

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA**

HÉLINA DOS SANTOS NASCIMENTO

**DESENVOLVIMENTO DE BIOPRODUTOS DERIVADOS DO LÍQUIDO DA
CASCA DA CASTANHA DE CAJU TÉCNICO COM POTENCIAL LARVICIDA
CONTRA *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)**

TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL

**DOURADOS-MS
Fevereiro/2022**

HÉLINA DOS SANTOS NASCIMENTO

**DESENVOLVIMENTO DE BIOPRODUTOS DERIVADOS DO LÍQUIDO DA
CASCA DA CASTANHA DE CAJU TÉCNICO COM POTENCIAL LARVICIDA
CONTRA *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)**

Exame de Defesa submetido ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Grande Dourados, como um dos requisitos necessários para a obtenção do título de Doutora em Ciência e Tecnologia na área de concentração Ciência Ambiental.

Orientadora: Profa. Dra. Alexeia Barufatti
Coorientadores: Prof. Dr. Bruno do Amaral Crispim
Prof. Dr. Eduardo José de Arruda

Dourados, 17 de fevereiro de 2022.

**Dourados-MS
Fevereiro/2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

N244d Nascimento, Héliana Dos Santos
DESENVOLVIMENTO DE BIOPRODUTOS DERIVADOS DO LÍQUIDO DA CASCA DA
CASTANHA DE CAJU TÉCNICO COM POTENCIAL LARVICIDA CONTRA *Aedes aegypti*
(Diptera: Culicidae) [recurso eletrônico] / Héliana Dos Santos Nascimento. -- 2022.
Arquivo em formato pdf.

Orientadora: Alexeia Barufatti.
Coorientadores: Bruno do Amaral Crispim , Eduardo José de Arruda.
Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Ambiental)-Universidade Federal da Grande
Dourados, 2022.
Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Toxicidade. 2. dengue. 3. resíduo agroindustrial. 4. segurança ambiental. 5. Anacardium
occidentale. I. Barufatti, Alexeia. II. Crispim, Bruno Do Amaral. III. Arruda, Eduardo José De. IV.
Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

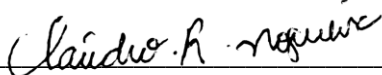
©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

Termo de Aprovação

Após apresentação, arguição e apreciação pela banca examinadora, foi emitido o parecer APROVADO, para a tese intitulada: **“Desenvolvimento de bioprodutos derivados do líquido da casca da castanha de caju técnico com potencial larvicida contra *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)”**, de autoria de **Héline dos Santos Nascimento**, apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Grande Dourados.



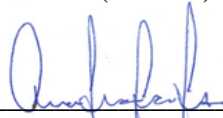
Prof.^a Dr.^a Alexeia Barufatti - (Participação Remota Síncrona)
Presidente da banca examinadora



Prof. Dr. Claudio Rodrigo Nogueira (participação remota)
Membro Examinador (UFGD)



Prof.^a Dr.^a Kelly Mari Pires de Oliveira - (Participação Remota Síncrona)
Membro Examinador (UFGD)



Prof.^a Dr.^a Ana Tereza Gomes Guerrero- (Participação Remota Síncrona)
Membro Examinador (Fiocruz)



Prof.^a Dr.^a Claudia Andrea Lima Cardoso - (Participação Remota Síncrona)
Membro Examinador (UEMS)

Dourados/MS, 17 de fevereiro de 2022.

DEDICATÓRIA

A minha mãe, Tânia!

A população!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me cercado de pessoas boas ao longo da minha caminhada até aqui, que tanto me incentivaram, ensinaram e nunca me deixaram desistir.

Sou grata à minha família, em especial minha mãe Tânia, que sempre foi exemplo de força, honestidade e amor. Sempre me ensinou que com esforço e fé posso alcançar meus objetivos. À minha irmã Hevelly Santos pela ajuda e companheirismo. Ao Isac Alves por todo apoio e carinho.

À minha professora, orientadora, amiga e segunda mãe, Dra. Alexeia Barufatti. Agradeço imensamente por ter acreditado em mim, me concedido a oportunidade de trabalhar com a senhora e sua equipe. Agradeço por todo carinho, dedicação, preocupação que teve para comigo e minha família. Nos momentos mais difíceis você esteve ao meu lado e auxiliou toda minha família, fazendo o possível e o impossível para nos ajudar. Vejo em ti um amor infinito e agradeço a Deus pela oportunidade de te conhecer e passar os melhores anos de minha vida ao seu lado, adquirindo um pouco da sua sabedoria, bondade e experiência. Minha admiração por você é infundável.

Ao meu coorientador, Dr. Bruno do Amaral Crispim, por todo apoio, ensinamento e orientação durante o desenvolvimento da pesquisa. Agradeço, ainda mais, por fazer parte da minha vida, sendo muito mais que um amigo, pois te considero um irmão! Não há palavras para expressar o quanto sou grata a você, pois durante todo esse período esteve ao meu lado, sendo muito mais que um coorientador. Hoje você faz parte da minha história, da minha família e espero que essa amizade e parceria seja infinita. Irmão, tenho você como exemplo, pois carinho, bondade, responsabilidade, foco, fé, força, persistência, coragem, alegria, lealdade e principalmente amor, são algumas das muitas qualidades que vejo em você e te tornam ainda mais especial. Suas ações e atitudes te definem e você não imagina o quanto eu te admiro. Muito obrigada por tudo!

Ao meu coorientador, Dr. Eduardo José de Arruda, por toda paciência e por compartilhar comigo o conhecimento que carrega. Muito obrigada pelos ensinamentos e por ser para mim exemplo de coragem, perseverança e fé.

Ao Prof. Dr. Fábio Kummrow, por todo auxílio, esforço e empenho dedicado a esta pesquisa. Minha gratidão é imensa, pois durante todo esse período sempre esteve disposto a me ajudar, aconselhar e ensinar. Muito obrigada! não somente pelos ensinamentos, mas também por sua amizade.

Aos meus amigos, Bruno Crispim, Felipe Merey, Milena Melo, Lucilene Viana, Sheila Nogueira e Alexeia Barufatti, cujo apreço eu não consigo mensurar. Muito obrigada mesmo, por estarem sempre ao meu lado, por se fazerem presentes em momentos bons e ruins, nunca me esquecerei de nossas reuniões e das boas risadas.

A equipe LECOGEN, Alexeia Barufatti, Bruno Crispim, Felipe Merey, Lucilene Viana, Sheila Nogueira, Milena Melo, Nathalya Lima, Sabrina Luz, Marina Schibichewski, Lígia Germano, Danielle Pedruzzi, Guilherme Lampugnani, Mariana Sacht, Guilherme Wince e Tainara Carvalho, que são também minha família. Obrigada pelos momentos de descontração, por toda ajuda e apoio e principalmente pela alegria que vocês transmitem.

A Sabrina Luz por toda ajuda, paciência e apoio durante parte da pesquisa na “pandemia”, pois sua dedicação e comprometimento me auxiliou durante esse período, além disso, agradeço por sua simpatia e amizade.

Ao Guilherme Lampugnani por todo auxílio e dedicação na realização dessa pesquisa, pelas conversas e risadas durante as reuniões, agradeço por sua amizade, colaboração e esforço.

À Universidade Federal da Grande Dourados por ter me concedido a oportunidade de cursar a pós-graduação.

*Aos órgãos financiadores Fundect, CNPq e CAPES pelo apoio financeiro à pesquisa e concessão de bolsa de pós-graduação. A Indústria de Castanhas (RESIBRAS, Fortaleza, CE, Brasil) pelo fornecimento do Líquido da Casca da Castanha de caju técnico para síntese dos bioprodutos. A Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN, Marília, SP, Brasil) e o Instituto de Biociências da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS, Brasil) por fornecerem os ovos de *Ae. aegypti* (Rockefeller). A AQUAFORTE (Dourados, MS) pela doação dos alevinos de tilápia utilizados na pesquisa. Ao Prof. Dr. Ricardo Augusto Passos e sua equipe, pela coleta e doação de ovos de *Ae. aegypti* (Urbana).*

A todos que não citei, mas que de alguma forma contribuíram para o meu desenvolvimento acadêmico e possibilitou a realização deste trabalho.

RESUMO

Os vírus da Dengue, Zika, Chikungunya e Febre Amarela possuem, em comum, o mesmo vetor de transmissão, o mosquito *Aedes aegypti*, o qual é adaptado ao ambiente urbano e periurbano, com maior incidência em países tropicais e subtropicais. Dentre as arboviroses transmitidas pelo vetor, a Dengue é a que causa maior impacto para sociedade. O controle populacional do *Ae. aegypti* vem sendo realizado por meio do uso de inseticidas e larvicidas químicos ou biológico. No entanto, os níveis de resistência do inseto aos produtos normalmente utilizados, tornam essas formas de controle ineficientes. Deste modo, é importante a busca por novos produtos larvicidas. Assim, pode-se destacar aqueles oriundos de fontes naturais, principalmente os provenientes de resíduos agroindustriais, pois apresentam simplicidade tecnológica, baixo custo, multifuncionalidade, e ação em diferentes microambientes, constituindo uma alternativa viável para o controle de vetores. É importante ressaltar que as características apresentadas por esse tipo de produtos os vinculam aos princípios da “Química Verde”. Produtos provenientes de resíduos agroindustriais de origem vegetal, podem atuar como ovicidas, larvicidas, reguladores de crescimento de insetos, repelentes e até mesmo como atrativos para oviposição. Dentre os diferentes resíduos agroindustriais podemos destacar o Líquido da Casca de Castanha de Caju técnico (LCCT), proveniente da tostagem da castanha de caju (*Anacardium occidentale*) com atividade inseticida e larvicida contra *Ae. aegypti*. Assim, com a meta de produzir novos bioprodutos a partir de neutralizações parciais do LCCT com bases inorgânicas e orgânicas, o objetivo deste trabalho foi avaliar suas atividades como: larvicida para *Ae. aegypti*, bactericida e fungicida. Além disso, avaliar também a toxicidade dos bioprodutos em organismos não-alvo. Para tanto, a avaliação da atividade larvicida dos bioprodutos auto-emulsionáveis, LCCTNa, LCCTK, LCCTMEA, LCCTDEA e LCCTTEA, obtidos por neutralização parcial do LCCT, foi realizada utilizando larvas de 3º e 4º instar de *Ae. aegypti*. Para avaliar o potencial ecotoxicológico dos bioprodutos, foram realizados testes de toxicidade crônica com *Pseudokirchneriella subcapitata* (algas) e testes de toxicidade aguda com *Daphnia similis* (microcrustáceos) e *Oreochromis niloticus* (peixes). Todos os bioprodutos obtidos apresentaram atividade larvicida contra *Ae. aegypti*. A atividade bactericida foi observada para os bioprodutos LCCTNa, LCCTMEA, LCCTDEA e LCCTTEA, exceto LCCTK. Nenhum dos bioprodutos apresentaram atividade fungicida. Em relação aos efeitos ecotoxicológicos, a *D. similis* foi o organismo que apresentou maior sensibilidade para os bioprodutos LCCTNa, LCCTK e LCCTDEA, seguido de *P. subcapitata* e *O. niloticus*. Para o LCCTMEA e LCCTTEA os mais sensíveis foram *D. similis*, seguido de *P. subcapitata* e *O. niloticus*. Com base em nossos resultados, os bioprodutos obtidos podem ser considerados larvicidas eficazes para o controle *Ae. aegypti*. Além disso, por serem oriundos de resíduos agroindustriais, corroboram com redução do impacto ambiental, atendendo os princípios da “Química Verde”, possibilitando a diminuição de descarte de resíduos em meio ambiente.

Palavras-chave: Toxicidade, Dengue, resíduo agroindustrial, segurança ambiental.

ABSTRACT

Dengue, Zika, Chikungunya and Yellow Fever viruses have, in common, the same transmission vector, *Aedes aegypti* mosquito. *Ae. aegypti* is an arthropod adapted to the urban and peri-urban environment, with higher incidence in tropical and subtropical countries. Among the arboviruses transmitted by *Ae. aegypti*, Dengue is among the diseases with the greatest social impact. *Ae. aegypti* populations control has been carried out through the use of chemical and/or biological insecticides and larvicides. However, the levels of resistance of the insect to the products normally used, make these forms of control inefficient. The search for new larvicidal products where we can highlight those from natural sources, especially those from agro-industrial waste, as they present technological simplicity, low cost, multifunctionality, and action in different microenvironments, constitute a viable alternative for vector control. It is important to note that the characteristics presented by this type of products link them to the principles of “Green Chemistry”. Particularly products based on agro-industrial residues of plant origin, can act as ovicides, larvicides, insect growth regulators, repellents and as attractive for oviposition. Among the different agro-industrial residues, we can highlight the technical Cashew Nut Shell Liquid (tCNSL), from the toasting of the cashew nut (*Anacardium occidentale*) with insecticidal and larvicidal activity against *Ae. aegypti*. Our objective was to produce new bioproducts obtained from partial neutralization of tCNSL with inorganic (NaOH and KOH) and organic (MEA, DEA and TEA) bases and to evaluate their larvicidal activity for *Ae. aegypti*. bactericide and fungicide. In addition, also evaluate the toxicity of bioproducts in non-target organisms. The evaluation of the larvicidal activity of the self-emulsifiable bioproducts, obtained by partial neutralization of tCNSL, LCcNa, LCcK, LCcMEA, LCcDEA and LCcTEA was carried out using *Ae. aegypti* 3rd and 4th *instar* larvae. To assess bioproducts ecotoxicological potential, chronic toxicity tests were performed with *Pseudokirchneriella subcapitata* (algae), and acute toxicity tests with *Daphnia similis* (microcrustaceans) and *Oreochromis niloticus* (fish). All bioproducts obtained presented larvicidal activity against *Ae. aegypti*. Bactericidal activity was observed for the LCcNa, LCcMEA, LCcDEA and LCcTEA, except LCcK. None of the bioproducts showed fungicidal activity. Regarding the ecotoxicological effects, *D. similis* was the organism with highest sensitivity for LCcNa, LCcK and LCcDEA, followed by *P. subcapitata* and *O. niloticus*. For LCcMEA and LCcTEA, the most sensitive organisms were *D. similis*, followed by *P. subcapitata* and *O. niloticus*. Based on our results, the bioproducts obtained can be considered effective larvicides for *Ae. aegypti* control, in addition, in addition, as they come from agro-industrial residues, corroborate with the reduction of the environmental impact, complying with the principles of “Green Chemistry”, allowing the reduction of waste disposal in the environment.

Keywords: Toxicity, Dengue, residue agro-industrial, environmental safety.

LISTA DE ABREVIATURAS

ABNT-NBR	Associação Brasileira de Normas Técnicas – Norma técnica Brasileira
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CI ₅₀	Concentração Inibitória para 50% da população
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CE ₅₀	Concentração Efetiva para 50% da população
CFM	Concentração Fungicida Mínima
CHIKV	Vírus Chikungunya
CL ₅₀	Concentração Letal para 50% da população
CL ₉₀	Concentração Letal para 90% da população
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CN	Controle Negativo
DEA	Dietanolamina
DENV	Vírus Dengue
DMSO	Dimetilsulfóxido
FT-IR	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier <i>Fourier transform Infrared spectroscopy</i>
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IC	Intervalo de Confiança
KOH	Hidróxido de Potássio
LCCt	Líquido da Casca da Castanha de caju técnico
LCCn	Líquido da Casca da Castanha de caju natural
LCCtSNa	Sulfonato de Sódio
MEA	Monoetanolamina
NaOH	Hidróxido de Sódio
OECD	<i>Organisation for Economic Co-operation and Development</i>
PAHO	Organização Pan-Americana da Saúde <i>Pan American Health Organization</i>
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SVS-MS	Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde
TEA	Trietanolamina

WHO	Organização Mundial da Saúde <i>World Health Organization</i>
YFV	Vírus Febre Amarela
ZIKV	Zika vírus

LISTA DE SÍMBOLOS

cm^{-1}	Centímetros
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
g	Gramma
h	Horas
mg L^{-1}	Miligramas por Litro
mg g^{-1}	Miligramas por grama
mL	Mililitro
mm	Milímetro
nm	Nanômetro
μL	Microlitro
μm	Micrômetro
%	Porcentagem
>	Maior que
<	Menor que
\leq	Menor ou igual
\pm	Mais-menos
$\mu\text{S cm}^{-1}$	Microsiemens por centímetro

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1	08
ARTIGO DE REVISÃO: Subprodutos da cadeia produtiva da castanha de caju como alternativa para o desenvolvimento de produtos bioativos com atividade larvicida	08
Tabela 1. Atividade larvicida e pupicida do líquido da casca da castanha de caju natural (LCCn)	13
Tabela 2. Atividade larvicida e pupicida do líquido da casca da castanha de caju técnico (LCCt)	15
Tabela 3. Atividade ovicida, larvicida e pupicida do ácido anacárdico, isolado, do líquido da casca da castanha de caju natural (LCCn)	17
Tabela 4. Atividade larvicida do cardanol, isolado, do líquido da casca da castanha de caju técnico (LCCt).....	18
Tabela 5. Atividade larvicida do cardol, isolado, do líquido da casca da castanha de caju natural (LCCn) e técnico (LCCt).....	19
Tabela 6. Atividade larvicida de produtos obtidos a partir de modificações químicas no líquido da casca da castanha de caju natural, técnico e isolados	20
Tabela 7. Atividade larvicida dos subprodutos do caju	24
Tabela 8. Atividade larvicida das modificações químicas realizadas nos subprodutos do caju ..	25
CAPÍTULO 2	34
ARTIGO PUBLICADO: Bioativos Autoemulsificantes Derivados do Líquido da Casca da Castanha de Caju Técnico (LCCt) Desenvolvidos para Controlar populações de <i>Aedes aegypti</i>	34
Tabela 1. Concentração letal 50% (CL50) (mg L ⁻¹) de derivados bioativos de LCCt e seus constituintes incluindo LCCt contra larvas de <i>Ae. aegypti</i> linhagem Rockefeller	45
Tabela 2. Concentração letal 50% (CL50) (mg L ⁻¹) do LCCt e seus bioativos derivados contra larvas de <i>Ae. aegypti</i> linhagem Dourados.....	45
Tabela 3. Atividade larvicida (CL50) do líquido da casca da castanha de caju natural (LCC) e técnico (LCCt), seus constituintes, e produtos gerados por modificações químicas	47
Tabela 4. Atividade antimicrobiana dos bioativos derivados do LCCt contra bactérias e leveduras	48
Tabela 5. Concentração inibitória, efetiva e letal 50% dos bioativos derivados do LCCt em organismos teste	49
Tabela 6. Classificação ecotoxicológica de acordo com o protocolo da OECD [39] de produtos derivados do LCCt propostos como larvicidas	50
Informação Suplementar (IS)	57
Tabela 1. Atividade larvicida do LCCt e bioativos derivados para <i>Aedes aegypti</i> em linhagens Rockefeller e Dourados.....	58

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 2	34
ARTIGO PUBLICADO: Bioativos Autoemulsificantes Derivados do Líquido da Casca da Castanha de Caju Técnico (LCCT) Desenvolvidos para Controlar populações <i>Aedes aegypti</i>	34
Fig. 1. Espectros infravermelhos de transformada de Fourier do LCCT e seus bioativos derivados obtidos por neutralização parcial. As linhas pontilhadas em 3.338 e 1.065 cm^{-1} indicam estiramento de ligações O-H e C-N, respectivamente	44

SUMÁRIO

RESUMO	IV
ABSTRACT	V
1. INTRODUÇÃO GERAL	01
2. OBJETIVOS	03
2.1. Geral	03
2.2. Específicos	03
3. HIPÓTESE	04
4. REFERÊNCIAS	05
CAPÍTULO 1	08
ARTIGO DE REVISÃO: Subprodutos da cadeia produtiva da castanha de caju como alternativa para o desenvolvimento de produtos bioativos com atividade larvicida	08
RESUMO	09
RESUMO GRÁFICO	10
Introdução	11
O caju (<i>A. occidentale</i> L.) e sua cadeia produtiva	12
Atividade larvicida dos subprodutos do caju, seus isolados e produtos derivados .	13
<i>Atividade larvicida do líquido da casca da castanha de caju natural (LCCn)</i>	13
<i>Atividade larvicida do líquido da casca da castanha de caju técnico (LCCt)</i>	15
<i>Atividade larvicida dos isolados do líquido da casca da castanha de caju natural (LCCn) e técnico (LCCt)</i>	16
Ácido anacárdico e anacardato de sódio	16
Cardanol	17
Cardol	18
<i>Atividade larvicida dos produtos derivados do líquido da casca da castanha de caju natural (LCCn) e técnico (LCCt), e dos seus constituintes isolados</i>	19
<i>Modificações químicas no líquido da casca da castanha de caju natural (LCCn)</i>	21
<i>Modificações químicas no líquido da casca da castanha de caju técnico (LCCt)</i>	22
<i>Modificações químicas no ácido anacárdico</i>	23
<i>Modificações químicas no cardanol e cardol</i>	23
Conclusão	25
Referências	26

CAÍTULO 2	34
Artigo publicado: Bioativos autoemulsionáveis derivados do Líquido da Casca da Castanha de caju técnico (LCCT) desencilvidos para controle de populações de <i>Aedes aegypti</i>	34
Resumo	35
Resumo gráfico	37
Introdução	37
Seção Experimental	39
Materiais e produtos químicos	39
Caracterização química do LCCT	39
Síntese dos bioativos derivados do LCCT	39
Caracterização estrutural dos bioativos derivados do LCCT	40
Bioensaios	40
Atividade larvicida dos 5 bioativos derivados do LCCT contra <i>Aedes aegypti</i> ..	40
Atividade antimicrobiana dos bioativos derivados do LCCT	41
Microorganismos e cultura.....	41
Determinação da concentração inibitória mínima	41
Testes de toxicidade aguda e crônica dos 5 bioativos derivados do LCCT	42
Teste de toxicidade crônica em <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	42
Teste de toxicidade aguda em <i>Daphnia similis</i>	42
Teste de toxicidade aguda em <i>Oreochromis niloticus</i>	42
Análise estatística e classificação toxicológica	43
Resultados e discussão	43
Composição química do LCCT	43
Caracterização estrutural dos 5 bioativos derivados do LCCT	44
Atividade biológica	45
Atividade larvicida contra <i>Ae. aegypti</i>	45
Atividade antimicrobiana	48
Avaliação ecotoxicológica usando <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> , <i>Daphnia similis</i> e <i>Oreochromis niloticus</i>	49
Conclusão	51
Agradecimentos	51
Referências	52
Informação Suplementar (IS)	57
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	59

1. INTRODUÇÃO GERAL

As atividades agroindustriais produzem grandes quantidades de resíduos (Stenmarck et al., 2016), sendo estes descartados de forma inadequada ou utilizados como alimentação animal sem gerar ganhos econômicos significativos para a indústria (Nigam et al., 2009; Kermani et al., 2015). Além disso, estes resíduos promovem problemas ambientais como aumento da poluição de solos e corpos hídricos, podendo ocasionar problemas à saúde pública (Rosa et al., 2011; Jayeola et al., 2018). Devido a isso, a Química Verde vem demonstrando que o uso de técnicas alternativas pode auxiliar a minimização dos impactos na saúde humana e meio ambiente de forma economicamente viável (Anastas et al., 2002; Vaz, 2017).

A Química Verde é baseada em 12 princípios, sendo que um deles propõe a redução de resíduos e a síntese de produtos químicos com propriedades biológicas que possuam pouca ou nenhuma toxicidade a saúde humana e/ou meio ambiente (Anastas e Warner, 1998; ACS, 2020). Nesse sentido, a busca pela utilização de modo eficiente dos resíduos agroindustriais mostra-se necessária para garantir processos de síntese de produtos sustentáveis, ambientalmente seguros, economicamente viáveis e socialmente benéficos (Santana-Méridas et al., 2012; Madureira et al., 2020).

Os resíduos agroindustriais despertam grande interesse por serem provenientes de fontes naturais de compostos bioativos que, quando empregada tecnologia adequada, são convertidos em produtos comerciais de alto valor agregado (Laufenberg et al., 2003; Shirahigue e Ceccato-Antonini, 2020). Deste modo, destacam-se os subprodutos de *Anacardium occidentale*, conhecidos como líquido da casca da castanha de caju natural (LCCn), extraído por solventes, e técnico (LCCt), obtido por processamento industrial, que apresentam aplicações industriais e tecnológicas, tais como inseticidas e larvicidas (Guissoni et al., 2013; Dourado et al., 2015; Lomonaco et al., 2017; Jorge et al., 2020; Nascimento et al., 2022). Sendo assim, estes podem ser tornar viáveis para o combate de vetores, como *Aedes aegypti*.

Ae. aegypti é o principal vetor das arboviroses como a Dengue, Zika, Chikungunya e Febre amarela (PAHO, 2019). No entanto, o vírus da Dengue tem causado maior impacto na sociedade nos últimos anos (WHO, 2012; Patterson et al., 2016; Costa et al., 2018; PAHO, 2019), agravando a saúde da população (WHO, 2012; PAHO, 2019). A forma de amenizar a transmissão destas doenças tem sido por meio do controle do vetor com o uso de inseticidas químicos ou biológicos. Porém, os níveis de resistência de

algumas populações desta espécie de inseto aos produtos convencionais, tornam muitas vezes essas formas de controle ineficientes (WHO, 2009; Campbell et al., 2015; Amorim et al., 2019; Guedes et al., 2020). Deste modo, o uso de subprodutos agroindustriais, como o LCCt, que apresenta potencial larvicida contra *Ae. aegypti* pode auxiliar no controle na proliferação deste inseto.

Nesse sentido, modificações químicas vêm sendo realizadas no LCCt, visando melhorar a hidrossolubilidade e potencializar sua atividade larvicida. Dentre elas podemos destacar: a nanoemulsão (contendo LCCt, Tween e Span) com atividade larvicida para *Anopheles culicifacies* (Kala et al., 2019); a emulsão (LCCt + mistura LCCtSNa) que apresentou atividade larvicida contra *Ae. aegypti* (Jorge et al., 2020). No entanto, essa técnica de sulfonação é trabalhosa e possui alto custo.

Em pesquisa anterior, o LCCn foi modificado por meio da neutralização total, formando sal de sódio de LCCn, que apresentou atividade larvicida contra *Ae. aegypti* (Laurens et al., 1997). No entanto, a utilização do LCCt torna-se mais viável economicamente, em relação ao LCCn, por ser um resíduo proveniente de indústria produzido em grande escala e com baixo custo (Dourado et al., 2015). Devido a estas características e atividade larvicida promissora, o presente trabalho visa produzir larvicidas, através de tecnologia simples e de baixo custo, utilizando neutralizações parciais do LCCt com bases inorgânicas e orgânicas possibilitando a produção de sistemas auto-emulsionáveis para a potencialização da atividade larvicida do LCCt e manutenção das características dos surfactantes como atividade larvicida e solubilidade em água.

Sendo assim, este trabalho foi dividido em dois capítulos: a) **capítulo 1**, se trata de uma revisão, onde foi descrito, com base na literatura, o estado da arte referente ao uso dos subprodutos do caju, seus isolados e modificações químicas a partir destes no controle de vetores; b) **capítulo 2**, relata a síntese de novos bioprodutos a partir de neutralizações parciais do LCCt com bases inorgânicas e orgânicas, as atividades biológicas por meio de ensaios de atividades larvicida e antimicrobiana e a segurança ambiental desses bioprodutos empregando testes ecotoxicológicos.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Compilar dados na literatura referente ao potencial larvicida dos subprodutos do caju, seus isolados e modificações químicas, e produzir novos bioprodutos a partir de neutralizações parciais do LCCt com bases inorgânicas e orgânicas, avaliar suas atividades biológicas (larvicida, antimicrobiana) e segurança ambiental por meio de ensaios ecotoxicológicos em organismos não-alvo.

2.2. Específicos

- **Capítulo 1**

- Realizar busca, compilar os dados de artigos relacionados a atividade ovicida, larvicida e inseticida dos subprodutos do caju, seus isolados e as modificações químicas, em base de dados (ScienceDirect, SciELO e SCOPUS);

- **Capítulo 2**

- Neutralizar parcialmente o LCCt com bases inorgânicas (NaOH e KOH) e orgânicas (MEA, DEA e TEA);

- Determinar a concentração letal (CL50 e CL90) dos bioprodutos em larvas de *Ae. aegypti* (linhagens Rockefeller e Dourados);

- Avaliar a atividade antibacteriana dos bioprodutos frente a bactérias Gram positivas, *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus* e Gram negativas, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* Enteritidis;

- Avaliar a atividade antifúngica dos bioprodutos em *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis*;

- Determinar a toxicidade dos bioprodutos em organismos não-alvo, *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia similis* e *Oreochromis niloticus*, por meio ensaios ecotoxicológicos.

3. HIPÓTESE

Os bioativos a base do LCCT possui atividade larvicida contra *Ae. aegypti* e baixa toxicidade em organismos não-alvo.

4. REFERÊNCIAS

- ACS - AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, GREEN CHEMISTRY INSTITUTE. 12 principles of green chemistry, 2020. Disponível em: <https://www.acs.org/content/acs/en/greenchemistry/principles/12-principles-of-green-chemistry.html>. Acesso em: 26 jan. 2022.
- AMORIM, J. F. S., et al. Dengue infection in mice inoculated by the intracerebral route: neuropathological effects and identification of target cells for virus replication. **Scientific Reports**, London, v. 9, n. 1, p. 1-15, nov. 2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54474-7>
- ANASTAS, P. T.; WARNER, J. C. **Principles of green chemistry. Green chemistry: Theory and practice**. New York: Oxford University Press, p. 29-56, 1998.
- ANASTAS, P. T.; KIRCHHOFF, M. M. Origins, current status, and future challenges of green chemistry. **Accounts of chemical research**, Washington, v. 35, n. 9, p. 686-694, jun. 2002. <https://doi.org/10.1021/ar010065m>.
- CAMPBELL, L. P., et al. Climate change influences on global distributions of dengue and chikungunya virus vectors. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, United Kingdom, v. 370, n. 1665, p. 20140135, apr. 2015. <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0135>.
- COSTA, C. F., et al. Evidence of vertical transmission of Zika virus in field-collected eggs of *Aedes aegypti* in the Brazilian Amazon. **PLoS neglected tropical diseases**, United States, v. 12, n. 7, p. e0006594, jul. 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006594>.
- DOURADO, D. M., et al. Effects of cashew nut shell liquid (CNSL) component upon *Aedes aegypti* Lin. (Diptera: Culicidae) larvae's midgut. **African Journal of Biotechnology**, Nigeria, v. 14, n. 9, p. 829-834, mar. 2015. [10.5897/AJB2014.14347](https://doi.org/10.5897/AJB2014.14347).
- GUEDES, R. N. C., et al. Patterns of insecticide resistance in *Aedes aegypti*: meta-analyses of surveys in Latin America and the Caribbean. **Pest Management Science**, United States, v. 76, n. 6, p. 2144-2157, jan. 2020. <https://doi.org/10.1002/ps.5752>.
- GUISSONI, A. C. P., et al. Atividade larvicida de *Anacardium occidentale* como alternativa ao controle de *Aedes aegypti* e sua toxicidade em *Rattus norvegicus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, 15, n. 3, p. 363-367, 2013. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000300008>.
- JAYEOLA, C. O., et al. Production of Bioactive Compounds From Waste. **Therapeutic, Probiotic, and Unconventional Foods**. Nigeria, p. 317-340. Academic Press, abr. 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814625-5.00017-0>.
- JORGE, M. R., et al. Environmen Sulphonates' mixtures and emulsions obtained from technical cashew nut shell liquid and cardanol for control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Environmental Science and Pollution Research**, Germany, p. 1-15, may 2020. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08998-5>.
- KALA, S., et al. Nanoemulsion of cashew nut shell liquid bio-waste: Mosquito larvicidal activity and insights on possible mode of action. **South African Journal of Botany**, Holland, v. 127, p. 293-300, dec. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.10.006>.

KERMANI, Z. J., et al. Functional properties of citric acid extracted mango peel pectin as related to its chemical structure. **Food Hydrocolloids**, Belgium, v. 44, p. 424-434, out. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.10.018>.

LAUFENBERG, G.; KUNZ, B.; NYSTROEM, M. Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations. **Bioresource technology**, Holland, v. 87, n. 2, p. 167-198, apr. 2003. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00167-0](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00167-0).

LAURENS, A., et al. Antivectorial Activities of Cashew Nut Shell Extracts from *Anacardium occidentale* L. **Phytotherapy Research**, United Kingdom, v. 11, n. 2, p. 145-146, dec. 1997. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199703\)11:2%3c145::AID-PTR40%3e3.0.CO;2-%23](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199703)11:2%3c145::AID-PTR40%3e3.0.CO;2-%23).

LOMONACO, D.; MELE, G.; MAZZETTO, S. E. Cashew nutshell liquid (CNSL): from an agro-industrial waste to a sustainable alternative to petrochemical resources. *In: Cashew Nut Shell Liquid*. New York: Springer, Cham, 2017, p. 19-38. https://doi.org/10.1007/978-3-319-47455-7_2.

MADUREIRA, J., et al. Ionizing Radiation Technologies to Increase the Extraction of Bioactive Compounds from Agro-Industrial Residues: A Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Portugal, v. 68, n. 40, p. 11054-11067, set. 2020. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c04984>.

NASCIMENTO, H.D., et al. Self-emulsifiable Bioactive Derivatives of Technical Cashew Nut Shell Liquid (tCNSL) Developed to Control *Aedes aegypti* Populations. **Waste and Biomass Valorization**, p. 1-14, 2022. <https://doi.org/10.1007/s12649-022-01683-3>.

NIGAM, P. S. N.; PANDEY, A. **Biotechnology for agro-industrial residues utilisation: utilisation of agro-residues**. German: Springer Science & Business Media, 2009.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Dengue**. Pan American Health Organization (PAHO), 2019. Disponível em: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=416:dengue&Itemid=463. Acesso em: 26 jan. 2022.

PATTERSON, J., SAMMON, M.; GARG, M. Dengue, Zika and chikungunya: emerging arboviruses in the New World. **Western Journal of Emergency Medicine**, United States, v. 17, n. 6, p. 671, nov. 2016. [10.5811/westjem.2016.9.30904](https://doi.org/10.5811/westjem.2016.9.30904).

ROSA, M. F., et al. Valorização de resíduos da agroindústria. *In: II Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de Resíduos Agropecuários e Agroindustriais–II SIGERA*. Foz do Iguaçu, PR, v. 1, p. 98-105, 2011.

SANTANA-MÉRIDAS, O.; GONZÁLEZ-COLOMA, A.; SÁNCHEZ-VIOQUE, R. Agricultural residues as a source of bioactive natural products. **Phytochemistry reviews**, Holland, v. 11, n. 4, p. 447-466, nov. 2012. <https://doi.org/10.1007/s11101-012-9266-0>.

SHIRAHIGUE, L. D.; CECCATO-ANTONINI, S. R. Agro-industrial wastes as sources of bioactive compounds for food and fermentation industries. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 50, n. 4, abr. 2020. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20190857>.

STENMARCK, Å., et al. **Estimates of European food waste levels**. Suécia: IVL Swedish Environmental Research Institute, 2016.

VAZ, S. Biomass and the Green Chemistry Principles. *In: Vaz Jr. S. (eds) **Biomass and Green Chemistry***. New York: Springer, Cham, 2017. p. 1-9. https://doi.org/10.1007/978-3-319-66736-2_1.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control: new edition. World Health Organization, 2009. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44188>. Acesso em: 26 jan. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global strategy for dengue prevention and control 2012-2020. World Health Organization, Geneva, 2012. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/75303/9789241504034_eng.pdf. Acesso em: 26 jan. 2022.

CAPÍTULO 1

Artigo de Revisão

**SUBPRODUTOS DA CADEIA PRODUTIVA DA CASTANHA DE CAJU COMO
ALTERNATIVA PARA O DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS
BIOATIVOS COM ATIVIDADE LARVICIDA**

Revista: Waste and Biomass Valorization

Fator de impacto: 3.703 (2021-2022)



Normas da revista

Subprodutos da cadeia produtiva da castanha de caju como alternativa para o desenvolvimento de produtos bioativos com atividade larvicida

Hélina dos Santos Nascimento^a, Sabrina Rodrigues da Luz^a, Guilherme Lampugnani^a, Bruno do Amaral Crispim^a, Alexeia Barufatti^a, Fábio Kummrow^{b*}

^aUniversidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Rodovia Dourados-Itahum, Km 12 – Unidade II, Cidade Universitária, 79804-970, Dourados, MS, Brasil.

^bUniversidade Federal de São Paulo (Unifesp) – *campus* Diadema; Rua São Nicolau, 210, 09913-030, Diadema, SP, Brasil.

Corresponding author

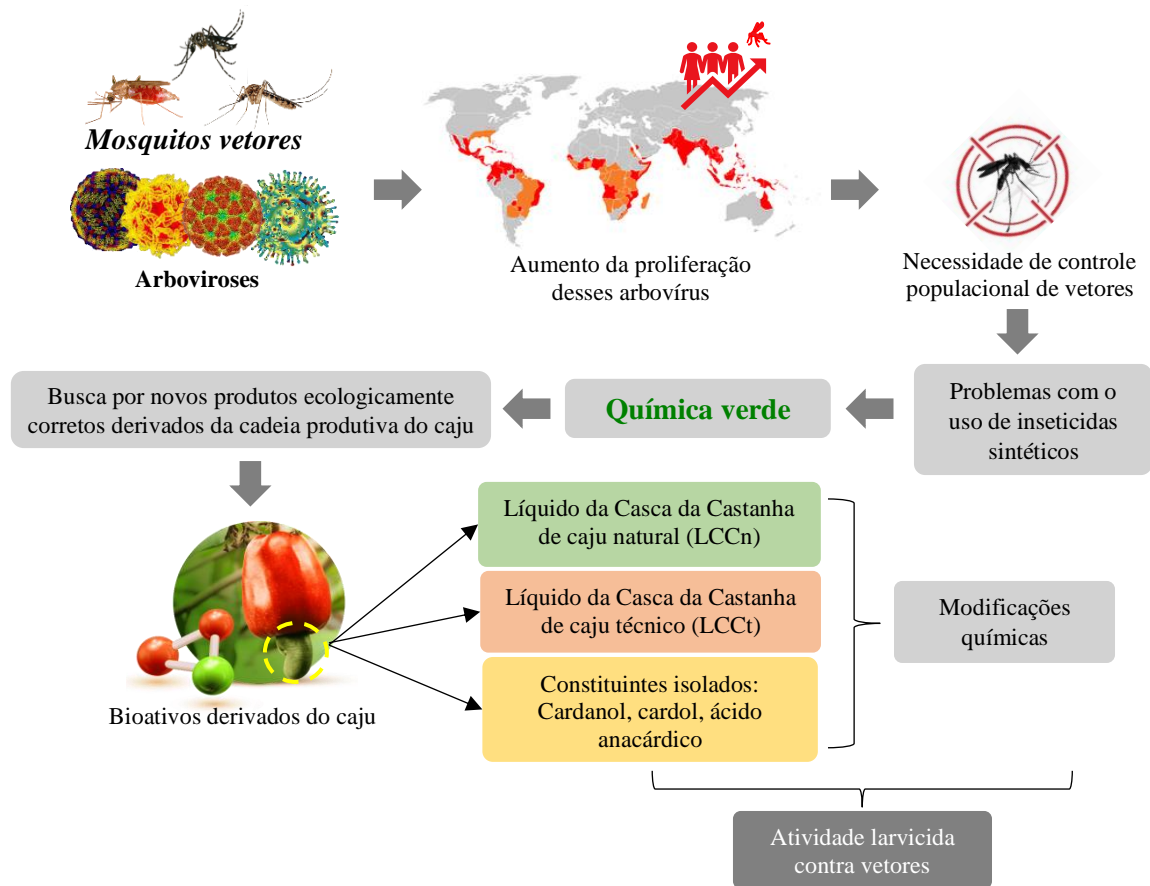
* Email address: fkummrow@unifesp.br

RESUMO

Arboviroses transmitidas por mosquitos vetores, principalmente dos gêneros *Aedes*, *Anopheles* e *Culex*, estão entre os principais motivos de preocupação para a saúde pública mundial. A rápida disseminação destas arboviroses causam o aumento de gastos governamentais, prejuízos socioeconômicos e sobrecarga aos sistemas de saúde pública. O controle populacional de mosquitos vetores é o principal método disponível para combater a disseminação de arboviroses. Esse controle tem sido realizado principalmente com o uso de larvicidas e inseticidas sintéticos. No entanto, além da possibilidade de selecionar indivíduos resistentes, os praguicidas sintéticos têm efeitos prejudiciais tanto para a saúde humana quanto ao meio ambiente. Nesse contexto, o desenvolvimento de produtos ambientalmente amigáveis oriundos de fontes naturais, à base de subprodutos industriais, constitui uma alternativa viável para o controle de mosquitos vetores em estágios imaturos ainda nos criadouros e/ou de adultos. Entre as diversas alternativas, podemos destacar os subprodutos derivados do cajueiro, *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae), que tem se mostrado uma alternativa promissora devido a sua atividade ovicida, larvicida e inseticida. Considerando a eficiência demonstrada pelos subprodutos da cadeia produtiva do caju, seus constituintes e produtos derivados, o objetivo dessa revisão é descrever o estado da arte referente ao seu uso no controle de vetores e propor perspectivas futuras para o desenvolvimento de produtos que possam ser comercializados.

Palavras-chave: Subprodutos agroindustrial, produto ecologicamente correto, *Anacardium occidentale*, líquido da casca da castanha de caju, atividade biológica, controle de mosquito vetor.

RESUMO GRÁFICO



Introdução

A família Culicidae é composta por 41 gêneros que compreendem cerca de 3.565 espécies de mosquitos, sendo a maioria delas vetores de patógenos que afetam seres humanos e animais domésticos [1]. As principais espécies de mosquitos antropofílicos transmissores de doenças graves pertencem aos gêneros *Anopheles*, *Culex* e *Aedes* [2].

O gênero *Anopheles* compreende cerca de 430 espécies, entre as quais mais de 35 espécies são responsáveis pela transmissão da malária [3, 4]. Além disso, mosquitos desse gênero transmitem o parasita *Wuchereria bancrofti*, responsável pela filariose linfática [5, 6]. Estes mosquitos vetores são encontrados na região sul, sudeste, nordeste do Brasil, e a malária tem causado grandes impactos no sistema de saúde pública, uma vez que, entre 2010 e 2019 foram registrados 7136 casos da doença [7].

O gênero *Culex* compreende aproximadamente de 550 espécies de mosquitos descritas ao redor do mundo [5]. Estes mosquitos são considerados domésticos, de climas tropicais e subtropicais, e estão amplamente distribuídos pelo território brasileiro [8], principalmente na região nordeste [9]. O *Culex quinquefasciatus* é o vetor mais comum deste gênero e transmite a filariose bancroftiana, vírus do Nilo Ocidental (WNV: Flaviviridae), malária aviária, encefalite de St. Louis, febre do Vale do Rift e vírus da encefalite equina ocidental [10-12].

No gênero *Aedes* existem aproximadamente 950 espécies de mosquitos [5]. Entretanto, a espécie *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) é o principal vetor responsável pela transmissão dos vírus da dengue (DENV: Flaviviridae), chikungunya (CHIKV: Togaviridae), zika (ZIKV: Flaviviridae) e febre amarela (YFV: Flaviviridae) [1, 13, 14]. Este vetor habita principalmente regiões tropicais e subtropicais [15], e sua rápida proliferação aumenta a competência vetorial, ou seja, a habilidade em adquirir o vírus, replicá-lo e transmiti-lo para população [16, 17].

Dentre as doenças transmitidas por diferentes espécies dos três gêneros citados acima, as quatro arboviroses transmitidas pelo *Ae. aegypti* são os principais motivos de preocupação para a saúde pública em todo o mundo e, principalmente no Brasil [18, 19]. A rápida disseminação destas arboviroses causam o aumento de gastos governamentais, prejuízos socioeconômicos e sobrecarga aos sistemas de saúde pública [14, 20]. Além disso, fatores socioeconômicos, políticos/sociais e ambientais, como as alterações climáticas [21, 22], contribuem para a dispersão dessas doenças. A dengue é a arbovirose com maior impacto na sociedade mundial [14, 19, 20, 23]. No Brasil, período de 2008 a 2019, foram relatados 10,6 milhões de casos de Dengue, deste total foram confirmados 6429 óbitos pela doença [24]. Ademais, somente de janeiro a maio de 2021, foram notificados 348.508 de casos de Dengue (sorotipos: DENV1, DENV2, DENV3 e DENV4) [24, 25].

O controle populacional de mosquitos vetores é o principal método disponível para combater a disseminação de muitas doenças transmitidas por vetores. Esse controle tem sido realizado com o uso de inseticidas e larvicidas biológicos, incluindo patógenos ou predadores [18, 21, 26-29], e químicos incluindo inseticidas que podem atuar como agentes neurotóxicos, análogos de hormônio juvenil e inibidores de síntese de quitina [17, 29, 30].

Atualmente, os larvicidas químicos recomendados nas diretrizes da OMS para o controle do *Ae. aegypti* são: diflubenzuron e novaluron (benzoiureias), metopreno (análogo ao hormônio juvenil), pirimifos-metil (tiofosfato orgânico), piriproxifeno (éter piridiloxypopil), temefós (organofosfato) e

spinosa (produto derivado da bactéria *Saccharopolyspora spinosa*) [31]. Entretanto, os níveis de resistência do *Ae. aegypti* aos larvicidas químicos, tornam esses métodos de controle ineficientes [21, 27, 32, 33]. Além da possibilidade de induzirem resistência nos vetores, os praguicidas químicos têm efeitos prejudiciais tanto para a saúde humana quanto para o meio ambiente [34]. Nesse contexto, o desenvolvimento de produtos oriundos de fontes naturais, constitui uma alternativa promissora para o controle de vetores em estágios imaturos nos criadouros e de adultos [21, 35]. Além disso, os produtos provenientes de plantas ou resíduos/subprodutos agroindustriais que atuam como larvicidas, reguladores de crescimento de insetos, repelentes e atrativos para oviposição, desempenham um papel significativo para combate de doenças transmitidas por mosquitos [36]. Estes proporcionam maior segurança à população humana, são biodegradáveis e os impactos ambientais são inferiores aos relacionados ao uso de inseticidas sintéticos [36].

Dessa forma, torna-se necessárias pesquisas que avaliem efeitos inseticidas/larvicidas de derivados ou subprodutos de origem vegetal. Dentre esses, podemos destacar os produtos/subprodutos derivados do *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae), cajueiro, [37] que constitui uma alternativa promissora para controle de vetores devido a sua atividade inseticida e larvicida [38-43]. Considerando a eficiência dos subprodutos da cadeia produtiva do caju e seus constituintes e derivados como larvicidas, o objetivo desse trabalho foi apresentar e discutir o estado da arte ao uso destes como promissores produtos e propor perspectivas futuras no controle desses vetores.

O caju (*A. occidentale* L.) e sua cadeia produtiva

O cajueiro é uma árvore nativa da região nordeste do Brasil [44, 45], amplamente cultivada em diferentes partes do mundo, principalmente na Ásia, Índia e no leste da África. Seus frutos são comestíveis e apresentam compostos com atividades biológicas [37, 46]. O caju, é constituído pelo pêndulo (pseudofruto) e o fruto (castanha) [47]. As castanhas de caju são compostas de amêndoas (35-45%) e cascas (55-65%) [48]. Na casca da castanha (mesorcapo) encontra-se um óleo escuro avermelhado viscoso (15-30%) denominado líquido da casca da castanha de caju natural (LCCn), composto principalmente por ácido anacárdico (60-70%), cardanol (10-20%), cardol (3-10%) e 2-metilcardol (2-5 %). Para extração desse óleo foram desenvolvidas diversas técnicas que são classificadas como mecânicas, químicas (extração por solventes) e térmica [37, 48, 49].

Quando o LCC é submetido a técnicas de extração térmica (180-190 °C), o ácido anacárdico passa por um processo de descarboxilação, sendo transformado em cardanol, gerando o líquido da casca da castanha de caju técnico (LCCt) que é composto majoritariamente por cardanol (60-70%), cardol (10-20%), 2-metilcardol (2-5%) [37]. O LCCt é obtido principalmente durante o processamento industrial durante na etapa de torrefação das castanhas [37, 50, 51], por banho de óleo quente [37, 50] ou utilizando fogões solares [52].

Nesse contexto, os subprodutos do caju constituem alternativas interessantes para obtenção/síntese de produtos com diferentes atividades biológica, principalmente devido a presença de compostos fenólicos [38]. Particularmente em relação a atividade larvicida do LCCn, LCCt e seus constituintes, os principais mecanismos de ação vêm sendo propostos, como: 1) ação inibitória da enzima acetilcolinesterase dos constituintes cardol e ácido anacárdico [53, 54]; 2) alteração da permeabilidade das membranas celulares devido a presença de insaturação na cauda apolar dos lipídicos fenólicos [38, 40, 43].

Portanto, diante dos desafios relacionados ao controle de vetores e da rápida disseminação das arboviroses em todo o mundo, torna-se essencial a adoção de estratégias para controle das populações de mosquitos [17], principalmente envolvendo a utilização de larvicidas oriundos de fontes vegetais [35]. A Química Verde demonstra que o uso de técnicas alternativas pode auxiliar a minimização dos impactos na saúde humana e ao meio ambiente de forma economicamente viável [55, 56], por meio da redução/reutilização de resíduos/subprodutos e a síntese de produtos com propriedades biológicas que possuam pouca ou nenhuma toxicidade [57, 58].

Atividade larvicida dos subprodutos do caju, seus isolados e produtos derivados

Um produto larvicida promissor deve apresentar uma concentração letal para metade da população (CL_{50}) inferior a 100 mg L^{-1} [59]. Além disso deve, se possível, ser seletivo e não persistente no meio ambiente, minimizando assim possíveis danos para organismos não-alvo. Os derivados do *A. occidentale* LCCn, LCCt e os seus constituintes apresentam algumas dessas características como pode ser verificado nos itens abaixo.

Atividade larvicida do líquido da casca da castanha de caju natural (LCCn)

Foram encontrados na literatura 7 artigos, publicados entre 1997 e 2019, que avaliaram as atividades larvicidas e/ou pupicidas de amostras de LCCn contra as espécies de mosquito *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus* (Tabela 1).

Tabela 1. Atividade larvicida e pupicida do líquido da casca da castanha de caju natural (LCCn).

Subproduto	Origem	Extração	CL_{50} (mg L^{-1})	Estágio	Espécie	Referência
LCCn	M'Bao, Dakar, França	Solvente em equipamento soxhlet	2,6	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[60]
	Fornecido pelo laboratório, Brasil	Térmica	6,55	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[61]
LCCn refrigerado	Indústria Kardol Chemical, Brasil	Metodologia da empresa	7,0	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[62]
			9,0			
LCCn	Indústria Kardol Chemical, Brasil	Metodologia da empresa	70	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[63]
			70			
	Fornecido pelo laboratório, Brasil	Térmica	6,63	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[65]
Fornecido pelo laboratório, Brasil	Solvente em equipamento soxhlet	338,2	8	Pupa	<i>Ae. aegypti</i>	[66]
			7,09	Larva		
			350,1	Pupa	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	
			7			

Laurens et al. [60] e Carvalho et al. [66] obtiveram suas amostras de LCCn utilizando a técnica de extração com solventes em aparelho Soxhlet. A amostra de LCCn obtida por Laurens et al. [60] apresentou atividade larvicida com CL_{50} de $2,6 \text{ mg L}^{-1}$ para *Ae. aegypti*. Contudo, a amostra de LCCn obtida por

Carvalho et al. [66] apresentou atividade larvicida relativamente menor com valores de CL_{50} de 7,84 e 7,09 $mg L^{-1}$ para larvas de *Ae. aegypti* e de *Cx. quinquefasciatus*, respectivamente. Quanto a atividade pupicida, o LCCn apresentou CL_{50} de 338,28 e 350,17 $mg L^{-1}$ para *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus*, respectivamente [66] (Tabela 1). As diferenças expressivas entre as CL_{50} obtidas para os estágios larval e pupal pode ser atribuída, pelo menos em parte, a susceptibilidade das larvas que, ao se alimentarem de matéria orgânica e microplânctons existentes nos criadouros, ingerem também o LCCn [67, 68]. Como indivíduos do estágio pupal não se alimentam, são necessárias concentrações maiores dos mesmos larvicidas para ocasionar o efeito letal [66]. De acordo com Carvalho et al. [66], a ação larvicida do LCCn parece estar relacionada aos núcleos fenólicos presentes no cardanol (fenol), cardol (resorcinol) e ácido anacárdico (ácido salicílico), além da inibição da atividade da enzima acetilcolinesterase, capaz de promover sérios danos às larvas [69]. Laurens et al. [60] ressaltaram que o LCCn além de ser um produto com baixo custo promissor para o controle de larvas de mosquitos vetores, pode ser utilizado como base para o desenvolvimento de produtos multifuncionais como diferentes tipos de sabões.

Amostras de LCCn de origem industrial foram avaliadas quanto a suas atividades larvicidas contra *Ae. aegypti* por Porto et al. [62], Dourado et al. [63] e Passari et al. [64] (Tabela 1). Entre as vantagens do uso de LCCn de origem industrial está a possibilidade da obtenção de grandes quantidades desse produto. No estudo conduzido por Porto et al. [62], foram avaliadas tanto a atividade larvicida da amostra de LCCn fresca quanto da mesma amostra após 6 meses de armazenamento sob refrigeração à 4°C. Ambas alíquotas da amostra de LCCn, fresca e após o período de refrigeração, apresentaram atividades larvicidas semelhantes com CL_{50} de 7,0 e 9,0 $mg L^{-1}$, respectivamente. Esse resultado sugere que os constituintes responsáveis pela atividade larvicida presentes no LCCn são estáveis quando conservados sob refrigeração. Esses autores também atribuíram aos componentes fenólicos a ação larvicida do LCCn [62].

A indústria que forneceu as amostras de LCCn testadas por Dourado et al. [63] e por Passari et al. [64] foi a mesma (Tabela 1). Em ambos os estudos os valores de CL_{50} para atividade larvicida contra *Ae. aegypti* foram idênticos (70 $mg L^{-1}$). Utilizando análises histológicas, Dourado et al. [63] observaram danos no intestino médio das larvas. Esse resultado também sugere que a ingestão do LCCn pelas larvas nos criadouros contribui para a sua atividade larvicida. Em ambos os estudos a atividade larvicida foi atribuída a presença dos lipídios fenólicos no LCCn [63, 64]. Hipótese foi reforçada por Passari et al. [64], com base na estrutura do ácido anacárdico, que apresenta uma cadeia alifática hidrofóbica que facilita a sua penetração nas membranas celulares das larvas de *Ae. aegypti*.

Guissoni et al. [61] e Romano et al. [65] obtiveram suas amostras de LCCn empregando o mesmo método de extração térmica. Para isso as castanhas foram aquecidas em estufa à 40°C por 7 dias. Os valores de CL_{50} obtidos, para atividade larvicida contra *Ae. aegypti*, por Guissoni et al. [61] (6,55 $mg L^{-1}$) e Romano et al. [65] (6,63 $mg L^{-1}$) foram praticamente idênticos (Tabela 1). Guissoni et al. [61] sugeriram que a atividade larvicida do LCCn pode estar relacionado ao método de extração utilizado para a sua obtenção. Nesse caso, o uso da extração térmica a baixa temperatura por um período relativamente longo gerou amostras de LCCn com maiores concentrações de ácido anacárdico, constituinte que parece ter a maior contribuição para a atividade larvicida. Romano et al. [65] sugerem que para que o LCCn possa ser empregado como larvicida, é necessária a realização de novos estudos focados na elucidação dos seus mecanismos de ação, no isolamento dos constituintes ativos e na caracterização química dos constituintes

com maior atividade larvicida. Além disso, é mandatória a realização da avaliação ecotoxicológica do LCCn para determinar a sua toxicidade para organismos não-alvo [65].

Com base em todos nos resultados encontrados na literatura (Tabela 1) é possível afirmar que o LCCn tem atividade larvicida contra mosquitos vetores, principalmente conta o *Ae. aegypti*. Em geral, os métodos de extração do LCCn parecem ter pouca influência na sua atividade larvicida, exceto para as amostras de origem industrial avaliadas por Dourado et al. [63] e por Passari et al. [64] que apresentaram valores de CL_{50} aproximadamente 10 vezes maiores que as demais amostras avaliadas nos outros estudos (Tabela 1). Os mecanismos de ação do LCCn ainda não estão completamente elucidados, mas parecem estar majoritariamente associados aos seus lipídios fenólicos capazes de causar distúrbios nas membranas celulares devido as caudas lipofílicas. Além disso, os seus constituintes cardanol e cardol podem inibir a enzima acetil colinesterase causando sérios danos às larvas.

Atividade larvicida do líquido da casca da castanha de caju técnico (LCCt)

Apesar das vantagens do ponto de vista dos princípios da Química Verde relacionados ao uso do LCCt, que é um subproduto da indústria do caju, em relação ao LCCn, apenas 4 artigos foram encontrados na literatura científica (Tabela 2).

Tabela 2. Atividade larvicida e pupicida do líquido da casca da castanha de caju técnico (LCCt).

Subproduto	Origem	Extração	CL_{50} (mg L ⁻¹)	Estágio	Espécie	Referência
LCCt	Indústria Amêndoas do Brasil	Torrefação	51,04	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[38]
	Fornecido pelo laboratório, Brasil	Térmica	19,76	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[66]
			390,70	Pupa		
			22,64	Larva	<i>Cx.</i>	
	400,42	Pupa	<i>quinquefasciatus</i>			
Indústria Amêndoas do Brasil	Torrefação	51,02	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[54]	
Indústria Resibrás Cashol, Brasil	Torrefação	6,68	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[43]	
Indústria Resibrás Cashol, Brasil	Torrefação	7,44	Larva	<i>Ae. aegypti</i> (Rockefeller)	[70]	
		12,11		<i>Ae. aegypti</i> (Dourados)		

Lomonaco et al. [38] e Almeida [54] avaliaram a atividade larvicida de amostras de LCCt fornecidas pela mesma indústria e obtiveram CL_{50} para a espécie *Ae. aegypti* praticamente iguais, com valores de 51,04 mg L⁻¹ e 51,02 mg L⁻¹, respectivamente. Utilizando análises histológicas, Almeida et al. [54] observaram alterações morfológicas nas larvas que apresentaram alterações em suas estruturas externas e destruição total da estrutura interna. Ademais, Lomonaco et al. [38] relataram que o cardol, composto majoritário do LCCt, foi o principal constituinte responsável pela atividade larvicida observada. Esse efeito se deve as insaturações presentes na cadeia lateral alquílica, o que aumenta sua lipossolubilidade facilitando a sua passagem por membranas celulares [38]. É importante ressaltar que no mesmo estudo, a atividade larvicida foi avaliada também para amostras de cardol e cardanol isolados do LCCt. Esses constituintes

apresentaram atividades superiores a mistura e isso pode ser explicado devido à complexidade do LCCt e a presença de polímeros e outros constituintes originados durante o processo de tostagem das castanhas [38].

Também de origem industrial, a amostra de LCCt avaliada por Jorge et al. [43] apresentou atividade larvicida maior que aquelas obtidas por Lomonaco et al. [38] e Almeida et al. [54], com valor de CL_{50} de 6,68 mg L⁻¹ para *Ae. aegypti*. Resultados semelhantes a Jorge et al. [43] foram obtidos por Nascimento et al. [70], com valor de CL_{50} de 7,44 e 12,11 mg L⁻¹ para larvas de *Ae. aegypti* linhagem Rockefeller e Dourados, respectivamente. O esclarecimento dos resultados é atribuído a origem das amostras obtidas pelo mesmo fornecedor, porém de lotes diferentes [70]. Os autores corroboram com a hipótese de Lomonaco et al. [38] e Paiva et al. [40] de que a atividade biológica do LCCt parece estar ligada a insaturações na cauda apolar dos lipídios fenólicos [43].

Carvalho et al. [66] obtiveram a sua amostra de LCCt utilizando a técnica de aquecimento em banho de óleo. Essa amostra de LCCt apresentou atividade larvicida com CL_{50} de 19,76 mg L⁻¹ para *Ae. aegypti*, semelhante a CL_{50} obtido para o *Cx. quinquefasciatus* (22,64 mg L⁻¹). A atividade pupicida do LCCt também foi avaliada e apresentou valores de CL_{50} de 390,70 mg L⁻¹ para *Ae. aegypti* e de 400,42 mg L⁻¹ para *Cx. quinquefasciatus*. Como observado no mesmo estudo para o LCCn, a atividade pupicida do LCCt é menor que a atividade larvicida.

Em geral, as atividades larvicidas das amostras de LCCt foram menores que aquelas obtidas para as amostras do LCCn (Tabelas 1 e 2). Pelo menos em parte essa diferença pode ser explicada pela conversão do ácido anacárdico para cardanol durante o processo industrial de tostagem das castanhas. Além disso, a reutilização desse resíduo agroindustrial como matéria-prima obtenção de diferentes produtos com atividade larvicida, poderá contribuir tanto para o controle de vetores quanto para evitar os problemas ambientais relacionados ao descarte deste resíduo.

Atividade larvicida dos isolados do líquido da casca da castanha de caju natural (LCCn) e técnico (LCCt)

Ácido anacárdico e anacardato de sódio

O ácido anacárdico é apontado como o principal constituinte com atividade larvicida do LCCn, o que justifica a pesquisa sobre o seu isolamento e possíveis modificações na sua estrutura na busca de larvicidas eficientes. Foram encontrados na literatura 4 artigos, publicados entre 2009 e 2021, que avaliaram as atividades larvicidas, ovicidas e/ou pupicidas de amostras de ácido anacárdico e do anacardato de sódio contra as espécies de mosquito *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus* (Tabela 3).

Tabela 3. Atividade ovicida, larvicida e pupicida do ácido anacárdico, isolado, do líquido da casca da castanha de caju natural (LCCn).

Subproduto	Origem	Extração	CL ₅₀ (mg L ⁻¹)	Estágio	Espécie	Referência
Ácido anacárdico	Embrapa, Brasil	Isolado do LCCn	14,40	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[39]
	Fornecido pelo laboratório, Brasil	Isolado do LCCn	5,93	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[66]
			109,66	Pupa		
			5,36	Larva	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	
105,00	Pupa					
Fornecido pelo laboratório, Brasil	Isolado do LCCn	47,7	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[71]	
Anacardato de sódio	Fornecido pelo laboratório, Brasil	Isolado do ácido anacárdico	162,93	Ovo	<i>Ae. aegypti</i>	[72]
			55,47	Larva		
			369,78	pupa		

Oliveira et al. [39] e Carvalho et al. [66] isolaram o ácido anacárdico do LCCn e posteriormente verificaram a atividade larvicida das amostras obtidas. O ácido anacárdico apresentou atividade larvicida com CL₅₀ de 14,40 mg L⁻¹ [39] e 5,93 mg L⁻¹ [66] para *Ae. aegypti*, e de 5,36 mg L⁻¹ para *Cx. Quinquefasciatus* [66] (Tabela 3). Carvalho et al. [66] também avaliaram a atividade pupicida do ácido anacárdico e obtiveram valores de CL₅₀ de 109,66 mg L⁻¹ para *Ae. aegypti* e de 105,00 mg L⁻¹ para *Cx. Quinquefasciatus*. Os autores avaliaram o efeito residual do composto em condições de campo, durante 10 dias após o início do experimento [66], e observaram que o ácido anacárdico apresentou maior perda da atividade residual (RT₅₀) de 2,13 e 2,08 mg L⁻¹ para larvas e pupas de *Ae. aegypti* durante a incubação prolongada quando comparado com LCCn (RT₅₀ de 3,55 e 3,54 mg L⁻¹ para larvas e pupas de *Ae. aegypti*) e LCCt (3,41 e 2,67 mg L⁻¹ para larva e pupa de *Ae. aegypti*) [66].

Dessa forma, no campo, é necessário que haja processos de estabilização desse constituinte para evitar perda da sua eficiência para o controle de vetores [69]. O ácido anacárdico isolado por Pinto et al. [71] apresentou atividade larvicida relativamente menor com valor de CL₅₀ de 47,7 mg L⁻¹ (Tabela 3). A atividade larvicida do ácido anacárdico parece estar relacionada a sua cadeia lateral insaturada de 15 átomos de carbono [39]. Trevisan et al. [46] constataram que o ácido anacárdico apresentaram a maior atividade larvicida, seguidos do cardol e do cardanol.

Farias et al. [72] isolaram o anacardato de sódio de uma amostra de ácido anacárdico isolada anteriormente de uma amostra de LCCn. O anacardato de sódio apresentou atividade larvicida e pupicida para *Ae. aegypti* com valores de CL₅₀ de 55,47 e 369,78 mg L⁻¹, respectivamente. Além disso, Farias et al. [72] avaliaram a atividade ovicida do anacardato de sódio e obtiveram CE₅₀ (concentração de efeito de 50% da população) de 162,93 mg L⁻¹ em *Ae. aegypti*. De acordo com Consoli e Oliveira [73], o anacardato de sódio pode ocasionar danos ao revestimento externo dos 3 estágios de desenvolvimento (ovos, larvas e pupas). Farias et al. [72] sugerem que a maior sensibilidade das larvas pode estar associada à danos provocados no estômago, pois as larvas se alimentam de partículas presentes na água dos criadouros.

Cardanol

O cardanol é o constituinte do LCCt mais estudado quanto a sua atividade larvicida. Almeida et al. [54] e Oliveira et al. [39] demonstraram que o cardanol é um inibidor da enzima da acetilcolinesterase (AChE). A AChE é uma enzima encontrada no sistema nervoso central e periférico, responsável pela

hidrólise do neurotransmissor acetilcolina (ACh), porém quando essa enzima está inibida, os impulsos nervosos são interrompidos [74-76, 54]. Além disso, Carvalho et al. [66] relataram que núcleo fenólico quanto a cadeia pentadecana do cardanol contribuem para os seus efeitos larvicidas e pupicidas.

Foram encontrados na literatura 6 artigos, publicados entre 2009 e 2020, que avaliaram as atividades larvicidas de amostras de cardanol contra as espécies de mosquito *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus* (Tabela 4).

Tabela 4. Atividade larvicida do cardanol, isolado, do líquido da casca da castanha de caju técnico (LCCt).

Subproduto	Origem	Extração	CL ₅₀ (mg L ⁻¹)	Estágio	Espécie	Referência
Cardanol	Indústria Amêndoas do Brasil	Isolado do LCCt	32,89	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[38]
	Embrapa, Brasil	Isolado do LCCt	8,20	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[39]
	Fornecido pelo laboratório, Brasil	Isolado do LCCt	18,35	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[40]
	Fornecido pelo laboratório, Brasil	Isolado do LCCt	20,32	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[66]
			19,93	Larva	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	
	Indústria Amêndoas do Brasil	Isolado do LCCt	28,90	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[54]
Indústria Resibrás Cashol Brasil	Isolado do LCCt	22,3	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[43]	

Lomonaco et al. [38], Almeida et al. [54] e Jorge et al. [43] isolaram o cardanol de amostras de LCCt de origem industrial e testaram a sua atividade larvicida. As três amostras de cardanol apresentaram CL₅₀ para *Ae. aegypti* semelhantes, com valores de 32,90 mg L⁻¹ [38], 28,90 mg L⁻¹ [54] e 22,3 mg L⁻¹ [43]. A amostra de cardanol isolada por Oliveira et al. [39] apresentou maior atividade larvicida valores de CL₅₀ de 8,2 mg L⁻¹ (Tabela 4).

Paiva et al. [40] e Carvalho et al. [66] isolaram o cardanol de amostras de LCCt obtidas em laboratório. Essas amostras de cardanol apresentaram atividade larvicida semelhantes para *Ae. aegypti* com valores de CL₅₀ de 18,35 mg L⁻¹ [40] e 20,32 mg L⁻¹ [66] e para *Cx. Quinquefasciatus* de 19,93 mg L⁻¹ em [66]. Lomonaco et al. [38], Paiva et al. [40] e Almeida et al. [66] sugerem que a atividade larvicida parece estar relacionada à presença de insaturações na cauda apolar dos lipídios fenólicos. As insaturações da cadeia lateral aumentam o caráter lipofílico das moléculas, altera a permeação da membrana celular das larvas e, conseqüente, induz toxicidade para *Ae. aegypti*.

Carvalho et al. [66] observaram que o possível mecanismo de ação larvicida do cardanol se deve a um núcleo fenólico, composto por fenol, além de uma longa cadeia de hidrocarbonetos. Sendo assim, o cardanol por ser um dos compostos de maior rendimento torna-se uma alternativa para agregar valor ao isolado, que pode ser utilizado como matéria prima para do desenvolvimento de produtos larvicidas destinados ao controle de mosquitos vetores [39].

Cardol

O cardol é obtido tanto do LCCn quanto do LCCT. No entanto, o LCCn tem cerca de 17-20% de rendimento de cardol [39, 66], já o LCCT apresenta um rendimento de cardol de aproximadamente 11% [38]. Na literatura foram encontrados 4 artigos, publicados entre 2009 e 2021, que avaliaram as atividades larvicidas e/ou pupicidas de amostras de cardol contra as espécies de mosquito *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus* (Tabela 5).

Tabela 5. Atividade larvicida do cardol, isolado, do líquido da casca da castanha de caju natural (LCCn) e técnico (LCCT).

Subproduto	Origem	Extração	CL ₅₀ (mg L ⁻¹)	Estágio	Espécie	Referência
Cardol	Indústria Amêndoas do Brasil	Isolado do LCCT	14,20	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[38]
	Embrapa, Brasil	Isolado do LCCn	5,55	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[39]
	Fornecido pelo laboratório, Brasil	Isolado do LCCT	6,14	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[66]
			90,76	Pupa		
			6,70	Larva	<i>Cx.</i>	
		96,60	Pupa	<i>quinquefasciatus</i>		
	Indústria Amêndoas do Brasil	Isolado do LCCT	14,20	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[54]

Lomonaco et al. [38] e Almeida et al. [54] isolaram o cardol do LCCT obtido da mesma indústria e obtiveram a mesma atividade larvicida com CL₅₀ de 14,20 mg L⁻¹ para *Ae. aegypti*. Os autores sugerem que atividade biológica do cardol pode ser explicado devido a insaturação na cadeia lateral alquílica, que aumenta sua lipossolubilidade facilitando a passagem desse composto isolado pelas membranas celulares das larvas [38, 54]. Utilizando análises histológicas, Almeida et al. [54] observaram alterações morfológicas nas larvas, que apresentaram alterações em suas estruturas externas caracterizadas por perda de cerdas e encolhimento do exoesqueleto das larvas. Além disso, o cardol apresentou inibição da AChE *in vitro* [54].

Oliveira et al. [39] isolaram o cardol do LCCn, posteriormente, relataram atividade larvicida com CL₅₀ de 5,55 mg L⁻¹ em *Ae. aegypti*. Carvalho et al. [66] isolaram o cardol do LCCT obtido por indústria, que ocasionou atividade larvicida e pupicida com CL₅₀ de 6,14 e 90,76 mg L⁻¹ em *Ae. aegypti*, e CL₅₀ de 96,60 e 6,70 mg L⁻¹ em *Cx. quinquefasciatus*, respectivamente.

Oliveira et al. [39] observaram que na análise da atividade anti-radical livre o cardol foi ativo, apresentando resultados semelhante aos antioxidantes conhecidos. No teste de inibição da AChE, o cardol apresentou as zonas de inibição maiores que o carbacol, o padrão usado. Carvalho et al. [66] especifica que os mecanismos de ação mais comuns dos óleos contra os insetos são a inibição do citocromo P450, dos receptores GABA e das acetilcolinesterases, e a modulação do sistema octopaminérgico [69]. Dessa forma, o cardol pode funcionar como antioxidante, inibidor da enzima acetilcolinesterase e larvicida contra *Ae. aegypti*.

Atividade larvicida dos produtos derivados do líquido da casca da castanha de caju natural (LCCn) e técnico (LCCT), e dos seus constituintes isolados

Estudos utilizando modificações químicas nos subprodutos do caju foram realizados visando a hidrossolubilidade e potencialização de atividade larvicida (Tabela 6).

Tabela 6. Atividade larvicida de produtos obtidos a partir de modificações químicas no líquido da casca da castanha de caju natural, técnico e isolados.

Subproduto	Origem	Extração	CL ₅₀ CE ₅₀ (mg L ⁻¹)	Estágio	Espécie	Referência
Modificações no LCCn						
LCCn hidrogenado	M'Bao, Senegal, França	Solvente em equipamento soxhlet	18	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[60]
Sal de sódio de LCCn	M'Bao, Senegal, França	Solvente em equipamento soxhlet	2,3	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[60]
LCCn + sabão vegetal	Indústria "D" Vaiz Chemicals, Índia	-	12 38	Larva	<i>Ae. aegypti</i> <i>An. subpictus</i>	[77]
Frações de LCCn AO ₂ AO ₃	Fornecido pelo laboratório, Brasil	Térmica	3,18 3,57	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[61]
LCCn + noz-sabão	Jatibedug, Indonésia	Prensa hidráulica	14,12	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[78]
LCCn + frutos de <i>Sapindus rarak</i> DC	Wonogiri, Java Central, Indonésia	Prensa hidráulica	20,52	Larva	Cx. <i>quinquefasciatus</i>	[79]
LCCn + óleo mamona (TaLCC-20)	Indústria Kardol Chemical, Brasil	Solvente em equipamento soxhlet	5,0	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[42]
Modificações no LCCt						
Nanoemulsão de LCCt	Indústria Plaza Chemical, Índia	Torrefação	1,4	Larva	<i>An. culicifacies</i>	[80]
LCCt + Mistura LCCtSNa	Indústria Resibrás Cashol, Brasil	Torrefação	110,6	Larva	<i>Ae. aegypti</i> Linhagem Rockefeller	[70]
LCCtNa			2,65			
LCCtK			1,98			
LCCtMEA			3,16			
LCCtDEA			3,44			
LCCtTEA			4,02			
LCCtNa			6,93			
LCCtK			10,27			
LCCtMEA			7,59			
LCCtDEA			11,52			
LCCtTEA			10,72			
Modificações no ácido anacárdico						
Ácido anacárdico saturado	M'Bao, Senegal, França	Solvente em equipamento soxhlet	12,5	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[60]
Nanopartículas de zeína carregadas com ácido anacárdico	Fornecido pelo laboratório, Brasil	Isolado do LCCn	0,0117	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[71]
Modificações no Cardanol						
Cardanol hidrogenado	Indústria Amêndoas do Brasil	Torrefação	68,18	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[38]
Triazoanilinas anfifílicas + cardanol e glicerol	Brasil	-	4,0	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[81]
Cardanol + Mistura LCCtSNa	Indústria Resibrás Cashol, Brasil	Torrefação	192,5	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[43]

<i>Modificações no Cardol</i>						
Cardol hidrogenado	Indústria Amêndoas do Brasil	Torrefação	>500	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[38]
Cdl.i-dP	Indústria Amêndoas do Brasil	Torrefação	9,2	Larva	<i>Ae. aegypti</i>	[54]
Cdl.i-dPS			0,8			
Cdl.s-dPS			11,7			

- Não há informações de como extraído o produto.

Modificações químicas no líquido da casca da castanha de caju natural (LCCn)

LCCn hidrogenado e Sal de sódio de LCCn - Laurens et al. [60] extraíram o LCCn usando n-hexano em um aparelho Soxhlet. Os autores dissolveram o LCCn em tolueno e hidrogenaram com H₂, posteriormente foi evaporado até à secura em vácuo e obtido o LCCn hidrogenado. Além disso, Laurens et al. [60] neutralizaram o LCCn utilizando hidróxido de sódio, obtendo o sal de sódio de LCCn. Ambos os produtos, LCCn hidrogenado e sal de sódio de LCCn, obtiveram atividade larvicida com CL₅₀ de 18 e 2,3 mg L⁻¹, respectivamente, em *Ae. aegypti* (Tabela 6). Os autores relataram que esses produtos naturais de baixo custo pode ser um subproduto da indústria agroalimentar, além disso, o sal de sódio do LCCn, que obteve melhor atividade larvicida, poderia ser incorporado em sabão em pó ou sabão e auxiliar no controle larvas de mosquitos vetores.

LCCn + óleo da mamona (TaLCC-20) - Vani et al. [42] seguiram a mesma técnica de extração do LCCn utilizada por Laurens et al. [60]. Os autores utilizaram procedimentos comuns de produção de sabões, onde uma solução aquosa de hidróxido de sódio foi lentamente adicionada a uma solução etanólica contendo 20 g de LCCn e 80 g de óleo de mamona sob agitação, posteriormente o produto foi protegido da luz até a solidificação completa, obtendo o TaLCC-20. O produto TaLCC-20 apresentou atividade larvicida com CL₅₀ de 5 mg L⁻¹, em larvas de *Ae. aegypti* (Tabela 6). Vani et al. [42] relataram sintetizar um larvicida com particularidades naturais em sua composição, produzido de uma combinação de LCCn com óleo de mamona, que assume a forma de um surfactante sódico. A atividade biológica deste surfactante, segundo Vani et al. [42], pode estar relacionada a sua formulação, pois aumentou a solubilidade do LCCn, permitindo uma maior dispersão do produto em criadouros de vetores. Além disso, nesse estudo, os autores, sugerem que o produto TaLCC-20 não tem efeitos colaterais em mamíferos, incluindo humanos, sendo considerado um larvicida natural eficaz contra mosquitos vetores.

LCCn + sabão vegetal - A solução foi preparada e fornecida pela empresa “D” Vaiz Chemicals, Kolkata, Índia. O LCCn foi misturado com sabão vegetal e álcool, obtendo o produto LCCn + sabão vegetal. Mukhopadhyay et al. [77] testaram a atividade larvicida do produto nas concentrações de 12 e 19 mg L⁻¹ em *Ae. aegypti* e de 12, 19 e 38 mg L⁻¹ em *Anopheles subpictus* (Tabela 6). Os autores observaram que a concentração de 12 e 19 mg L⁻¹ ocasionaram 100 % de mortalidade em larvas de *Ae. aegypti* e apenas a concentração de 38 mg L⁻¹ ocasionou mais de 50 % de mortalidade em larvas de *An. subpictus*.

LCCn + noz-sabão e LCCn + extrato de Sapindus rarak DC - Raraswati et al. [78] e Fauziah et al. [79] obtiveram o LCCn por pressão utilizando uma prensa hidráulica. Os autores [78, 79] prepararam uma solução aquosa da espécie *S. rarak*, conhecida como fruta de noz-sabão, e utilizaram, desta solução, a maior concentração (600 ppm) que não ocasionou morte em larvas de *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus* (teste preliminar), para misturar com LCCn. Os autores relataram que quanto maior a concentração de

extrato aquoso da fruta de noz-sabão, mais solubilidade foi conferida no LCCn. A mistura LCCn + noz-sabão apresentou atividade larvicida com CL_{50} de 14, 12 e 20,52 mg L⁻¹, em larvas de *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus*, respectivamente (Tabela 6). A atividade larvicida do produto LCCn + noz-sabão pode estar relacionada aos compostos majoritários (anacárdico, cardol e cardanol) do LCCn que mostraram inibição da atividade da enzima acetilcolinesterase, que consequentemente pode desencadear distúrbios do sistema nervoso central, paralisia respiratória, convulsões e morte em larvas [74]. Além disso, o extrato aquoso da fruta de noz-sabão contém sapogenina esteroide e triterpenóide que pode ser usado como um surfactante natural para emulsionar o LCCn em meio aquoso.

Frações de LCCn (AO2, AO3) - Os frutos do cajueiro foram colocados em estufa de ventilação forçada, a 40 °C, por 7 dias, para obter o LCCn. Guissoni et al. [61] filtraram o LCCn e as frações, a partir deste, foram eluídas com n-hexano, acetato de etila e metanol. As frações de LCCn AO2 e AO3 apresentaram atividade larvicida com CL_{50} de 3,18 e 3,57 mg L⁻¹, respectivamente, em *Ae. aegypti* (Tabela 6). Os autores supõem que a atividade biológica pode estar relacionada ao composto majoritário, ácido anacárdico, pois quando o ácido anacárdico é convertido a cardanol, a atividade diminui. Além disso, o fracionamento de extratos vegetais permitiu potencializar a atividade biológica e a partir desde, posteriormente, pode ser realizado o isolamento do princípio ativo [82, 83]. No entanto, algumas substâncias quando isoladas, se tornam menos ativas que suas frações [82, 84]. Sendo assim, Guissoni et al. [61] sugerem um efeito sinérgico de compostos presentes na fração. Além disso, nesse estudo, o fracionamento originou frações mais ativas que o LCCn, sendo candidatas para utilização nas ações de controle de vetores.

Modificações químicas no líquido da casca da castanha de caju técnico (LCCt)

Nanoemulsão de LCCt - O LCCt foi adquirido na *Plaza Chemical Industry*, Índia, e a partir deste, Kala et al. [80] prepararam nanoemulsão de LCCt usando o método de emulsificação de baixa energia, onde o LCCt, mistura de surfactante (Tween80, Span20) e propilenoglicol foram homogeneizados para obter um produto com propriedades surfactantes. A nanoemulsão de LCCt proporcionou atividade larvicida com CL_{50} de 1,4 mg L⁻¹ (Tabela 6), em larvas de *Anopheles culicifacies*. A bioeficácia aprimorada possuída pela nanoemulsão de LCCt, pode reduzir significativamente a carga de pesticidas e a toxicidade para o meio ambiente. Este estudo mostrou que a nanoemulsão de LCCt pode ter potencial para controlar os estágios imaturos dos mosquitos, que são fáceis de atacar quando comparados aos adultos, além disso, exerceu toxicidade por penetração externa e causou danos à larva. O uso de LCCt como larvicida seria rentável, em particular para controlar larvas de mosquitos em criadouros como fontes de água estagnadas.

LCCt + Mistura LCCtSNa - O LCCt foi fornecido pela Resibrás *Cashol* (Fortaleza-CE, Brasil) e posteriormente, Jorge et al. [43] realizaram uma sulfonação do LCCt com ácido sulfúrico fumegante e hidróxido de sódio, obtendo uma mistura, LCCt-sulfonato de sódio (mistura LCCtSNa) com propriedades surfactantes, porém, após a modificação o produto perdeu a atividade larvicida. No entanto, nesse mesmo estudo, quando emulsionado (emulsão: 1 LCCt + mistura 6 LCCtSNa), o produto gerado (emulsão LCCt + LCCtSNa) recuperou atividade larvicida com CL_{50} de 110,6 mg L⁻¹ (Tabela 6), em larvas de *Ae. aegypti*. A atividade larvicida deste produto pode estar relacionada com a presença de insaturação na cauda apolar dos fenóis lipídicos, tornando-os capazes de alterar a permeação da membrana celular e induzir toxicidade em larvas de *Ae. aegypti*. A emulsão LCCt + LCCtSNa proporcionou atividade larvicida em *Ae. aegypti* e

solubilidade, propriedade importante para sua dispersão em criadouros aquáticos. A atividade biológica conferida a emulsão provavelmente está relacionada as micelas por apresentarem dimensões menores, permitindo que penetrassem mais facilmente nas células das larvas e causassem dano celular, resultando em apoptose/necrose.

LCCtNa, LCCtK, LCCtMEA, LCCtDEA e LCCtTEA – Jorge et al. [43] e Nascimento et al., [70] obtiveram o LCCt da mesma indústria, porém lotes distintos. Nascimento et al. [70] sintetizaram os bioprodutos derivados do LCCt através de reações com bases inorgânicas, Hidróxido de Sódio (NaOH) e Hidróxido de Potássio (KOH); e orgânicas, Monoetanolamina (MEA), Dietanolamina (DEA) e Trietanolamina (TEA), por neutralização parcial das hidroxilas fenólicas totais. Todos os bioprodutos derivados do LCCt apresentaram CL_{50-24h} inferior a 5 mg L^{-1} para as larvas da linhagem Rockefeller e abaixo de 12 mg L^{-1} para as larvas da linhagem Dourados (Tabela 6). Em geral, os bioprodutos derivados do LCCt obtidos a partir das reações com bases inorgânicas foram relativamente mais tóxicos para ambas as linhagens de *Ae. aegypti*. Embora não tenham sido observada diferenças estatísticas entre os valores de CL_{50} para todos os bioprodutos nos testes com a linhagem Rockefeller, o LCCtK apresentou a maior atividade larvicida (CL_{50} de $1,98 \text{ mg L}^{-1}$). A atividade larvicida de todos os bioprodutos derivados do LCCt parece estar relacionada com as insaturações na cauda apolar dos fenóis lipídicos. Além disso, a neutralização parcial do LCCt gera bioprodutos com maior hidrossolubilidade e permite que atividade larvicida do LCCt, que não foi neutralizado, seja conservada.

Modificações químicas no ácido anacárdico

Ácido anacárdico saturado - Laurens et al. [60] dissolveram os ácidos anacárdicos em tolueno e hidrogenaram com H_2 , o solvente foi evaporado até à secura em vácuo e obtido o ácido anacárdico saturado. O produto ocasionou atividade larvicida com CL_{50} de $12,5 \text{ mg L}^{-1}$ em *Ae. aegypti* (Tabela 6). No entanto, os autores relataram a atividade larvicida do ácido anacárdico insaturado com CL_{50} de $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ para mesma espécie de mosquito e mostraram a importância das insaturações, das duplas ligações na cadeia lateral, para a atividade biológica do produto sintetizado.

Nanopartículas de zeína carregadas com ácido anacárdico - Pinto et al. [71] isolaram o ácido anacárdico do LCCn, e posteriormente, realizaram a nanoprecipitação da proteína zeína como carreador, obtendo nanopartículas. Segundo os autores, a zeína foi dissolvida em etanol, diluída com água ultra para promover a formação de nanopartículas, em seguida, o ácido anacárdico (Aa) dissolvido em etanol foi adicionado gota a gota a 12 ml das nanopartículas pré-formadas sob agitação constante, formando nanopartículas de zeína carregadas com Aa (NpAa). O produto NpAa apresentou atividade larvicida com CL_{50} de $0,0117 \text{ mg L}^{-1}$ em *Ae. aegypti*. Os autores relataram que o método utilizado para síntese de NpAa consiste em uma técnica econômica, verde e de baixa energia, que resulta em uma abordagem acessível, econômica e ambientalmente amigável como uma alternativa para controle de vetores.

Modificações químicas no cardanol e cardol

Triazoanilinas anfifílicas + cardanol e glicerol - Pelizaro et al. [81] sintetizaram a triazoanilinas anfifílicas 1 e 2 a partir de dois resíduos industriais, o cardanol (extraído do LCCt), que garantiu a solubilidade em biodiesel devido à sua lipofilicidade e o glicerol, utilizado como espaçador polar. Os

autores relataram que as triazoanilinas anfifílicas 1 e 2 possuem baixo efeito larvicida ocasionando 1,25 e 2,5 % de mortalidade em larvas de *Ae. aegypti*, respectivamente, na concentração de 4,0 mg L⁻¹ (Tabela 6).

Cardanol + Mistura LCCtSNa - Jorge et al. [43] isolaram o cardanol do LCCt e emulsionaram com a mistura LCCtSNa, obtendo a emulsão C + mistura LCCtSNa com atividade larvicida com CL₅₀ de 192,5 mg L⁻¹, em *Ae. aegypti* (Tabela 6). A atividade biológica deste produto possui a mesma explicação dada a emulsão LCCt + mistura LCCtSNa, no entanto, esta apresentou melhor atividade larvicida quando com a emulsão C + mistura LCCtSNa. Isso ocorreu devido as micelas da emulsão C + mistura LCCtSNa apresentarem dimensões maiores, dificultando a penetração nas células das larvas.

Cardanol e cardol hidrogenado - Lomonaco et al. [38] isolaram o cardanol e cardol do LCCt usando uma coluna de gel de sílica eluída com um gradiente gradativo de n-hexano-acetato de etila. O cardanol foi dissolvido em etanol e adicionado Pd/C, posteriormente, a mistura foi hidrogenada sob pressão durante 72 h, o mesmo procedimento foi utilizado para hidrogenização do cardol. Os produtos, cardanol e cardol hidrogenado, ocasionaram atividade larvicida com CL₅₀ de 68,18 e > 500 mg L⁻¹, respectivamente, em larvas de *Ae. aegypti* (Tabela 6). Os autores relataram que após a hidrogenação, o cardol perdeu sua atividade larvicida, enquanto a atividade do cardanol foi reduzida. Isso pode ser explicado, segundo os autores, devido quantidade de grupos hidroxila, que impede a substância de penetrar na cutícula do inseto e atingir seus alvos [85]. Sendo assim, Lomonaco et al. [38] descreveram que a hidrogenação da insaturação da cadeia lateral diminuiu o caráter lipofílico das moléculas, restringindo sua passagem pela membrana da larva.

Derivados do cardol - Almeida et al. [54] isolaram o cardol do LCCt, obtido por indústria, posteriormente, adicionaram grupos fosfato e fosforotioato para cardol, formando os derivados do cardol (Cdl.i-dP, Cdl.i-dPS e Cdl.s-dPS). Os produtos, Cdl.i-dP, Cdl.i-dPS e Cdl.s-dPS, ocasionaram atividade larvicida com CL₅₀ de 9,2, 0,8, 11,7 mg L⁻¹, respectivamente, em larvas de *Ae. aegypti*. Os autores observaram que a atividade biológica se deve a ação da inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), que ao ser inibida deixa de promover impulsos entre os neurônios.

Com base em todos os dados referente a atividade larvicida dos subprodutos do caju encontrados na literatura, foi possível observar a amostra de LCCn isolada em laboratório por Laurens et al. [60] apresentou melhor efeito larvicida em *Ae. aegypti*, porém, trata-se de um estudo pioneiro que apresenta dados preliminares. Sendo assim, Guissoni et al. [61] relataram posteriormente atividade larvicida eficaz do LCCn, seguindo metodologia padrão (Tabela 7).

Tabela 7. Atividade larvicida dos subprodutos do caju.

Subproduto		CL ₅₀ (mg L ⁻¹)	Espécie	Referência
LCCn		2,6	<i>Ae. aegypti</i>	[60]
		6,55	<i>Ae. aegypti</i>	[61]
LCCt		6,68	<i>Ae. aegypti</i>	[43]
Isolados	Ácido anacárdico	5,93	<i>Ae. aegypti</i>	[66]
		5,36	<i>Cx. Quinquemasius</i>	[66]
	Cardanol	8,20	<i>Ae. aegypti</i>	[39]
	Cardol	5,55	<i>Ae. aegypti</i>	[39]

Dentre os isolados do LCCn, o ácido anacárdico ocasionou atividade larvicida em menor concentração (CL_{50} 5,93 mg L⁻¹) seguido do cardol e cardanol. Entretanto, o LCCt apresentou atividade larvicida semelhante ao LCCn e os isolados (Tabela 7). Neste sentido, o LCCt (um resíduo agroindustrial) se torna uma alternativa eficaz para sua utilização como larvicida [37].

Em relações aos produtos obtidos através das modificações químicas nos subprodutos do caju, foi possível observar que todas as modificações foram realizadas afim de melhorar a solubilidade e eficácia larvicida. Tanto as modificações realizadas no LCCn e LCCt quanto em seus isolados se mostraram promissoras como larvicida (Tabela 8).

Tabela 8. Atividade larvicida das modificações químicas realizadas nos subprodutos do caju.

Modificações químicas	CL_{50} (mg L ⁻¹)	Espécie	Referência
Sal de sódio de LCCn	2,3	<i>Ae. aegypti</i>	[60]
Nanoemulsão de LCCt	1,4	<i>An. culicifacies</i>	[80]
Nanopartículas de zeína carregadas com ácido anacárdico	0,0117	<i>Ae. aegypti</i>	[71]
Triazoanilinas anfifílicas + cardanol e glicerol	4,0	<i>Ae. aegypti</i>	[81]
Cdl i-dPS	0,8	<i>Ae. aegypti</i>	[54]
LCCtNa	2,65	<i>Ae. aegypti</i>	[70]
LCCtK	1,98	<i>Ae. aegypti</i>	[70]

Dentre os produtos obtidos, a nanopartículas de zeína carregadas com ácido anacárdico apresentou atividade larvicida em menor concentração (CL_{50} 0,0117 mg L⁻¹) seguido do Cdl i-dPS e Nanoemulsão de LCCt (Tabela 8). Sendo assim, a partir de modificações químicas nos subprodutos do caju, pode-se obter produtos com atividade larvicida promissora para o controle de vetores.

Conclusão

Os subprodutos do caju e seus isolados são alternativas promissoras para controle de insetos vetores. Dentre eles, podemos destacar o LCCt como alternativa eficaz para síntese de larvicidas naturais. Em comparação aos demais, o LCCt apresenta baixo custo e elevada produção, por ser um resíduo agroindustrial obtido em grande escala. Além disso, a reutilização do LCCt como matéria-prima para obtenção de diferentes produtos com atividade larvicida, poderá contribuir tanto para o controle de vetores quanto para evitar os problemas ambientais relacionados ao descarte deste resíduo.

As modificações químicas nos subprodutos do caju, abordadas nesta revisão, se mostraram eficazes larvicidas. Sendo assim, vale ressaltar que as modificações químicas foram realizadas com intuito de sintetizar um produto com hidrossolubilidade e eficácia larvicida contra vetores. Considerando que o LCCt se torna viável como base para produção de larvicidas, e as modificações realizadas neste, apresentaram atividade larvicida promissora, podemos sugerir que dentre as modificações a nanoemulsão e as neutralizações (LCCtNa e LCCtK) são alternativas para a síntese de novos bioprodutos.

Referências

1. Foster, W.A., Walker, E.D.: Mosquitoes (Culicidae). Medical and veterinary entomology. Academic press, 261-325 (2019). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814043-7.00015-7>
2. Manoharan, M., Ng Fuk Chong, M., Vaïtinadapoulé, A., Frumence, E., Sowdhamini, R., Offmann, B.: Comparative genomics of odorant binding proteins in *Anopheles gambiae*, *Aedes aegypti*, and *Culex quinquefasciatus*. Genome biology and Evolution. 5, 163-180 (2013). <https://doi.org/10.1093/gbe/evs131>
3. Fotakis, E.A., Chaskopoulou, A., Grigoraki, L., Tsiamantas, A., Kounadi, S., Georgiou, L., Vontas, J.: Analysis of population structure and insecticide resistance in mosquitoes of the genus *Culex*, *Anopheles* and *Aedes* from different environments of Greece with a history of mosquito borne disease transmission. Acta tropica, 174, 29-37 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.06.005>
4. Bezerra, A.L.F.M., Silva, M.S., Pinheiro, E.B.F.: Essential oils an alternative for the control of genus *Anopheles* larvae: a review. Research, Society and Development, 10, e37101119384-e37101119384 (2021). <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i11.19384>
5. Rozendaal, J.A.: Vector control: methods for use by individuals and communities. World Health Organization (1997).
6. HERTZ, M.I., RUSH, A., NUTMAN, T.B., WEIL, G.J., BENNURU, S., BUDGE, P.J.: Characterization of glycan determinants that mediate recognition of the major Wuchereria bancrofti circulating antigen by diagnostic antibodies. Molecular and Biochemical Parasitology. 240, 111317 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2020.111317>
7. Santa Rosa, I.M., De Oliveira Trajano, I.L., De Carvalho Mota, A.F., De Moura, L.V.M., Barros, M.C., Júnior, D.V.M., Marques, C.P.C.: Epidemiologia da Malária no Brasil e resultados parasitológicos, de 2010 a 2019. Brazilian Journal of Health Review. 3, 11484-11495 (2020). <https://doi.org/10.34119/bjhrv3n5-010>
8. Lopes, R.P., Lima, J.B.P., Martins, A.J.: Insecticide resistance in *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 in Brazil: a review. Parasites & vectors. 12, 1-12 (2019). <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3850-8>
9. SES-MS - Secretaria de Estado de Saúde - Governo do Estado de Mato Grosso do Sul. Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico set. 2019. <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/setembro/25/boletim-especial-21ago19-web.pdf> (2019).
10. Daravath, S.S., Siddaiah, M., Reddyanaik, B.: Molecular characterization and phylogenetic analysis of *Culex quinquefasciatus* by DNA barcoding. Advances in Entomology. 3, 118 (2015). [10.4236/ae.2015.33014](https://doi.org/10.4236/ae.2015.33014)
11. Sutthanont, N., Attrapadung, S., Nuchprayoon, S.: Larvicidal activity of synthesized silver nanoparticles from Curcuma zedoaria essential oil against *Culex quinquefasciatus*. Insects. 10, 27 (2019). <https://doi.org/10.3390/insects10010027>
12. Pavela, R., Maggi, F., Lupidi, G., Cianfaglione, K., Dauvergne, X., Bruno, M., Benelli, G.: Efficacy of sea fennel (*Crithmum maritimum* L., Apiaceae) essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say and

- Spodoptera littoralis* (Boisd.). Industrial crops and products. **109**, 603-610 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.013>
13. Botas, G. D. S., Cruz, R.A.S., De Almeida, F.B., Duarte, J.L., Araújo, R.S., Souto, R.N.P., Ferreira, R., Carvalho, J.C.T., Santos, M.G.; Rocha, L., Pereira, V.L.P., Fernandes, C.P.: *Baccharis reticularia* DC. and limonene nanoemulsions: promising larvicidal agents for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) control. *Molecules*. **22**, 1990 (2017). <https://doi.org/10.3390/molecules22111990>
 14. PAHO - PAN American Health Organization. Information Sheet – Dengue and severe dengue, 2019. https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5963:folha-informativa-dengue-e-dengue-grave&Itemid=812 (2019).
 15. Barradas Mores, G., Schuler-Faccini, L., Hasenack, H., Fetzer, L.O., Souza, G.D., Ferraz, G.: Occupancy by *Aedes aegypti* in a Subtropical City is Most Sensitive to Control during Autumn and Winter Months. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, United States. **103**, 445–454, (2020). <https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0366>
 16. Dye, C.: The analysis of parasite transmission by bloodsucking insects. *Annual review of entomology*. **37**, 1-19 (1992). <https://doi.org/10.1146/annurev.en.37.010192.000245>
 17. Zara, A.L.S.A., Santos, S.M.D., Fernandes-Oliveira, E.S., Carvalho, R.G., Coelho, G.E.: Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, **25**, 391-404 (2016). <https://doi.org/10.5123/S1679-49742016000200017>
 18. Terra, M.R., Da Silva, R.S., Pereira, M.G.N., Lima, A.F.: *Aedes aegypti* e as arbovíroses emergentes no Brasil. *Revista Uningá Review*. **30** (2017).
 19. Costa, C.F.D., Silva, A.V.D., Nascimento, V.A.D., Souza, V.C.D., Monteiro, D.C.D.S., Terrazas, W.C.M., Naveca, F.G.: Evidence of vertical transmission of Zika virus in field-collected eggs of *Aedes aegypti* in the Brazilian Amazon. *PLoS neglected tropical diseases*. **12**, e0006594 (2018). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006594>
 20. WH -World Health Organization. Global strategy for dengue prevention and control 2012-2020. World Health Organization, Geneva, 2012. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/75303/9789241504034_eng.pdf (2012).
 21. WHO - World Health Organization. Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control: new edition. World Health Organization, (2009). <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44188>.
 22. SVS-MS - Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico 2018. <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/setembro/10/2018-045.pdf> (2018).
 23. Patterson, J., Sammon, M., Garg, M.: Dengue, Zika and chikungunya: emerging arboviruses in the New World. *Western Journal of Emergency Medicine*. **17**, 671 (2016). <https://doi.org/10.5811/westjem.2016.9.30904>
 24. SES-MS - Secretaria de Estado de Saúde - Governo do Estado de Mato Grosso do Sul. Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico jul. 2021. <https://www.vs.saude.ms.gov.br/Geral/vigilancia-saude/vigilancia-epidemiologica/boletim-epidemiologico/dengue/> (2021).
 25. WHO - World Health Organization. Dengue control Epidemiology. World Health Organization, Geneva (2018). <http://www.who.int/denguecontrol/epidemiology/en/>

26. Ritchie, S.A., Rapley, L.P., Benjamin, S.: *Bacillus thuringiensis var. israelensis* (Bti) provides residual control of *Aedes aegypti* in small containers. The American journal of tropical medicine and hygiene, United States. **82**, 1053-1059 (2010). <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.09-0603>
27. Campbell, L.P., Luther, C., Moo-Llanes, D., Ramsey, J.M., Danis-Lozano, R., Peterson, A.T.: Climate change influences on global distributions of dengue and chikungunya virus vectors. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. **370**, 20140135 (2015). <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0135>
28. Shulze, C.D., Semlitsch, R.D., Trauth, K.M.: Mosquitofish dominate amphibian and invertebrate community development in experimental wetlands. Journal of Applied Ecology. **50**, 1244-1256 (2013). <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12126>
29. Wilson, A.L. Courtenay, O., Kelly-Hope, L.A., Scott, T.W., Takken, W., Torr, S.J. Lindsay, S.W.: The importance of vector control for the control and elimination of vector-borne diseases. PLoS neglected tropical diseases. **14**, e0007831 (2020). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007831>
30. Braga, I. A., Valle, D.: *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência. Epidemiologia e Serviços de Saúde. **16**, 179-293 (2007).
31. WHO - World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality: fourth edition incorporating the first addendum (2017). https://www.who.int/water_sanitation_health/publications/drinking-water-quality-guidelines-4-including-1st-addendum/en/.
32. Amorim, J.F.S., Azevedo, A.S., Costa, S.M., Trindade, G.F., Basílio-De-Oliveira, C.A., Gonçalves, A.J.S., Alves, A.M.B.: Dengue infection in mice inoculated by the intracerebral route: neuropathological effects and identification of target cells for virus replication. Scientific reports. **9**, 1-15 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54474-7>
33. Guedes, R.N.C., Beins, K., Navarro Costa, D., Coelho, G.E., Bezerra, H.S.D.S.: Patterns of insecticide resistance in *Aedes aegypti*: meta-analyses of surveys in Latin America and the Caribbean. Pest management Science. **76**, 2144-2157, (2020). <https://doi.org/10.1002/ps.5752>
34. Govindarajan, M., Benelli, G.: α -Humulene and β -elemene from *Syzygium zeylanicum* (Myrtaceae) essential oil: highly effective and eco-friendly larvicides against *Anopheles subpictus*, *Aedes albopictus*, and *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae). Parasitology research. **115**, 2771-2778 (2016). <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5025-2>
35. Benelli, G.: Research in mosquito control: current challenges for a brighter future. Parasitology research. **114**, 2801-2805 (2015). <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4586-9>
36. Benelli, G., Duggan, M.F.: Management of arthropod vector data–Social and ecological dynamics facing the One Health perspective. Acta tropica. **182**, 80-91 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.02.015>
37. Lomonaco, D., Mele, G., Mazzetto, S.E.: Cashew nutshell liquid (CNSL): from an agro-industrial waste to a sustainable alternative to petrochemical resources. Cashew nut shell liquid. Springer, Cham. 19-38 (2017). https://doi.org/10.1007/978-3-319-47455-7_2

38. Lomonaco, D., Santiago, G.M.P., Ferreira, Y.S., Arriaga, Â.M.C., Mazzetto, S.E., Mele, G., Vasapollo, G.: Study of technical CNSL and its main components as new green larvicides. *Green Chemistry*. **11**, 31-33 (2009). [10.1039/B811504D](https://doi.org/10.1039/B811504D)
39. Oliveira, M.S.C., De Morais, S.M., Magalhães, D.V., Batista, W.P., Vieira, Í.G.P., Craveiro, A.A., De Lima, G.P.G.: Antioxidant, larvicidal and antiacetylcholinesterase activities of cashew nut shell liquid constituents. *Acta Tropica*. **117**, 165-170 (2011). <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2010.08.003>
40. Paiva, D.R., Lima, D.P., Avvari, N.P., Arruda, E.J., Cabrini, I., Marques, M.R., Beatriz, A.: A potent larvicidal agent against *Aedes aegypti* mosquito from cardanol. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. **89**, 373-382 (2017). <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720160615>
41. Buxton, T., Takahashi, S., Niwata, I., Owusu, E. O., Kim, C. S.: Isolation and characterization of the insecticidal compounds in *Anacardium Occidentale* (cashew nut) shell liquid against the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of entomology and zoology studies, India*. **5**, 1241-1246 (2017).
42. Vani, J.M. Monreal, M.T.F.D., Auharek, S.A., Cunha-Laura, A.L., De Arruda, E.J., Lima, A.R., Oliveira, R.J.: The mixture of cashew nut shell liquid and castor oil results in an efficient larvicide against *Aedes aegypti* that does not alter embryo-fetal development, reproductive performance or DNA integrity. *Plos one*. **13**, e0193509 (2018). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193509>
43. Jorge, M.R., Do Amaral Crispim, B., Merey, F.M., Barufatti, A., Cabrini, I., Da Silva Dantas, F.G., De Arruda, E.J.: Sulphonates' mixtures and emulsions obtained from technical cashew nut shell liquid and cardanol for control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Environmental Science & Pollution Research*. **27**, 27870–27884 (2020). <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08998-5>
44. Asogwa, E.U., Hamed, L.A., Ndubuaku, T.C.N.: Integrated production and protection practices of cashew (*Anacardium occidentale*) in Nigeria. *African Journal of Biotechnology*. **7**, 4868-4873 (2008). <https://doi.org/10.5897/AJB08.074>
45. Da Silva, D.P.B., Florentino, I.F., da Silva Moreira, L.K., Brito, A.F., Carvalho, V.V., Rodrigues, M.F., Vasconcelos, G.A., Vaz, B.G., Pereira-Junior, M.A., Fernandes, K.F., Costa, E.A.: Chemical characterization and pharmacological assessment of polysaccharide free, standardized cashew gum extract (*Anacardium occidentale* L.). *Journal of ethnopharmacology*. **213**, 395-402 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.11.021>
46. Trevisan, M.T.S., Pfundstein, B., Haubner, R., Würtele, G., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., Owen, R.W.: Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. *Food and Chemical toxicology*. **44**, 188-197 (2006). <https://doi.org/10.1016/j.fct.2005.06.012>
47. Mazzetto, S.E., Lomonaco, D., Mele, G.: Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. *Química Nova*. **32**, 732-741 (2009). <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300017>
48. Mubofu, E.B., Mgaya, J.E.: Chemical valorization of cashew nut shell waste. *Topics in Current Chemistry*. **376**, 1-15 (2018). <https://doi.org/10.1007/s41061-017-0177-9>

49. Mgaya, J., Shombe, G.B., Masikane, S.C., Mlowe, S., Mubofu, E.B., Revaprasadu, N.: Cashew nut shell: a potential bio-resource for the production of bio-sourced chemicals, materials and fuels. *Green Chem.* **21**, 1186–1201 (2019). <https://doi.org/10.1039/C8GC02972E>
50. Gedam, P.H., Sampathkumaran, P.S.: Cashew nut shell liquid: extraction, chemistry and applications. *Progress in Organic Coatings*, **14**, 115-157 (1986). [https://doi.org/10.1016/0033-0655\(86\)80009-7](https://doi.org/10.1016/0033-0655(86)80009-7)
51. Kumar, G., Singh, R.K., Pande, V., Dhiman, R.C.: Impact of container material on the development of *Aedes aegypti* larvae at different temperatures. *Journal of vector borne diseases.*: **53**, 144–148 (2016).
52. Subbarao, C.N., Krishna Prasad, K.M.M., Prasad, V.S.R.K.: Review on applications, extraction, isolation and analysis of cashew nut shell liquid (CNSL). *The Pharma Research Journal.* **6**, 21-41 (2011).
53. Stasiuk, M., Bartosiewicz, D., Kozubek, A.: Inhibitory effect of some natural and semisynthetic phenolic lipids upon acetylcholinesterase activity. *Food Chemistry.* **108**, 996-1001 (2008). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.011>
54. Almeida, M.O., Bezerra, T.T., Lima, N., Sousa, A.F., Trevisan, M.T., Ribeiro, V.G., Lomonaco, D., Mazzetto, S.E.: Cardol-Derived Organophosphorothioates as Inhibitors of Acetylcholinesterase for Dengue Vector Control. *Journal of the Brazilian Chemical Society.* **30**, 2634-2641 (2019). <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20190181>
55. Anastas, P.T., Kirchoff, M.M.: Origins, current status, and future challenges of green chemistry. *Accounts of chemical research.* **35**, 686-694 (2002). <https://doi.org/10.1021/ar010065m>
56. Vaz Jr, S.: Biomass and the Green Chemistry Principles. *Biomass and Green Chemistry.* Springer. 1-9 (2017). https://doi.org/10.1007/978-3-319-66736-2_1
57. Anastas, P.T., Warner, J.C.: Principles of green chemistry. *Green chemistry: Theory and practice.* Frontiers. **640**, 29-56 (1998).
58. ACS - AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, GREEN CHEMISTRY INSTITUTE. 12 principles of green chemistry. <https://www.acs.org/content/acs/en/greenchemistry/principles/12-principles-of-green-chemistry.html> (2020). Accessed 25 March 2021.
59. Kiran, S.R., Bhavani, K., Devi, P.S., Rao, B.R., Reddy, K.J.: Composition and larvicidal activity of leaves and stem essential oils of *Chloroxylon swietenia* DC against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. *Bioresource technology.* **97**, 2481-2484 (2006). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.10.003>
60. Laurens, A., Fourneau, C., Hocquemiller, R., Cavé, A., Bories, C., Loiseau, P.M.: Antivectorial Activities of Cashew Nut Shell Extracts from *Anacardium occidentale* L. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Medical and Scientific Research on Plants and Plant Products.* **11**, 145-146 (1997). [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199703\)11:2<145::AID-PTR40>3.0.CO;2-%23](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199703)11:2<145::AID-PTR40>3.0.CO;2-%23)
61. Guissoni, A.C.P., Silva, I.G., Geris, R., Cunha, L.C.D., Silva, H.H.G.D.: Larvicidal activity of *Anacardium occidentale* as an alternative to the control of *Aedes aegypti* and its toxicity in *Rattus norvegicus*. *Brazilian Journal of Medicinal Plants.* **15**, 363-367 (2013). <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000300008>

62. De Andrade Porto, K.R., Roel, A.R., Machado, A.A., Cardoso, C.A.L., De Oliveira, J.M.: Insecticidal activity of cashew nut liquid on *Aedes aegypti* larvae (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). Brazilian Journal of Biosciences. **11**, 419-422 (2013).
63. Dourado, D.M., Rosa, A.C., Porto, K.R.A., Roel, A.R., Cardoso, C.A.L., Favero, S., Matias, R.: Effects of cashew nut shell liquid (CNSL) component upon *Aedes aegypti* Lin. (Diptera: Culicidae) larvae's midgut. Afr. J. Biotechnol. **14**, 829–834 (2015). <https://doi.org/10.5897/AJB2014.14347>
64. Passari, A.K., Mishra, V.K., Gupta, V.K., Singh, B.P.: Effects of cashew nut shell liquid (CNSL) component upon *Aedes aegypti* Lin. (Diptera: Culicidae) larvae's midgut. **14**, 829-834 (2015). <https://doi.org/10.5897/AJB2014.14347>
65. Romano, C.A., Silva, H.H.G.D., Garcia, M., Silva, I.G.D.: Insecticidal activity of *Anacardium humile* (Anacardiaceae) nut shell liquid against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Rev. Patol. Trop. **47**, 183-194 (2018). <https://doi.org/10.5216/rpt.v47i3.55118>
66. Carvalho, G.H.F., Andrade, M.A., Araújo, C.N., Santos, M.L., Castro, N.A., Charneau, S., Monnerat, R., Santana, J.M., Bastos, I.M.D.: Larvicidal and pupicidal activities of eco-friendly phenolic lipid products from *Anacardium occidentale* nut shell against arbovirus vectors. Environ. Sci. Pollut. Res. **26**, 5514– 5523 (2019). <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3905-y>
67. Arruda, W., Oliveira, G.M.C., Silva, I.G.: Toxicidade do extrato etanólico de *Magonia pubescens* sobre larvas de *Aedes aegypti*. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. **36**, 17–25 (2003). <https://doi.org/10.1590/S0037-86822003000100004>
68. Silva, H.H., Silva, I.G.: Influência do período de quiescência dos ovos sobre o ciclo de vida de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) em condições de laboratório. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. **32**, 349–355 (1999). <https://doi.org/10.1590/S0037-86821999000400003>
69. Pavela, R., Benelli, G.: Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. Trends in plant Science. **21**, 1000-1007 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.10.005>
70. Nascimento, H.D.S., Crispim, B.D.A., Merey, F.M., Kummrow, F., dos Passos, R.A., Cardoso, C.A.L., Lomonaco, D., de Oliveira, K.M.P., Da Silva Dantas, F.G., de Arruda, E.J., Barufatti, A.: Self-emulsifiable Bioactive Derivatives of Technical Cashew Nut Shell Liquid (tCNSL) Developed to Control *Aedes aegypti* Populations. Waste Biomass Valor. 1-14 (2022). <https://doi.org/10.1007/s12649-022-01683-3>.
71. Pinto, E.J.S., de Araujo, J.T.C., dos Anjos Ferreira, R.M., Souto, R.N.P., Lima, L.A., de Barros Silva, P.G., Garcia, M.T., de la Fonte, A. de Sousa, F.F.O.: et al. Larvicidal activity, aquatic and in vivo toxicity of anacardic acid loaded-zein nanoparticles. Journal of Drug Delivery Science and Technology. **63**, 102513 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102513>
72. Farias, D.F., Cavalheiro, M.G., Viana, S.M., De Lima, G.P., Da Rocha-Bezerra, L.C.B., Ricardo, N.M., Carvalho, A.F.: Insecticidal action of sodium anacardate from Brazilian cashew nut shell liquid against *Aedes aegypti*. Journal of the American Mosquito Control Association, **25**, 386-389 (2009). <https://doi.org/10.2987/08-5851.1>
73. Consoli, R.A.G.B., Oliveira, R.L.: Main mosquitoes of health importance in Brazil. Fiocruz Publishing House. 228 (1994).

74. Rosenberry, T.L., Sonoda, L.K., Dekat, S.E., Cusack, B., Johnson, J.L.: Monitoring the reaction of carbachol with acetylcholinesterase by thioflavin T fluorescence and acetylthiocholine hydrolysis. *Chemico-biological interactions*. 175, 235-241 (2008). <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2008.06.002>
75. Yu, S. J.: *The Toxicology and Biochemistry of Insecticides*, 6th ed.; Taylor & Francis: Florida (2008). <https://doi.org/10.1201/9781420059762>
76. Horn, G., de Koning, M.C., van Grol, M., Thiermann, H., Worek, F.: Interactions between acetylcholinesterase, toxic organophosphorus compounds and a short series of structurally related non-oxime reactivators: Analysis of reactivation and inhibition kinetics in vitro. *Toxicol. Lett.* **299**, 218-225 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.10.004>
77. Mukhopadhyay, A.K., Hati, A.K., Tamizharasu, W., Babu, P.S.: Larvicidal properties of cashew nut shell liquid (*Anacardium occidentale* L.) on immature stages of two mosquito species. *Journal of vector borne diseases*. **47**, 257-260 (2010).
78. Raraswati, G.R., Sudarsono, S., 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*. *Biol. Med. Nat. Prod. Chem.* **3**, 53–57 (2014). <https://doi.org/10.14421/biomedich.2014.32.53-57>
79. Fauziah, R.S., Sudarsono, S., Mulyaningsih, B.: Larvicidal activity of the mixture of cashew nut shell liquid (CNSL) and aqueous extract of *Sapindus rarak* DC against larvae of *Culex quinquefasciatus*. *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry*. **3**, 21-23 (2014). <https://doi.org/10.14421/biomedich.2014.31.21-23>
80. Kala, S., Sogan, N., Verma, P., Naik, S.N., Agarwal, A., Patanjali, P.K., Kumar, J.: Nanoemulsion of cashew nut shell liquid bio-waste: mosquito larvicidal activity and insights on possible mode of action. *S. Afr. J. Bot.* **127**, 293–300 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.10.006>
81. Pelizaro, B.I., Braga, F.C., Crispim, B.D.A., de Barros, L.G.M.L., Pessatto, L.R., Oliveira, E.J.T., Vani, J.M., de Souza, A.P., Grisolia, A.B., Antonioli-Silva, A.C.M.B., De Lima, D.P., Dos Santos Jaques, J.A., Adilson, B., Oliveira, R. J.: Assessment of acute toxicity and cytotoxicity of fluorescent markers produced by cardanol and glycerol, which are industrial waste, to different biological models. *Environmental Science and Pollution Research*. **26**, 9193-9202 (2019). <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04376-y>
82. Silva, H.H.G.D., Geris, R., Rodrigues Filho, E., Rocha, C., Silva, I.G.D.: Larvicidal activity of oil-resin fractions from the Brazilian medicinal plant *Copaifera reticulata* Ducke (Leguminosae-Caesalpinoideae) against *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). *Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine*. **40**, 264-267 (2007). 10.1590/S0037-86822007000300002
83. Geris, R., Silva, I.G.D., Silva, H.H.G.D., Barison, A., Rodrigues-Filho, E., Ferreira, A.G.: Diterpenes from *Copaifera reticulata* Ducke with larvicidal activity against *Aedes aegypti* (L.) (Diptera, Culicidae). *Journal of the Institute of Tropical Medicine of São Paulo*. **50**, 26-28 (2008). <https://doi.org/10.1590/S0036-46652008000100006>
84. Simas, N.K., Lima, E.D.C., Conceição, S.D.R., Kuster, R.M., Oliveira Filho, A.M.D., Lage, C.L.S.: Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue: atividade larvicida de *Myroxylon balsamum*

- (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. *Química nova*. **27**, 46-49 (2004). <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000100009>
85. López, Ó., Fernández-Bolaños, J.G., Gil, M.V.: New trends in pest control: the search for greener insecticides. *Green Chemistry*. **7**, 431-442 (2005). <https://doi.org/10.1039/B500733J>

CAPÍTULO 2

Artigo publicado

**Bioativos Autoemulsionáveis Derivados do Líquido da Casca da
Castanha de Caju Técnico (LCCT) Desenvolvidos para Controle de
Populações de *Aedes aegypti***

Nascimento, H.d., Crispim, B.d., Merey, F.M. *et al.* Self-emulsifiable Bioactive Derivatives of Technical Cashew Nut Shell Liquid (tCNSL) Developed to Control *Aedes aegypti* Populations. *Waste Biomass Valor* (2022).

<https://doi.org/10.1007/s12649-022-01683-3>

Revista: Waste and Biomass Valorization

Fator de impacto: 3.703 (2021-2022)

Bioativos Autoemulsionáveis Derivados do Líquido da Casca da Castanha de Caju Técnico (LCCT) Desenvolvidos para Controle de Populações de *Aedes aegypti*

Hélina dos Santos Nascimento^a, Bruno do Amaral Crispim^a, Felipe Mendes Merey^a, Fábio Kummrow^b, Ricardo Augusto dos Passos^c, Claudia Andrea Lima Cardoso^{a,c}, Diego Lomonaco^d, Kelly Mari Pires de Oliveira^a, Fabiana Gomes da Silva Dantas^a, Eduardo José de Arruda^a, Alexeia Barufatti^{a,*}

^aUniversidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Rodovia Dourados-Itahum, Km 12 – Unidade II, Cidade Universitária, 79804-970, Dourados, MS, Brasil.

^bDepartamento de Ciências Farmacêuticas, Instituto de Ciências Ambientais Químicas e Farmacêuticas, Universidade Federal de São Paulo, Diadema. Rua São Nicolau, 210, 09913-030, Diadema, SP, Brasil.

^cUniversidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS), Rodovia Dourados-Itahum, Km 12 – Unidade II, Cidade Universitária, 79804-970, Dourados, MS, Brasil.

^dDepartamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará (UFC) - Campus do Pici, 60440-900. Fortaleza, CE, Brasil.

Autor correspondente:

* Email address: barufattialexeia@gmail.com

Endereço postal: Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais - Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Rodovia Dourados-Itahum, Km 12 – Unidade II | Caixa Postal: 364. CEP: 79804-970, Dourados-MS, Brasil.

Resumo

O uso de inseticidas para controlar mosquitos vetores ainda é uma prática necessária em muitos países. Devido aos impactos negativos e ao aumento da resistência dos mosquitos aos inseticidas sintéticos, são necessárias alternativas ecologicamente corretas. Nesse contexto, os produtos derivados do líquido técnico da casca da castanha de caju (LCCT) têm se mostrado promissores como larvicidas no controle do *Aedes aegypti*. Nosso objetivo foi desenvolver 5 novos derivados bioativos autoemulsificáveis a partir de reações de neutralização parcial do LCCT com 2 bases inorgânicas e 3 orgânicas, e determinar suas atividades larvicidas contra *Ae. aegypti*. Também avaliamos suas atividades antimicrobianas e potencial ecotoxicológico. Todos os cinco derivados bioativos do LCCT apresentaram atividade larvicida contra *Ae. aegypti*. Quatro derivados bioativos apresentaram alguma atividade bacteriostática, mas nenhum teve atividade fungicida. Embora os cinco derivados bioativos sejam tóxicos para organismos aquáticos, em geral foram menos tóxicos para *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia similis* e *Oreochromis niloticus*, do que os larvicidas recomendados pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Considerando o desenvolvimento de bioprodutos multifuncionais de baixo custo, sugere-se que o derivado bioativo obtido do LCCT que foi parcialmente neutralizado com NaOH (LCCTNa) possa ser incorporado em produtos saneantes para *Ae. aegypti* controle doméstico.

Palavras-chave

Controle de vetores de mosquitos; subproduto agroindustrial; atividade antimicrobiana; efeitos ecotoxicológicos.

Declarações

Não aplicável.

Financiamento

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Apoio ao Desenvolvimento da Educação, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT).

Conflitos de interesse/interesses concorrentes

Os autores declaram não ter conflitos de interesse.

Disponibilidade de dados e materiais

As análises desenvolvidas e os dados gerados a partir desta pesquisa estão incluídos neste artigo, além de conterem informações complementares (anexo).

Disponibilidade do Código

Não aplicável.

Contribuições dos autores

HSN: Formulação, Metodologia, Validação, Pesquisa, Redação - revisão e edição, Visualização. **BAC:** Conceituação, Metodologia, Pesquisa, Validação, Redação - revisão e edição, Recursos, Supervisão, Administração de projetos. **FMM:** Metodologia, Pesquisa, Redação - revisão e edição, Visualização. **FK:** Análise formal, Redação - revisão e edição, Visualização. **RAP:** Metodologia, Recurso, Redação – revisão, Visualização. **CALC:** Metodologia, Pesquisa, Redação - revisão e edição. **DLVO:** Metodologia, Pesquisa, Redação - revisão e edição. **KMPO:** Metodologia, Validação, Revisão, Visualização. **FGSD:** Metodologia, Validação, Redação - revisão e edição. **EJA:** Conceituação, Metodologia, Validação, Análise Formal, Pesquisa, Recursos, Redação - revisão e edição, Visualização, Aquisição de financiamento. **AB:** Conceituação, Metodologia, Validação, Recursos, Análise formal, Redação - revisão e edição, Supervisão, Aquisição de financiamento, Administração de projetos. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

Aprovação ética

Todos os procedimentos experimentais utilizando *Oreochromis niloticus* para o desenvolvimento deste estudo seguiram os princípios éticos do Comitê de Ética Animal da Universidade Federal da Grande Dourados (CEUA/UFGD), sob protocolo nº 09/2017-2.

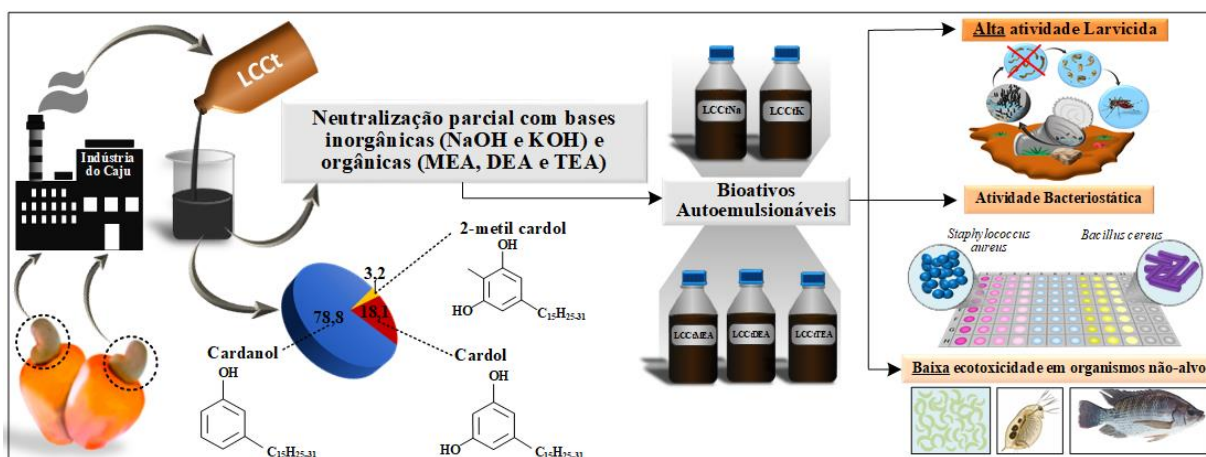
Consentimento para participar

Não aplicável.

Consentimento para publicação

Não aplicável.

Resumo gráfico



Declaração de novidade

Produzimos cinco diferentes derivados bioativos autoemulsificáveis a partir do subproduto agroindustrial, LCCT. Todos apresentaram atividade larvicida contra o *Aedes aegypti* e, em geral, foram menos tóxicos para organismos aquáticos não-alvo do que os larvicidas recomendados pela OMS.

Introdução

Populações de *Aedes aegypti* (larvas e adultos) ainda são controladas por inseticidas como parte essencial das estratégias de combate à disseminação de doenças como Dengue, Chikungunya, Zika e Febre Amarela. No entanto, os inseticidas sintéticos têm vários impactos negativos na saúde humana e ambiental, e várias espécies de mosquitos vetores desenvolveram resistência [1-4]. Portanto, é essencial o desenvolvimento de novos produtos com atividades larvicidas e adulticidas para o controle de populações de mosquitos vetores. Dentre as alternativas para prospecção de novos inseticidas, o reaproveitamento de subprodutos agroindustriais de origem vegetal com apreciáveis quantidades de compostos bioativos conservados tem se apresentado como uma alternativa interessante. Em geral, eles estão disponíveis em abundância, relativamente baratos, muitas vezes mais eficazes em concentrações mais baixas do que os inseticidas sintéticos e podem servir de base para o desenvolvimento de produtos com múltiplas funcionalidades e eficácia a longo prazo [2, 5-7]. No entanto, novas formulações de inseticidas obtidas por diferentes processos a partir de recursos naturais ainda apresentam limitações tanto em termos de otimização de sua eficácia quanto de segurança, manuseio e condições de armazenamento [8].

Dentre muitos subprodutos agroindustriais de origem vegetal, destacamos os do *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae), uma fruta nativa brasileira, composta por polpa e castanha de caju. O suco é extraído da polpa e as castanhas são processadas, comercializadas e consumidas após o processamento. O líquido natural da casca da castanha de caju (LCN) representa ~ 25% do peso total da castanha e é composto principalmente por ácido anacárdico, sendo extraído com solventes durante o processamento da castanha de caju [9]. No entanto, o aquecimento da castanha de caju a 180-190 °C, causa a descarboxilação do ácido anacárdico em cardanol e a subsequente produção do líquido da casca da castanha de caju técnico (LCCT) [9] que é composto por lipídios fenólicos. Várias aplicações industriais e tecnológicas foram propostas para o LCC e LCCT, incluindo a produção de inseticidas [10, 11, 7], resinas e plásticos [12-14].

Tanto o LCC quanto o LCCT têm atividade larvicida contra *Ae. aegypti* [12, 10, 15, 7]. No entanto, a hidrofobicidade do LCCT é a principal limitação para seu uso como larvicida em ambientes aquáticos onde os mosquitos se reproduzem. Independentemente disso, sua atividade inseticida justifica o desenvolvimento de novos produtos multifuncionais, como agentes de limpeza com atividade contra mosquitos, e fornece uma maneira promissora de controlar vetores [7, 16-18]. As reações de sulfonação com LCCT, resultam em uma mistura complexa de LCCT sulfonato de sódio (mistura LCCTsNa), que possui propriedades tensoativas [7]. No entanto, a mistura de LCCTsNa não exerce atividade larvicida, enquanto uma emulsão de LCCT com mistura de LCCTsNa na proporção de 1:6 p/p sim, confirmando que o LCCT foi responsável pela atividade larvicida [7]. A preparação de emulsões óleo em água é um método bem estabelecido para a obtenção de diferentes tipos de formulações destinadas a diferentes usos [19]. Assim, Jorge et al. [7] concluíram que a emulsão LCCT + LCCTsNa é um larvicida eficaz e surfactante multifuncional, simples de produzir e usar e, conseqüentemente, pode facilitar a aplicação em larga escala.

A preparação de emulsões óleo em água geralmente envolve procedimentos simples, o que torna a obtenção das mesmas um processo facilmente escalável. Esse tipo de emulsão tem se mostrado uma abordagem promissora para melhorar a dispersão de compostos bioativos de origem vegetal com baixa solubilidade em água em ambientes aquosos, além de melhorar a penetração e disseminação desses compostos naturais, servindo de base para a obtenção de novos inseticidas e repelentes. Essas propriedades são favorecidas pelo núcleo hidrofóbico presente nas moléculas dos tensoativos, que protege as moléculas bioativas, evitando sua degradação e, assim, prolongando sua biodisponibilidade e propriedades inseticidas. A combinação de sua estabilidade termodinâmica com o tamanho reduzido de gotículas de substâncias bioativas, proporcionam propriedades interessantes para o transporte e liberação de produtos químicos hidrofóbicos em meio aquoso, o que torna as emulsões óleo em água candidatas interessantes para obtenção de sistemas de carga para carregamento e liberação de bioativos hidrofóbicos substâncias [20]. Esses achados nos motivaram a investigar alternativas mais simples, rápidas e econômicas para a reutilização do LCCT como larvicida, com base nos princípios da Química Verde. Laurens et al. [21], realizaram uma reação de neutralização total do LCC e obtiveram um sal sódico do LCC com atividade larvicida contra *Ae. aegypti*. No entanto, o LCCT é mais interessante do que o LCC porque é um subproduto agroindustrial gerado em grande escala [11]. Aproximadamente 1 milhão de toneladas de LCCT são geradas anualmente [9], o que significa um custo relativamente baixo de US\$ 300/ton [22].

Diante disso, nosso principal objetivo foi obter cinco diferentes bioativos autoemulsificáveis derivados de LCCT produzidos a partir de reações de neutralização parcial com duas bases inorgânicas e três orgânicas. Todos os cinco bioativos autoemulsificáveis derivados do LCCT, pretendidos como larvicidas contra *Ae. aegypti*, foram gerados em uma única etapa de reação compreendendo um constituinte de óleo (LCCT) e um surfactante (o produto de LCCT parcialmente neutralizado) que formam emulsões espontaneamente quando adicionados à água e agitação vigorosa. Avaliamos sua atividade larvicida contra dois linhagens de *Ae. aegypti*, atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e leveduras, e potencial ecotoxicológico contra algas, microcrustáceos e peixes. Além disso, comparamos a eficiência dos novos 5 bioativos autoemulsificáveis derivados do LCCT com dados da literatura científica sobre atividades larvicidas do LCC, LCCT, seus constituintes e produtos gerados por modificações químicas.

Seção experimental

Materiais e produtos químicos

Foram obtidos dos respectivos fornecedores: subproduto agroindustrial LCCt (Resibras Indústria de Castanhas Ltda., Fortaleza-CE, Brasil), hidróxido de sódio P.A. (NaOH) e etanol P.A. (Alphatec, Lagomar, RJ, Brasil), hidróxido de potássio P.A. (KOH) e metanol P.A. (*Dynamics* Química Contemporânea LTDA., Indaiatuba, SP, Brasil), monetanolamina (MEA) e dietanolamina (DEA; Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO, EUA), trietanolamina (TEA; Vetec, Duque de Caxias, RJ, Brasil).

Caracterização química do LCCt

Os constituintes do LCCt foram isolados e purificados para caracterizar sua composição química. Os padrões de cardanol, cardol e 2-metil cardol para caracterizar derivados bioativos autoemulsificáveis de LCCt foram isolados e identificados usando um cromatógrafo líquido de alta eficiência modelo 210 com detecção de arranjo de diodos (CLAE-DAD) (Varian Inc., Palo Alto, CA, EUA). A pureza avaliada por CLAE mostrou que esses três componentes do LCCt eram > 90% puros. Cardanol, cardol e 2-metil cardol foram extraídos de 100 mg de LCCt em 2 mL de metanol contendo 5% de dimetilsulfóxido (DMSO) (Vetec®) usando um banho ultrassônico modelo 127v (Cristófoli & Camacho Equipamentos Hospitalares Ltda., Campo Mourão, PR, Brasil) por 30 min. Os extratos (0,5 mL) foram dissolvidos em 2 mL de metanol, depois filtrados através de uma membrana de 0,45 µm (Millipore Sigma Co., Ltd., Burlington, MA, EUA).

O extrato filtrado foi analisado a 25 °C usando CLAE-DAD em um software de estação de trabalho de cromatografia Varian Star (Varian). As amostras (20 µL) foram eluídas através de uma coluna de fase reversa C-18 (25 cm × 4,6 mm × 5 µm) usando acetonitrila/água/ácido acético (80:18:2 v/v/v) como a fase móvel em uma taxa de fluxo de 1,5 mL/min. A absorbância foi monitorada em um comprimento de onda de 280 nm.

Síntese de derivados bioativos de LCCt

Os cinco diferentes derivados bioativos do LCCt foram obtidos por reações de neutralização a 30% entre hidroxilas fenólicas e as bases inorgânicas, NaOH e KOH, e as bases orgânicas, MEA, DEA e TEA. A composição do LCCt foi determinada como cardanol (78,7%), cardol (18,1%) e 2-metilcardol (3,2%). Determinamos então que uma razão estequiométrica de LCCt para base de 3:1 p/p seria apropriada para reações de neutralização. As bases NaOH (4,0 g), KOH (5,6 g), MEA (6,1 g), DEA (10,5 g) e TEA (14,9 g) foram diluídas em 50 mL de etanol e adicionadas individualmente em cinco frascos contendo 70 g cada de LCCt. As misturas de reação foram homogeneizadas usando um agitador magnético por 20 min, em seguida, o solvente foi evaporado em estufa modelo EL 1 (Odontobrás, Ribeirão Preto, SP, Brasil) a 50 °C para derivar os bioativos LCCtNa, LCCtK, LCCtMEA, LCCtDEA e LCCtTEA. Esses derivados foram armazenados em frascos de vidro estéreis em temperatura ambiente.

Para obter cada um dos 5 derivados bioativos autoemulsificáveis, os produtos obtidos nas reações de neutralização parcial do LCCt foram pesados, diluídos em água deionizada e agitados em vórtex por 1 minuto para obtenção das soluções estoque. Todas as soluções estoque (15g L⁻¹) dos 5 derivados bioativos autoemulsificáveis foram mantidas em temperatura ambiente até os testes para avaliação das atividades larvicida, antimicrobiana e potencial ecotoxicológico.

Caracterização estrutural de derivados bioativos do LCCT

Tanto o LCCT quanto os cinco derivados bioativos (LCCTNa, LCCTK, LCCTMEA, LCCTDEA e LCCTTEA) obtidos foram estruturalmente caracterizados por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) usando um espectrômetro modelo Frontier (PerkinElmer Life and Analytical Sciences Inc., Waltham, MA, EUA) equipado com um acessório de refletância total atenuada horizontal (ATR) com um cristal de seleneto de zinco (ZnSe). Todas as amostras foram digitalizadas 32 vezes com uma resolução de 4 cm^{-1} na faixa de $500 - 4,000\text{ cm}^{-1}$.

Bioensaios

Atividade larvívica dos cinco bioativos derivados do LCCT contra *Aedes aegypti*

Atividade larvívica contra larvas de 3º e 4º instar (L3 e L4) de duas linhagens distintas de *Ae. aegypti* foi avaliada conforme descrito pela OMS [23]. Linhagem Rockefeller e Urbana (denominada linhagem Dourados) coletadas no município de Dourados, MS, Brasil. Os ovos da linhagem Rockefeller foram fornecidos pela Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN; Marília, SP, Brasil) e pelo Instituto de Biociências da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS, Campo Grande, MS, Brasil). Os ovos da linhagem Dourados foram coletados por meio de armadilhas de ovos (ovitrapas) instaladas na Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) - Campus II e Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS, Dourados, MS, Brasil). Montamos 20 ovitrapas sendo potes plásticos pretos (500 mL) contendo água (250 mL) e levedura de cerveja (0,04%) para atrair as fêmeas do mosquito. Um palete de madeira (~ 15 cm) foi fixado na borda do pote plástico como substrato para a postura dos ovos. As paletes foram retiradas semanalmente e as ovitrapas permaneceram instaladas por oito semanas. O primeiro e o segundo lotes de ovos foram coletados entre fevereiro e março de 2019 e fevereiro e março de 2020, respectivamente. Os ovos de ambas as linhagens foram mantidos em ambiente controlado a 28 ± 2 °C, umidade relativa de $60 \pm 1\%$ e fotoperíodo claro/escuro de 12:12 h. Os ovos foram então colocados em um recipiente plástico contendo água deionizada e levedura biológica [24]. As larvas foram alimentadas com ração triturada contendo 28% de proteína bruta (Lote 05EX180067109; Laguna Ponds, Mansfield, MA, EUA). As larvas foram separadas no 3º e 4º ínstares com pipeta Pasteur e, em seguida, colocadas em recipientes plásticos contendo 100 mL de água deionizada.

As linhagens Rockefeller e Dourados foram expostas a 2, 5, 10, 20 e 40 mg L^{-1} e 4, 8, 12, 24 e 35 mg L^{-1} de LCCT. Os bioativos, LCCTNa, LCCTK, LCCTMEA, LCCTDEA e LCCTTEA, foram testados em 1, 2, 5, 10 e 25 mg L^{-1} contra a linhagem Rockefeller e em 2, 4, 8, 17 e 35 mg L^{-1} contra a linhagem Dourados. Essas concentrações foram estabelecidas com base em resultados de testes preliminares de 4 ou 5 concentrações que poderiam induzir 10 a 95% de mortalidade larval em 24 h. Em seguida, determinamos as concentrações letais de 50% (CL50). As bases inorgânicas (NaOH e KOH) e orgânicas (MEA, DEA e TEA) utilizadas nas reações de neutralização foram avaliadas individualmente apenas na linhagem Rockefeller para avaliar se poderiam contribuir para a atividade larvívica dos bioativos obtidos do LCCT. O co-solvente DMSO (0,2%) facilitou a diluição do LCCT em água desionizada. Todos os bioativos obtidos do LCCT foram diluídos diretamente em água deionizada.

Foram avaliadas quatro repetições de cada concentração com 25 larvas por repetição, totalizando 100 larvas por concentração. O controle negativo foi água deionizada. A mortalidade larval foi avaliada 24

h após o início da exposição larval a todas as amostras. As larvas foram consideradas mortas quando permaneceram imóveis na superfície ou fundo do recipiente e/ou não reagiram ao toque da pipeta Pasteur. Três testes independentes foram realizados. O CL50 e CL90 para cada linhagem de *Ae. aegypti* foram calculados usando análise Probit na plataforma R® Studio [25] com intervalos de confiança de 95% (IC). As taxas de mortalidade larval foram calculadas usando a equação proposta pela OMS [26]. Esses cálculos foram baseados em concentrações de 10 e 17 mg L⁻¹ contra as linhagens Rockefeller e Dourados, respectivamente.

Atividade antimicrobiana dos bioativos derivados de LCCT

Microrganismos e cultura

A atividade antimicrobiana dos bioativos derivado do LCCT (LCCTNa, LCCTK, LCCTMEA, LCCTDEA e LCCTTEA) foi avaliada contra as seguintes bactérias e leveduras (American Type Culture Collection; ATCC, Rockville, MD, EUA): Gram-positiva *Bacillus cereus* (11778) e *Staphylococcus aureus* (25923), Gram-negativa *Enterobacter aerogenes* (13048), *Escherichia coli* (25922), *Klebsiella pneumoniae* (13883) e *Salmonella Enteritidis* (13076), e as leveduras *Candida albicans* (90028), *Candida parapsilosis* (22019) e *Candida tropicalis* (750).

As bactérias foram cultivadas em ágar Mueller Hinton (Himedia Laboratories Pvt., Ltd.®, Mumbai, Índia) e incubadas a 37 °C por 24 h. As leveduras foram cultivadas em ágar Sabouraud dextrose (Sigma-Aldrich®) a 35 °C por 48 h. O inóculo de bactérias e leveduras em solução salina estéril (0,9% NaCl) foi padronizado usando um espectrofotômetro MicroT (Q898DRN; Quimis Scientific Instruments, Diadema, SP, Brasil). As bactérias foram ajustadas para 0,110 (± 0,005) a 625 nm (absorvância), e as leveduras foram ajustadas para 90% (± 2) a 530 nm (transmitância). As bactérias foram então diluídas 1:100 (v/v) em caldo Mueller Hinton para 1,5 × 10⁵ mL⁻¹ e as leveduras foram diluídas 1:20 (v/v) e 1:50 (v/v) em caldo RPMI-1640 (Sigma-Aldrich) para 2–3 × 10³ leveduras mL⁻¹.

Determinação das concentrações inibitórias mínimas

As concentrações inibitórias mínimas (CIMs) foram determinadas usando o método de microdiluição em caldo de acordo com as diretrizes do Clinical and Laboratory Standards Institute [27]. Bactérias e leveduras foram avaliadas usando as diretrizes M07-A9 [28] e M27-A3 [29], respectivamente. Os bioativos obtidos do LCCT foram diluídos (1:2 v/v), e os efeitos de 7,81–4.000 mg L⁻¹ foram avaliados. Microplacas contendo 10 µL de inóculo bacteriano padronizado e 100 µL de cada concentração de teste por poço foram incubadas a 37 °C por 24h. Suspensões de levedura (100 µL) e 100 µL de concentração de teste foram incubadas a 35 °C por 48h.

O crescimento de microrganismos foi determinado visualmente como a turbidez do meio e confirmado pela adição de 50 µL de cloreto de trifêniltetrazólio a 0,1% (Sigma-Aldrich®). A CIM foi determinada novamente após 30 min. A CIM foi definida como a menor concentração de um agente bioativo necessária para inibir o crescimento de microrganismos após o período de incubação. Os testes prosseguiram em triplicado durante três experimentos independentes.

As concentrações bactericidas mínimas (CBM) e fungicidas (CFM) foram então determinadas como se segue. Porções de (10 µL) de bactérias e leveduras em microplacas foram espalhadas em placas

contendo Ágar Mueller Hinton e Ágar Sabouraud Dextrose, respectivamente, e incubadas a 37 °C por 24h e a 35 °C por 48h, respectivamente. O CBM e o CFM foram considerados as menores concentrações necessárias para inibir o crescimento das *colônias* [30].

Testes de toxicidade aguda e crônica dos cinco bioativos derivados do LCCT

Teste de toxicidade crônica em *Pseudokirchneriella subcapitata*

Os testes de inibição de crescimento com *P. subcapitata* foram realizados de acordo com os protocolos OECD 201 [31] e ABNT-NBR 12648 [32]. Frascos de vidro com 45 mL de meio Oligo (meio de cultura) foram inoculados contendo 1×10^5 células/mL⁻¹ de algas, em seguida as suspensões foram agitadas a 160 rpm por 72 h com 0,1, 0,5, 1,0, 2,5 e 5,0 mg L⁻¹ dos bioativos LCCTNa, LCCTK, LCCTMEA, LCCTDEA e LCCTTEA e o controle negativo (CN) foi meio de cultura Oligo mais água deionizada.

Todos os testes foram realizados a 25 ± 2 °C sob condições estéreis e 4500 lux de luz. As células de algas foram contadas em uma câmara de Neubauer usando um microscópio invertido (Alltion, Wuzhou, China) com aumento de 20x e comparadas com o CN. A concentração inibitória de 50% (CI50) foi então determinada com base na inibição do crescimento indicando toxicidade. O CN continha 16 vezes mais células do que o inóculo do teste inicial, o que validou os resultados do ensaio.

Teste de toxicidade aguda em *Daphnia similis*

Daphnia similis foi cultivada de acordo com o protocolo ABNT NBR 12713 [33], mantida em meio MS a 20 ± 2 °C, sob 16:8h de luz/escurecimento, com intensidade de luz de 700 lux, e alimentada com *P. subcapitata* três vezes semana. Os demais parâmetros foram mantidos da seguinte forma: oxigênio dissolvido, 7 ± 1 mg L⁻¹; dureza, 44 ± 4 mg L⁻¹ CaCO₃; condutividade, 200 ± 50 µS cm⁻¹; pH 7,0-7,6. Foram selecionados neonatos com idade < 24h de idade, oriundos da mesma cultura.

Os testes de toxicidade aguda com *D. similis* seguiram os protocolos OCDE 202 [34] e ABNT NBR 12713 [33]. Os neonatos foram expostos a 0,1, 0,5, 1,0, 2,5 e 5,0 mg L⁻¹ de LCCTNa e LCCTMEA; 0,1, 0,5, 1,0, 3,0 e 6,0 mg L⁻¹ de tLCCTK; 0,05, 0,1, 1,0, 2,5 e 5,0 mg L⁻¹ de LCCTDEA; e 0,05, 0,1, 0,5, 1,25 e 2,5 mg L⁻¹ de LCCTTEA, respectivamente. O controle negativo foi o meio de cultura MS, e 20 neonatos foram distribuídos aleatoriamente em quatro repetições (n = 5). A duração do teste foi de 48h, durante as quais os organismos permaneceram sem alimentação e nas mesmas condições das culturas. Três testes independentes foram realizados e validados após 48h quando a porcentagem de organismos imóveis na CN não ultrapassou 10%.

Teste de toxicidade aguda em *Oreochromis niloticus*

Juvenis de *O. niloticus* foram aclimatados por 7 dias em aquários individuais de 10 L com aeração constante. Os demais parâmetros foram: temperatura, 26 ± 2 °C, fotoperíodo claro/escuro 12:12h e os peixes receberam ração granulada contendo 28% de proteína bruta (Lote 05EX180067109; Lagoas Laguna) duas vezes ao dia. Fezes e restos de ração foram retirados diariamente e 50% da água dos aquários foi renovada. A toxicidade aguda foi avaliada de acordo com os protocolos OCDE 203 [35] e ABNT NBR 15088 [36] utilizando juvenis de *O. niloticus* com peso médio de $1,62 \pm 0,79$ g. As concentrações de teste foram dispostas aleatoriamente com três repetições de 10 peixes cada. Os peixes foram expostos aos compostos

bioativos por 96h em sistema estático sem alimentação. A mortalidade foi avaliada diariamente e os peixes mortos foram removidos.

Os peixes foram expostos a 150, 170, 180, 200 e 300 mg L⁻¹ de LCCtNa, 180, 220, 270 e 400 mg L⁻¹ de LCCtK, 400, 470, 500, 550 e 600 mg L⁻¹ de LCCtMEA, 180, 200, 230, 270 e 300 mg L⁻¹ de LCCtDEA, e 200, 235, 270 e 300 mg L⁻¹ de LCCtTEA. Essas concentrações foram estabelecidas a partir de testes preliminares para definir a faixa de toxicidade (4–5 concentrações, causando 10–95% de mortalidade em 96h) e determinar a concentração letal de 50% (CL50). O CN foi água desclorada. Os parâmetros de qualidade da água foram: temperatura 26 ± 2°C, oxigênio dissolvido 7,5 ± 0,5 mg L⁻¹ e pH 7,5 ± 0,2. Esses parâmetros foram medidos usando a sonda multiparâmetro YSI Professional Plus (YSI Inc., Yellow Springs, OH, EUA). Todos os experimentos seguiram os princípios éticos do Comitê de Ética Animal da UFGD (Protocolo número: 09/2017-2).

Análise estatística e classificação toxicológica

Os resultados dos testes de atividade larvicida com *Ae. aegypti* (linhagens Rockefeller e Dourados) foram avaliados pelo método estatístico Probit na plataforma R® Studio [25] com intervalo de confiança (IC) de 95% para determinar o CL50 e CL90 (Tabela 1, Informação Suplementar). A análise de variância paramétrica (ANOVA) com *posteriori* de Tukey ($\alpha = 0,05$) foi aplicada para comparar os bioativos com o LCCt dentro de cada linhagem e para comparar o LCCt e o derivado bioativo entre as duas linhagens de mosquito. A CI50 para *P. subcapitata* foi determinada usando o software ICp (versão 2.0) [37]. O CE50 para *D. similis* foi calculado usando o método estatístico Trimmed Spearman-Kärber usando o software JSPEAR [38]. A CL50 no teste de toxicidade com *O. niloticus* foi calculada por análise Probit na plataforma R® Studio [25] com IC de 95%.

Os bioativos derivados do LCCt foram classificados de acordo com a OCDE [39] para risco ambiental de misturas químicas, como Agudo I ($\leq 1,00$ mg L⁻¹), Agudo II ($> 1,00$ – $10,00$ mg L⁻¹) ou Agudo III ($> 10,00$ – $100,00$ mg L⁻¹). Os valores de CI50, CE50 e CL50 dos testes de toxicidade foram considerados para determinar as categorias.

Resultados e discussão

Composição química do LCCt

Os principais constituintes do LCCt foram cardanol (519,7 mg g⁻¹; tempo de retenção (RT), 10,56 min), seguido por cardol (119,8 mg g⁻¹; RT 1,01 min) e 2-metil cardol (21,2 mg g⁻¹; RT 5,12 min). A composição do LCCt foi determinada para estabelecer as proporções das bases (2 inorgânicas e 3 orgânicas) usadas nas reações de neutralização parcial das hidroxilas fenólicas desses componentes, para preparar os cinco diferentes sistemas autoemulsificáveis (LCCt parcialmente neutralizado + LCCt). Em geral, o uso de produtos à base de emulsões óleo em água são considerados ferramentas promissoras para aumentar a atividade inseticida (adulticida ou larvicida) de substâncias bioativas hidrofóbicas de origem vegetal [20].

Jorge et al. [7] verificaram o aumento da atividade larvicida dos constituintes do LCCt quando combinados com um surfactante como a mistura de LCCtSNa preparada por sulfonação de LCCt. Isso resulta na produção de micelas nanométricas que permitem o encapsulamento dos componentes ativos do LCCt, aumentando sua capacidade de interagir com as larvas do mosquito em meio aquoso, garantindo sua

eficiência larvicida. Com base nesses resultados, selecionamos a geração de tensoativos *in situ* produzidos a partir da neutralização parcial das hidroxilas de cardanol, cardol e 2-metilcardol, utilizando cada uma das bases inorgânicas (NaOH ou KOH) e orgânicas (MEA ou DEA ou TEA), individualmente para gerar seus respectivos íons fenóxidos bioativos, visando obter 5 novos produtos para o controle de mosquitos vetores.

Caracterização estrutural dos cinco bioativos derivados do LCCT

Os compostos bioativos derivados de LCCT foram confirmados usando espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) (Fig. 1). Na região da ligação O-H esticada, em 3.000–3.500 cm^{-1} , curvas distintas de bioativos foram geradas a partir de bases inorgânicas (LCCTNa e LCCTK) e orgânicas (LCCTMEA, LCCTDEA e LCCTTEA). As bandas LCCTNa e LCCTLK foram achatadas, devido a mais interações de ligações de hidrogênio, em comparação com LCCT. As bandas para LCCTMEA, LCCTDEA e LCCTTEA aumentaram, o que foi consistente com o aumento gradual do número de hidroxilas nos bioativos, de acordo com os tipos de etanolamina. Uma banda adicional apareceu em $\sim 1.065 \text{ cm}^{-1}$ nos bioativos contendo aminas, indicando uma correlação com o alongamento das ligações C-N, cuja intensidade aumentou de acordo com o grau de substituição da amina aplicada.

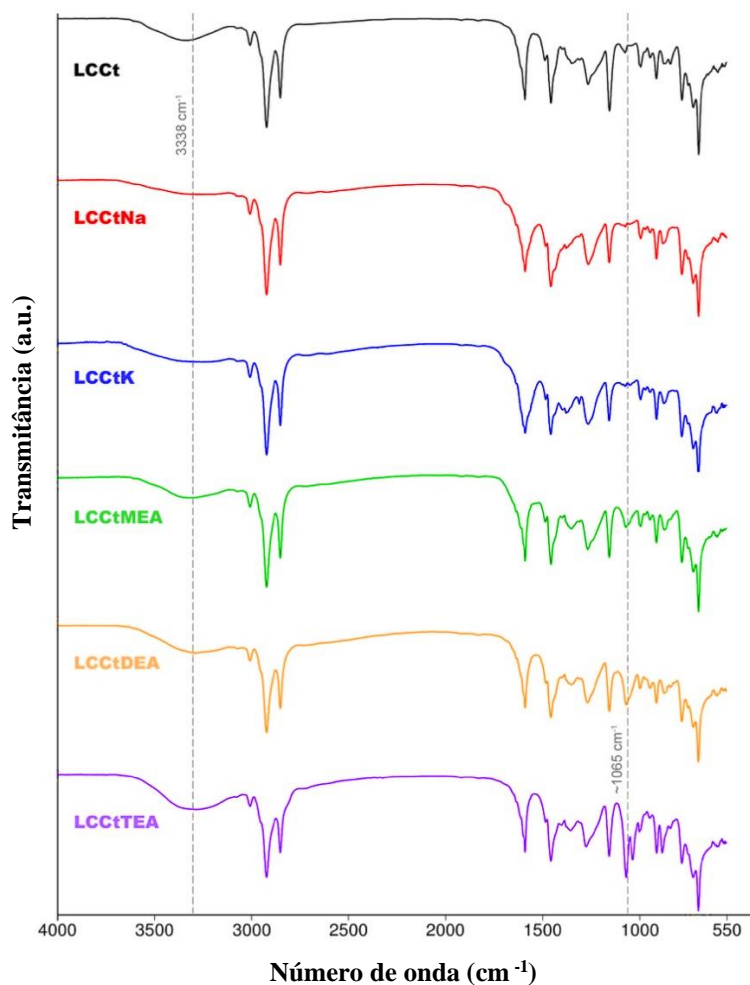


Fig. 1. Espectros infravermelhos de transformada de Fourier do LCCT e seus derivados bioativos obtidos por neutralização parcial. As linhas pontilhadas em 3.338 e 1.065 cm^{-1} indicam estiramento das ligações O-H e C-N, respectivamente.

Atividade biológica

Atividade larvicida contra *Ae. aegypti*

A linhagem Rockefeller (Tabela 1) foi mais sensível à atividade larvicida do LCCT e seus derivados bioativos do que a linhagem Dourados (Tabela 2).

Tabela 1. Concentração letal 50% (CL50) (mg L⁻¹) de derivados bioativos de LCCT e seus constituintes incluindo LCCT contra larvas de *Ae. aegypti* linhagem Rockefeller.

Bioativos derivados do LCCT				
	CL50-24h (IC 0,05)	x²	Df	p value
LCCTNa	2,65 (2,17 – 3,19)	11,00	3	0,98
LCCTK	1,98 (1,55 – 2,45)	4,73	3	0,81
LCCTMEA	3,16 (2,65 – 3,78)	12,27	3	0,99
LCCTDEA	3,44 (2,82 – 4,18)	0,79	3	0,15
LCCTTEA	4,02 (3,27 – 4,93)	11,26	3	0,99
LCCT e reagentes usados para obter derivados bioativos				
	CL50-24h (IC 0,05)	x²	Df	p value
LCCT	7,44 (5,28 – 10,12)	13,62	4	0,99
Na	253,45 (215,46 – 287,71)	1,37	3	0,29
K	325,30 (282,19 – 364,57)	12,22	3	0,99
MEA	>800	-	-	-
DEA	>800	-	-	-
TEA	>800	-	-	-

IC, intervalo de confiança; Df, Grau de liberdade.

Tabela 2. Concentração letal 50% (CL50) (mg L⁻¹) de LCCT e seus derivados bioativos contra larvas de *Ae. aegypti* linhagem Dourados.

Bioativos	CL50-24h (IC 0,05)	x²	Df	p value
LCCT	12,11 (10,88 – 13,52)	43,04	4	1
LCCTNa	6,93 (5,81 – 8,30)	4,47	3	0,78
LCCTK	10,27 (8,77 – 12,05)	8,84	3	0,97
LCCTMEA	7,59 (6,43 – 8,98)	29,39	3	0,99
LCCTDEA	11,52 (10,14 – 13,12)	0,001	3	0,00001
LCCTTEA	10,72 (9,28 – 12,40)	62,97	3	1

IC, intervalo de confiança; Df, Grau de liberdade.

A CL50-24h do LCCT foi de 7,44 e 12,11 mg L⁻¹ contra as linhagens Rockefeller e Dourados, respectivamente, sem diferença significativa entre elas (Tabela 1, Informação Suplementar). As CL50-24h de todos os bioativos derivados do LCCT foram < 5 e < 13 mg L⁻¹ contra larvas das linhagens Rockefeller (Tabela 1) e Dourados (Tabela 2), respectivamente. Komalamisra et al. [40] estabeleceram que produtos destinados a larvicidas com CL50 < 50 mg L⁻¹ são considerados ativos. Assim, tanto o LCCT quanto seus derivados bioativos podem ser considerados larvicidas ativos e, portanto, eficientes no combate a ambas as linhagens de *Ae. aegypti*.

A CL50-24h do LCCT para as larvas *Ae. aegypti* linhagem Rockefeller (Tabela 1) foi semelhante à encontrada por Jorge et al. [7] (CL50-24h, 6,68 mg L⁻¹). A amostra de LCCT utilizada e avaliada por Jorge et al. [7] foram do mesmo fornecedor, mas os lotes ou a padronização foram diferentes. Carvalho et al. [41] e Lomonaco et al. [12] observaram menor atividade larvicida contra *Ae. aegypti* para amostras de LCCT com CL50-24h de 19,76 e 51,04 mg L⁻¹, respectivamente. Essas variações na CL50 da atividade larvicida do LCCT podem ser atribuídas, pelo menos em parte, à origem e aos diferentes processos industriais usados para

gerar o LCCT. Além disso, as condições experimentais também influenciaram os resultados dos testes de atividade larvicida.

Considerando que as reações químicas durante a neutralização do LCCT foram parciais, alguns reagentes permaneceram nos bioativos. Portanto, avaliamos a possibilidade de que os agentes de neutralização tenham contribuído para as atividades larvicidas dos bioativos derivados do LCCT. Devido à menor disponibilidade de ovos viáveis da linhagem Dourados, este teste foi realizado apenas com a linhagem Rockefeller (considerada referência). Todas as bases orgânicas apresentaram $CL_{50.24h} > 800 \text{ mg L}^{-1}$ (Tabela 1), indicando que não contribuíram para a atividade larvicida dos bioativos. As $CL_{50.24h}$ das bases inorgânicas foram duas ordens de grandeza maiores que as do LCCT e todos os seus derivados bioativos. Assim, a contribuição das bases inorgânicas residuais para a atividade larvicida dos bioativos pode ser considerada mínima (Tabela 1).

Em geral, os bioativos derivados do LCCT obtidos a partir de reações com bases inorgânicas foram relativamente mais tóxicos para ambas as linhagens de *Ae. aegypti*. Embora os valores de $CL_{50.24h}$ para todos os bioativos contra a linhagem Rockefeller não diferiram significativamente (Tabela 1, Informação Suplementar), LCCTK exerceu a maior atividade larvicida ($CL_{50.24h} 1,98 \text{ mg L}^{-1}$; Tabela 1). Contra a linhagem Dourados, o LCCTK apresentou a terceira maior atividade larvicida, com $CL_{50.24h}$ de $10,27 \text{ mg L}^{-1}$ (Tabela 2). As $CL_{50.24h}$ de LCCTNa foram $2,65$ e $6,93 \text{ mg L}^{-1}$ para as linhagens Rockefeller e Dourados, respectivamente (Tabelas 1 e 2). Laurens et al. [21] avaliaram a atividade larvicida do LCC que foi totalmente neutralizado com NaOH contra o *Ae. aegypti*, GKep linhagem criada em laboratório, e obteve um valor de CL_{50} de $2,3 \text{ mg L}^{-1}$, que foi semelhante a $CL_{50.24h}$ de LCCTNa contra a linhagem Rockefeller. Para os bioativos obtidos a partir das reações de neutralização com as bases orgânicas, todos os valores de $CL_{50.24h}$ foram semelhantes para a linhagem Rockefeller (Tabela 1). A $CL_{50.24h}$ de $7,59 \text{ mg L}^{-1}$ contra a linhagem Dourados indicou que a LCCTMEA teve a segunda atividade larvicida mais efetiva (Tabela 2).

Esses resultados indicam que o reaproveitamento de resíduos agroindustriais de origem vegetal para sintetizar produtos com atividade larvicida parece oferecer uma alternativa interessante e viável para o controle de mosquitos vetores. A atividade larvicida de todos os 5 bioativos derivados do LCCT parece estar associada a caudas não polares insaturadas de fenóis lipídicos, que tornam as membranas celulares permeáveis e induzem toxicidade contra larvas de *Ae. aegypti* [12, 42]. Além disso, a neutralização parcial do LCCT gerou derivados bioativos com maior solubilidade em água, mantendo a atividade larvicida original do LCCT que não foi neutralizado. Jorge et al. [7] descreveram anteriormente o mesmo fenômeno para micelas geradas a partir da emulsão composta pela mistura LCCT+LCCTsNa, o que aumentou a capacidade do LCCT de interagir com as larvas no meio aquoso dos criadouros.

A atividade larvicida do LCCT (Tabela 1) contra a linhagem Rockefeller foi semelhante à do LCC e de seu componente majoritário, o ácido anacárdico, que apresentou valores de $CL_{50.24h}$ de $7,84$ e $5,93 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente, para larvas de *Ae. aegypti* [41]. As $CL_{50.24h}$ do LCC e do ácido anacárdico foram $7,09$ e $5,36 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente [37], contra mosquitos *Culex quinquefasciatus* (Tabela 3). Assim, tanto o LCC quanto o LCCT e seus componentes podem ser considerados larvicidas eficazes (Tabela 3).

Além disso, a baixa solubilidade em água interfere na dispersibilidade do LCCT e, conseqüentemente, torna o produto menos disponível para interagir com as larvas do mosquito em ambientes aquáticos [47, 7]. Nesse contexto, diferentes modificações químicas têm sido propostas e

aplicadas com o objetivo de gerar mais produtos solúveis em água a partir do LCCt e aplicá-los em criadouros do mosquito para combater as larvas. A Tabela 3 mostra uma visão geral da atividade larvicida de produtos gerados por várias modificações do LCCt e aplicados como larvicidas para diferentes espécies de mosquitos vetores, compilados da literatura.

Tabela 3. Atividade larvicida (CL50) do líquido da casca da castanha de caju natural (LCC) e técnico (LCCt), seus constituintes e produtos gerados por modificações químicas.

Composto	CL50 (mg L ⁻¹)	Espécie	Referência
LCC	6,55	<i>Ae. aegypti</i>	[10]
	7,84	<i>Ae. aegypti</i>	[41]
	7,09	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	[41]
	70	<i>Ae. aegypti</i>	[11]
LCCt	6,68		[7]
	19,76	<i>Ae. aegypti</i>	[41]
	51,04		[12]
Ácido anacárdico	5,93	<i>Ae. aegypti</i>	[41]
	5,36	<i>Cx. quinquefasciatus</i>	[41]
Cardanol	22,3		[7]
	20,32		[41]
	18,35	<i>Ae. aegypti</i>	[43]
	8,20		[45]
	32,89		[12]
Cardol	6,14	<i>Ae. aegypti</i>	[41]
	5,55		[45]
	14,20		[12]
Modificações químicas no LCC/LCCt e seus constituintes (mg L⁻¹)			
LCC + óleo de mamona (TaLCC-20)	5,0	<i>Ae. aegypti</i>	[46]
LCC + extrato noz-sabão	14,12	<i>Ae. aegypti</i>	[48]
Neutralização total do LCC com NaOH	2,3	<i>Ae. aegypti</i>	[21]
Nanoemulsão de LCCt	1,4	<i>A. culicifacies</i>	[44]
LCCt + mistura LCCtSNa	110,6	<i>Ae. aegypti</i>	[7]
Cardanol hidrogenado	68,18	<i>Ae. aegypti</i>	[12]
Cardol hidrogenado	> 500	<i>Ae. aegypti</i>	[12]
Bioativos derivados do LCCt (mg L⁻¹)			
LCCtNa	2,65		
LCCtK	1,98		
LCCtEA	3,16	<i>Ae. aegypti</i>	This work
LCCtDEA	3,44		
LCCtTEA	4,02		

Os constituintes do LCCt também foram larvicidas contra *Ae. aegypti*. Em geral, o cardanol tem menor atividade larvicida que o LCCt, exceto pelos resultados de um estudo de Oliveira et al. [45] que encontraram um valor de CL50-24h de 8,20 mg L⁻¹, que foi semelhante ao valor de CL50-24h para LCCt. Os valores de CL50-24h para cardanol variam entre 18,35 mg L⁻¹ [42] e < 50 mg L⁻¹ [12] (Tabela 3). Cardol é relativamente mais tóxico para *Ae. aegypti* que LCCt, com valores de CL50-24h de 5,55 mg L⁻¹ [45] e 14,20 mg L⁻¹ [12]. Com base nas proporções de cardanol (78,7%) e cardol (18,1%) no LCCt aqui utilizado, e em

resultados publicados na literatura internacional para seus componentes individuais (valores CL_{50-24h}; Tabela 3), sugerimos que a atividade larvicida do LCCt é atribuído principalmente ao cardol.

Visando aplicações larvicidas, Kala et al. [47] usaram emulsificação espontânea para desenvolver uma nanoemulsão compreendendo LCCt (5%), Tween 80 (polissorbato 80) e Span 20 (monolaureato de sorbitano). A CL₅₀ desta nanoemulsão contra larvas de *Anopheles culicifacies* foi de 1,4 mg L⁻¹ [47]. Jorge et al. [7] sulfonaram o LCCt e obtiveram uma mistura de LCCtSNa com propriedades tensoativas, mas sem atividade larvicida. No entanto, a atividade larvicida foi recuperada quando mistura de LCCtSNa foi emulsionada com LCCt apresentado CL₅₀ de 110,6 mg L⁻¹ contra *Ae. aegypti* [7]. A atividade larvicida de produtos derivados do LCC contra *Ae. aegypti* foi relatado. De acordo com Vani et al. [46], uma mistura de LCC com óleo de mamona (TaLCC-20) matou eficientemente larvas de *Ae. aegypti* na concentração de 5 mg L⁻¹.

Com base na visão geral dos dados recuperados da literatura, podemos observar que as atividades larvicidas dos 5 bioativos autoemulsificáveis derivados do LCCt apresentam eficiências semelhantes ou superiores aos diferentes produtos desenvolvidos anteriormente para combater o *Ae. aegypti* (Tabela 3).

Atividade antimicrobiana

Em geral, os bioativos derivados do LCCt não apresentaram atividade antimicrobiana. Entretanto, a CIM de LCCtDEA contra *S. aureus* foi de 500 mg L⁻¹. As CIMs de LCCtMEA e LCCtNa foram ambas de 1.000 mg L⁻¹ para *B. cereus*, e a de LCCtTEA contra *B. cereus* e *E. coli* foram respectivamente 2.000 e 4.000 mg L⁻¹ (Tabela 4).

Tabela 4. Atividade antimicrobiana de bioativos derivados do LCCt contra bactérias e leveduras.

Bactéria	LCCtNa		LCCtK		LCCtDEA		LCCtLCCtMEA		LCCtTEA	
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
Gram-positiva										
<i>Bacillus cereus</i>	1000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	1000	>4000	2000	>4000
<i>Staphylococcus aureus</i>	>4000	>4000	>4000	>4000	500	>4000	>4000	>4000	>4000	4000
Gram-negativa										
<i>Enterobacter aerogenes</i>	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000
<i>Escherichia coli</i>	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	4000	>4000
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000
<i>Salmonella</i> Enteritides	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000
Leveduras										
<i>Candida albicans</i>	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000
<i>Candida tropicalis</i>	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000
<i>Candida parapsilosis</i>	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000	>4000

CBM, concentração bactericida mínima (mg L⁻¹); CFM, concentração fungicida mínima (mg L⁻¹); CIM, concentração inibitória mínima (mg L⁻¹).

Outros descreveram as atividades antibacterianas do LCCt. Kanehashi et al. [49] obtiveram CIM de 1.000 mg L⁻¹ para LCCt contra *S. aureus*. Nossos resultados para LCCtDEA (CIM, 500 mg L⁻¹), foram

semelhantes aos de Jorge et al. [7], que obtiveram CIM de 500 mg L⁻¹ (Tabela 4). Além disso, o cardanol, constituinte majoritário do LCCt, e a mistura LCCt + LCCtSNa, sintetizada por Jorge et al. [7], apresentaram atividade antimicrobiana contra *E. coli* com CIM de 1.000 mg L⁻¹. O LCC e seus constituintes, ácido anacárdico, cardol e cardanol, exerceram atividade antibacteriana contra *S. aureus* [50] e *Bacillus subtilis* [51]. Embora as CIMs dos produtos bioativos derivados fossem relativamente altas, eles apresentaram atividade bacteriostática, principalmente contra bactérias Gram-positivas.

Avaliação ecotoxicológica usando *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Daphnia similis* e *Oreochromis niloticus*

Em geral, as algas foram as mais sensíveis a LCCtNa, LCCtK e LCCtDEA, seguidas de microcrustáceos e peixes. Os microcrustáceos foram os mais sensíveis a LCCtMEA e LCCtTEA, seguidos de algas e peixes. Os bioativos com maior e menor toxicidade contra *P. subcapitata* foram LCCtNa (CI50 0,49 mg L⁻¹) e LCCtMEA (CI50 1,14 mg L⁻¹), respectivamente. Os derivados mais e menos tóxicos contra *D. similis*, foram respectivamente, LCCtK (CE50 0,89 mg L⁻¹) e LCCtDEA (CE50 28 mg L⁻¹). Embora os valores de CL50 tenham sido maiores para *O. niloticus*, o comportamento foi semelhante ao das algas. Os mais e menos tóxicos foram respectivamente, LCCtNa (CL50 210,63 mg L⁻¹) e LCCtMEA (CL50 519,48 mg L⁻¹) (Tabela 5).

Tabela 5. Concentração inibitória, efetiva ou letal de 50% dos bioativos derivados do LCCt para os organismos teste.

Bioativos derivados do LCCt	Organismos teste		
	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	<i>Daphnia similis</i>	<i>Oreochromis niloticus</i>
	CI50 (CI _{0,5}) (mg L ⁻¹)	CE50 (CI _{0,5}) (mg L ⁻¹)	CL50 (CI _{0,5}) (mg L ⁻¹)
LCCtNa	0,49 (0,46–0,53)	1,15 (0,77–1,74)	210,63 (193,39–229,41)
LCCtK	0,73 (0,64–0,83)	0,89 (0,51–1,56)	254,35 (235,02–275,28)
LCCtMEA	1,14 (0,96–1,32)	1,12 (0,84–1,51)	519,48 (501,07–538,57)
LCCtDEA	1,10 (0,83–1,39)	2,28 (1,81–2,89)	225,32 (208,35–243,68)
LCCtTEA	1,11 (0,82–1,27)	1,04 (0,71–1,53)	221,49 (212,87–230,46)

IC, 95% intervalo de confiança; CE50, concentração efetiva de 50%; CI50, concentração inibitória de 50%; CL50, concentração letal de 50%.

Apesar de inúmeros estudos publicados sobre o potencial uso de produtos à base de LCC e LCCt como larvicidas, os efeitos ecotoxicológicos desses produtos têm sido pouco avaliados. Jorge et al. (dados não publicados) relataram a CI50 de 0,33 mg L⁻¹ do LCCt contra *P. subcapitata*. Portanto, relativamente mais tóxico que os cinco bioativos derivados do LCCt, com CI50 variando de 0,49–1,14 mg L⁻¹ (Tabela 5) para a mesma espécie de alga. No entanto, a emulsão da mistura LCCt+LCCtSNa sintetizada por Jorge et al. (dados não publicados), gerou uma CI50 de 2,10 mg L⁻¹ para *P. subcapitata*, que foi menos tóxica do que os cinco bioativos aqui obtidos (Tabela 5). Pimentel et al. [52] verificaram que os constituintes isolados do LCCt, cardanol e cardol, eram tóxicos contra *Artemia salina* com CE50 de 0,42 e 0,41 mg L⁻¹, respectivamente. Leite et al. [53] avaliaram a toxicidade do LCC e do LCCt e encontraram CE50 de 36,96 mg L⁻¹ e 91,67 mg L⁻¹ para *A. salina*. Jorge et al. verificaram que a CE50 da mistura LCCtSNa e a emulsão LCCt+LCCtSNa foi de 0,12 e 1,02 mg L⁻¹ contra *D. similis* (dados não publicados).

De acordo com a classificação ecotoxicológica proposta pela OCDE [39], o LCCtNa foi classificado como Agudo I contra *P. subcapitata* e Agudo II contra *D. similis*, enquanto o LCCtK foi classificado como Agudo I para *P. subcapitata* e *D. similis*. Os bioativos derivados do LCCt via reações de neutralização com as bases orgânicas LCCtMEA, LCCtDEA e LCCtTEA, foram classificados como Agudos II contra *P. subcapitata* e *D. similis*. Todos os cinco bioativos foram tóxicos ($> 100 \text{ mg L}^{-1}$) contra *O. niloticus*; portanto, não foram classificados de acordo com o protocolo da OCDE [39] (Tabela 6).

Tabela 6. A Classificação ecotoxicológica de acordo com o protocolo da OECD [39] de produtos derivados do LCCt propostos como larvicidas.

Organismo teste	Produto larvicida	CI/E/L50 (mg L^{-1})	Classificação ecotoxicológica OECD [39]	Referência
<i>P. subcapitata</i> (alga)	LCCt	0,33	Agudo I	Jorge et al. (dados não publicados)
	LCCtNa	0,49	Agudo I	
	LCCtK	0,73	Agudo I	
	LCCtMEA	1,14	Agudo II	Presente estudo
	LCCtDEA	1,10	Agudo II	
	LCCtTEA	1,11	Agudo II	
	Mistura LCCtSNa	7,10	Agudo II	Jorge et al. (dados não publicados)
	LCCt + mistura LCCtSNa	2,10	Agudo II	Jorge et al. (dados não publicados)
<i>D. similis</i> (microcrustáceo)	LCCt	0,12	Agudo I	Jorge et al. (dados não publicados)
	LCCtNa	1,15	Agudo II	
	LCCtK	0,89	Agudo I	
	LCCtMEA	1,12	Agudo II	Presente estudo
	LCCtDEA	2,28	Agudo II	
	LCCtTEA	1,04	Agudo II	
	Mistura LCCtSNa	0,75	Agudo I	Jorge et al. (dados não publicados)
	LCCt + mistura LCCtSNa	1,05	Agudo II	Jorge et al. (dados não publicados)
<i>O. niloticus</i> (peixe)	LCCt	25,46	Agudo III	Jorge et al. (dados não publicados)
	LCCtNa	210,63	- ^a	
	LCCtK	254,35	-	
	LCCtMEA	519,48	-	Presente estudo
	LCCtDEA	225,32	-	
	LCCtTEA	221,49	-	
	Mistura LCCtSNa	250,30	-	Jorge et al. (dados não publicados)
	LCCt + mistura LCCtSNa	41,44	Agudo III	Jorge et al. (dados não publicados)

^aNão classificado pela OECD [39].

Com base na classificação da OECD [39], para todos os organismos de teste, o LCCt foi o mais tóxico (Agudo I). Para *P. subcapitata*, os bioativos obtidos por reações de neutralização com bases orgânicas (LCCtMEA, LCCtDEA e LCCtTEA) foram menos tóxicos (Agudo II) do que os bioativos obtidos com bases inorgânicas (LCCtNa e LCCtK) (Agudo I). Suas classificações foram semelhantes às desenvolvidas anteriormente por Jorge et al. (dados não publicados). Entre os bioativos, LCCtNa,

LCCTMEA, LCCTDEA e LCCTTEA, e a emulsão (LCCT+ mistura LCCTSNa) foram menos tóxicos (Agudo II) do que LCCTK e a mistura LCCTSNa contra *D. similis* (Agudo I). Para *O. niloticus*, todos os cinco bioativos e a mistura LCCTSNa não puderam ser classificados, sendo menos tóxico que a emulsão LCCT + mistura LCCTSNa, que foi classificada como aguda III (Tabela 6).

Uma comparação com os larvicidas recomendados pela OMS para o controle de mosquitos vetores mostrou que todos os bioativos foram menos tóxicos que o piriproxifeno [54] e mais tóxicos que o Novaluron [55]. Todos os bioativos foram menos tóxicos para microcrustáceos do que os larvicidas, diflubenzuron, novaluron, pyriproxifen e Temefós [56, 55, 57, 58], e menos tóxicos para os peixes do que os larvicidas, diflubenzuron, Novaluron e temefós [59, 60].

Em geral, os cinco bioativos derivados do LCCT foram menos tóxicos para organismos não-alvo do que os larvicidas recomendados pela OMS [58] para combater o *Ae. aegypti*. Considerando os princípios da Química Verde, que visam o reaproveitamento de matérias-primas, os produtos bioativos derivados do LCCT, um resíduo agroindustrial, são alternativas promissoras para a síntese de novos e simples larvicidas.

Conclusão

A neutralização parcial do LCCT com bases inorgânicas e orgânicas permitiu a formação de 5 diferentes derivados bioativos autoemulsificáveis com maior solubilidade em água, o que consequentemente permitiu explorar a atividade larvicida do LCCT contra larvas de *Ae. aegypti*. Todos os cinco derivados bioativos foram larvicidas contra *Ae. aegypti*. No entanto, LCCTNa e LCCTK foram os mais tóxicos contra o *Ae. aegypti* linhagem Rockefeller, enquanto LCCTNa e LCCTMEA foram os mais tóxicos para linhagem Dourados. Além disso, os bioativos LCCTNa, LCCTMEA, LCCTDEA e LCCTTEA também apresentaram atividade bacteriostática. Nenhum dos derivados bioativos apresentou atividade fungicida.

Embora os cinco derivados bioativos fossem tóxicos contra os organismos aquáticos, *P. subcapitata*, *D. similis* e *O. niloticus*, sua toxicidade geral foi inferior à dos larvicidas recomendados pela OMS [58]. Assim, o uso desses derivados bioativos como larvicidas parece mais seguro do ponto de vista ecotoxicológico. O reaproveitamento de resíduos agroindustriais, LCCT, como larvicida natural e sustentável pode reduzir os problemas de seu descarte e biodegradação ambiental, atendendo assim aos princípios da Química Verde. Visando o desenvolvimento de bioprodutos multifuncionais de baixo custo, sugerimos que LCCTNa também possa ser incorporado em produtos saneantes para o controle doméstico de *Ae. aegypti*.

Agradecimentos

Agradecemos o apoio financeiro para este estudo e uma bolsa de pós-graduação da Fundação de Apoio ao Desenvolvimento da Educação, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). A UFGD que forneceu apoio logístico e infraestrutura. Agradecemos ao Laboratório de Ecotoxicologia e Genotoxicidade (LECOGEN) por todo apoio durante o desenvolvimento deste estudo. A RESIBRAS (Fortaleza, CE, Brasil) que forneceu o líquido da casca da castanha de caju técnico a partir do qual os compostos bioativos foram sintetizados. A SUCEN (Marília, SP, Brasil) e o Instituto de Biociências da UFMS (Campo Grande, MS, Brasil) que forneceram

ovos de *Ae. aegypti* linhagem Rockefeller. AQUAFORTE (Dourados, MS) que doou alevinos de *O. niloticus*.

Referências

1. Chapagain, B.P., Saharan, V., Wiesman, Z.: Larvicidal activity of saponins from *Balanites aegyptiaca* callus against *Aedes aegypti* mosquito. *Bioresour. Technol.* **99**, 1165–1168 (2008). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.02.023>
2. Benelli, G., Murugan, K., Panneerselvam, C., Madhiyazhagan, P., Conti, B., Nicoletti, M.: Old ingredients for a new recipe? Neem cake, a low-cost botanical by-product in the fight against mosquito-borne diseases. *Parasitol. Res.* **114**, 391–397 (2015). <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4286-x>
3. Bardach, A.E., García-Perdomo, H.A., Alcaraz, A., López, E.T., Gándara, R.A.R., Ruvinsky, S., Ciapponi, A.: Interventions for the control of *Aedes aegypti* in Latin America and the Caribbean: systematic review and meta-analysis. *Tropical. Med. Int. Health.* **24**, 530–552 (2019). <https://doi.org/10.1111/tmi.13217>
4. Lucia, A., Toloza, A.C., Fanucce, M., Fernández-Peña, L., Ortega, F., Rubio, R.G., Coviella, C., Guzmán, E.: Nanoemulsions based on thymol-eugenol mixtures: characterization, stability and larvicidal activity against *Aedes aegypti*. *Bull. Insectology* **73**, 153–160 (2020a).
5. Benelli, G., Jeffries, C.L., Walker, T.: Biological control of mosquito vectors: past, present, and future. *Insects* **7**, 52 (2016). <https://doi.org/10.3390/insects7040052>
6. Benelli, G., Duggan, M.F.: Management of arthropod vector data—Social and ecological dynamics facing the One Health perspective. *Acta. Trop.* **182**, 80–91 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.02.015>
7. Jorge, M.R., Crispim, B.A., Merey, F.M., Barufatti, A., Cabrini, I., Dantas, F.G.S., Oliveira, K.M.P., Kummrow, F., Beatriz, A., Santos, T., Dias, D., Ventura, J., Nogueira, C.R., Gomes, R.S., Arruda, E.J.: Sulphonates' mixtures and emulsions obtained from technical cashew nut shell liquid and cardanol for control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Environ. Sci. Pollut. Res.* **27**, 27870–27884 (2020). <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08998-5>
8. Lucia, A., Toloza, A.C., Guzmán, E., Ortega, F., Rubio, R.G.: Novel polymeric micelles for insect pest control: encapsulation of essential oil monoterpenes inside a triblock copolymer shell for head lice control. *PeerJ* **5**, e3171 (2017). <https://dx.doi.org/10.7717/peerj.3171>
9. Lomonaco, D., Mele, G., Mazzetto, S.E.: Cashew Nutshell Liquid (CNSL): From an agro-industrial waste to a sustainable alternative to petrochemical resources. In: Anilkumar, P. (ed.) *Cashew Nut Shell Liquid*, pp. 19–38. Springer, Heidelberg (2017). <https://doi.org/10.1007/978-3-319-47455-72>
10. Guissoni, A.C.P., Silva, I.G., Geris, R., Cunha, L.C.D., Silva, H.H.G.D.: Atividade larvicida de *Anacardium occidentale* como alternativa ao controle de *Aedes aegypti* e sua toxicidade em *Rattus norvegicus*. *Rev. Bras. Plantas Med.* **15**, 363–367 (2013). <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000300008>
11. Dourado, D.M., Rosa, A.C., Porto, K.R.A., Roel, A.R., Cardoso, C.A.L., Favero, S., Matias, R., Effects of cashew nut shell liquid (CNSL) component upon *Aedes aegypti* Lin. (Diptera: Culicidae) larvae's midgut. *Afr. J. Biotechnol.* **14**, 829–834 (2015). <https://doi.org/10.5897/AJB2014.14347>

12. Lomonaco, D., Santiago, G.M.P., Ferreira, Y.S., Arriaga, Â.M.C., Mazzetto, S.E., Mele, G., Vasapollo, G.: Study of technical CNSL and its main components as new green larvicides. *Green Chem.* **11**, 31–33 (2009). <https://doi.org/10.1039/B811504D>
13. Balachandran, V.S., Jadhav, S.R., Vemula, P.K., John, G.: Recent advances in cardanol chemistry in a nutshell: from a nut to nanomaterials. *Chem. Soc. Rev.* **42**, 427–438 (2013). <https://doi.org/10.1039/C2CS35344J>.
14. Mgaya, J., Shombe, G.B., Masikane, S.C., Mlowe, S., Mubofu, E.B., Revaprasadu, N.: Cashew nut shell: a potential bio-resource for the production of bio-sourced chemicals, materials and fuels. *Green Chem.* **21**, 1186–1201 (2019). <https://doi.org/10.1039/C8GC02972E>
15. Torres, R.C., Garbo, A.G., Walde, R.Z.M.L.: Characterization and bioassay for larvicidal activity of *Anacardium occidentale* (cashew) shell waste fractions against dengue vector *Aedes aegypti*. *Parasitol. Res.* **114**, 3699–3702 (2015). <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4598-5>
16. Almanzor, B.L.J., Ho, H.T., Carvajal, T.M.: Ecdysis period and rate deviations of dengue mosquito vector, *Aedes aegypti* reared in different artificial water-holding containers. *J. Vector Borne Dis.* **53**, 37–45 (2016).
17. Dhar-Chowdhury, P., Haque, C.E., Lindsay, R., Hossain, S.: Socioeconomic and ecological factors influencing *Aedes aegypti* prevalence, abundance, and distribution in Dhaka, Bangladesh. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **94**, 1223–1233 (2016). <https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0639>.
18. Kumar, G., Singh, R.K., Pande, V., Dhiman, R.C.: Impact of container material on the development of *Aedes aegypti* larvae at different temperatures. *J. Vector. Borne. Dis.* **53**, 144–148 (2016). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27353584/>.
19. Lucia, A., Girard, C., Fanucce, M., Coviella, C., Rubio, R.G., Ortega, F., Guzmán, E.: Development of an environmentally friendly larvicidal formulation based on essential oil compound blend to control *Aedes aegypti* larvae: correlations between physicochemical properties and insecticidal activity. *ACS Sustainable Chem. Eng.* **8**, 10995–11006 (2020b). <https://dx.doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c03778>
20. Lucia, A., Guzmán, E.: Emulsions containing essential oils, their components or volatile semiochemicals as promising tools for insect pest and pathogen management. *Adv. Colloid Interface Sci.* **287**, 102330 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102330>
21. Laurens, A., Fourneau, C., Hocquemiller, R., Cavé, A., Bories, C., Loiseau, P.M.: Antivectorial activities of cashew nut shell extracts from *Anacardium occidentale* L. *Phytother. Res.* **11**, 145–146 (1997). [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199703\)11:2<145::AID-PTR40>3.0.CO;2-%23](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199703)11:2<145::AID-PTR40>3.0.CO;2-%23).
22. Matos, J.E.X.; Silva, F.J.A.; Vieira, P.B.: Solventes para extração do líquido da castanha de caju (LCC) e compatibilidade ambiental. *Rev. Technol.* **29**, 101–109 (2008).
23. WHO - World Health Organization. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/69101> (2005). Accessed 25 March 2020.
24. Anjolette, A.F.F., Macoris, M.L.G.: Técnicas para manutenção de *Aedes aegypti* em laboratório. *BEPA.* **156**, 19–29 (2016).
25. R Core Team. R Studio: Integrated Development for R. R Studio, Inc., Boston, MA. (2019) <http://www.rstudio.com/>.

26. WHO - World Health Organization. Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control: new edition. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44188> (2009). Accessed 25 March 2020.
27. CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. Approved Standard - Ninth Edition.
28. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute (2012).
29. CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Standard - Third Edition. CLSI document M27-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute (2008).
30. Bagiu, R.V.; Vlaicu, B.; Butnariu, M.: Chemical composition and in vitro antifungal activity screening of the *Allium ursinum* L. (Liliaceae). *Int. J. Mol. Sci.* **13**,1426–1436 (2012). <https://doi.org/10.3390/ijms13021426>.
31. OECD - Organisation for Economic Cooperation and Development. Test No. 201: Guideline for testing of chemicals, freshwater alga and cyanobacteria growth inhibition. OECD Guidel. Test. Chem. (2011). <https://doi.org/10.1787/9789264069923-en>
32. ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas: ABNT NBR 12648 - Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica - Método de ensaio com algas (Chlorophyceae). Rio de Janeiro (2018).
33. ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas: ABNT NBR 12713 - Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia* spp (Crustacea, Cladocera), Rio de Janeiro (2016a).
34. OECD - Organisation for Economic Cooperation and Development. Test No. 202: *Daphnia* sp. Acute Immobilisation Test. OECD Guidel. Test. Chem. (2004). <https://doi.org/10.1787/9789264069947-en>
35. OECD - Organisation for Economic Cooperation and Development. Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test. OECD Guidel. Test. Chem. (1992). <https://doi.org/10.1787/9789264069961-en>
36. ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT NBR 15088 - Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com peixes (Cyprinidae). Associação Brasileira de Normas Técnicas, Rio de Janeiro (2016b).
37. Norberg-King, T.J.: A linear interpolation method for sublethal toxicity: The inhibition concentration (IC_p) approach. Version 2.0. National Effluent Toxicity Assessment Center Technical Report 03-93 (1993).
38. Hamilton, M.A., Russo, R.C., Thurston, R.V.: Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.* **11**, 714–719 (1977). <https://doi.org/10.1021/es60130a004>
39. OECD - Organisation for Economic Cooperation and Development. Harmonised Integrated Classification System for Human Health and Environmental Hazards of Chemical Substances and Mixtures. OECD Series on Testing and Assessment, No. 33 (2002). <https://doi.org/10.1787/9789264078475-en>
40. Komalamisra, N., Trongtokit, Y., Rongsriyam, Y., Apiwathnasorn, C.: Screening for larvicidal activity in some Thai plants against four mosquito vector species. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* **36**, 1412–1422 (2005).
41. Carvalho, G.H.F., Andrade, M.A., Araújo, C.N., Santos, M.L., Castro, N.A., Charneau, S., Monnerat, R., Santana, J.M., Bastos, I.M.D.: Larvicidal and pupicidal activities of eco-friendly phenolic lipid

- products from *Anacardium occidentale* nut shell against arbovirus vectors. Environ. Sci. Pollut. Res. **26**, 5514–5523 (2019). <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3905-y>
42. Paiva, D.R., Lima, D.P., Avvari, N.P., Arruda, E.J., Cabrini, I., Marques, M.R., Santos, E.A., Biaggio, F.C., Sangi, D.P., Beatriz, A.: A potent larvicidal agent against *Aedes aegypti* mosquito from cardanol. An. Acad. Bras. Ciênc. **89**, 373–382 (2017). <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201720160615>
43. Lenardão, E.J., Freitag, R.A., Dabdoub, M.J., Batista, A.C.F., Silveira, C.D.C.: “Green Chemistry”: os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. Quím. Nova **26**, 123–129 (2003). <https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000100020>
44. Attanasi, O.A., Berretta, S., Fiani, C., Filippone, P., Mele, G., Saladino, R.: Synthesis and reactions of nitro derivatives of hydrogenated cardanol. Tetrahedron **62**, 6113–6120 (2006). <https://doi.org/10.1016/j.tet.2006.03.105>
45. Oliveira, M.S.C., Morais, S.M., Magalhães, D.V., Batista, W.P., Vieira, I.G.P., Craveiro, A.A., Manezes, J.E.S.A., Carvalho, A.F.U., Lima, G.P.G.: Antioxidant, larvicidal and antiacetylcholinesterase activities of cashew nut shell liquid constituents. Acta Trop. **117**, 165–170 (2011). <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2010.08.003>
46. Vani, J.M., Monreal, M.T.F.D., Auharek, S.A., Cunha-Laura, A.L., Arruda, E.J., Lima, A.R., Silva, C.M., Antonioli-Silva, A.C.M.B., Lima, D.P., Beatriz, A., Oliveira, R.J.: The mixture of cashew nut shell liquid and castor oil results in an efficient larvicide against *Aedes aegypti* that does not alter embryo-fetal development, reproductive performance or DNA integrity. PLoS ONE **13**, e0193509 (2018). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193509>
47. Kala, S., Sogan, N., Verma, P., Naik, S.N., Agarwal, A., Patanjali, P.K., Kumar, J.: Nanoemulsion of cashew nut shell liquid bio-waste: Mosquito larvicidal activity and insights on possible mode of action. S. Afr. J. Bot. **127**, 293–300 2019. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.10.006>
48. Raraswati, G.R., Sudarsono, S., 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*. Biol. Med. Natural Prod. Chem. **3**, 53–57 (2014). <https://doi.org/10.14421/biomedich.2014.32.53-57>
49. Kanehashi, S., Masuda, R., Yokoyama, K., Kanamoto, T., Nakashima, H., Miyakoshi, T.: Development of a cashew nut shell liquid (CNSL)-based polymer for antibacterial activity. J. Appl. Polym. Sci. **132**, 42725 (2015). <https://doi.org/10.1002/app.42725>
50. Khatib, S.K., Bullón, J., Vivas, J., Bahsas, A., Rosales-Oballos, Y., Marquez, R., Forgiarini, A., Salager, J.L.: Synthesis, characterization, evaluation of interfacial properties and antibacterial activities of dicarboxylate anacardic acid derivatives from Cashew Nut Shell Liquid of *Anacardium occidentale* L. J. Surfact. Deterg. **23**, 503–512 (2020). <https://doi.org/10.1002/jsde.12384>
51. Ashraf, M.S., Rathinasamy, K.: Antibacterial and anticancer activity of the purified cashew nut shell liquid: implications in cancer chemotherapy and wound healing. Nat. Prod. Res. **32**, 2856–2860, (2018). <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1380022>
52. Pimentel, M., Lima, D., Martins, L., Beatriz, A., Santaella, S., Costa-Lotufo, L.: Ecotoxicological analysis of cashew nut industry effluents, specifically two of its major phenolic components, cardol and cardanol. Pan-Am. J. Aquat. Sci. **4**, 363–368 (2009).

53. Leite, A.D.S., Dantas, A.F., Oliveira, G.L.D.S., Gomes Júnior, A.L., Lima, S.G., Citó, A.M.G.L., Freitas, R.M., Melo-Cavalcante, A.A.C., Lopes, J.A.D.: Evaluation of toxic, cytotoxic, mutagenic, and antimutagenic activities of natural and technical cashew nut shell liquids using the *Allium cepa* and *Artemia salina* bioassays. *Biomed. Res. Int.* **2015**, 626835 (2015). <https://doi.org/10.1155/2015/626835>
54. Afsset, A., Assessment, R.: La lutte antivectorielle dans le cadre de l'épidémie de chikungunya sur l'Île de la Réunion. Évaluation des risques et de l'efficacité des produits larvicides. Maisons-Alfort, Paris (2007). <https://www.anses.fr/en/system/files/BIOC2006et0008Ra.pdf>.
55. PPDB – Pesticide Properties DataBase. (2012). <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/>. Accessed 25 March 2020.
56. WHO - World Health Organization. Who specifications and evaluations for public health pesticides temephos, O,O,O'-tetramethyl O,O'-thiodi-p-phenylene bis(phosphorothioate). https://www.who.int/whopes/quality/Temephos_eval_only_June_2011.pdf?ua=1 (2011). Accessed 25 March 2020.
57. Vieira Santos, V.S., Caixeta, E.S., Campos Júnior, E.O.D., Pereira, B.B.: Ecotoxicological effects of larvicide used in the control of *Aedes aegypti* on nontarget organisms: redefining the use of piriproxifeno. *J. Toxicol. Environ. Health Part A* **80**, 155–160 (2017). <https://doi.org/10.1080/15287394.2016.1266721>
58. WHO - World Health Organization. Who specifications and evaluations for public health pesticides diflubenzuron, 1-(4-chlorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl)urea. <https://www.who.int/pq-vector-control/prequalified-lists/DIFLUBENZURON.pdf?ua=1> (2017). Accessed 25 March 2020.
59. Nagaraju, B., Sudhakar, P., Anitha, A., Haribabu, G., Rathnamma, V.V.: Toxicity evaluation and behavioral studies of fresh water fish *Labeorohita* exposed to Rimon. *J. Res. Pharm. Biomed. Sci.* **2**, 722–727 (2011).
60. Abe, F.R., Machado, A.A., Coleone, A.C., Cruz, C., Machado-Neto, J.G.: Toxicity of diflubenzuron and temephos on freshwater fishes: ecotoxicological assays with *Oreochromis niloticus* and *Hyphessobrycon eques*. *Water Air Soil Pollut.* **230**, 77 (2019). <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4128-7>

Informação Suplementar (IS)

Bioativos autoemulsificáveis derivados do Líquido da Casca da Castanha de Caju Técnico (LCCT) desenvolvidos para controlar populações de *Aedes aegypti*

Hélina dos Santos Nascimento^a, Bruno do Amaral Crispim^a, Felipe Mendes Merey^a, Fábio Kummrow^b, Ricardo Augusto dos Passos^c, Cláudia Andrea Lima Cardoso^{a,c}, Diego Lomonaco^d, Kelly Mari Pires de Oliveira^a, Fabiana Gomes da Silva Dantas^a, Eduardo José de Arruda^a, Alexeia Barufatti^{a,*}

^aUniversidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Rodovia Dourados-Itahum, Km 12 – Unidade II, Cidade Universitária, 79804-970, Dourados, MS, Brasil.

^bInstituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) - Campus Diadema, Rua São Nicolau, 210 – Centro, 09913-030, Diadema, SP, Brasil.

^cUniversidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS), Rodovia Dourados-Itahum, Km 12, Cidade Universitária, 79804-970, Dourados, MS, Brasil.

^dDepartamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará (UFC) - Campus do Pici, 60440-900. Fortaleza, CE, Brasil.

Autor correspondente

*Endereço de e-mail: barufattialexeia@gmail.com

Endereço postal: Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais - Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Rodovia Dourados-Itahum, Km 12 – Unidade II | Caixa Postal: 364. CEP: 79804-970, Dourados-MS, Brasil.

Tabela 1. Atividade larvicida do LCCt e bioativos derivados em *Aedes aegypti* linhagem Rockefeller e Dourados.

Bioativos	Rockefeller				Dourados			
	24h		48h		24h		48h	
	CL50 (CI _{0,5}) (mg L ⁻¹)	CL90 (CI _{0,5}) (mg L ⁻¹)	CL50 (CI _{0,5}) (mg L ⁻¹)	CL90 (CI _{0,5}) (mg L ⁻¹)	CL50 (CI _{0,5}) (mg L ⁻¹)	CL90 (CI _{0,5}) (mg L ⁻¹)	CL50 (CI _{0,5}) (mg L ⁻¹)	CL90 (CI _{0,5}) (mg L ⁻¹)
LCCt	7,44aA (5,28 – 10,12)	15,30aA (11,04 – 31,53)	6,33aA (4,67 – 8,24)	10,06aA (7,84 – 21,20)	12,11aA (10,88 – 13,52)	20,22aA (17,52 – 25,03)	10,07aA (9,22 – 11,05)	14,61aA (12,91 – 18,44)
LCCtNa	2,65bA (2,17 – 3,19)	6,86aA (5,37 – 9,80)	2,38bA (1,93 – 2,90)	6,60aA (5,11 – 9,63)	6,93aA (5,81 – 8,30)	14,73aA (11,76 – 28,30)	6,43aA (5,37 – 7,70)	13,82aA (11,00 – 19,60)
LCCtK	1,98bA (1,55 – 2,45)	6,17aA (469 – 9,36)	1,84bA (1,45 – 2,25)	5,27aA (4,06 – 7,88)	10,27aB (8,77 – 12,05)	18,22aA (15,30 – 24,80)	7,75aB (6,62 – 9,10)	13,85aA (11,40 – 18,96)
LCCtMEA	3,16bA (2,65 – 3,78)	7,26aA (5,81 – 10,00)	2,88bA (2,41 – 3,44)	6,62aA (5,29 – 9,15)	7,59aB (6,43 – 8,98)	14,55aA (11,83 – 20,16)	7,10aB (6,02 – 8,39)	13,53aA (11,01 – 18,74)
LCCtDEA	3,44bA (2,82 – 4,18)	9,46aA (7,33 – 13,63)	3,30bA (2,72 – 4,00)	8,81aA (6,87 – 12,59)	11,52aB (10,14 – 13,12)	15,94aA (13,89 – 19,77)	11,05aB (9,72 – 12,64)	15,82aA (13,66 – 20,15)
LCCtTEA	4,02bA (3,27 – 4,93)	12,05aA (9,18 – 17,83)	3,74bA (3,04 – 4,57)	11,10aA (8,48 – 16,36)	10,72aB (9,28 – 12,40)	19,75aA (16,47 – 25,93)	9,12aB (7,87 – 10,58)	17,36aA (14,40 – 22,95)

LCCt (Líquido da Casca da Castanha de caju técnico); LCCtNa (Líquido da Casca da Castanha de caju técnico + Hidróxido de sódio); LCCtK (Líquido da Casca da Castanha de caju técnico + Hidróxido de potássio); LCCtMEA (Líquido da Casca da Castanha de caju técnico + monoetanolamina); LCCtDEA (Líquido da Casca da Castanha de caju técnico + dietanolamina); LCCtTEA (Líquido da Casca da Castanha de caju técnico + trietanolamina).

CL50 – Concentração letal para 50% dos organismos teste

CL90 – Concentração letal para 90% dos organismos teste

CI_{0,5} – Intervalo de confiança

Letras minúsculas diferença significativa entre os bioativos (p<0,05) dentro de cada período de exposição.

Letras maiúsculas diferença significativa (p<0,05) entre as linhagens para cada bioativo dentro de cada período de exposição.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados do presente estudo demonstram que o LCCt pode ser utilizado como base para a síntese de bioprodutos com atividade larvicida promissora contra *Ae. aegypti*. Além disso, modificações químicas como nanoemulsão e neutralização realizadas no LCCt potencializaram sua atividade larvicida.

A neutralização parcial do LCCt com bases inorgânicas e orgânicas permitiu a formação bioativos com maior solubilidade em água, o que conseqüentemente tornou mais eficiente atividade larvicida do LCCt contra *Ae. aegypti*. A toxicidade dos bioativos em organismos aquáticos não-alvo, *P. subcapitata*, *D. similis* e *O. niloticus*, foi inferior à dos larvicidas recomendados pela OMS. Sendo assim, o uso dos bioativos como larvicidas se torna mais seguro do ponto de vista ecotoxicológico.

A reutilização de subprodutos agroindustriais, LCCt, como larvicida natural pode reduzir os problemas de seu descarte e biodegradação ambiental, atendendo assim aos princípios da Química Verde. Além disso, o desenvolvimento de bioprodutos multifuncionais de baixo custo, a base do LCCt, pode ser incorporado em produtos saneantes para o controle doméstico de *Ae. aegypti*.