

Atividade larvicida do óleo essencial de *Pimenta dioica* Lindl. frente as larvas do mosquito *Aedes aegypti*

Larvicidal activity of the essential oil of *Pimenta dioica* Lindl. front larvae of the *Aedes aegypti* mosquito

Actividad larvicida del aceite esencial de *Pimenta dioica* Lindl. larvas frontales del mosquito *Aedes aegypti*

Recebido: 12/06/2020 | Revisado: 13/06/2020 | Aceito: 15/06/2020 | Publicado: 28/07/2020

Thércia Gabrielle Teixeira Martins

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0506-1748>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: thercia.martins@hotmail.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

Mariana Oliveira Arruda

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7097-7843>

Faculdade Maurício de Nassau, Brasil

E-mail: mariana_o.arruda@yahoo.com.br

Laiane Araujo da Silva Souto

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8101-6973>

Faculdade Maurício de Nassau, Brasil

E-mail: laianesouto@gmail.com

Danielly Fonseca

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8500-4777>

Faculdade Maurício de Nassau, Brasil

E-mail: danyfonseca2002@gmail.com

Igor Santos da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9509-6812>

Faculdade Estácio, Brasil

E-mail: igorsil_va22@hotmail.com

Andressa Teixeira Costa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3236-2722>

Faculdade Laboro, Brasil

E-mail: nutriandressateixeira@gmail.com

Lauriane dos Santos Souza

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

Faculdade Maurício de Nassau, Brasil

E-mail: sslanes77@gmail.com r

Laurilene dos Santos Souza

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

Faculdade Maurício de Nassau, Brasil

E-mail: sslaurilene380@gmail.com

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

Este estudo teve por objetivo avaliar o perfil químico e a atividade larvicida do óleo essencial (OE) extraído das folhas de *Pimenta dioica* L. frente as larvas do mosquito *Aedes aegypti*. O OE foi extraído por hidrodestilação, com caracterização química através de Cromatografia Gasosa acoplada e espectrometria de massas (CG-EM). Os parâmetros físico-químicos foram determinados de acordo com os métodos descritos na Farmacopeia Brasileira. O ensaio de toxicidade avaliou a letalidade do OE frente ao *Aedes aegypti*. Calculou-se a CL₅₀ para ação do OE frente às larvas *Aedes aegypti* a partir do método de Probit. A atividade larvicida do OE apresentou mortalidade em concentrações de 10 a 100 mg L⁻¹ e a CL₅₀ de 26,91 mg L⁻¹. Os

resultados indicam que o OE avaliado é composto por substâncias que possuem um bom efeito larvicida frente ao *Aedes aegypti*, demonstrando sua eficiência no combate e controle do mosquito *Aedes aegypti*.

Palavras-chave: *Pimenta*; *Aedes*; Toxicidade.

Abstract

This study aimed to evaluate the chemical profile and larvicidal activity of essential oil (EO) extracted from the leaves of *Pimenta dioica* L. in front of the larvae of the *Aedes aegypti* mosquito. The EO was extracted by hydrodistillation, with chemical characterization through coupled Gas Chromatography and mass spectrometry (GC-MS). The physicochemical parameters were determined according to the methods described in the Brazilian Pharmacopoeia. The toxicity assay evaluated the lethality of EO against *Aedes aegypti*. CL_{50} was calculated for EO action against *Aedes aegypti* larvae using the Probit method. The larvicidal activity of OE presented mortality at concentrations of 10 to 100 mg L⁻¹ and LC_{50} of 26,91 mg L⁻¹. The results indicate that the evaluated EO is composed of substances that have a good larvicidal effect against *Aedes aegypti*, demonstrating its efficiency in combating and controlling the *Aedes aegypti* mosquito.

Keywords: *Pimenta*; *Aedes*; Toxicity.

Resumen

Este estudio tuvo como objetivo evaluar el perfil químico y la actividad larvicida del aceite esencial (AE) extraído de las hojas de *Pimenta dioica* L. delante de las larvas del mosquito *Aedes aegypti*. La AE fue extraída por hidrodestestación, con caracterización química a través de cromatografía de gases acoplada y espectrometría de masas (GC-MS). Los parámetros fisicoquímicos se determinaron de acuerdo con los métodos descritos en la Farmacopea Brasileña. El ensayo de toxicidad evaluó la letalidad de la AE contra *Aedes aegypti*. CL_{50} se calculó para la acción OE contra las larvas *Aedes aegypti* utilizando el método Probit. La actividad larvicida de AE presentó mortalidad a concentraciones de 10 a 100 mg de L⁻¹ y LC_{50} de 26,91 mg L⁻¹. Los resultados indican que la AE evaluada está compuesta de sustancias que tienen un buen efecto larvicida contra *Aedes aegypti*, demostrando su eficacia en la lucha y control del mosquito *Aedes aegypti*.

Palabras clave: *Pimenta*; *Aedes*; Toxicidad.

1. Introdução

O crescente interesse em produtos de origem natural por consumidores nas indústrias de alimentos, bebidas e fármacos, os óleos essenciais (OE's) vêm ganhando grande espaço por apresentar diversas aplicações, como no uso contra agentes patológicos, além de ser uma opção com menor toxicidade em comparação a outros produtos de natureza sintética, (Miranda et al., 2016), incluindo o controle de vetores como o *Aedes aegypti* (Machado, 2016; Silva et al., 2017).

Nas últimas décadas, a utilização de OE's extraídos de diversas plantas mostrara elevado potencial larvicida e inseticida para a finalidade de controle do *Aedes aegypti* (Rosa et al., 2016; Santos et al., 2020), sendo preferencialmente utilizadas por possuírem substâncias químicas tóxicas para os insetos em todas as suas fases e terem outras propriedades associadas a esta atividade como: eficácia em pequenas concentrações, biodegradabilidade, ausência de fitotoxicidade e baixa toxicidade para animais superiores (Voris et al., 2017).

O *Aedes aegypti* trata-se de uma espécie de grande importância para a medicina, pois é vetor de quatro sorotipos de flavivírus causador da dengue clássica e da febre hemorrágica da dengue (Brasil, 2009), pode-se ainda verificar que nos anos de 2014 e 2015, no Brasil, ocorreu o surgimento de novas doenças chamadas chikungunya e zika transmitidas pelo mosquito (Silva et al., 2018), e que crescem de forma exponencial no país, além de se avaliar cerca de 390 milhões de infecções por dengue por ano, dentre os quais 96 milhões com manifestação clínica (Bhatt, 2013).

Faz-se necessário o controle da densidade populacional do *Aedes aegypti* para que essas doenças não assumam proporções de uma epidemia, pois não existe vacina para nenhuma delas, e a melhor forma de combater-la é atacar o vetor, principalmente, eliminando os locais onde ocorre a oviposição e o desenvolvimento das larvas do mosquito. Nosso atual desafio é dar sustentabilidade e continuidade a esses resultados (Brasil, 2009).

Dentre as plantas produtoras de OE, destaca-se a pimenta-da-jamaica (*Pimenta dioica* L.), que possui as suas propriedades larvicidas frente ao *Aedes aegypti* pouco difundidas. A espécie pertence à família Myrtaceae, nativa do Caribe e América Central, é uma árvore aromática de porte médio com folhas pecioladas, elípticoalongadas, com flores numerosas dispostas em cimeiras axilares (Paula et al., 2010; Oliveira, 2017), apresentando diversas propriedades biológicas como moluscicida (Everton et al., 2018), fungicida (Leal et al., 2017) e antimicrobiano (Lorenzo-Leal et al., 2018), mas como afirmado anteriormente possui as propriedades larvicidas pouco estudadas. Desta forma, o presente estudo objetivou avaliar o

perfil químico, a toxicidade e atividade larvicida do óleo essencial extraído das folhas de *P. dioica* L. frente ao *Aedes aegypti*, que é vetor de quatro sorotipos de flavivírus causador da dengue clássica e da febre hemorrágica da dengue.

2. Metodologia

2.1. Material vegetal

A coleta do material vegetal utilizado nesta pesquisa foi realizada em agosto de 2019. As folhas de *P. dioica* (pimenta-da-Jamaica) foram coletadas na região Pré-Amazônica do estado do Maranhão. 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 (OE's)

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 30g das folhas secas de *P. dioica*, 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.

2.3. Análises Químicas

Os constituintes dos OE's foram identificados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Foi dissolvido 1,0 mg da amostra em 1000 µL de diclorometano (pureza 99,9%). As condições de análise foram as seguintes: Método: Adams. M; Volume injetado: 0,3 µL; Coluna : Capilar HP-5MS (5% difenil, 95% dimetil polisiloxano) (Equivalente DB-5MS ou CP-Sil 8CB LB/MS), nas dimensões (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm); Gás de arraste : He (99,9995); 1,0 mL.min⁻¹; Injetor: 280 °C, modo Split (1:10); Forno : 40 °C

(5,0 min.) até 240 °C numa taxa de 4 °C min⁻¹, de 240 °C até 300 °C (7,5 min) numa taxa de 8 °C.min⁻¹); t_r = 60,0 min; Detector : EM; EI (70 eV); Modo varredura (0,5 seg scan⁻¹); Faixa de massas: 40 – 500 daltons (uma); Linha transferência: 280 °C.; Filamento: desligado 0,0 a 4,0 min; Espectrômetro de massas tipo quadrupolo linear. Para a identificação dos compostos na amostra utilizou-se o programa AMDIS (*Automated Mass spectral Deconvolution Mass & Identification System*).

2.4.Fenólicos totais

A determinação dos compostos fenólicos totais do OE foi realizada com adaptação do método de Folin-Ciocalteu (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

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. Para quantificação da eficiência dos OE's foi aplicado o teste estatístico de Probit (Finney, 1952).

3. Resultados e Discussão

3.1. Constituintes químicos

Os constituintes químicos identificados no OE extraído das folhas da *P. dioica* são apresentados na Tabela 1. Os picos cromatográficos foram identificados através da comparação dos respectivos espectros de massa com os dados das espectrotecas NIST08.

Tabela 1: Constituintes químicos identificados no OE.

Pico	RT (min)	Componentes NIST 08	% Teor
1	8,772	octenol	1,177
2	9,164	mirceno	2,642
3	10,488	limoneno	1,621
4	13,251	linalol	0,864
5	16,122	terpineol	0,933
6	19,026	chavicol	6,592
7	22,755	eugenol	85,680

Nota: RT (min): Tempo de retenção dos compostos na coluna em minutos; Fonte: Autores.

Foram identificados 07 componentes na amostra do OE, sendo o constituinte majoritário o eugenol com (85,680%), seguido do chavicol (6,590%) e do mirceno (2,642%). O teor de eugenol (85,68%) relatado neste estudo torna-se significativo ao compararmos com Oliveira (2017) que extraiu o OE das folhas de *P. dioica* coletadas em Montes Claros-MG em 2016, onde obtiveram o eugenol (44,9%) como constituinte majoritário da sua amostra. Vale ressaltar que o Oliveira (2017) utilizou um tempo de extração de 4h.

Resultados semelhantes a este estudo foram relatados por Fernandes (2011) utilizando plantas coletadas na Cooperativa Agrícola Mista do Projeto Onça LTDA, no município de Taperoá – BA, em abril de 2009, onde obtiveram o eugenol (85,673%) como constituinte majoritário da sua amostra do OE das folhas de *P. dioica*. O eugenol é uma molécula extraordinariamente versátil, além de possuir propriedades biológicas comprovadas por Kamatou et al. (2012), assim é de vital importância o estudo do OE extraído da *Pimenta dioica* como uma fonte natural significativa de eugenol tanto para aplicações biológicas quanto para as indústrias em geral.

3.2.Fenólicos totais

A equação da reta obtida foi $y = 0,05857x + 0,06000$ ($R^2 = 0,9998$), onde y representa a absorbância e x a concentração equivalente de ácido tânico. O teor de fenólicos totais quantificado no OE foi de 490,353 mg EAT g⁻¹, confirmando um quantitativo importante de compostos fenólicos.

Resultado semelhante foi encontrado na literatura em base de equivalência grama de ácido gálico para o extrato aquoso, Kumar et al. (2010) relatam 524 mg/100g para o teor total de fenólicos do extrato aquoso da folha *P. dioica* L. Os resultados apresentados e encontrados na literatura se tornam de grande relevância, visto que os fenólicos são frequentemente associados a vários efeitos positivos à saúde, incluindo efeitos antioxidantes, diminuição do risco de doenças cardiovasculares, mecanismos anticâncer e propriedades anti-inflamatórias (Singh et al., 2012).

3.3. Atividade larvicida

Foi possível observar através da Tabela 2 que o OE apresentou a CL₅₀ de 26,91 mg L⁻¹ frente as larvas do mosquito *Aedes aegypti*, incentivando assim, seu potencial de aplicação larvicida. Desta forma, de acordo com a literatura o potencial desse OE é confirmado.

Tabela 2: CL₅₀ do OE frente as larvas de *Aedes aegypti*.

Log Concentração	Mortos	CL ₅₀ mg L ⁻¹	δ	R ²	χ ²
1,000	2				
1,301	4				
1,477	5				
1,699	7	26,91	0,479	0,9992	0,999*
1,845	8				
2,000	9				

Nota: *não significativo, indica bom ajuste da curva; Fonte: Autores.

Voris et al (2017), ao avaliarem a atividade larvicida do OE do fruto da *P. dioica* L. adquirido em um mercado varejista do Rio de Janeiro (RJ), observaram ação larvicida contra larvas do mosquito *Aedes aegypti*, os autores atribuíram o potencial larvicida aos seus dois constituintes majoritários: eugenol e methyl-eugenol. Esses dois componentes já demonstraram em diversos estudos terem atividade inseticida, além de atividades antifúngicas e antimicrobianas (Oussalah et al., 2006, Oussalah et al., 2007, Voris et al., 2017).

Feitosa et al. (2017) ao avaliarem a atividade larvicida do OE do cravo-da-índia, observaram o eugenol como seu composto majoritário e a ação larvicida do seu produto, contra larvas do mosquito *Aedes aegypti*. Santos et al., (2020) ao analisar a atividade larvicida do OE

de *C. zeylanicum* também observou ação larvicida do seu produto contra larvas do mosquito *Aedes aegypti*. No OE *C. zeylanicum*, a atividade larvicida também foi atribuída ao componente majoritário do OE, caracterizado por Castro&Lima (2013) através da análise CG-EM identificaram 17 componentes presentes no OE de *C. zeylanicum* B, entre os fitoquímicos, o eugenol foi apresentado como o principal componente, respondendo por 73,27% dos constituintes, seguido pelo trans- β - cariofileno (5,38%) e benzoato de benzila (4,04%).

A atividade larvicida de um OE é principalmente atribuída a sua constituição química (Santos et al., 2020). Segundo Nascimento et al. (2016), o efeito inseticida pode ser decorrente de um somatório de substâncias presentes, que apesar de se encontrarem em concentrações menores, também possuem atividade inseticida.

4. Considerações Finais

Conforme os resultados obtidos na avaliação da toxicidade e atividade larvicida do OE extraído da folha da *P. dioica* Lindl, conclui-se que a constituição química do OE estudado apresenta valores semelhante aos encontrados na literatura. A atividade larvicida do óleo revelou-se eficiente frente às larvas de *Aedes aegypti*, sendo interessante e importante no controle e combate ao mosquito transmissor da dengue.

Referências

Bhatt, S., Gething. P. W., Brady, O. J., Messina, J. P., Farlow, A. W., Moyes, C. L., & Myers, M. F. (2013). The global distribution and burden of dengue. *Nature*, 496(7446), 504-507.

Brasil. Ministério da Saúde (2009). *Vigilância Epidemiológica*. Programa Nacional de Controle da Dengue.

Castro RD & Lima EO. (2013). Anti-candida activity and chemical composition of *Cinnamomum zeylanicum* blume essential oil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 56(5), 749-755.

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

Dolabela, M. F. (1997). *Triagem in vitro para atividade antitumoral e anti Trypanossoma cruzi de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas*. (Master's Degree dissertation, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil).

Everton, G. O., Teles, A. M., Mouchrek, A. N., & Mouchrek Filho, V. E. (2018). Aplicação do Óleo Essencial de Pimenta Dioica Lindl. como Moluscicida Frente ao Caramujo Transmissor da Esquistossomose. *Revista Processos Químicos*, 12(23), 85-93.

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

Feitosa, J. G., Bastos, N. S., & Siqueira, P. K. J. (2018). *Aplicação e Avaliação do Óleo de cravo-da-índia como Medida de Combate e Controle Frente à Aedes aegypti*. (Monografia, Faculdade de Pindamonhangaba, São Paulo, Brasil).

Fernandes, R. P. (2011). *Caracterização química, avaliação da toxicidade e atividade moluscicida dos óleos essenciais da folha de pimenta dióica Lindl, casca de Citrus limon Linneo e Rizoma de Zingiber officinale Roscoe*.

Finney, D. J. (1952). *Probit Analysis*. Cambridge, England, Cambridge University Press.

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

Gomes, P. R. B., Reis, J. B., Fernandes, R. P., Mouchrek Filho, V. E., Souza, A. G., Fontenele, M. A., & Silva, J. C. (2019). Toxicity and molluscicidal activity of the essential oil Pimenta dioica against the snail Biomphalaria glabrata. *Revista Peruana de Biología*, 26(1), 101-108.

Kamatou, G. P., Vermaak, I., & Viljoen, A. M. (2012). Eugenol - das remotas Ilhas Maluku ao mercado internacional: uma revisão de uma molécula notável e versátil. *Molecules*, 17 (6), 6953-6981.

Leal, T. T. B., Oliveira, F. É. R., Oliveira, V. C., Gonzalez, S. D. P., Silva, R. M., Reis, A. S., & Silva, F. (2017). Extrato de Pimenta dioica no controle in vitro de Aspergillus niger, patógeno da cultura do sisal. *Magistra*, 28(2), 254-260.

Lorenzo, L. A. C., Palou, E., & López, M. A. (2018) Extraction, Composition, and Antibacterial Effect of Allspice (*Pimenta dioica*) Essential Oil Applied in Vapor Phase. *116,000 120M*, 82.

Machado, R., Pilecco, B. M., Carvalho Machado, R., Duarte, T. A., Ribeiro, A. C. F., & Funguetto, C. I. (2016) Plantas Repelentes do Mosquito da Dengue, Zika e Chinkungunya. *Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão*, 8(2).

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 medica*, 45(05), 31-34..

Miranda, C. A. S. F., Cardoso, M. D. G., Batista, L. R., Rodrigues, L. M. A., & Figueiredo, A. C. D. S. (2016). Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. *Revista Ciência Agronômica*, 47(1), 213-220..

Nascimento, A. A., Reis, J. B., & Filho, V. E. M. (2016). Atividade larvicida do óleo essencial de cravoda-índia: Extração, caracterização e atividade larvicida frente ao mosquito *Aedes aegypti*. Brasil: Editora Novas Edições Acadêmicas.

Oliveira, J. G. D., Abreu Filho, B. A. D. (2012). Propriedade antimicrobiana do eugenol frente às amostras de *Alicyclobacillus* spp. isoladas de suco de laranja. *Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)*, 71(2), 410-414..

Oliveira, S. F. (2017). *Atividade antioxidante e antimicrobiana de óleos essenciais aplicados na conservação de linguiça frescal de frango*. (Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros).

Oussualah, M., Caillet, S., Saucier, L., & Lacroix, M. (2006). Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. *Meat science*, 73(2), 236-244.

Oussualah, M., et al. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157: H7, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. *Food control*, 18(5), 414-420.

Paula, J. A. M. D., Reis, J. B., Ferreira, L. H. M., Menezes, A. C. S., & Paula, J. R. D. (2010). Gênero Pimenta: aspectos botânicos, composição química e potencial farmacológico. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 12(3), 363-379.

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

Rosa, C. S., Veras, K. S., Silva, P. R., Lopes Neto, J. J., Cardoso, H. L. M., Alves, L. P. L., & Moraes, D. F. C. (2016). Composição química e toxicidade frente Aedes aegypti L. e Artemia salina Leach do óleo essencial das folhas de Myrcia sylvatica (G. Mey.) DC. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*.

Santos, A. B. D. S., Everton, G. O., Júnior, R. G. D. O. C., Rosa, P. V. S., Pereira, A. P. M., Santos Souza, L., & Mouchrek Filho, V. E. (2020). Óleos essenciais de Cinnamomum zeylanicum Blume e Plectranthus amboinicus (lour.) Spreng como agentes larvicidas frente as larvas do Aedes aegypti. *Brazilian Journal of Development*, 6(4), 22355-22369.

Silva, H. H. G. D., 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).

Silva, N. M., Teixeira, R. A. G., Cardoso, C. G., Junior, J. B. S., Coelho, G. E., Oliveira, E. S. F.. (2018). Vigilância de chikungunya no Brasil: desafios no contexto da Saúde Pública. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 27, e2017127.

Silva, T. I., Alves, A. C. L., Azevedo, F. R., Marco, C. A., Santos, H. R., & Alves, W. S. (2017). Efeito larvicida de óleos essenciais de plantas medicinais sobre larvas de Aedes aegypti L.(Diptera: Culicidae). *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, 12(2), 256-260.

Silva, W. J. D. (2006). Atividade larvicida do óleo essencial de plantas existentes no estado de Sergipe contra *Aedes aegypti* Linn.

Singh, H. P., Kaur, S., Negi, K., Kumari, S., Saini, V., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2012). Assessment of in vitro antioxidant activity of essential oil of *Eucalyptus citriodora* (lemon-scented Eucalypt; Myrtaceae) and its major constituents. *LWT-Food science and Technology*, 48(2), 237-241.

Voris, D. G. D. R., Afonso, C. H., Almeida Filho, C. A., Fernandes, C. O., Brito, D. Q., Moraes, C. S., & Avelar, K. E. (2017). Estudos Etnofarmacológicos de Óleos Essenciais com Atividade Larvicida contra o mosquito *Aedes Aegypt*. *Semioses*, 11(1), 86-94.

Warikoo, R., Wahab, N., & Kumar, S. (2011). Larvicidal potential of commercially available pine (*Pinus longifolia*) and cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) oils against an Indian strain of dengue fever mosquito, *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae). *Acta Entomol Sin*, 54, 793-9.

Waterhouse, A. L. (2002). Determination of total phenolics. *Current protocols in food analytical chemistry*, 6(1), I1-1.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Thércia Gabrielle Teixeira Martins – 10%

Gustavo Oliveira Everton – 10%

Paulo Victor Serra Rosa – 10%

Mariana Oliveira Arruda – 7,5%

Laiane Araujo da Silva Souto – 7,5%

Danielly Fonseca – 7,5%

Igor Santos da Silva – 7,5%

Andressa Teixeira Costa – 7,5%

Lauriane dos Santos Souza – 7,5%

Laurilene dos Santos Souza – 7,5%

Ari Pereira de Araújo Neto – 7,5%

Victor Elias Mouchrek Filho – 10%