

**Atividade larvicida do óleo essencial de *Alpinia zerumbet* frente as larvas do mosquito
*Aedes aegypti***

**Larvicidal activity of *Alpinia zerumbet* essential oil in front of the larvae of the *Aedes
aegypti* mosquito**

**Actividad larvicida del aceite esencial *Alpinia zerumbet* frente a las larvas del mosquito
*Aedes aegypti***

Recebido: 13/06/2020 | Revisado: 15/06/2020 | Aceito: 16/06/2020 | Publicado: 29/06/2020

Paulo Sérgio Santos Júnior

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9628-5594>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: psjr08@gmail.com

Gustavo Oliveira Everton

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0457-914X>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: gustavooliveiraevertton@gmail.com

Paulo Victor Serra Rosa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1782-5896>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: paullovictorserra@gmail.com

Laurilene dos Santos Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0947-9973>

Faculdade Maurício de Nassau, Brasil

E-mail: sslaurilene380@gmail.com

Francilidia Oliveira Vitorino de Assunção Conceição

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0079-7502>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: francilidiaassuncao@gmail.com

Liane Batista da Cruz Soares

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9548-3911>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: lianebatistadacruz@hotmail.com

Wilma Karlla dos Santos Farias

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4081-0107>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: wilmakarlla.farias@gmail.com

Lauriane dos Santos Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2261-8034>

Faculdade Maurício de Nassau, Brasil

E-mail: sslanes77@gmail.com

Christyann Lima Campos Batista

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5431-5620>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: christyan.batista@huufma.br

Feliciano Santos Pinheiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7677-4537>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: feliciano.pinheiro@huufma.br

Ari Pereira de Araújo Neto

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6903-4127>

Faculdade Maurício de Nassau, Brasil

E-mail: aripereiraneto@gmail.com

Victor Elias Mouchrek Filho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2855-7292>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: victor.mouchrek@ufma.br

Resumo

O presente estudo teve por objetivo avaliar a toxicidade e a atividade larvicida do óleo essencial (OE) das folhas de *Alpinia zerumbet*. O (OE) foi extraído por hidrodestilação a 100°C por 3h e determinaram-se os parâmetros físico-químicos mediante a Farmacopeia Brasileira. A toxicidade foi realizada através do bioensaio de *Artemia salina* Leach, em seguida, avaliou-se a atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti*. Calculou-se a CL₅₀ para a toxicidade e a atividade larvicida frente as larvas do mosquito com base no método de Reed-Muench. Classificou-se o OE quanto à toxicidade e utilizou-se o critério de Dolabela. No bioensaio de toxicidade, o CL₅₀ 321,15 mg L⁻¹, sendo classificado como atóxico. A atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti*

apresentou 50,70 mg L⁻¹ segundo o OE. Os fenólicos totais apresentaram resultado de 513,574 mg EAT g⁻¹. O OE apresentou resultados satisfatórios contra os microrganismos testados, revelando sua eficiência no combate e controle de microrganismos patogênicos e larvicidas.

Palavras-chave: Toxicidade; Larvicida; Óleo essencial; *Alpinia zerumbet*.

Abstract

The present study evaluated the toxicity and larvicidal activity of essential oil (EO) of *Alpinia zerumbet* leaves. The (EO) was extracted by hydrodistillation at 100°C for 3h and the physicochemical parameters were determined using the Brazilian Pharmacopoeia. Toxicity was performed through the bioassay of *Artemia salina* Leach, then larvicidal activity was evaluated against *Aedes aegypti*. LC₅₀ was calculated for toxicity and larvicidal activity against mosquito larvae based on the Reed-Muench method. The EO was classified for toxicity and the Dolabela criterion was used. In the toxicity bioassay, LC₅₀ 321.15 mg L⁻¹ was classified as nontoxic. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* showed 50.70 mg L⁻¹ according to EO. Total phenolics resulted in 513.574 mg EAT g⁻¹. The EO presented satisfactory results against the microorganisms tested, revealing its efficiency in combating and controlling pathogenic microorganisms and larvicides.

Keywords: Toxicity; Larvicidal; Essential oil; *Alpinia zerumbet*.

Resumen

El presente estudio evaluó la toxicidad y la actividad larvicida de aceite esencial (AE) de hojas de *Alpinia zerumbet*. El AE fue extraído por hidrodestación a 100 °C durante 3h y los parámetros fisicoquímicos se determinaron utilizando la Farmacopea Brasileña. La toxicidad se realizó através del bioensayo de *Artemia salina* Leach, luego se evaluó la actividad larvicida contra *Aedes aegypti*. CL₅₀ se calculó para toxicidad y actividad larvicida contra larvas de mosquitos basado en el método Reed-Muench. La AE se clasificó para toxicidad y se utilizó el criterio Dolabela. En el bioensayo de toxicidad, CL₅₀ 321.15 mg L⁻¹ se clasificó como no tóxico. La actividad larvicida contra *Aedes aegypti* mostró 50,70 mg de L⁻¹ según AE. El total de fenólicos dio como resultado 513.574 mg EAT g⁻¹. La AE presentó resultados satisfactorios contra los microorganismos probados, revelando su eficiencia en la lucha y control de microorganismos patógenos y larvicidas.

Palabras clave: *Alpinia zerumbet*; Antimicrobiano; Toxicidad.

1. Introdução

Desde a sua existência, o homem sempre buscou nos recursos naturais uma alternativa para a cura e/ou alívio de suas doenças, com o objetivo de melhorar sua qualidade de vida e aumentar suas chances de sobrevivência (Carvalho et al., 2010; Giraldi et al., 2010).

As plantas medicinais para tais fins tornou-se uma prática muito difundida entre comunidades de todo mundo e perpassa para os dias atuais (Costa, 2013), sendo cada vez mais utilizadas não somente pelo seu poder curativo, mas também por serem economicamente mais acessíveis. A medicina alopática, embora com muitos avanços, não consegue salvar milhões de pessoas que sucumbem devido a diversas doenças, muitas das quais poderiam ser evitadas. São muitas as doenças que se tornam crônicas por falta de cuidados ou pela impossibilidade da compra de medicamentos alopáticos, os quais, em sua maioria, exibem preços exorbitantes (Dutra, 2009).

Quando abordamos sobre as condições de saúde da população, as preocupações viram interesse de todos, uma vez que o ambiente onde se vive vai interferir significativamente na sua qualidade de vida. As transformações, quase que irreversíveis no meio ambiente afetam a qualidade de vida de todos que a rodeiam. Tantas modificações tem afetado diretamente a saúde ambiental. Um exemplo prático dessas modificações, podemos visualizar no aumento da densidade de insetos *Aedes aegypti*, o qual está relacionado com seu comportamento sinantrópico (adaptados a viver em centros urbanos) e ao hábito antropofílico (capacidade de localizar atividade humana) (Santos, 2018).

Para prevenir as doenças ocasionadas por essa espécie, tais como dengue, zika vírus e febre chikungunya, a população e a comunidade científica têm-se alarmado, verificando a necessidade de impedir a infecção pelo controle do vetor, reduzindo a transmissão ou bloqueando o mosquito, papel esse exercido por meio das políticas de Saúde Pública, uma vez que não existe vacina para combater o vírus transmitido (Chiarella, 2016; Braga&Valle, 2007).

Nesse sentido, o controle do mosquito vem sendo realizado por meio do uso de larvicidas sintéticos, tornando-se um dos métodos mais praticados para o controle de vetores em Saúde Pública (ROSE, 2001). O uso constante desses produtos tem ocasionado diversos danos ao meio ambiente, seja no ar ou na água, interferindo diretamente na saúde do ser humano, além de ocasionar vários transtornos ambientais, sociais e econômicos (Jintana et al., 2015).

Nos últimos anos, ocorre uma atenção considerável aos efeitos biológicos de produtos obtidos de fontes vegetais, entre eles, os óleos essenciais (OE's) obtidos de plantas aromáticas

e seus componentes. Estes têm uma ampla gama de aplicações em etno-medicina, preservação, aromatização de alimentos e fragrâncias e nas indústrias de perfumaria (Shen et al., 2015). Os OE's apresentam uma composição relativamente complexa, podendo possuir entre dezenas a centenas de compostos, e em geral o fitoconstituente em maior concentração é aquele que atribui à atividade biológica do OE (Lubbe&Verpoorte, 2007; Cunha et al., 2012). Estes compostos bioativos fazem parte da constituição de diferentes grupos químicos como: hidrocarbonetos, álcoois, ésteres, aldeídos, cetonas, fenóis e terpenos sendo que, os compostos terpênicos são considerados os mais abundantes (Felipe&Bicas, 2017).

Entre as plantas medicinais produtoras de OE's encontra-se a *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burt & R.M. Sm, uma espécie originária da Ásia, pertencente à família Zingiberaceae, e encontrada na literatura científica com as sinônimas de *Alpinia speciosa* K. Shum, *Costus zerumbet* Pers., *Languas speciosa* Small e *Zerumbet speciosum* J. C. Wendel (Lorenzi&Souza, 2001). Essa planta é conhecida popularmente como colônia, sendo muito encontrada no Nordeste do Brasil, e utilizada como anti-hipertensiva, diurética e febrífuga (Correa et al., 2010). Tem como classes de constituintes químicos, alcaloides, flavonóides e como principais componentes do óleo essencial são os monoterpenos com maior concentração de 1,8-cineol e terpeno-4-ol, havendo trabalhos que comprovam sua atividade antimicrobiana (Victório et al., 2009). Desta forma, este estudo teve por objetivo avaliar a toxicidade e atividade larvicida do OE de *A. zerumbet*.

2. Metodologia

2.1. Material vegetal

A coleta do material vegetal utilizado nesta pesquisa foi realizada em agosto de 2019. As folhas de *A. zerumbet* (jardineira) foram coletadas no município de São Luís, Maranhão, Brasil. Após a coleta, o material vegetal foi transportado ao Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV/UFMA), onde foi submetido à estufa de secagem de ar convectiva FANEM 520 a 45°C por 24 horas, e posteriormente, trituradas em moinho de facas.

2.2. Obtenção dos óleos essenciais

Para extração dos OE's, utilizou-se a técnica de hidrodestilação com um extrator de Clevenger de vidro acoplado a um balão de fundo redondo acondicionado em manta elétrica como fonte geradora de calor. Foram utilizadas 100g das folhas secas de *A. zerumbet*, adicionando-se água destilada (1:10). A hidrodestilação foi conduzida a 100°C por 3h recolhendo-se o OE extraído. Cada OE foi seco por percolação com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) e centrifugado. Essas operações foram realizadas em triplicatas e as amostras armazenadas em ampolas de vidro âmbar sob refrigeração de 4°C. Posteriormente submetido as análises. Foram determinados os parâmetros físico-químicos dos OE's: densidade, solubilidade, cor e aparência de acordo com a Farmacopeia Brasileira (2019). O rendimento do OE foi expresso em porcentagem na relação massa/volume pela medida de densidade (Farmacopeia Brasileira, 2019).

2.3. Toxicidade

Este ensaio foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Meyer et al. (1982). Para a avaliação da letalidade de *Artemia salina* Leach, foi preparada uma solução salina estoque do OE e do EH na concentração de 10.000 mg/L e 0,02 mg de Tween 80 (tenso ativo). Alíquotas de 5, 50 e 500 µL desta foram transferidas para tubos de ensaio e completados com solução salina já preparadas anteriormente até 5 mL, obtendo-se no final concentrações de 10, 100 e 1000 mg/L, respectivamente. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas, onde dez larvas na fase náuplio foram transferidas para cada um dos tubos de ensaio.

Para o controle do branco, utilizou-se 5 mL da solução salina, para o controle positivo K₂Cr₂O₇, e para o controle negativo 5 mL de uma solução 4 mg L⁻¹ de Tween 80. Após 24 horas de exposição, realizou-se a contagem das larvas vivas, considerando-se mortas aquelas que não se movimentaram durante a observação e nem com a leve agitação do frasco. Adotou-se o critério estabelecido por Dolabela (1997) para classificação da toxicidade dos óleos essenciais, sendo considerado produto altamente tóxico quando $CL_{50} \leq 80 \text{ mgL}^{-1}$ moderadamente tóxico para $80 \text{ mgL}^{-1} \leq CL_{50} \leq 250 \text{ mgL}^{-1}$ e levemente tóxico ou atóxico quando $CL_{50} \geq 250 \text{ mgL}^{-1}$.

2.4. Fenólicos totais

A determinação dos compostos fenólicos totais do OE foi realizada com adaptação do método de Folin-Ciocalteu (Singleton&Rossi,1965; Waterhouse, 2002). Utilizou-se 5 mg do OE diluído em 1 mL de etanol. A esta solução foi adicionado 3 mL de água destilada, 500 µL do reagente Folin-Ciocalteu e 2,0 mL de carbonato de sódio a 20%. A solução formada foi levada ao banho-maria a 50 °C por 5 min, retirada e deixada para esfriar; e, então, foi realizada a leitura em espectrofotômetro manual, em comprimento de 760 nm. A curva padrão foi expressa em mg L⁻¹ de ácido tânico.

2.5. Coleta dos ovos de *Aedes aegypti*

Os ovos foram coletados na Universidade Federal do Maranhão, Campus Bacanga em São Luís/ MA, através de armadilhas denominadas ovitrampas. Estas consistem de baldes marrons (500 mL), de polietileno, com 1 mL de levedura de cerveja e 300 mL de água corrente e inserida duas palhetas de Eucatex para a ovoposição do mosquito. As armadilhas foram inspecionadas semanalmente para a substituição das palhetas e recolhimento dos ovos e encaminhados para o Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV/UFMA) do Pavilhão Tecnológico da Universidade Federal do Maranhão – UFMA.

Inicialmente, os ovos do *Aedes aegypti* foram colocados para eclodir a temperatura ambiente em um aquário circular de vidro contendo água mineral. A identificação da espécie seguiu a metodologia proposta por Forattini (1962). As larvas obtidas foram alimentadas com ração de gato conforme a metodologia de Silva (1995) até atingirem o terceiro e quarto estágio, idade em que foram feitos os experimentos.

2.6. Atividade larvicida

Os ensaios para atividade larvicida foram realizados de acordo com a metodologia adaptada proposta por Silva (2006). Inicialmente, foi preparada uma solução mãe de 100 mg L⁻¹ de cada um dos OE's sendo diluídas em solução de DMSO 2%. Desta solução, foram preparadas cinco diluições nas concentrações 10, 20, 50, 70 e 90 mg L⁻¹. A cada concentração foram adicionadas 10 larvas na proporção 1 mL por larva.

Todos os testes foram realizados em triplicatas e como controle negativo foi utilizado uma solução formada de DMSO 2%, e como controle positivo, uma solução de temefós

(O,O,O',O'- tetrametil O,O'-tiodi-p-fenileno bis (fosforotioato) a 100 ppm, equivalente a concentração utilizada pela Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) para o controle larvicida do vetor, além do Novaluron (\pm -1-[3-cloro-4-(1-1-3-trifluro-2-trifluoromethoxyethoxy) phenyl-3-(2,6-diflurobenzoyl) urea a 0,02 mg L⁻¹, dose adotada pelo ministério da Saúde, que indica pelo OMS no intervalo de 0,01 a 0,05mg L⁻¹.

Após 24h foram realizou-se a contagem de vivas e mortas, sendo que foram consideradas mortas, as larvas que não reagiram ao toque após 24 horas do início do experimento.

A análise estatística dos dados para o ensaio larvicida e de toxicidade foi realizada de acordo com o método de Reed&Muench (1938), a partir da tabela contendo os dados de mortalidade para cada concentração testada, é construído um gráfico onde se observa uma curva para o acúmulo de animais mortos em cada log da concentração e outra curva para o acúmulo de sobreviventes. O ponto de intercessão entre as curvas é a Concentração Letal 50% (CL₅₀), pois nesse ponto o número de animais sobreviventes é igual ao número de animais mortos (Colegate&Molyneux, 2007).

3. Resultados e Discussão

3.1. Perfil químico

Os parâmetros físico-químicos são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Parâmetros físico-químicos do OE de *A. zerumbet*.

Densidade	Índice de refração	Solubildade EtOH 70%	Cor	Rendimento
0,8888 (g mL ⁻¹)	1,478 (nD 25°)	1:4 (v/v)	Amarelo	0,71 %

Fonte: Autores.

Na Tabela 1, foi observado que o rendimento obtido para o OE de *A. zerumbet* foi de 0,71%, semelhante ao resultado encontrado por Rezende et al. (2011) que apresenta um rendimento de 0,74%. A densidade calculada para o OE nesta avaliação foi de 0,888 g mL⁻¹, enquanto a densidade encontrada por Cunha et al. (2012) foi de 0,88 g mL⁻¹.

Rezende et al. (2006), que verificaram variação nos teores do OE entre 0,69 e 0,77% de rendimento do OE de *A. zerumbet*. Segundo Barcelos et al. (2010) o OE das folhas secas de *A.*

zerumbet apresentou coloração amarelada e forte odor amadeirado refrescante. O rendimento da extração do OE das folhas do óleo essencial de folhas dessa espécie foi de $0,25 \pm 0,03\%$ (m/m). Comprovando os resultados similares a este estudo.

3.2. Toxicidade

Na Tabela 2 são apresentados os resultados obtidos no ensaio de toxicidade e a Concentração Letal 50% (CL₅₀) referente a ação do OE frente a *Artemia salina* L. e sua posterior classificação segundo o critério de Dolabela (1997).

Tabela 2: Toxicidade e CL₅₀ para ação do OE frente a *Artemia salina* L.

OE	CL ₅₀	Classificação
<i>A. zerumbet</i>	321,15 mg L ⁻¹	Atóxico

Fonte: Autores.

Com base na Tabela 2, foi possível constatar CL₅₀ para ação do OE de *A. zerumbet* em 321,15 mg L⁻¹ pelo critério de Dolabela (1997) é classificado como atóxico. Cavalcanti et al. (2012) verificaram que o OE das folhas de *A. zerumbet* em concentrações 50-300 µg L⁻¹ também se comporta como atóxico. Resultados semelhantes também foram relatados por Santos et al. (2010) para o extrato dessa espécie, constatando que a espécie é atóxica com CL₅₀ igual à 740 mg L⁻¹ (ppm).

3.3. Fenólicos totais

A equação da reta obtida foi $y = 0,05857x + 0,06000$ ($R^2 = 0,9998$), onde y representa a absorvância e x a concentração equivalente de ácido tânico. A Tabela 3 apresenta a quantidade de fenólicos totais no OE de *A. zerumbet*.

Tabela 3: Fenólicos totais (CFT), mg EAT g⁻¹, no OE.

Equação da reta	R ²	CFT
$y = 0,05857x + 0,06000$	0,9998	513,574 mg EAT g ⁻¹

Fonte: Autores.

Segundo a Tabela 3 o OE de *A. zerumbet* apresentou 513,574 mg EAT g⁻¹ nos fenólicos totais. Souza et al. (2018) observaram o teor de fenólicos totais do extrato das folhas e flores de *A. zerumbet* através do método Folin-Ciocalteu, os resultados foram 9,80±0,28; 7,93±0,16 g(GAE)/100g de extrato, respectivamente, quantidades significativas de fenólicos totais.

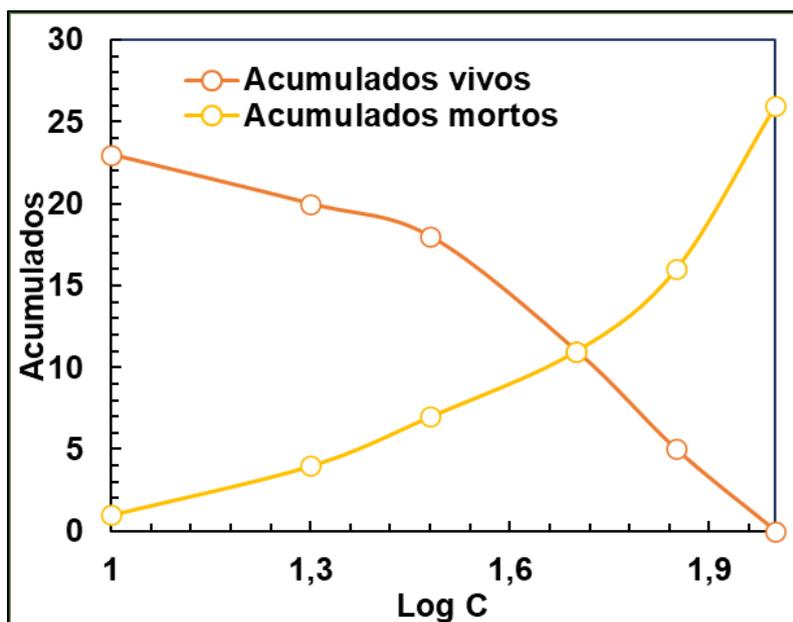
Resultados semelhantes foram relatados por Chan et al. (2007), ao observarem que o extrato metanólico de folhas de *A. zerumbet* teve o conteúdo fenólico total (CFT) 3550 mg equivalentes de ácido gálico/100g. Segundo Chompoo et al. (2012), o extrato aquoso da *A. zerumbet* demonstrou maior teor de CFT, com maiores valores para as sementes (18,8 g equivalentes de ácido gálico/ g de extrato), seguidas dos rizomas (12,45 g GAE/g), flores (7,51g GAE/g), caules (5,94 g GAE/g), pericarpos (5,84 g GAE/g) e folhas (4,78 g GAE/g).

Estudos realizados por Elzaawely et al. (2007) analisaram que o extrato aquoso das flores e sementes de *A. zerumbet* tiveram os resultados de 5,67 e 1,37 g de EAG/g de extrato, respectivamente. Como pode ser observado, os extratos da espécie apresentaram concentrações consideráveis de substâncias fenólicas. Essa variação encontrada nos estudos pode ser explicada por vários fatores, dentre eles, as partes da planta utilizadas, diferentes polaridades dos solventes usados nos estudos, bem como, suas condições ambientais, o que resulta na modificação dos constituintes da planta presentes nos extratos (Gobbo-Neto, 2007).

3.4. Atividade larvicida

Na Figura 1 são apresentados os resultados referentes ao ensaio de atividade larvicida através do método de Reed&Muench (1938).

Figura 1: Gráfico log da concentração do OE versus os acumulados de *Aedes aegypti*.



Fonte: Autores.

Na Figura 1 observa-se a curva de acumulados e a interseccao das curvas é o ponto onde ocorre a eliminação de 50% dos organismos. Na Tabela 4 é apresentada a CL_{50} referente a ação do OE frente as larvas de *Aedes aegypti* calculada através do log da interseccção das curvas apresentadas na Figura 1.

Tabela 4: CL_{50} para ação do OE de *A. zerumbet* frente a larvas do mosquito *Aedes aegypti*.

Log da interseccção das curvas	CL_{50}
1,71	50,70 mg L ⁻¹

Fonte: Autores.

Conforme observado na Tabela 4 o OE de *A. zerumbet* apresentou a CL_{50} de 50, 70 mg L⁻¹ frente as larvas do mosquito *Aedes aegypti*, incentivando seu potencial de aplicabilidade larvicida. Os estudos na literatura referentes à atividade larvicida CL_{50} frente ao OE de *A. zerumbet* ainda se encontram escassos e pouco divulgados.

A literatura confirma o potencial desse OE, Chan et al. (2017) ao estudarem a atividade larvicida das sementes do OE de *A. zerumbet* constataram que o mesmo possui ação larvicida frente as larvas do mosquito *Aedes aegypti* pois apresentou CL_{50} 125 e 87 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Enquanto

os OE's das folhas eram de 64 e 32 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Segundo Freitas (2005), o óleo essencial de *Alpinia speciosa* apresentou elevado potencial larvicida contra larvas de 3º e 4º estádios de *Ae. aegypti*, causando mortalidade de 100% nas concentrações de 2,5 mL^{-1} e de 0,5 mL^{-1} após 5 minutos e 24 horas, respectivamente. Confirmando a eficiência do uso deste OE frente ao transmissor da dengue, chikungunha e zica.

No entanto, Cavalcanti et al. (2004) evidenciaram a atividade larvicida de folhas e ramos de *A. zerumbet* contra o *Aedes aegypti* ($\text{CL}_{50} = 313 \text{ ppm}$). Da mesma forma, Freitas et al. (2010) avaliaram a atividade larvicida de folhas secas de *A. speciosa* ($\text{CL}_{50} = 0,94 \mu\text{g mL}^{-1}$)

O potencial tóxico dos OE's e os seus compostos frente ao *Aedes aegypti* podem variar significativamente de acordo com os fatores intrínsecos e extrínsecos, espécies de plantas, parte de plantas, idade de fabricação, quimiotipos e as condições geográficas (tal como temporada de ocorrência, precipitação, porcentagem de umidade, temperatura, luz solar, e altitude), em que a planta foi recolhida, a fonte de larvas, e os métodos utilizados, em geral, para induzir diferentes respostas larvais (Dias & Moraes, 2014).

4. Considerações Finais

O OE das folhas de *A. zerumbet* apresentou resultados satisfatórios frente as larvas de *Aedes aegypti* com uma CL_{50} abaixo do critério estabelecido classificando-o como eficiente, ainda sendo categorizado como não tóxico, incentivando seu potencial de aplicação.

Referências

Barcelos, F. F., Oliveira, M. L., Giovaninni, N. P. B., Lins, T. P., Filomeno, C. A., Schneider, S. Z., & Andrade, T. U. (2010). Estudo químico e da atividade biológica cardiovascular do óleo essencial de folhas de *Alpinia zerumbet* (Pers.) BL Burtt & RM Sm. em ratos. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 12(1), 48-56.

Braga, I. A., & Valle, D. (2007). *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 16(4), 279-293.

Carvalho, M. C. G., Pires, R. L., Florindo, W. S., & Cavalcante, A. S. S. (2010). Evidências para o uso de Indigo naturalis no tratamento da psoríase tipo placa: uma revisão sistemática. *Natureza online*, 8(3), 127-131.

Cavalcanti, E. S. B., Morais, S. M. D., Lima, M. A. A., & Santana, E. W. P.. (2004). Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99(5), 541-544.

Chan, E. W. C., Wong, S. K., & Chan, H. T. (2017). *Alpinia zerumbet*, a ginger plant with a multitude of medicinal properties: An update on its research findings. *Chinese Pharmacy*, 26(11), 775-788.

Chiarella, J. M. (2016). Vacina da dengue: um desafio nacional. *Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba*, 18(2), 123-124.

Colegate, S. M., & Molyneux, R. J. (Eds.). (2007). *Bioactive natural products: detection, isolation, and structural determination*. CRC Press.

Costa, R. A. (2013). *A identidade e o conhecimento etnobotânico dos moradores da Floresta Nacional do Amapá*. (Tese de mestrado, Universidade Federal do Amapá).

Correa, A. J. C., Lima, C. E., & Costa, M. C. C. D. (2010). *Alpinia zerumbet* (Pers.) BL Burt & RM Sm.(Zingiberaceae): levantamento de publicações nas áreas farmacológica e química para o período de 1987 a 2008. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 12(1), 113-119.

Cunha, A. P., Nogueira, M. T., & Roque, O. R. (2012). Plantas aromáticas e óleos essenciais: composição e aplicações. *Fundação Calouste Gulbenkian*, 678.

Cunha, G. H. (2012). *Efeito farmacológico das frações hexânica, clorofórmica e metanólica do óleo essencial da Alpinia zerumbet na reatividade vascular in vitro e nos parâmetros cardiovasculares in vivo*. (Tese de doutorado, Universidade Federal do Ceará).

Dias, C. N., & Moraes, D. F. C. (2014). Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvicides: review. *Parasitology Research*, 113(2), 565-592.

Dolabella, M. F. (1997). *Triagem in vitro para a atividade antitumoral e anti-T. cruzi de extratos vegetais, produtos naturais e sintéticos* (Doctoral dissertation, tese de mestrado, Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais).

Dutra, M. G. (2009). *Plantas medicinais, fitoterápicos e saúde pública: um diagnóstico situacional em Anápolis, Goiás*. (Tese de mestrado, Centro Universitário de Anápolis UniEvangelica).

Elzaawely, A. A., Xuan, T. D., Koyama, H., & Tawata, S. (2007). Antioxidant activity and contents of essential oil and phenolic compounds in flowers and seeds of *Alpinia zerumbet* (Pers.) BL Burt. & RM Sm. *Food chemistry*, 4(10), 1648-1653.

FARMACOPEIA BRASILEIRA (2019). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 6 ed., p.92.

Felipe, L. O., & Bicas, J. L. (2017). Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. *Química Nova na Escola*, 39(2), 120-130.

Freitas, F. P., Freitas, S. P., Lemos, G. C. S., Vieira, I. J. C., Gravina, G. A., & Lemos, F. J. A. (2010). Comparative larvicidal activity of essential oils from three medicinal plants against *Aedes aegypti* L. *Chemistry & Biodiversity*, 7(11), 2801-2807.

Forattini, O. P. (1962). Entomologia médica. São Paulo, *EDUSP 1*, 662.

Giraldi, M., & Hanazaki, N.(2010). Uso e conhecimento tradicional de plantas medicinais no Sertão do Ribeirão, Florianópolis, SC, Brasil. *Acta Botânica Brasílica*, 24(2), 395-406.

Gobbo-Neto, L., & Lopes, N. P. (2007). Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química nova*, 30(2), 374-381.

Jintana, Y., Saowanee, C., Nongkran, L., & Pradya, S. (2015). Insecticides resistance in the *Culex quinquefasciatus* populations from northern Thailand and possible resistance mechanisms. *Acta Tropica*, 149, 232-237.

Lorenzi, H., Souza, H. M. (2001). Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras, 3a.ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 1067.

Lubbe, A. & Verpoorte, R. (2011). Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. *Industrial Crops and Products*, 34(1), 785–801.

Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. J., & McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta médica*, 45(5), 31-34.

Reed, L. J. & Muench, H. (1938). A simple method of estimating fifty percent endpoints. *American Journal of Hygiene*, 27(3), 493-498.

Rezende, M. E. D., Jasmim, J. M., Caprini, G. P., Sousa, E. F. D., Schripsema, J., Thiébaud, J. T. L. (2011). Teor e composição química do óleo essencial de alpinia em razão da adubação e da disponibilidade de água no solo. *Revista Ceres*, 58(2), 208-215.

Rose, R. I. (2001). Pesticides and public health: integrated methods of mosquito management. *Emerging Infectious Diseases journal*, 7(1), 17-23.

Santos, A. G. D. S. (2018). *Controle de vetores em saúde ambiental: atividade larvicida de óleo essencial de Croton rhamnifolioides encapsulado em nanossistema polimérico frente ao mosquito Aedes aegypti*. (Tese de mestrado, Instituto Federal de Pernambuco).

Santos, C. P., de Lira Lemos, R. P., & dos Santos, A. F. (2010). Avaliação da toxicidade das espécies medicinais *Alpinia zerumbet* (Pers.) e *Sambucus australis* Cham. & Schltdl. frente *Artemia salina* Leach. *Revista Ambientale*, 2(2), 65-76.

Shen, S., Zhang, T., Yuan, Y., Lin, S., Xu, J., & Ye, H. (2015). Effects of cinnamaldehyde on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* membrane. *Food Control* 47, 196–202.

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Clorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

Silva WJ. (2006). *Atividade larvicida do óleo essencial de plantas existentes no estado de Sergipe contra Aedes aegypti Linn*. (Tese de mestrado, Universidade Federal do Sergipe).

Silva, H. H. G., Silva, I. G. D., Elias, C. N., Lemos, S. P. S., & Rocha, A. P. (1995). Idade fisiológica dos ovos de aedes (stegomyia) aegypti (Linnaeus, 1762) (diptera, culicidae). *Revista Pat. Trop.* 24(2), 269-273.

Victório, C. P., Alviano, D. S., Alviano, C. S., & Lage, C. L. S. (2009). Chemical composition of the fractions of leaf oil of *Alpinia zerumbet* (Pers.) BL Burt & RM Sm. and antimicrobial activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(3), 697-701.

Waterhouse, A. L. (2002). Determination of total phenolics. *Current protocols in food analytical chemistry*, 6(1), II. 1.1-II.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Paulo Sérgio Santos Júnior – 10%

Gustavo Oliveira Everton – 10%

Paulo Victor Serra Rosa – 10%

Laurilene dos Santos Souza – 7,5%

Francilidia Oliveira Vitorino de Assunção Conceição – 7,5%

Liane Batista da Cruz Soares – 7,5%

Wilma Karlla dos Santos Farias – 7,5%

Lauriane dos Santos Souza – 7,5%

Christyann Lima Campos Batista – 7,5%

Feliciano Santos Pinheiro – 7,5%

Ari Pereira de Araújo Neto – 7,5%

Victor Elias Mouchrek Filho – 10%