



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) **BR 102016025900-2 A2**

(22) **Data do Depósito:** 04/11/2016

(43) **Data da Publicação:** 29/05/2018



(54) Título: DETERRENTE DE OVIPOSIÇÃO
OBTIDO DA GORDURA DA AMÊNDOA DE
MANGIFERA INDICA, COMO INIBIDOR DE
SÍTIOS DE POSTURA DE OVOS DO AEDES
AEGYPTI

(51) Int. Cl.: A01N 65/08; A01P 7/04

(52) CPC: A01N 65/08

(73) Titular(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PERNAMBUCO

(72) Inventor(es): KATIA APARECIDA DA
SILVA AQUINO; CLÉCIO SOUZA RAMOS;
FABIANA DA SILVA AQUINO; DANIELA MARIA
DO AMARAL FERRAZ NAVARRO; JÉSSICA DA
SILVA NASCIMENTO; MIRELA ARAÚJO
GOMES DOS SANTOS

(57) Resumo: DETERRENTE DE OVIPOSIÇÃO
OBTIDO DA GORDURA DA AMÊNDOA DE
Mangifera indica, COMO INIBIDOR DE SÍTIOS
DE POSTURA DE OVOS DO Aedes aegypti.
Uma solução com ação deterrente de oviposição
e seu processo de obtenção à partir da gordura
da amêndoa de Mangifera indica, tem ação
biológica de sinergismo dos ácidos graxos nas
concentrações aproximadas de 348 ppm e 408
ppm. A produção da gordura é realizada pela
técnica de extração Soxhlet por Reboiler, um
método simples e de baixo custo, que permite
sua utilização direta em indústrias inseticidas e
secretarias de saúde e vigilância ambiental
estadual. A caracterização da gordura foi feita
pelo método de Cromatografia Gasosa,
acoplado a Espectroscopia de Massa (GC-MS).
Para o bioensaio de deterrente de oviposição,
utilizou-se solução estoque de 2500 ppm, que
fora diluída com água destilada para obtenção
das concentrações a serem testadas. Foram
utilizadas fêmeas grávidas de Aedes aegypti,
disponíveis em gaiolas de oviposição. Os
resultados mostraram boa interação da gordura
com o co-solvente e água destilada, formando
uma solução homogênea, que em
concentrações não tóxicas, possa ser colocada
e(...)



DETERRENTE DE OVIPOSIÇÃO OBTIDO DA GORDURA DA AMÊNDOA DE *Mangifera indica*, COMO INIBIDOR DE SÍTIOS DE POSTURA DE OVOS DO *Aedes aegypti*.

[001] O presente relatório revela um composto sólido (gordura) constituído de glicerol e ácidos graxos saturados e ácidos graxos insaturados, chamados de triglicerídeos, em diversas concentrações, com aplicação como um inibidor, que evita a postura de ovos das fêmeas grávidas de *Aedes aegypti* em ninchos aquáticos.

[002] O produto, uma solução obtida da gordura, com o sinergismo dos ácidos graxos e em específicas concentrações, impede que novos sítios de postura de ovos das fêmeas do *Aedes aegypti* possam se propagar. Este produto poderá ser utilizado na indústria de inseticidas e repelentes, secretaria de saúde e vigilância ambiental estadual, como também em pesquisas científicas.

[003] Não foram encontrados tanto na literatura brasileira, como na internacional de patentes, documentos acerca de Deterrentes de Oviposição obtidos da amêndoa de *Mangifera* sp. como o apresentado neste pedido.

[004] A postura dos ovos pode ocorrer isoladamente ou em massa, dependendo da espécie do inseto, no caso do *Aedes aegypti* sua postura ocorre em massa, onde os ovos são depositados nos ninchos aquáticos. (VANETTI, F. Entomologia Geral. 1983; BENTLEY et al. Amn. Ver. Entomol (34): 401-421. 1989). O ovo é a principal forma de dispersão e propagação de mosquitos, por serem resistentes a condições de seca e conseguirem sobreviver por meses, e até anos em ambientes adversos, permitindo que os mosquitos (*Aedes aegypti*) possam reconstituir suas populações, mesmo que a sua fase larval tenha sido eliminada por medidas de controle ambiental (FORATTINI et al. Ver. Saúde Pública (12): 297-300. 1978). Os órgãos governamentais estavam com suas ações voltadas apenas para o uso de inseticidas larvais (ROSE, R. I. Emerging Infect. Diseases. 7(1): 17-23. 2001). No entanto, um novo foco de atenção foi despertado devido a crescente atuação do *Aedes aegypti* em diversos ambientes, que seria o combate aos sítios de postura dos ovos, ou seja, os locais de deposição dos ovos. A oviposição (postura) é um importante fator que causa efeito na dispersão, sobrevivência

e longevidade do mosquito, podendo seu combate ter um impacto significativo sobre a continuidade da espécie no ecossistema (HARRINGTON et al. Vect. Borne Zoon. Dis. (8): 415-423. 2008).

[005] A utilização da gordura oriunda da amêndoa de *Mangifera indica* torna-se uma estratégia de grande importância para a inibição da postura de ovos pelas fêmeas do *Aedes aegypti*. Estes compostos cooperam para a diminuição significativa de antigos e novos ambientes utilizados como depósito de ovos, pois a rejeição pelas fêmeas grávidas a um determinado ambiente é guiado por fatores de estímulos visuais e olfativos, e principalmente pelos semioquímicos, que são utilizados para demarcar o local que será depositado com segurança seus ovos. Quando impedimentos para oviposição são detectados, pouco ou nenhum ovo é depositado no local (SILVA et al. Biores. Technol. (99): 3251-3255. 2008).

[006] A gordura apresentada nesta proposta é produzida utilizando a técnica de extração Soxhlet por Reboiler. Esta técnica simples produz compostos oleosos de amostras sólidas por meio de solvente volátil (SELLA, A. Classic Kit: Soxhlet Extractor. Royal Society of Chemistry. 2007). A técnica consiste de um fluxo contínuo de solvente, onde o solvente condensado se contata direto com a amostra, e o tempo de extração é utilizado para se obter um rendimento satisfatório. Esta técnica apresenta grande vantagem por separar a mistura soluto-solvente no próprio aparelho, tendo em média 90% de recuperação do solvente (RICHARDSON et al. Chemical Engineering. Volume 2: Particle Technology and Separation Processes. 2002).

[007] A gordura utilizada para a solução de ação deterrente de oviposição é insolúvel em água (hidrofóbico), de origem vegetal, e que é formada pela condensação do glicerol e grupo acila (saturados e insaturados) que formam os triacilgliceróis. Apresenta forma sólida em temperatura ambiente, por conter quantidade maior de acil saturados (MORETTO et al. Tecnologia de óleos e gorduras vegetais. 1998).

[008] Esta gordura em solução dá características de impedir que ocorra postura de ovos das fêmeas do *Aedes aegypti*. Nos mosquitos, de modo geral, os órgãos dos sentidos, que são os quimiorreceptores, captam estímulos e sensações químicas do meio ambiente, onde os sentidos do gosto (por contato) e olfato (à distância), respondem sob

a ação de estímulos químicos. O sentido do olfato detecta substâncias voláteis, que podem estar localizadas a longas distâncias. Tais receptores são apenas ativados por substâncias em solução. O sentido do olfato está localizado nas antenas e são denominados de “sensilos tricóides”, que tem grande importância para a sobrevivência dos mosquitos (*Aedes aegypti*), principalmente por proporcionar a busca por alimentação, e suas fêmeas escolherem locais apropriados para a postura de seus ovos (MARANHÃO, Z. C. Tecnologia de óleos e gorduras vegetais. 1978).

[009] A invenção objetiva a fabricação e caracterização de uma solução da gordura da amêndoa de *Mangifera indica*, com ação de inibir a postura de ovos pelas fêmeas do *Aedes aegypti*, evitando a formação de novos sítios de oviposição e consequentemente a propagação de vírus transmitidos pelo vetor *Aedes aegypti*.

[010] A gordura em solução, objeto reivindicado neste relatório, terá aplicação direta nas indústrias inseticidas e secretaria de saúde e vigilância ambiental estadual, pois apresenta características vantajosas de inibir a propagação de espécies de mosquitos, com a versatilidade e o baixo custo de manufatura por ter como fonte primária, produtos de descarte doméstico, industrial e pequenos produtores (comerciantes), como os caroços de manga (*Mangifera indica*) e não apresentar toxicidade, que possa vir a atingir outras espécies animais. Tais características têm potencial para aumentar sua biodisponibilidade em vários ninchos aquáticos.

[011] A obtenção da gordura é feita pelo uso de amêndoas de *Mangifera indica*, que foram secas em estufa numa variação de temperatura de 80 a 100°C e trituradas em Moinho de Facas, com malhas de 1 a 3 mm (BRUM, et al. Química nova. 2009). A gordura foi extraída com solvente apolar Hexano P.A. em extrator Soxhlet por Reboiler. A mistura solvente-pó da amêndoa triturada foi submetida a um processo contínuo de extração a quente, onde a gordura é extraída por repetidas lavagens (percolação), com o solvente. Esta técnica é muito útil nos casos em que o composto puro é parcialmente solúvel em solvente e as impurezas não (AOCS - Official methods and recommended practices of the American Oil Chemist's Society. 1983).

[012] A caracterização da gordura foi feita pelo método de cromatografia gasosa, acoplado a espectroscopia de massa (GC-MS) cujo é aplicável para separação

de misturas que tenham ponto de ebulição de até 300°C e que sejam termicamente estáveis. Os componentes a serem separados são distribuídos em duas fases: fase estacionária e fase móvel. Para que a substância seja “arrastada” pela fase móvel, ou seja, o fluxo de gás, deve-se dissolver por completo neste fluxo ou parcialmente, tendo tal substância a característica de voláteis e ou semi-voláteis. Com a sua simplicidade, sensibilidade e efetividade para separar componentes de misturas, é muito utilizada para análises quantitativas e qualitativas de espécies químicas, determinando também constantes químicas (calor de solução e evaporação; pressão de vapor e coeficientes de atividade) (COLLINS et al. Fundamentos de cromatografia. 2006).

[013] Para o teste de oviposição, uma solução estoque de 100 mL com concentração de 2500 ppm foi preparada, usando 0,250 mg de gordura solubilizada em 0,5 mL de Tween[®] 80 como cosolvente. A solução estoque foi diluída adicionando-se água destilada para se obter as concentrações desejadas para os testes. Para solução controle 0,5 mL de Tween[®] 80 foi diluída em 100 mL de água destilada. Na Figura 1 é mostrado o aspecto homogêneo da solução estoque utilizado para os testes de oviposição. As concentrações testadas variaram de 100 a 2500 ppm. Para o bioensaio deterrente de oviposição foram utilizadas dez fêmeas grávidas de *Aedes aegypti* em gaiolas de bioensaio (33 x 21 x 30 cm). Na Figura 2 é mostrada as gaiolas utilizadas no bioensaio de oviposição. Em cada gaiola foi posto dois copos descartáveis de 50 mL com papéis de filtro quadrados (L= 7cm), colocados na superfície interna dos copos para dar um suporte para a oviposição. Na Figura 3 é mostrado o copo teste e o copo controle utilizado no bioensaio. O volume total de cada solução (teste e controle) foi de 25 mL. Os copos foram dispostos na diagonal no interior das gaiolas e de modo alternado. As gaiolas foram mantidas em temperatura de 27±0,5°C, e umidade relativa de 73±0,4%, por 16 horas no escuro. Findado este período, a resposta de oviposição foi determinada a partir do número de ovos presente em cada um dos papéis de filtro. O experimento foi repetido oito vezes e os dados foram analisados utilizando o “Teste-t de Student”, onde os valores de $p < 0,05$ foram considerados para representar diferenças significativas entre os valores médios (AUTRAN et al. Bioresource. Technol. 2009).

[014] Os testes de oviposição frente às fêmeas do *Aedes aegypti* foram realizados com o objetivo de verificar a resposta de oviposição das fêmeas para os compostos voláteis presentes na gordura de *Mangifera indica*. Os testes demonstraram significativa resposta destes compostos voláteis como deterrentes de oviposição para as fêmeas do *Aedes aegypti*. Os resultados especificados neste relatório foram de duas variedades por apresentarem valores distintos, uma vez que as demais variedades de *Mangifera indica* também apresentaram estes mesmos valores. As concentrações que apresentaram resposta significativa foram de 348 e 408 ppm para todas as gorduras de *Mangifera indica*. A solução de concentração 348 ppm, apresentou atividade deterrente de oviposição, tendo preferência das fêmeas de $76,11 \pm 4,29\%$ nos copos com solução controle em relação aos copos com solução teste. A solução de concentração 408 ppm, teve preferência de $73,69 \pm 5,02\%$ nos copos com solução controle em relação aos copos com solução teste. Na Figura 4 é mostrado o gráfico do resultado do bioensaio de oviposição da gordura de *Mangifera indica*, na concentração de 348 ppm. Já na Figura 5 é mostrado o gráfico do resultado para a concentração de 408 ppm.

[015] Pelo bioensaio de oviposição de amostras representativas da solução apresentada neste relatório mostrou que ocorreu mais de 70% de inibição para a postura dos ovos pelas fêmeas do *Aedes aegypti*, sendo assim uma excelente alternativa para se combater a propagação dos mosquitos *Aedes aegypti*. Outro ponto que se merece destaque é devido sua fonte primária ser de produtos de descartes domésticos e industriais, o que torna a solução com custo-benefício aceitável.

REIVINDICAÇÕES

1. DETERRENTE DE OVIPOSIÇÃO OBTIDO DA GORDURA DA AMÊNDOA DE *Mangifera indica* COMO INIBIDOR DE SÍTIOS DE POSTURA DE OVOS DE *Aedes aegypti*, caracterizado por ser uma solução obtida da gordura da amêndoa de *Mangifera indica* e extraída por extração contínua via solvente apolar quente e destilação.
2. DETERRENTE DE OVIPOSIÇÃO OBTIDO DA GORDURA DA AMÊNDOA DE *Mangifera indica* COMO INIBIDOR DE SÍTIOS DE POSTURA DE OVOS DE *Aedes aegypti* de acordo a reivindicação 1, caracterizado pela solução encontrar-se em formulações líquidas, sólidas ou em qualquer outro estado da matéria (sol, gel, sol-gel).
3. DETERRENTE DE OVIPOSIÇÃO OBTIDO DA GORDURA DA AMÊNDOA DE *Mangifera indica* COMO INIBIDOR DE SÍTIOS DE POSTURA DE OVOS DE *Aedes aegypti* de acordo a reivindicação 1 e 2, caracterizado pela solução ser produzida, elaborada, associada ou incorporada em qualquer tipo de material nano-estruturado, polímero, sol-gel, gel e ou cerâmica.
4. PROCESSO DE EXTRAÇÃO DA GORDURA DA AMÊNDOA DE *Mangifera indica* NA PRODUÇÃO DE DETERRENTE DE OVIPOSIÇÃO COMO INIBIDOR DE SÍTIOS DE POSTURA DE OVOS DE *Aedes aegypti* caracterizado pela trituração da amêndoa seca, extração contínua via solvente apolar quente e destilação.
5. PROCESSO DE PRODUÇÃO DE DETERRENTE DE OVIPOSIÇÃO OBTIDO DA GORDURA DA AMÊNDOA DE *Mangifera indica* COMO INIBIDOR DE SÍTIOS DE POSTURA DE OVOS DE *Aedes aegypti* de acordo com a reivindicação 4, caracterizado por produção de solução da gordura vegetal, com cosolvente e água.

FIGURAS

Figura 1:



Figura 2:



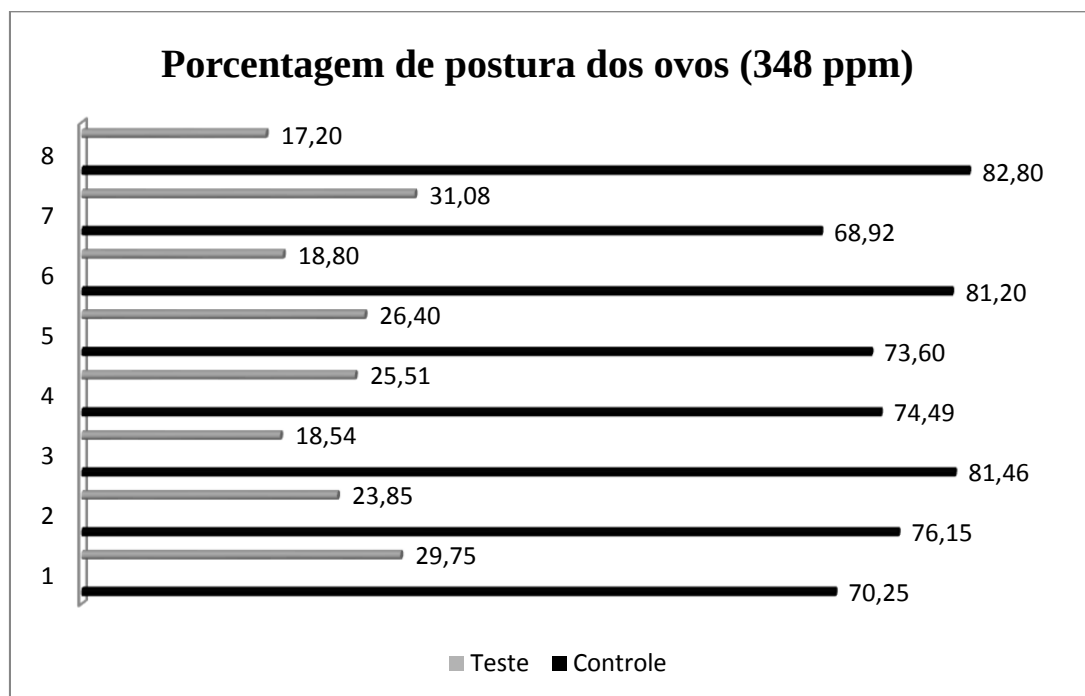
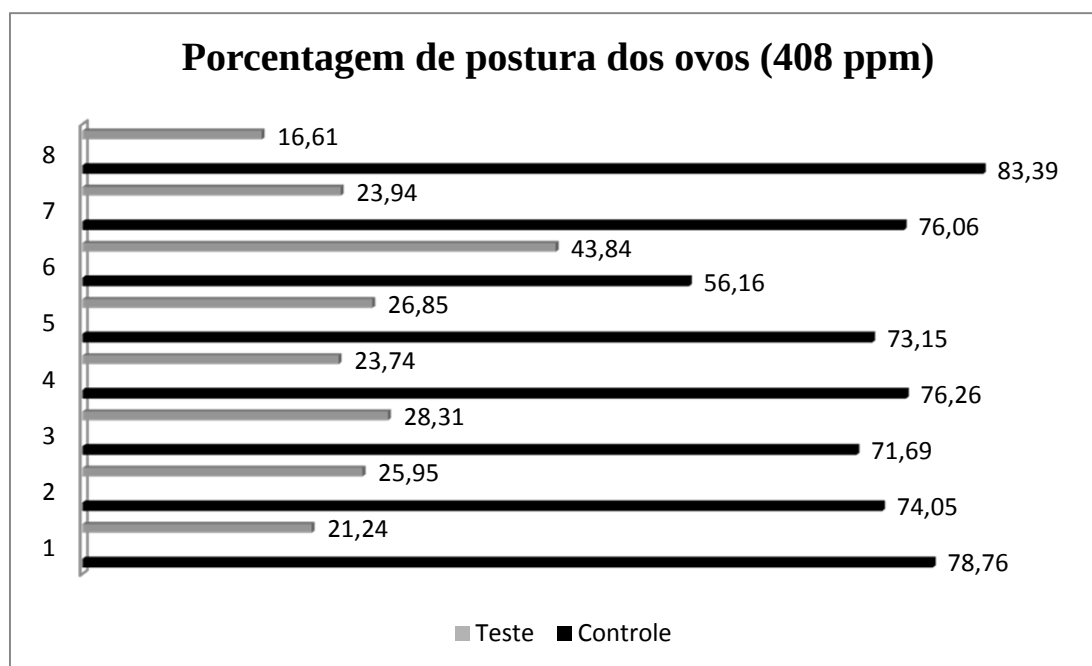
Figura 3:**Figura 4:**

Figura 5:

RESUMO

DETERRENTE DE OVIPOSIÇÃO OBTIDO DA GORDURA DA AMÊNDOA DE *Mangifera indica*, COMO INIBIDOR DE SÍTIOS DE POSTURA DE OVOS DO *Aedes aegypti*.

Uma solução com ação deterrente de oviposição e seu processo de obtenção à partir da gordura da amêndoa de *Mangifera indica*, tem ação biológica de sinergismo dos ácidos graxos nas concentrações aproximadas de 348 ppm e 408 ppm. A produção da gordura é realizada pela técnica de extração Soxhlet por Reboiler, um método simples e de baixo custo, que permite sua utilização direta em indústrias inseticidas e secretarias de saúde e vigilância ambiental estadual. A caracterização da gordura foi feita pelo método de Cromatografia Gasosa, acoplado a Espectroscopia de Massa (GC-MS). Para o bioensaio de deterrente de oviposição, utilizou-se solução estoque de 2500 ppm, que fora diluída com água destilada para obtenção das concentrações a serem testadas. Foram utilizadas fêmeas grávidas de *Aedes aegypti*, disponíveis em gaiolas de oviposição. Os resultados mostraram boa interação da gordura com o co-solvente e água destilada, formando uma solução homogênea, que em concentrações não tóxicas, possa ser colocada em ninchos aquáticos sem prejudicar outras espécies animais. A solução deterrente de oviposição inibiu mais de 70% das posturas de ovos pelas fêmeas de *Aedes aegypti*, mostrando-se uma alternativa positiva para combater a propagação dos mosquitos. Adicionado a sua ação, o fato de ter sua matéria-prima oriunda de produtos de descartes, possibilita sua produção em grande escala, vinculado à diminuição da poluição ambiental que este rejeito proporciona, devido sua produção em toneladas anualmente.