



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
Instituto de Química – INQUI
Programa de Pós-Graduação em Química – Mestrado e doutorado



**DESENVOLVIMENTO DE SURFACTANTES ANIÔNICOS A PARTIR
DOS COMPONENTES FENÓLICOS DO LCC ASSOCIADOS COM
RICINOLEATO DE SÓDIO PARA COMBATE AO MOSQUITO *Aedes
aegypti***

Cleverton Miguel Müller

Orientador: Prof. Dr. Adilson Beatriz

Campo Grande – 2018



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
Instituto de Química – INQUI
Programa de Pós-Graduação em Química – Mestrado e doutorado



**DESENVOLVIMENTO DE SURFACTANTES ANIÔNICOS A PARTIR
DOS COMPONENTES FENÓLICOS DO LCC ASSOCIADOS COM
RICINOLEATO DE SÓDIO PARA COMBATE AO MOSQUITO *Aedes
aegypti***

Cleverton Miguel Müller

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química – Nível de Mestrado da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul para obtenção do título de Mestre em Química (área de concentração: Química).

Orientador: Prof. Dr. Adilson Beatriz

Campo Grande – 2018



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA – NÍVEL DE MESTRADO E DOUTORADO

TERMO DE DEFESA

(x) – Dissertação () – Tese () – Qualificação

ALUNO
Cleverton Miguel Müller

TÍTULO DO TRABALHO
Desenvolvimento de Surfactantes Aniônicos dos Componentes Fenólicos do LCC Associados com Ricinoleato de Sódio para Combate ao Mosquito <i>Aedes Aegypti</i>.

Defesa de Dissertação de Mestrado submetida à Comissão Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Química – Nível de Mestrado e Doutorado (Resolução nº 17/2018) da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos necessários para titulação no curso.

COMISSÃO EXAMINADORA		
NOME	INSTITUIÇÃO DE ENSINO	ASSINATURA
Adilson Beatriz	UFMS	
Ana Camila Micheletti	UFMS	
Cristiane Regina Winck Hortelan	UFMS	

Campo Grande, 23 de fevereiro de 2018.

Instituto de Química – UFMS
Cidade Universitária, s/n - Fone xx067 3345-7011
Av. Senador Filinto Müller nº 1555 - CEP: 79074-460 - Campo Grande (MS)
<http://www.ufms.br> – <http://www.inqui.ufms.br>

AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho primeiramente a minha mãe Noeli M. Hairrmann Müller (In memoriam) no início do meu ensino médio, e por ser essencial em minha vida não só como mãe, mas como pessoa batalhadora, mostrando a importância do estudo para a caminhada.

Ao meu Deus que me concebeu a sabedoria e a oportunidade de estar cursando mestrado e progredindo nesta carreira.

Ao meu marido e amigo Alexandre A. de Oliveira que me motivou nos dias difíceis, as vindas aos finais de semana para analisar os dados, as leituras e correções das escritas, dicas, registros etc.. Desde já agradeço sua presença em minha vida, tanto profissional quanto pessoal, e assim, na finalização de mais uma etapa em meus estudos.

Ao meu pai Lademir Müller e a minha madrastra Vandra Paetzold e ao meu irmão e amigo Cleyton M. Müller que me incentivaram aos estudos. E a pequenina irmã Cassia Paetzold Müller que veio a este mundo propondo mais felicidades.

Aos meus tios Celia e Elio Hairrman que também fizeram parte dos momentos finais deste estudo.

Ao meu orientador Professor Dr. Adilson Beatriz, pelos ensinamentos, paciência e incentivo que tornaram a conclusão desta pesquisa de Dissertação. Aos demais professores que durante a minha pós-graduação possibilitaram transpor da melhor forma seus conhecimentos. Bem como das Prof^a. Dra. Ana Camila Micheletti e Dra. Cristiane Regina Winck Hortelan pela participação da banca e colaboração deste trabalho.

Aos meus colegas de laboratório: Daiane, Paola, Neimar, Rejane, Vinicius, Tairine, Ingrid, Ytallo, Rosane, Aline, Denilson, Felipe e demais colegas pelo incentivo e momentos peculiares que de algum modo fizeram parte da minha vida.

RESUMO

O mosquito *Aedes aegypti* é o principal vetor dos vírus da dengue, chikungunya e zica, presente na área urbana e rural, tornando-as gradualmente doenças virais endêmicas em todo o mundo. Não havendo medicamentos antivirais específicos e nem vacinas para uma possível prevenção destas doenças virais, algumas iniciativas são indispensáveis, como: eliminação dos criadouros; uso de inseticidas; dentre outros. Assim, compostos derivados de plantas têm sido propostos como novas alternativas no controle deste vetor. Devido a toxicidade e da resistência dos mosquitos aos inseticidas usados, a busca por produtos alternativos tem sido cada vez mais apostada, como no caso do extrato do cajueiro. O líquido da casca da castanha do caju (LCC) mostrou-se um eficiente agente larvicida no combate às larvas do mosquito *Ae. aegypti*. Para tanto, este trabalho propôs-se isolar os principais componentes fenólicos do LCC (ácido anacárdico, cardanol e cardol), e partir disto, preparar os surfactantes aniônicos, visando assim, identificar qual ou quais dos componentes do LCC possui melhor atividade larvicida. Os compostos fenólicos (cardanol e cardol) foram isolados do LCC-técnico utilizando uma metodologia adaptada da literatura. O ácido anacárdico foi isolado do LCC-natural utilizando métodos bem descritos na literatura. Os surfactantes dos compostos isolados foram produzidos via reação de saponificação, utilizando-se uma proporção de 80:20 de ricinoleato de sódio e do componentes fenólicos isolados, respectivamente. Foram preparados também surfactantes do LCC-natural e do LCC-técnico, na mesma proporção de 20:80. Os testes de atividade larvicida dos surfactantes produzidos foram realizados nas concentrações de 200, 150, 100, 75, 50, 25 e 5 mg L⁻¹, sobre larvas do terceiro estágio do mosquito *Ae. aegypti* (cepa Rockefeller). Os testes foram realizados em 5 réplicas, sendo estas feitas em tubos de vidros (2,5 cm X 11 cm), primeiramente, e repetidos apenas nas concentrações de 100, 50 e 5 mg L⁻¹, sendo estes realizados em copos descartáveis (180 mL). Os resultados da atividade larvicida demonstraram-se mais significativos apenas para as concentrações de 100 e 200 mg L⁻¹, realizados em tubos de vidro, levando a morte das larvas entre 80 a 100% em 96 horas, para os surfactantes do LCC-natural, cardanol e ácido anacárdico. Posteriormente, com a mudança dos recipientes (de tubos de vidro para copos descartáveis), notamos resultados um pouco mais significativos, levando a morte das larvas em cerca de 95% para os surfactantes do LCC-natural, LCC-técnico, cardanol e ácido anacárdico, e 75% para cardol, nas concentrações de 100 e 50 mg L⁻¹, para o mesmo período de 96 horas, mostrando-se todos excelentes agentes larvicida, uma vez que as larvas sobreviventes não progrediram para a fase de pupa e adulta,

Palavras-chave

Líquido da Casca da Castanha de Caju, Surfactante aniônico, Atividade larvicida.

ABSTRACT

The *Aedes aegypti* mosquito is the main vector of dengue viruses, chikungunya and zika, present in urban and rural areas, gradually becoming endemic viral diseases worldwide. In the absence of specific antiviral drugs or vaccines for a possible prevention of these viral diseases, some initiatives are indispensable, such as: elimination of breeding sites; use of insecticides; among others. Thus, compounds derived from plants have been proposed as new alternatives in the control of this vector. Due to toxicity and resistance of mosquitoes to insecticides used, the search for alternative products has been increasingly bet, as in the case of the cashew tree extract. Cashew nut shell liquid (LCC) proved to be an efficient larvicidal agent in the control of *Ae. aegypti*. The aim of this work was to isolate the main phenolic components of LCC (anacardic acid, cardanol and cardol), and from this, to prepare the anionic surfactants, in order to identify which component (s) of LCC has a better larvicidal activity. The phenolic compounds (cardanol and cardol) were isolated from the technical-LCC using a methodology adapted from the literature. Anacardic acid was isolated from natural LCC using methods well described in the literature. The surfactants of the isolated compounds were produced via the saponification reaction, using a ratio of 80:20 sodium ricinoleate and the isolated phenolic components, respectively. Surfactants of the natural LCC and the technical LCC were also prepared in the same ratio as 20:80. The larvicidal activity tests of the surfactants produced were carried out at concentrations of 200, 150, 100, 75, 50, 25 and 5 mg L⁻¹, on third-instar larvae of *Ae. aegypti* (Rockefeller strain). The tests were performed in 5 replicates, which were done in glass tubes (2.5 cm x 11 cm), first and repeated only at the concentrations of 100, 50 and 5 mg L⁻¹, which were performed in disposable cups (180 mL). The results of larvicidal activity proved to be more significant only for the concentrations of 100 and 200 mg L⁻¹, carried out in glass tubes, leading to the death of the larvae between 80 and 100% in 96 hours, for the natural LCC surfactants, cardanol and anacardic acid. Subsequently, with the change of containers (from glass tubes to disposable cups), we noticed slightly more significant results, leading to the death of the larvae in about 95% for the surfactants of LCC-natural, LCC-technical, cardanol and anacardic acid, and 75% for cardol, at concentrations of 100 and 50 mg L⁻¹, for the same 96-hour period, all of them being excellent larvicidal agents, since the surviving larvae did not progress to the pupal and adult phase.

Key words

Cashew Nut Shell Liquid, Anionic Surfactant, Larvicidal Activity.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fases larvais do mosquito.....	26
Figura 2. Estrutura dos principais constituintes fenólicos do LCC.....	31
Figura 3. Processo de descarboxilação do ácido anacárdico.....	33
Figura 4. Triacilglicerol do óleo de mamona.....	36
Figura 5. Esquema de filtração para isolamento do cardanol, utilizando como fase fixa carvão ativado.	39
Figura 6. Placa CCD dos seguintes compostos: LCC-técnico (A), Cardanol (B) e Cardol (C).....	40
Figura 7. Mistura de ácido anacárdico e placa CCD: LCC-natural (amostra A) e ácido anacárdico (amostra B).....	41
Figura 8. Surfactantes aniônicos de sais de sódio: ácido anacárdico (A), cardol (B), cardanol (C), LCC-n (D) e LCC-t (E).	42
Figura 9. Proposta de esquema para obtenção dos surfactantes: sais de sódio do cardanol (A), cardol (B), ácido anacárdico (C) e ricinoleato de sódio (D).	42
Figura 10. Mistura de cardanóis.	44
Figura 11. Mistura de cardóis.	48
Figura 12. Mistura de ácido anacárdico.	51
Figura 13. Comportamento das amostras de (A) ácido anacardico, (B) cardol, (C) LCC-natural e (D) LCC-técnico.	57
Figura 14. Frascos utilizados para realização do teste de atividade larvicida frentes	

aos surfactantes produzidos. Tubo de vidro A e copo descartável B.....	61
Figura 15. Análise termogravimétrica (TG/DTG) para surfactante anacardato de sódio, em atmosfera de ar sintético.	74
Figura 16. Análise termogravimétrica (TG/DTG) para surfactante anacardato de sódio, em atmosfera de nitrogênio.	74
Figura 17. Análise termogravimétrica (TG/DTG) para surfactante de sal de sódio do cardanol, em atmosfera de ar sintético.	75
Figura 18. Análise termogravimétrica (TG/DTG) para surfactante dos sais de sódio de cardanol, em atmosfera de nitrogênio.	75
Figura 19. Análise termogravimétrica (TG/DTG) para surfactante dos sais de sódio do cardol, em atmosfera de ar sintético.	76
Figura 20. Análise termogravimétrica (TG/DTG) para surfactante dos sais de sódio do cardol, em atmosfera de nitrogênio.	76
Figura 21. Análise termogravimétrica (TG/DTG) para surfactante dos sais de sódio do LCC-n, em atmosfera de ar sintético.	77
Figura 22. Análise termogravimétrica (TG/DTG) para surfactante dos sais de sódio do LCC-n, em atmosfera de nitrogênio.	77

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Proporções do LCC-natural e do LCC-técnico.	34
Tabela 2. Compostos presentes no óleo de mamona.	35
Tabela 3. Estabilidade térmica dos surfactantes.	58

ÍNDICE DE GRÁFICOS

- Gráfico 1. Atividade larvívica dos surfactantes na concentração de 200 mg L⁻¹, realizada em tubos de ensaio (d= 2,5 cm x 11,0 cm de comprimento). Legenda: LCCN = tensoativo do LCC natural; CDN = tensoativo do Cardanol; CDL = tensoativo do Cardol; AA = tensoativo do Ácido anacárdico.....59
- Gráfico 2. Atividade Larvívica dos surfactantes na concentração de 100 mg L⁻¹ realizada em tubos de ensaio (d= 2,5 cm x 11,0 cm de comprimento). Legenda: LCCN = tensoativo do LCC natural; CDN = tensoativo do Cardanol; CDL = tensoativo do Cardol; AA = tensoativo do Ácido anacárdico.....61
- Gráfico 3. Atividade larvívica dos surfactantes para concentração de 50 mg L⁻¹, realizada em copos plásticos. Legenda: LCCN = tensoativo do LCC natural; LCCT = tensoativo do LCC técnico; CDN = tensoativo do Cardanol; CDL = tensoativo do Cardol; AA = tensoativo do Ácido anacárdico.....62
- Gráfico 4. Atividade Larvívica dos surfactantes para concentração de 100 mg L⁻¹, realizada em copos plásticos. Legenda: LCCN = tensoativo do LCC natural; LCCT = tensoativo do LCC técnico; CDN = tensoativo do Cardanol; CDL = tensoativo do Cardol; AA = tensoativo do Ácido anacárdico.....63

ÍNDICE DE ESPECTROS

Espectro 1. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) para mistura de cardanóis.	46
Espectro 2. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) para mistura de cardanóis.	47
Espectro 3. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) para mistura de cardóis. ...	49
Espectro 4. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) para mistura de cardóis.	50
Espectro 5. Espectro de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) para mistura de ácido anacárdicos.....	53
Espectro 6. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) para mistura de ácido anacárdicos.....	55

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

OMS – Organização Mundial da Saúde

LCC – Líquido da casca da castanha de caju

CHIKV - Chikungunya

MS – Ministério da Saúde

PCND – Programa Nacional de Controle da Dengue

RMN de ^1H – Ressonância magnética nuclear de ^1H

RMN de ^{13}C - Ressonância magnética nuclear de ^{13}C

HPLC – *High performance liquid chromatography* (CLAE, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)

TG/DTG – Termogravimetria/ Termogravimetria derivada

CCD – Cromatografia camada delgada

CDCl_3 – Clorofórmio deuterado

TMS - Tetrametilsilano

δ – Deslocamento químico

J – Constante de acoplamento (Hz)

s - Simpleto

d – Dupleto

m - Multipleto

TEA- Trietilamina, Et_3N

Hex/AcOEt – Hexano/Acetato de Etila

Ca(OH)_2 – Hidróxido de cálcio

DMSO – Dimetilsulfóxido

SUMÁRIO

RESUMO.....	5
ABSTRACT	6
ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABELAS	9
ÍNDICE DE GRÁFICOS	10
ÍNDICE DE ESPECTROS	11
ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	12
1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA	18
2.1 Dengue	18
2.2 Chikungunya (CHIKV).....	20
2.3 Vírus da zica	22
2.4 Transmissão	23
2.5 Estágios do mosquito <i>Aedes aegypti</i>	24
2.5.1 Ovo:.....	25
2.5.2 Larva:	25
2.5.3 Pupa:	26

2.5.4	Adulta:.....	27
2.6	Medidas de Controle - Inseticidas Químicos.....	28
2.7	Líquido da casca da castanha do caju.....	31
2.8	Óleo de mamona.....	34
3.	Objetivos gerais.....	36
3.1	Objetivos específicos.....	36
4.	METODOLOGIA.....	36
4.1	Geral.....	36
4.2	Análise de RMN de ^1H e de ^{13}C	37
4.3	Análise HPLC.....	37
4.4	Análise termogravimétrica.....	38
4.5	Obtenção do cardanol e cardol.....	38
4.6	Obtenção do Ácido Anacárdico.....	40
4.7	Obtenção dos Surfactantes Aniônicos.....	41
4.8	Atividade larvicida.....	43
5.	Resultados e Discussão.....	43
5.1	Obtenção do cardanol e cardol.....	43
5.2	Obtenção do ácido anacárdico.....	51

6.	HPLC	56
7.	Análise térmica dos surfactantes aniônicos	58
8.	Atividade Larvicida	58
9.	Conclusões e Perspectivas	64
10.	Referências	67
11.	APÊNDICE.....	74

1. INTRODUÇÃO

Dengue, chikungunya e zica vírus são arboviroses que afetam o ser humano e são causados por vírus RNA. Atualmente estas constituem um sério problema de saúde pública no mundo, especialmente nos países tropicais, onde as condições do meio ambiente favorecem o desenvolvimento e a proliferação do *Aedes aegypti*, principal mosquito vetor. Embora existam determinados programas de vigilância e controle na erradicação do mosquito *Ae. Aegypti*, ainda há necessidade do desenvolvimento de novas estratégias que viabilizem seu combate.

Durante anos e ainda hoje, a principal ação no controle do *Ae. aegypti*, baseia-se no uso de inseticidas químicos sintéticos. Estes compostos têm a vantagem de promoverem ação rápida e eficiente no combate ao mosquito na sua fase adulta; entretanto, apresentam desvantagens como alta toxicidade para mamíferos e o meio ambiente (MARCORIS et al., 1995). Além disso, o uso frequente de inseticidas pode levar ao desenvolvimento de resistência do mosquito, comprometendo o controle e favorecendo a transmissão da doença. Uma alternativa para se evitar este problema é a utilização de produtos com diferentes modos de ação. Estes produtos atuam em mais de um processo bioquímico e/ou fisiológico, matando o inseto de diferentes maneiras (POLANCZYK et al. 2003).

Produtos naturais provenientes de plantas e os bioinseticidas poderão ser candidatos alternativos às medidas de controle pela baixa toxicidade aos mamíferos e, provavelmente, sem impacto ambiental significativo (BARRETO, 2005).

Nesse contexto, é de extrema importância a busca por novos compostos que possam atuar nas 4 fases do desenvolvimento do mosquito (ovo, larva, pupa, adulta) ou eficientemente em uma dessas fases. Larvicidas que não apresentem toxicidade para o homem e para o meio ambiente estão sendo atualmente foco de pesquisas científicas.

O líquido da casca da castanha de cajeiro (*Anarcadium occidentale* L.) e seus derivados fenólicos isolados ou em conjunto, apresentam muitos potenciais biológicos e tecnológicos (MAZZETTO et al., 2009; GUISSONI et al., 2013; HAMAD

& MUBOFU, 2015). Foram avaliadas atividades larvicidas do LCC natural e técnico e seus componentes principais isoladamente (cardol, cardanol e ácido anacárdico) contra o mosquito *Ae. aegypti* e estudos de relação estrutura-atividade revelaram diferenças significativas na atividade de larvicida contra esse mosquito. O LCC técnico apresentou valor de CL_{50} de 51 ppm ($\mu\text{g/mL}$), enquanto que cardol e cardanol isolados apresentaram valores de CL_{50} de 14,2 e 32,9 ppm, respectivamente. Portanto, provando que o cardol é o componente que responde principalmente pela atividade demonstrada pelo LCC técnico (LOMONACO et al., 2008, LOMONACO et al., 2009).

Embora os lipídios fenólicos isolados do LCC mostrem atividade larvicida, estes compostos não são hidrossolúveis. Na tentativa de resolver este problema, Farias et al. (2009) usou anacardato de sódio, isolado do LCC natural, contra larvas de *Ae. aegypti*, obtendo uma CL_{50} de 55,47 ppm. Mukhopadhyaya et al. (2010) testou o cardanol emulsionado em sabão vegetal líquido contra larvas do mesmo mosquito e calculou CL_{50} como 12 ppm e CL_{50} de 38 ppm para larvas do *Anopheles subpictus*; enquanto Raraswati et al. (2014) estudaram o efeito larvicida de uma emulsão de LCC natural com um tensoativo feito do extrato de frutos de nozes (*Sapindus rarak* DC) contra larvas de *Ae. aegypti* no estágio do 3º estágio (CL_{50} de 14,12 ppm).

Em estudos preliminares, nosso grupo de pesquisa, do Laboratório SINTMOL-UFMS (BEATRIZ et al., 2015; GALDINO & BEATRIZ, 2013) idealizou efetuar reações de saponificação com esses produtos naturais, a fim de obter sais solúveis em água, com o objetivo de desenvolver uma mistura de surfactantes de LCC natural e óleo de mamona (o qual contém principalmente ricinoleato de glicerila) em diversas proporções. Em geral, os sistemas de surfactantes mistos são mais estáveis e muitas vezes proporcionam melhor desempenho do que os surfactantes puros (HOLLAND & RUBINGH, 1992). Dessa forma, o ricinoleato de sódio foi empregado em conjunto com sais de LCC como veículo e com o objetivo de aumentar o efeito surfactante da mistura. Além disso, o óleo de mamona é de fácil

disponibilidade, baixo custo e competição não alimentar (EGID, 2016). Posteriormente, os estudos de atividade larvicida contra *Ae. aegypti* mostraram que as misturas dos surfactantes nas proporções testadas foram ativas. A atividade mais expressiva foi para o produto denominado Tensoativo do Líquido da Casca da Castanha do Caju (TaLCC-20) (LCC:óleo de mamona 20:80 massa/massa) na concentração de 0,2 ppm que matou 97% das larvas nas primeiras 24 horas, enquanto o surfactante feito de apenas óleo de mamona mostrou a menor atividade. Essa mistura apresenta uma ação larvicida eficiente e resultou em um registro de uma patente (BEATRIZ et al., 2015). Considerando estes resultados, neste trabalho propusemos isolar os 3 principais componentes do LCC - cardanol, ácido anacárdico e cardol - do LCC natural e técnico e preparar seus respectivos surfactantes associados ao ricinoleato de sódio na proporção de 20:80 (lipídeo fenólico:óleo de mamona massa/massa), com o objetivo de avaliar a atividade larvicida contra larvas de *Ae. aegypti* de cada um dos componentes do LCC e determinar qual ou quais desses componentes apresentam a atividade larvicida verificada na mistura de surfactantes TaLCC-20).

2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1 Dengue

A disseminação das doenças virais tem causado grandes problemas em todo o mundo. Os primeiros relatos da dengue no Brasil datam desde o século XIX, nos Estados do Rio de Janeiro, Bahia, Pernambuco e ao Norte do País (GUISSENI, 2011). Este por sua vez, possui quatro sorotipos infectantes, levando a uma maior dispersão da doença, manifestando-se de duas formas: dengue clássica e a hemorrágica, e podendo levar à óbitos caso não houver um tratamento adequado (BRASIL, 2015).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), anualmente, mais de 50 milhões de pessoas são infectadas, onde deste total, pelo menos 550 mil necessitam de hospitalizações e cerca de 20 mil acabam por morrer em

consequência, causando grande preocupação a população (BRASIL, 2009 e BRASIL, 2005).

A dengue é uma doença infecciosa causada pelo vírus de genoma RNA, do gênero *Flavivirus*, família *Flaviviridae* (BRASIL, 2015). O vírus da Dengue apresenta quatro sorotipos, intitulados: DEN1, DEN2, DEN3 E DEN4. Este por sua vez é transmitido pelo mosquito/vetor *Aedes aegypti* e/ou *Aedes albopictus*, sendo assim caracterizada como uma arbovirose, e presente em diversos países de climas tropicais e subtropicais (BRASIL, 2001).

No Brasil, o vírus da dengue foi referenciado desde o século XIX. Entretanto, apresentando importância epidemiológica a partir do ano de 1986, com o aparecimento de novos sorotipos em áreas já infectadas ou alterações na epidemia predominante, provocando uma rápida dispersão do vetor nos demais territórios (BRAGA e VALLE, 2007). Sendo o maior surto em 2013, com 2 milhões de casos notificados (SAIBA, 2017).

A dengue apresenta sintomas amenos, como: febre, dor de cabeça, dor nos fundos dos olhos e cansaço. Entretanto, este quadro pode vir a se agravar, afetando o sistema imunológico do paciente, levando a doenças neuro-oftalmológicas, disfunções na musculatura, sangramentos entre outros. Este quadro mais grave da doença é dita como febre hemorrágica, podendo levar a óbito. O Tipo 3 é a mais comum na região do Brasil nos últimos 15 anos, apresentando um maior quadro de agravamento do que as demais (BRASIL, 2005; VANI, 2016).

Segundo o Ministério da Saúde, na semana epidemiológica 35 (01/010/2017 a 02/09/2017) foram registrados 219.040 casos prováveis de Dengue no país. Uma taxa bem menor que encontrada no ano de 2016 (1.483.623 casos prováveis) e 2015 (1.688.688 casos prováveis). Onde, a região Nordeste apresenta a maior taxa incidente (81.477 casos, 37,2%) em relação ao total do país, seguido por Centro-Oeste (66.899 casos, 30,5%), Sudeste (47.644 casos, 21,8%), Norte (20.526 casos, 9,4%) e Sul (2.524 casos, 1,2%) (Brasil, 2017), totalizando 88 casos de óbito (BRASIL, 2017).

2.2 Chikungunya (CHIKV)

O CHIKV é um vírus RNA que pertence ao gênero *Alphavirus* da família *Togaviridae*. O nome *Chikungunya* significa “aqueles que se dobram”, que vem da palavra em Makonde, descrevendo pacientes que apresentam uma curvatura no corpo que sofrem de artralgia intensa (BRASIL, 2014).

Os primeiros relatos semelhantes ao CHIKV datam do início de 1770, apresentando sintomas como febre, exantema e artrite. No entanto, nenhum vírus ou mosquito foi isolado até o período epidêmico na Tanzânia em 1952-1953. Posteriormente, outros surtos têm ocorrido na África e na Ásia, em pequenas comunidades e comunidades rurais (BRASIL, 2014).

Após a identificação do CHIKV, demais surtos foram relatados, e uma transmissão da doença foi descrita na metade dos anos 80. Em 2004, um surto vindo da costa do Quênia, espalhou-se nas Ilhas Comoros, Reúunion e demais ilhas do Oceano Índico durante os dois anos seguintes, acarretando cerca de 500 mil casos até o verão de 2006 (BRASIL, 2014).

Posterior a isso, a epidemia propagou-se cada vez mais, atingindo a Índia, Ilhas de Andaman e Nicobar, entre outras, e numerosos países por meio de viajantes virêmicos. No ano de 2007, o CHIKV atingiu uma preocupação alarmante, quando o vírus foi encontrado, na Itália, em transmissão autóctone (de humano-para mosquito-para humano), advindo de um viajante da Índia. E apesar das taxas de epidemias terem reduzido, muitos países ainda lutam contra esta doença. Em 2010, outros casos advindos de viajantes da Indonésia, da Ilha Réunion, da Índia e do sudoeste asiático, afetaram as regiões em Taiwan, na França, nos Estados Unidos e no Brasil (BRASIL, 2014).

Em contrapartida, durante os surtos recentes do vírus mostraram que, indivíduos virêmicos encontrados no Caribe (Martinica), nos Estados Unidos e na Guiana Francesa, retornaram as regiões endêmicas do CHIKV e, portanto, não sendo evidente uma transmissão autóctone. Embora existam vetores e hospedeiros suscetíveis, que por sua vez, podem provocar um aumento nos casos de epidemia

no país, emergindo-se para novas áreas, sendo necessário novas ações da vigilância do vírus no Brasil (BRASIL, 2014).

Os dois principais mosquitos responsáveis pela transmissão do vírus são *Ae. aegypti* e o *Ae. albopictus*, sendo os humanos a grande fonte de reserva para o vírus da CHIKV em épocas de epidemia. E nos períodos interepidêmicos, os vertebrados, incluindo primatas não humanos, roedores, pássaros e outros pequenos mamíferos servem como fonte (BRASIL, 2014).

Assim como a dengue, todos os indivíduos já infectados pelo vírus da CHIKV desenvolveram uma imunidade duradoura, levando a uma menor chance de contrair novamente a doença (BRASIL, 2014).

Os mosquitos que adquirem a doença de um indivíduo virêmico (já infectado), passam por um período de incubação (média de 10 dias), e então, é capaz de transmitir novamente o vírus a um novo hospedeiro. Os primeiros sintomas são relatados após uma incubação intrínseca de 3 a 7 dias, mas nem todos podem vir a desenvolver os sintomas. Cerca de 3 a 28% das pessoas com anticorpos do CHIKV apresentam infecções assintomática. No entanto, todos os pacientes podem contribuir com a propagação da doença, podendo levar a uma doença aguda, subaguda e crônica (BRASIL, 2014).

Na fase aguda os indivíduos apresentam febre de início súbito (39°C) e dor nas articulações. Outros sintomas podem incluir dor nas costas, náuseas, erupção cutânea, mialgia, cefaleia, vômito, poliartrite e conjuntivite, durando cerca de 3-10 dias. Após este período, grande parte dos pacientes apresenta melhora na saúde e dor articular. Caso contrário, ocorre a recaída dos sinais, característicos da fase subaguda. Os sintomas são reumáticos (poliartrite distal, exacerbação da dor em articulações e ossos previamente feridos) e tenossinovite hipertrófica subaguda nos punhos e tornozelos, que duram em média de 2 a 3 meses após a infecção do vírus. Já a doença crônica é dita a sintomas que duram mais de 3 meses. E seus sintomas persistentes são a artralgia inflamatória nas articulações, decorrentes da fase aguda, o cansaço e depressão (BRASIL, 2014).

Em 2016, foram registrados 277.882 casos prováveis de febre de chikungunya. E até a semana epidemiológica 35 de 2017, segundo os dados do ministério da saúde, foram 171.930 casos prováveis notificados, sendo que 121.734 (70,8%) foram confirmados. Onde, o Nordeste é a região que apresenta um maior índice destes (130.910 casos, 76,1%), seguido por Sudeste (22.789 casos, 13,3%), Norte (14.888 casos, 8,7%), Centro-Oeste (3.081 casos, 1,8%) e Sul (262 casos, 0,2%), totalizando 99 óbitos por chikungunya já confirmados (BRASIL, 2017).

2.3 Vírus da zica

O vírus da zica é transmitido pelo mesmo mosquito responsável da dengue. Outra maneira de transmissão do vírus é de mãe para filho, por transplante de órgãos e medula óssea, via transfusão de sangue ou via sexual. Apresenta sintomas muitos semelhantes ao vírus da dengue e a chikungunya (BRASIL, 2016).

Isolado pela primeira vez em 1947, mas descrita como uma infecção humana em 1954 na Nigéria (África). Entretanto, no Brasil, a circulação do vírus autóctone foi detectada em abril de 2015, apresentando atualmente, registros da circulação do vírus nas 27 unidades da federação do Brasil (BRASIL, 2016).

A partir da confirmação de transmissão autóctone, o Brasil adotou um sistema de vigilância para o monitoramento dos casos do vírus da zica. Onde, nos primeiros meses após a implementação monitorada, não houve registro de alterações nos casos de microcefalia no país. Portanto, com as mudanças nos padrões de ocorrência de microcefalia, no final deste mesmo ano, declarou-se Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional. Passando a ser notificado casos compulsórios de síndrome de Guillain-Barré (doença aguda do vírus da zica) (BRASIL, 2016).

Seus sintomas são semelhantes ao da dengue, como exantema maculopapular pruriginoso acompanhado de dois ou mais sintomas (exemplo, febre ou hiperemia conjuntival sem secreção e prurido ou paliartralgia ou edema pariarticular), sendo mais frequentes em mulheres do que homens, em uma faixa

etária de 20 a 39 anos, apresentando a maior evidência em mulheres grávidas, onde os recém-nascidos exibindo alterações neurológicas, incluindo a microcefalia (BRASIL, 2016).

Em 2016, segundo o boletim epidemiológico (S.E. 32 – 3/1/2016 a 13/8/2016) foram registrados 196.976 mil casos prováveis de febre pelo vírus zica (taxa de 96,3 casos/100 mil hab.) no país. Destes, 132.524 mil (67,3%) são mulheres, dos quais 96.494 (72,8%) apresentavam em idade fértil e 16.264 (16,9%) em mulheres gestantes (BRASIL, 2016).

As regiões com maiores índices da doença são as regiões Centro-Oeste e Nordeste, 270,1 e 172,2 casos/100 mil hab., respectivamente. Entre as unidades federativas, Mato Grosso (925,9/100 mil hab.), Rio de Janeiro (471,0 casos/100 mil hab.) e Bahia (449,6 casos/100 mil hab.). No estado de Mato Grosso do Sul, são 1.024 casos notificados (taxa 59,1 casos/100 mil hab.) em 2016, sendo 743 casos em mulheres, onde 563 (75,8%) estavam em idade fértil e 120 (21,3%) em gestantes (BRASIL, 2016).

Embora se tenha reduzido as incidências causadas pela febre do vírus zica em algumas regiões, os cuidados devem ser retomados para que a disseminação da doença não torne uma epidemia mundial (BRASIL, 2017).

E até o início do mês de setembro de 2017 foram registrados 15.586 casos prováveis de Zika em todo o país. Embora, teve-se uma redução de 92,5% em relação ao período de 2016 (216.207, com 8 óbitos), os cuidados ainda são necessários. As regiões mais afetadas são: Centro-Oeste com 35,9 e Norte com 13,9 casos/100 mil hab., onde, destacam-se Tocantins (62 casos/100 mil hab.), Mato Grosso (59,4 casos/100 mil hab.) e Goiás (53,3 casos/100 mil hab.) (BRASIL, 2017).

2.4 Transmissão

Os arbovírus (de “arthropod borne virus”) são vírus transmitidos pelo mosquito/vetor e responsável pela disseminação das doenças virais, causados em humanos e animais. Onde das 545 espécies de arbovírus, mais de 150 estão

relacionadas às doenças em seres humanos (LOPES et al, 2014).

A transmissão ocorre pela picada do mosquito (fêmea) a uma pessoa na fase virêmica, ou seja, como vírus da dengue, chikungunya ou zica (1 dia antes até 5 dias após os primeiros sintomas). Estes vírus são localizados e multiplicados nas glândulas salivares e no aparelho digestivo do vetor, que após o período de incubação (de 8 até 12 dias) estão prontos para transmiti-los a todas as pessoas durante seu ciclo de vida (6 a 8 semanas) (BRASIL, 2007).

Os primeiros sintomas surgem após 3 a 15 dias da contração do vírus, e apresentando um período médio de incubação de 5 a 6 dias. E quando infectado pela doença, a pessoas adquirem “certa imunidade” em relação ao sorotipo já infectado. Entretanto, pode adquirir outro sorotipo em um período de 3 a 6 meses. E quando adquirido, pode o levar ao agravamento do quadro viral, podendo desenvolver uma hemorragia maior, como já mencionado (BRASIL, 2007).

Ao contrário do vírus da dengue, chikungunya ou zica, todas as pessoas podem adquirir o vírus da febre amarela, não existindo uma proteção natural, mesmo os filhos de mães imunizadas, apresentando apenas uma proteção transitória por 6 meses. E a vacina confere uma imunidade por cerca de 10 anos (99%, quando injetada no mínimo 10 dias antes da transmissão) (BRASIL, 2007).

Por se adaptar em regiões com climas tropicais e subtropicais, com grandes matas, ocupações desordenadas, condições sanitárias inadequadas etc., favorecem sua existência e, portanto, sua proliferação e adaptação, tanto em áreas urbanas, semiurbanas e rurais. Sendo, o maior foco devido ao acúmulo de água em ambientes parados nos quintais de casas e terrenos baldios. Onde são encontrados plásticos, pneus, garrafas e outros objetos que armazenam água (VANI, 2016).

2.5 Estágios do mosquito *Aedes aegypti*

O mosquito da espécie *Ae. aegypti* necessita tanto da água quanto da terra para seu desenvolvimento e reprodução. Seu ciclo de vida apresenta quatro fases: o ovo, a larva, a pupa e a fase terrestre, o mosquito (SAIBA..., 2007-2017).

2.5.1 Ovo:

A fêmea é responsável pela deposição/postura dos ovos em recipientes contendo água ou sobre a borda do recipiente próximo ao nível da água, os quais garantem seu crescimento. A procura por recipientes com água mais límpida é favorável, garantindo seu desenvolvimento e sobrevivência (BRASIL, 2001).

Os ovos medem em média de 1 mm de comprimento, apresentando contorno alongado e fusiforme. No momento da postura, os ovos são de aparência branca, mas em contato com o ar adquirem uma coloração negra brilhante. A fecundação ocorre durante a postura, e seu desenvolvimento, do embrião, em 48 horas, em condições de umidade e temperatura adequadas. Nesta fase do acasalamento, as fêmeas necessitam de sangue para a fecundação e desenvolvimento do embrião e, neste momento que ocorrem as transmissões e proliferações da doença (BRASIL, 2001).

Diferente de outras espécies, sua postura pode ocorrer em diversos locais/criadouros, quando adequados e persistentes para seu completo ciclo de vida. Após o completo desenvolvimento embrionário, estes podem resistir a longos períodos de dessecação, podendo chegar a mais de um ano. Devido sua alta capacidade de resistência a estes fatores de clima e tempo, torna-se de grande importância a sua erradicação (BRASIL, 2001).

2.5.2 Larva:

Após o contato com a água, os ovos eclodem e liberam larvas, alimentando-se de detritos orgânicos, bactérias, fungos e protozoários presentes na água. Embora prefiram água mais limpa, podem também, se desenvolverem em águas sujas, como esgotos (SAIBA..., 2007-2017).

A fase da larva é acompanhada por quatro estágios de desenvolvimento, sendo estas identificadas pelo seu tamanho (Figura 1).

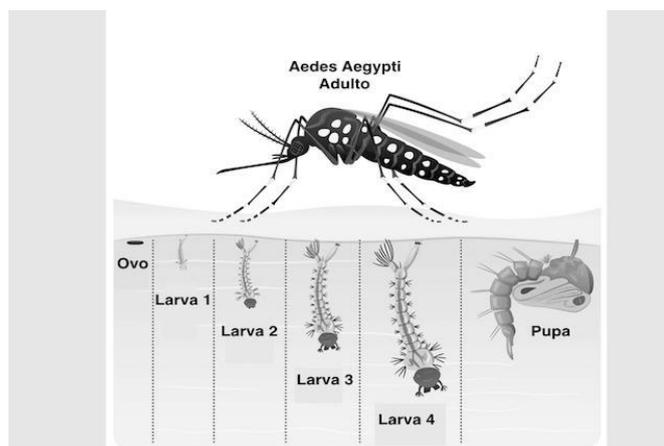


Figura 1. Fases larvais do mosquito.

Fonte:(<https://www.tuasaude.com/ciclo-de-vida-do-aedes-aegypti/>)

A duração da fase larvária pode variar de acordo com a temperatura, disponibilidade de alimento e densidade das larvas no criadouro. O período entre a eclosão e a pupação pode chegar até cinco dias. Entretanto, em condições inadequadas, temperatura e alimento, o quarto estágio da larva pode-se prolongar por varias semanas até completa pupação (BRASIL, 2001).

A larva do *Ae. aegypti* apresenta cabeça, tórax e abdômen. Seu abdômen apresenta oito segmentos, sendo estes compostos por um segmento posterior e anal do abdômen, no qual apresenta quatro brônquias lobuladas para regulação osmótica e um sifão ou tubo, facilitando sua respiração na superfície, onde se posicionam verticalmente na superfície. Movimenta-se rapidamente, como uma serpente ao fundo dos recipientes devido à movimentos bruscos na água e, sob exposição a luz, buscando refúgio (BRASIL, 2001).

2.5.3 Pupa:

Na fase pupal, elas não se alimentam. Durante este período ocorre a metamorfose, do estágio larvário a fase adulta, onde se mantém sobre a superfície da água, flutuando, facilitando sua emergência. Este período dura cerca de 2 a 3 dias (BRASIL, 2001).

A pupa é composta por um cefalotórax (junção da cabeça com o tórax) e abdômen. Quando vista de lado, sua aparência é similar a uma vírgula. Também

apresenta um par de tubos ou “trompetas”, que atravessam a água e auxiliam na respiração (BRASIL, 2001).

2.5.4 Adulta:

Ao emergir do estágio pupal, o mosquito do *Ae. aegypti* procura pousar sobre as laterais do recipiente, permanecendo durante um longo período, até total endurecimento de suas asas. Após um período de 24 horas, podem acasalar durante o vôo ou superfícies. Uma única inseminação já é o necessário para fecundar todos os ovos que a fêmea possa postular (BRASIL, 2001).

O mosquito macho se alimenta de carboidratos extraídos de vegetais. Já as fêmeas preferem sangue, o que serve de fonte de proteínas no desenvolvimento embrionário, mas podem se alimentar também da seiva de plantas (BRASIL, 2001).

No geral, a fêmea faz a postura dos ovos a cada repasto sanguíneo. Este intervalo, da alimentação e postura dura até 3 dias, sob condições adequadas. Durante suas sucessivas posturas, ela pode se alimentar mais de uma única vez, principalmente quando perturbada durante a completa ingurgitação (até quando estiver totalmente alimentada de sangue). O que de fato pode vir a acarretar em uma maior disseminação dos vírus e, conseqüentemente, ao quadro epidemiológico (BRASIL, 2001).

A ovoposição ocorre, normalmente, no fim da tarde, buscando principalmente lugares escuros ou sombreados, em superfícies mais ásperas, facilitando, assim, a deposição dos ovos. Uma fêmea pode colocar cerca de 3000 ovos (SAIBA..., 2007-2017).

A capacidade de dispersão do *Ae. aegypti* é muito pequena, ao se comparar com as demais espécies. Pois grande parte das fêmeas permanece próximo aos locais onde eclodiram, enquanto houver hospedeiros. Sua dispersão do local é vista apenas quando não encontra recipientes apropriados nas proximidades, podendo voar até 3 km. A dispersão do mosquito a grandes distâncias, provavelmente, são resultados do transporte de recipientes contendo ovos e larvas (BRASIL, 2001).

Os mosquitos buscam locais escuros e silenciosos para repousar, quando

estão à procura de fontes de alimento ou em dispersão. Em habitações, preferem pousar em mobílias, paredes, peças de roupas e mosquiteiros (BRASIL, 2001).

O ciclo de vida dos adultos dura em média de 30 a 35 dias, apresentando uma mortalidade diária de 10%, onde a metade dos mosquitos morrem durante a primeira semana de vida e 95% durante o primeiro mês (BRASIL, 2001).

Quando o mosquito *Ae. aegypti* já está infectado com vírus da dengue, chikungunya etc., a transmissão transovariana destes pode ser notável. Tal fato que em uma porcentagem variável, as filhas fêmeas de uma espécie já portadora da doença podem nascer infectadas (BRASIL, 2001; BIOLOGIA..., 2001-2006).

Embora, se tenha grandes avanços científicos na formulação de uma vacina específica, contra essas doenças infecciosas, principalmente contra a dengue, ainda não se encontra disponível para a população, devido seu alto custo. E diante da crescente proliferação destes vetores, torna-se necessário a busca por novas alternativas que visem o controle deste vetor. Uma vez que, até o presente momento o método é o uso de inseticidas/larvicidas e/ou inibidores que atuam com este intuito de proteção destes causadores endêmicos (OLIVEIRA et al., 2011).

2.6 Medidas de Controle - Inseticidas Químicos

O uso de agentes inseticidas/larvicidas sintetizados quimicamente para o combate ao vírus da dengue, chikungunya e vírus da zica garantem uma elevada eficiência, devido sua alta toxicidade (BRASIL, 2007, 2001a).

De acordo com relatório apresentado no “II Seminário Internacional para Avaliação de Ações de Controle Químico de *Aedes aegypti* no Brasil” exposto pela Secretaria de Vigilância em Saúde / MS, salientam que a busca por novas estratégias de manejo das metodologias adotadas para controle químico do *Ae. Aegypti* vem sendo adotadas, uma vez que o uso constante dos inseticidas, nos últimos 12 anos, demonstra uma população de vetores cada vez mais resistente, apresentando a necessidade de níveis cada vez maiores de inseticidas, principalmente temefós e piretróides, os quais são subsidiados pelo Programa

Nacional de Controle da Dengue (PCND) (SECRETARIA..., 2017).

O inseticida temefós (um organofosforado) é utilizado no Brasil há mais de 30 anos. E ao longo deste período, principalmente de 1999 a 2011, constatou-se uma redução de mortalidade das larvas em cerca de 92,5% do total de municípios avaliados (147), apresentando a uma taxa de mortalidade menor que 80% a uma concentração letal de 95%, e 1,4% dos municípios uma resistência incipiente. O que pode significar que atualmente isto possa ocasionar uma maior resistência, e assim, um cenário preocupante do emprego dos larvicidas/inseticidas, bem como para a sociedade e o meio ambiente (SECRETARIA..., 2017).

Embora apresentem baixa toxicidade, alguns inseticidas fosforados sofrem biotransformação (processo enzimático), onde a molécula é quebrada facilmente, por meio da hidrólise. Apesar de apresentarem uma pequena persistência ao meio ambiente, estes são tóxicos aos mamíferos. Pois competem com a acetilcolina provocando inibição irreversível da enzima acetilcolinesterase, responsável pelas transmissões nervosas. E dependendo da forma que se encontra, *malathion* ou *malaoxon*, podem apresentar alta toxicidade. Sua meia vida é curta, podendo durar de minutos a até 72 horas. Seus efeitos podem variar de pessoa a pessoa, conduzindo em diversos fatores, como: alergias, cardiopatias, câncer, doenças hepáticas e renais. Assim, o monitoramento biológico é necessário e fundamental para saúde (BRASIL, 2001a).

Os organoclorados, por sua vez, como o DDT (Diclorodifeniltricloroetano) foram proibidos para uso agrícola no Brasil, desde 1985, mas ainda são aconselhados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para controle da malária e leishmaniose. Por apresentar alto grau de permanência ao meio ambiente e contaminação da cadeia alimentar, estudos discutem esta relação, do uso do DDT e a ocorrência de câncer em homens, uma vez que, testes de laboratórios realizados em algumas espécies de ratos tem provocado o aparecimento de tumores em algumas circunstâncias. Pois os organoclorados atuam sobre o sistema nervoso, prejudicando a transmissão dos impulsos nervosos, apresentando uma meia vida de

um pouco mais de 3 anos (BRASIL, 2001a).

O modo de ação dos inseticidas piretróides é semelhante ao encontrado nos organoclorados. Porém, sua molécula é biodegradável, não causando problemas quanto a contaminação ambiental. Assim como os demais inseticidas sintéticos, já apresentam um agravante na resistência ao seu uso tanto na fabricação quanto dos vetores (BRASIL, 2001a).

Os inseticidas carbamatos apresentam mesmo fator de risco que os fosforados. A diferença que sua ação enzimática é reversível, mediante ao afastamento, sendo considerada mais segura que os fosforados. Entretanto, sua utilização é restrita devido o alto custo, sendo usada em programas específicos, como a da peste bubônica (BRASIL, 2001a).

Diante do aumento na resistência aos inseticidas relatados pela Secretaria de Vigilância em Saúde, a busca por novos métodos mais eficazes são apostadas, como por exemplo: *Bacillus thuringiensis israelenses* (**Bti**) WDG (inseticida biológico), diflubenzuron, novaluron e piriproxyfen (BRASIL, 2001a).

O diflubenzuron, novaluron e piriproxyfen são inseticidas alternativos denominados de Reguladores do Crescimento de Insetos ou *Insect Growth Regulators* (IGRs) conhecidos internacionalmente. Estes compostos atuam interferindo no desenvolvimento dos insetos, ou seja, o inseto imaturo quando em contato com um IGR, não sofrerá uma próxima etapa de crescimento. São compostos que apresentam baixa toxicidade aos mamíferos e de grande uso contra artrópodes (WHO, 2006; DELATTE et al., 2008 *apud* ESMERALDO, 2016).

O piriproxyfen é um análogo do hormônio juvenil dos insetos, denominado de juvenóides de alta estabilidade e de um período longo ao ambiente. Seu mecanismo de ação causa má formação no desenvolvimento da fase adulta, como asas, maturação dos órgãos reprodutivos e genitália externa, mantendo-o com aspecto "imaturo". Entretanto, seu uso tem pouco efeito na mortalidade das larvas, sendo mais eficiente em pupas e na formação da fase adulta (SOIN et al., 2010 *apud* ESMERALDO, 2016).

Entre estes reguladores, o mais conhecido é o diflubenzuron, sendo classificado como um inibidor da síntese da quitina, afetando a produção da camada interna do inseto, o que por sua vez impede a formação de uma nova pele, causando assim sua morte (ESMERALDO, 2016).

2.7 Líquido da casca da castanha do caju

A busca por fontes renováveis e biodegradáveis tem aumentado cada vez mais, considerando as diversas potencialidades da indústria do agronegócio do caju no Brasil tanto para produção de resinas, polímeros, pesticidas, aditivos, surfactantes e dentre outros, são de suma importância para os avanços em vários campos da pesquisa e desenvolvimento científico (KUMAR et al., 2002; MAZZETTO et al., 2009; GEDAM, 1986).

Considerando estes aspectos com as diversas atividades potenciais a serem estudadas, está o fruto do cajueiro, conhecido popularmente como castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.), pertencente à família Anacardiaceae. Seu fruto possui uma casca coriácea lisa, mesocarpo alveolado, no qual apresenta um líquido quase preto, cáustico e inflamável, chamado de líquido da casca da castanha de caju (LCC) ou *cashew nut shell liquid* (CNSL) (MAZZETTO et al., 2009), composto por ácido anacárdico, cardanol, cardol e metil-cardol (Figura 2).

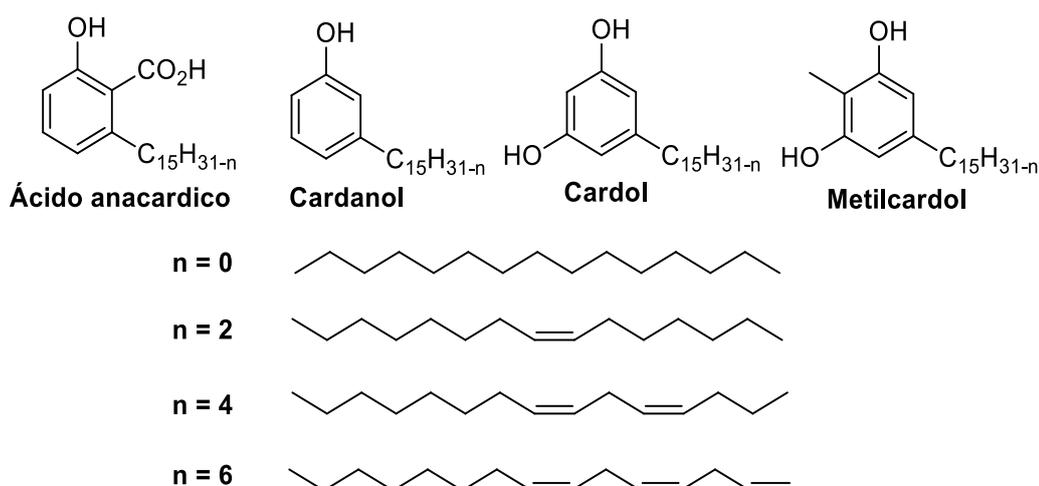


Figura 2. Estruturas químicas dos principais constituintes fenólicos do LCC.

Provindo do norte da América do Sul e parte da América Central, o cajueiro tem se adaptado a climas como às das regiões costeiras do nordeste brasileiro, com temperaturas elevadas, baixa fertilidade do solo e ao estresse hídrico (SERRANO e PESSOA, 2017).

A exploração e extrativismo do cajueiro têm sido relatados desde o ano de 1600 até os dias atuais, entretanto em uma escala mais reduzida do que das épocas anteriores, devido ao plantio desorganizado nas propriedades. E com a crescente valorização, o cajueiro começou a ser explorado pelos colonizadores, destacando-se os primeiros tratamentos culturais, como poda e limpeza, o que mais tarde se disseminou para todo o Nordeste (LIMA, 1988; apud SERRANO e PESSOA, 2017).

O grande interesse industrial pelo Líquido da Casca da Castanha de Caju (LCC) surgiu em 1943, período da 2ª Guerra Mundial. Posteriormente, o interesse passou a ser na amêndoa da castanha de caju (ACC), levando a este um grande aumento na demanda do agronegócio. Assim, em 1950, iniciou-se grandes plantios organizados de cajueiro no Nordeste, principalmente no Ceará. Sendo considerado, o cajueiro, como um dos programas de incentivo de plantio da política florestal do Governo Federal na região nordestina a partir do ano de 1983, segundo o Decreto 88.207, de 30/03/1983 (LIMA, 1988, apud SERRANO e PESSOA, 2017).

Atualmente, o plantio do cajueiro está se disseminando em diversas regiões e países, como Índia, Moçambique, Tanzânia, Quênia, Vietnã, Indonésia e Tailândia (MAZZETTO *et al.*, 2009). No Brasil, o maior produtor/indústria de beneficiamento de castanha de caju e amêndoas é o Estado do Ceará, como afirmam os dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE e Sindicato das Indústrias de Beneficiamento de Castanha de Caju e Amêndoas Vegetais do Estado do Ceará – Sindcaju, mantendo o estado como o maior produtor e exportador nacional, representando quase 50% da produção total do Brasil, seguido por Rio Grande do Norte (~22%) e Piauí (~18%). Juntos apresentam uma capacidade de processar até 360 mil toneladas/ano de castanha, cerca de 70 mil toneladas de amêndoas e 45 mil toneladas do extrato (LCC) por ano (SERRANO e PESSOA, 2017; MAZZETTO *et*

al., 2009).

O LCC representa cerca de 25% do peso da sua castanha, e embora, seja um subproduto da indústria, tem um baixo valor agregado. O líquido é rico em lipídeos fenólicos não-isoprenóides. São obtidos de diferentes maneiras: extração a frio (prensas); e a extração por solventes ou processo térmico-mecânico, onde o próprio líquido é aquecido e usado como meio para que os alquilfenóis sejam liberados da castanha porosa, permitindo a recuperação das amêndoas ou, o método de extração supercrítica com CO_2 , tendo-se um rendimento de aproximadamente 100% do produto. Entretanto, quando submetido a temperaturas elevadas ($180\text{-}200^\circ\text{C}$), o ácido anacárdico sofre uma reação de descarboxilação convertendo-se em cardanol, chamado de LCC técnico (Figura 3) (GUISSONI et al., 2013; MAZZETO et al., 2009).

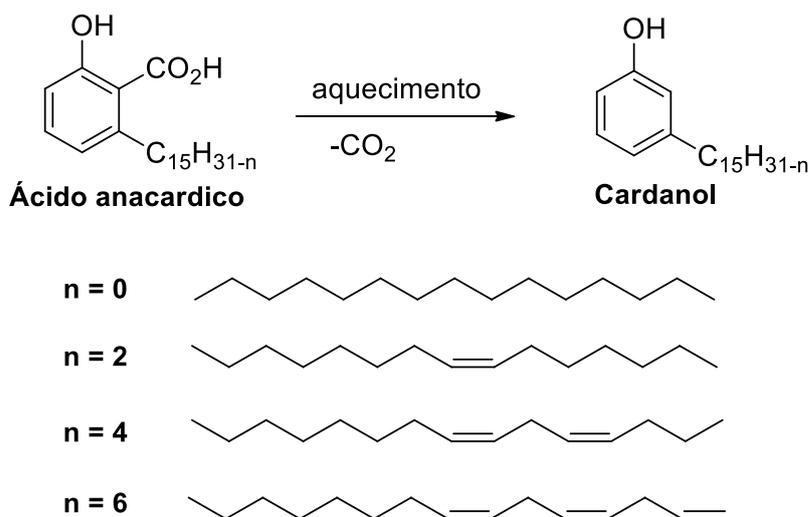


Figura 3. Processo de descarboxilização do ácido anacárdico.

Segundo Mazzetto e colaboradores (2009) as concentrações dos diferentes constituintes fenólicos são quantificadas em diferentes proporções (Tabela 1). Sendo LCC obtido via dois processos: a extração com solvente e/ou prensas, contendo principalmente ácido anacárdico, denominado LCC-natural; ou a processos térmicos, composto principalmente de cardanol, denominado LCC-técnico.

Tabela 1. Proporções do LCC-natural e do LCC-técnico.

Componentes	LCC Natural	LCC Técnico
Fenólicos	(%)	(%)
Ácido	71,70 – 82,00	1,09 – 1,75
Anacárdico		
Cardanol	1,60 – 9,20	67,82 – 94,60
Cardol	13,80 – 20,10	3,80 – 18,86
2-Metil-cardol	1,65 – 3,90	1,20 – 4,10
Componentes	2,20	3,05 – 3,98
Minoritários		
Material	----	0,34 – 21,63
Polimérico		

Fonte: (Mazzetto et al., 2009).

2.8 Óleo de mamona

O mamoeiro (*Ricinus comuns* L.) é uma oleaginosa, da família Euforbiaceae, originária da África, chegando ao Brasil no período Colonial (VENTURA, 1990 apud PAES et al., 2015). Seu principal produto é o óleo, conhecido como óleo de rícino ou *castor oil*, internacionalmente. É uma importante matéria-prima para o Brasil e no mundo, principalmente como uma alternativa para o petróleo, como o biodiesel. A aplicabilidade na indústria química abrange um amplo campo devido suas características peculiares, como: na fabricação de tintas e isolantes, lubrificantes na aeronáutica, cosméticos e drogas farmacêuticas (COSTA et al., 2004; CAMPOS e SANTOS, 2015).

O mamoeiro é constituído de cerca de 75% da semente e 25% de casca, e sua composição química altera de acordo com o seu cultivo e região. O óleo presente nas sementes varia entre 35% e 55% (COSTA et al. 2004).

Considerada uma oleaginosa de grande valor econômico, por se aproveitar em inúmeras aplicações, seu fruto é integralmente aproveitado, obtendo como produto principal o óleo, sendo este estável sobre condições de temperatura e

pressão, e como subproduto a torta, utilizada como adubo orgânico (COSTA et al., 2004).

A extração do óleo é realizada por meio da semente completa (sem descascar) ou da baga (semente descascada por máquinas). Pode ser obtida pela prensagem, a frio ou a quente, ou pela extração por solventes (SCHNEIDER, 2002).

Conhecido desde os tempos remotos por sua toxicidade, o óleo de rícino não apresenta nenhuma toxicidade, ao contrário da ricina, proteína tóxica presente nas sementes, e por não ser solúvel em lipídeos, o que por sua vez fica restrito apenas à torta (GAILLARD & PEPIN, 1999 apud TAKANO et al., 2007). Seus danos causados por injeção na corrente sanguínea levam ao aglutinamento das células vermelhas e à hemólise (SCHNEIDER, 2002).

O óleo obtido da semente de mamona é um líquido com característica espessa, muito viscoso, com uma coloração que varia de incolor à amarelo-escuro, apresentando um cheiro variado, sendo muito desagradável e podendo ocorrer náuseas (SCHNEIDER, 2002).

Seu principal constituinte é o triacilglicerol do ácido ricinoléico, denominado triricinoleína (Figura 4). O ácido ricinoléico, obtido da saponificação do óleo de mamona, é um ácido graxo incomum, apresentando 18 carbonos, uma insaturação *cis* em C₉ e uma hidroxila em C₁₂. (ACHAYA, 1964 apud SCHNEIDER, 2002). Também são encontrados outros ácidos, como: ácido esteárico (C_{18:0}), oléico (9-C_{18:1}), linoléico (9,12-C_{18:2}), linolênico (9, 12, 15-C_{18:3}), palmítico (C_{16:0}) e, de acordo com outros autores, o ácido diidroxiesteárico (9, 12 – OH C_{18:0}) (Tabela 2) (SCHNEIDER, 2002; COSTA et al., 2004).

Tabela 2. Compostos presentes no óleo de mamona.

Ácidos graxos	%
Ricinoléico	80,5
Linoléico	4,2
Oléico	3,0
Palmítico	1,0
Esteárico	1,0

9,10-Di-hidróxi-esteárico	0,7
Eicosanóico	0,3
Linolênico	0,3

Fonte: (COSTA et al., 2004).

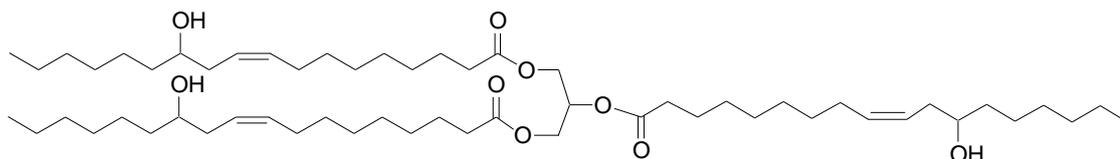


Figura 4. Triglicerídeo do ácido ricinoléico, majoritário no óleo de mamona.

3. Objetivos gerais

Preparar surfactantes (tensoativos) a partir dos componentes fenólicos isolados do LCC e avaliar suas atividades larvicidas contra o mosquito *Aedes aegypti*.

3.1 Objetivos específicos

- Analisar os constituintes fenólicos presentes no LCC natural e técnico; utilizando técnicas de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e RMN de ^1H e de ^{13}C ;
- Preparar novos agentes surfactantes aniônicos dos diferentes compostos presentes no LCC-natural e LCC-técnico, associado com óleo de mamona;
- Avaliar a atividade larvicida de cada um dos surfactantes preparados e;
- Determinar a estabilidade térmica dos surfactantes.

4. METODOLOGIA

4.1 Geral

As castanhas de caju e o LCC-técnico foram cedidos pela Indústria Química Kardol Ltda. (Campo Grande/MS).

Os solventes e reagentes usados foram de grau P.A., das marcas Vetec, Synth e Merk.

A purificação dos compostos isolados foi realizada por cromatografia em coluna, tendo como fase estacionária sílica-gel 60 (230-400 mesh, ASTM, Merck®), e com o sistema de eluente hexano:acetato de etila (v/v), em diferentes proporções. As análises acompanhadas por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando cromatofolhas de sílica-gel 60 (0,040-0,063 mm) Merck®, e reveladas em solução de vanilina sulfúrica (seguido de aquecimento), iodo ou luz ultravioleta.

Evaporação dos solventes realizados em um rotaevaporador do modelo Rotavapor® R-210 e R-215, marca Buchi.

O tratamento do LCC-técnico com Et₃N foi realizada em um balão de vidro, devidamente limpo, sob agitação magnética e temperatura ambiente. As filtrações ocorreram sobre um funil de Büchner/funil de Borosilicato com carvão ativado (fase fixa). E as frações obtidas foram acompanhadas por CCD, e então, rotaevaporadas, acondicionando-se as amostras e o solvente para posterior uso.

4.2 Análise de RMN de ¹H e de ¹³C

Os espectros de RMN de ¹H (300 MHz) e RMN de ¹³C (75 MHz) foram obtidos em um espectrômetro Bruker DPX-300 Avance com CDCl₃ como solvente e registados em ppm em relação ao padrão interno tetrametilsilano (TMS). Dados de RMN ¹H são descritos como se segue: δ, deslocamento químico e as constantes de acoplamento (J são dadas em Hertz, Hz). As abreviaturas para a multiplicidade se denotam em sinais particulares, como: s (simpleto), d (duplete), t (triplete) e m (multiplete).

Os espectros foram também manipulados utilizando software ACD/ChemSketch versão ACD/Labs 6.0.

4.3 Análise HPLC

As análises de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (High-Performance

Liquid Chromatography, HPLC) foram realizados em um aparelho do modelo Shimadzu, utilizando-se de uma coluna Supelcosil LC-18 (150 mm x 4.6 mm i.d., 5µm tamanho partícula), e fase móvel acetonitrila/água/ácido acético (80:20:1) à 1.80 mL/min; com dilutos de UV-Vis, operando em 280 nm.

Cada amostra do surfactante foi preparada dissolvendo-se 1 mg/10 mL de etanol HPLC.

4.4 Análise termogravimétrica

As curvas de análise TG/DTG foram obtidas pelo equipamento TGA Q50 (V20.13 Build 39) da TA *Instrumest*, com uma razão de aquecimento de 10°C min⁻¹, partindo da temperatura ambiente até 600°C, sob atmosfera oxidante de ar sintético e fluxo de 60 mL min⁻¹, via utilização de cadinho de platina como suporte.

4.5 Obtenção do cardanol e cardol

Para obtenção do cardanol, a reação se procedeu via metodologia adaptada da descrita por Kumar (2002), e descrita a seguir:

Inicialmente o LCC-técnico (6,68 g) foi diluído em acetona (22,27 mL) de acetona e trietilamina (2,23 g) e posta sob agitação por cerca de 15 minutos, em temperatura ambiente. Após este período, sílica gel 60 (23 g, 230-400 “mesh”, ASTM, Merck®) foi adicionado ao meio reacional, seguido da evaporação do solvente (via capela de exaustão).

Em seguida, em um funil de Büchner, sob um papel filtro foi feita a adição de 3-4 cm de altura (nivelado) de carvão ativado, condicionando-o com solvente hexano/acetato de etila (Hex/AcOEt) (10:1). Sobre este, um novo papel filtro foi adicionado, seguido da sílica impregnada com LCC-técnico. E por fim uma fina camada de algodão para que o solvente/eluente não altere o relevo da mesma (Figura 5).

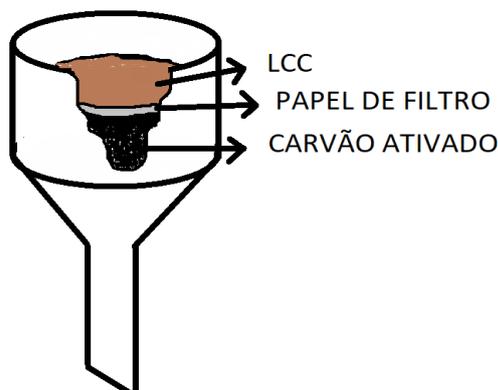


Figura 5. Esquema de filtração para isolamento do cardanol, utilizando como fase fixa carvão ativado.

Para filtração, foram utilizados porções de 100-150 mL de eluente Hex/AcOEt na proporção de 10:1, 5:1, 3:1, 2:1, 1:1 e acetato puro, monitorando-se com placa de CCD periodicamente as frações, e para revelação das placas utilizou-se o eluente Hex/AcOEt (5:1), e vanilina sulfúrica como revelador. Ao término, adicionou-se etanol acidificado (100 ml + 2 mL de ácido sulfúrico concentrado) para remoção de materiais retidos na sílica. As frações isoladas do filtrado obtido foram identificadas e o solvente removido em evaporador rotativo. Apresentando um rendimento de 49,7% para amostra de cardanol (Figura 6), sendo esta encaminhada para as análises de RMN de ^1H e de ^{13}C e HPLC (Figura 9).

Entretanto, para o isolamento do cardol, por meio deste procedimento, via funil, não se teve êxito total, pois as amostras de cardol mostraram-se impuras, apresentando traços de cardanol residual. Sendo assim, este produto foi obtido pelo procedimento descrito por Kumar (2002), que consiste na reação do LCC-t em metanol com solução aquosa de hidróxido de amônio 25%. Onde, o cardanol é extraído com hexano da fase metanólica. Após remoção de todo o cardanol da fase metanol-amônia, a mistura remanescente foi neutralizada com HCl 5%, seguido da adição de carvão ativado. Após, a solução resultante é filtrada em celite e seco com sulfato de magnésio anidro. Apresentando um rendimento de 30,25 % de cardol (Figura 6). O cardol foi encaminhado para as análises de RMN de ^1H e de ^{13}C e HPLC.



Figura 6. Placa CCD dos seguintes compostos: LCC-técnico (A), Cardanol (B) e Cardol (C).

4.6 Obtenção do Ácido Anacárdico

O LCC-natural foi obtido via extração em Soxhlet, utilizando como solvente etanol. Para tanto, pesou-se 27,3307g da casca da castanha de caju parcialmente triturada, acondicionando-a no aparato. O processo realizou-se por cerca de 9 horas, obtendo 9,7588 gramas de LCC-natural, aproximadamente 35,71% de rendimento.

Como mencionado anteriormente, o composto majoritário do LCC-natural é o ácido anacárdico. E para seu isolamento dos demais compostos presentes no meio, foram realizados as seguintes etapas, conforme algumas adaptações da metodologia proposta por Paramashivappa e colaboradores (2001):

O LCC-natural foi dissolvido em uma solução aquosa de etanol 50%. Em constante agitação, adicionou-se lentamente hidróxido de cálcio (~5 g), $\text{Ca}(\text{OH})_2$, até obter uma solução com $\text{pH}=10-12$ e total precipitação do anacardato de cálcio, por um período de 23 horas e estabilização do pH . Após a solução resultante foi filtrada e o sólido lavado com hexano (~450 mL), acetato de etila (~300 mL) e etanol (~60 mL), respectivamente, para totais remoções de resíduos de cardanol, cardol, 2-metil-cardol e materiais poliméricos presentes ao meio, acompanhado por placa CCD, resultando apenas na presença do anacardato de cálcio, sólido marrom de 18,4641g. Posteriormente, o sólido foi dissolvido em acetato de etila (~380 mL) e adição de HCl concentrado até obtenção de um $\text{pH}=1-3$. A solução foi mantida sob agitação constante durante 6 horas e estabilização do pH .

A solução resultante é transferida para um funil de separação, juntamente com acetato de etila e água destilada. A fração contendo a mistura de ácido anacárdico é isolada e seca com sulfato de sódio anidro, seguido da concentração em um rotoevaporador, apresentando uma massa de 3,1888 g de ácido anacárdico (rendimento de 50,27%), sendo esta acompanhada via placa CCD (Figura 7), e então, encaminhada para as análises de RMN de ^1H e de ^{13}C e HPLC.

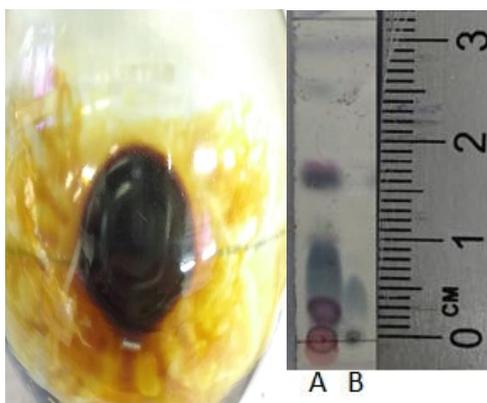


Figura 7. Mistura de ácido anacárdico e placa CCD: LCC-natural (amostra A) e ácido anacárdico (amostra B).

4.7 Obtenção dos Surfactantes Aniônicos

Os surfactantes aniônicos foram produzidos via reação de saponificação para produção de sabões a partir de óleos vegetais e hidróxido de sódio (NaOH), tendo como base as proporções determinadas pela reação base a seguir.

Aproximadamente 33,0 mL de uma solução aquosa de hidróxido de sódio (12,6 g de NaOH) foi adicionada lentamente e sobre constante agitação, à uma solução etanólica (66,0 mL de etanol) composta de 20,0 g do composto isolado (cardanol, cardol, ácido anacárdico, LCC-n ou LCC-t) e 80,0 g de óleo de mamona. A solução resultante foi agitada por 15 minutos. Posteriormente, a mesma foi mantida sob repouso e sob proteção de luz até total solidificação, que ocorreu em cerca de 5 dias, obtendo assim os surfactantes do LCC-técnico, LCC-natural, cardanol, cardol e ácido anacárdico (Figura 8).

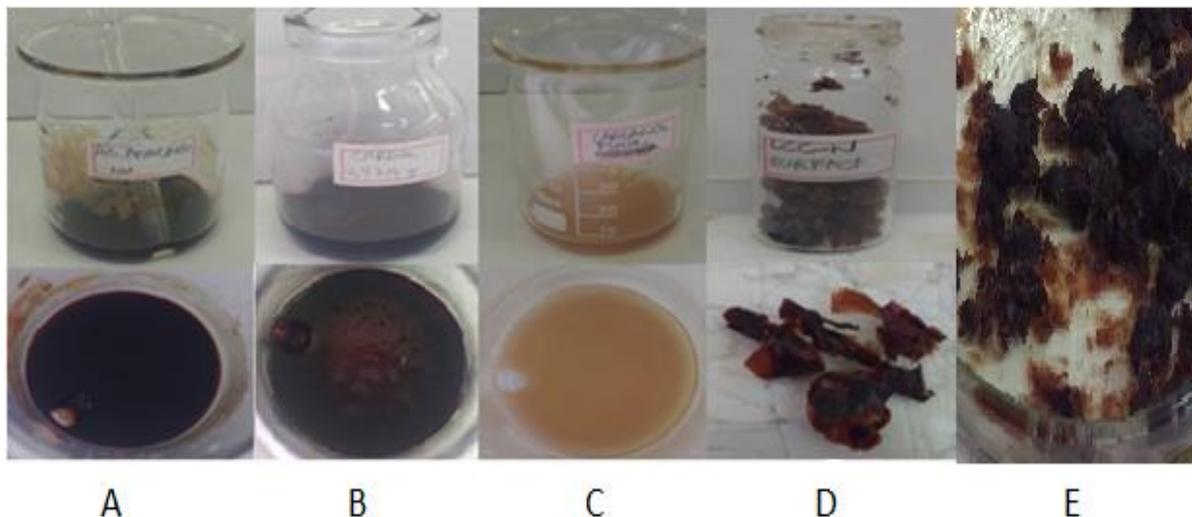


Figura 8. Surfactantes aniônicos de sais de sódio: ácido anacárdico (A), cardol (B), cardanol (C), LCC-n (D) e LCC-t (E).

O esquema da proposta de reação de saponificação dos componentes (cardanol, cardol, ácido anacárdico, LCC-n e LCC-t) são demonstrados abaixo (Figura 9).

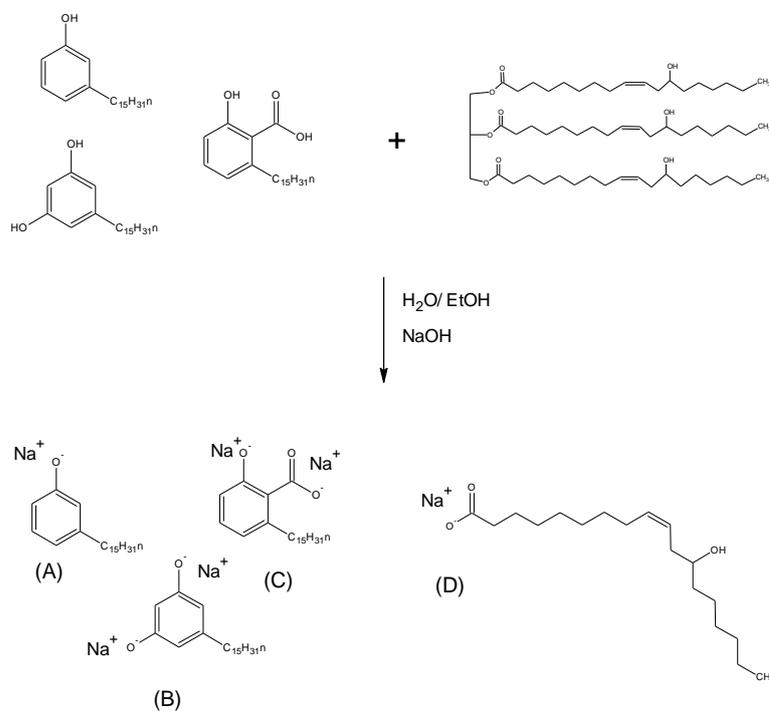


Figura 9. Proposta de esquema para obtenção dos surfactantes: sais de sódio do cardanol (A), cardol (B), ácido anacárdico (C) e ricinoleato de sódio (D).

4.8 Atividade larvicida

Os bioensaios foram realizados com larvas do 3º estágio do *Ae. Aegypti* (cepa: Ae-Rockefeller). Sendo os ovos cedidos pelo professor Dr. Antônio Pancrácio, do Instituto de Biociências da UFMS.

Para obtenção das larvas, os ovos foram colocados em um recipiente contendo um volume acima de 1 mL de água destilada por ovo e adição de ração de peixe. Posteriormente, o frasco contendo os ovos e ração, foi incubado para seu desenvolvimento, mantendo-as em uma temperatura de 27°C. Após o período de eclosão das larvas (três a cinco dias ou total crescimento das larvas até estágio 3), estas são postas para os testes de atividade larvicida. Assim, com auxílio de uma pipeta de Pasteur de polietileno, 20 larvas foram transferidas para um frasco de vidro (30 mL) e copo plástico descartável (180 mL), contendo cerca de 25-30 mL da solução teste (surfactantes produzidos), tendo água destilada como solvente.

Os testes foram subdivididos em 5 replicatas a cada solução dos surfactantes preparados, onde temos: controle negativo – contendo apenas água destilada; surfactante aniônico do LCC-natural; LCC-técnico; ácido anacárdico; cardanol e cardol; todos nas concentrações de 200, 150, 100, 75, 50 e 25 (mg L⁻¹). A leitura dos resultados foi realizada após 24, 48, 72 e 96 horas, de acordo com a WHO - World Health Organization (2005).

5. Resultados e Discussão

5.1 Obtenção do cardanol e cardol

As amostras isoladas de cardanol e cardol foram analisadas por RMN de ¹H e os valores de deslocamentos químicos foram comparados com os relatados na literatura.

A seguir, apresentamos uma discussão desses dados, para cardanol (Figura 10) e cardol (Figura 11):

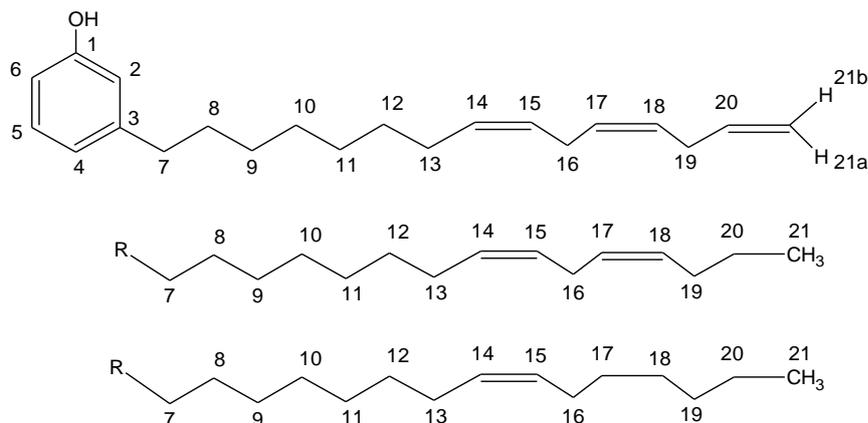


Figura 10. Cardanol.

De acordo com o espectro de RMN de ^1H para a amostra da mistura de cardanóis (Espectro 1), temos três sinais característicos do anel aromático, sendo um tripleto em 7.12 ppm referente ao hidrogênio *meta* em relação a hidroxila do anel aromático, um duplete em 6.73 ppm referente a H6, e dois sinais em 6.61 e 6.62 ppm referentes a H2 e H4, respectivamente. Em seguida temos um multiplete em 5.80 ppm referente ao hidrogênio olefínico da cadeia alquílica H20, seguido dos hidrogênios olefínicos H14, H15, H17 e H18 em 5.27-5.46 ppm e do grupo metileno em 5.06-5.00 ppm e 4.98-4.95 ppm (H21a e H21b, respectivamente).

O sinal em 2.80 ppm é referente aos hidrogênios metilênicos H16 e H19, seguido de um tripleto largo em 2.53 ppm dos hidrogênios benzílicos (H7) e de um multiplete em 2.00 ppm referente H13 da cadeia alquílica. Após, temos um multiplete em 1.58 ppm referente aos hidrogênios H8 e H9, seguido dos hidrogênios H10, H11 e H12 em 1.30 ppm, e de um tripleto em 0.88 ppm referente a H21 dos mono e dienos.

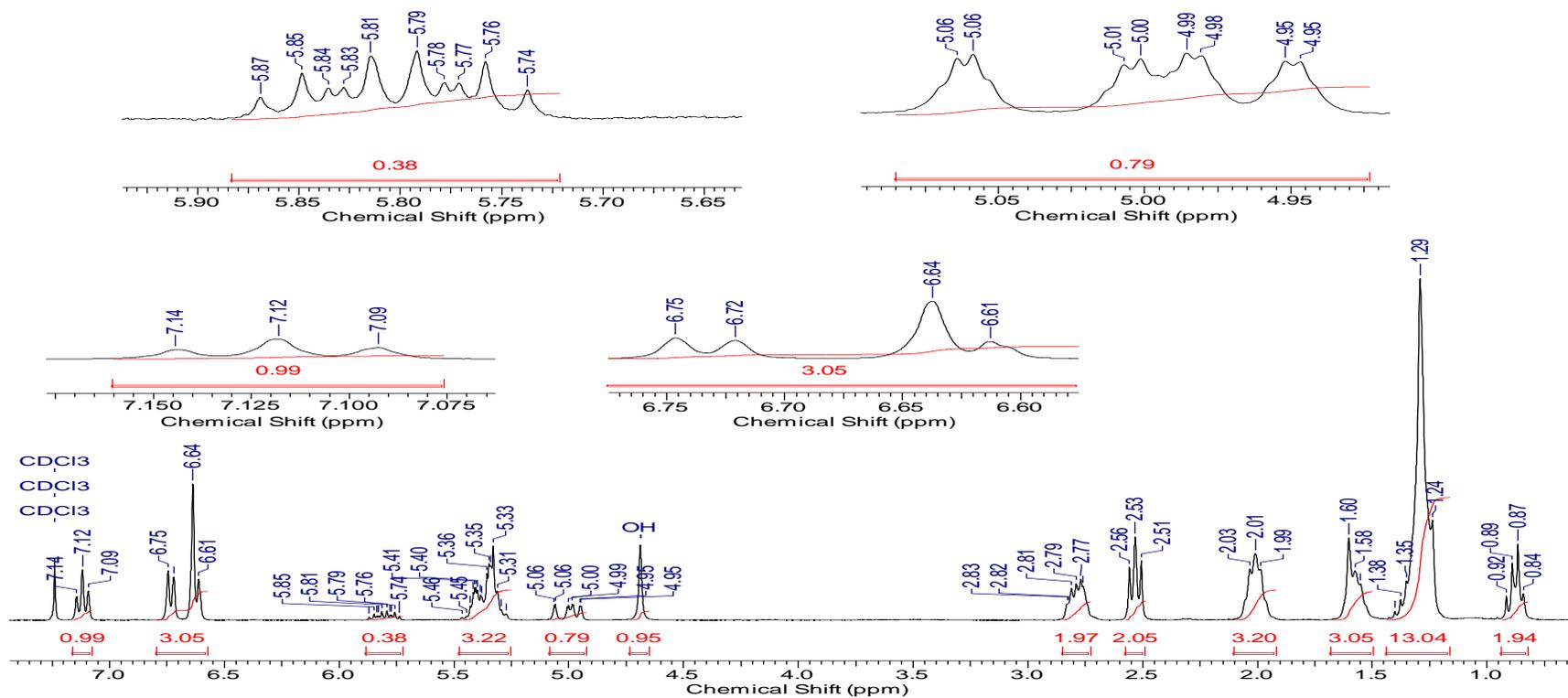
De acordo com o espectro de RMN de ^{13}C do cardanol (Espectro 2), foi observado a presença de quatro sinais mais intensos característicos do carbono do anel aromático, sendo o sinal em 129,34 ppm do carbono ligado ao hidrogênio do anel aromático da posição 5 ou *meta* em relação a hidroxila, seguido pelos sinais em 120,79 ppm do carbono *para* em relação a hidroxila, em 115,35 ppm do carbono *orto* da posição 2 e em 112,52 ppm do carbono *orto* da posição 6 do anel aromático.

Posteriormente, temos um sinal em 155,61 ppm referente ao carbono ligado ao grupo hidroxila da posição 1 do anel aromático, outro em 144,86 ppm referente ao carbono ligado ao grupo alquila, da posição 3 do anel aromático, e em 136,84 ppm proveniente do carbono olefínico da posição 20.

Os sinais observados da região de 126 a 131 ppm são provenientes das olefinas, sendo estes: em 126,83 ppm do carbono da posição 18; em 127,60 do carbono da posição 15; em 130,41 do carbono da posição 14 e em 129,34 ppm do carbono da posição 17 que está sobreposto ao sinal do carbono *meta* do anel aromático. Os sinais em 130,15, 129,97, 129,85, 128,17 e 128,01 ppm são provenientes dos carbonos olefínicos da mistura de monoeno e dieno.

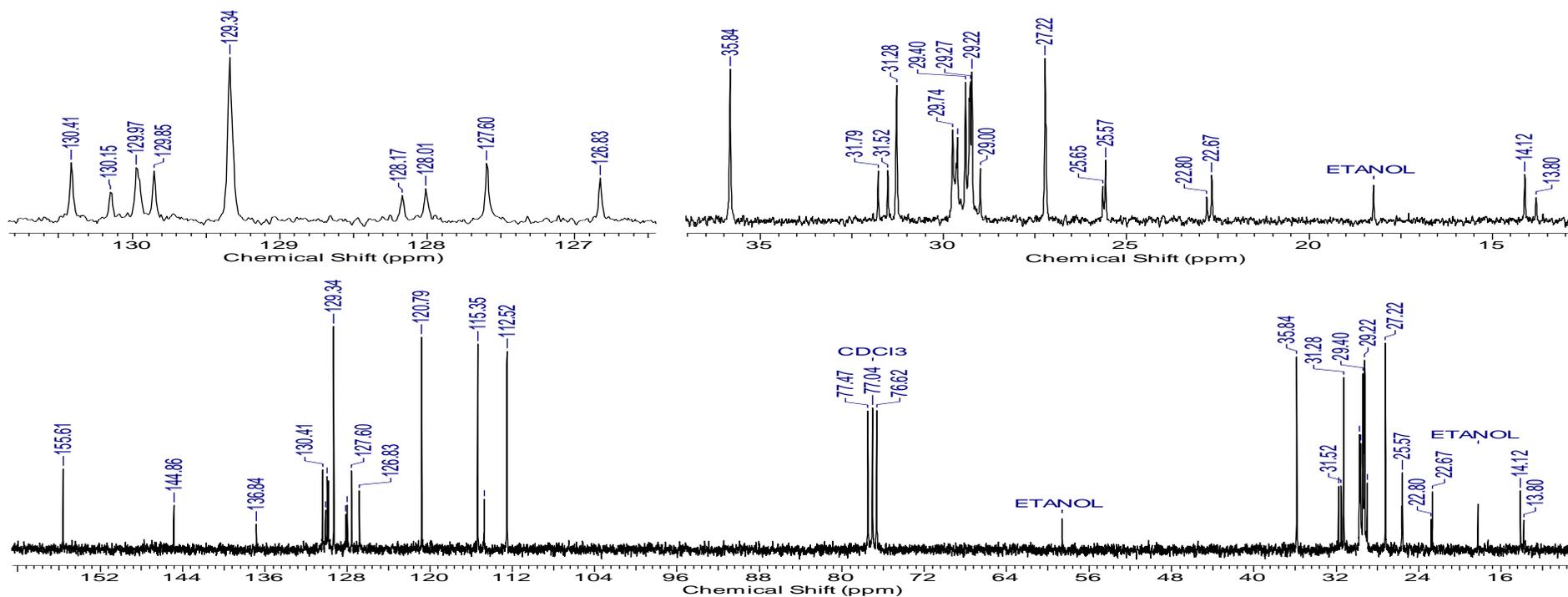
Posteriormente, temos em 35,84 ppm o sinal do carbono CH₂ ligado ao anel aromático da posição 7, em 31,79 ppm do carbono da posição 8, em 31,28 ppm e 31,52 ppm do carbono da posição 19 da mistura de cardanóis, em 27,22 ppm do carbono da posição 13, em 25,65 e 25,57 ppm do carbono da posição 16 da mistura de cardanóis trieno e dieno, seguido dos sinais em 22,80 e 22,67 ppm e 14,12 e 13,80 ppm da mistura de cardanóis monoeno e dieno dos carbonos da posição 20 e 21, respectivamente. Os demais sinais de 29,00 a 29,74 ppm são referentes aos carbonos das posições 9, 10, 11 e 12 da cadeia lateral.

Acquisition Time (sec)	6.8420	Comment	1H- CDCl3 CM-CDN12-AB- CLEVERTON		
Date	05 Jul 2017 18:09:52				
File Name	C:\Users\maninho\Desktop\MESTRADO UFMS\artigos projeto LCC\RMN\CM-CDN12_001001r				
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8
Original Points Count	32768	Points Count	65536	Pulse Sequence	zg
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	4789.27	Temperature (degree C)	27.000



Espectro 1. Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) do cardanol..

Acquisition Time (sec)	0.8700	Comment	13C- CDCl3- CM- CDN 12- ADILSON- CLEVERTON
Date	29 Jul 2017 10:22:24		
File Name	C:\Users\maninho\Desktop\MESTRADO UFMS\artigos projeto LCC\RMN\CLEVERTON MULLER- 29-07-2017\CM- CDN 12_003001r		
Frequency (MHz)	75.47	Nucleus	13C
Number of Transients	589	Original Points Count	16384
Points Count	32768	Pulse Sequence	zgig30
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39
Temperature (degree C)	27.000		



Espectro 2. Espectro de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) para mistura de cardanóis.

De acordo com o espectro de RMN de ^1H para o cardol (Espectro 3) temos a presença de dois sinais característicos da região aromática, sendo estes em 6,16 ppm referente a H4 e H2, e em 6,10 ppm referente a H6 do anel aromático, confirmando assim, um anel aromático tri substituído e simétrico.

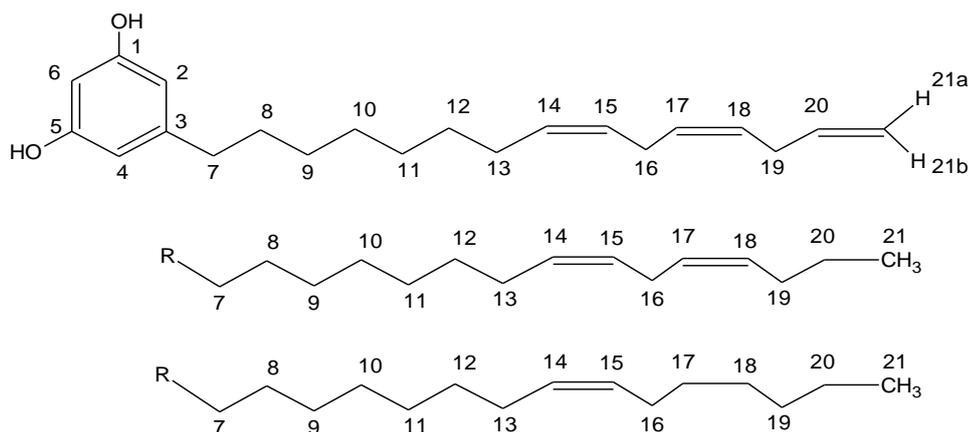
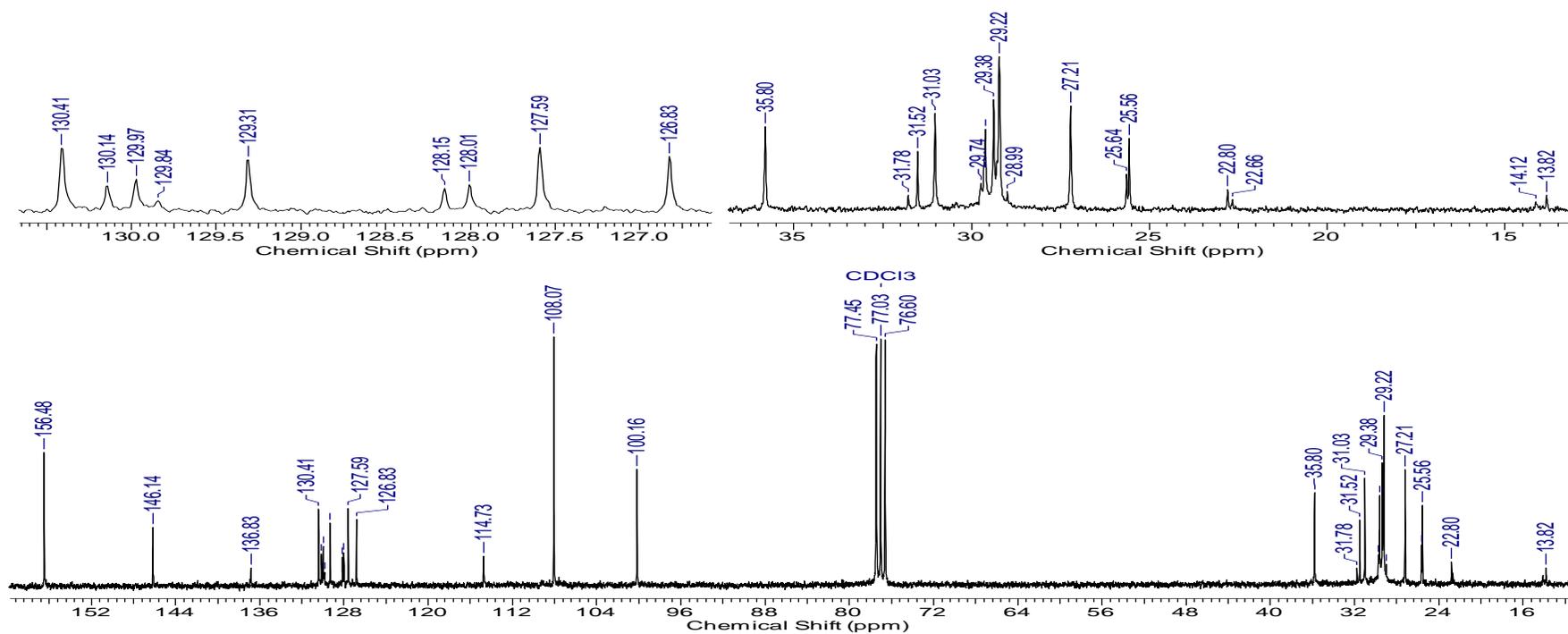


Figura 11. Cardol.

Em seguida, temos um multipeto na região de 5,75 ppm referente a H20 e sinais sobrepostos na região de ~ 5,20 a 5,36 ppm referente aos hidrogênios olefínicos H14, H15, H17 e H18. Posteriormente, temos um multipeto no intervalo de 5,01 à 4,94 ppm, referente ao hidrogênio 21b da olefina terminal, e os outros dois sinais, de 4,93 a 4,89 ppm, referente ao hidrogênio H21a. Em 2,76 – 2,79 ppm temos um multipeto característico dos hidrogênios metilênicos entre as insaturações da cadeia alquímica, das posições 16 e 19, seguido de um tripleto em 2,39 ppm, característico de hidrogênios benzílicos (H7) e outro multipeto em 1,95 ppm dos hidrogênios H13. Por fim, temos um multipeto em 1,48 ppm referente aos hidrogênios metilênicos H8 e H9, seguido dos sinais de H10, H11 e H12 em 1,22 ppm. Além do sinal do grupo metila em 0,83 ppm da mistura de cardóis monoeno e dieno.

Acquisition Time (sec)	0.8700	Comment	13C- CDCl3- CM-CDL10B- AB- CLEVERTON
Date	19 Jul 2017 17:04:26		
File Name	C:\Users\maninho\Desktop\MESTRADO UFMS\artigos_projeto LCC\RMN\CM-CDL10B_003001r		
Frequency (MHz)	75.47	Nucleus	13C
Number of Transients	4369	Original Points Count	16384
Points Count	32768	Pulse Sequence	zgig30
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39
Temperature (degree C)	27.000		



Espectro 4. Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) para mistura de cardóis.

Para RMN de ^{13}C do cardol (Espectro 4), foi notável primeiramente a presença de dois sinais na região aromática, o que se esperava para a amostra de cardol, sendo um sinal em 108,07 ppm referente aos carbonos do anel aromático da posição 2 e 4, e outro em 100,16 ppm do carbono do anel aromático da posição 6. Os demais sinais analisados no espectro são semelhantes ao já descritos para o cardanol. Entretanto, seus deslocamentos químicos podem apresentar pequenas variações, uma vez que são estruturas muito semelhantes variando apenas em grupos funcionais, como a presença de mais uma hidroxila na posição 5 do anel aromático.

5.2 Obtenção do ácido anacárdico

O ácido anacárdico isolado foi caracterizado via RMN de ^1H e de ^{13}C , sendo apresentado a seguir conforme a estrutura apresentada abaixo (Figura 12).

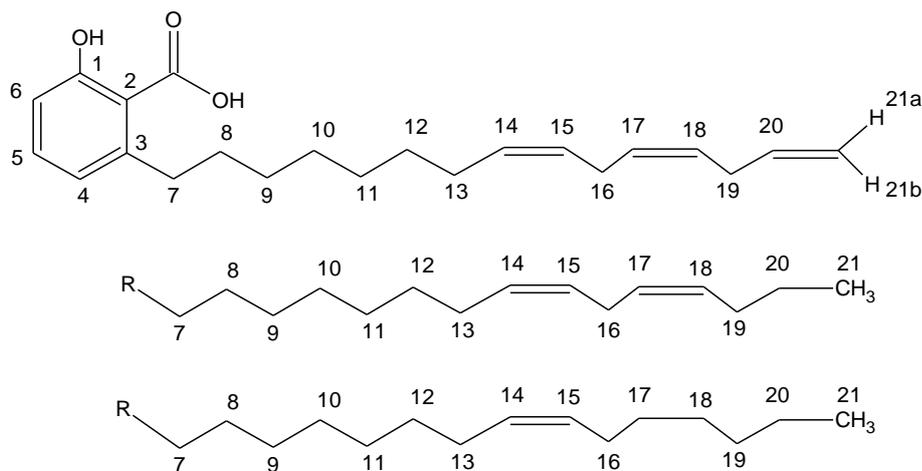


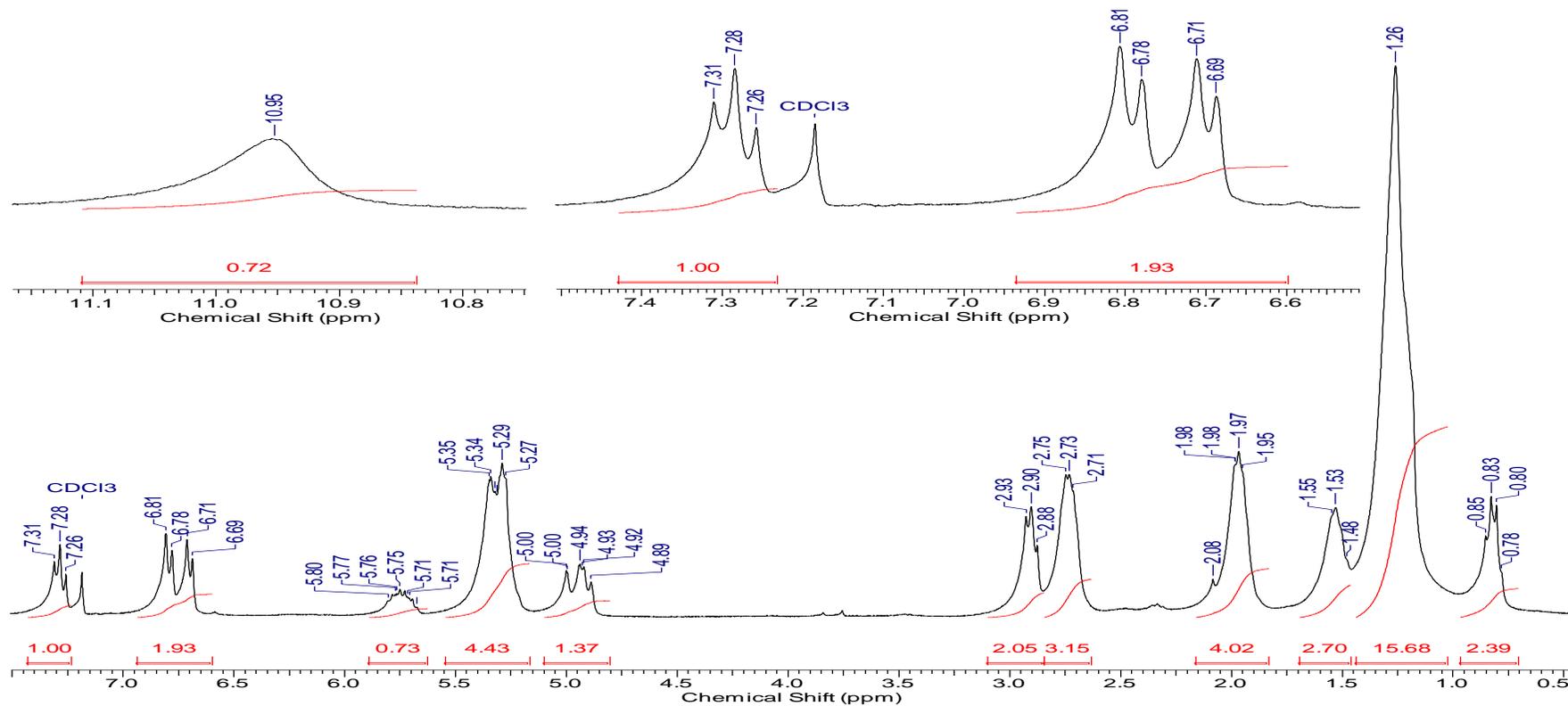
Figura 12. Mistura de ácido anacárdico.

De acordo com o espectro de RMN de ^1H para a mistura de ácido anacárdico (Espectro 5), observamos os sinais no espectro muito semelhante ao cardanol. Entretanto, o que diferencia uma da outra é a presença de um grupo funcional ácido na posição 2 do anel aromático, sendo o δ 10,95 ppm atribuído ao hidrogênio da carboxila.

Após, temos três sinais na região aromática, bem como esperado para a

estrutura do ácido anacárdico, sendo estes: um tripleto em 7,28 ppm referente a H5 e dois dupletos em 6,80 e 6,70 ppm, atribuídos a H6 e H4, respectivamente. Na sequência temos os demais sinais multipletos semelhantes aos já discutidos na mistura de cardanóis. Em torno de 5,75 ppm, temos um multipletos para H20, seguido pelos sinais atribuídos a H14, H15, H17 e H18 na região em torno de 5,30 ppm. Os multipletos em 4,89 a 4,93 ppm e 4,94 a 5,00 ppm foram atribuídos para H21a e H21b, respectivamente. O tripleto em 2,90 ppm foi atribuído a H7. Os sinais para H16 e H19 estão sobrepostos em torno de 2,7 ppm. H13 aparece como um multipletos em 1,97 ppm.

Acquisition Time (sec)	6.8420	Comment	1H- CDCl3- CM-AA13-AB- CLEVERTON		
Date	05 Jul 2017 17:47:10				
File Name	C:\Users\maninho\Desktop\MESTRADO UFMS\artigos projeto LCC\RMN\CM-AA13_001001r				
Frequency (MHz)	300.13	Nucleus	1H	Number of Transients	8
Original Points Count	32768	Points Count	65536	Pulse Sequence	zg
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	4789.27	Temperature (degree C)	27.000



Espectro 5. Espectro de RMN de ¹H (300 MHz, CDCl₃) para mistura de ácido anacárdicos.

Para o espectro de RMN de ^{13}C da mistura de ácido anacárdico (Espectro 6), temos um sinal em 174,48 ppm característico do carbono da carbonila do grupo funcional ácido, um sinal em 163,43 ppm do carbono do anel aromático ligado ao grupo hidroxila, um sinal em 147,33 ppm do carbono do anel ligado a cadeia alquilar e um sinal em 110,91 ppm do carbono do anel ligado ao grupo ácido carboxílico. Na sequência temos três sinais mais intensos, provenientes da região aromática, sendo eles: em 134,79 do carbono ligado ao hidrogênio do anel da posição 5, em 122,49 ppm do carbono da posição 4 e em 115,65 ppm do carbono da posição 6.

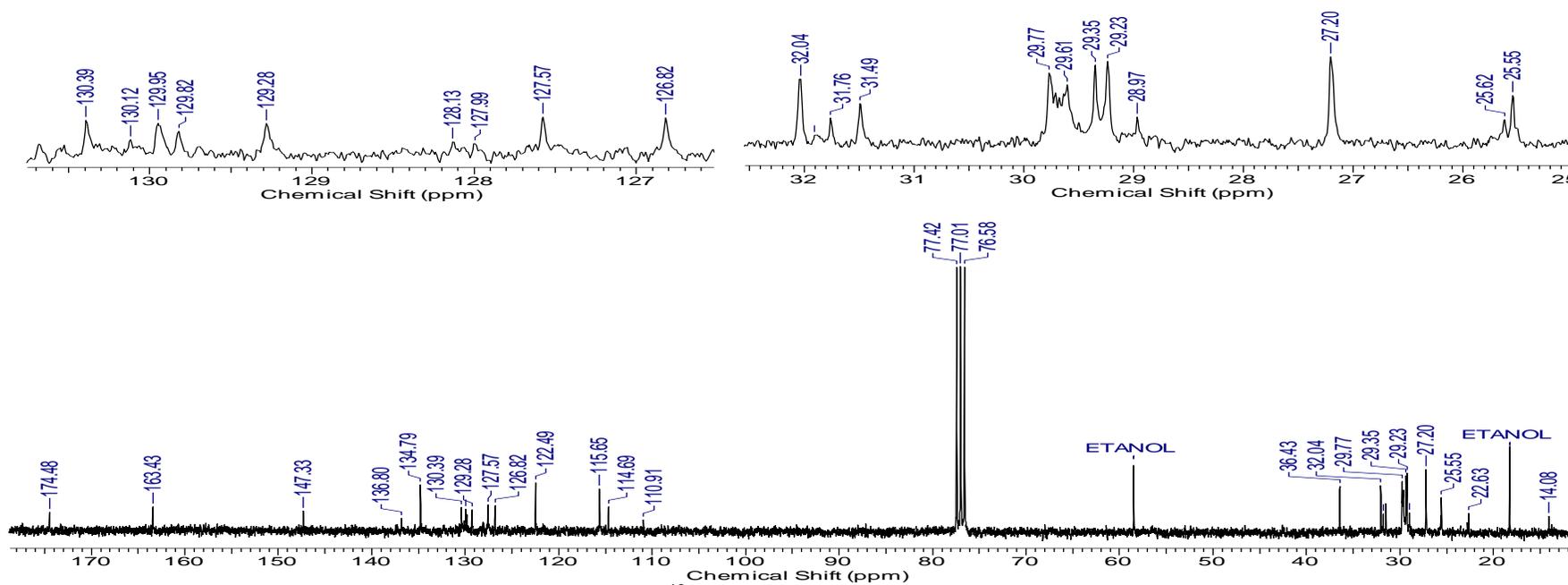
Nesta mesma região de 110 a 140 ppm temos os demais sinais provenientes dos carbonos olefínicos da cadeia carbônica, onde em 136,80 ppm o sinal corresponde ao carbono olefínico da posição 20, em 114,69 ppm do carbono terminal da posição 21, seguido pelos carbonos das posições 14, 15, 17 e 18 em 130,39, 127,57, 129,28 e 126,82 ppm, respectivamente. Os sinais em 130,12, 128,13, 127,99, 129,95 e 129,82 ppm são provenientes dos carbonos olefínicos da mistura de ácido anacárdico monoeno e dieno.

Após, na região de 10 a 40 ppm, os sinais são provenientes dos seguinte carbonos: em 36,43 ppm do carbono metilênico ligado ao anel aromático da posição 7, em 31,49 do carbono da posição 8, em 32,04 e 31,76 ppm proveniente da mistura de ácido anacárdico monoeno e trieno da posição 19, seguido pelos carbonos das posições 9, 10, 11 e 12 em 29,35, 28,97, 29,23 e 29,61-29,77 ppm, respectivamente.

Posteriormente, temos um sinal em 27,20 ppm para carbono da posição 13, dois sinais em 25,62 e 25,55 ppm referente ao carbono da posição 16 da mistura de trieno e dieno e, dois sinais em 14,08 e 22,63 ppm dos carbonos das posições 21 e 20 da mistura de monoenos e dienos.

Assim, com base nos dados discutidos de RMN de ^1H e ^{13}C para as amostras do cardanol, cardol e ácido anacárdico, pode-se ressaltar que os dados são condizentes aos deslocamentos tabelados e encontrados por outros autores, como França e colaboradores (2016) e Paiva e colaboradores (2016).

Acquisition Time (sec)	0.8700	Comment	13C- CDCl3- CM- AA13- ADILSON- CLEVERTON
Date	29 Jul 2017 11:41:54		
File Name	C:\Users\maninho\Desktop\MESTRADO UFMS\artigos projeto LCC\RMN\CLEVERTON MULLER- 29-07-2017\CM-AA13_003001r		
Frequency (MHz)	75.47	Nucleus	13C
Number of Transients	1424	Original Points Count	16384
Points Count	32768	Pulse Sequence	zgig30
Solvent	CHLOROFORM-D	Sweep Width (Hz)	18832.39
Temperature (degree C)	27.000		



Espectro 6. Espectro de RMN de ¹³C (75 MHz, CDCl₃) para mistura de ácido anacárdicos.

6. HPLC

A confirmação da separação dos compostos fenólicos presentes no LCC (cardanol, cardol e ácido anacárdico) foi também confirmada por HPLC (Figura 13), apresentando, cada um deles, um perfil cromatográfico semelhante aos relatados por Kumar (2002) e Gandhi e colaboradores (2013).

Para tanto, procederam-se das análises das amostras de LCC-técnico e LCC-natural, uma vez que ambos possuem concentrações distintas dos compostos fenólicos.

Segundo os resultados obtidos, temos que a amostra de LCC-técnico (cromatograma D da Figura 13) é composta principalmente de cardanol e cardol, sendo assim identificadas seus sinais como 1, 2 e 3 provenientes da mistura de cardanóis e 4, 5 e 6 da mistura de cardóis. E o LCC-técnico (cromatograma C), apresentando o ácido anacárdico como seu componente majoritário, foi identificado com as numerações 7, 8, 9 e 10.

Assim, com base nestes padrões de identificação e os dados relatados pelos autores acima, conclui-se que a mistura de cardóis (cromatograma B) analisada, nos mostrou três sinais com tempos de retenções distintas, sendo estas provenientes da mistura de cardóis trienos, dienos e monoenos, e identificadas como 4, 5 e 6, resultando em seu total isolamento e purificação.

O mesmo foi observado para a mistura do ácido anacárdico (cromatograma A), onde os resultados mostraram-se semelhantes aos relatados pelos autores, e assim, sua completa purificação e isolamento dos demais compostos fenólicos presentes no LCC-natural.

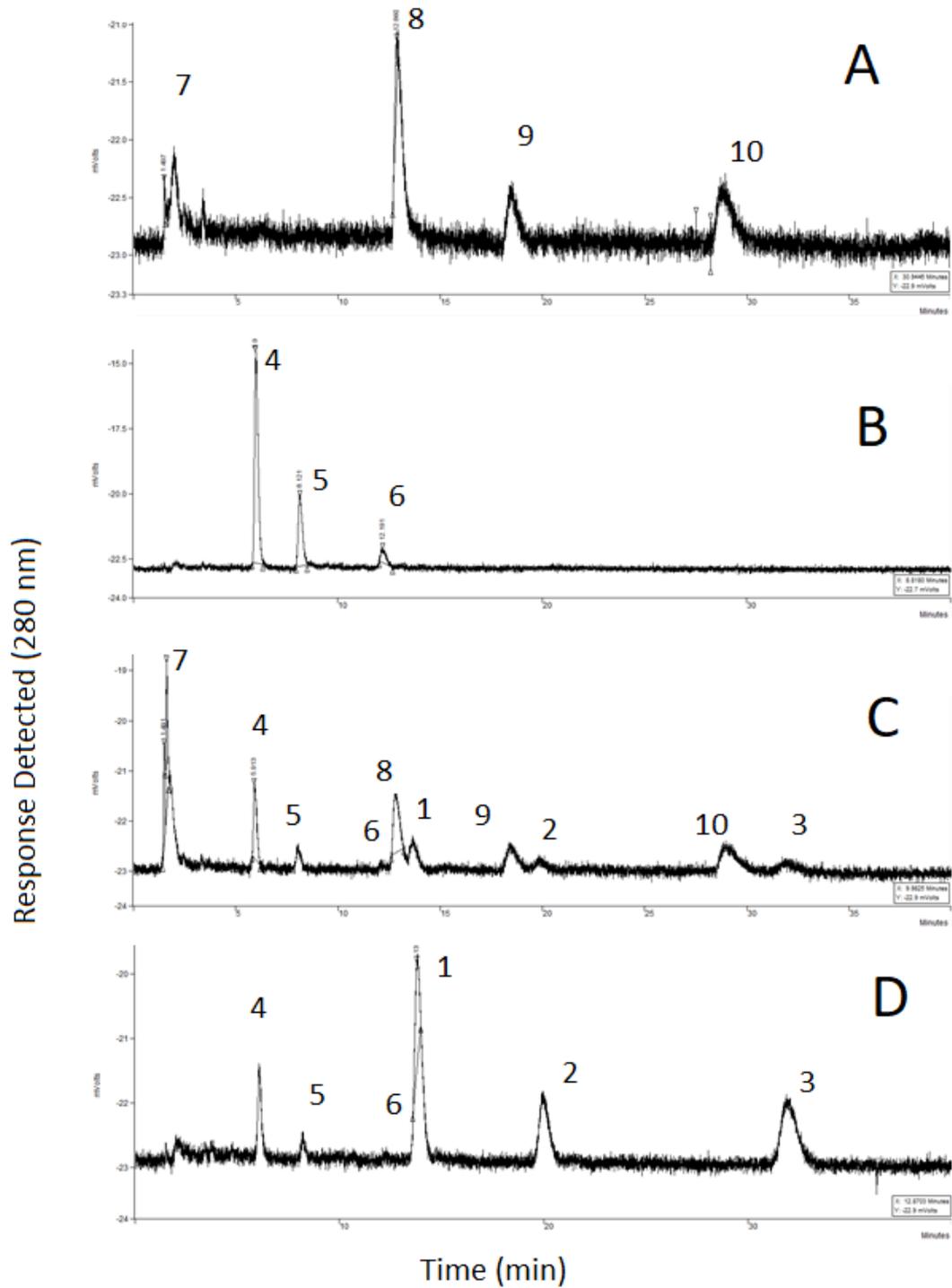


Figura 13. Comportamento das amostras de (A) ácido anacárdico, (B) cardol, (C) LCC-natural e (D) LCC-técnico.

7. Análise térmica dos surfactantes aniônicos

Análise térmica é definida como por um grupo de técnicas dos quais uma propriedade física de uma substância e/ou seus produtos da reação é medido em função da temperatura. Essas técnicas nos permitem informar variações de massa, estabilidade térmica; água de hidratação, solvatação etc; ponto de fusão e ebulição, calores de transição, calores específicos, diagramas de fase, cinética de reação, estudos catalisadores, entre outros (GIOLITO, 2005).

Neste Sentido, o uso da técnica visou determinar a estabilidade térmica dos surfactantes produzidos, uma vez que, este tem como objetivo serem utilizados para combate aos vetores endêmicos em áreas externas e internas presente no meio ambiente sob determinadas condições climáticas.

De acordo com as análises termogravimétricas (TG/DTG) (Apêndice), os surfactantes apresentaram uma estabilidade térmica acima de 90°C para ambos os comportamentos atmosféricos (Ar sintético e N₂) (Tabela 3), o que nos mostra uma efetiva aplicabilidade ao meio ambiente.

Tabela 3. Estabilidade térmica dos surfactantes.

Surfactantes	T (°C)	
	Atmosfera N ₂	Atmosfera Ar sintético
Ácido anacárdico	137,5	112,5
Cardanol	121,1	93,8-156,8
Cardol	110,8	122,8
LCC-natural	136,9	127,9

8. Atividade Larvicida

Os testes de atividade larvicida se mostraram apenas significativos para as concentrações de 200 e 100 mg.L⁻¹ (Gráficos 1 e 2). Em virtude destes resultados, executados em tubo de vidro (d= 2,5 cm x 11,0 cm de comprimento) para as diversas concentrações estabelecidas, e não havendo mais nenhum resultado

significativo para as demais concentrações, principalmente para as concentrações abaixo de 50 mg.L^{-1} , novos testes foram executados frente a um recipiente com maior área superficial.

Para tanto, foi utilizado copos descartáveis de 180 mL, sendo apenas testadas as concentrações de 100, 50 e 5 mg.L^{-1} em virtude dos dados anteriormente obtidos. Visando um surfactante de origem natural com alto potencial agente larvicida a uma concentração cada vez menor. O que nos mostrou resultados mais promissores nas contrações de 50 e 100 mg.L^{-1} (Gráficos 3 e 4).

De acordo com o Gráfico 1, temos que nas primeiras 24 horas o surfactante do LCC-natural apresentou resultados mais significativos, cerca de 50% da taxa de mortalidade das larvas, seguido pelo surfactante do ácido anacárdico (30%), cardanol e cardol.

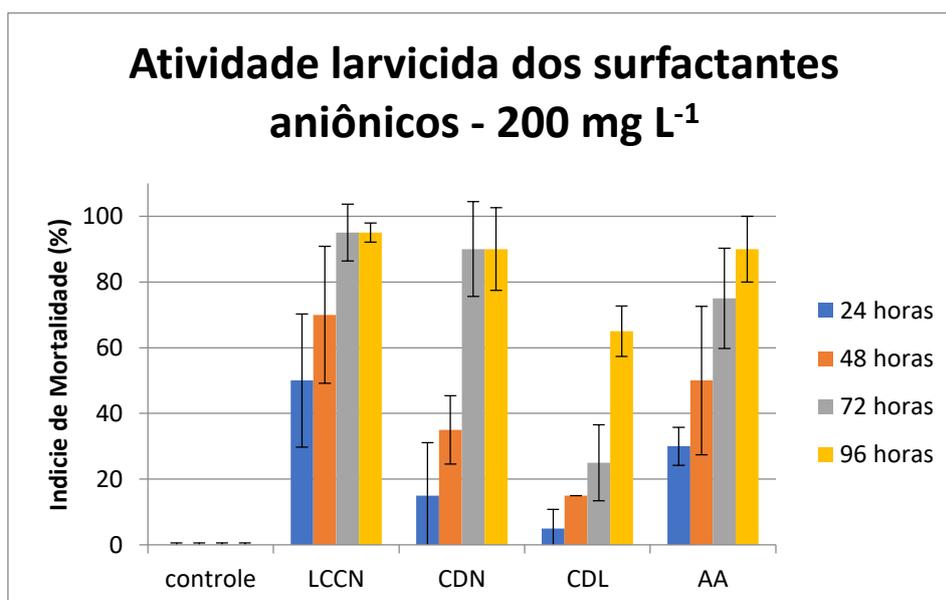


Gráfico 1. Atividade larvicida dos surfactantes na concentração de 200 mg L^{-1} , realizada em tubos de ensaio ($d= 2,5 \text{ cm} \times 11,0 \text{ cm}$ de comprimento). Legenda: LCCN = tensoativo do LCC natural; CDN = tensoativo do Cardanol; CDL = tensoativo do Cardol; AA = tensoativo do Ácido anacárdico.

Após, temos um crescimento constante das atividades larvicidas ao longo das 48 horas e 72 horas para todos os surfactantes, principalmente do cardanol. Resultando em uma taxa de mortalidade em cerca de 90 a 95% para os surfactantes

do LCC-natural e cardanol, no período de 72 horas, e de 90% para o ácido anacárdico no período de 96 horas. Sendo o surfactante do cardol com a menor atividade larvívica observada, apresentando uma taxa de mortalidade em cerca de 65% (Gráfico 1).

Quanto à atividade larvívica para a concentração de 100 mg L^{-1} , apresentados no Gráfico 2, os resultados foram mais significativos, levando a uma taxa de mortalidade em cerca de 85% para o surfactante do LCC-natural nas primeiras 24 horas, ou seja, um índice maior do que relatado para o dobro de sua concentração. Seguido pelos surfactantes do cardanol, cardol e ácido anacárdico, apresentando uma taxa de mortalidade em cerca de 25 a 40% nas primeiras 24 horas, sendo também mais significativas do que os relatados para uma concentração de 200 mg L^{-1} .

Assim, havendo um crescimento progressivo destes valores, levando a morte das larvas em 100% para o surfactante do LCC-natural, 80% para o cardanol e ácido anacárdico e 65% para o cardol, para um período de 96 horas.

Em comparação com ambas concentrações de 100 e 200 mg L^{-1} , notamos um comportamento semelhante da atividade larvívica do cardanol, não havendo um aumento deste índice para um período de 96 horas. Contudo um aumento significativo para os surfactantes do cardanol e cardol nas primeiras 24 horas, na concentração de 100 mg L^{-1} , apesar destes apresentarem uma taxa de mortalidade 10% menor que a concentração de 200 mg L^{-1} . E uma taxa de mortalidade mais significativa para o surfactante do LCC-natural do que os demais.

Uma vez que o LCC-natural é composto principalmente do ácido anacárdico, esperava-se um maior índice de mortalidade para o surfactante do composto isolado, não sendo; entretanto, observado no teste realizado. Em contrapartida, este tem apresentado um resultado próximo para um período de 96 horas.

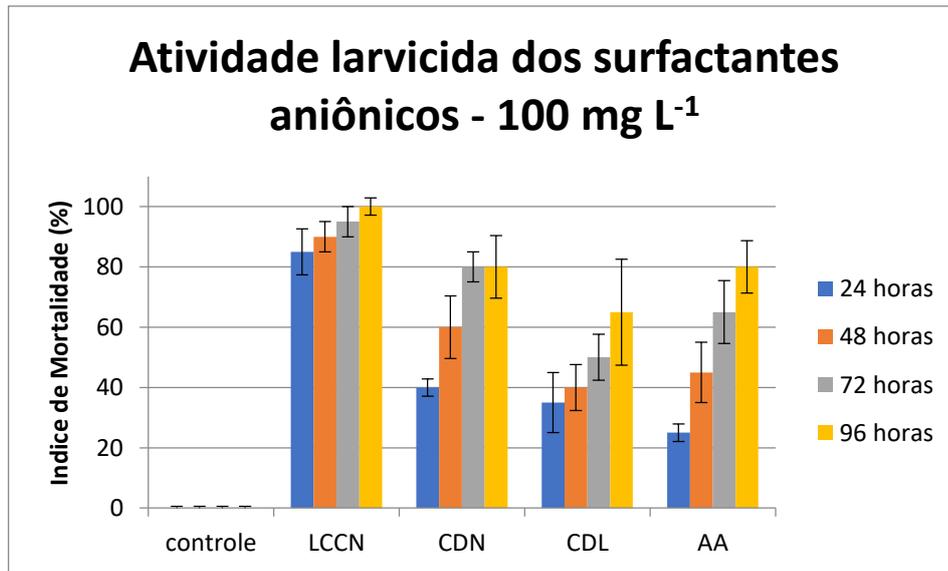


Gráfico 2. Atividade Larvicida dos surfactantes na concentração de 100 mg L⁻¹ realizada em tubos de ensaio (d= 2,5 cm x 11,0 cm de comprimento). Legenda: LCCN = tensoativo do LCC natural; CDN = tensoativo do Cardanol; CDL = tensoativo do Cardol; AA = tensoativo do Ácido anacárdico.

Frente a mudança dos frascos utilizados (Figura 14) para realização dos testes de atividade larvicida, foi averiguado uma pequena variação quanto a atividade larvicida dos surfactantes.

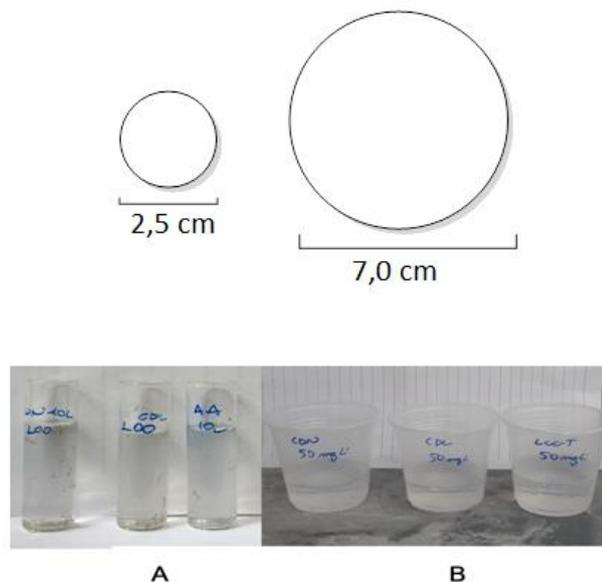


Figura 14. Frascos utilizados para realização do teste de atividade larvicida frente aos surfactantes produzidos. Tubo de vidro A e copo descartável B.

Neste sentido, temos que a concentração de 50 mg L^{-1} apresentou resultados mais significativos com a mudança dos recipientes, quando comparados com o primeiro teste, realizado em tubos de vidros, como demonstrados pelos gráficos a seguir.

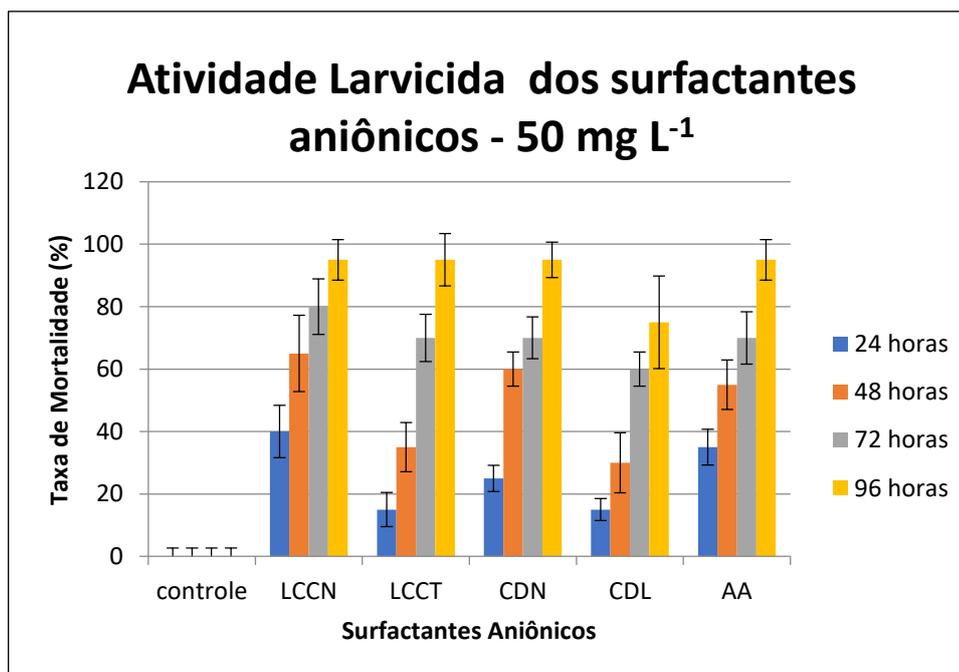


Gráfico 3. Atividade larvicida dos surfactantes para concentração de 50 mg L^{-1} , realizada em copos plásticos. Legenda: LCCN = tensoativo do LCC natural; LCCT = tensoativo do LCC técnico; CDN = tensoativo do Cardanol; CDL = tensoativo do Cardol; AA = tensoativo do Ácido anacárdico.

De acordo com o Gráfico 3, os testes de atividades larvicidas para os surfactantes a uma concentração de 50 mg L^{-1} nos mostra que o LCC-natural é um agente larvicida mais ativo que os demais, exibindo a uma taxa de mortalidade em cerca de 40%, seguido pelo ácido anacárdico, cardanol, cardol e LCC-técnico, para um período de 24 horas.

Posteriormente, houve um aumento progressivo destas taxas no decorrer de 48 a 96 horas, levando a mortalidade das larvas em cerca de 95% para os surfactantes do LCC-natural, LCC-técnico, cardanol e ácido anacárdico e de 75% para o cardol. Onde, pode-se verificar um comportamento semelhante dos surfactantes para a concentração de 200 mg L^{-1} , realizado em tubo de vidro, o que

pode nos levar a hipótese de influência dos recipientes utilizados para os testes de atividade larvicida, bem como verificado nos dados a seguir.

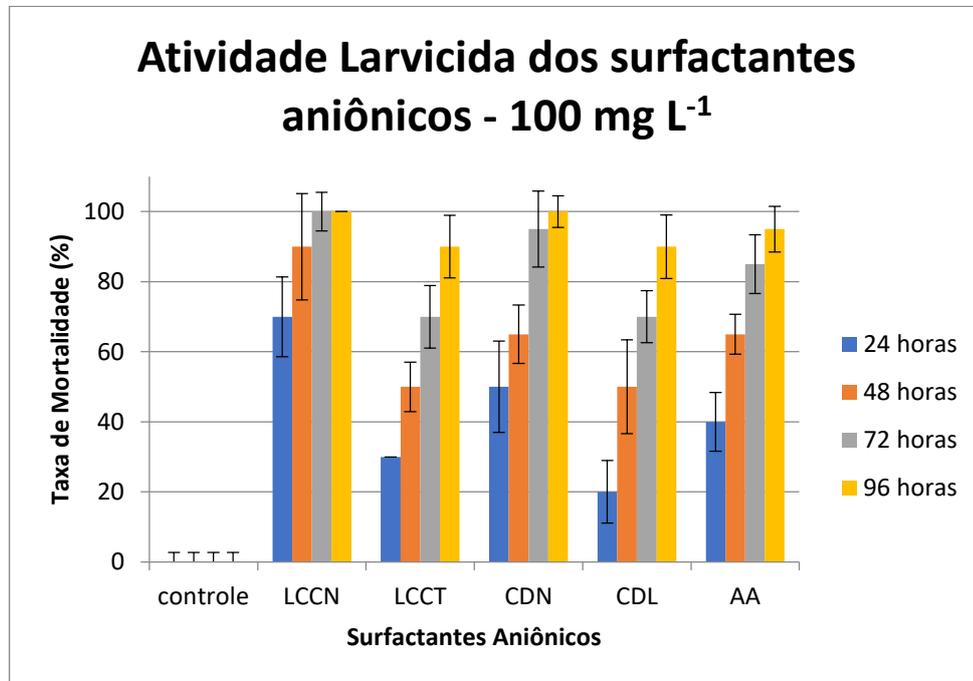


Gráfico 4. Atividade Larvicida dos surfactantes para concentração de 100 mg L⁻¹, realizada em copos plásticos. Legenda: LCCN = tensoativo do LCC natural; LCCT = tensoativo do LCC técnico; CDN = tensoativo do Cardanol; CDL = tensoativo do Cardol; AA = tensoativo do Ácido anacárdico.

Para os surfactantes a uma concentração de 100 mg L⁻¹, realizados em copos descartáveis, foi notado uma redução de 15% na taxa de mortalidade dos surfactantes do LCC-natural e cardol e um aumento de 10-15% para cardanol e ácido anacárdico, em comparação aos dados relatado no teste anterior para a mesma concentração de 100 mg L⁻¹. Outro fator verificado é que a taxa de mortalidade exibiu o mesmo comportamento já visto anteriormente, onde os surfactantes do LCC-natural, cardanol e ácido anacárdico são mais promissores que o LCC-técnico e o cardol. Levando a morte das larvas em cerca de 90 a 100% no período de 96 horas, ou seja, um aumento de 10% para os surfactantes do cardanol e ácido anacárdico e 25% para o cardol, quando comparados com teste de 100 mg L⁻¹ realizados em tubos de vidro.

Em comparação a atividade larvicida dos surfactantes, o cardol tem

apresentado uma menor atividade e o LCC-natural o mais ativo, principalmente quanto sua atividade nas primeiras 24 horas, seguido pelos surfactantes de cardanol e ácido anacárdico.

Outro fator notável foi verificado que o surfactante do cardanol tem se mostrado um agente larvicida mais potente que o LCC-técnico, sendo evidente sua melhor atividade quando isolado, para um período de 24 horas, embora o LCC-técnico tenha apresentado resultados semelhantes para uma atividade larvicida no período de 96 horas, para ambas as concentrações de 50 e 100 mg L⁻¹, realizadas nos copos descartáveis. Lembrando que o LCC-técnico é composto principalmente de cardanol. E como já mencionado anteriormente, temos que o ácido anacárdico também tem apresentado sua atividade larvicida inferior ao encontrado no LCC-natural.

Com base em nossos resultados, podemos considerar que, muito provavelmente, o tensoativo do LCC natural é mais potente na sua atividade larvicida, devido ao sinergismo entre os componentes presentes. Portanto, embora os tensoativos de cardanol, cardol e ácido anacárdico tenham apresentados atividades larvicida significativas, o uso do tensoativo da LCC natural é mais vantajoso, considerando a facilidade na sua elaboração, bem como em sua potente atividade larvicida.

9. Conclusões e Perspectivas

As atividades larvicidas dos surfactantes nos mostrou que, o cardanol e ácido anacárdico, mostraram um comportamento similar, apresentando a uma taxa de mortalidade de 80 e 90% para as concentrações de 100 e 200 mg L⁻¹, respectivamente, para um período total de 96 horas. Já para um período de 24 horas, ambos os surfactantes (sais de sódio do cardanol, cardol e ácido anacárdico), apresentaram resultados próximos, de 25 a 40%, para ambas as concentrações.

Entretanto, quando comparamos os demais surfactantes na concentração de 100 ppm, foi observado que o tensoativo contendo LCC-natural apresentou cerca de

duas vezes a atividade do surfactante do cardanol (40%). Lembrando que o LCC-n é rico em ácido anacárdico. Mas este quando isolado (surfactante do ácido anacárdico) apresentou cerca de 25% da taxa de mortalidade. Para um período de 24 horas.

Frente a mudança dos frascos utilizados, de tubos de vidro para copos descartáveis, o teste de atividade larvicida foi mais significativo. Embora tenha apresentado uma variação de 10 à 15% para alguns surfactantes aniônicos, em um período menor de tempo, na concentração de 100 mg L⁻¹. Já para a concentração de 50 mg L⁻¹, que antes não se teve resultados considerados promissores (tubos de vidro), com a repetição, frente a utilização de copos descartáveis, mostrou resultados mais expressivos, com uma taxa de mortalidade de cerca de 95%, período de 96 horas, uma vez que não houve formação de pupas e mosquitos.

De modo geral, temos que todos os surfactantes testados e produzidos apresentaram valores muito significativos e satisfatórios. Entretanto, quando comparamos sua atividade nas primeiras 24 horas, apenas o LCC-natural, cardanol e ácido anacárdico são mais ativos que os demais, onde cabe destacar ainda que destes, apenas o LCC-natural representa ser o mais ativo a um menor tempo de aplicação. O que nos evidencia que isto se deva ao seu efeito sinérgico dos compostos fenólicos presentes no LCC-natural. Uma vez que, os surfactantes do cardanol e ácido anacárdico foram também mais promissores que o cardol e LCC-técnico.

Entretanto, não observado este meio efeito sinérgico para o surfactante do LCC-técnico, sendo este menos promissor que o cardanol. Sendo o cardanol seu composto majoritário. Assim, podendo concluir que o surfactante do cardanol é um agente larvicida mais ativo do que o LCC-técnico, apresentando uma taxa de mortalidade de cerca de 95 a 100% para um período de 72 horas e mais ativo nas primeiras 24 horas que o LCC-técnico.

Os produtos apresentaram estabilidade próxima a temperatura de 90 °C.

Em vista dos resultados até então alcançados, propõe-se como uma futura

pesquisa preparar também diferentes concentrações dos surfactantes, variando ainda suas proporções, entre óleo de mamona e os compostos fenólicos, e assim, determinar uma proporção ideal para a atividade larvívica desejada.

10. Referências

BARRETO, C. F. *Aedes aegypti*: Resistencia aos inseticidas químicos e as novas alternativas de controle. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, São Luis de Montes Belos, v. 1, n.2, p.62-73, 2005.

BEATRIZ, A.; DE LIMA, D. P.; SOUZA, A. P.; GALDINO, G. T.; SILVA, E. C. R.; ITO, F. M.; GOMES, R. S.; ARRUDA, E. J. **Processo de produção e uso de misturas de surfactantes iônicos do líquido da casca da castanha do caju e do óleo de mamona como larvicida**. 2015, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10201500723, Data de depósito: 16/03/2015. Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

BIOLOGIA do *Aedes aegypti*. Prefeitura Municipal de Belo Horizonte. 2001-2006. (Fonte: FUNASA. Dengue. Instruções para Pessoal de Combate ao Vetor. Manual de Normas Técnicas. Brasília, abril/2001). Disponível em: <<http://www.pbh.gov.br/smsa/montapagina.php?pagina=bhdengue/biologia.htm>>. Acesso em: 09 de jul. 2017.

BRAGA, Ilma A.; VALLE, Denise. ***Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil**. Artigo de revisão. *Epidemiologia e Serviço de Saúde*, 2007; 16(2): 113-118 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Controle de Vetores – Procedimentos de Segurança**, elaborado por Eng. Paulo Cesar da Silva, Eng. Farnésio Luís Guimarães e Assistente Social Raimunda Nonata Carlos Ferreira, 1ª edição – Brasília: Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde, 2001. (*identificado como 2001a)

BRASIL. Ministério da Saúde. **Dengue instruções para pessoal de combate ao vetor: manual de normas técnicas**. - 3. ed., rev. - Brasília : Ministério da Saúde:Fundação Nacional de Saúde, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Orientações Técnicas para Pessoal de Campo**. Estado de Santa Catarina – Diretoria de Vigilância Epidemiológica. Adaptado do Manual de Normas Técnicas do Ministério da Saúde (2001), 2007

BRASIL. Ministério da Saúde. **Preparação e resposta à introdução do vírus Chikungunya no Brasil** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília : Ministério da Saúde, 2014. 100 p.:il.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Diretrizes nacionais para prevenção e controle de epidemias de dengue** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília : Ministério da Saúde, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis Plano de Contingência Nacional para Epidemias de Dengue** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília : Ministério da Saúde, 2015. 42 p. : il.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Monitoramento de casos de dengue, febre chikungunya e febre pelo zika vírus até a Semana Epidemiológica 35, 2017**. Vol. 48, n° 29, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Zika Vírus: perfil epidemiológico em mulheres**. Vol. 47, n° 37, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. XVII Reunião dos Ministros da Saúde do Mercosul e Estados Associados, Rio de Janeiro, Brasil, 03/XII/2004: plano regional de intensificação das ações de controle da dengue no Mercosul / Ministério da Saúde... [et al.] – Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

CAMPOS, E. dos S. de C. e SANTOS; V. M. L. dos. **Estudos do Processo de Extração de Óleo de Mamona em cooperativas de pólo São Francisco.** Engevista, v. 17, n. 4, p. 477-490, Dezembro 2015.

COSTA, H. M. da; RAMOS, V. D.; ABRANTES, T. A. S.; CASTRO, D. F. de; VISCONTE, L. L. Y.; NUNES, R. C. R.; FURTADO, C. R. G. **Efeito do Óleo de Mamona em Composições de Borracha Natural Contendo Sílica.** Polímeros: Ciência e Tecnologia, vol. 14, nº 1, p. 46-50, 2004.

EGID, B. M. Castor oil as a potential renewable resource for the production of functional materials. *Sustain Chem Process.* 2016. 4:11.

ESMERALDO, M. A. **Bioprodutos Derivados de Biomassa Vegetal no Combate ao Mosquito Transmissor da Dengue – *Aedes aegypti*.** Tese de doutorado. Fortaleza. 2016.

FARIAS, D. F.; CAVALHEIRO, M. G.; VIANA, S. M.; LIMA, G. P. G. de; ROCHA-BEZERRA, L. C. B. da; RICARDO, N. M. P. and CARVALHO, A. F. U. **Insecticidal Action of Sodium Anacardate from Brazilian Cashew Nut Shell Liquid against *Aedes aegypti*.** *Journal of the American Mosquito Control Association*, 25 (3): 386-389, 2009.

FRANÇA, F. C. F. de; COELHO, E. de L.; OCHÔA, A. F. J.; RODRIGUES, F. H. A.; RIBEIRO, M. E. N. P.; SOARES, S. de A.; RICARDO, N. M. P. .S. **Síntese e Caracterização de Surfactantes Alquilfenil Poliglicosídicos a partir da Amilose e Alquil Fenóis Extraídos do LCC natural.** *Quim. Nova*, vol. 39, nº 7, 771-781, 2016.

GALDINO, T.G.; BEATRIZ, A. **Síntese de sais surfactantes a partir do líquido da castanha de caju utilizados no combate à dengue.** Feira Brasileira de Ciências e Engenharia (10: 2013: São Paulo). São Paulo: EPUSP, 2013.

GANDHI, T. S.; DHOLAKIYA, B. Z.; PATEL, M. R. **Extraction protocol for isolation of CNSL by using protic and aprotic solvents from cashew nut and study of their physico-chemical parameter.** Pol. J. Chem. Tech, vol 15, nº 4, 2013.

GEDAM, P. H.; SAMPATHKUMARAN, P.S. **Cashew Nut Shell Liquid: Extraction, Chemistry and Applications.** Progress in Organic Coatings, 14 (1986), p. 115-157.

GIOLITO, M. I. **Fundamentos da Termogravimetria, Análise Térmica Diferencial e Calorimetria Exploratória Diferencial.** São Paulo: Giz 1, 80, 2005.

GUISSONI, A. C. P. **Atividade larvívica de *Anacardium occidentale* como alternativa de controle para *Aedes aegypti* e sua toxicidade em animais de laboratório.** (Dissertação de Mestrado). Goiania, GO, 2011.

GUISSONI, A.C.P.; SILVA, I.G.; GERIS, R.; CUNHA, L.C.; SILVA, H.H.G. **Atividade larvívica de *Anacardium occidentale* como alternativa ao controle de *Aedes aegypti* e sua toxicidade em *Rattus norvegicus*.** Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, v.15, n.3, p.363-367, 2013.

HAMAD, F.B.; MUBOFU, E. B. **Potential biological applications of bio-based anacardic acids and their derivatives.** *Int J Mol Sci.* 16(4):8569-90, 2015.

HOLLAND and RUBINGH. **Mixed Surfactant Systems ACS Symposium Series.** American Chemical Society: Washington, DC, 1992. DOI: 10.1021/bk-1992-0501.ch001

KUMAR, P. P.; PARAMASHIVAPPA, R.; VITHAYATHIL, P. J.; SUBBA RAO, P. V. e SRINIVASA RAO, A. **Process for Isolation of Cardanol from Technical Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Nut Shell Liquid.** J. Agric. Food. Chem. 2002, 50, 4705-4708.

LOMONACO, D, SANTIAGO, GMP, FERREIRA, YS, ARRIAGA, AMC, MAZZETTO,

SE, MELE, G, et al. **Study of technical CNSL and its main components as new green larvicides**. Green Chem. 2009. 11 (31).

LOMONACO, D.; SANTIAGO, G.M.P.; FERREIRA, Y.S.; ARRIAGA,A.M.C.; MAZZETO, S.L.; MELE, G.; VASAPOLLO, G. **Study of technical CNSL and its main componentes as new green larvicides**. Journal Homepage/ Green Chemistry, 2008.

LOPES, N.; LINHARES, R. E. C.; NOZAWA, C. **Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil**. Rev Pan-Amaz Saude 2014; 5(3):55-64.

MARCORIS, M. L. G.; ANDRIGLETTI, M.T. M.; TAKAKU, L. **Efeito residual de temefós em larvas de *Aedes aegypti***. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.28, 1995.

MAZZETTO, S. E.; LOMONACO, D. e MELE, G. **Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial**. Quim. Nova, Vol. 32, No. 3, 732-741, 2009.

MUKHOPADHYAYA, A. K.; HATI,A. K.; TAMIZHARASU, W. & SATYA BABU, P. **Larvicidal properties of cashew nut shell liquid (*Anacardium occidentale* L) on immature stages of two mosquito species**. J Vector Borne Dis, 47, December, 2010, pp. 257-260.

OLIVEIRA, M. S. C.; MORAIS,S. M. de; MAGALHÃES, D. V., BATISTA, W. P.; VIEIRA, I. G. P.; CRAVEIRO, A. A.; MANEZES, J. E. S. A. de; CARVALHO, A. F. U.; LIMA, G. P. G de. **Antioxidant, larvicidal and antiacetylcholinesterase activities of cashew nut shell liquid constituents**. Acta Tropica, 117, 2011, 165-170.

PAES, J. B.; SOUZA, A. D. de; LIMA, C. R. de; SANTANA, G. M. **Rendimento e Características Físicas dos Óleos de Nim (*Azadirachta indica*) e Mamona**

(*Ricinus communis*). Floresta e Ambiental, Vol. 22(1), 134-139, 2015.

PAIVA, D. R.; LIMA, D. P.; AVVARI, ARRUDA, N. P.; E. J. de; CABRINI, I.; MARQUES, M. R.; SANTOS, E. A. dos; BIAGGIO, F. C.; SANGI, D. P. and BEATRIZ, A. **A potente larvicidal agente against *Aedes aegypti* mosquito from cardanol**. Anais da Academia Brasileira de Ciências (2017) 89 (1 Suppl.): 373-382.

PARAMASHIVAPPA, R.; KUMAR, P.; VITHAYATHIL, P. J.; SRINIVASA RAO, A. **Novel method for isolation of major phenolic components from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut shell liquid**. J. Agric. Food. Chem, 2001, 49, 2548-2551.

POLANCZYK, R. A.; GARCIA, M. O.; ALVES, S.B. Potencial de *Bacillus thuringiensis israelensis* Berliner no controle *Aedes aegypti*. *Rev. Saúde Pública*, v. 37, n. 6, 2003.

RARASWATI, G.R.; SUDARSONO; MULYANINGSIH, B. **Larvicidal Activity of A Mixture of Cashew Nut Shell Liquid and Water-Soluble Extract of Soap Nut Fruit (*Sapindus rarak* DC.) Against 3rd Instar Larvae of *Aedes aegypti***. Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry, 3(2), 59-64, 2014.

SAIBA como é o Ciclo de vida do *Aedes Aegypti*. **Tua Saúde**. Vila Nova de Gaia – Portugal, 2007-2017. Disponível em: <<https://www.tuasaude.com/ciclo-de-vida-do-aedes-aegypti/>>. Acesso em: 08 de jul. 2017.

SCHNEIDER, R. de C. de S. **Extração, caracterização e Transformação do Óleo de Rícino**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, 2002.

SECRETARIA Municipal de Saúde. **II Seminário Internacional para Avaliação de Ações de Controle Químico de *Aedes aegypti* no Brasil**. Disponível em: <www.portalarquivos.saude.gov.br>. Acesso em: 08 de nov. de 2017.

SERRANO, L. A. L.; PESSOA, P. F. A de P. Embrapa. **Sistema de Produção do Caju: Aspectos econômicos da cultura do cajueiro**. Disponível em: <https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemaProducaoId=7705&p_r_p_996514994_topicId=10308>. Acesso dia 16 de out. de 2017.

TAKANO, E. H.; BUSSO, C. GONÇALVES, E. A. L.; CHIERICE, G. O.; CATANZARO-GUIMARÃES, S. A. e CASTRO-PRADO, M. A. de. **Inibição do desenvolvimento de fungos fitopatogênicos por detergente derivado da mamona (*Ricinus comuns*)**. Ciência Rural, Santa Maria, v.37, n.5, p.1235-1240, set-out, 2007. ISSN0103-8478.

VANI, J. M. **Efeitos do tensoativo do líquido da casca da castanha do caju em ensaio larvicida contra o *Aedes aegypti* e no desempenho reprodutivo, desenvolvimento embrionário e estabilidade genética em camundongos Swiss**. Dissertação (Mestrado em Farmácia). Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, MS. 2016.

WHO - World Health Organization. **2005. Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides**. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP: 2005.13, 39 p.

APÊNDICE

Análise Térmica dos Surfactantes Aniônicos

- Sais de Sódio do ácido anacárdico

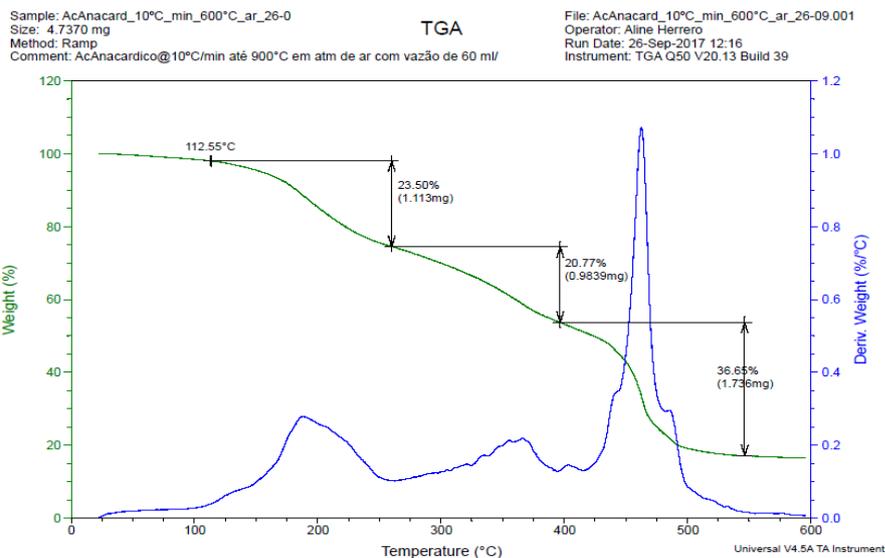


Figura 15. Análise termogravimétrica (TG/DTG) para surfactante anacardato de sódio, em atmosfera de ar sintético.

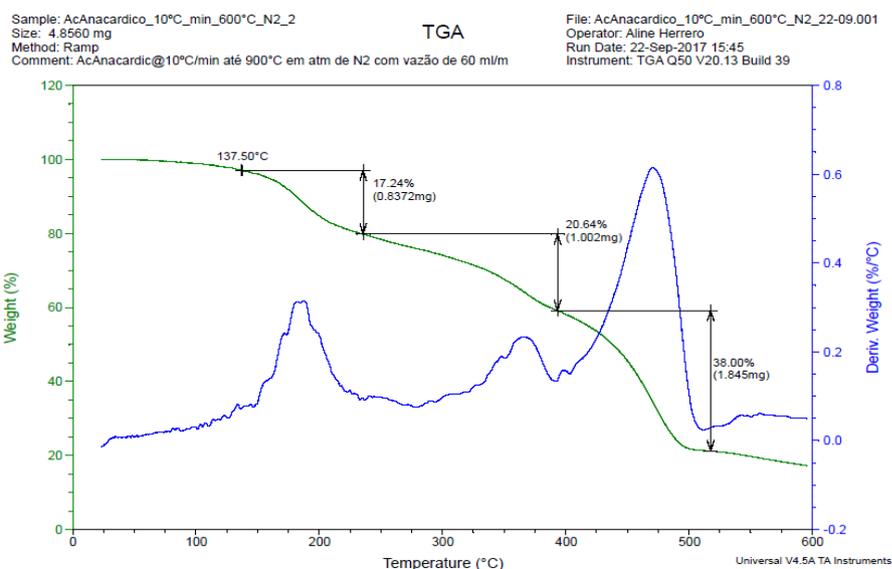


Figura 16. Análise termogravimétrica (TG/DTG) para surfactante anacardato de sódio, em atmosfera de nitrogênio.

- Sais de sódio do cardanol

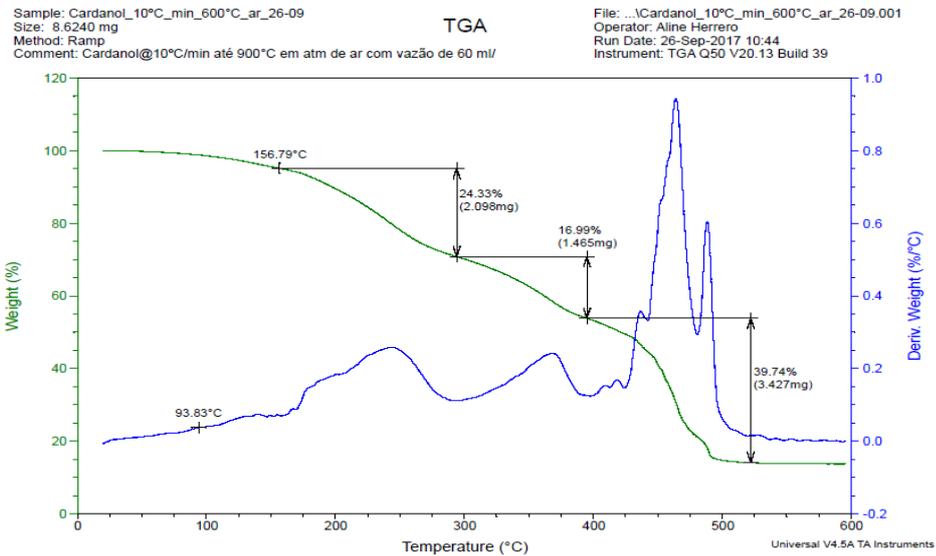


Figura 17. Análise termogravimétrica (TG/DTG) para surfactante de sal de sódio do cardanol, em atmosfera de ar sintético.

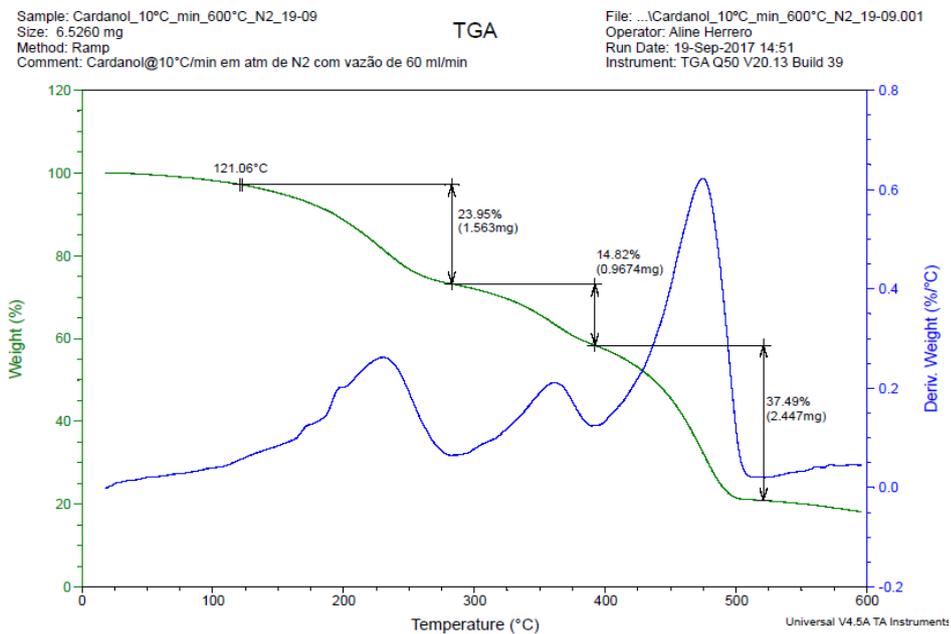


Figura 18. Análise termogravimétrica (TG/DTG) para surfactante dos sais de sódio de cardanol, em atmosfera de nitrogênio.

- Sais de sódio do cardol

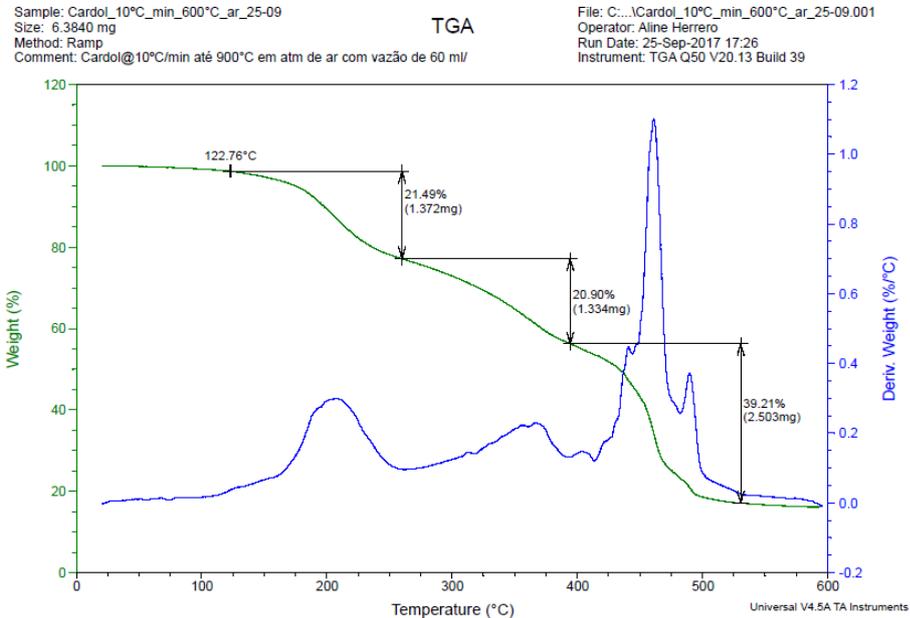


Figura 19. Análise termogravimétrica (TG/DTG) para surfactante dos sais de sódio do cardol, em atmosfera de ar sintético.

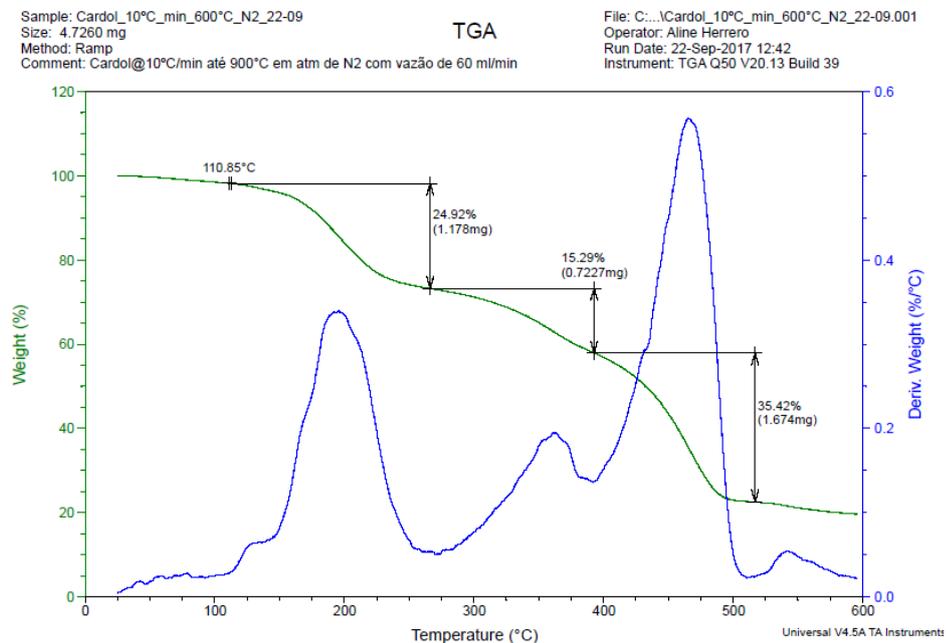


Figura 20. Análise termogravimétrica (TG/DTG) para surfactante dos sais de sódio do cardol, em atmosfera de nitrogênio.

- Sais de sódio do LCC-natural

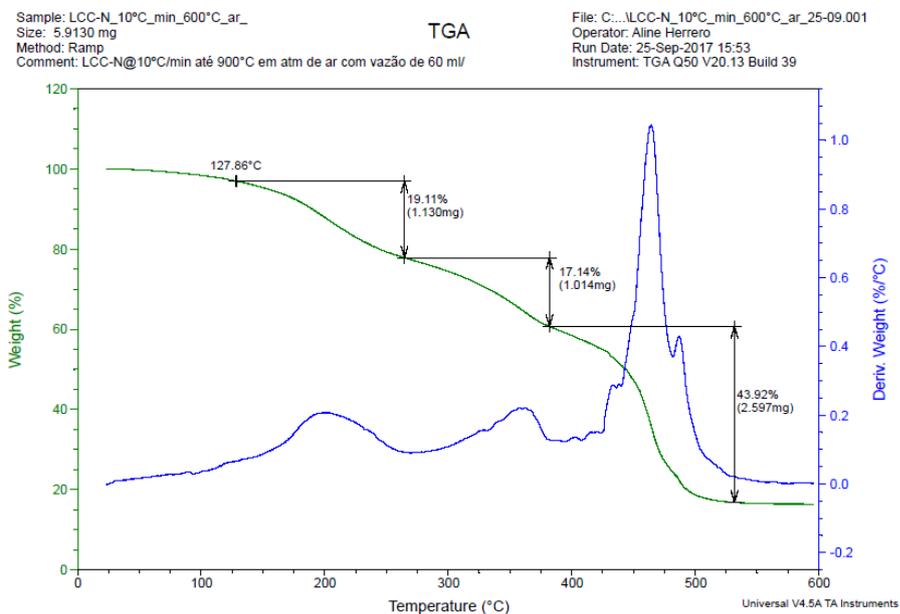


Figura 21. Análise termogravimétrica (TG/DTG) para surfactante dos sais de sódio do LCC-n, em atmosfera de ar sintético.

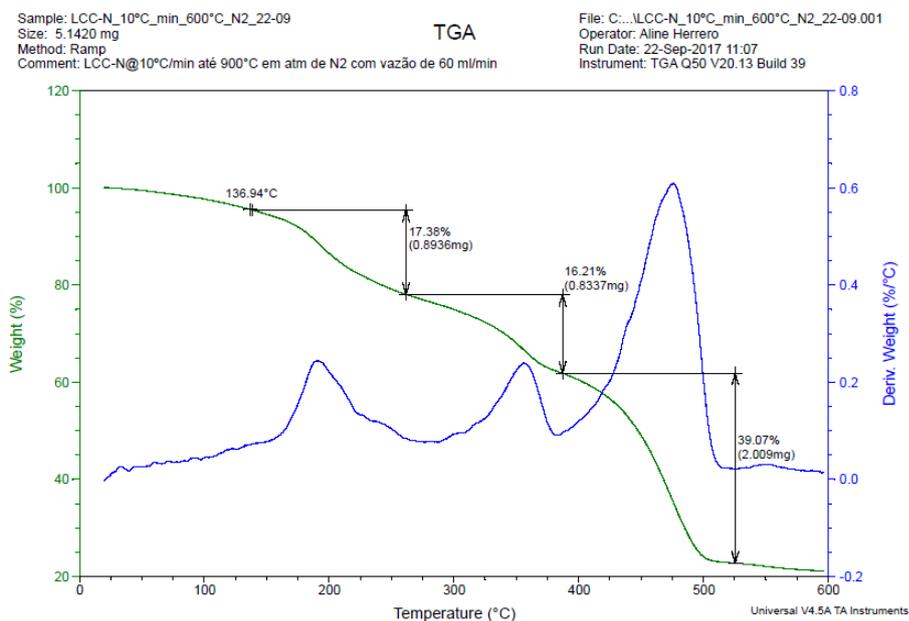


Figura 22. Análise termogravimétrica (TG/DTG) para surfactante dos sais de sódio do LCC-n, em atmosfera de nitrogênio.