República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102019010554-2 A2

(22) Data do Depósito: 23/05/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 01/12/2020

(54) Título: DETERRENTE DE OVIPOSIÇÃO PARA O AEDES AEGYPTI DA MICROEMULSÃO DO ÓLEO DE EUGENIA UNIFLORA

(51) Int. Cl.: A01N 65/28; A01N 25/04; A01P 7/04.

(52) CPC: A01N 65/28; A01N 25/04.

(71) Depositante(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO; UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO - UFRPE.

(72) Inventor(es): EDNA BARBOZA DE LIMA; DANIELA MARIA DO AMARAL FERRAZ E NAVARRO; CLÁUDIO AUGUSTO GOMES DA CÂMARA; JÚLIO CÉSAR RIBEIRO DE OLIVEIRA FARIAS DE AGUIAR.

(57) Resumo: Uma microemulsão capaz de inibir a postura de ovos de mosquitos fêmeas de Aedes aegypti. A extração do óleo essencial foi realizada pela técnica de hidrodestilação. A identificação e caracterização do óleo essencial de Eugenia uniflora foi realizada através das técnicas de Cromatografia Gasosa (GC) e Cromatografia Gasosa acoplada com espectrômetro de massa (GC-MS). No bioensaio de oviposição foi utilizada uma solução estoque de 100 ppm que posteriormente foi diluída até a concentração desejada. Na oviposição foram utilizadas 8 gaiolas nos experimentos sendo que cada gaiola continha uma quantidade de 10 fêmeas grávidas de Aedes aegypti. Dentro de cada gaiola havia dois copos contendo papel de filtro em seu interior juntamente com as soluções controle e teste (microemulsão). Os resultados obtidos mostraram que na concentração de 5 ppm a microemulsão foi capaz de inibir a postura de ovos de mosquitos fêmeas de Aedes aegypti em 65,5% e na concentração de 50 ppm essa deterrência na oviposição foi de 73,66%, o que mostra que a micromulsão testada foi capaz de inibir a postura de ovos de fêmeas de Aedes aegypti em mais de 65%.

DETERRENTE DE OVIPOSIÇÃO PARA O *Aedes aegypti* DA MICROEMULSÃO DO ÓLEO DE *Eugenia uniflora*

[01] A presente invenção refere-se a uma microemulsão constituída por um sistema isotrópico termodinamicamente estável na qual o óleo da *Eugenia uniflora* encontra-se disperso entre meio aquaso, solvente e surfactante, essa microemulsão formada é capaz de inibir a postura de ovos do mosquito fêmea *Aedes aegypti* em ambientes contendo água parada.

[02] A microemulsão formada impede que fêmeas grávidas de *Aedes aegypti* depositem seus ovos no ambiente, reduzindo assim o número de criadouros e consequentemente o número de larvas e mosquitos no meio ambiente.

[03] O produto desenvolvido atinge a fase inicial de propagação do vetor *Aedes aegypti* com isso tal microemulsão ajudará a reduzir o número de insetos vetores no ambiente e com isso reduzirá o número de casos futuros de enfermidades causadas por tais insetos, assim poderá ser um grande aliado das vigilâncias epidemiológica, entomológica e ambiental e um nicho de mercado para as indústrias de inseticidas e repelentes.

[04] Atualmente o que temos no mercado são produtos larvicidas, inseticidas e repelentes tópicos para o mosquito *Aedes aegypti*, porém não foi encontrado nenhum produto feito a partir de microemulsão de óleo de *Eugenia uniflora* como deterrente de oviposição para *Aedes aegypti*.

[05] Após copularem, as fêmeas do mosquito *Aedes aegypti* depositam seus ovos em ambientes aquáticos e dão início a um novo ciclo biológico.

[06] Cada fêmea de *Aedes aegypti* é capaz de por até 200 ovos por postura e os mesmos podem permanecer no ambiente por até 1 ano sem eclodirem, isso se dá devido fenômeno de diapausa na qual mesmo em ambientes secos, ovos permanecem ativos até que surja um ambiente favorável para seu desenvolvimento.

[07] Com o intuito de inibir a postura de ovos de fêmeas grávidas de *Aedes aegypti* desenvolveu-se uma microemulsão formada a partir do óleo de *Eugenia uniflora*, através do qual o processo de oviposição é reduzido em níveis significativos, proporcionando assim uma diminuição do número de mosquitos *Aedes aegypti* acarretando futuramente na diminuição do número de enfermidades como: Dengue, Chikungunya, Zika, Microcefalia e Febre Amarela.

[08] A microemulsão do óleo de *Eugenia uniflora* age no sistema nervoso periférico da fêmea do mosquito *Aedes aegypti* na qual estão inseridos os órgãos de sentido, assim ao captar o odor dos compostos presentes na microemulsão os transformam em impulsos nervosos que conduzirão a mudanças comportamentais frente a oviposição.

[09] O processo de obtenção da microemulsão inicia-se com a coleta de folhas frescas de *Eugenia uniflora*; posteriormente tais folhas são trituradas e postas em aparelho de Clevenger para realização da hidrodestilação a temperatura de 100ºC; após extração do óleo o mesmo é disperso num sistema isotrópico formado por hexano, água destilada e Tween® 80 (tensoativo).

[10] A identificação e caracterização do óleo foi realizada através das técnicas de Cromatografia Gasosa (GC) e Cromatografia Gasosa acoplada com espectrômetro de massa (GC-MS).

[11] Foram realizados testes de eletroantenografia (EAD) com o óleo de *Eugenia uniflora* em antenas de mosquitos fêmeas de *Aedes aegypti* e os resultados obtidos mostraram que alguns compostos presentes no óleo foram eletrofisiologicamente ativos, ou seja, a fêmea do *Aedes aegypti* através das sensilas reconhece os receptores químicos a que estão sendo submetidas, com isso transformam esses estímulos em impulsos nervosos na qual irão mudar o seu comportamento frente a oviposição.

[12] No teste de deterrência de oviposição, foi preparada uma solução estoque de concentração 100 ppm, usando 10 mg do óleo de *Eugenia uniflora,*

solubilizado em 1 mL de hexano e 0,5 g de Tween® 80; posteriormente foi acrescida água destilada até volume final de 100 mL em balão volumétrico.

[13] A solução utilizada como controle também foi preparada em balão volumétrico de 100 mL adicionando-se 1 mL de hexano, 0,5 g de Tween® 80 e água destilada até marca do menisco.

[14] Foram testadas concentrações da microemulsão do óleo de *Eugenia uniflora* que variam de 5 a 50 ppm.

[15] Os bioensaios de deterrência de oviposição foram realizados com 80 fêmeas grávidas de *Aedes aegypti* acondicionadas em gaiolas de metal e acrílico no tamanho (33 x 21 x 30 cm), cobertas com tecido, conforme mostrado na Figura 1.

[16] Foram utilizadas 8 gaiolas nos bioensaios de deterrência de oviposição, cada gaiola continha 10 fêmeas grávidas de *Aedes aegypti* e 2 copos de vidro com papel filtro em seu interior contendo 25 mL de solução dispostos lateralmente no interior de cada gaiola (cada papel de filtro possuía 12 cm de comprimento e largura).

[17] Os copos contidos no interior das gaiolas foram distribuídos de forma randômica, sendo sempre um copo contendo uma solução controle e um copo contendo uma solução teste (microemulsão).

[18] Durante os bioensaios as fêmeas de *Aedes aegypti* ficaram no escuro por 16h, sendo aclimatizadas a temperatura de 27 ± 1ºC e umidade relativa de 70 ± 5%.

[19] Após término das 16h, no escuro, os copos contendo as soluções controle e teste, foram retirados do interior das gaiolas e o número de ovos, contidos em cada papel filtro foram contabilizados, conforme mostrado na Figura 2.

[20] Todos os dados foram estatisticamente analisados utilizando o teste t de Student, onde valores com $p<0,05$ dão evidência a hipótese alternativa, ou seja, o conjunto de dados analisados possuem diferenças significativas entre os valores médios.

[21] Os bioensaios foram realizados com intuito de analisar o comportamento das fêmeas grávidas de *Aedes aegypti* frente a oviposição quando os mosquitos são submetidos ao odor gerado pelos compostos voláteis presentes na microemulsão do óleo de *Eugenia uniflora*.

[22] Os resultados encontrados mostraram que houve uma diferença significativa entre o número de ovos presentes no controle e o número de ovos presentes no teste (microemulsão).

[23] Tanto a concentração de 5 ppm quanto a concentração de 50 ppm apresentaram redução do número de ovos postos pela fêmea no copo com a microemulsão frente o copo com a amostra controle.

[24] Na concentração de 5 ppm a microemulsão apresentou um percentual de deterrência na oviposição de 65,5%, enquanto que na concentração de 50 ppm a mesma apresentou uma deterrência na oviposição de 73,66%.

[25] A Figura 3 mostra o gráfico do resultado obtido para a microemulsão na concentração de 5 ppm e a Figura 4 mostra o gráfico do resultado obtido para a microemulsão na concentração de 50 ppm.

[26] Ambas amostras testadas mostraram um percentual de deterrência de mais de 65% para oviposição e a microemulsão na concentração de 50 ppm apresentou uma deterência de mais de 70% para oviposição, isso indica que a microemulsão do óleo de *Eugenia uniflora* é capaz de inibir em mais de 65% a postura de ovos para fêmeas grávidas de *Aedes aegypti*.

[27] A microemulsão do óleo de *Eugenia uniflora* além de ser capaz de inibir a postura de ovos de mosquitos fêmeas de *Aedes aegypti* possui um baixo custo de produção, fácil manuseio, toxicidade baixa e elevada possibilidade na aplicabilidade comercial.

REIVINDICAÇÕES

[01] DETERRENTE DE OVIPOSIÇÃO PARA O *Aedes aegypti* DA MICROEMULSÃO DO ÓLEO DE *Eugenia uniflora*, caracterizado por ser uma solução obtida a partir do óleo de *Eugenia uniflora* e extraída pelo processo de hidrodestilação.

[02] DETERRENTE DE OVIPOSIÇÃO PARA O *Aedes aegypti* DA MICROEMULSÃO DO ÓLEO DE *Eugenia uniflora* de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pela dispersão entre meio aquoso, solvente e surfactante.

[03] DETERRENTE DE OVIPOSIÇÃO PARA O *Aedes aegypti* DA MICROEMULSÃO DO ÓLEO DE *Eugenia uniflora* de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizado por ser um sistema isotrópico, termodinamicamente estável.

[04] DETERRENTE DE OVIPOSIÇÃO PARA O *Aedes aegypti* DA MICROEMULSÃO DO ÓLEO DE *Eugenia uniflora* de acordo com as reivindicações 1, 2 e 3, caracterizado pela solução ser adicionada ou incorporada a materiais nano-estruturados, poliméricos e ou cerâmicos.

[05] DETERRENTE DE OVIPOSIÇÃO PARA O Aedes aegypti DA MICROEMULSÃO DO ÓLEO DE *Eugenia uniflora* de acordo com as reivindicações 1, 2 e 3, caracterizado pela produção de um sistema opticamente transparente, isotrópico e de baixa viscosidade.

FIGURAS

Figura 1:

Figura 2:

Figura 3:

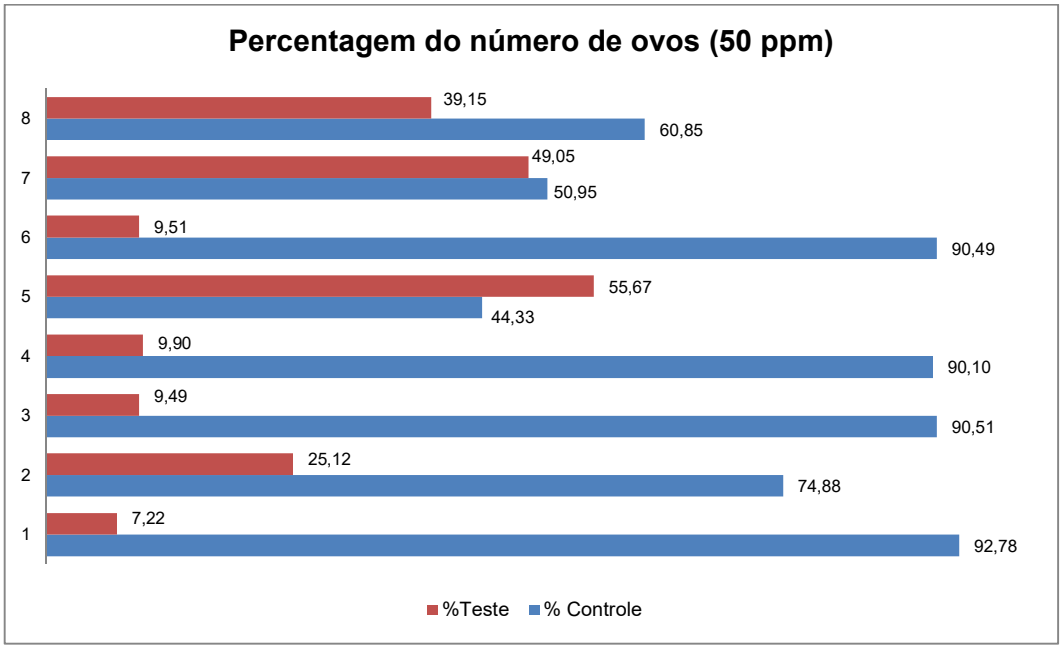
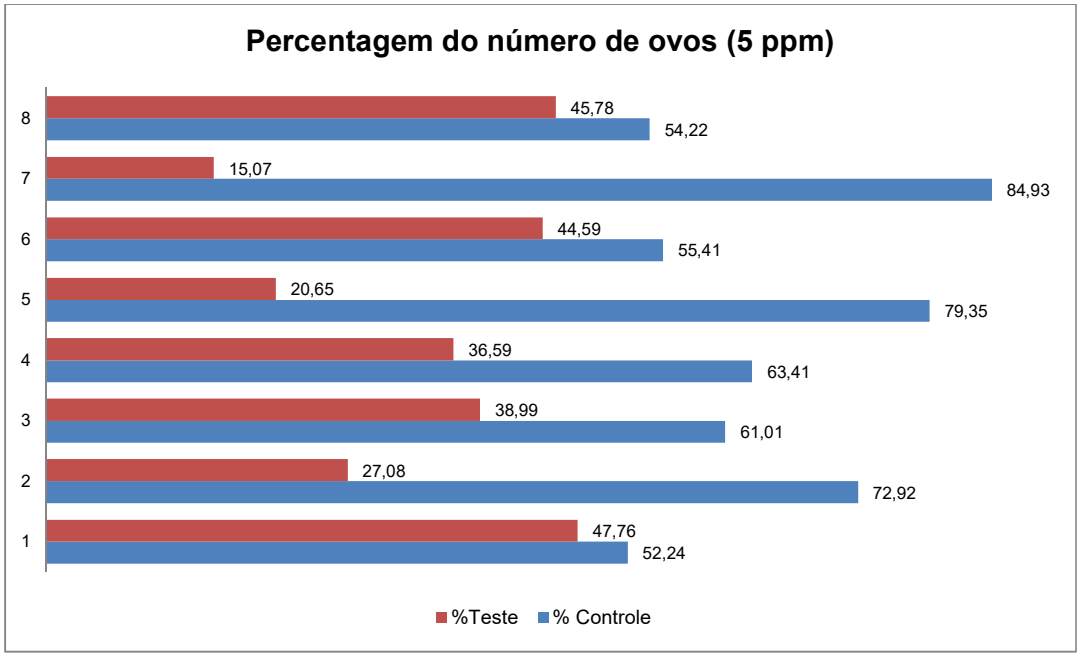


Figura 4:



RESUMO

DETERRENTE DE OVIPOSIÇÃO PARA O *Aedes aegypti* DA MICROEMULSÃO DO ÓLEO DE *Eugenia uniflora*

Uma microemulsão capaz de inibir a postura de ovos de mosquitos fêmeas de *Aedes aegypti*. A extração do óleo essencial foi realizada pela técnica de hidrodestilação. A identificação e caracterização do óleo essencial de *Eugenia uniflora* foi realizada através das técnicas de Cromatografia Gasosa (GC) e Cromatografia Gasosa acoplada com espectrômetro de massa (GC-MS). No bioensaio de oviposição foi utilizada uma solução estoque de 100 ppm que posteriormente foi diluída até a concentração desejada. Na oviposição foram utilizadas 8 gaiolas nos experimentos sendo que cada gaiola continha uma quantidade de 10 fêmeas grávidas de *Aedes aegypti*. Dentro de cada gaiola havia dois copos contendo papel de filtro em seu interior juntamente com as soluções controle e teste (microemulsão). Os resultados obtidos mostraram que na concentração de 5 ppm a microemulsão foi capaz de inibir a postura de ovos de mosquitos fêmeas de *Aedes aegypti* em 65,5% e na concentração de 50 ppm essa deterrência na oviposição foi de 73,66%, o que mostra que a micromulsão testada foi capaz de inibir a postura de ovos de fêmeas de *Aedes aegypti* em mais de 65%.