASTRO *et al.*, 2015). Essa espécie é nativa do Brasil, podendo ser encontrada tipicamente nos estados da Bahia ao Rio Grande do Sul (PEREIRA *et al.*, 2018). No entanto, *P. cattleyanum* se naturalizou em locais como o Havaí e muitas ilhas do Caribe, podendo assim ser encontrada pelo mundo em regiões de clima tropical, como América do Sul e América Central (PATEL, 2012).

*P. cattleyanum* é uma árvore ou arbusto frutífero de pequeno porte, cujos frutos são ricos em vitamina C, com casca de coloração geralmente amarela ou vermelha, possuem 2,2 a 5 cm de diâmetro com polpa branca e numerosas sementes (PEREIRA *et al.*, 2018). Suas folhas são perenes, brilhantes e resistentes (PATEL, 2012). Essa espécie possui importância comercial atribuída aos seus frutos utilizados na indústria alimentícia (SANTOS *et al.*, 2007). Além disso, *P. cattleyanum* possui importância na indústria farmacêutica, pois apresenta atividade antioxidante, antifúngica e antimicrobiana (CASTRO *et al.*, 2015; MEDINA *et al.*, 2011; SCUR *et al.*, 2016).

Figura 2. *Psidium cattleyanum*.



Fonte: O autor.





*Psidium gaudichaudianum* Proença & Faria é uma planta que pertence à família Myrtaceae e é conhecida como araçá, assim como a *P. cattleianum* (Fig. 3). *P. gaudichaudianum* é uma espécie nativa do Brasil pouco conhecida (SILVA et al., 2021). O estudo dessas plantas é imprescindível para o desenvolvimento da espécie e seu uso sustentável. Além disso, as espécies de araçá têm uma quantidade de óleo essencial foliar superior as goiabeiras, o que as torna mais viável economicamente para essa finalidade (MENDES et al., 2017, 2022, 2023).

Uma das grandes vantagens da utilização de espécies de *Psidium* é sua adaptabilidade a locais sob condições de estresse abiótico, incluindo escassez de água e temperaturas extremas (MEDINA et al., 2011). Apesar disso, existem muitas espécies de *Psidium* ainda pouco exploradas em escala comercial e, muitas das vezes, a produção é pequena e limitada a determinada região, como é o caso da *P. cattleianum* e *P. gaudichaudianum* (FRANZON et al., 2009). No entanto, os frutos de *P. cattleianum* são considerados os melhores entre as espécies de araçazeiro (VIEIRA et al., 2006). Dessa forma, seu desenvolvimento e exploração contribuem para a expansão da cultura e descoberta de novas aplicações.

Figura 3. *Psidium gaudichaudianum*.



Fonte: O autor.

### 3 ÓLEO ESSENCIAL

Ao longo da história da humanidade há vários registros da utilização de plantas aromáticas em atividades, como: cerimônias e adornos religiosos; formulação de remédios; insumos naturais para as indústrias de perfumaria e química (SANGWAN et al., 2001). A utilização de plantas e de seus derivados com ação repelente e inseticida é tão antiga quanto a civilização humana, com relatos milenares no mundo todo, como na China, Índia e no Tibete (BARROS; FEITOSA, 2019). A quantidade de plantas aromáticas sendo utilizadas vem aumentando ao longo dos anos, como



consequência do desenvolvimento agrícola e dos recursos genéticos para o cultivo comercial (CHRISTAKI *et al.*, 2020; GIANNENAS *et al.*, 2020).

As goiabeiras são árvores aromáticas e a partir de suas folhas é possível obter o OE. Os óleos essenciais são produzidos e armazenados nas plantas em estruturas secretoras, chamadas de tricomas glandulares (BISWAS *et al.*, 2009). Os OEs fazem parte do metabolismo secundário das plantas, contribuindo para a sua proteção, uma vez que atraem polinizadores e dispersam predadores devido à sua volatilidade e composição química (KNAAK; FIUZA, 2010). Os metabólitos primários são fundamentais à manutenção das funções vitais da planta, enquanto os metabólitos secundários são compostos de distribuição restrita, sem função evidente na manutenção do ciclo vital da planta (BARROS; FEITOSA, 2019). No entanto, o OE possui importância ambiental para a planta e essa propriedade desperta interesse no estudo dos seus compostos químicos. Além disso, os OEs e seus constituintes são considerados um dos bioativos naturais mais importantes das plantas (OLIVEIRA-FILHO *et al.*, 2018).

Os OEs são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas, constituídos na maioria das vezes por mono e sesquiterpenos. Por serem formados majoritariamente por hidrocarbonetos, possuindo natureza hidrofóbica e densidade geralmente menor que a da água, os OEs são separados da fase aquosa por decantação. Os OEs podem ser biossintetizados em diferentes órgãos vegetais, como: flor, erva, broto, folha, fruta, galho, casca, semente, rizoma e raiz (ASBAHANI *et al.*, 2015).

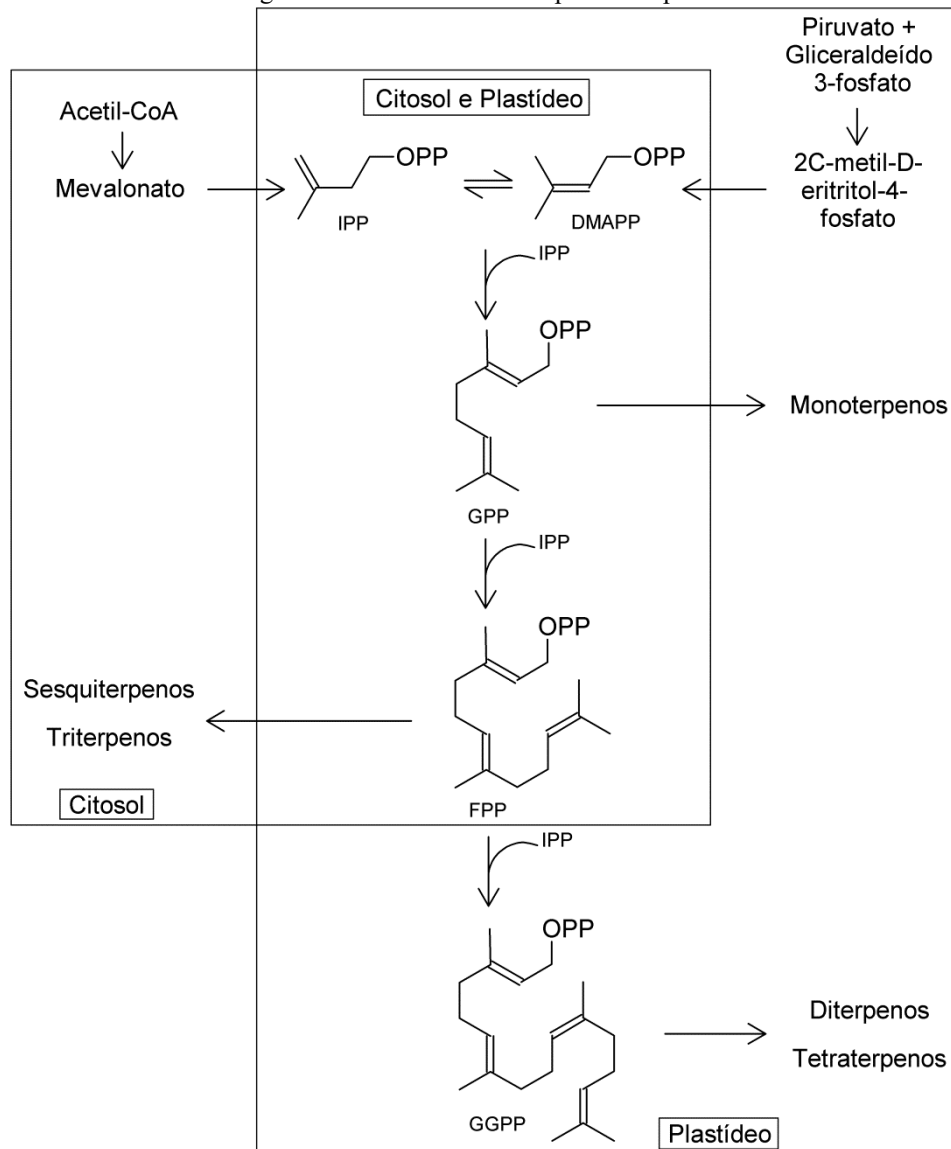
Os constituintes comumente encontrados nos extratos vegetais ou OEs são derivados, principalmente da via biossintética de ácidos graxos, fenilpropanoides ou isoprenoides (DAVIET; SCHALK, 2010). Este último da origem a maior classe de metabólitos secundários das plantas, os terpenos, que exibem uma ampla diversidade de estruturas e propriedades biológicas (DAVIET; SCHALK, 2010).

Os terpenos são derivados da condensação de duas unidades de isopreno, que possuem cinco carbonos: isopentenil difosfato (IPP) e seu isômero dimetilalil difosfato (DMAPP) (BANDEIRA *et al.*, 2011). Existem duas vias que levam a esses precursores: mevalonato (MVA) e 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato (MEP), ambos com esqueleto isoprênico (TRAPP; CROTEAU, 2001) (Fig. 4). A síntese do IPP ocorre a partir do acetil-CoA, que forma o intermediário MVA (LANGE *et al.*, 2000). A via do MVA é encontrada em fungos, animais e no citosol das plantas, enquanto a rota do MEP é usada por bactérias e em plastídeos vegetais (DAVIET; SCHALK, 2010; LANGE *et al.*, 2000). O IPP e DMAPP podem se condensar dando origem ao geranyl difosfato (GPP), que possui 10 carbonos e é precursor da síntese dos monoterpenos (C<sub>10</sub>). Através do GPP, novas condensações com essas unidades isoprênicas podem ocorrer dando origem ao farnesil difosfato (FPP), que possui 15 carbonos e é um precursor dos sesquiterpenos (C<sub>15</sub>) (HARADA; MISAWA, 2009). A adição de outra molécula de IPP



forma o geranylgeranyl difosfato (GGPP), que contém 20 carbonos e é precursor dos diterpenos ( $C_{20}$ ). Por fim, FPP e GGPP podem dimerizar para formar triterpenos ( $C_{30}$ ) e tetraterpenos ( $C_{40}$ ), respectivamente. Os terpenos que possuem apenas carbono e hidrogênio podem ser classificados como hidrocarbonetos. Enquanto os que possuem o oxigênio, além do carbono e hidrogênio, podem ser chamados de hidrocarbonetos oxigenados.

Figura 4. Via de síntese de terpenos em plantas.



Fonte: Adaptado de Trapp e Croteau (2001).

Ao avaliar os OEs das cultivares dentro de uma espécie, é possível observar variação intraespecífica na composição química. Mendes *et al.* (2018) ao estudarem a composição química dos OEs das folhas de 21 genótipos de goiabeiras, verificaram variações quali e quantitativas. Variações qualitativas podem ocorrer como consequência de um redirecionamento da via metabólica para produção de diferentes compostos dependendo da necessidade da planta. Dessa forma, sempre que possível, é importante fazer a distinção do genótipo ou cultivar que está sendo utilizada, contribuindo



para uma melhor comparação de resultados com outros trabalho. Haja vista que a composição intraespecífica varia significativamente.

Diversos métodos podem ser realizados para extrair os OEs, mas geralmente é utilizada a hidrodestilação. Para o emprego dessa técnica é necessário apenas um aparelho Clevenger (ampola, trap e balão de fundo redondo) e uma manta aquecedora (Fig. 5). A hidrodestilação é um excelente método de extração, pois proporciona um bom rendimento, é mais simples e rápida, com menor custo do que outras técnicas para a obtenção de OEs (CHARLES; SIMON, 1990).

Figura 5. Aparelho Clevenger utilizando para hidrodestilação.



Fonte: O autor.

O estudo dos OEs bem como a sua aplicação tem despertado interesse de pesquisadores em várias áreas por ser produto natural e possuir inúmeros benefícios. Na literatura, são encontrados trabalhos que utilizam os OEs na medicina, farmácia, biologia, como cosméticos, alimentos, entre outros. Eles apresentam atividade citotóxica, antimicrobiana, antioxidante (KALLELI *et al.*, 2019; MOTHANA *et al.*, 2019; YAZGAN; OZOGUL; KULEY, 2019), anti-inflamatória (ALOLGA *et al.*, 2019), antibacteriana (JAMIL *et al.*, 2016; OKOH; OKOH; OKOH, 2019; OLUGU *et al.*, 2019), anticancerígena (TIAN *et al.*, 2019), inseticida (GALLI *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2019), larvicida (MENDES *et al.*, 2017), na conservação de alimentos (AMIRI *et al.*, 2019; FALOWO *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2019; WU *et al.*, 2019), na fragrância de perfumes (CHEN *et al.*, 2019) e tecidos (STAN *et al.*, 2019). Essas aplicações estão relacionadas diretamente aos compostos bioativos dos OEs, sua concentração e ao sinergismo com os outros constituintes, dependendo da aplicação direcionada (OLIVEIRA-FILHO *et al.*, 2018).

Mesmo com o aumento da utilização dos OEs, a comercialização desses produtos naturais poderia ser ainda maior (BARROS; FEITOSA, 2019). O principal motivo que impossibilita esse



crescimento no mercado é que muitos deles não apresentam padronização e controle de qualidade nas formulações, fatores estes que dificultam o registro fito-químico (BARROS; FEITOSA, 2019). Ainda, é necessário que o OE apresente constituição química estável. Sendo assim, para a inserção dos OEs de forma segura no mercado é imprescindível cada vez mais estudos das cultivares, dos compostos químicos presentes nos OEs, suas concentrações, mecanismos de ação, aplicabilidade e segurança aos seres vivos.

#### 4 ENCAPSULAMENTO

Os OEs são compostos voláteis e facilmente degradados, o que pode comprometer seus princípios ativos. Dessa forma, os OEs podem sofrer oxidação, volatilização e modificação na composição química quando expostos ao aquecimento e luz (ASBAHANI *et al.*, 2015). Para proteger os OEs de fatores externos, aumentar a estabilidade e solubilidade em meio aquoso, além de criar resistência física e gerar liberação controlada do material em determinado solvente, pode ser realizado o encapsulamento (GUPTA; VARIYAR, 2016; HONG; PARK, 1999).

Para o uso do OE como larvicida em *A. aegypti*, por exemplo, é importante que ele esteja solubilizado e estável em meio aquoso por tempo suficiente para que os ovos eclodam, as larvas se desenvolvam e sejam mortas (GUPTA; VARIYAR, 2016; P. FERREIRA *et al.*, 2019). Além disso, com o OE protegido, ocorre a integridade de sua composição química e, por consequência, de suas bioatividades e isso pode permitir sua comercialização com maior tempo de prateleira.

Sendo assim, o encapsulamento é um dos métodos mais eficientes para a formulação de OEs bioativos, isso porque, além das vantagens citadas anteriormente, pode mascarar odores desagradáveis e permitir sua utilização em medicamentos, alimentos, entre outros (ASSADPOUR; JAFARI, 2019; WADHWA *et al.*, 2017). Nesse processo, o material é envolvido por um revestimento ou é incorporado a uma matriz homogênea ou heterogênea, formando pequenas cápsulas ou complexos de inclusão (SAGALOWICZ; LESER, 2010; YAN *et al.*, 2018). As interações entre o material de revestimento e o OE podem formar emulsões, cápsulas e complexos de inclusão (KFOURY *et al.*, 2019). O sistema de encapsulamento a ser utilizado é selecionado de acordo com o uso pretendido, que pode variar dependendo do tamanho, forma ou natureza dos componentes que serão encapsulados (RODRÍGUEZ *et al.*, 2016).

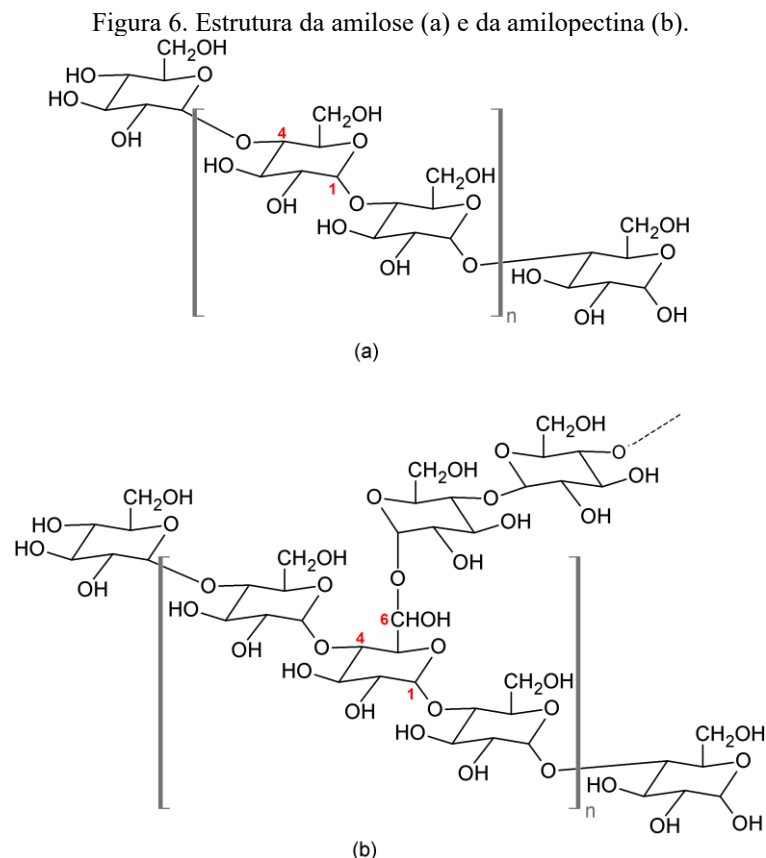
O revestimento utilizado para encapsular um determinado composto é comumente constituído de lipídios ou polímeros, sendo chamado de carreador ou material de parede (CORRÊA-FILHO; MOLDÃO-MARTINS; ALVES, 2019). O encapsulamento à base de lipídios possui algumas desvantagens, como: menor capacidade de encapsulação e baixa solubilidade em água (DAS *et al.*, 2019; EKAMBARAM; SATHALI; PRIYANKA, 2012; SHETTA; KEGERE; MAMDOUH, 2019).





Diante disso, muitos polímeros de origem natural, chamados de biopolímeros, têm sido utilizados para encapsular materiais como os OEs (SHETTA; KEGERE; MAMDOUH, 2019).

Os biopolímeros são materiais oriundos de fontes renováveis, como: quitosana, quitina, albumina, globulina, maltodextrina e amido (PRAKASH *et al.*, 2018). O amido é um polissacarídeo que possui importância nutricional e industrial, pois é fonte de carbono e energia (VAN DER VEEN *et al.*, 2000). Ele se encontra amplamente distribuído em diversas espécies vegetais, como carboidrato de reserva, sendo abundante em grãos de cereais, raízes e tubérculos (WALTER; SILVA; EMANUELLI, 2005). O amido é uma mistura de dois polissacarídeos: amilose e amilopectina. A amilose é formada por unidades de glicose, D-glicopirranose, unidas por ligações  $\alpha$ -(1,4) glicosídicas, originando uma cadeia linear (Fig. 6). Enquanto a amilopectina é formada por D-glicopirranose unidas em  $\alpha$ -(1,4) e  $\alpha$ -(1,6), formando uma estrutura ramificada (DENARDIN; SILVA, 2009). As proporções em que estas estruturas aparecem podem variar dependendo da fonte de amido, da variedade de uma espécie e na mesma variedade, de acordo com o estágio de desenvolvimento da planta (DENARDIN; SILVA, 2009).



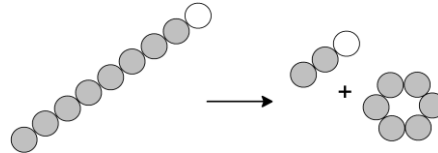
Fonte: Adaptado de Corradini *et al.* (2005).

É possível modificar enzimaticamente o amido em ciclodextrina (CD) através da enzima ciclodextrina glicosiltransferase (CGTase), que permite a formação de cavidades hidrofóbicas e superfície hidrofílica (CHAROENLAP *et al.*, 2004). Para isso, ocorre uma reação de ciclização, com



ataque às cadeias de glicose com extremidades não redutoras (Fig. 7) (SCHMID, 1989). De acordo com a clivagem, ciclos maiores podem ser formados a partir de quantidades superiores de unidades de glicose, formando oligossacarídeos. Assim, as CDs podem formar complexos de inclusão com os OEs e fazem parte das aplicações da química supramolecular, que possibilita a formação de nano ou microestruturas (OGOSHI; HARADA, 2008).

Figura 7. Representação esquemática da reação de ciclização do amido catalisada pela CGTase. A esfera cinza representa a molécula de glicose sem extremidade redutora; a esfera branca representa a molécula de glicose com extremidade redutora.



Fonte: Adaptado de Van der Veen *et al.* (2000).

## 5 QUÍMICA SUPRAMOLECULAR

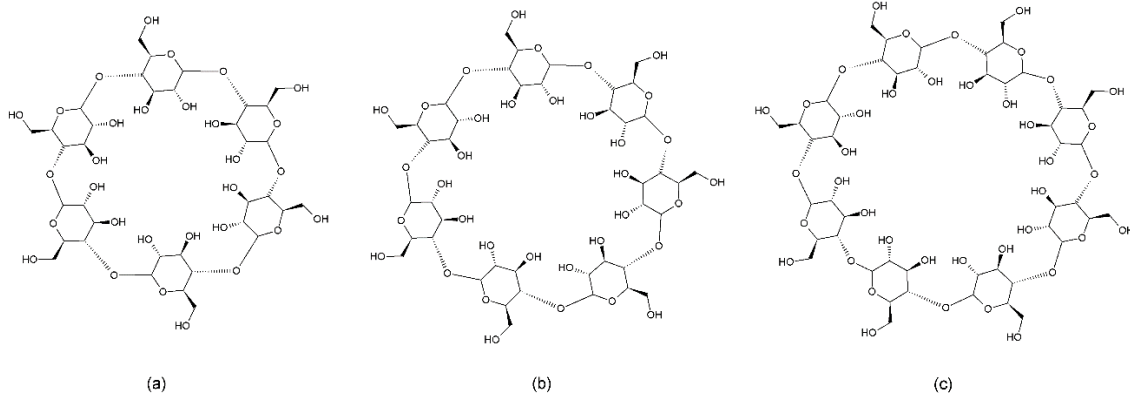
A química supramolecular é definida como a "química além da molécula" e se baseia na associação de moléculas, visando a obtenção de uma determinada propriedade ou funcionalidade (ARAKI; TOMA, 2002; GODOY NETTO; FREM; MAURO, 2008). Trata-se da formação de estruturas organizadas de alta complexidade, resultantes da associação de duas ou mais espécies químicas, que podem estar unidas por interações intermoleculares como: ligações de hidrogênio e forças de Van der Waals (GODOY NETTO; FREM; MAURO, 2008). As CDs estão entre as moléculas mais importantes estudadas pela química supramolecular, pois são capazes de formar complexos de inclusão com muitas substâncias, que passam a ter suas propriedades alteradas pela complexação (VENTURINI *et al.*, 2008; VILLALONGA; CAO; FRAGOSO, 2007). Assim, a capacidade que as CDs tem em interagir com os compostos presentes nos OEs, que se hospedam em suas cavidades, permite transformá-los para trazer benefícios e ampliar suas aplicações (VENTURINI *et al.*, 2008).

## 6 CICLODEXTRINA

As CDs foram isoladas pela primeira vez em 1891 como produtos de degradação do amido (VENTURINI *et al.*, 2008). A CD é um oligossacarídeo e um agente complexante formado, geralmente, por 6, 7 ou 8 unidades ( $\alpha$ ,  $\beta$  ou  $\gamma$ -CD, respectivamente) de D-glicopiranosose ligadas por ligações  $\alpha$ -(1,4) glicosídicas (Fig. 8) (VAN DER VEEN *et al.*, 2000).



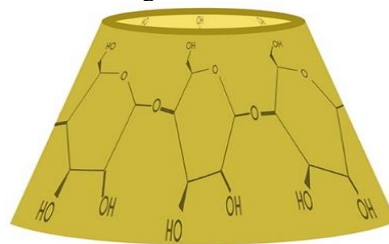
Figura 8. Estrutura da  $\alpha$  (a),  $\beta$  (b) ou  $\gamma$  (c) ciclodextrina.



Fonte: Adaptado de Varan *et al.* (2017).

As CDs têm uma estrutura de um cone truncado e oco (Fig. 9) (VARAN *et al.*, 2017). Nele, as hidroxilas primárias e secundárias estão orientadas preferencialmente para a parte externa, sendo capazes de formar ligações de hidrogênio em água (MARQUES, 2010). As hidroxilas primárias ficam na parte mais estreita do cone e as secundárias na borda mais larga (BREWSTER; LOFTSSON, 2007; HARADA; TAKASHIMA; YAMAGUCHI, 2009). Sendo assim, a superfície da CD é hidrofílica enquanto o interior do cone, com polaridade mais baixa, pode ser considerado uma cavidade hidrofóbica (VARAN *et al.*, 2017). A parte interna é revestida por anéis contendo hidrocarbonetos e éter, que estão interligados por ligações glicosídicas com o oxigênio. Quando o interior da cavidade da CD é preenchido por uma molécula de um composto hidrofóbico, forma-se o complexo de inclusão (CI) (SUGANYA; ANURADHA, 2017).

Figura 9. Forma geométrica da ciclodextrina.



Fonte: Adaptado de Varan *et al.* (2017).

Sendo assim, os CIs podem ser solúveis em água e contêm compostos mais apolares em seu interior. Os compostos aprisionados ou compostos ativos são chamados de hóspedes e os que aprisionam são chamados de hospedeiros. Geralmente, utilizando a CD, a estequiometria molar entre hospedeiro e hóspede é de 1:1 (CIOBANU; LANDY; FOURMENTIN, 2013; FLORENCE; ATTWOOD, 2003; GALVÃO *et al.*, 2019; HERRERA *et al.*, 2019; KFOURY *et al.*, 2019; MAGALHÃES *et al.*, 2020; MARRETO *et al.*, 2008; PANDIYAN; MATHEW; MUNUSAMY, 2019).

Para produzir a CD, os amidos de milho e batata são as fontes mais utilizadas (MARQUES, 2010). Como a maioria das CDs possuem baixa toxicidade ao meio ambiente e aos seres humanos,



além de serem biodegradáveis, são muito utilizadas pelas indústrias farmacêutica e alimentícia (SU *et al.*, 2019; VAHEDIKIA *et al.*, 2019). As CDs são capazes de solubilizar fármacos pouco solúveis em meio aquoso e entregá-los à membrana lipofílica, através da difusão passiva, em que os fármacos se difundem através da membrana celular de uma região de alta concentração, complexado na CD, para outra de baixa concentração (JANSOOK; OGAWA; LOFTSSON, 2018). Assim, é possível desenvolver uma formulação tópica que atue na liberação do composto ativo.

As diferenças físico-químicas entre as CDs estão apresentadas na Tabela 1 e demonstram que o aumento da quantidade de anéis é diretamente proporcional aos diâmetros interno e externo e a massa molar. As alturas do cone são as mesmas para as CDs. Em relação a solubilidade em água, a  $\beta$ -CD tem menor valor e a  $\gamma$ -CD é a mais solúvel. As constantes de estabilidade (K) dos CIs foram obtidas através da literatura publicada utilizando as 3 CDs com diferentes hóspedes na razão molar 1:1 (CONNORS, 1995). Os dados obtidos demonstraram que os CIs com a  $\beta$ -CD são mais estáveis do que a  $\alpha$  e  $\gamma$ -CD. Esses parâmetros auxiliam na escolha da CD a ser utilizada de acordo com a finalidade desejada.

Em solução aquosa, a cavidade da CD, que é mais apolar em relação a superfície, é ocupada por moléculas de água, estas podem ser facilmente substituídas por um hóspede que seja menos polar, considerando que a interação apolar-apolar é mais favorável (VENTURINI *et al.*, 2008). Além disso, as moléculas de água possuem elevada entalpia, e quando substituídas por moléculas hóspedes de menor entalpia, contribuem para a estabilização do complexo de inclusão, pois promovem alívio da tensão de conformação da CD (BREWSTER; LOFTSSON, 2007; VENTURINI *et al.*, 2008). Sendo assim, a complexação de compostos apolares se trata de um processo energeticamente viável por promover uma alteração favorável de entalpia, aumento da entropia e redução da energia total do sistema (BREWSTER; LOFTSSON, 2007; DE LIMA; ALVES; DE SANTANA, 2012). Devido a essas vantagens e a simplicidade para formar os CIs, as CDs vem sendo cada vez mais utilizadas. As forças de Van der Waals, envolvendo interações dipolo-induzido e dipolo-dipolo, e ligações de hidrogênio entre hóspede e hospedeiro, também contribuem para formação e estabilização dos CIs (DE LIMA; ALVES; DE SANTANA, 2012).



Tabela 1. Propriedades físico-químicas da  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -ciclodextrina.

	Tipo de ciclodextrina		
	$\alpha$ -CD	$\beta$ -CD	$\gamma$ -CD
Diâmetro da cavidade / Å	4,7-5,3	6,0-6,5	7,5-8,3
Diâmetro externo / Å	14,6	15,4	17,5
Altura do cone truncado / Å	7,9	7,9	7,9
Massa molar / g mol <sup>-1</sup>	972	1134	1296
Solubilidade em água / mg mL <sup>-1</sup> ; 25 °C	145	18,5	232
K <sub>1:1</sub> / L mol <sup>-1a</sup>	130	490	350

<sup>a</sup>Valor médio da constante de estabilidade de complexos de inclusão na razão molar 1:1 (hóspede:CD) em soluções aquosas a 25 °C.

Fonte: Adaptado de Varan *et al.* (2017), Brewster; Loftsson (2007) e Connors (1995).

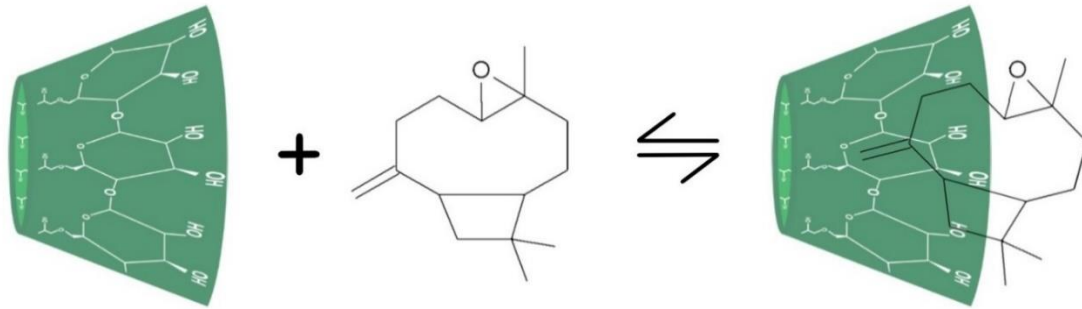
## 6.1 2-HIDROXIPROPIL- $\beta$ -CICLODEXTRINA

As CDs naturais ( $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -CD) possuem solubilidade aquosa variável, o que significa que alguns CIs formados poderão precipitar em água ao invés de serem solubilizados (BREWSTER; LOFTSSON, 2007). Assim, ao longo dos anos, o uso das CD naturais vem dando espaço aos seus derivados semissintéticos. O tamanho da cavidade da  $\alpha$ -CD é insuficiente para muitos medicamentos e a  $\gamma$ -CD é de alto custo (VARAN *et al.*, 2017). A  $\beta$ -CD possui solubilidade relativamente baixa, porém forma CIs de alta estabilidade com tamanho da cavidade adequada para complexar compostos com massa molar entre 200 e 800 g mol<sup>-1</sup> (TAO *et al.*, 2014; TEIXEIRA *et al.*, 2013). Sendo assim, ela é muito utilizada e pode sofrer modificações em sua estrutura para aumentar a solubilidade. As CDs modificadas mais utilizadas são: 2-hidroxiopropil- $\beta$ -ciclodextrina (HP $\beta$ CD), sulfo-butil-éter- $\beta$ -CD (SB $\beta$ CD) e metil- $\beta$ -CD randomizada (RM $\beta$ CD), que apresentam solubilidade em água de aproximadamente 600, 500 e 500 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente (BREWSTER; LOFTSSON, 2007). Estes valores são maiores do que as das CDs naturais que foram apresentados na Tabela 1. Além disso, apresentam maior capacidade de inclusão e maior estabilidade, devido às alterações das suas propriedades físico-químicas originais (DE LIMA; ALVES; DE SANTANA, 2012).

Ciobanu, Landy e Fourmentin (2013) formaram CIs com 13 compostos voláteis utilizando  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -CD e HP $\beta$ CD. A capacidade de complexação utilizando esses hospedeiros foi comparada e a HP $\beta$ CD teve maior eficiência de complexar, além de possuir maior solubilidade em água quando comparada com as demais. Isso ocorre porque a presença de grupos hidroxiopropil estende a região hidrofóbica da cavidade da  $\beta$ -CD, podendo aumentar a estabilidade do complexo (JANSOOK; OGAWA; LOFTSSON, 2018). Além disso, é importante ressaltar que na formação do CI apenas a parte lipofílica da molécula pode se encaixar na cavidade da HP $\beta$ CD (Fig. 10) (JANSOOK; OGAWA; LOFTSSON, 2018; MARQUES, 2010).



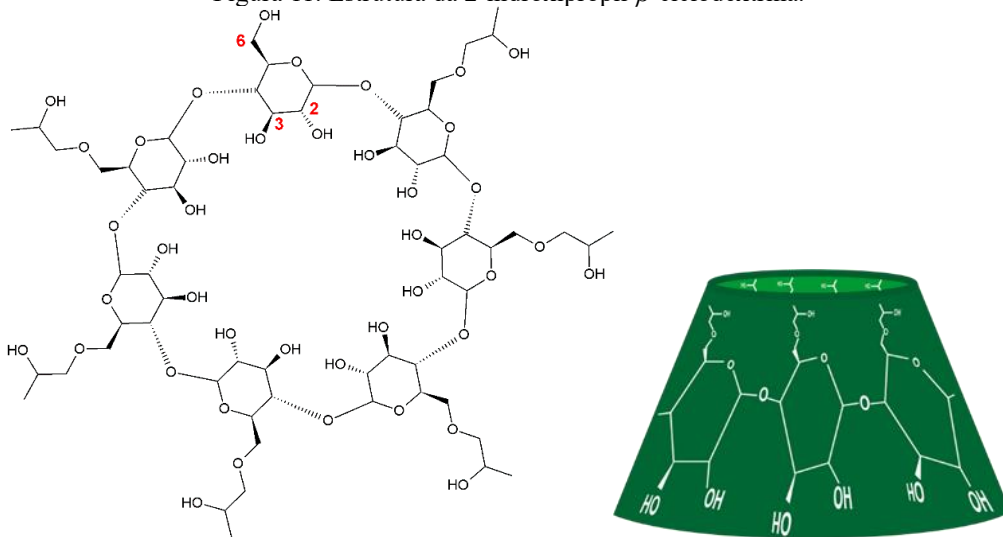
Figura 10. Complexação da HP $\beta$ CD com o  $\beta$ -cariofileno, principal composto majoritário encontrado nos óleos essenciais de, obtidos nesse trabalho.



Fonte: O autor.

Considerando a alta eficiência para complexar e a estabilidade do complexo formado, a HP $\beta$ CD vem sendo muito utilizada (Fig. 11). Os grupos OH dos carbonos 2, 3 e 6 da CD podem sofrer modificação estrutural sem o risco de eliminar a cavidade central (MARQUES, 2010). No entanto, os grupos OH no carbono 6 da CD são os mais reativos, interagindo mais com o hóspede (BREWSTER; LOFTSSON, 2007). Por esse motivo, para obter melhor complexação da HP $\beta$ CD com os compostos que serão incluídos, as modificações nas CDs geralmente ocorrem no carbono ligado as hidroxilas primárias. O número de radicais 2-hidroxipropil nos anéis da  $\beta$ -CD pode ser variável dependendo do fabricante do reagente, podendo ser uma ou mais substituições.

Figura 11. Estrutura da 2-hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina.



Fonte: O autor.

## 7 TÉCNICAS DE PREPARAÇÃO DOS COMPLEXOS DE INCLUSÃO

A formação dos CIs pode ser considerada uma técnica simples. Quando ocorre a mistura de OE e HP $\beta$ CD, ao realizar algum método físico como macerar ou agitar, pode favorecer a complexação. Para produzir complexos de inclusão com óleos essenciais permitindo sua aplicação, diversos métodos são utilizados. Estes podem ser divididos em métodos químicos: polimerização em emulsão; métodos



físico-químicos: coacervação, encapsulação lipossômica; métodos físicos: gelificação iônica, liofilização (*freeze-drying*), secagem por pulverização (*spray-drying*), maceração (*kneading*) (BRASILEIRO, 2011; FAVARO-TRINDADE; DE PINHO; ROCHA, 2008; SHAH *et al.*, 2016).

Dessa forma, quando as moléculas de OE são incorporadas as cavidades das CDs podem sofrer alterações nas propriedades físico-químicas (SINGH *et al.*, 2010). Os métodos mais utilizados para preparar CIs são: maceração, co-precipitação, liofilização e secagem por pulverização (MARQUES, 2010). Dentre estes, a liofilização e a maceração foram utilizadas para a realização destes experimentos, conservando o OE aprisionado e produzindo um material sólido.

Em relação ao tamanho da escala micro ou nano para os CIs não há um consenso entre os autores. Alguns pesquisadores consideram que o tamanho nano varia entre 1 e 1000 nm e a escala micro começaria a partir de 1 até 1000  $\mu\text{m}$  de diâmetro (SUGANYA; ANURADHA, 2017; WHELEHAN; MARISON, 2011). No entanto, outros autores consideram que apenas os CIs com diâmetro entre 1 e 100 nm podem ser considerados nano (JOYE; MCCLEMENTS, 2014). Para a realização deste trabalho, como critério de classificação dos CIs obtidos, em relação ao tamanho, será adotada a escala nanométrica considerando de 1 a 1000 nm. É importante ressaltar que para ser considerado nano ou micro material, não basta a amostra ter apenas um tamanho reduzido, é necessário que esta apresente modificação em suas propriedades originais, gerando outras funcionalidades (ZARBIN, 2007).

As principais vantagens de utilizar materiais com tamanho relativamente pequeno está relacionada à elevada área superficial, resultando em maior interação dos compostos com o organismo alvo em que será aplicado. A literatura relata que nanomateriais, como nanocápsulas contendo óleo essencial, apresentam melhor atividade antibacteriana e antimicrobiana (ASSIS *et al.*, 2012; SHETTA; KEGERE; MAMDOUH, 2019).

### 7.1 COMPLEXO DE INCLUSÃO COM SECAGEM POR LIOFILIZAÇÃO (*FREEZE-DRYING*)

O CI pode ser preparado misturando o OE com a HP $\beta$ CD em água numa proporção definida previamente, e o sistema é deixado sob agitação por certo tempo (RAKMAI *et al.*, 2016). A dispersão formada é levada ao ultra freezer e posteriormente ao liofilizador (Fig. 12). A liofilização é reconhecida como um dos melhores métodos para produzir produtos secos de alta qualidade (CALVO *et al.*, 2011). Essa técnica tem sido aplicada principalmente para a formação de CIs com CD, especialmente a HP $\beta$ CD (RAKMAI *et al.*, 2016). Ao comparar metodologias de secagem de materiais encapsulados por liofilização e pulverização, concluiu-se que a liofilização é uma técnica mais eficiente, pois conserva melhor o material (ŠEREGELJ *et al.*, 2019). Isso ocorre porque essa técnica possibilita a passagem da água contida nos CIs do estado sólido (congelado) para o gasoso sem passar pelo estado líquido (sublimação). O processo de liofilização consiste na sublimação em três etapas: congelamento



e secagem primária e secundária sob alto vácuo. Assim, essa técnica possibilita condições de secagem mais suaves do que a secagem por pulverização, uma vez que utilizam menores temperaturas e vácuo, evitando a oxidação e a modificação da composição química do óleo essencial (RODRÍGUEZ *et al.*, 2016). Portanto, a liofilização é uma técnica adequada para ser utilizada em produtos sensíveis ao calor como os OEs (JOYE; MCCLEMENTS, 2014).

Figura 12. Liofilizador.



Fonte: O autor.

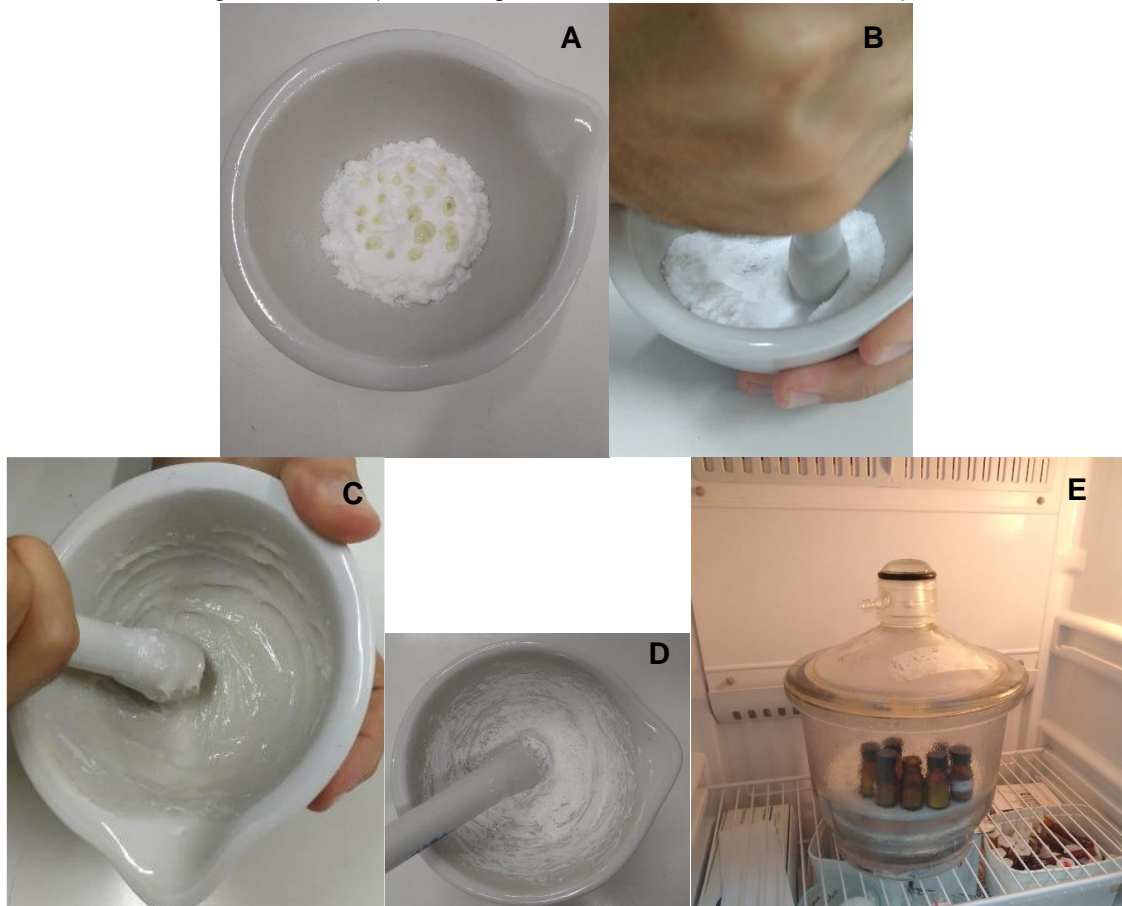
## 7.2 COMPLEXO DE INCLUSÃO COM MACERAÇÃO (*KNEADING*)

Este método pode ser considerado o mais comum, pois fornece um bom rendimento e possui baixo custo para preparar os CIs (PATIL *et al.*, 2010). Para a realização dessa técnica, inicialmente, o OE é adicionado à CD (Fig. 13A) e macerado por um tempo determinado (Fig. 13B). Em seguida, é acrescentada uma pequena quantidade de um solvente, como etanol ou água, formando-se uma pasta do OE com a CD (Fig. 13C) e ao continuar a maceração esta é então seca (Fig. 13D) (MARQUES, 2010). O sólido obtido é levado ao dessecador sob vácuo (Fig. 13E). Ao realizar essa técnica manualmente, a reprodutibilidade pode ser baixa, portanto, para uma preparação em larga escala seria adequado usar um equipamento automático (MARQUES, 2010).





Figura 13. Obtenção do complexo de inclusão utilizando a maceração.



Fonte: O autor.

## 8 TÉCNICAS ANALÍTICAS DE CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS DE INCLUSÃO

A comprovação da formação dos CIs entre o OE e a HP $\beta$ CD, bem como sua caracterização, requer o uso de várias técnicas analíticas. As alterações físico-químicas das propriedades dos materiais podem ser observadas quando os compostos presentes no OE são incorporados na cavidade da HP $\beta$ CD (GOMES *et al.*, 2014). Os resultados obtidos devem ser avaliados em conjunto e, a partir das informações adquiridas, pode-se verificar, por exemplo, a eficiência de complexação, o melhor método físico para formar os CIs, a sua estabilidade térmica, tamanho, entre outros parâmetros.

As principais técnicas analíticas usadas para a caracterização de CIs de OEs em CDs são: espectroscopia na região do ultravioleta e visível (UV-Vis), espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), análise termogravimétrica (TGA), espalhamento dinâmico de luz com potencial Zeta (DLS), difratometria de raios-X (XRD) e microscopia eletrônica de transmissão (TEM). Todas essas análises não são destrutivas, com exceção da TGA.

A quantificação dos compostos presentes no OE, que foram aprisionados na HP $\beta$ CD após o processo de complexação, pode ser determinada através da espectroscopia na região do UV-Vis (WANG; JIANG; LI, 2009). Essa técnica tem sido amplamente utilizada para caracterizar e quantificar analitos em diversas áreas, como: agrícola, farmacêutica e biomédica (SÁNCHEZ ROJAS; BOSCH



OJEDA, 2009). Para uso dessa técnica, são preparadas soluções de concentrações crescentes do OE em um solvente adequado, posteriormente, é realizada a leitura da absorvância nos comprimentos de onda ( $\lambda$ ) desejados, normalmente de 190 à 800 nm. A partir da absorvância obtida no  $\lambda$  de máxima absorção ( $\lambda_{\text{máx}}$ ), a curva analítica pode ser construída, cujos pontos são submetidos a regressão linear pelo Método dos Mínimos Quadrados. Com o OE removido do CI, pode ser realizada a leitura utilizando o espectrofotômetro no  $\lambda_{\text{máx}}$  e, finalmente, o valor de absorvância obtido é utilizado na equação da regressão linear obtida para encontrar a concentração do OE. Desse modo, é possível quantificar os compostos ativos complexados.

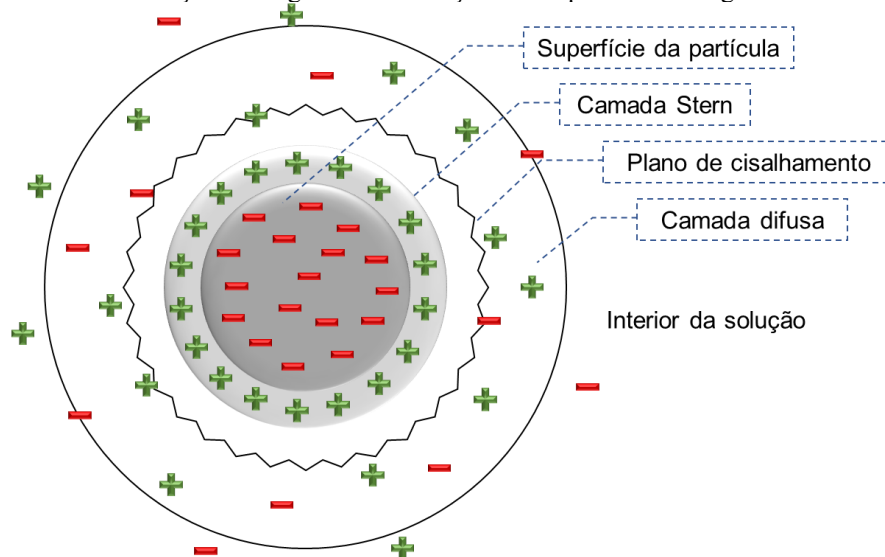
A FTIR utilizando a região do infravermelho médio pode ser empregada para detectar as vibrações das ligações químicas presentes nas moléculas e, portanto, fornece informações sobre grupos funcionais dos compostos presentes na amostra. Essa técnica permite a análise quali e quantitativa dos compostos orgânicos, pois cada ligação, com o momento dipolar diferente de zero, possui modos de vibração característicos e dão origem a bandas no espectro na região do infravermelho em números de onda específicos e com intensidade proporcional à concentração (BARBOSA, 2007). Alterações na forma, posição e intensidade das bandas de absorção ou ainda a observação de novas bandas no espectro podem indicar a formação dos CIs (WADHWA *et al.*, 2017).

Para verificar a estabilidade térmica das amostras de OE, da HP $\beta$ CD e dos CIs a TGA pode ser realizada. A complexação do OE na HP $\beta$ CD pode ser confirmada com a maior temperatura de degradação dos CIs em relação ao OE. Assim, a proteção térmica é verificada com o retardo da perda de massa dos CIs.

As medições do DLS são realizadas para determinar o diâmetro hidrodinâmico das partículas e a distribuição de tamanhos ou índice de polidispersão (PDI) utilizando as amostras de HP $\beta$ CD e dos CIs. Além disso, outra caracterização que pode ser realizada é a medida do potencial Zeta ( $\zeta$ ) (PZ). O PZ mede o potencial elétrico no plano de cisalhamento, que fica entre a camada Stern ou plano interno de Helmholtz e a camada difusa das partículas (Fig. 14) (ATTARD; ANTELM; LARSON, 2000; GUTERRES; ALVES; POHLMANN, 2007).



Figura 14. Esquema da distribuição de cargas na vizinhança de uma partícula carregada na interface sólido-líquido.



Fonte: Adaptado de Jafelicci Junior; Varanda (1999).

A análise de PZ é realizada quando as partículas (HP $\beta$ CD ou CIs) estão sob ação de um campo elétrico e alguns contra-íons são atraídos para a superfície da partícula, estes formam uma camada chamada de Stern (CODAY *et al.*, 2015). Os contra-íons têm uma alta concentração próxima à superfície da partícula, que gradualmente diminui com o distanciamento. O equilíbrio dinâmico desses contra-íons forma a camada difusa ou dupla camada, em que são repelidos pela camada Stern (GUTERRES; ALVES; POHLMANN, 2007). O PZ é medido na dupla camada ou plano de cisalhamento, sendo uma medida indireta do potencial elétrico da superfície da partícula (CODAY *et al.*, 2015).

O valor do PZ, em módulo, é uma grandeza diretamente proporcional a estabilidade física da suspensão contendo a amostra, pois altos valores indicam maior intensidade de forças repulsivas, proporcionando a diminuição de agregação do material em função das colisões que podem ocorrer com as partículas adjacentes (SCHAFFAZICK *et al.*, 2003). Logo, ao comparar o valor do PZ, em módulo, de duas partículas diferentes, geralmente, a que apresentar o maior valor terá menor tamanho das partículas devido à menor formação de aglomerados.

A medida do PDI indica a distribuição dos diâmetros das partículas em solução são muito variáveis ou não. Esse parâmetro vai de 0 a 1; um sistema com  $PDI \leq 0,1$  é considerado altamente monodisperso, valores entre 0,1 e 0,4 são moderadamente polidispersos e  $> 0,4$  são altamente polidispersos (BHATTACHARJEE, 2016).

Com o objetivo de caracterizar o perfil cristalográfico de amostras e comprovar a ocorrência de eventos associados a alguma reação ou interação química pode ser realizada a XRD (GAO *et al.*, 2019). Essa técnica permite avaliar possíveis alterações do difratograma da HP $\beta$ CD em relação ao perfil cristalino apresentado pelo CI formado pela HP $\beta$ CD com o OE. Considerando que o OE, que se apresenta no estado líquido, não possui padrão de difração, qualquer variação do difratograma pode



indicar a complexação. Isso porque a introdução de moléculas mais volumosas poderá organizar melhor a HP $\beta$ CD para complexar o OE (MAGALHÃES *et al.*, 2020). Dessa forma, a formação de complexos de inclusão pode ser comprovada pela alteração de certos picos, como: deslocamento, mudança na forma, desaparecimento ou aparecimento de alguns novos picos (CHAUDHARY; PATEL, 2013; WADHWA *et al.*, 2017).

A TEM é uma outra técnica que permite auxiliar na confirmação da formação de CIs de OE em CD. As imagens obtidas podem exibir o tamanho das partículas de uma amostra, seu formato, se há a tendência de formar aglomeração, e até permitir a identificação do OE dentro da HP $\beta$ CD, de acordo com as variações das tonalidades de cinza (OZDEMIR *et al.*, 2018). As regiões mais escuras podem representar o feixe de elétrons sendo barrado e regiões mais claras podem exibir onde há maior quantidade de elétrons transmitidos, assim, pode-se inferir que existem diferentes materiais nos CIs (PIRES *et al.*, 2019). Tons mais claros podem estar relacionados ao OE e cores mais escuras a HP $\beta$ CD, sendo um indicativo de que a complexação ocorreu.

## 9 ATIVIDADE LARVICIDA EM *AEDES AEGYPTI*

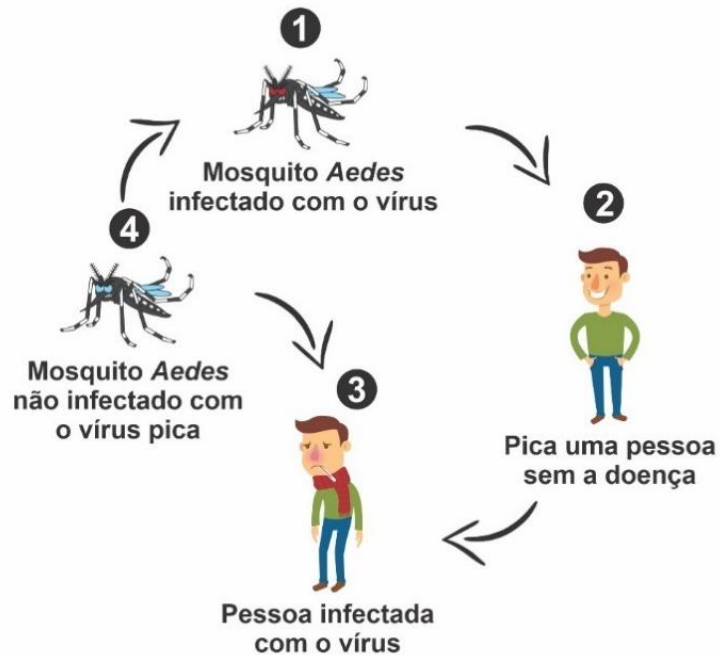
### 9.1 *AEDES AEGYPTI*

O arbovírus é um vírus que usa artrópodes, a exemplo dos mosquitos, como seu principal vetor de transmissão (CLETON *et al.*, 2012). Dessa forma, o vírus é transmitido principalmente aos seres humanos através da picada de mosquitos fêmeas do gênero *Aedes* que estão infectados (Fig. 15). Quando um mosquito não infectado pica uma pessoa com a doença, após o período de incubação do vírus, passa a ser um vetor por toda a sua vida e essa transmissão é chamada de horizontal (FERREIRA-DE-LIMA; LIMA-CAMARA, 2018). Outra forma de transmissão do vírus é a vertical que se refere à transferência de alguns arbovírus do progenitor feminino infectado para alguma parte de sua prole no ovário ou durante a oviposição (FERREIRA-DE-LIMA; LIMA-CAMARA, 2018).





Figura 14. Esquema da distribuição de cargas na vizinhança de uma partícula carregada na interface sólido-líquido.



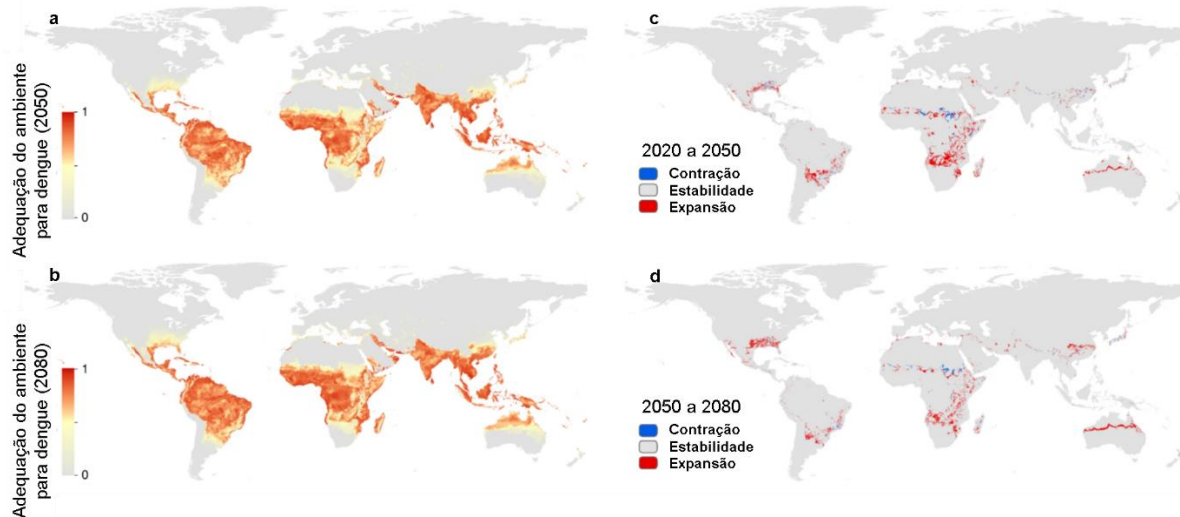
Fonte: O autor.

Os mosquitos do gênero *Aedes* pertencem à classe Insecta, ordem Diptera e a família Culicidae. O *Aedes aegypti* L. é nativo do continente africano, porém, atualmente, encontra-se disseminado predominantemente nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, com destaque para: Américas, África, Ásia e Oceania (BARROS; FEITOSA, 2019; COSME *et al.*, 2020). O aumento de sua proliferação e, conseqüentemente, das doenças virais transmitidas pelo mosquito *Aedes* estão intimamente associadas à crescente urbanização e às mudanças climáticas (WHO, 2017).

A dengue, uma das doenças transmitidas pelo mosquito do gênero *Aedes*, causa cerca de 22.000 mortes por ano no mundo e já alcançou mais de 100 países (KABIR *et al.*, 2021). Aproximadamente metade da população mundial vive atualmente em áreas ambientalmente adequadas para a transmissão da dengue (MESSINA *et al.*, 2019). Foram feitas projeções da distribuição global da dengue em 2050 e 2080 (Fig. 16). As previsões realizadas se basearam na análise de um conjunto de variáveis para caracterizar com precisão a distribuição da dengue. Estas foram: (1) adequação da temperatura para a transmissão da dengue; (2) precipitação anual cumulativa; (3) umidade relativa mínima; (4) produto interno bruto (PIB) per capita; (5) densidade da população humana; (6) adequação ambiental para o *Aedes aegypti* (MESSINA *et al.*, 2019).



Figura 16. Dados de adequação do ambiente para a dengue projetados para 2050 (a) e 2080 (b). Áreas classificadas como possível contração, estabilidade e expansão da dengue de 2020 a 2050 (c) e de 2050 a 2080 (d).



Fonte: Adaptado de MESSINA *et al.* (2019).

A adequação ambiental é definida como a probabilidade condicional de observar dengue em uma média de longo prazo, dado o estado do meio ambiente no local (MESSINA *et al.*, 2019). Este parâmetro varia de 0 a 1, sendo 0 um ambiente totalmente desfavorável para o mosquito *Aedes* e 1 totalmente favorável à sua sobrevivência e proliferação.

Pode-se ver na Figura 16 o resultado que prevê altos níveis de adequação ambiental para a dengue em muitas áreas dentro das zonas tropicais e subtropicais em 2050 e 2080, que já são regiões endêmicas, com destaque para América do Sul, Sudeste Asiático e África Central. Esse crescimento será em grande parte impulsionado pelo aumento populacional e fatores climáticas favoráveis, como aquecimento e aumento das chuvas (MESSINA *et al.*, 2019). A dengue é causada por cinco sorotipos diferentes (NDII *et al.*, 2021). As pessoas que foram infectadas por um sorotipo ganham imunidade vitalícia àquele sorotipo, contudo, têm maior chance de contrair as formas mais perigosas da dengue na infecção secundária (NDII *et al.*, 2021).

As formas evolutivas do *A. aegypti* passam por quatro fases: ovo, quatro estágios larvais (L1, L2, L3 e L4), pupa e mosquito. O período de cada fase de desenvolvimento depende de características intrínsecas de cada espécie (fatores endógenos) e das condições ambientais (fatores exógenos, como temperatura e sombreamento adequados, chuva, predadores, entre outros) (BARROS; FEITOSA, 2019). Em condições favoráveis o ovo pode eclodir em até 48 h, porém, em condições desfavoráveis, como a falta de água, pode demorar até cerca de 450 dias (BARROS; FEITOSA, 2019; BRASIL, 2001).

Após a eclosão dos ovos, originam-se as larvas e depois as pupas, que não se alimentam e podem ser machos ou fêmeas (TIMERMAN; NUNES; LUZ, 2012). Para obter oxigênio atmosférico, as larvas posicionam-se na interface da água com o ar e adquirem posição corporal perpendicular em



relação à superfície da água. A fase larvária é um período de alimentação e crescimento, em que a larva se alimenta principalmente de material orgânico acumulado nas paredes e fundo dos recipientes onde estiver (BRASIL, 2001). Em condições ótimas, o período entre a eclosão do ovo, passagem pelos quatro estágios de desenvolvimento da larva e transformação em pupa é de cerca de 5 dias (BRASIL, 2001).

O estado pupal dura, geralmente, de dois a três dias até evoluir para o mosquito (BRASIL, 2001). A principal fonte de alimentação dos mosquitos é da seiva de plantas, no entanto, as fêmeas do *A. aegypti* são hematófagas, sendo uma ingestão de proteína necessária para a formação dos ovos (BRASIL, 2001). As fêmeas dos mosquitos alimentam-se do sangue de animais invertebrados, com maior predileção pelo homem, principalmente durante o dia. Os machos vivem poucos dias, mas as fêmeas podem chegar a 100 dias de vida e durante esse tempo, uma única fêmea pode colocar até 300 ovos (BARROS; FEITOSA, 2019).

## 9.2 ATIVIDADE LARVICIDA

A busca por larvicidas naturais, aplicados em *A. aegypti*, como os OEs, vem crescendo pela elevada disponibilidade de muitas plantas, que são biodegradáveis, com baixo custo e baixa toxicidade em organismos não alvo.

Quando as larvas entram em contato com o OE tóxico, os sintomas que a maioria delas apresentam são: excitação, convulsão e hiperatividade (DIAS; MORAES, 2014). Uma pesquisa utilizando o OE em atividade larvicida em *A. aegypti* constatou que a letalidade se deu por um modo de ação neuro tóxico, com ataque ao sistema neuromuscular (AZEVEDO *et al.*, 2018). Não se sabe ao certo se a toxicidade se deve ao contato ou a ingestão do produto ou aos dois.

Outro trabalho realizado utilizando o OE em larvas de *A. aegypti* em estágio L4 constatou toxicidade neurocomportamental incluindo: coordenação prejudicada, movimentos alterados, mordida agressiva ao sifão, incapacidade de subir à superfície da água, tremores e paralisia (KABIR *et al.*, 2013). Todos esses sintomas relatados foram observados nos experimentos realizados.

As larvas são usadas preferencialmente em relação aos adultos por diferentes razões. Em termos de controle populacional, as larvas são alvos fáceis para os inseticidas, pois não voam e vivem em grupos, podendo ser encontradas e exterminadas em grande número de uma só vez. As larvas de primeiro e segundo instar são muito pequenas em comparação com o terceiro e quarto instar. Logo, as larvas maiores são mais fáceis de manusear e de contar em ensaios toxicológicos. Além disso, L4 é o último estágio antes da pupação, que é um período de transição para a idade adulta. Durante a transição, as larvas estão sob a ação de diferentes reguladores de crescimento que podem interferir na passagem para o adulto, e vários inseticidas atuam na transição do adulto em estágio L4. Por essas razões, larvas em estágio mais avançado de desenvolvimento são utilizadas em bioensaios (Fig. 17).



Figura 17. Experimento larvicida com *A. aegypti* em estágio L4.



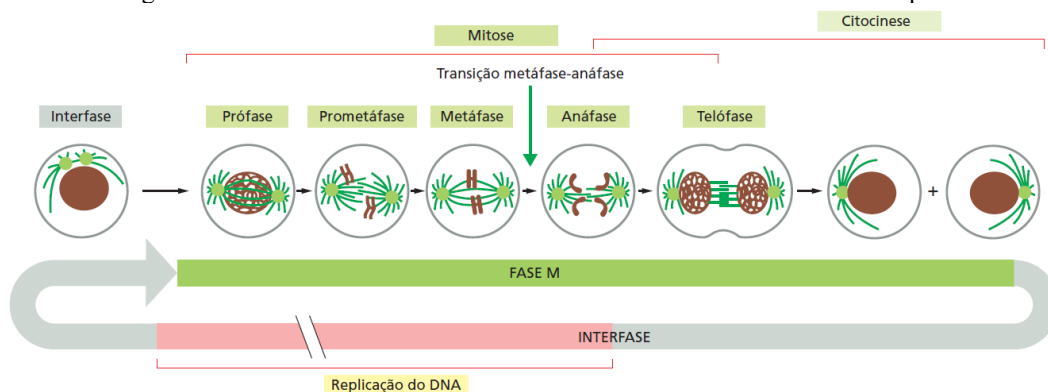
Fonte: O autor.

Para comparar a atividade larvicida do OE em solvente e do OE complexado com HP $\beta$ CD, alguns trabalhos foram selecionados. Em todos eles foram observados que o OE contido nos CIs apresentou valor de CL<sub>50</sub> (concentração letal para matar 50% da população) próximo ao OE não complexado nos experimentos larvicidas em *A. aegypti* (GALVÃO *et al.*, 2015, 2019; PANDIYAN; MATHEW; MUNUSAMY, 2019). As avaliações de mortalidade ocorreram após 24 h de exposição do OE ou do CI às larvas. Além disso, os CIs são formados de um oligossacarídeo derivado do amido, que pode ser uma fonte de alimentação para as larvas, podendo favorecer a mortalidade das mesmas através de um mecanismo de “cavalo de Troia” (P. FERREIRA *et al.*, 2019).

## 10 CICLO CELULAR E ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS

A germinação de sementes e o crescimento das plantas ocorre através do desenvolvimento correto das células, a partir de sua reprodução e multiplicação. Os três processos fundamentais para o desenvolvimento do ciclo das células eucarióticas são: Mitose, citocinese e intérfase (Fig. 18). Cada um desempenha um papel importante na divisão e reprodução das células. O ciclo celular eucariótico ocorre com o crescimento das células e replicação cromossômica, através da segregação dos cromossomos e divisão celular (AMABIS; MARTHO, 2009).

Figura 18. Os eventos da divisão celular eucariótica vistos sob o microscópio.



Fonte: ALBERTS (2017).



Os cromossomos das células eucarióticas são longos fios constituídos por uma molécula de DNA associada a diversas proteínas, em um arranjo altamente complexo (AMABIS; MARTHO, 2009). Os processos de divisão nuclear (mitose) e divisão celular (citocinese), coletivamente chamados de fase M, normalmente ocupam somente uma pequena fração do ciclo celular (Fig. 18) (ALBERTS, 2017). A mitose ocorre com a segregação dos cromossomos e divisão celular da cópia dos cromossomos em duas células-filhas geneticamente idênticas. A mitose contém cinco etapas: prófase, prometáfase, metáfase, anáfase e telófase (Fig. 18). Uma mudança brusca no estado bioquímico da célula ocorre na transição da metáfase à anáfase (ALBERTS, 2017). A célula pode fazer uma pausa antes desse ponto de transição, mas, uma vez ultrapassado esse ponto, a célula continua até o fim da mitose e atravessa a citocinese, chegando à interfase (ALBERTS, 2017). A anáfase é uma etapa muito importante, pois é onde ocorre a segregação das cromátides. A outra parte do ciclo, muito mais longa, é conhecida como interfase, que é a fase de crescimento e duplicação do DNA (ALBERTS, 2017). Esses processos trabalham em conjunto para garantir a reprodução e o crescimento adequados das células.

A citotoxicidade celular mede o efeito tóxico de uma substância, como o óleo essencial, sob as células. Para avaliar a citotoxicidade pode-se utilizar o índice mitótico. Esse parâmetro corresponde à razão entre o número de células em divisão e o número total de células observadas por lâmina, que são 1000 (ALBERTS, 2017). A redução do índice mitótico pode indicar alterações de ação química no crescimento, desenvolvimento e multiplicação celular, e como consequência, a germinação e o crescimento das plantas são afetados (ALBERTS, 2017). Assim, podem surgir anormalidades cromossômicas, que são mudanças na estrutura e/ou número de cromossomos.

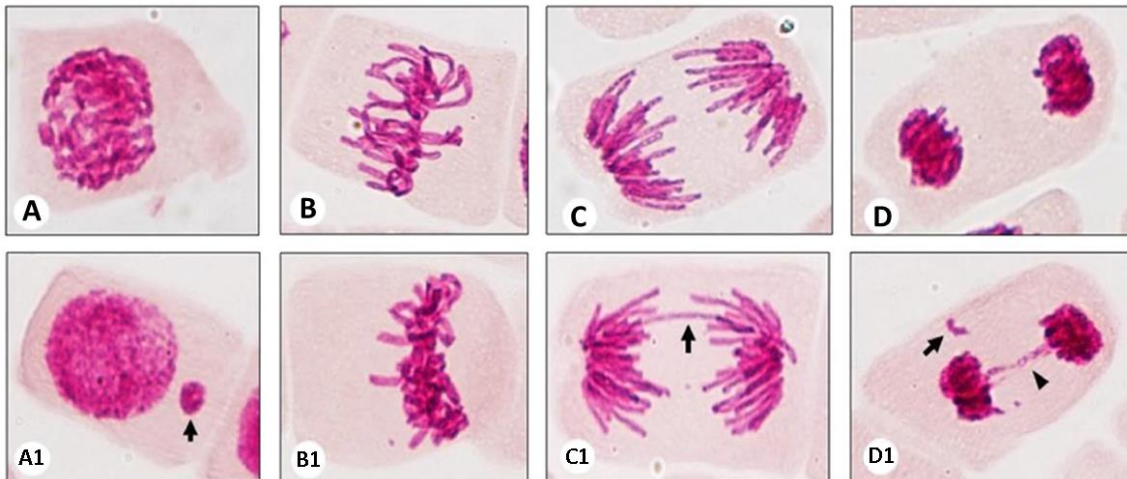
A presença de alterações cromossômicas demonstra o efeito genotóxico de substâncias. O mecanismo de ação dessas substâncias na célula pode ser aneugênico (interfere no fuso mitótico causando erros durante a segregação) ou clastogênico (induz a quebra no DNA). As cinco anormalidades cromossômicas mais comuns podem ser por ação aneugênica (c-metáfase, cromossomo aderente e cromossomo não orientado) ou clastogênica (ponte e quebra cromossômica) (Fig. 19) (PARVAN et al., 2020).

A presença de alterações nucleares demonstra o efeito mutagênico, sendo as principais: núcleo condensado ou micronúcleo, que ocorrem por efeito aneugênico. Essas alterações celulares são manifestadas na germinação, crescimento radicular e aéreo da planta, assim é avaliado a atividade herbicida ou fitotóxica. Normalmente utilizam-se células de plantas modelo como alface (*Lactuca sativa* L.), que possuem alta sensibilidade, um baixo número de cromossomos e estes são relativamente longos, o que facilita a visualização microscópica (SANTIAGO et al., 2017; SILVEIRA et al., 2017).





Figura 19. Ciclo celular: prófase (A), metáfase (B), anáfase (C) e telófase (D). Anormalidades cromossômicas: prófase com micronúcleo (A1), metáfase com cromossomo aderente (B1), anáfase com ponte cromossômica (C1), telófase com quebra e ponte cromossômica (D1).



Fonte: Adaptado de SANTOS; SOMMAGGIO; MARIN-MORALES (2022).

## 11 PLANTAS INVASORAS

As plantas invasoras ou plantas daninhas são plantas que crescem espontaneamente, como por exemplo *Lolium multiflorum* e *Bidens pilosa* L. Essas espécies crescem, florescem, invadem e dominam os ecossistemas naturais e plantações agrícolas, por isso são indesejáveis (DIAS; NOZARI; SANTARÉM, 2017).

*Bidens pilosa* pertence à família Asteraceae e é popularmente conhecida como picão preto (Fig. 20) (DIAS; NOZARI; SANTARÉM, 2017). Essa espécie é nativa da América do Sul e atualmente é encontrada em muitos países tropicais e subtropicais do mundo (BORGES et al., 2013). *B. pilosa* é conhecida como uma planta invasora que afeta o crescimento agrícola de culturas de feijão, milho e sorgo (SOUZA; VELINI; MAIOMONI-RODELLA, 2003).

*Lolium multiflorum* é conhecida como azevém e pertence à família Poaceae (Fig. 21). Essa espécie é uma gramínea anual comum no oeste dos Estados Unidos e em regiões mais frias, como o sul do Brasil (FIRESTONE; JASIENIUK, 2012). Embora o azevém seja utilizado como espécie forrageira durante o inverno, ele pode se constituir em planta invasora em culturas como trigo e milho (ROMAN et al., 2004).



Figura 20. *Bidens pilosa*.



Fonte: Flora de Santa Catarina ([encurtador.com.br/aciCU](http://encurtador.com.br/aciCU)).

Figura 21. *Lolium multiflorum*.



Fonte: Flora campestre ([encurtador.com.br/mpuJ0](http://encurtador.com.br/mpuJ0)).



## REFERÊNCIAS

- ALBERTS, B. *Biologia Molecular da Célula*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- ALOLGA, R. N. et al. GC-MS-based metabolomics, antibacterial and anti-inflammatory investigations to characterize the quality of essential oil obtained from dried *Xylopia aethiopica* fruits from Ghana and Nigeria. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, p. jphp.13150, 5 ago. 2019.
- AMABIS, J. M.; MARTHO, G. R. *Biologia das células*. 3. ed. São Paulo: Moderna plus, 2009.
- AMIRI, E. et al. Combined antioxidant and sensory effects of corn starch films with nanoemulsion of *Zataria multiflora* essential oil fortified with cinnamaldehyde on fresh ground beef patties. *Meat Science*, v. 153, p. 66–74, jul. 2019.
- ARAKI, K.; TOMA, H. E. Química de sistemas supramoleculares constituídos por porfirinas e complexos metálicos. *Química Nova*, v. 25, n. 6a, p. 962–975, nov. 2002.
- ASBAHANI, A. E. et al. Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 483, n. 1–2, p. 220–243, abr. 2015.
- ASSADPOUR, E.; JAFARI, S. M. Advances in Spray-Drying Encapsulation of Food Bioactive Ingredients: From Microcapsules to Nanocapsules. *Annual Review of Food Science and Technology*, v. 10, n. 1, p. 103–131, 25 mar. 2019.
- ASSIS, L. M. DE et al. Revisão: características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 15, n. 2, p. 99–109, 24 abr. 2012.
- ATTARD, P.; ANTELMÍ, D.; LARSON, I. Comparison of the Zeta Potential with the Diffuse Layer Potential from Charge Titration. *Langmuir*, v. 16, n. 4, p. 1542–1552, fev. 2000.
- AZEVEDO, S. G. et al. Bioactivity of *Licaria puchury*-major Essential Oil Against *Aedes aegypti*, *Tetranychus urticae* and *Cerataphis lataniae*. *Records of Natural Products*, v. 12, n. 3, p. 229–238, 15 jan. 2018.
- BANDEIRA, J. M. et al. Composição do óleo essencial de quatro espécies do gênero *Plectranthus*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 13, n. 2, p. 157–164, 2011.
- BARBALHO, S. M. et al. *Psidium Guajava* (Guava): A Plant of Multipurpose Medicinal Applications. *Medicinal & Aromatic Plants*, v. 01, n. 04, p. 1–6, 2012.
- BARBOSA, L. C. DE A. *Espectroscopia no Infravermelho*. 1. ed. Viçosa: UFV, 2007.
- BARROS, V. C.; FEITOSA, C. M. *Produtos naturais no combate ao mosquito Aedes aegypti*. 1. ed. [s.l.] Átomo, 2019.
- BISWAS, K. K. et al. Essential oil production: relationship with abundance of glandular trichomes in aerial surface of plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, v. 31, n. 1, p. 13–19, jan. 2009.
- BORGES, C. C. et al. *Bidens pilosa* L. (Asteraceae): traditional use in a community of southern Brazil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 15, n. 1, p. 34–40, 2013.
- BRASIL. *Dengue Instruções para Pessoal de Combate ao Vetor*. 3. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2001.



BRASILEIRO, J. S. L. Microencapsulação de compostos bioativos: inovação em diferentes áreas. p. 71, 2011.

BREWSTER, M. E.; LOFTSSON, T. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 59, n. 7, p. 645–666, jul. 2007.

CALVO, P. et al. Effects of microcapsule constitution on the quality of microencapsulated walnut oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, v. 113, n. 10, p. 1273–1280, out. 2011.

CHARLES, D. J.; SIMON, J. E. Comparison of Extraction Methods for the Rapid Determination of Essential Oil Content and Composition of Basil. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, v. 115, n. 3, p. 458–462, maio 1990.

CHAROENLAP, N. et al. Optimization of cyclodextrin production from sago starch. *Bioresource Technology*, v. 92, n. 1, p. 49–54, mar. 2004.

CHAUDHARY, V. B.; PATEL, J. K. CYCLODEXTRIN INCLUSION COMPLEX TO ENHANCE SOLUBILITY OF POORLY WATER SOLUBLE DRUGS: A REVIEW. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 1. v. 4, p. 68–76, 2013.

CHEN, Q. et al. Orange Fragrance with Sustained-Release Properties Prepared by Nanoethosomal Encapsulation of Natural Orange Essential Oil. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v. 19, n. 11, p. 7464–7470, 1 nov. 2019.

CHRISTAKI, E. et al. Innovative uses of aromatic plants as natural supplements in nutrition. *Em: Feed Additives*. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 19–34.

CIOBANU, A.; LANDY, D.; FOURMENTIN, S. Complexation efficiency of cyclodextrins for volatile flavor compounds. *Food Research International*, v. 53, n. 1, p. 110–114, ago. 2013.

CLETON, N. et al. Come fly with me: Review of clinically important arboviruses for global travelers. *Journal of Clinical Virology*, v. 55, n. 3, p. 191–203, nov. 2012.

CODAY, B. D. et al. Indirect determination of zeta potential at high ionic strength: Specific application to semipermeable polymeric membranes. *Journal of Membrane Science*, v. 478, p. 58–64, mar. 2015.

CONNORS, K. A. Population Characteristics of Cyclodextrin Complex Stabilities in Aqueous Solution. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 84, n. 7, p. 843–848, jul. 1995.

CORRADINI, E. et al. Estudo Comparativo de Amidos Termoplásticos Derivados do Milho com Diferentes Teores de Amilose. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 15, n. 4, p. 268–273, 2005.

CORRÊA-FILHO, L.; MOLDÃO-MARTINS, M.; ALVES, V. Advances in the Application of Microcapsules as Carriers of Functional Compounds for Food Products. *Applied Sciences*, v. 9, n. 3, p. 571, 9 fev. 2019.

COSME, L. V. et al. Evolution of kdr haplotypes in worldwide populations of *Aedes aegypti*: Independent origins of the F1534C kdr mutation. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 14, n. 4, p. e0008219, 16 abr. 2020.

DAS, S. et al. Encapsulation in chitosan-based nanomatrix as an efficient green technology to boost the antimicrobial, antioxidant and in situ efficacy of *Coriandrum sativum* essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 133, p. 294–305, jul. 2019.





- DAVIET, L.; SCHALK, M. Biotechnology in plant essential oil production: progress and perspective in metabolic engineering of the terpene pathway. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 25, n. 3, p. 123–127, maio 2010.
- DE LIMA, J. R.; ALVES, L. D. S.; DE SANTANA, D. P. Complexos de inclusão como estratégia para veiculação de óleos essenciais. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 93, p. 397–402, 2012.
- DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. DA. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. *Ciência Rural*, v. 39, n. 3, p. 945–954, 9 jan. 2009.
- DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C. Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvicides: review. *Parasitology Research*, v. 113, n. 2, p. 565–592, fev. 2014.
- DIAS, M. P.; NOZARI, R. M.; SANTARÉM, E. R. Herbicide activity of natural compounds from *Baccharis* spp. Herbicidal activity of natural compounds from *Baccharis* spp. on the germination and seedlings growth of *Lactuca sativa* and *Bidens pilosa*. *Allelopathy Journal*, v. 42, n. 1, p. 21–36, set. 2017.
- EKAMBARAM, P.; SATHALI, A. A. H.; PRIYANKA, K. SOLID LIPID NANOPARTICLES: A REVIEW. p. 23, 2012.
- FALOWO, A. B. et al. Phytochemical Constituents and Antioxidant Activity of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) Essential Oil on Ground Beef from Boran and Nguni Cattle. *International Journal of Food Science*, v. 2019, p. 1–8, 1 jan. 2019.
- FAVARO-TRINDADE, C. S.; DE PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Review: Microencapsulation of food ingredients. *Braz. J. Food Technol.*, v. 11, n. 2, p. 11, 2008.
- FERREIRA-DE-LIMA, V. H.; LIMA-CAMARA, T. N. Natural vertical transmission of dengue virus in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: a systematic review. *Parasites & Vectors*, v. 11, n. 1, p. 77, dez. 2018.
- FIRESTONE, J. L.; JASIENIUK, M. Seed production is reduced by small population size in natural populations of the invasive grass *Lolium multiflorum*. *Biological Invasions*, v. 14, n. 12, p. 2519–2529, dez. 2012.
- FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. Princípios físico-químicos em farmácia. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2003. v. 4
- FLORI, J. E. Principais Variedades de Goiaba. *Revista Campo e Negócios HF*, v. 8, n. 129, p. 72–73, fev. 2016.
- FRANZON, R. C. et al. Araças do Gênero *Psidium*: principais espécies, ocorrência, descrição e usos. *Embrapa Cerrados*, v. 266, p. 48, 2009.
- GALLI, G. M. et al. Low Dose of Nanocapsules Containing Eucalyptus Oil Has Beneficial Repellent Effect Against Horn Fly (Diptera: Muscidae). *Journal of Economic Entomology*, 20 set. 2018.
- GALVÃO, J. G. et al.  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes containing *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oil: An alternative to control *Aedes aegypti* larvae. *Thermochimica Acta*, v. 608, p. 14–19, maio 2015.





GALVÃO, J. G. et al. Lippia gracilis essential oil in  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes: an environmentally safe formulation to control Aedes aegypti larvae: Lippia gracilis essential oil in  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes. *Pest Management Science*, v. 75, n. 2, p. 452–459, fev. 2019.

GAO, S. et al. Physicochemical properties and fungicidal activity of inclusion complexes of fungicide chlorothalonil with  $\beta$ -cyclodextrin and hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin. *Journal of Molecular Liquids*, v. 293, p. 111513, nov. 2019.

GIANNENAS, I. et al. The history of herbs, medicinal and aromatic plants, and their extracts. Em: *Feed Additives*. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 1–18.

GODOY NETTO, A. V. DE; FREM, R. C. G.; MAURO, A. E. A química supramolecular de complexos pirazólicos. *Química Nova*, v. 31, n. 5, p. 1208–1217, 2008.

GOMES, L. M. M. et al. Inclusion complexes of red bell pepper pigments with  $\beta$ -cyclodextrin: Preparation, characterisation and application as natural colorant in yogurt. *Food Chemistry*, v. 148, p. 428–436, abr. 2014.

GRESSLER, E.; PIZO, M. A.; MORELLATO, L. P. C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 29, n. 4, p. 509–530, dez. 2006.

GUPTA, S.; VARIYAR, P. S. Nanoencapsulation of essential oils for sustained release: application as therapeutics and antimicrobials. Em: *Encapsulations*. [s.l.] Elsevier, 2016. p. 641–672.

GUTERRES, S. S.; ALVES, M. P.; POHLMANN, A. R. Polymeric Nanoparticles, Nanospheres and Nanocapsules, for Cutaneous Applications. *Drug Target Insights*, v. 2, p. 117739280700200, jan. 2007.  
HARADA, A.; TAKASHIMA, Y.; YAMAGUCHI, H. Cyclodextrin-based supramolecular polymers. *Chemical Society Reviews*, v. 38, n. 4, p. 875, 2009.

HARADA, H.; MISAWA, N. Novel approaches and achievements in biosynthesis of functional isoprenoids in Escherichia coli. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 84, n. 6, p. 1021–1031, out. 2009.

HERRERA, A. et al. Antifungal and physicochemical properties of inclusion complexes based on  $\beta$ -cyclodextrin and essential oil derivatives. *Food Research International*, v. 121, p. 127–135, jul. 2019.  
HONG, K.; PARK, S. Melamine resin microcapsules containing fragrant oil: synthesis and characterization. *Materials Chemistry and Physics*, v. 58, n. 2, p. 128–131, mar. 1999.

JAFELICCI JUNIOR, M.; VARANDA, L. C. O mundo dos colóides. *Química Nova na Escola*, v. 9, p. 9–13, 1999.

JAMIL, B. et al. Encapsulation of Cardamom Essential Oil in Chitosan Nano-composites: In-vitro Efficacy on Antibiotic-Resistant Bacterial Pathogens and Cytotoxicity Studies. *Frontiers in Microbiology*, v. 7, 4 out. 2016.

JANSOOK, P.; OGAWA, N.; LOFTSSON, T. Cyclodextrins: structure, physicochemical properties and pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 535, n. 1–2, p. 272–284, jan. 2018.

JOSEPH, B. REVIEW ON NUTRITIONAL, MEDICINAL AND PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF GUAVA (PSIDIUM GUAJAVA LINN.). v. 2, n. 1, p. 17, 2011.



JOYE, I. J.; MCCLEMENTS, D. J. Biopolymer-based nanoparticles and microparticles: Fabrication, characterization, and application. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, v. 19, n. 5, p. 417–427, out. 2014.

KABIR, K. E. et al. Growth-disrupting, larvicidal and neurobehavioral toxicity effects of seed extract of *Seseli diffusum* against *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 90, p. 52–60, abr. 2013.

KABIR, M. A. et al. Dengue Detection: Advances in Diagnostic Tools from Conventional Technology to Point of Care. *Biosensors*, v. 11, n. 7, p. 206, 23 jun. 2021.

KALLELI, F. et al. Chemical composition and antioxidant potential of essential oil and methanol extract from Tunisian and French fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds. *Journal of Food Biochemistry*, v. 43, n. 8, ago. 2019.

KFOURY, M. et al. Encapsulation in cyclodextrins to widen the applications of essential oils. *Environmental Chemistry Letters*, v. 17, n. 1, p. 129–143, mar. 2019.

KNAAK, N.; FIUZA, L. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. *Neotropical Biology and Conservation*, v. 5, n. 2, p. 120–132, 10 set. 2010.

KÜLHEIM, C. et al. The Eucalyptus terpene synthase gene family. *BMC Genomics*, v. 16, n. 1, p. 450, dez. 2015.

LANGE, B. M. et al. Isoprenoid biosynthesis: The evolution of two ancient and distinct pathways across genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 97, n. 24, p. 13172–13177, 21 nov. 2000.

MAGALHÃES, T. S. S. DE A. et al. Development and Evaluation of Antimicrobial and Modulatory Activity of Inclusion Complex of *Euterpe oleracea* Mart Oil and  $\beta$ -Cyclodextrin or HP- $\beta$ -Cyclodextrin. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 3, p. 942, 31 jan. 2020.

MANGANARIS, G. A. et al. Antioxidant Phytochemicals in Fresh Produce: Exploitation of Genotype Variation and Advancements in Analytical Protocols. *Frontiers in Chemistry*, v. 5, p. 95, 6 fev. 2018.  
MARQUES, H. M. C. A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 25, n. 5, p. 313–326, set. 2010.

MARRETO, R. N. et al. Thermal analysis and gas chromatography coupled mass spectrometry analyses of hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex containing *Lippia gracilis* essential oil. *Thermochimica Acta*, v. 475, n. 1–2, p. 53–58, set. 2008.

MEDINA, A. L. et al. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. *Food Chemistry*, v. 128, n. 4, p. 916–922, out. 2011.

MENDES, L. A. et al. Larvicidal effect of essential oils from Brazilian cultivars of guava on *Aedes aegypti* L. *Industrial Crops and Products*, v. 108, p. 684–689, dez. 2017.

MENDES, L. A. et al. Spring alterations in the chromatographic profile of leaf essential oils of improved guava genotypes in Brazil. *Scientia Horticulturae*, v. 238, p. 295–302, ago. 2018.



- MENDES, L. A. et al. Development of inclusion complexes of 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin with Psidium guajava L. essential oil by freeze-drying and kneading methods for application as Aedes aegypti L. larvicide. *Natural Product Research*, p. 1–5, 18 ago. 2022.
- MENDES, L. A. et al. Optimization of inclusion complex's preparation of Psidium cattleianum S. essential oil and 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin by central composite design for application as larvicide in Aedes aegypti L. *Industrial Crops and Products*, v. 194, p. 116333, abr. 2023.
- MESSINA, J. P. et al. The current and future global distribution and population at risk of dengue. *Nature Microbiology*, v. 4, n. 9, p. 1508–1515, set. 2019.
- MORAIS, L. A. S. DE. INFLUÊNCIA DOS FATORES ABIÓTICOS NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS. *Horticultura Brasileira*, v. 27, n. 2, p. 4050–4063, 2009.
- MOTHANA, R. A. et al. Analysis of Chemical Composition and Assessment of Cytotoxic, Antimicrobial, and Antioxidant Activities of the Essential Oil of Meriandra dianthera Growing in Saudi Arabia. *Molecules*, v. 24, n. 14, p. 2647, 22 jul. 2019.
- NDII, M. Z. et al. Estimating the reproduction number and designing the integrated strategies against dengue. *Results in Physics*, v. 27, n. 104473, p. 10, 2021.
- OGOSHI, T.; HARADA, A. Chemical Sensors Based on Cyclodextrin Derivatives. *Sensors*, v. 8, n. 8, p. 4961–4982, 25 ago. 2008.
- OKOH, S. O.; OKOH, O. O.; OKOH, A. I. Inhibitory effects of Azadirachta indica secondary metabolites formulated cosmetics on some infectious pathogens and oxidative stress radicals. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 19, n. 1, p. 123, dez. 2019.
- OLIVEIRA-FILHO, R. D. DE et al. Biological Activities and Pharmacological Applications of Cyclodextrins Complexed with Essential Oils and Their Volatile Components: A Systematic Review. *Current Pharmaceutical Design*, v. 24, n. 33, p. 3951–3963, 12 nov. 2018.
- OLUGU, S. V. et al. Effect of Drypetes gossweileri essential oil and irradiation treatments on inhibition and sensitivity of bacterial spores. *Food Science and Technology International*, p. 108201321986565, 12 ago. 2019.
- OZDEMIR, N. et al. Preparation of black pepper oleoresin inclusion complexes based on beta-cyclodextrin for antioxidant and antimicrobial delivery applications using kneading and freeze drying methods: A comparative study. *LWT*, v. 91, p. 439–445, maio 2018.
- P. FERREIRA, T. et al. Prolonged mosquitocidal activity of Siparuna guianensis essential oil encapsulated in chitosan nanoparticles. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 13, n. 8, p. e0007624, 9 ago. 2019.
- PANDIYAN, G. N.; MATHEW, N.; MUNUSAMY, S. Larvicidal activity of selected essential oil in synergized combinations against Aedes aegypti. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 174, p. 549–556, jun. 2019.
- PARVAN, L. G. et al. Bioensaio com Allium cepa revela genotoxicidade de herbicida com flumioxazina. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, v. 11, n. 0, set. 2020.
- PATEL, S. Exotic tropical plant Psidium cattleianum: a review on prospects and threats. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, v. 11, n. 3, p. 243–248, set. 2012.



PATIL, J. S. et al. INCLUSION COMPLEX SYSTEM; A NOVEL TECHNIQUE TO IMPROVE THE SOLUBILITY AND BIOAVAILABILITY OF POORLY SOLUBLE DRUGS: A REVIEW. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, v. 2, n. 2, p. 29–34, 2010.

PIRES, F. Q. et al. Lipid nanoparticles as carriers of cyclodextrin inclusion complexes: A promising approach for cutaneous delivery of a volatile essential oil. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 182, p. 110382, out. 2019.

PRAKASH, B. et al. Nanoencapsulation: An efficient technology to boost the antimicrobial potential of plant essential oils in food system. *Food Control*, v. 89, p. 1–11, jul. 2018.

RAKMAI, J. et al. Inclusion complex formation of cyclodextrin with its guest and their applications. *Biology, Engineering and Medicine*, v. 2, n. 1, 2016.

RODRÍGUEZ, J. et al. Current encapsulation strategies for bioactive oils: From alimentary to pharmaceutical perspectives. *Food Research International*, v. 83, p. 41–59, maio 2016.

ROHMER, M. et al. Glyceraldehyde 3-Phosphate and Pyruvate as Precursors of Isoprenic Units in an Alternative Non-mevalonate Pathway for Terpenoid Biosynthesis. *Journal of the American Chemical Society*, v. 118, n. 11, p. 2564–2566, jan. 1996.

ROMAN, E. S. et al. Resistência de azevém (*Lolium multiflorum*) ao herbicida glyphosate. *Planta Daninha*, v. 22, n. 2, p. 301–306, jun. 2004.

SAGALOWICZ, L.; LESER, M. E. Delivery systems for liquid food products. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, v. 15, n. 1–2, p. 61–72, abr. 2010.

SÁNCHEZ ROJAS, F.; BOSCH OJEDA, C. Recent development in derivative ultraviolet/visible absorption spectrophotometry: 2004–2008. *Analytica Chimica Acta*, v. 635, n. 1, p. 22–44, mar. 2009.

SANGWAN, N. S. et al. Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regulation*, v. 34, p. 3–21, 2001.

SANTIAGO, J. DE A. et al. Cytogenotoxic effect of essential oil from *Backhousia citriodora* L. (Myrtaceae) on meristematic cells of *Lactuca sativa* L. *South African Journal of Botany*, v. 112, p. 515–520, set. 2017.

SANTOS, T.; SOMMAGGIO, L. R. D.; MARIN-MORALES, M. A. Phyto-genotoxicity assessment of different associations between sludges from Water and Sewage Treatment Plants, before and after the bioremediation process. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 29, n. 26, p. 40029–40040, jun. 2022.

SCHAFFAZICK, S. R. et al. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. *Química Nova*, v. 26, n. 5, p. 726–737, out. 2003.

SCHMID, G. Cyclodextrin glycosyltransferase production: yield enhancement by overexpression of cloned genes. *Tibtech*, v. 7, n. 9, p. 244–248, 1989.

ŠEREGELJ, V. et al. Application of encapsulated natural bioactive compounds from red pepper waste in yogurt. *Journal of Microencapsulation*, p. 1–31, 13 set. 2019.

SHAH, B. R. et al. Preparation and optimization of Pickering emulsion stabilized by chitosan-tripolyphosphate nanoparticles for curcumin encapsulation. *Food Hydrocolloids*, v. 52, p. 369–377, jan. 2016.



SHETTA, A.; KEGERE, J.; MAMDOUH, W. Comparative study of encapsulated peppermint and green tea essential oils in chitosan nanoparticles: Encapsulation, thermal stability, in-vitro release, antioxidant and antibacterial activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 126, p. 731–742, abr. 2019.

SILVA, C. DE S. et al. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Melaleuca alternifolia* (tea tree) essential oil in ground beef. *International Journal of Food Microbiology*, v. 293, p. 79–86, mar. 2019.  
SILVA, R. C. E et al. Monoterpenes and Sesquiterpenes of Essential Oils from *Psidium* Species and Their Biological Properties. *Molecules*, v. 26, n. 4, p. 965, 12 fev. 2021.

SILVEIRA, G. L. et al. Toxic effects of environmental pollutants: Comparative investigation using *Allium cepa* L. and *Lactuca sativa* L. *Chemosphere*, v. 178, p. 359–367, jul. 2017.

SINGH, R. et al. Characterization of Cyclodextrin Inclusion Complexes – A Review. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, v. 2, n. 3, p. 171–183, 2010.

SOUZA, L. S.; VELINI, E. D.; MAIOMONI-RODELLA, R. C. S. Efeito alelopático de plantas daninhas e concentrações de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) no desenvolvimento inicial de eucalipto (*Eucalyptus grandis*). *Planta Daninha*, v. 21, n. 3, p. 343–354, dez. 2003.

STAN, M. S. et al. Essential Oil Microcapsules Immobilized on Textiles and Certain Induced Effects. *Materials*, v. 12, n. 12, p. 2029, 25 jun. 2019.

SU, Z. et al. Inclusion Complex of *Exocarpium Citri Grandis* Essential Oil with  $\beta$ -Cyclodextrin: Characterization, Stability, and Antioxidant Activity. *Journal of Food Science*, v. 84, n. 6, p. 1592–1599, jun. 2019.

SUGANYA, V.; ANURADHA, V. Microencapsulation and Nanoencapsulation: A Review. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, v. 9, n. 3, 25 mar. 2017.

TAO, F. et al. Synthesis and characterization of  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes of thymol and thyme oil for antimicrobial delivery applications. *LWT - Food Science and Technology*, v. 59, n. 1, p. 247–255, nov. 2014.

TEIXEIRA, B. N. et al. Synthesis and Characterization of Nano-Encapsulated Black Pepper Oleoresin using Hydroxypropyl Beta-Cyclodextrin for Antioxidant and Antimicrobial Applications: Black pepper oleoresin nanoparticles.... *Journal of Food Science*, v. 78, n. 12, p. N1913–N1920, dez. 2013.  
TIAN, M. et al. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and anticancer activities of the essential oil from the rhizomes of *Zingiber striolatum* Diels. *Natural Product Research*, p. 1–5, 25 mar. 2019.

TIMERMAN, A.; NUNES, E.; LUZ, K. *Dengue no Brasil: doença urbana*. 1. ed. São Paulo: Limay, 2012.

TRAPP, S. C.; CROTEAU, R. B. Genomic Organization of Plant Terpene Synthases and Molecular Evolutionary Implications. *Genetics Society of America*, v. 158, p. 811–832, 2001.

TRAPP, S. C.; CROTEAU, R. B. Genomic Organization of Plant Terpene Synthases and Molecular Evolutionary Implications. p. 22, [s.d.].





VAHEDIKIA, N. et al. Biodegradable zein film composites reinforced with chitosan nanoparticles and cinnamon essential oil: Physical, mechanical, structural and antimicrobial attributes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 177, p. 25–32, maio 2019.

VAN DER VEEN, B. A. et al. Engineering of cyclodextrin glycosyltransferase reaction and product specificity. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1543, p. 336–360, 2000.

VARAN, G. et al. Amphiphilic cyclodextrin nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 531, n. 2, p. 457–469, out. 2017.

VENTURINI, C. DE G. et al. Propriedades e aplicações recentes das ciclodextrinas. *Química Nova*, v. 31, n. 2, p. 360–368, 2008.

VIEIRA, R. F. et al. *Frutas Nativas da Região Centro-Oeste do Brasil*. 1. ed. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006.

VILLALONGA, R.; CAO, R.; FRAGOSO, A. Supramolecular Chemistry of Cyclodextrins in Enzyme Technology. *Chemical Reviews*, v. 107, n. 7, p. 3088–3116, jul. 2007.

VITTI, K. A.; LIMA, L. M. DE; MARTINES FILHO, J. G. Agricultural and economic characterization of guava production in Brazil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 42, n. 1, p. e-447, 2020.

WADHWA, G. et al. Essential oil–cyclodextrin complexes: an updated review. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, v. 89, n. 1–2, p. 39–58, out. 2017.

WALTER, M.; SILVA, L. P. DA; EMANUELLI, T. Amido resistente: características físico-químicas, propriedades fisiológicas e metodologias de quantificação. *Ciência Rural*, v. 35, n. 4, p. 974–980, ago. 2005.

WANG, Y. et al. Insecticidal and repellent efficacy against stored-product insects of oxygenated monoterpenes and 2-dodecanone of the essential oil from *Zanthoxylum planispinum* var. *dintanensis*. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 26, n. 24, p. 24988–24997, ago. 2019.

WANG, Y.; JIANG, Z.-T.; LI, R. Complexation and molecular microcapsules of *Litsea cubeba* essential oil with  $\beta$ -cyclodextrin and its derivatives. *European Food Research and Technology*, v. 228, n. 6, p. 865–873, abr. 2009.

WHELEHAN, M.; MARISON, I. W. Microencapsulation using vibrating technology. *Journal of Microencapsulation*, v. 28, n. 8, p. 669–688, dez. 2011.

WHO. *Global Vector Control Response 2017–2030*. Geneva: World Health Organization, 2017.  
World Checklist of Selected Plant Families: Royal Botanic Gardens, Kew. Disponível em: <<http://apps.kew.org/wcsp/>>. Acesso em: 7 abr. 2020.

WU, Z. et al. Multifunctional chitosan-based coating with liposomes containing laurel essential oils and nanosilver for pork preservation. *Food Chemistry*, v. 295, p. 16–25, out. 2019.

YAN, X. et al. Synthesis and Characterization of Melamine-Formaldehyde Microcapsules Containing Pyraclostrobin by In situ Polymerization. *Polymer Science, Series B*, v. 60, n. 6, p. 798–805, nov. 2018.



YAZGAN, H.; OZOGUL, Y.; KULEY, E. Antimicrobial influence of nanoemulsified lemon essential oil and pure lemon essential oil on food-borne pathogens and fish spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, v. 306, p. 108266, out. 2019.

ZARBIN, A. J. G. Química de (nano)materiais. *Química Nova*, v. 30, n. 6, p. 1469–1479, dez. 2007.