

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL

MARINA STEFANES SCHIBICHEWSKI

**Desenvolvimento de Larvicida Sustentável à Base do Líquido da Casca da
Castanha de Caju Técnico: Caracterização Físico-Química e Avaliação de Eficácia
sobre o *Aedes aegypti***

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

DOURADOS/MS

2025

MARINA STEFANES SCHIBICHEWSKI

**Desenvolvimento de Larvicida Sustentável à Base do Líquido da Casca da
Castanha de Caju Técnico: Caracterização Físico-Química e Avaliação de Eficácia
sobre o *Aedes aegypti***

Orientadora: Profa. Dra. Alexeia Barufatti

Coorientador: Prof. Dr. Bruno do Amaral Crispim

Área de concentração: Ciência Ambiental

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, como um dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental na área de concentração Ciência Ambiental.

**DOURADOS/MS
2025**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S3294 Schibichewski, Marina Stefanas

Desenvolvimento de Larvicida Sustentável à Base do Líquido da Casca da Castanha de Caju
Técnico: Caracterização Físico-Química e Avaliação da Eficácia sobre o *Aedes aegypti* [recurso eletrônico] / Marina Stefanas Schibichewski. – 2023.
Arquivo em formato pdf.

Orientadora: Alessia Baruffati.

Coorientador: Bruno do Amaral Crispim.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental)-Universidade Federal do Grande
Dourados, 2023.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/sets/biblioteca/repositorio>

1. Bioproduto. 2. Controle de vetores. 3. Nanomaterial. 4. Solubilidade. 5. Surfactantes. I.
Baruffati, Alessia. II. Crispim, Bruno Do Amaral. III. Título.

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

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

MARINA STEFANES SCHIBICHEWSKI

Desenvolvimento de Larvicida Sustentável à Base do Líquido da Casca da Castanha de Caju técnico: Caracterização Físico-Química e Avaliação de Eficácia sobre o *Aedes aegypti*

Orientadora: Profa. Dra. Alexeia Barufatti

Coorientador: Prof. Dr. Bruno do Amaral Crispim.

Área de concentração: Ciência Ambiental

Dissertação de mestrado aprovada pela Banca Examinadora como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Grande Dourados.

Aprovada em 20/02/2025

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **ALEXEIA BARUFATTI**
Data: 21/02/2025 16:09:56-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Alexeia Barufatti

Documento assinado digitalmente
 **CLAUDIO RODRIGO NOGUEIRA**
Data: 21/02/2025 09:38:52-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Cláudio Rodrigo Nogueira
Membro

Documento assinado digitalmente
 **FABIO KUMMROW**
Data: 20/02/2025 13:44:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Fábio Kummrow

Membro

EDUARDO|VICENTE|PEDROS Firmado digitalmente por
EDUARDO|VICENTE|PEDROS
Fecha: 2025.02.20 15:06:36 +01'00'

Eduardo Vicente Pedros
Membro

DOURADOS/MS
2025

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus pela minha vida e por conduzi-la em todos os momentos. À minha família, que mesmo longe sempre esteve perto pelo amor, incentivo e apoio. Muito obrigada por incentivarem o sonho da pós-graduação, amo vocês. Ao amor da minha vida, meu melhor amigo, meu parceiro! Obrigada por fazer essa trajetória mais leve e feliz ao seu lado. À minha orientadora profa. Dra. Alexeia Barufatti, pelo suporte, correções e incentivos. Você é um exemplo de pesquisadora, me sinto lisonjeada por poder aprender um pouco do que é ciência com você. Ao meu coorientador prof. Dr. Bruno do Amaral Crispim, pela sua paciência e confiança. Sem seus ensinamentos no laboratório esse trabalho não seria possível. A todos do grupo LECOGEN, pelo conhecimento compartilhado. Os dias no laboratório não seriam os mesmos sem vocês! Em especial a doutoranda Nathalya Alice de Lima, minha melhor companhia diária e inspiração dentro e fora do laboratório. Muito obrigada também à Kryslla Barbosa Rocha de Carvalho que me auxiliou tanto nos testes quanto na escrita desse trabalho! Agradeço também a todos os professores que auxiliaram nos testes e na escrita do trabalho: Anderson Rodrigues Lima Caires, Bruno Fiorelini Pereira, Eduardo José de Arruda, Eduardo Vicente e Fábio Kummrow. Em particular, agradeço ao prof. Dr. Cláudio por todo auxílio na síntese do produto e a Dra. Regiane pela disposição em realizar a parte de caracterização; vocês foram fundamentais! Ao Dr. Luiz Bauzer da FIOCRUZ/RJ por ceder os ovos de *Aedes aegypti* e ao estatístico Alexandre Rodrigues Nettho por todo o auxílio. Muito obrigada ao Dr. Cláudio Rodrigo Nogueira e Dr. Fábio Kummrow por aceitarem participar da banca examinadora desse trabalho. A todos que direta ou indiretamente fizeram parte de minha formação, o meu muito obrigada!

Índice de Figuras

Capítulo 1: Introdução e Revisão bibliográfica

- Figura 1.** Principais estágios de desenvolvimento do *Aedes aegypti*. (A) Ovos; (B.1) Larva em 1º *instar* recém eclodida; (B.2) Larva em 2º *instar* inicial; (B.3) Larva em 3º *instar* inicial; (B.4) Larva em 4º *instar* inicial; (C) Pupa; (D) Fêmea de Imago (mosquito). Imagem utilizada com a devida autorização para uso.. 4
- Figura 2.** Estruturas químicas e proporções dos principais constituintes do LCC natural e LCC técnico representadas em porcentagem (%). Informações retiradas do trabalho de Carvalho *et al.*, 2019.. 11
- Figura 3.** Ilustração da estrutura de surfactantes e arranjo micelar em solução aquosa: (a) Representação esquemática de um surfactante com cabeça hidrofílica e cauda hidrofóbica; (b) Organização de micelas em solução, com as cabeças orientadas para o meio aquoso e as caudas no interior hidrofóbico. Imagem utilizada com a devida autorização para uso.. 13

Capítulo 3: Artigo Científico

- Figura 1.** Imagens das gotas pendentes utilizadas para o cálculo da tensão superficial das amostras de LCCTL em diferentes diluições. As imagens mostram as gotas pendentes de (a) LCCTL puro (10.000 mg/L) e das diluições em (b) 10 ×, (c) 100 × e (d) 1.000 ×, analisadas pelo método de Young-Laplace. As variações nos parâmetros da gota refletem diferenças nas propriedades interfaciais das amostras. Fonte: Glenda Biasotto Porzani. 38
- Figura 2.** Avaliação do efeito Tyndall nas soluções analisadas: (a) água deionizada (controle negativo), demonstrando ausência de interação com o feixe de laser; (b) solução veículo (água deionizada, LSS e DMSO), confirmando a formação de um sistema coloidal; e (c) LCCTL, evidenciando dispersão coloidal. O feixe de laser visível nas soluções coloidais (b e c) indica a presença de partículas nanométricas, essenciais para a estabilidade e eficácia do bioproduto. Fonte: Autora... 45
- Figura 3.** Observação em microscopia eletrônica de varredura (MEV) das estruturas presentes no CV e no bioproduto. (a) Estruturas do CV ampliadas a 5.000x; (b) Estruturas do CV ampliadas a 50.000x; (c) Micelas do bioproduto LCCTL ampliadas a 5.000x; (d) Micelas do bioproduto LCCTL ampliadas a 50.000x..... 47

- Figura 4.** (a) Espectro de absorção UV-Vis do LCcTl; (b) Mapa de excitação-emissão do LCcTl; (c) Espectro de intensidade de fluorescência, do CV (Controle Veículo - LSS + DMSO) e do LCcTl. Os dados estão normalizados e destacam picos característicos na região do ultravioleta e luz visível, associados às propriedades ópticas do bioproduto. Fonte: Autora..... 48
- Figura 5.** Espectros de FTIR das amostras: (a) LCcTl, (b) LCcT e (c) CV, destacando as principais bandas características de cada amostra. Fonte: Autora..... 49
- Figura 6.** Imagens de fluorescência confocal evidenciando a distribuição do LCcTl (25,5 mg/L) nos diferentes órgãos e estruturas de larvas de *Ae. aegypti*. (a) Visão geral da larva; (b) detalhe da região da cabeça; (c) cecos gástricos; (d) intestino; (e) túbulos de Malpighi; e (f) reto. A escala de cores representa a intensidade da fluorescência, variando de vermelho (maior intensidade) a violeta (menor intensidade). Fonte: Autora..... 52
- Figura 7.** Zona cefálica de larvas de *Ae. aegypti* em MEV, expostas a diferentes concentrações do bioproduto. (a) Controle negativo (CN); (b) Detalhe das sedas cefálicas no controle veículo (CV); (c) Estruturas cefálicas ligeiramente deterioradas em 4,5 mg/L; (d) Semelhanças na deterioração das estruturas em 7 mg/L; (e) Aumento do biofilme e bactérias em 11 mg/L, com sedas e outros componentes afetados; (f) Em 17 mg/L, o biofilme endurece as sedas, comprometendo sua independência; (g) Aos 25,5 mg/L, a funcionalidade das estruturas é severamente afetada pelo biofilme; (h) Detalhe do biofilme em 25,5 mg/L. Fonte: Autora..... 53

Anexos

- Figura A1.** Amostras do LCcT e LCcTNa50 emulsionados com diferentes surfactantes. (a) LCcT com Span 60, onde se observa separação de fases e precipitação do bioativo, indicando instabilidade da emulsão; (b) LCcTNa50 em diferentes diluições da solução estoque (SI) utilizando o surfactante Tween 80; (c) emulsão de LCcTNa50 com CTAB, exibindo características intermediárias de solubilidade; (d) emulsão de LCcT com Lauril Sulfato de Sódio (LSS), destacando-se pela homogeneidade e ausência de separação de fases. Fonte: Autora..... 62
- Figura A2.** Larva de *Aedes aegypti* tratada com LCcTl (25,5 mg/L) em estágio de desenvolvimento avançado, identificada entre o 3º e 4º ínstars. Fonte: Autora..... 62
- Figura A3.** Ensaio larvicida realizado em condições de laboratório para avaliar a eficácia de diferentes surfactantes (Tween 80, Span 80, Lauril Sulfato de Sódio - LSS e CTAB) em emulsões formuladas com o Líquido da Casca da Castanha de Caju técnico (LCcT) e

seu derivado parcialmente neutralizado (LCCTNa50). Cada conjunto de copos representa réplicas experimentais para diferentes tratamentos. Fonte: Autora.....	63
Figura A4. Processo de síntese do bioproduto LCCTL, obtido pela emulsificação do Líquido da Casca da Castanha de Caju técnico (LCCt) utilizando Lauril Sulfato de Sódio (LSS) como surfactante. A imagem destaca o gotejamento controlado do LCCt na solução de LSS sob agitação mecânica, uma etapa essencial para garantir a homogeneidade e a formação de uma nanoemulsão estável. Fonte: Autora.....	63
Figura A5. Amostras de LCCTL puro (10.000 mg/L) e diluídas em 10, 100 e 1000 × utilizadas para análises de tensão superficial, condutividade elétrica e potencial zeta. Fonte: Glenda Biasotto Porzani.....	64
Figura A6. Equipamento de Espalhamento Dinâmico de Luz (EDL) utilizado para a determinação do Tamanho Hidrodinâmico (Dh) e do Índice de Polidispersidade (PDI) das micelas formadas nas nanoemulsões. Fonte: Autora.....	64
Figura A7. Espectrofotômetro UV-Vis utilizado para analisar o espectro de absorção do bioproduto LCCTL. Fonte: Autora.....	65
Figura A8. Fluorímetro utilizado para medir a intensidade de fluorescência do bioproduto LCCTL, permitindo a detecção e caracterização de compostos fluorescentes presentes na formulação. Fonte: Autora.....	65
Figura A9. Equipamento de FTIR acoplado a acessório de refletância total atenuada (ATR), utilizado para análise de infravermelho das amostras. Fonte: Autora.....	66
Figura A10. Imagens de MEV do produto: (a) "stubs" fixados em uma placa de latão, (b) amostra na câmara da evaporadora para metalização e (c) visualização no microscópio eletrônico de varredura (MEV). Fonte: Autora.....	66
Figura A11. Larvas de 3º e/ou 4º instares de <i>Aedes aegypti</i> submetidas ao ensaio larvicida utilizando diferentes concentrações do bioproduto LCCTL. As avaliações foram realizadas após 24 e 48 h de exposição, considerando como mortas as larvas que permaneceram imóveis na superfície ou no fundo do recipiente, sem qualquer reação ao estímulo tátil. Fonte: Autora.....	67
Figura A12. Ensaio larvicida em condições de campo em pequena escala, conduzido para avaliar a eficácia do bioproduto LCCTL em ambientes naturais não controlados. O experimento utilizou recipientes contendo água desclorada e larvas de <i>Ae. aegypti</i> , monitorando a mortalidade em diferentes concentrações do produto. Fonte: Autora...	67
Figura A13. Microscópio confocal utilizado para análise da distribuição do bioproduto LCCTL nas larvas de <i>Aedes aegypti</i> , com base na fluorescência emitida pelo composto. A	

técnica permitiu visualizar a biodistribuição do produto nos tecidos e órgãos das larvas, contribuindo para o entendimento de seu mecanismo de ação larvicida. Fonte: Autora.

..... .68

Figura A14. Imagens do tórax e abdômen das larvas de *Ae. aegypti*, destacando o crescimento do biofilme e os danos ao tegumento. (a) Detalhes do tegumento e membranas intersegmentares no controle negativo (CN), com presença de biofilme e restos orgânicos; (b) Em 4,5 mg/L, depósitos de biofilme e elementos bacterianos visíveis no tegumento, alguns pertencentes ao grupo das bactérias prospectadas; (c) Em 7 mg/L, sinais claros de crescimento microbiológico, tanto bacilar quanto prospectadas; (d) Em 11 mg/L, crescimento bacteriano nas sedas; (e) Em 17 mg/L, as sedas são afetadas pelo crescimento bacteriano, cobrindo completamente algumas áreas do tegumento; (f) Em 25,5 mg/L, quase toda a superfície do tegumento e das sedas está comprometida pelo crescimento bacteriano. Fonte: Autora..... .68

Índice de Tabelas

Capítulo 1: Introdução e Revisão bibliográfica

Tabela 1. Principais classes químicas, princípios ativos e mecanismos de ação de larvicidas e inseticidas comerciais utilizados no controle de <i>Ae. aegypti</i>	6
--	---

Capítulo 2: Short communication

Tabela 1. Porcentagem de mortalidade das larvas de <i>Aedes aegypti</i> em diferentes tratamentos após 24 h e 48 h.,	28
---	----

Capítulo 3: Artigo científico

Tabela 1. Parâmetros de fluorescência.....	39
Tabela 2. Valores médios de tensão superficial, condutividade elétrica e potencial zeta das amostras de LCCtL em diferentes concentrações (puro e diluído 10×, 100× e 1000×).	43
Tabela 3. Valores médios do diâmetro hidrodinâmico (Dh) e índice de polidispersividade (Pdl) de amostras do bioproduto LCCtL..	46
Tabela 4. Concentrações letais 50% (CL ₅₀) e 90% (CL ₉₀) (mg/L), em 24 h e 48 h de exposição, obtidas a partir do LCCtL em larvas de 3º e 4º <i>instar</i> do <i>Ae. aegypti</i> (Rockfeller) em condições de laboratório e campo em pequena escala (semi-campo)..	50

Lista de Abreviaturas e Siglas

<i>Ae. aegypti</i>	<i>Aedes aegypti</i>
ATR	Attenuated Total Reflectance, do inglês - Reflexão Total Atenuada
CL ₅₀	Concentração letal para 50% da população
CL ₉₀	Concentração letal para 90% da população
CMC	Concentração micelar crítica
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CTAB	Brometo de Cetiltrimetilamônio
CN	Controle negativo
CP	Controle positivo
CV	Controle veículo
Dh	Diâmetro hidrodinâmico
DMSO	Dimetilsulfóxido
EDL	Espalhamento dinâmico de luz
IA	Inteligência Artificial
IGRs	Insect Growth Regulators, do inglês – Inseticidas Reguladores de Crescimento
FTIR	Fourier transform infrared spectroscopy, do inglês - Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier
LCC	Líquido da Casca da Castanha de Caju
LCCn	Líquido da Casca da Castanha de Caju natural
LCCt	Líquido da Casca da Castanha de Caju técnico
LCCtL	Líquido da Casca da Castanha de Caju técnico com Lauril Sulfato de Sódio
LCCtNa50	Líquido da casca de castanha de caju técnico neutralizado parcialmente com hidróxido de sódio
LCCtSNa	Líquido da casca de castanha de caju técnico-sulfonato de sódio
LSS	Lauril Sulfato de Sódio
MEV	Microscópio Eletrônico de Varredura
OMS	Organização Mundial da Saúde
PDI	<i>Polydispersity index</i> , do inglês - Índice de polidispersão
SI	Solução Inicial

Sumário

Capítulo 1: Introdução e Revisão bibliográfica	1
1. Estrutura da dissertação	1
2. Objetivo geral	2
2.1. Objetivos específicos	2
3. Hipóteses	2
4. Revisão Bibliográfica	3
4.1. Características e Importância do <i>Aedes aegypti</i>	3
4.1.1. Métodos Convencionais de Controle do vetor e Limitações	5
4.2. Resíduos agroindustriais: Potenciais e Aplicações	7
4.3.1. Obtenção e constituição do LCC	10
4.3.2. Atividade larvicida do LCCT	11
4.4. Surfactantes: Papel na formulação de Larvicidas	12
Referências	15
Capítulo 2: Short Communication	24
Resumo	25
1. Introdução	25
2.1 Síntese dos bioprodutos e teste de solubilidade	27
2.2 Atividade larvicida	27
3. Resultados	28
4. Discussão	29
5. Conclusão	30
Referências	31
Capítulo 3: Artigo Científico	33
Resumo	34
1. Introdução	35
2. Material e Métodos	36
2.1. Formulação do LCCtL	36
2.1.1. Otimização da Formulação	37
2.2. Caracterização físico-química do LCCtL	37
2.2.1. Propriedades Superficiais e Elétricas	37

2.2.2. Avaliação Coloidal por efeito Tyndall	38
2.2.3. Espalhamento dinâmico de luz (EDL)	39
2.2.4. Espectroscopia de absorção no ultravioleta/visível (UV-vis) e Fluorescência.....	39
2.2.5 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	40
2.2.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) do bioproduto LCCTL	40
2.3.1. Ensaios larvicidas em condições de laboratório.....	41
2.3.2. Ensaios larvicidas em condições de campo em pequena escala..	41
2.4. Efeitos do LCCTL nas larvas observados por microscopia	42
2.4.1. Análise por microscópio confocal	42
3. Resultados e Discussão	43
3.1. Caracterização físico-química	43
3.1.1. Propriedades Superficiais e Elétricas	43
3.1.2. Avaliação Coloidal por efeito Tyndall	45
3.1.3. Espalhamento dinâmico de luz (EDL) e MEV do produto	46
3.1.4. Espectroscopia de absorção ultravioleta/visível (UV-vis) e Fluorescência.....	48
3.1.5. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	49
3.2. Atividade biológica do bioproduto	50
3.3. Efeitos do LCCTL nas larvas observado por microscopias	51
4. Conclusão	54
Referências	55
Capítulo 4: Considerações Finais.....	61
Anexos.....	62

Resumo

Os mosquitos representam uma ameaça à saúde pública e à economia, especialmente em regiões tropicais. O *Aedes aegypti* se destaca pela alta adaptabilidade e rápida reprodução, dificultando seu controle, tradicionalmente baseado em inseticidas químicos. No entanto, a resistência crescente do vetor exige alternativas sustentáveis, como o uso de resíduos agroindustriais com potencial larvicida. O Líquido da Casca da Castanha de Caju técnico (LCCT), rico em compostos bioativos, surge como uma opção promissora, mas sua natureza oleosa exige modificações químicas para viabilizar sua diluição em água, meio onde se encontram as larvas do mosquito. Este trabalho teve como objetivo sintetizar um bioproduto sustentável à base do LCCT com propriedades hidrossolúveis e atividade larvicida. Inicialmente, foram avaliadas a hidrosolubilidade e a eficácia larvicida do LCCT e de seu derivado neutralizado (LCCTNa50), em combinação com diferentes surfactantes (Tween 80, Span 80, Lauril Sulfato de Sódio (LSS) e Brometo de Cetiltrimetilamônio). O LSS, em combinação com o LCCT, foi identificado como o surfactante mais eficiente, permitindo a síntese de uma nanoemulsão (LCCTL) solúvel e com atividade larvicida. Visando compreender melhor as propriedades do produto, foi realizada a caracterização físico-química do LCCTL, incluindo análises de tensão superficial, condutividade elétrica, potencial zeta, diâmetro hidrodinâmico das micelas, índice de polidispersidade (PDI), microscopia eletrônica de varredura (MEV), efeito Tyndall, absorção, intensidade de fluorescência e infravermelho. Também foi avaliada a sua atividade biológica por meio da determinação da concentração letal de 50% (CL₅₀) e 90% (CL₉₀) das larvas de *Ae. aegypti* em 3^o e 4^o instares, tanto em condições laboratoriais quanto em campo em pequena escala. Além disso, imagens de fluorescência confocal e MEV foram utilizadas para avaliar a distribuição do bioproduto e danos no organismo das larvas. Os resultados demonstraram que a nanoemulsão de LCCT e LSS resultou em um bioproduto solúvel e ativo sobre as larvas. O potencial zeta indicou maior estabilidade do produto diluído em 10 ×, enquanto o efeito Tyndall confirmou a presença de partículas dispersas em solução coloidal. A caracterização do tamanho hidrodinâmico revelou micelas nanométricas, e a fluorescência confirmou a emissão em espectro da luz visível. Os testes de atividade larvicida evidenciaram a eficácia do produto em laboratório e em campo, com CL_{50-24 h} de 9,59 e 6,59 mg/L, respectivamente. As análises de microscopia confocal revelaram que o bioproduto LCCTL se acumula nos sistemas digestório e excretor das larvas. Além disso, as imagens de MEV mostraram alterações predominantes na zona cefálica e no tegumento das larvas, o que pode ter favorecido o crescimento de

biofilmes ao longo de todo o organismo. Esses resultados destacam a solubilidade e o potencial do LCCTL como uma alternativa sustentável e eficaz para o controle do *Ae. aegypti*, oferecendo uma solução inovadora para programas de combate a vetores.

Palavras-chave: Bioproduto; Controle de vetores; Nanoemulsão; Nanotecnologia; Hidrossolubilidade; Surfactantes.

Abstract

Mosquitoes pose a threat to public health and the economy, especially in tropical regions. *Aedes aegypti* stands out for its high adaptability and rapid reproduction, making it difficult to control, traditionally based on chemical insecticides. However, the vector's growing resistance requires sustainable alternatives, such as the use of agro-industrial waste with larvicidal potential. Technical cashew nut shell liquid (tCNSL), rich in bioactive compounds, has emerged as a promising option, but its oily nature requires chemical modifications to enable its dilution in water, the medium of mosquito larvae. This work aimed to synthesize a sustainable bioproduct based on tCNSL with water-soluble properties and larvicidal activity. Initially, the solubility and larvicidal efficacy of tCNSL and its neutralized derivative (NatCNSL50) were evaluated in combination with different surfactants (Tween 80, Span 80, Sodium Lauryl Sulphate (SLS) and Cetyltrimethylammonium Bromide). SLS, in combination with tCNSL, was identified as the most efficient surfactant, allowing the synthesis of a soluble nanoemulsion (LtCNSL) with larvicidal activity. In order to better understand the properties of the product, the physicochemical characterization of LtCNSL was carried out, including analyses of surface tension, electrical conductivity, zeta potential, hydrodynamic diameter of the micelles, PDI, scanning electron microscopy (SEM), Tyndall effect, absorption, fluorescence intensity and infrared. Its biological activity was also assessed by determining the lethal concentration of 50% (CL₅₀) and 90% (CL₉₀) of 3rd and 4th stage *Ae. aegypti* larvae, both in laboratory conditions and in the field on a small scale. In addition, confocal fluorescence and SEM images were used to assess the distribution of the bioproduct and damage to the larvae's bodies. The results showed that the nanoemulsion of tCNSL and SLS resulted in a bioproduct (LtCNSL) that was soluble and active on the larvae. The zeta potential indicated greater stability of the product diluted at 10 ×, while the Tyndall effect confirmed the presence of dispersed particles in colloidal solution. Hydrodynamic size characterization revealed nanometric micelles, and fluorescence confirmed emission in the visible light spectrum. The larvicidal activity tests showed the product's efficacy in the laboratory and in the field, with CL_{50-24 h} of 9.59 and 6.59 mg/L, respectively. Confocal microscopy analyses revealed that the LtCNSL bioproduct accumulates in the digestive and excretory systems of the larvae. In addition, SEM images showed predominant changes in the cephalic zone and tegument of the larvae, which may have favored the growth of biofilms throughout the organism. These results highlight the solubility and potential of LtCNSL as a sustainable and effective

alternative for controlling *Ae. aegypti*, offering an innovative solution for vector control programs.

Keywords: Bioproduct; Vector control; Nanoemulsion; Nanotechnology; Hidrosolubility; Surfactants.

Capítulo 1

Introdução e Revisão bibliográfica

1. Estrutura da dissertação

O **Capítulo 1** apresenta o tema da dissertação e define os objetivos específicos da pesquisa, que orientaram as investigações e experimentos descritos nos capítulos subsequentes. Além disso, inclui uma revisão de literatura que aborda as características gerais do *Aedes aegypti*, os métodos de controle convencionais e alternativos desse vetor e o uso de resíduos agroindustriais nesse contexto. Dentre esses resíduos, enfatiza-se o LCCT, destacando suas propriedades larvicidas e inseticidas. O capítulo também aborda as propriedades de surfactantes e as metodologias utilizadas para sua caracterização.

O **Capítulo 2** apresenta o primeiro artigo, configurado como *short communication*. Esse trabalho descreve a síntese de bioprodutos à base de LCCT, utilizando diferentes surfactantes, com o objetivo de garantir tanto a hidrossolubilidade quanto a eficácia biológica sobre as larvas de *Ae. aegypti*.

O **Capítulo 3** apresenta o segundo artigo, que tem por objetivo a formulação de um bioproduto larvicida por meio da emulsão do LCCT com LSS. Além disso, aborda a caracterização físico-química da formulação e comprova sua atividade biológica em larvas de *Ae. aegypti*, explorando seus possíveis mecanismos de ação.

O **Capítulo 4** reúne as conclusões gerais da pesquisa, discutindo os principais resultados e apresentando perspectivas futuras para o aprimoramento do bioproduto, incluindo a aplicação prática em estratégias de controle vetorial e sua viabilidade no contexto ambiental.

2. Objetivo geral

Desenvolver um bioproduto sustentável à base do LCCT com propriedades hidrossolúveis e atividade larvicida.

2.1. Objetivos específicos

- Sintetizar um bioproduto por meio da emulsão do LCCT com LSS (LCCTL);
- Caracterizar físico-quimicamente o LCCTL utilizando técnicas específicas;
- Avaliar a eficácia larvicida do LCCTL para controle dos criadouros de *Ae. aegypti*;
- Investigar o mecanismo de ação do LCCTL em larvas de *Ae. aegypti* por meio de microscopia confocal e eletrônica de varredura.

3. Hipóteses

- O LCCTL possui solubilidade em meio aquoso e atividade larvicida contra *Ae. aegypti*;
- A nanoemulsão do LCCT com LSS resulta na formação de micelas nanométricas estáveis;
- O mecanismo de ação do LCCTL está associado ao acúmulo do produto nos sistemas digestório e excretor do *Ae. aegypti* promovendo sua mortalidade.

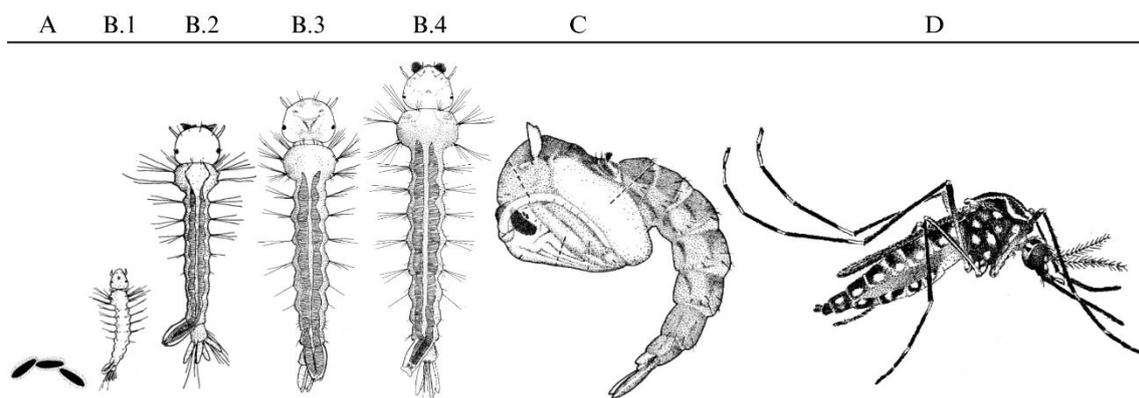
4. Revisão Bibliográfica

4.1. Características e Importância do *Aedes aegypti*

O *Ae. aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) destaca-se como um dos principais vetores de doenças virais ressurgentes como dengue, zika, chikungunya e febre amarela (Souza-Neto *et al.*, 2019). Esse cenário tem impulsionado diversas pesquisas voltadas para compreensão da sua biologia, distribuição e estratégias de controle. Geralmente encontrado em regiões tropicais e subtropicais, onde as condições de temperatura favorecem sua proliferação, esse inseto tem demonstrado uma preocupante expansão para áreas anteriormente não afetadas por sua presença e riscos epidemiológicos (Brady e Hay, 2020; Dennington *et al.*, 2023; Kraemer *et al.*, 2019).

Estudos recentes indicam que o aumento na temperatura global está facilitando a expansão geográfica dos mosquitos vetores para regiões mais frias e anteriormente não expostas (Cazelles *et al.*, 2023). O aumento das temperaturas, associado a outras mudanças climáticas e a plasticidade ecofisiológica, que é a capacidade do *Ae. aegypti* adaptar-se e sobreviver em diferentes condições ambientais, tem facilitado sua expansão para novas áreas, impactando a amplitude e a intensidade das epidemias (Dennington *et al.*, 2023; Kramer *et al.*, 2021; Simon *et al.*, 2021). Em regiões de altitude, por exemplo, o arrefecimento devido à elevação havia inicialmente protegido as populações humanas de doenças vectoriais, mas, o aumento das temperaturas tem alterado esse padrão, resultando em uma maior incidência e amplitude de surtos de doenças (Cazelles *et al.*, 2023; Kramer *et al.*, 2022). Assim, essa mudança é amplamente reconhecida como uma questão de saúde pública com impacto global (Brady e Hay, 2020; Dennington *et al.*, 2023). Além disso, a prevalência dessas doenças transmitidas pelo vetor pode estar relacionada não apenas à temperatura, mas também a fatores socioeconômicos e à densidade populacional (Simon *et al.*, 2021).

O ciclo de vida do *Ae. aegypti* e seus hábitos reprodutivos são fundamentais para entender sua ecologia e estratégias eficazes para a erradicação de criadouros (Garzón *et al.*, 2020). Seu desenvolvimento é holometábolo, que envolve quatro principais fases: ovo, larva (1º, 2º, 3º e 4º *instares*), pupa e imago (mosquito) (Figura 1).



Fonte: Christophers, 1960. Adaptado por Marina S. Schibichewski

Figura 1. Principais estágios de desenvolvimento do *Ae. aegypti*. (A) Ovos; (B.1) Larva em 1º instar recém eclodida; (B.2) Larva em 2º instar inicial; (B.3) Larva em 3º instar inicial; (B.4) Larva em 4º instar inicial; (C) Pupa; (D) Fêmea de Imago (mosquito). Imagem utilizada com a devida autorização para uso.

Para locais de repouso e oviposição, as fêmeas adultas são atraídas por água parada em diversos substratos, como tijolos, pneus, vasos de plantas e recipientes domésticos, demonstrando adaptabilidade ao ambiente urbano (Diallo e Diallo, 2020; Raji *et al.*, 2019). Além disso, a fêmea realiza a oviposição de forma parcelada nos criadouros para aumentar as condições de sobrevivência e estabelecimento da espécie no ecossistema (Swan *et al.*, 2018). Os ovos têm a capacidade de permanecer desidratados por vários meses, o que representa um importante mecanismo de sobrevivência mesmo em condições adversas (Brady e Hay, 2020; Faull e Williams, 2015).

Após a eclosão, as larvas, que vivem na água, se alimentam de matéria orgânica suspensa (Murrell *et al.*, 2011). As larvas passam por quatro estádios (*instares*), sendo que nos primeiros são mais suscetíveis a agentes de controle, enquanto nos mais avançados apresentam maior resistência devido ao desenvolvimento fisiológico. Em seguida, transformam-se em pupas, uma fase de transição na qual não se alimentam, mas realizam uma metamorfose interna. Por isso, habitats aquáticos do *Ae. aegypti* desempenham um papel crucial na taxa de sobrevivência de ovos e larvas (Parker *et al.*, 2019). Fatores como a disponibilidade de alimento, temperatura da água, pH, e a presença de nutrientes como nitrogênio, fósforo e carbono influenciam diretamente a sobrevivência e desenvolvimento das fases imaturas do mosquito (Li *et al.*, 2022; Murrell *et al.*, 2011; Rao *et al.*, 2011).

Finalmente, a pupa se transforma em um adulto emergente, que sai da água e começa o ciclo novamente. Seu desenvolvimento completo pode durar de uma a duas semanas, dependendo das condições ambientais, permitindo a espécie se proliferar

rapidamente e se adaptar a diferentes ambientes (Li *et al.*, 2022). Esse comportamento demonstra a flexibilidade do mosquito em explorar e colonizar novos habitats urbanos, o que sublinha a necessidade de vigilância contínua e medidas eficazes para erradicação de habitats larvais em regiões afetadas (Abbas *et al.*, 2024).

Especificamente, a linhagem Rockefeller do *Ae. aegypti* é uma variante geneticamente distinta amplamente utilizada em programas de controle de mosquitos e pesquisa científica (Fisher *et al.*, 2022). Caracteriza-se por sua capacidade de gerar grandes quantidades de mosquitos sob condições controladas, o que facilita experimentos e estudos sobre controle de vetores e dinâmica populacional (Kuno, 2010). Uma das características da linhagem Rockefeller é sua resistência a determinados inseticidas e sua capacidade de sobreviver em condições variadas de laboratório, o que a torna uma ferramenta valiosa para pesquisadores (Al-Amin *et al.*, 2020; Rahman *et al.*, 2021). Além disso, o estudo dessa linhagem tem proporcionado diferentes percepções sobre a genética do *Ae. aegypti* e suas adaptações ao ambiente urbano, ajudando no desenvolvimento de novas abordagens de controle e estratégias de manejo (Brady e Hay, 2020).

A adaptação ecológica desse inseto e sua crescente resistência aos inseticidas convencionais têm desafiado as estratégias de controle desse vetor. Em resposta à alta disseminação do mosquito, o Brasil tem adotado uma abordagem intensiva, com o uso massivo de inseticidas e larvicidas químicos para reduzir sua população (SVS/MS, 2019). No entanto, a eficácia dessas medidas tem se mostrado limitada devido à resistência dos mosquitos aos compostos utilizados, além de exigir estratégias integradas que considerem os fatores socioeconômicos e ambientais associados às arboviroses (Lima *et al.*, 2024; WHO, 2023). Nesse contexto, o desenvolvimento de alternativas sustentáveis surge como uma abordagem promissora, como o uso de resíduos agroindustriais na formulação de larvicidas, contribuindo para um controle mais eficiente e ecologicamente responsável.

4.1.1. Métodos Convencionais de Controle do vetor e Limitações

Ao abordar o controle do *Ae. aegypti*, métodos mecânicos devem ser considerados. A vigilância sistemática permite monitorar a presença e densidade do mosquito, identificar criadouros e aplicar medidas direcionadas. Entre essas medidas, a instalação de telas de proteção em pontos de acesso, conforme sugerido por Bermudi *et al.* (2017), é particularmente eficaz para impedir a entrada do mosquito em ambientes internos. A vigilância contínua é crucial para avaliar a eficácia dessas medidas e ajustar as estratégias conforme necessário (WHO, 2023). Embora medidas mecânicas e de

vigilância sejam cruciais, métodos químicos ainda desempenham um papel significativo no controle do *Ae. aegypti*.

A Tabela 1 apresenta os inseticidas/larvicidas mais conhecidos no Brasil, que atuam por diferentes mecanismos de ação de acordo com suas classes químicas (WHO, 2017).

Tabela 1. Principais classes químicas, princípios ativos e mecanismos de ação de larvicidas e inseticidas comerciais utilizados no controle de *Ae. aegypti*.

Classes Químicas	Princípios Ativos	Mecanismos de Ação	Referências
Benzoilureia	<i>Diflubenzuron</i>	Inibem a síntese de quitina, impedindo o desenvolvimento adequado das larvas, ocorrendo sua morte antes de alcançarem a fase adulta	Bellinato <i>et al.</i> , 2016; Fiaz <i>et al.</i> , 2022
	<i>Novaluron</i>		
Éter piridiloxipropílico	<i>Piriproxifen</i>	Atua como regulador hormonal de crescimento, interferindo no desenvolvimento dos insetos e impedindo sua metamorfose	Harburguer <i>et al.</i> , 2022; Hustedt <i>et al.</i> , 2020
Fenil pirazol	<i>Fipronil</i>	Afeta o sistema nervoso central, inibindo receptores GABA, resultando em morte	Rosa <i>et al.</i> , 2024; Soualah <i>et al.</i> , 2021
Neonicotinóide	<i>Imidacloprido</i> <i>Clotianidina</i> <i>Tiametoxam</i>	Agonista dos receptores de acetilcolina nicotínicos (receptores nicotínicos da acetilcolina)	Ahmed e Matsumura, 2012; Che-Mendoza <i>et al.</i> , 2022
Organofosforado	<i>Malathion</i>	Inibem a acetilcolinesterase, resultando em paralisia e morte	Corte <i>et al.</i> , 2018; Dias <i>et al.</i> , 2017; Lesmana <i>et al.</i> , 2022
	<i>Temefós</i>		
Piretróide	<i>Deltametrina</i>	Modulam os canais de sódio nas células nervosas, perturbando sua função e levando ao colapso do sistema nervoso dos insetos	Bellinato <i>et al.</i> , 2016; Hossain <i>et al.</i> , 2017; Soderlund, 2020
	<i>Lambda-cialotrina</i>		

Os piretróides e organofosforados são inseticidas adulticidas que atuam no sistema nervoso do mosquito, resultando na sua morte. Diferente dos outros organofosforados, o temefós atua como larvicida, impedindo o desenvolvimento das larvas. Entretanto, essa classe de compostos possui baixa solubilidade em água, o que favorece sua adsorção em partículas e superfícies no ambiente aquático, enquanto sua degradabilidade é relativamente lenta, permitindo a persistência por semanas (Iwuozor *et al.*, 2023). Ainda, os neonicotinóides e compostos como o *fipronil* interferem na alimentação das larvas e provocam seu envenenamento. Existem também inseticidas reguladores de crescimento (IGR) como *diflubenzuron* e *piriproxifen*, que atuam especificamente no desenvolvimento das larvas.

Entretanto, é crucial para o controle do *Ae. aegypti* uma estratégia de manejo de resistência aos inseticidas, visto a crescente problemática que compromete a eficácia dos métodos de controle convencionais (SVS/MS, 2019). Técnicas como o uso rotativo de diferentes classes de inseticidas e a combinação de inseticidas com diferentes mecanismos de ação são recomendadas para retardar o desenvolvimento de resistência (Ahmed e Matsumura, 2012; SVSA/MS, 2023). Estudos recentes sugerem que a integração de abordagens químicas com estratégias biológicas e mecânicas pode proporcionar um controle mais sustentável e eficaz (Florentino *et al.*, 2018). Outra alternativa é a utilização de semioquímicos, substâncias químicas que influenciam o comportamento dos insetos, tem mostrado potencial promissor no controle de *Ae. aegypti* (Triana e Melo, 2024; Wooding *et al.*, 2020). Esses compostos podem ser usados para atrair mosquitos para armadilhas ou repelir indivíduos do ambiente, reduzindo assim a população local (Mulatier *et al.*, 2022; Peach *et al.*, 2019; Zwiebel e Takken, 2004).

Resistência aos produtos comerciais (Thanispong *et al.*, 2024; Lesmana *et al.*, 2022; Al-Amin *et al.*, 2020) intensifica a necessidade por novas estratégias de controle. Dentre elas, destaca-se o uso de nanotecnologia (Dos Santos *et al.*, 2023), o desenvolvimento de produtos fotodinâmicos (Garbuio *et al.*, 2022; Lima *et al.*, 2022) e o método de reprodução com indivíduos estéreis (Kittayapong *et al.*, 2018). Esta abordagem envolve a liberação de machos estéreis, que acasalam com fêmeas selvagens, resultando em ovos não viáveis e uma diminuição gradual da população (Gato *et al.*, 2021). Uma variação dessa técnica utiliza a bactéria *Wolbachia*, que induz esterilidade nos mosquitos e pode também alterar a capacidade de transmissão de doenças (Zhang *et al.*, 2022).

Outra alternativa inovadora de controle do vetor é o uso de produtos derivados de resíduos agroindustriais (Nascimento *et al.*, 2022). Além de reutilizar materiais que seriam descartados, esses produtos têm mostrado potenciais propriedades inseticidas/larvicidas, oferecendo uma alternativa sustentável e menos impactante ao meio ambiente em comparação com pesticidas químicos convencionais, contribuindo para estratégias integradas de manejo e controle (Jorge *et al.*, 2020; Jorge *et al.*, 2022; Nascimento *et al.*, 2022; Nascimento *et al.*, 2024).

4.2. Resíduos agroindustriais: Potenciais e Aplicações

No contexto de soluções sustentáveis, os resíduos agroindustriais representam uma matéria-prima relevante para o desenvolvimento de produtos inovadores, incluindo

larvicidas. Esses resíduos são subprodutos gerados durante o processamento de matérias-primas agrícolas e alimentícias, como cascas, sementes e polpas. Quando não gerenciados adequadamente, podem estar associados a problemas ambientais e de saúde pública (Gonçalves *et al.*, 2021). A gestão inadequada desses resíduos pode gerar impactos ambientais severos, como a poluição do ar, solo e de corpos hídricos (Leyva-López *et al.*, 2020).

O crescimento populacional global e a conseqüente demanda por alimentos têm impulsionado a expansão da produção agrícola. Esse aumento na produção resulta em uma maior geração de resíduos agroindustriais, que, de acordo com o Banco Mundial (2018), até 2050 pode gerar 3,40 bilhões de toneladas, que se não devidamente tratados, podem exacerbar problemas ambientais (Kaza *et al.*, 2018). No entanto, muitos desses resíduos apresentam potencial de aproveitamento, sendo fontes de substâncias bioativas e possuindo diversas propriedades tecnológicas. Eles podem ser utilizados para a produção de bioenergia, compostagem e até como matéria-prima para novos produtos, contribuindo para a economia circular (Devi *et al.*, 2022; Zuin e Ramin, 2018).

A economia circular busca converter resíduos em recursos proveitosos, promovendo a redução, reutilização e reciclagem para criar um ciclo fechado que melhora a eficiência dos recursos, reduz a dependência de fontes naturais e minimiza impactos ambientais (Sharma *et al.*, 2023). No contexto mundial, os resíduos agroindustriais desempenham um papel significativo na economia (Desai *et al.*, 2023). No Brasil, a agricultura é um setor fundamental, e a correta gestão desses resíduos não apenas reduz impactos ambientais, mas também pode gerar valor econômico e impulsionar a inovação (Nascimento-Filho e Franco, 2015).

O gerenciamento desses resíduos é regulado pela resolução nº 313/2002 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), que estabelece diretrizes para a gestão integrada e o tratamento dos resíduos, visando a minimização de impactos ambientais e a promoção da reciclagem e reaproveitamento.

Tecnologias emergentes, como a inteligência artificial (IA), podem desempenhar um papel crucial na gestão eficiente de resíduos agroindustriais. A IA pode otimizar o gerenciamento de resíduos através da automação e análise de dados, melhorando a eficiência dos processos de separação e tratamento, e possibilitando o desenvolvimento de novas soluções para reaproveitamento (Andeobu *et al.*, 2022). Algoritmos de aprendizado de máquina podem prever a geração de resíduos e otimizar as estratégias de

reciclagem e compostagem, aumentando a eficácia das práticas de economia circular (Rai e Kundu, 2024).

Um exemplo prático do reaproveitamento de resíduos agroindustriais é o uso do caroço, casca e tegumento da manga, ricos em polifenóis e carotenoides, na produção de compostos bioativos, antioxidantes e antimicrobianos, que têm aplicações na indústria alimentícia e farmacêutica (García-Mahecha *et al.*, 2023). Da mesma forma, a alta produção de jabuticaba e uva no Brasil gera grandes volumes de resíduos ricos em compostos bioativos, com potenciais antimicrobianos e antioxidantes (Adámez *et al.*, 2012; Ascheri *et al.*, 2006; Gonçalves *et al.*, 2021). A indústria do caju no Nordeste do Brasil também contribui significativamente para a produção de resíduos, com produção anual aproximada de 4 milhões de toneladas (FAO, 2023). Esses resíduos, especialmente o líquido extraído da casca da castanha do caju (LCC), podem ser reaproveitados em produtos como vernizes, tintas e adesivos, representando um subproduto de alto valor agregado (Eke *et al.*, 2021). Além disso, o LCC, com suas propriedades bioativas, destaca-se como alternativa sustentável para valorizar resíduos, impulsionando inovação e eficiência ambiental.

4.3. Líquido da Casca da Castanha do Caju (LCC): Obtenção, Composição e Aplicações

O cajueiro (*Anacardium occidentale*) é uma árvore nativa do Brasil cultivada principalmente no Nordeste e outras regiões tropicais, possuindo relevante importância econômica. Seus principais produtos são o caju e a castanha, que contém um líquido oleoso com potencial industrial (Serrano e Pessoa, 2016). Essa espécie é também introduzida em outros continentes, sendo o Brasil e a Índia os maiores produtores e exportadores mundiais (UNCTAD, 2021).

A linha de produção da indústria do caju é composta por diversas etapas que incluem a coleta, a separação do caju e da castanha, e o processamento subsequente de cada um (Dendena e Corsi, 2014). A comercialização dos seus derivados ocorre tanto no mercado interno quanto externo, com a castanha tendo grande relevância internacional, enquanto o pedúnculo atende principalmente o consumo regional (Ackah *et al.*, 2020; Dendena e Corsi, 2014). A valorização integral do caju impulsiona a busca por tecnologias que maximizem seu aproveitamento, tornando-o um recurso estratégico para a indústria agroalimentar e química. O pedúnculo do caju, rico em nutrientes, é amplamente utilizado na produção de sucos, polpas, doces e até mesmo em aplicações na indústria de biocombustíveis e rações animais. A castanha, por sua vez, passa por um

rigoroso processamento que inclui secagem, torrefação e descascamento, etapas essenciais para a obtenção do produto comestível. Durante esse processo, ocorre a liberação do LCC, um líquido denso, oleoso e de coloração marrom escura, originado da camada externa da castanha. Representando cerca de 70% do peso da noz crua (FAO, 2024), esse subproduto possui propriedades químicas exclusivas, amplamente utilizadas em aplicações industriais. (Dendena e Corsi, 2014; Quirino *et al.*, 2014).

O descarte inadequado ou a queima de cascas de castanha de caju, seja em aterros ou em outros locais, pode liberar gases tóxicos, contribuindo para problemas ambientais significativos (De Paiva *et al.*, 2024). Inicialmente considerado um resíduo sem valor, o LCC passou a ser amplamente explorado na indústria, principalmente quando se identificou a presença de compostos fenólicos que possuem alta resistência térmica e capacidade antioxidante (Lomonaco *et al.*, 2013; Papadopoulou e Chrissafis, 2011).

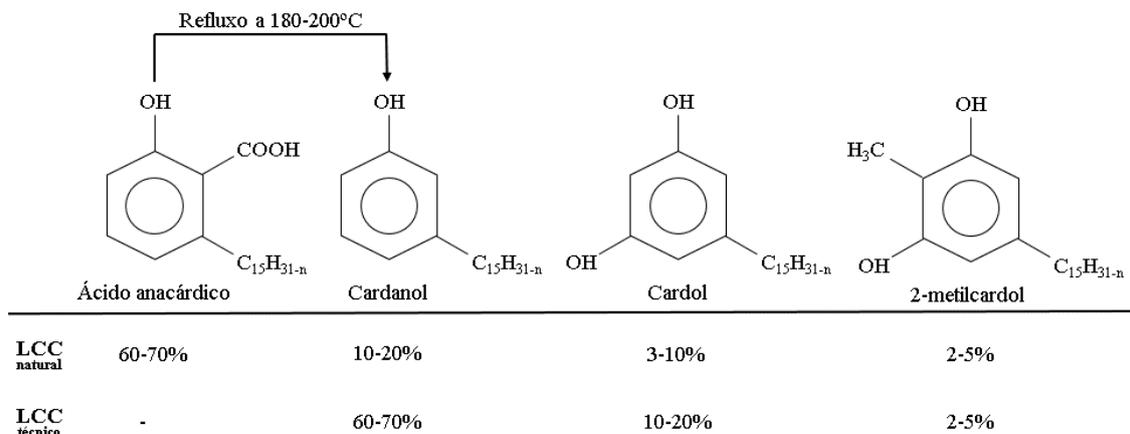
Além de sua aplicação na indústria química, esse subproduto vem sendo estudado para aplicações nas áreas farmacêutica e agrícola. Na farmacologia, pesquisas revelam seu potencial antioxidante e anti-inflamatório, enquanto na agricultura, o LCC pode ser utilizado como pesticida natural, devido às suas propriedades fungicidas e bactericidas (Kyei *et al.*, 2023; Veeramanocharan e Kim, 2024). Além disso, o LCC tem se mostrado uma alternativa promissora no controle de vetores devido às suas propriedades inseticidas e repelentes, resultantes de compostos fenólicos, como o ácido anacárdico e o cardanol (Kyei *et al.*, 2023; Nascimento *et al.*, 2024).

4.3.1. Obtenção e constituição do LCC

O LCC pode ser classificado em dois tipos principais: LCC natural (LCCn) e LCC técnico (LCCt), cada um com características distintas em termos de obtenção, composição química e aplicações (Lomonaco *et al.*, 2017). É importante ressaltar as propriedades cosurfactantes do LCC, atribuídas principalmente ao cardanol, tem a capacidade de reduzir a tensão superficial e melhorar a formação de emulsões (Veeramanocharan e Kim, 2024). Essa característica é útil em diversas aplicações, incluindo a formulação de detergentes e produtos de limpeza.

O LCCn é extraído da casca da castanha de caju por uso de solventes e tratamentos por pressão a baixa temperatura, não ocorrendo modificação química, ou seja, representa os constituintes originais encontrados na natureza. Este tipo de LCC é composto por uma mistura complexa de compostos fenólicos, como representado na Figura 2, onde há o

predomínio de ácido anacárdico (60-70%), cardanol (10-20%), cardol (3-10%) e 2-metilcardol (2-5%) (De Carvalho *et al.*, 2019).



Fonte: Marina S. Schibichewski

Figura 2. Estruturas químicas e proporções dos principais constituintes do LCC natural e LCC técnico representadas em percentagem (%). Informações retiradas do trabalho de Carvalho *et al.*, 2019.

Por outro lado, quando as castanhas são submetidas a temperaturas em torno de 180-190 °C, como no processo de tostagem da castanha de caju, o ácido anacárdico converte-se em cardanol, produzindo o LCCT, subproduto pouco valorizado na cadeia produtiva do caju. O LCCT possui uma maior concentração de cardanol, que pode chegar a 60-70% do total, enquanto a concentração de cardol e 2-metilcardol é reduzida para aproximadamente 10-20% e 2-5%, respectivamente (Figura 2) (De Carvalho *et al.*, 2019). O refinamento melhora suas propriedades cosurfactantes, tornando-o mais eficiente na formação e estabilização de emulsões, o que é particularmente valorizado em aplicações industriais que requerem alta pureza e desempenho consistente (Atta *et al.*, 2017; Bragoni *et al.*, 2018; Masood *et al.*, 2022).

4.3.2. Atividade larvívica do LCCT

O LCCT tem sido estudado há vários anos devido à sua atividade larvívica potencial, mas os resultados experimentais têm mostrado variações significativas em sua eficácia. Devido à sua baixa solubilidade, modificações químicas são necessárias para que se possa aplicar esse bioativo no meio aquoso. Em estudo feito por De Carvalho *et al.* (2019), foi observada atividade larvívica do LCCn, LCCT e seus principais constituintes, onde o LCCT se destaca por ser um resíduo, com um CL_{50-24h} de 19,76 mg/L.

No nosso grupo de pesquisa, várias formulações com LCCT foram sintetizadas com o objetivo de otimizar a solubilidade do produto enquanto se maximiza a eficácia

sobre larvas. Inicialmente, Jorge *et al.* (2020) sulfonaram o LCCt com ácido sulfúrico fumegante e hidróxido de sódio, resultando na síntese do LCCt sulfonato de sódio (LCCtSNa). No entanto, este composto não demonstrou atividade larvicida, o que limitou seu uso prático. A combinação do LCCtSNa com o LCCt original (mistura LCCtSNa + LCCt) apresentou boa solubilidade, mas ação observada sobre larvas foi baixa, com uma CL_{50-24h} (concentração letal para 50% das larvas em 24 h) de 110,6 mg/L (100,8–120,4), indicando a necessidade de ajustes na formulação.

Diante disso, Nascimento *et al.* (2022) exploraram a neutralização parcial (30%) do LCCt utilizando várias substâncias alcalinas, como KOH, NaOH, monoetanolamina (MEA), dietanolamina (DEA) e trietanolamina (TEA). Esses experimentos revelaram uma relevante atividade larvicida, sendo o LCCtNa um dos compostos mais promissores com uma CL_{50-48h} de 2,65. No entanto, esse produto apresentou problemas relacionados à solubilidade, precipitando em água e comprometendo a sua aplicação prática.

Diante desses desafios, a pesquisa prosseguiu com análises adicionais no LCCtNa para determinar a melhor porcentagem de neutralização (variando de 1% a 100%) que maximiza a atividade larvicida enquanto utiliza a menor concentração possível de sal. Os resultados indicaram que, apesar de considerável atividade larvicida com a neutralização parcial, a formulação final ainda precisava de ajustes para garantir uma solubilidade adequada.

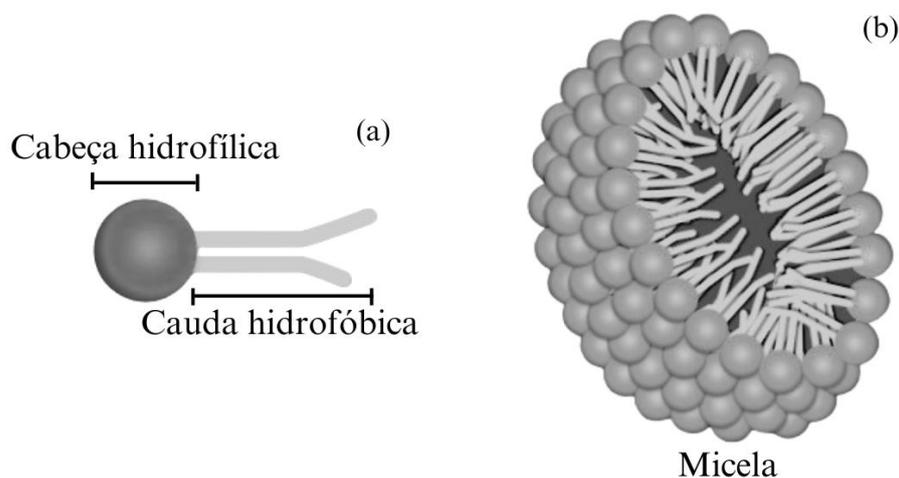
Esses estudos evidenciam a complexidade envolvida na formulação de compostos larvicidas eficazes e a importância de otimizar tanto a atividade quanto a solubilidade (Lucia *et al.*, 2020). Assim, embora tenham sido feitos progressos significativos, o desenvolvimento de um produto que combine alta atividade larvicida com solubilidade adequada continua sendo um objetivo crucial para o controle eficaz de larvas de mosquitos.

Dado que as formulações anteriores apresentaram limitações, especialmente relacionadas à solubilidade, novas abordagens foram exploradas. Para superar esse desafio, a pesquisa concentrou-se na utilização do LSS como surfactante, formando micelas capazes de solubilizar o LCCt e potencializar sua atividade larvicida.

4.4. Surfactantes: Papel na formulação de Larvicidas

Os surfactantes são compostos que possuem em uma variedade de aplicações industriais e científicas devido à sua capacidade de alterar as propriedades superficiais e interfaciais dos líquidos (Karsa e Houston, 2006; Kronberg *et al.*, 2014). Estes compostos

são utilizados em produtos de limpeza, cosméticos, farmacêuticos e até mesmo na indústria alimentícia (Taboada *et al.*, 2001). A estrutura química desses agentes tensoativos é caracterizada por uma parte hidrofílica e outra parte hidrofóbica (Figura 3a), o que lhes permite reduzir a tensão superficial dos líquidos em que estão presentes (Salager, 2002).



Fonte: PSIBERG team. Adaptado por Marina S. Schibichewski

Figura 3. Ilustração da estrutura de surfactantes e arranjo micelar em solução aquosa: (a) Representação esquemática de um surfactante com cabeça hidrofílica e cauda hidrofóbica; (b) Organização de micelas em solução, com as cabeças orientadas para o meio aquoso e as caudas no interior hidrofóbico. Imagem utilizada com a devida autorização para uso.

A tensão superficial é uma medida da força que atua na superfície de um líquido, influenciando a forma como o líquido interage com outras substâncias e superfícies. Em líquidos puros, essa força resulta da atração intermolecular entre as moléculas na superfície (Phan *et al.*, 2018). No entanto, quando surfactantes são adicionados a um líquido, eles se orientam na interface entre o líquido e o ar, reduzindo a força de coesão entre as moléculas do líquido e, conseqüentemente, diminuindo a tensão superficial (Álvarez-Silva *et al.*, 2010). Essa redução facilita processos como a formação de espumas, emulsões e a dispersão de partículas.

Os surfactantes são classificados em várias categorias, incluindo aniônicos, catiônicos, não-iônicos e anfotéricos, com cada tipo exibindo diferentes propriedades e comportamentos (Kronberg *et al.*, 2014). O LSS, um surfactante aniônico, foi selecionado por sua capacidade de formar micelas que encapsulam compostos hidrofóbicos, como o LCCt, aumentando sua solubilidade em meio aquoso. Além disso, reduz significativamente a tensão superficial da água, evidenciando sua eficácia como agente tensoativo (Nirmala *et al.*, 2021; Prihapsara *et al.*, 2019). A concentração à qual essa redução atinge o seu máximo é conhecida como concentração micelar crítica (CMC)

(Hamed *et al.*, 2020). Acima dessa concentração, a adição de mais surfactante não resulta em uma diminuição adicional significativa da tensão superficial, mas pode aumentar a formação de micelas (Figura 3b), que são estruturas agregadas de surfactantes que ajudam na solubilização de substâncias com baixa solubilidade em água (Kronberg *et al.*, 2014).

Além de sua influência na tensão superficial, os surfactantes também afetam a condutividade elétrica das soluções em que estão presentes. Em uma solução, a condutividade é determinada pela presença e mobilidade de íons. Surfactantes, especialmente os aniônicos como o LSS, dissociam-se em íons quando dissolvidos em água, aumentando o número de íons livres na solução (Aleiner e Us'yarov, 2010). Esse aumento na concentração de íons resulta em uma maior condutividade elétrica. Assim, a medição da condutividade de uma solução pode ser usada para monitorar a concentração de surfactante e avaliar a formação de micelas e outros fenômenos relacionados (Álvarez-Silva *et al.*, 2010). Portanto, a ação dos surfactantes reduz a tensão superficial ao alterar interações moleculares e aumenta a condutividade pela dissociação em íons.

O potencial zeta é outra medida crucial para entender a estabilidade coloidal de dispersões e emulsões, pois reflete a carga elétrica superficial das partículas em suspensão (Bhattacharjee, 2016). Valores elevados de potencial zeta indicam repulsão entre partículas, promovendo a estabilidade da dispersão, enquanto valores baixos sugerem uma tendência à agregação, o que pode comprometer a eficácia do produto final (Matusiak e Grządka, 2017). Os valores do potencial zeta podem ser positivos ou negativos, dependendo da carga elétrica das partículas em suspensão. Partículas carregadas positivamente apresentarão um potencial zeta positivo, enquanto partículas carregadas negativamente terão um potencial zeta negativo (Carneiro-da-Cunha *et al.*, 2011).

Além disso, propriedades relacionadas à carga superficial das partículas podem estar associadas a fenômenos ópticos em sistemas coloidais, como o efeito Tyndall. Esse fenômeno é caracterizado pela dispersão da luz visível quando partículas coloidais de tamanho inferior ao comprimento de onda da luz (400 a 760 nm) interagem com a radiação incidente, permitindo análises importantes sobre a natureza dessas suspensões. Quando essas partículas estão presentes, a luz incidente é dispersa, tornando visível o feixe luminoso que atravessa o meio coloidal. Em contraste, em líquidos homogêneos, como a água deionizada, onde não há partículas dispersas, o feixe de laser permanece invisível (Xiao *et al.*, 2019). Recentemente, a técnica de dispersão baseada no efeito Tyndall tem se mostrado uma ferramenta promissora para análises qualitativas de alta

sensibilidade, aliando portabilidade e baixo custo. Estudos demonstraram que é possível detectar diversas substâncias modelo utilizando apenas uma caneta apontadora a laser como fonte de luz (Sun *et al.*, 2022).

Outra técnica empregada na caracterização de surfactantes é o espalhamento dinâmico de luz (EDL), fornecendo informações detalhadas sobre o tamanho hidrodinâmico das micelas formadas em solução e sobre sua distribuição de tamanhos (Rahdar *et al.*, 2019). Além disso, o EDL gera dados sobre a polidispersidade do sistema, que reflete a distribuição de tamanhos das partículas, sendo um indicador crucial para avaliar a homogeneidade de amostras (Farkas e Kramar, 2021). A técnica também pode monitorar processos dinâmicos, como agregação, crescimento de partículas e interações intermoleculares, em função de variações de temperatura, pH ou concentração, sendo eficiente na identificação de estados metaestáveis ou de equilíbrio dinâmico no sistema analisado (Babick, 2020).

A espectroscopia de absorção no UV-vis e a Fluorescência também são exploradas no rastreamento de surfactantes em modelos biológicos (Li e Lee, 2019). A UV-vis permite identificar e quantificar o surfactante por meio de sua absorção característica (Mabrouk *et al.*, 2023). A fluorescência, com o uso de surfactantes fluorescentes ou funcionalizados, possibilita rastrear sua distribuição e comportamento em organismos vivos. Alterações na intensidade ou no comprimento de onda de emissão fornecem informações sobre interações com membranas celulares e mudanças no microambiente, como polaridade e viscosidade, tornando essas técnicas eficientes para estudar a dinâmica do surfactante em sistemas biológicos (Zhang *et al.*, 2021).

Portanto, o desenvolvimento de alternativas sustentáveis para o controle do *Ae. aegypti* deve priorizar abordagens que aliem eficácia biológica e responsabilidade ambiental. A integração de bioprodutos naturais ou biodegradáveis com surfactantes surge como uma estratégia promissora, minimizando impactos ambientais negativos e promovendo soluções ecologicamente responsáveis.

Referências

ABBAS, Sohail *et al.* Mitigating dengue incidence through advanced *Aedes* larval surveillance and control: A successful experience from Pakistan. **Bulletin of Entomological Research**, p. 1-10, 2024.

ACKAH, Nina Bernice *et al.* Awareness of market potentials and utilization of cashew fruit: perspectives of cashew farmers in the Brong Ahafo region of Ghana. **Journal of Scientific Research & Reports**, v. 26, p.14-24, 2020.

- ADÁMEZ, Jonathan Delgado *et al.* In vitro estimation of the antibacterial activity and antioxidant capacity of aqueous extracts from grape-seeds (*Vitis vinifera* L.). **Food Control**, v. 24, n. 1-2, p. 136-141, 2012.
- AHMED, Mohamed Ahmed Ibrahim; MATSUMURA, Fumio. Synergistic actions of formamidine insecticides on the activity of pyrethroids and neonicotinoids against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of medical entomology**, v. 49, n. 6, p. 1405-1410, 2012.
- AL-AMIN, Hasan Mohammad *et al.* Insecticide resistance status of *Aedes aegypti* in Bangladesh. **Parasites & vectors**, v. 13, p. 1-15, 2020.
- ALEINER, G. S.; US' YAROV, O. G. Conductivity of micellar solutions of ionic surfactants and surface conductivity of micelles. **Colloid journal**, v. 72, p. 588-594, 2010.
- ÁLVAREZ-SILVA, E. *et al.* Density, speed of sound, surface tension, and electrical conductivity of sodium dodecanoate aqueous solutions from T = (293.15 to 323.15) K. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v. 55, n. 9, p. 4058-4061, 2010.
- ANDEOBU, Lynda; WIBOWO, Santoso; GRANDHI, Srimannarayana. Artificial intelligence applications for sustainable solid waste management practices in Australia: A systematic review. **Science of The Total Environment**, v. 834, p. 155389, 2022.
- ASCHERI, Diego Palmiro Ramirez; ASCHERI, José Luis Ramírez; CARVALHO, Carlos Wanderlei Piller de. Caracterização da farinha de bagaço de jabuticaba e propriedades funcionais dos extrusados. **Food Science and Technology**, v. 26, p. 897-905, 2006.
- ATTA, Ayman M. *et al.* Preparation of green cardanol-based epoxy and hardener as primer coatings for petroleum and gas steel in marine environment. **Progress in Organic Coatings**, v. 111, p. 283-293, 2017.
- BABICK, Frank. **Dynamic light scattering (DLS)**, in: Characterization of nanoparticles. Amsterdam: Elsevier, pp. 137-172, 2020.
- BELLINATO, Diogo Fernandes *et al.* Resistance status to the insecticides temephos, deltamethrin, and diflubenzuron in Brazilian *Aedes aegypti* populations. **BioMed research international**, v. 2016, n. 1, p. 8603263, 2016.
- BERMUDI, Patricia Marques Moralejo *et al.* *Aedes aegypti* breeding site in an underground rainwater reservoir: a warning. **Revista de saude publica**, v. 51, p. 122, 2017.
- BHATTACHARJEE, Sourav. DLS and zeta potential—what they are and what they are not? **Journal of controlled release**, v. 235, p. 337-351, 2016.
- BRADY, Oliver J.; HAY, Simon I. The global expansion of dengue: how *Aedes aegypti* mosquitoes enabled the first pandemic arbovirus. **Annual review of entomology**, v. 65, n. 1, p. 191-208, 2020.
- BRAGONI, Valentina *et al.* Synthesis of bio-based surfactants from cashew nutshell liquid in water. **Green Chemistry**, v. 20, n. 14, p. 3210-3213, 2018.
- CARNEIRO-DA-CUNHA, Maria G. *et al.* Influence of concentration, ionic strength and pH on zeta potential and mean hydrodynamic diameter of edible polysaccharide solutions envisaged for multilayered films production. **Carbohydrate polymers**, v. 85, n. 3, p. 522-528, 2011.

- CAZELLES, Bernard *et al.* Disentangling local and global climate drivers in the population dynamics of mosquito-borne infections. **Science Advances**, v. 9, n. 39, p. eadf7202, 2023.
- CHE-MENDOZA, Azael *et al.* Residual efficacy of the neonicotinoid insecticide clothianidin against pyrethroid-resistant *Aedes aegypti*. **Pest management science**, v. 79, n. 2, p. 638-644, 2023.
- CHRISTOPHERS, Samuel Rickard. *Aedes aegypti: the yellow fever mosquito*. New York: Cambridge University Press, 1960.
- CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA nº 313**. Brasília: Diário Oficial da União, 2002. Disponível em: <https://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=263>. Acesso em: 26 set. 2024.
- CORTE, Roseli La *et al.* Variation in temephos resistance in field populations of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in the State of Sergipe, Northeast Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, n. 03, p. 284-290, 2018.
- DE CARVALHO, George Harrison Ferreira *et al.* Larvicidal and pupicidal activities of eco-friendly phenolic lipid products from *Anacardium occidentale* nutshell against arbovirus vectors. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, p. 5514-5523, 2019.
- DE PAIVA, Evanice Medeiros *et al.* Valorizing cashew nutshell residue for sustainable lignocellulosic panels using a bio-based phenolic resin as a circular economy solution. **Industrial Crops and Products**, v. 212, p. 118379, 2024.
- DENDENA, Bianca; CORSI, Stefano. Cashew, from seed to market: a review. **Agronomy for sustainable development**, v. 34, p. 753-772, 2014.
- DENNINGTON, Nina L. *et al.* Phenotypic adaptation to temperature in the mosquito vector, *Aedes aegypti*. **Global Change Biology**, v. 30, n. 1, p. e17041, 2023.
- DESAI, Ajay S.; REDDY, Vijay Kumar; SAINI, Ramesh Kumar. Circular economy and seafood and agro-industrial waste valorisation for healthy foods. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 58, n. 5, p. 2635-2636, 2023.
- DEVI, M. Keerthana *et al.* Recent advances in biogas production using Agro-Industrial Waste: A comprehensive review outlook of Techno-Economic analysis. **Bioresource Technology**, v. 363, p. 127871, 2022.
- DIALLO, Diawo; DIALLO, Mawlouth. Resting behavior of *Aedes aegypti* in southeastern Senegal. **Parasites & Vectors**, v. 13, p. 1-7, 2020.
- DIAS, Luciana dos Santos *et al.* Toxicity of spinosad to temephos-resistant *Aedes aegypti* populations in Brazil. **Plos one**, v. 12, n. 3, p. e0173689, 2017.
- EKE, William Iheanyi *et al.* Glycerol-modified cashew nut shell liquid as eco-friendly flow improvers for waxy crude oil. **Petroleum Science and Technology**, v. 39, n. 4, p. 101-114, 2021.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Cashew nut production – FAO, [dataset], Production: Crops and livestock products [original data], 2023. Disponível em: <https://ourworldindata.org/grapher/cashew-nut-production>. Acesso em: 19 set. 2024.

- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAOSTAT: statistical Cahew nuts (crops production), 2024. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QV>. Acesso em: 19 set. 2024.
- FARKAS, Natalia; KRAMAR, John A. Dynamic light scattering distributions by any means. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 23, n. 5, p. 120, 2021.
- FAULL, Katherine J.; WILLIAMS, Craig R. Intraspecific variation in desiccation survival time of *Aedes aegypti* (L.) mosquito eggs of Australian origin. **Journal of Vector Ecology**, v. 40, n. 2, p. 292-300, 2015.
- FAIAZ, Muhammad *et al.* Behavioral and ultrastructural effects of novaluron on *Aedes aegypti* larvae. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 93, p. 104974, 2021.
- FISHER, Cera R.; WILSON, Michael; SCOTT, Jeffrey G. A chromosome-level assembly of the widely used Rockefeller strain of *Aedes aegypti*, the yellow fever mosquito. **G3**, v. 12, n. 11, p. jkac242, 2022.
- FLORENTINO, Helenice O *et al.* Genetic algorithm for optimization of the *Aedes aegypti* control strategies. **Pesquisa Operacional**, v. 38, n. 3, p. 389-411, 2018.
- GARBUIO, Matheus *et al.* Formulations of curcumin and D-mannitol as a photolarvicide against *Aedes aegypti* larvae: sublethal photolarvicidal action, toxicity, residual evaluation, and small-scale field trial. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 38, p. 102740, 2022.
- GARCÍA-MAHECHA, Maribel *et al.* Bioactive compounds in extracts from the agro-industrial waste of mango. **Molecules**, v. 28, n. 1, p. 458, 2023.
- GARZÓN, Maximiliano Javier *et al.* Temperature and photoperiod effects on dormancy status and life cycle parameters in *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* from subtropical Argentina. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 35, n. 1, p. 97-105, 2021.
- GATO, René *et al.* Sterile insect technique: successful suppression of an *Aedes aegypti* field population in Cuba. **Insects**, v. 12, n. 5, p. 469, 2021.
- GONÇALVES, Leticia Aline; LORENZO, José M.; TRINDADE, Marco Antonio. Fruit and agro-industrial waste extracts as potential antimicrobials in meat products: A brief review. **Foods**, v. 10, n. 7, p. 1469, 2021.
- HAMED, Rania; ALNADI, Sabreen Hasan; AWADALLAH, Areeg. The effect of enzymes and sodium lauryl sulfate on the surface tension of dissolution media: toward understanding the solubility and dissolution of carvedilol. **AAPS PharmSciTech**, v. 21, p. 1-11, 2020.
- HARBURGUER, Laura V.; MENDOZA, Jessica; GONZALEZ, Paula V. A Review of the Use of Pyriproxyfen for Controlling *Aedes aegypti* in Argentina. **Current Tropical Medicine Reports**, v. 9, n. 4, p. 261-266, 2022.
- HOSSAIN, Muhammad M.; LIU, Jason; RICHARDSON, Jason R. Pyrethroid insecticides directly activate microglia through interaction with voltage-gated sodium channels. **Toxicological Sciences**, v. 155, n. 1, p. 112-123, 2017.
- HUSTEDT, John Christian *et al.* Use of pyriproxyfen in control of *Aedes* mosquitoes: A systematic review. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 14, n. 6, p. e0008205, 2020.
- IWUOZOR, Kingsley O. *et al.* Adsorption of organophosphate pesticides from aqueous solution: a review of recent advances. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 20, n. 5, p. 5845-5894, 2023.

- JORGE, Márcia Ramos *et al.* 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**, v. 27, p. 27870-27884, 2020.
- JORGE, Márcia Ramos *et al.* Ecotoxicological Evaluation of Products Obtained from Technical Cashew Nutshell Liquid (tCNSL) Proposed as Larvicide to Control *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Ecologies**, v. 3, n. 2, p. 161-174, 2022.
- KARSA, David R.; HOUSTON, Joel. **What are surfactants**, in: Chemistry and technology of surfactants. New Jersey: Blackwell Publishing, v. 1, pp. 1-23, 2006.
- KAZA, Silpa *et al.* What a Waste 2.0: A Global Snapshot of Solid Waste Management to 2050. Washington: World Bank, 2018. Disponível em: <https://openknowledge.worldbank.org/entities/publication/d3f9d45e-115f-559b-b14f-28552410e90a>. Acesso em 26 set. 2024.
- KITTAYAPONG, Pattamaporn *et al.* Combined sterile insect technique and incompatible insect technique: sex separation and quality of sterile *Aedes aegypti* male mosquitoes released in a pilot population suppression trial in Thailand. **Parasites & Vectors**, v. 11, p. 73-83, 2018.
- KRAEMER, Moritz UG *et al.* Past and future spread of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **Nature microbiology**, v. 4, n. 5, p. 854-863, 2019.
- KRAMER, Isabelle Marie *et al.* The ecophysiological plasticity of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* concerning overwintering in cooler ecoregions is driven by local climate and acclimation capacity. **Science of the Total Environment**, v. 778, p. 146128, 2021.
- KRAMER, Isabelle Marie *et al.* Genomic profiling of climate adaptation in *Aedes aegypti* along an altitudinal gradient in Nepal indicates nongradual expansion of the disease vector. **Molecular ecology**, v. 32, n. 2, p. 350-368, 2022.
- KRONBERG, Bengt; HOLMBERG, Krister; LINDMAN, Björn. **Types of surfactants, their synthesis, and applications**, in: Surface Chemistry of Surfactants and Polymers. New Jersey: John Wiley & Sons, pp. 1-47, 2014.
- KUNO, Goro. Early history of laboratory breeding of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) focusing on the origins and use of selected strains. **Journal of medical entomology**, v. 47, n. 6, p. 957-971, 2010.
- KYEI, Sampson Kofi *et al.* A comprehensive review on waste valorization of cashew nutshell liquid: Sustainable development and industrial applications. **Cleaner Waste Systems**, p. 100116, 2023.
- LESMANA, Suri Dwi *et al.* Organophosphate resistance in *Aedes aegypti*: study from dengue hemorrhagic fever endemic subdistrict in Riau, Indonesia. **Reports of Biochemistry & Molecular Biology**, v. 10, n. 4, p. 589, 2022.
- LEYVA-LÓPEZ, Nayely *et al.* Exploitation of agro-industrial waste as potential source of bioactive compounds for aquaculture. **Foods**, v. 9, n. 7, p. 843, 2020.
- LI, Meili *et al.* Temperature dependent developmental time for the larva stage of *Aedes aegypti*. **Mathematical Biosciences and Engineering**, v. 19, n. 5, p. 4396-4406, 2022.
- LI, Yan; LEE, Jae-Seung. Staring at protein-surfactant interactions: Fundamental approaches and comparative evaluation of their combinations-A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1063, p. 18-39, 2019.

LIMA, Alessandra R. *et al.* Environmentally safe photodynamic control of *Aedes aegypti* using sunlight-activated synthetic curcumin: photodegradation, aquatic ecotoxicity, and field trial. **Molecules**, v. 27, n. 17, p. 5699, 2022.

LIMA, Anete Medeiros de; CORRÊA, Ana Paula de Vechi; UEHARA, Sílvia Carla da Silva André. Influência dos indicadores socioeconômicos na distribuição dos casos suspeitos de dengue no município de São Carlos-SP. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 34, p. e34009, 2024.

LOMONACO, Diego; MAIA, Francisco Jonas Nogueira; MAZZETTO, Selma Elaine. Thermal evaluation of cashew nutshell liquid as new bioadditives for poly (methyl methacrylate). **Journal of thermal analysis and calorimetry**, v. 111, p. 619-626, 2013.

LOMONACO, Diego; MELE, Giuseppe; MAZZETTO, Selma E. **Cashew nutshell liquid (CNSL): from an agro-industrial waste to a sustainable alternative to petrochemical resources**, in: Cashew nut shell liquid. Springer, Cham, pp. 19-38, 2017.

LUCIA, Alejandro *et al.* Nanoemulsions based on thymol-eugenol mixtures: characterization, stability and larvicidal activity against *Aedes aegypti*. **Bulletin of Insectology**, v. 73, n. 1, p. 153-160, 2020.

MABROUK, Mokhtar M.; HAMED, Nouran A.; MANSOUR, Fotouh R. Spectroscopic methods for determination of critical micelle concentrations of surfactants; a comprehensive review. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 58, n. 3, p. 206-234, 2023.

MASOOD, Shumaila *et al.* Comparative studies on coating materials of urotropine modified furfurylolated-tCNSL and methylolated-tCNSL thermoset for anticorrosive application: Switching towards a cleaner approach. **Journal of Cleaner Production**, v. 345, p. 130933, 2022.

MATUSIAK, Jakub; GRZĄDKA, Elżbieta. Stability of colloidal systems-a review of the stability measurements methods. **Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, sectio AA-Chemia**, v. 72, n. 1, p. 33, 2017.

MULATIER, Margaux; BOULLIS, Antoine; VEGA-RÚA, Anubis. Semiochemical oviposition cues to control *Aedes aegypti* gravid females: state of the art and proposed framework for their validation. **Parasites & Vectors**, v. 15, n. 1, p. 228, 2022.

MURRELL, Ebony G. *et al.* Distributions of competing container mosquitoes depend on detritus types, nutrient ratios, and food availability. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 104, n. 4, p. 688-698, 2011.

NASCIMENTO, Héliana dos Santos *et al.* Self-emulsifiable bioactive derivatives of technical Cashew Nut Shell Liquid (tCNSL) developed to control *Aedes aegypti* populations. **Waste and Biomass Valorization**, v. 13, n. 5, p. 2539-2552, 2022.

NASCIMENTO, Héliana dos Santos *et al.* By-Products of the Cashew Nut Production Chain as Alternatives for the Development of Larvicides: A Review. **Waste and Biomass Valorization**, v. 15, n. 6, p. 3217-3237, 2024.

NASCIMENTO-FILHO, Wilson B.; FRANCO, Carlos Ramon. Avaliação do potencial dos resíduos produzidos através do processamento agroindustrial no Brasil. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 1968-1987, 2015.

NIRMALA, E. *et al.* A Review On Sodium Lauryl Sulphate-A Surfactant. **World Journal of Pharmaceutical Research**, v. 10, n. 13, p. 506-512, 2021.

- PAPADOPOULOU, Electra; CHRISAFIS, Konstantinos. Thermal study of phenol–formaldehyde resin modified with cashew nut shell liquid. **Thermochimica Acta**, v. 512, n. 1-2, p. 105-109, 2011.
- PARKER, Allison T. *et al.* Container size alters the outcome of interspecific competition between *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) and *Aedes albopictus*. **Journal of medical entomology**, v. 56, n. 3, p. 708-715, 2019.
- PEACH, Daniel AH *et al.* Attraction of female *Aedes aegypti* (L.) to aphid honeydew. **Insects**, v. 10, n. 2, p. 43, 2019.
- PHAN, Chi Minh *et al.* Micelle and surface tension of double-chain cationic surfactants. **ACS omega**, v. 3, n. 9, p. 10907-10911, 2018.
- PRIHAPSARA, Fea. *et al.* Permeability of Piroxicam with Sodium Lauryl Sulfate as Surfactant. In: **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**. IOP Publishing, 2019. p. 012054.
- PSIBERG team. Micelle Formation: Explanation with CMC. Disponível em: <https://psiberg.com/micelle-formation/>. Acesso em: 30 set. 2024.
- QUIRINO, Rafael L.; GARRISON, Thomas F.; KESSLER, Michael R. Matrices from vegetable oils, cashew nut shell liquid, and other relevant systems for biocomposite applications. **Green Chemistry**, v. 16, n. 4, p. 1700-1715, 2014.
- RAHDAR, Abbas *et al.* Dynamic light scattering: A useful technique to characterize nanoparticles. **Journal of Nanoanalysis**, v. 6, n. 2, p. 80-89, 2019.
- RAHMAN, Rafi Ur *et al.* Insecticide resistance and genetic structure of *Aedes aegypti* populations from Rio de Janeiro State, Brazil. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 15, n. 2, p. e0008492, 2021.
- RAI, Amrita; KUNDU, Krishanu. Agro-industrial waste management employing benefits of artificial intelligence. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 31, n. 22, p. 33148-33154, 2024.
- RAJI, Joshua I.; GONZALEZ, Sheyla; DEGENNARO, Matthew. *Aedes aegypti* Ir8a mutant female mosquitoes show increased attraction to standing water. **Communicative & Integrative Biology**, v. 12, n. 1, p. 181-186, 2019.
- RAO, B. Bhaskar *et al.* Characteristics of *Aedes (Stegomyia) albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae) breeding sites. **Southeast Asian J Trop Med Public Health**, v. 42, n. 5, p. 1077-1082, 2011.
- ROSA, Maria Eduarda *et al.* Recent advances on the influence of fipronil on insect behavior. **Current Opinion in Insect Science**, p. 101251, 2024.
- SALAGER, Jean-Louis. **Surfactants - types and uses**. Universidad de los Andes, v. 2, 2002.
- SERRANO, Luiz A. Lopes; PESSOA, Pedro F. Ad. de Paula. **Aspectos econômicos da cultura do cajueiro**, em: Sistema de Produção do Caju. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2016. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1052862/sistema-de-producao-do-caju>. Acesso em: 27 set. 2024.
- SHARMA, Vishal *et al.* Insights into the recent advances of agro-industrial waste valorization for sustainable biogas production. **Bioresource Technology**, p. 129829, 2023.

SIMON, Lorena M.; RANGEL, Thiago F. Are temperature suitability and socioeconomic factors reliable predictors of dengue transmission in Brazil?. **Frontiers in Tropical Diseases**, v. 2, p. 758393, 2021.

SODERLUND, David M. Neurotoxicology of pyrethroid insecticides. In: **Advances in Neurotoxicology**. Academic Press, 2020. p. 113-165.

SOUALAH, Zineb *et al.* GABAA receptor subunit composition drives its sensitivity to the insecticide Fipronil. **Frontiers in Neuroscience**, v. 15, p. 768466, 2020.

SOUZA-NETO, Jayme A.; POWELL, Jeffrey R.; BONIZZONI, Mariangela. *Aedes aegypti* vector competence studies: A review. **Infection, genetics and evolution**, v. 67, p. 191-209, 2019.

SUN, Yao *et al.* Tyndall-Effect-inspired assay with gold nanoparticles for the colorimetric discrimination and quantification of mercury ions and glutathione. **Talanta**, v. 238, p. 122999, 2022.

SVS - Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual sobre Medidas de Proteção à Saúde dos Agentes de Combate às Endemias**. Brasília: Ministério da Saúde, 2019. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_proteção_agentes_endemias.pdf. Acesso em: 19 set. 2024.

SVSA - Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Nota Técnica Nº 9/2023-CGAR/DEDT/SVSA/MS. **Orientação técnica atualizada para a utilização do adjuvante Fludora® Fusion (Cloti anidina + Deltametrina) para as atividades de controle químico residual de populações adultas de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em Pontos Estratégicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-contenido/publicacoes/notas-tecnicas/2023/nota-tecnica-no-9-2023-cgarb-dedt-svsa-ms/view>. Acesso em: 23 set. 2024.

SWAN, Tom; LOUNIBOS, L. P.; NISHIMURA, N. Comparative oviposition site selection in containers by *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) from Florida. **Journal of medical entomology**, v. 55, n. 4, p. 795-800, 2018.

TABOADA, Pablo *et al.* Surface properties of some amphiphilic antidepressant drugs. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 179, n. 1, p. 125-128, 2001.

THANISPONG, Kanutcharee *et al.* Deltamethrin resistance intensity and synergistic effect of piperonyl butoxide for combating *Aedes aegypti* in dengue fever endemic areas in Thailand. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, p. 102282, 2024.

TRIANA, Merybeth Fernandez; MELO, Nadia. The dynamics of *Aedes aegypti* mating behavior. **Current Opinion in Insect Science**, p. 101237, 2024.

UNCTAD - United Nations Conference on Trade and Development. **Commodities at a glance: Special issue on cashew nuts**. Report No. 14, United Nations, Geneva, 2021. Disponível em: https://unctad.org/system/files/official-document/ditcom2020d1_en.pdf. Acesso em: 10 set. 2024.

VEERAMANO HARAN, Ashokkumar; KIM, Seok-Chan. A comprehensive review on sustainable surfactants from CNSL: chemistry, key applications and research perspectives. **RSC advances**, v. 14, n. 35, p. 25429-25471, 2024.

WHO - World Health Organization. **Guidelines for drinking-water quality: fourth edition incorporating the first addendum**. Geneva: World Health Organization, 2017.

Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549950>. Acesso em: 23 set. 2024.

WHO - World Health Organization. **Report on insecticide resistance in *Aedes* mosquitoes (*Aedes aegypti*, *Ae. albopictus*, *Ae. vittatus*) in WHO South-East Asia Region countries**. Regional Office for South-East Asia, 2023. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/sea-cd-334>. Acesso em: 23 set. 2024.

WOODING, Madelien *et al.* Controlling mosquitoes with semiochemicals: a review. **Parasites & Vectors**, v. 13, p. 1-20, 2020.

XIAO, Wencheng *et al.* Highly sensitive colorimetric detection of a variety of analytes via the Tyndall effect. **Analytical chemistry**, v. 91, n. 23, p. 15114-15122, 2019.

ZHANG, Siqi *et al.* A novel water-soluble near-infrared fluorescent probe for monitoring mitochondrial viscosity. **Talanta**, v. 233, p. 122592, 2021.

ZHANG, HengDuan *et al.* *Wolbachia* infection in field-collected *Aedes aegypti* in Yunnan Province, southwestern China. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 12, p. 1082809, 2022.

ZUIN, Vânia G.; RAMIN, Luize Z. Green and sustainable separation of natural products from agro-industrial waste: challenges, potentialities, and perspectives on emerging approaches. **Chemistry and Chemical Technologies in Waste Valorization**, p. 229-282, 2018.

ZWIEBEL, Laurence J.; TAKKEN, Willem. Olfactory regulation of mosquito–host interactions. **Insect biochemistry and molecular biology**, v. 34, n. 7, p. 645-652, 2004.

Capítulo 2

Short Communication

Bioprodutos derivados do Líquido da Casca da Castanha de Caju: Síntese e atividade larvicida com diferentes surfactantes

Revista: Revista de Saúde Pública

Fator de impacto: 2,1 (JCR 2023)



Normas da revista

Bioprodutos derivados do Líquido da Casca da Castanha de Caju técnico: Síntese, solubilização em água e atividade larvicida com diferentes surfactantes

Marina Stefanos Schibichewski^{1*}, Alexeia Barufatti^{1,2}

¹Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Faculdade de Ciências Exatas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados/MS, Brasil

²Programa de Pós Graduação em Biodiversidade e Meio Ambiente, Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados/MS, Brasil

* E-mail: marina.schibichewski@hotmail.com

Resumo

Este estudo avaliou o potencial larvicida do Líquido da Casca de Castanha de Caju técnico (LCCt) e de seu derivado neutralizado (LCCtNa50) em combinação com diferentes surfactantes para o controle de *Aedes aegypti*. Os bioprodutos foram testados em termos de solubilidade e eficácia larvicida em soluções contendo Tween 80, Span 80, Lauril Sulfato de Sódio (LSS) e Brometo de Cetiltrimetilamônio (CTAB). Os resultados indicaram que o LSS associado ao LCCt apresentou melhor solubilidade e atividade larvicida. Assim, o uso desse bioproduto surge como uma alternativa promissora para o controle do vetor, embora ajustes adicionais sejam necessários para aprimorar a formulação.

Palavras-chave: Produto larvicida; *Aedes aegypti*; Resíduo agroindustrial; Solubilidade.

1. Introdução

A intensificação das atividades agrícolas e industriais, impulsionada pelo crescimento populacional, tem gerado grandes volumes de resíduos agroindustriais, que frequentemente são descartados de forma inadequada ou subutilizados (Yafetto, 2023). Em muitos casos, esses resíduos são destinados apenas à alimentação animal ou simplesmente descartados, contribuindo para impactos ambientais significativos e no subaproveitamento de seu potencial econômico (Nigam *et al.*, 2009; Kermani *et al.*, 2015).

Diante desse cenário, alternativas inovadoras e sustentáveis para o reaproveitamento desses resíduos são de interesse científico, especialmente devido à

presença de compostos bioativos, como fenóis e carotenoides, em sua composição (Shirahigue *et al.*, 2020). Esses compostos apresentam propriedades químicas e biológicas promissoras, com propriedades larvicidas naturais, que constitui uma solução eficaz e ambientalmente sustentável no controle de vetores de doenças (Carvalho *et al.*, 2019; Kala *et al.*, 2019; Jorge *et al.*, 2020). Além disso, essa abordagem tem o potencial de reduzir a dependência de produtos químicos sintéticos, contribuindo tanto para a saúde pública quanto para a preservação ambiental.

O *Aedes aegypti* é um dos principais vetores transmissores de arboviroses, predominando em áreas tropicais e subtropicais, onde sua elevada capacidade de proliferação favorece a rápida disseminação de vírus entre a população, representando um desafio crítico para a saúde pública (Abdullah *et al.*, 2024; Barradas Mores *et al.*, 2020; Zara *et al.*, 2016). Diante desse cenário, estratégias de controle dessas arboviroses concentram-se no uso de agentes químicos, visando a redução da população em diferentes estágios de desenvolvimento (Zara *et al.*, 2016). No entanto, o uso desses larvicidas/inseticidas sintéticos resultou em resistência nas populações de *Ae. aegypti*, além de demonstrar toxicidade para organismos não-alvo e impactos ambientais adversos (Thanispong *et al.*, 2024; Lesmana *et al.*, 2022).

Neste contexto, o Líquido da Casca da Castanha de Caju técnico (LCCt) vêm sendo estudado como uma alternativa promissora, associando o reaproveitamento de resíduos agroindustriais à aplicação prática no controle de vetores. Esse subproduto é obtido durante o processamento térmico da castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.), em temperaturas entre 180 e 190 °C (Lomonaco *et al.*, 2017). O LCCt apresenta comprovada atividade larvicida, destacando seu potencial no combate a vetores como *Ae. aegypti*. Contudo, sua elevada viscosidade e natureza hidrofóbica limitam sua aplicação em ambientes aquáticos, típicos dos criadouros desse mosquito. Para superar essa limitação, modificações químicas têm sido exploradas, incluindo a neutralização parcial com hidróxido de sódio (NaOH), que resulta no derivado LCCtNa50, caracterizado por maior solubilidade em meio aquoso e potencial larvicida aprimorado.

Ainda assim, para viabilizar sua aplicação prática, é necessário aprimorar sua solubilidade em água e potencializar sua eficácia larvicida. Assim, o objetivo deste estudo foi sintetizar diferentes bioprodutos larvicidas à base do LCCt, combinando-o com diferentes surfactantes, e avaliar sua atividade larvicida e solubilidade em meio aquoso.

2. Material e Métodos

2.1 Síntese dos bioprodutos e teste de solubilidade

Neste estudo, foram desenvolvidos produtos a partir de dois bioativos, LCCt e sua versão parcialmente neutralizado com hidróxido de sódio (NaOH) denominada LCCtNa50. O LCCt foi utilizado em sua forma pura e obtido da empresa Resibras Indústria de Castanhas Ltda. (Fortaleza-CE, Brasil).

A formulação das emulsões seguiu um sistema bifásico, composto por uma fase oleosa e uma fase aquosa. A razão entre as fases foi mantida em 1:19 (v/v), considerando parâmetros de estabilidade e eficiência de dispersão. A fase aquosa foi constituída de água deionizada, enquanto a fase oleosa era composta por 500 mg/L de LCCt ou 200 mg/L de LCCtNa50 em combinação com DMSO e os seguintes surfactantes: Tween 80, Span 80, Brometo de Cetiltrimetilamônio (CTAB) e Lauril Sulfato de Sódio (LSS). Para as diluições de cada um dos surfactantes foram preparadas soluções estoque a 8% (S1) e posteriormente diluídas em 4% (S2), 2,67% (S3) e 0,4% (S20) (Anexo: Figura A1).

As emulsificações foram realizadas pela titulação das soluções oleosas na solução aquosa sob constante agitação magnética em agitador TMA 10-C (Thelga[®]) por 10 min. Após o gotejamento, as misturas foram mantidas em agitação por mais 20 min. Assim, foram obtidos nove tratamentos para cada surfactante, sendo eles: LCCt +S1; LCCt+ S2, LCCt + S3; LCCt + S20; LCCtNa50 +S1; LCCt Na50 + S2, LCCt Na50 + S3; LCCt Na50 + S20. Além dos bioprodutos formulados, um controle veículo (CV) foi preparado utilizando os surfactantes diluídos em DMSO e água deionizada, sem a adição dos bioativos. Após a preparação, os bioprodutos foram encaminhados para a etapa seguinte de ensaios larvicidas.

2.2 Atividade larvicida

Para os ensaios larvicidas, foram utilizadas larvas de 3^o e 4^o *instares* (L3 e L4) de *Ae. aegypti* (linhagem Rockefeller) (Anexo: Figura A2), oriundas de ovos fornecidos pela LAFICAVE/FIOCRUZ – RJ. Esses testes foram conduzidos com uma metodologia preliminar, visando avaliar os efeitos iniciais do composto sobre as larvas e fornecer subsídios para experimentos futuros. As larvas foram mantidas em temperatura controlada (25 ± 2 °C) e fotoperíodo de 12h claro/12h escuro. Com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, 10 larvas foram transferidas para copos plásticos descartáveis contendo 50 mL de água deionizada. Os experimentos foram realizados em duplicata, utilizando concentrações de bioativos de 25 mg/L para o LCCt e 10 mg/L para o LCCtNa50 (Anexo:

Figura A3). É importante destacar que as concentrações dos bioativos permaneceram constantes durante todo o experimento.

As variações nos ensaios experimentais corresponderam às diferentes concentrações dos surfactantes (Tween 80, Span 80, CTAB e LSS) em suas respectivas diluições. Foram realizados nove tratamentos para cada surfactante, sendo eles: LCct +SI; LCct+ S2, LCct + S3; LCct + S20; LCctNa50 +SI; LCct Na50 + S2, LCct Na50 + S3; LCct Na50 + S20. Um controle veículo (CV), correspondente aos diferentes surfactantes utilizados, foi incluído em todos os experimentos.

A mortalidade das larvas foi realizada após 24 e 48 h de exposição. A resposta larvicida foi avaliada com base na mortalidade (%), sendo considerado morto qualquer indivíduo sem resposta a estímulos mecânicos.

3. Resultados

A análise dos resultados obtidos na avaliação da solubilidade e atividade larvicida dos bioprodutos formulados com diferentes surfactantes revela insights importantes sobre a eficácia e limitações de cada sistema. A avaliação inicial da solubilidade dos bioprodutos revelou que os surfactantes Tween e LSS apresentaram excelente capacidade de solubilidade do bioproduto, resultando em soluções homogêneas. O CTAB mostrou solubilidade intermediária, com formação inicial de uma solução aparentemente estável, porém observou-se a formação de aglomerados após algumas horas. O Span 80 não foi eficaz na solubilização dos bioprodutos, resultando em separação de fases e formação de aglomerados, sendo assim descartado para o ensaio larvicida. Assim sendo, os ensaios larvicidas foram realizados com os surfactantes Tween 80, LSS e CTAB. (Tabela 1).

Tabela 1. Porcentagem de mortalidade das larvas de *Ae. aegypti* em diferentes tratamentos após 24 h e 48 h.

Diluições	24 h						48 h					
	LCct-Tween	LCctNa-Tween	LCct-LSS	LCctNa-LSS	LCct-CTAB	LCctNa-CTAB	LCct-Tween	LCctNa-Tween	LCct-LSS	LCctNa-LSS	LCct-CTAB	LCctNa-CTAB
SI	0%	0%	100%	10%	100%	100%	5%	5%	100%	15%	100%	100%
S2	0%	0%	100%	5%	100%	100%	5%	0%	100%	25%	100%	100%
S3	0%	0%	95%	15%	100%	100%	0%	5%	95%	35%	100%	100%
S20	0%	0%	30%	5%	40%	15%	5%	0%	30%	5%	60%	25%

SI - Solução Inicial; S2 – SI diluída 2 ×; S3 – SI diluída 3 ×; S20 – SI diluída 20 ×. Fonte: Autora.

Embora o Tween 80 tenha mostrado boa solubilidade, sua atividade larvicida foi insignificante, com mortalidade inferior a 10% em todos os tratamentos. O CTAB, apesar de apresentar solubilidade inicial intermediária, observou-se mortalidade expressiva no controle contendo apenas CTAB, indicando que a toxicidade observada estava relacionada ao próprio surfactante e não aos bioprodutos. Este efeito tóxico do CTAB

limita sua aplicabilidade, pois dificulta a distinção entre a eficácia do bioproduto e a toxicidade do surfactante.

Por outro lado, o LSS destacou-se tanto pela solubilidade eficaz quanto pelo desempenho larvicida superior. Nesse contexto, o LCCT combinado com o LSS demonstrou maior eficácia em comparação ao LCCTNa50, alcançando 95% de mortalidade na concentração S3, após 24 h (Tabela 1). Esse resultado é particularmente relevante, pois indica a viabilidade de um processo produtivo simples, aumentando a eficiência do larvicida e potencializando sua aplicação prática.

4. Discussão

A avaliação comparativa dos surfactantes demonstrou comportamentos distintos em termos de solubilidade e atividade larvicida, refletindo diferenças nas interações químicas entre os bioativos e as propriedades dos surfactantes testados.

O Tween 80, apesar de demonstrar capacidade de solubilização, observou-se uma redução da atividade larvicida. Isso pode ter ocorrido porque os fenóis, presentes no LCCT, atuam como co-surfactantes (Chagi *et al.*, 2010; Veeramanoharan e Kim, 2024). Nesse contexto, os cardanóis podem ter se integrado à estrutura da micela junto com o Tween, em vez de apenas interagir com a micela, seja na superfície ou em seu interior (core). A baixa polaridade dos cardanóis pode ter retardado sua liberação da micela, resultando em uma redução da atividade larvicida (Carvalho *et al.*, 2019).

Por outro lado, o Span 80 não conseguiu solubilizar adequadamente o LCCT, resultando em separação de fases e formação de aglomerados. Devido ao seu baixo valor de Balanço Hidrofilico-Lipofílico (HLB), o Span 80 é mais adequado para emulsões do tipo água-em-óleo (*water-in-oil*), onde sua função principal é estabilizar a fase oleosa. Para garantir a estabilidade em emulsões água-em-óleo, é necessário ajustar a proporção de Span 80 em relação aos outros componentes da formulação, como os surfactantes da fase aquosa e os bioativos (Najib *et al.*, 2022).

O CTAB, apresentou solubilidade intermediária, com formação inicial de soluções homogêneas, porém com aglomeração após algumas horas. Isso se deve ao fato de que, em geral, os surfactantes catiônicos têm solubilidade em água inferior à de surfactantes aniônicos, o que provavelmente causou sua baixa solubilidade em água (Zakharova *et al.*, 2019). De acordo com Rashid (2019), a concentração micelar crítica (CMC) do CTAB é fundamental para sua eficácia. Quando a concentração está abaixo da CMC, as moléculas do surfactante permanecem principalmente como monômeros, o que dificulta a

solubilização do óleo (Al-Soufi *et al.*, 2021). Este comportamento também sugere uma estabilidade limitada da emulsão ao longo do tempo, possivelmente devido a interações eletrostáticas ou à natureza catiônica do CTAB, que podem influenciar na estabilidade coloidal. Além disso, a toxicidade observada no controle sugere que o CTAB possui uma toxicidade para larvas, dificultando a distinção entre os efeitos do surfactante e dos bioativos.

Entre os surfactantes avaliados, o LSS destacou-se tanto pela solubilidade eficaz quanto pela atividade larvicida. Compostos fenólicos, como o LCcT, solubilizam-se em micelas aniônicas próximo à barreira polar, posicionando seu grupo hidroxila no ambiente aquoso junto às cabeças polares de surfactantes aniônicos ou dentro do núcleo hidrofóbico, mas próximo à interface núcleo-água (Talens-Alesson *et al.*, 2006). Além disso, esses compostos exibem um comportamento co-surfactante, influenciando a organização e as propriedades das micelas. Assim, o LSS como surfactante aniônico, apresentou elevada capacidade de diluição, atribuída à conformação micela junto ao LCcT (Zhang, 2024). Essa nanoencapsulação facilitou a liberação do bioativo no meio aquático, promovendo a mortalidade das larvas. As micelas desempenham um papel crucial ao estabilizar compostos hidrofóbicos, como o LCcT, em solução aquosa, aumentando sua biodisponibilidade e intensificando sua ação larvicida (Zhang, 2024). Além disso, a interação entre o LSS e o LCcT pode ter promovido uma liberação mais controlada do princípio ativo, otimizando a eficácia do bioproduto no controle do vetor.

Ainda, deve-se considerar o potencial de aplicação desse bioproduto em outras localidades, como as regiões tropicais e subtropicais, com o objetivo de controlar os vetores dessas doenças (Oliveira *et al.*, 2021). Esses países enfrentam desafios semelhantes no manejo de resíduos agroindustriais e na necessidade urgente de soluções sustentáveis para o controle de vetores (Abdullah *et al.*, 2024). Contudo, é fundamental considerar que a replicabilidade em diferentes contextos exige adaptações, levando em conta as variações locais na composição dos resíduos e as especificidades nos métodos de produção.

5. Conclusão

Os resultados permitiram concluir que o LSS é um surfactante promissor para diluição do LCcT, mantendo a atividade larvicida sobre *Ae. aegypti*. Especificamente, a combinação de LSS com LCcT resultou em 95 % de mortalidade larval na concentração S3 das condições testadas. Este achado sugere que o LSS não apenas facilita a

solubilização do LCCT, mas também potencializa sua eficácia biológica. Estudos futuros devem focar na otimização da formulação, considerando tanto a eficácia quanto a sustentabilidade ambiental.

Referencias

Abdullah MS, Islam MJ, Hasan MM, Sarkar D, Rana MS, Das SS, *et al.* Impact of waste management on infectious disease control: Evaluating strategies to mitigate dengue transmission and mosquito breeding sites – A systematic review. *J Angiother.* 2024;8(8):1–12. <https://doi.org/10.25163/angiotherapy.889850>

Al-Soufi W, Novo MA. A surfactant concentration model for the systematic determination of the critical micellar concentration and the transition width. *Molecules.* 2021;26:5339. <https://doi.org/10.3390/molecules26175339>

Carvalho GH Ferreira de, Andrade MA, Araújo CN de, Santos ML, Castro NA de Charneau S, Monnerat R, Santana JM de, Bastos IMD. Larvicidal and pupicidal activities of eco-friendly phenolic lipid products from *Anacardium occidentale* nutshell against arbovirus vectors. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2019;26(6):5514–23. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3905-y>

Chaghi R, de Ménorval LC, Charnay C, Zajac J. Competitive interactions between components in surfactant-cosurfactant-additive systems. *J Colloid Interface Sci.* 2010;344(2):402–9. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2009.12.064>

Jamsazzadeh Kermani Z, Shpigelman A, Pham HTT, Van Loey AM, Hendrickx ME. Functional properties of citric acid extracted mango peel pectin as related to its chemical structure. *Food Hydrocolloids.* 2015;44:424–34. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.10.018>

Jorge MR, Crispim BA, Merey FM, Barufatti A, Cabrini I, Dantas FGS, de Oliveira KMP, *et al.* Sulphonates' mixtures and emulsions obtained from technical cashew nut shell liquid and cardanol for control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Environ Sci Pollut Res Int.* 2020;27(22):27870–84. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08998-5>

Kala S, Sogan N, Verma P, Naik SN, Agarwal A, Patanjali PK, Kumar J. Nanoemulsion of cashew nut shell liquid bio-waste: Mosquito larvicidal activity and insights on possible mode of action. *Suid-Afrikaanse Tydskrif Vir Plantkunde [South African Journal of Botany]*. 2019;127:293–300. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.10.006>

Lesmana SD, Maryanti E, Susanty E, Afandi D, Harmas W, Octaviani DN, *et al.* Organophosphate resistance in *Aedes aegypti*: Study from dengue hemorrhagic fever endemic subdistrict in Riau, Indonesia. *Rep Biochem Mol Biol.* 2022;10(4):589–96. <https://doi.org/10.52547/rbmb.10.4.589>

Lomonaco D, Mele G, Mazzetto SE. Cashew nutshell liquid (CNSL): From an agro-industrial waste to a sustainable alternative to petrochemical resources. In: Cashew nut shell liquid. *Cham: Springer International Publishing.* 2017; p. 19–38.

Najib SBM, Kamaruddin KSN, Rashid NM, Ibrahim N, Sokri MNM, Zaini N, Nordin N. The effect of MDEA/AMP and Span-80 in water-in-oil (W/O) emulsion for carbon dioxide absorption. *J Appl Membr Sci Technol.* 2022;26(2):17–27. <https://doi.org/10.11113/amst.v26n2.236>

Nigam PSN, *et al.* Biotechnology for agro-industrial residues utilisation: Utilisation of agro-residues. *Springer Science & Business Media*. 2009.

Oliveira AA, França LP, Ramos A de S, Ferreira JLP, Maria ACB, Oliveira KMT, *et al.* Larvicidal, adulticidal and repellent activities against *Aedes aegypti* L. of two commonly used spices, *Origanum vulgare* L. and *Thymus vulgaris* L. *S Afr J Bot*. 2021;140:17–24. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.03.005>

Rashid S, Usman M, Shahzad T, Saeed M, Haq AU, Ibrahim M, Siddiq M, Iram M. The differential spectroscopic investigation of partitioning of reactive dyes in micellar media of cationic surfactant, cetyl trimethylammonium bromide (CTAB). *Z Phys Chem (Frankfurt Am Main, Germany)*. 2019;233(2):183–99. <https://doi.org/10.1515/zpch-2018-1142>

Shirahigue LD, Ceccato-Antonini SR. Agro-industrial wastes as sources of bioactive compounds for food and fermentation industries. *Ciencia Rural*. 2020;50(4). <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190857>

Talens-Alession F, Anthony S, Bryce M. Removal of phenol by adsorptive micellar flocculation: Multi-stage separation and integration of wastes for pollution minimization. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. 2006;276(1-3). <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2005.10.003>

Thanispong K, Sathantriphop S, Kongmee M, Chitjaroen W, Sukchot P, Suwannarat P, *et al.* Deltamethrin resistance intensity and synergistic effect of piperonyl butoxide for combating *Aedes aegypti* in dengue fever endemic areas in Thailand. *J Asia Pac Entomol*. 2024;27(3):102282. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2024.102282>

Veeramanoharan A, Kim SC. A comprehensive review on sustainable surfactants from CNSL: chemistry, key applications and research perspectives. *RSC advances*. 2024;14(35):25429–25471. <https://doi.org/10.1039/D4RA04684F>

Yafetto L, Odamtten GT, Wiafe-Kwagyan M. Valorization of agro-industrial wastes into animal feed through microbial fermentation: A review of the global and Ghanaian case. *Heliyon*. 2023;9(4):e14814. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14814>

Zakharova LY, Pashirova TN, Doktorovova S, Fernandes AR, Sanchez-Lopez E, Silva AM, Souto SB, Souto EB. Cationic surfactants: Self-assembly, structure-activity correlation and their biological applications. *Int J Mol Sci*. 2019;20:5534. <https://doi.org/10.3390/ijms20225534>

Zara ALDSA, Santos SMD, Fernandes-Oliveira ES, Carvalho RG, Coelho GE. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiol Serv Saúde*. 2016;25:391–404. <https://doi.org/10.5123/S167949742016000200017>

Zhang J. Investigating a technique for forming paracetamol-surfactant micelles. *ScienceOpen*. 2024. <https://doi.org/10.14293/pr2199.000983.v1>

Capítulo 3

Artigo Científico

Desenvolvimento de Larvicida Sustentável com Resíduo de Líquido da Castanha de Caju técnico: Caracterização Físico-Química e Avaliação de Eficácia sobre o *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)

Revista: Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management

Fator de impacto: 13.0 (CiteScore)



Normas da revista

Desenvolvimento de Larvicida Sustentável com Resíduo de Líquido da Castanha de Caju técnico: Caracterização Físico-Química e Avaliação de Eficácia sobre o *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)

Marina Stefanos Schibichewski^{1*}, Alexeia Barufatti^{1,2}

¹Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Faculdade de Ciências Exatas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados/MS, Brasil

²Programa de Pós Graduação em Biodiversidade e Meio Ambiente, Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados/MS, Brasil

* E-mail: marina.schibichewski@hotmail.com

Resumo

O mosquito *Aedes aegypti* é vetor de diversas arboviroses, e tem demonstrado crescente resistência a inseticidas químicos convencionais. Nesse contexto, resíduos agroindustriais, como o Líquido da Casca da Castanha de Caju técnico (LCCT), apresentam potencial para o desenvolvimento de larvicidas sustentáveis devido às suas propriedades bioativas. No entanto, sua alta viscosidade e hidrofobicidade limitam sua aplicação direta em ambientes aquáticos, onde as larvas se desenvolvem. Este estudo teve como objetivo analisar as características físico-químicas uma formulação larvicida baseada em LCCT e avaliar sua eficácia contra *Ae. aegypti*. O bioproduto (LCCTL) foi sintetizado por emulsão de LCCT com Lauril Sulfato de Sódio (LSS) e Dimetilsulfóxido (DMSO) visando melhorar sua solubilidade em meio aquoso. A caracterização físico-química incluiu análises de tensão superficial, condutividade elétrica, potencial zeta, tamanho hidrodinâmico das micelas, índice de polidispersidade (PDI), efeito Tyndall, espectroscopia de absorção no UV-Vis e fluorescência. Ensaio larvicidas determinaram os valores de CL₅₀ (abaixo de 10 mg/L) e CL₉₀ (abaixo de 17 mg/L) sob condições laboratoriais e em campo, demonstrando alta eficácia. A microscopia de fluorescência confocal revelou a presença do bioproduto nos sistemas digestório e excretor das larvas. Os resultados indicaram que o LCCTL é um bioproduto solúvel e eficaz, formando uma solução coloidal estável na diluição de 10 × com micelas nanométricas fluorescentes. Sua eficácia foi comprovada tanto em condições controladas quanto não controladas, reforçando seu potencial como ferramenta inovadora para o controle sustentável do vetor.

No entanto, estudos adicionais são necessários para avaliar a segurança ambiental do bioproduto em organismos não-alvo, visando a implementação segura desta tecnologia.

Palavras-chave: Bioproduto; Controle de vetores; Ecosustentabilidade; Nanoemulsão.

1. Introdução

Os mosquitos e as doenças que transmitem constituem uma séria ameaça à saúde pública e um impacto econômico global, especialmente nos países tropicais e subtropicais (Costa *et al.*, 2018). O *Aedes aegypti* é uma espécie conhecida por sua rápida capacidade de reprodução, onde as fêmeas depositam ovos em recipientes com água parada. Por isso, esse vetor é altamente adaptado ao ambiente urbano, possuindo condições propícias para sua proliferação como vasos de plantas, pneus abandonados, recipientes descartados e até mesmo em poças d'água (Diallo e Diallo, 2020; Raji *et al.*, 2019; Swan *et al.*, 2018). Essa plasticidade ecológica contribui para sua persistência e expansão, tornando o controle do vetor um desafio contínuo e aumentando significativamente o risco de disseminação de arboviroses.

Estudos populacionais indicam que o *Ae. aegypti* tem apresentado variações genéticas associadas a mecanismos de resistência aos principais inseticidas químicos utilizados em seu controle (Brito *et al.*, 2020; Conway *et al.*, 2023). Embora esses produtos tenham sido tradicionalmente empregados para reduzir as populações de mosquito, é importante ressaltar que eles são substâncias tóxicas capazes de causar impactos adversos no meio ambiente (Martínez-Mercado *et al.*, 2022). Além disso, alguns inseticidas podem persistir no ambiente por longos períodos, causando danos a longo prazo (Abe *et al.*, 2019). Por isso, o desenvolvimento de estratégias inovadoras e sustentáveis são fundamentais para o controle desse vetor.

Pesquisas com produtos oriundos de fontes naturais vegetais, constituem uma alternativa viável como larvicida (Prophiro *et al.*, 2021; Silvério *et al.*, 2020). Deste modo, podemos destacar os originados de *Anacardium occidentale*, popularmente conhecido como cajueiro, cujos compostos apresentam ação larvicida sobre o *Ae. aegypti* (Jorge *et al.*, 2022; Rajam *et al.*, 2023). Da castanha do cajueiro é extraído um óleo, por meio de solventes, denominado Líquido da Casca da Castanha de caju natural (LCCn), constituído majoritariamente por ácido anacárdico (Vani *et al.* 2018). Entretanto, quando as castanhas são submetidas a temperaturas elevadas ocorre uma reação de descarboxilação do ácido anacárdico, convertendo-se em cardanol, formando o Líquido

da Casca da Castanha de caju técnico (LCCT) (Eke *et al.*, 2021). Esse resíduo agroindustrial é de baixo custo e ampla disponibilidade, sendo seu uso uma promissora alternativa aos inseticidas químicos tradicionais, pois apresenta potencial larvicida eficaz, sendo uma fonte renovável e sustentável (Nascimento *et al.*, 2024).

O LCCT tem sido estudado como uma fonte potencial de biossurfactantes, atuando como agente emulsificante e estabilizador de formulações (Obuebite *et al.*, 2022). Essa abordagem representa inovação tanto para a indústria química quanto para a saúde pública, alinhando-se aos princípios da Química Verde e contribuindo para soluções mais seguras e sustentáveis (Ventapane e Santos, 2021). Além disso, os biossurfactantes derivados do LCCT são caracterizados por sua biodegradabilidade e baixa toxicidade, o que contribui para a redução do impacto ambiental associados ao uso de pesticidas convencionais (Nascimento *et al.*, 2022).

No entanto, utilizar o LCCT como uma opção para o controle do inseto em ambientes aquáticos apresenta desafios devido à sua alta viscosidade e baixa solubilidade em água (Jorge *et al.*, 2022). Portanto, modificações químicas são necessárias para alterar as suas propriedades físico-químicas e torná-lo mais eficiente no meio aquoso. Dentre as formas de solubilização do LCCT é por meio do uso do surfactante aniônico Lauril Sulfato de Sódio (LSS), sendo seu uso comum em produtos de limpeza, como sabonetes e detergentes. Ele atua como um agente emulsificante, promovendo a solubilização de óleos viscosos em água por meio da formação de micelas, onde as moléculas hidrofóbicas são encapsuladas em seu interior (Prihapsara *et al.*, 2018).

Nesse contexto, é essencial investigar a interação entre o LCCT e o LSS, pois essa combinação pode gerar moléculas com propriedades físico-químicas e biológicas aprimoradas. Assim, este estudo propõe a formulação e caracterização do LCCTL, uma versão solubilizada do LCCT, explorando a ação do surfactante para melhorar sua solubilidade e eficácia larvicida sobre o *Ae. aegypti*. O objetivo desse trabalho é avaliar as características físico-químicas do LCCTL e determinar sua eficácia larvicida, contribuindo para o desenvolvimento de uma solução sustentável e inovadora para o controle do vetor.

2. Material e Métodos

2.1. Formulação do LCCTL

O LCCT é um óleo viscoso resultante da tostagem das castanhas, subproduto da indústria do caju. Para facilitar sua aplicação em sistemas aquosos e potencializar sua

atividade biológica, foi desenvolvida uma nanoemulsão (LCcTL) utilizando o surfactante aniônico LSS e o solvente Dimetilsulfóxido (DMSO). A nanoemulsão foi preparada misturando a fase oleosa com a fase aquosa em uma proporção de 1:19 (v/v). A fase aquosa foi constituída de água deionizada, enquanto a fase oleosa era composta por 10.000 mg/L de LCcT, 130 mM de LSS e 5% (v/v) de DMSO. A escolha dessas concentrações foi baseada em estudos preliminares que indicaram melhor estabilidade e eficácia larvicida nessas condições.

O processo de emulsificação foi realizado pela titulação da solução oleosa na solução aquosa sob constante agitação mecânica modelo 715 (Fisatom Equipamentos Científicos Ltda) a 500 rpm durante 10 min (Anexo: Figura A4). Após o gotejamento, a mistura foi mantida em agitação por mais 20 min, resultando na formação de uma nanoemulsão estável ao final do processo.

2.1.1. Otimização da Formulação

Durante o desenvolvimento da formulação, foram realizados alguns aprimoramentos prévios na formulação com o objetivo de contribuir para a logística futura do produto e seu transporte, garantindo maior estabilidade e viabilidade de aplicação. Inicialmente, utilizou-se 5.000 mg/L de LCcT, 65 mM de LSS e 2,5% de DMSO com a 500 rpm. Posteriormente, as concentrações de LSS e DMSO foram dobradas para 130 mM e 5%, respectivamente mantendo-se a mesma concentração de LCcT. Finalmente, dobrou-se a concentração do LCcT para 10.000 mg/L, estabelecendo a formulação final. Além disso, foram testadas diferentes rotações durante a preparação, com 500 rpm e 1.000 rpm. Portanto, com base na atividade larvicida preliminarmente verificada, a formulação mais eficiente foi alcançada utilizando 130 mM de LSS em 5% de DMSO, 10.000 mg/L do bioativo LCcT e uma rotação de 500 rpm.

2.2. Caracterização físico-química do LCcTL

2.2.1. Propriedades Superficiais e Elétricas

Para avaliar as propriedades físico-químicas da nanoemulsão formulada, foram realizadas análises de potencial zeta, condutividade elétrica e tensão superficial em amostras do LCcTL puro (10.000 mg/L) e em diluições de 10, 100 e 1.000 × (Anexo: Figura A5), a fim de caracterizar diferentes concentrações do produto e observar suas variações comportamentais.

As medidas de potencial zeta e condutividade elétrica nas amostras foram realizadas utilizando o analisador de partículas Zetasizer NanoZS ZEN3600 (Malvern

Instruments Ltda), que mede a mobilidade eletroforética das partículas dispersas para aplicação da equação de Henry.

A tensão superficial foi determinada pelo método da gota pendente, empregando o equipamento OCA 15 (Optical Contact Angle) da DataPhysics Instruments. Este método permite determinar os parâmetros da gota e aplicar a equação de Young-Laplace. A Figura 1 apresenta as imagens das gotas pendentes utilizadas para o cálculo da tensão superficial, mostrando as amostras de (a) LCCtL puro e suas diluições em (b) $10 \times$, (c) $100 \times$ e (d) $1.000 \times$. Essas imagens ilustram as diferenças nas propriedades interfaciais entre as diferentes concentrações.

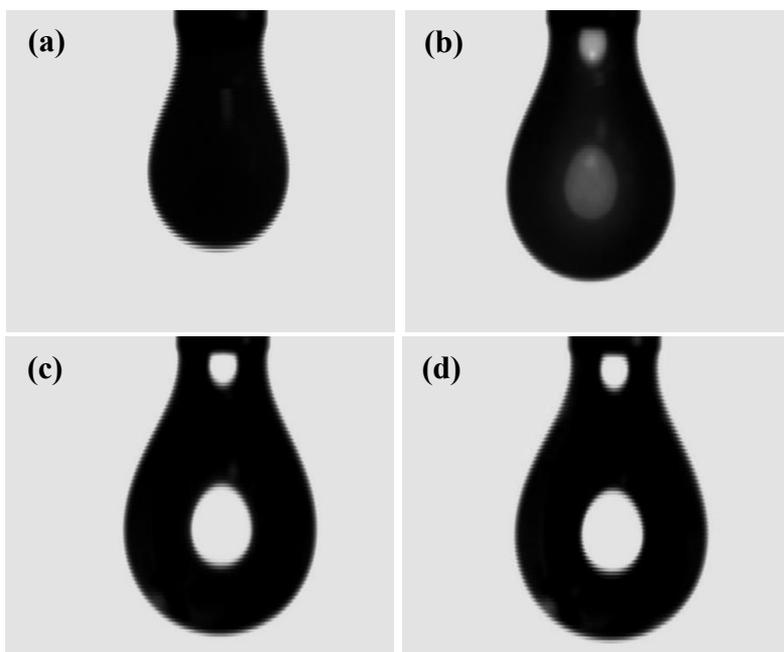


Figura 1. Imagens das gotas pendentes utilizadas para o cálculo da tensão superficial das amostras de LCCtL em diferentes diluições. As imagens mostram as gotas pendentes de (a) LCCtL puro (10.000 mg/L) e das diluições em (b) $10 \times$, (c) $100 \times$ e (d) $1.000 \times$, analisadas pelo método de Young-Laplace. As variações nos parâmetros da gota refletem diferenças nas propriedades interfaciais das amostras. Fonte: Glenda Biasotto Porzani.

2.2.2. Avaliação Coloidal por efeito Tyndall

O efeito Tyndall, que consiste na dispersão da luz por partículas coloidais, foi utilizado para verificar a presença de nanopartículas na nanoemulsão. O feixe de laser se torna invisível ao ser incidido em água deionizada, que não possui partículas dispersas (Xiao *et al.*, 2019).

Para a realização do experimento, um feixe de laser verde com comprimento de onda de 532 nm (JD[®]) foi incidido sobre as amostras em ambiente escuro. O efeito Tyndall foi empregado para verificar a presença de nanopartículas. Nesse contexto, preparou-se uma solução de LCCtL a 25,5 mg/L, que corresponde à maior concentração

utilizada nos testes biológicos, além de uma amostra de água deionizada e o controle veículo (CV) (LSS + DMSO), acondicionadas em uma cubeta de quartzo de quatro faces polidas. Ambas as amostras foram comparadas com o bioproduto, permitindo a realização de uma análise qualitativa do fenômeno de dispersão da luz.

2.2.3. Espalhamento dinâmico de luz (EDL)

A amostra de LCcTL na concentração de 25,5 mg/L foi diluída em solução de água destilada com NaCl (10 mM), em proporção de 1.900 µL da solução salina para 100 µL de LCcTL. O espalhamento dinâmico de luz (EDL) determinou a distribuição de diâmetro hidrodinâmico (Dh) e índice de polidispersão (PDI), estabelecido por meio do equipamento Zetasizer Nano-Zs ZEN 3600 (Malvern Instruments Ltda) com óptica NIBS (Non-Invasive Backscatter) (Anexo: Figura A6). As medições foram realizadas em triplicata por meio de uma cubeta de eletroforese (DTS1070), onde a temperatura foi mantida a 25 C°. O equipamento opera com laser de 633 nm e detecta a luz espalhada nos ângulos de 90° e 173°. As análises foram conduzidas no Laboratório de Química de Superfície e Moléculas Bioativas (QSMB) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).

2.2.4. Espectroscopia de absorção no ultravioleta/visível (UV-vis) e Fluorescência

Para as análises espectroscópicas, 2 mL da amostra de LCcTL na concentração 25,5 mg/L foram acondicionadas em cubetas de quartzo de quatro faces polidas com 10 mm de caminho óptico. A espectroscopia de absorção UV-Vis foi realizada utilizando o espectrofotômetro Lambda™ 265 UV/Vis (Anexo: Figura A7) e foi realizado o baseline (“blank”) com o diluente e em seguida coletado o espectro de absorção da amostra diluída. Posteriormente, foi realizada a medida de fluorescência (FluoroMate FS-2, SCINCO Ltda.) (Anexo: Figura A8) da amostra, conforme os parâmetros da Tabela 1, e os dados normalizados para uma escala de 0 a 1.

Tabela 1. Parâmetros de fluorescência.

Parâmetros	Valores
Voltagem	600 V
Tempo de integração	50 ms
Velocidade de digitalização	600 nm/min
Largura da fenda de excitação	5 nm

Largura da fenda de emissão	5 nm
Excitação	275 nm
Emissão	285-530 nm

Fonte: Autora.

2.2.5 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

O LCcTL e seus componentes foram caracterizados por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) em um espectrômetro infravermelho Agilent Cary 630 (Santa Clara, Califórnia, EUA) (Anexo: Figura A9), com o auxílio de um acessório de refletância total atenuada (ATR) com cristal de diamante. Inicialmente foi realizado o “*background*” antes de coletar o espectro de cada amostra no modo transmitância. As amostras de CV (LSS+DMSO) e do bioproduto (concentrado a 10.000 mg/L) foram secas em estufa a 60°C por 24 h para realização das análises. O CV foi obtido em forma de pó, enquanto o LCcTL e o LCcT permaneceram em estado pastoso. Os parâmetros foram definidos para o CV em 12 varreduras no intervalo de 2.000 a 900 cm^{-1} , com resolução 4 cm^{-1} com passo de 0,5 cm^{-1} . Para o LCcT puro e bioproduto foram estabelecidos os parâmetros em resolução de 16 cm^{-1} , passo de 0,5 cm^{-1} , no intervalo de 2.000 a 900 cm^{-1} e em 12 varreduras.

2.2.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) do bioproduto LCcTL

Para a caracterização morfológica do bioproduto LCcTL foram depositadas gotas da solução de LCcTL (25,5 mg/L) e do CV sobre “*stub*” de silício. As amostras foram deixadas em repouso por 24 h à temperatura ambiente para secagem e fixação adequadas. Após a secagem os “*stubs*” foram colocados em uma placa de latão (Anexo: Figura A10a) e revestidas com uma fina camada de ouro depositada pela evaporadora (Denton Vacuum Desk III) (Anexo: Figura A10b). Após a deposição de ouro, as amostras foram levadas ao MEV JEOL modelo (JSM-6380LV) (Anexo: Figura A10c) e obtidas as imagens, a uma tensão de 15 KV, distância de trabalho de 10 mm e ampliações de 10.000×, 25.000× e 50.000×.

Os resultados das análises morfológicas por MEV forneceram informações detalhadas sobre as características superficiais das amostras de LCcTL, indicando como essas podem influenciar a interação do bioproduto com a larva de *Ae. aegypti* contribuindo para a compreensão de sua eficácia larvicida.

2.3. Atividade larvicida

2.3.1. Ensaios larvicidas em condições de laboratório

Ovos de *Ae. aegypti* da linhagem Rockefeller foram fornecidos pela LAFICAVE/FIOCRUZ – RJ disponibilizados em papéis filtro, onde permaneceram desidratados até o momento da sua utilização. Para eclosão, os ovos foram colocados em um recipiente plástico com água desclorada com ração triturada para peixes com 43% de proteína bruta (JBL[®]), mantidos a 25±2 °C.

Os bioensaios foram realizados conforme a metodologia preconizada pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2005). Ao atingirem 3º e 4º *instares* (Anexo: Figura A2), as larvas foram separadas com pipeta de Pasteur e colocadas em copos plásticos contendo 100 ml de água deionizada. Inicialmente, foram conduzidos testes preliminares para expor as larvas do mosquito a uma ampla gama de concentrações e, assim, determinar a faixa de atividade do material em teste. Assim, uma faixa mais estreita com 5 concentrações (4,5; 7; 11; 17 e 25,5 mg/L) foi utilizada para os testes definitivos. Para cada tratamento, 4 repetições foram usadas com 25 larvas por réplica (n = 100). Como controle negativo (CN) foi utilizado uma solução de LSS e DMSO e o *fipronil* (Bioinset - Insetimax[®]) aplicado como controle positivo (CP). As leituras de mortalidade foram realizadas em 24 h e 48 h após o início da exposição.

As larvas foram consideradas mortas quando permaneceram imóveis na superfície da água ou no fundo do copo ou não mostraram nenhuma reação ao toque (Anexo: Figura A11). Os bioensaios de toxicidade foram realizados em 3 tempos diferentes. Para a determinação da concentração letal para 50% (CL₅₀) e 90% (CL₉₀) da amostra foi utilizada a análise Probit utilizando o pacote estatístico R versão 2023.06.0 (Equipe RStudio, 2023) na plataforma R[®] Studio, com intervalo de confiança de 95% (McLaughlin, 1991).

2.3.2. Ensaios larvicidas em condições de campo em pequena escala

O ensaio foi realizado de acordo com protocolo da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2005). As concentrações do tratamento com o bioativo para este ensaio foram calculadas com base na quantidade de ingrediente ativo por volume de água e nos resultados obtidos previamente em condições laboratoriais, que mostraram efeito larvicida. Dentro os objetivos desse ensaio está o monitoramento de parâmetros bióticos e abióticos que possam influenciar a eficácia do produto. Por isso, foram utilizados recipientes plásticos com 10 L de água desclorada sob condições não controladas de campo, acondicionados por 24 h (Anexo: Figura A12). Em seguida, foram inseridas 25

larvas de *Ae. aegypti* nos 3º e 4º *instares* em cada réplica, totalizando quatro unidades experimentais por tratamento (n=100). As larvas, criadas em laboratório, foram previamente aclimatadas por 3 horas. Três diferentes concentrações (4,5; 11 e 25,5 mg/L) do bioativo foram avaliadas em quadriplicata, além da solução de LSS e DMSO (CN) e *fipronil* (Bioinset - Insetimax®) (CP). Os recipientes foram cobertos com tela de malha de nylon e o nível da água mantido constante. Avaliação da mortalidade ocorreu após 24 h e 48 h de exposição, onde as larvas foram consideradas mortas quando permaneceram imóveis na superfície da água ou no fundo do balde.

As CL₅₀ e CL₉₀ foram determinadas através de uma análise Probit utilizando o pacote estatístico R versão 2023.06.0 (Equipe RStudio, 2023) na plataforma R® Studio, com intervalo de confiança de 95% (McLaughlin, 1991). Os resultados foram comparados ao ensaio larvicida em laboratório utilizando o software Jamovi, versão 2.3.28 (Jamovi Project, 2021). Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e, devido à distribuição normal, foram considerados paramétricos e analisados por meio do teste T para amostras independentes. Além disso, a homogeneidade das variâncias foi confirmada pelo teste de Levene. Ao comparar os resultados de laboratório e campo, é possível validar o uso do LCcTL, avaliando sua eficácia em condições ambientais reais e garantindo sua aplicabilidade no controle do *Ae. aegypti*.

2.4. Efeitos do LCcTL nas larvas observados por microscopia

2.4.1. Análise por microscópio confocal

Para investigar a distribuição e penetração do LCcTL nas larvas de *Ae. aegypti*, foram realizadas análises utilizando microscopia confocal de fluorescência. Assim, as larvas de 3º e 4º *instares* utilizadas na análise confocal foram expostas ao LCcTL na concentração de 25,5 mg/L até a morte e fixadas em álcool etílico 96 °. Para a confecção das lâminas, as larvas foram lavadas com água, fixadas em Prolong Gold (Thermo Fisher®) e cobertas por lamínula.

Com a determinação da excitação do LCcTL, foram obtidas imagens fluorescentes do produto nas larvas com microscópio confocal invertido de fluorescência (Stellaris 5, Leica Microsystems®) (Anexo: Figura A13) em parceria com o Laboratório de Óptica e Fotônica e a Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS). As imagens foram adquiridas com uma objetiva de 10 ×. A excitação foi realizada a 405 nm, coletando-se a emissão no intervalo de 450 a 550 nm. Parâmetros

como ganho do detector, intensidade e velocidade de varredura foram ajustados para otimizar a relação sinal-ruído.

2.4.2. Análise por microscópio eletrônica de varredura (MEV)

Para avaliar as alterações morfológicas induzidas pelo LCCtL, larvas de *Ae. aegypti* nos 3º e 4º *instares* foram expostas a concentrações de 4,5; 7; 11; 17 e 25,5 mg/L do LCCtL, além de controles negativo e veículo. As amostras foram conservadas em formalina neutralizada a 5% e fixadas em Karnovsky 2% a 4°C durante 24 h. As larvas passaram por um processo de desidratação em uma série crescente de concentrações de etanol (30%, 50%, 70%, 90% e 100%). Após a secagem em ponto crítico (EM CPD300, Leica Microsystems[®]), as amostras foram depositadas em cilindros metálicos de alumínio com adesivo condutor e submetidas ao processo de metalização, sendo revestidas com ouro-paládio por meio do equipamento sputter coater SC7640 (Quorum Technologies Ltd). Ao término, as amostras foram armazenadas em dessecador até a observação no MEV. As imagens foram obtidas a partir da tensão de 3-5 kV e distância de trabalho de 9,9 – 14,9 mm. As análises foram realizadas em colaboração com os professores Joaquin Baixeras (Entomologia) e Eduardo Vicente (Ecologia) no serviço de Microscopia Eletrônica da Universidade de Valência, Espanha.

3. Resultados e Discussão

3.1. Caracterização físico-química

3.1.1. Propriedades Superficiais e Elétricas

Os valores de tensão de superfície e condutividade elétrica obtidos para as amostras de LCCtL puro e diluído 10, 100 e 1000 × foram apresentados na Tabela 2, a fim de abranger o comportamento da molécula nas diferentes concentrações.

Tabela 2. Valores médios de tensão superficial, condutividade elétrica e potencial zeta das amostras de LCCtL em diferentes concentrações (puro e diluído 10×, 100× e 1000×).

Amostra	Tensão de superfície (mN/m)	Condutividade elétrica (mS/cm)	Potencial Zeta (mV)
LCCtL 1000×	73,58±0,26	0,030±0,00	-13,97±1,97
LCCtL 100×	71,76±0,71	0,044±0,00	-48,93±1,54
LCCtL 10×	49,70±2,01	0,079±0,01	-64,97±1,50
LCCtL puro	32,15±0,48	0,331±0,00	-8,40±0,22
Água	72,85±0,24	-	-

Fonte: Glenda Biasotto Porzani.

Com isso, observou-se que a tensão superficial aumentou à medida que a concentração das amostras diminuiu, ocorrendo o inverso para a condutividade elétrica. Esse aumento proporcional de tensão de superfície conforme a diluição é consistente com o comportamento de surfactantes (Cho *et al.*, 2018; Prosser e Franses, 2001). A tensão superficial mínima do LCcTL foi de $32,15 \pm 0,48$ mN/m, valor que está próximo da tensão superficial mínima do LSS, observada em cerca de 30 mN/m, o que corresponde a concentração micelar crítica (CMC) de 8 mM (Bahr *et al.*, 2019), indicando uma compatibilidade nas propriedades entre esses surfactantes. Esse fato sugere que, apesar das variações, não houve uma diferença das partículas de LCcTL em relação aos valores apresentados na literatura. É importante notar que a tensão superficial pode variar dependendo da concentração do surfactante e da temperatura da solução, refletindo a complexidade das interações moleculares presentes (Zhang *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2022).

Ademais, a condutividade elétrica apresenta um padrão inverso em relação à tensão de superfície. Assim, na amostra pura (10.000 mg/L), a condutividade elétrica atingiu o valor mais alto ($0,331 \pm 0,00$), o que pode indicar uma maior disponibilidade de íons na solução, interferindo nas propriedades da solução (Shahi *et al.*, 1999). A tensão superficial e a condutividade elétrica são parâmetros analisados para a concentração micelar crítica (CMC), essencial na caracterização de surfactantes. Assim, a partir desses parâmetros é possível afirmar a estabilidade e eficiência da formulação, confirmando que o produto está bem formulado.

Em relação ao potencial zeta, foi observada maior estabilidade do produto da diluição de $10 \times$ (Tabela 2), sendo que valores elevados indicam repulsão entre partículas, promovendo a estabilidade da dispersão, enquanto valores baixos sugerem uma tendência à agregação, o que pode comprometer a eficácia do produto final. Os valores do potencial zeta podem ser positivos ou negativos, dependendo da carga elétrica das partículas em suspensão (Lunardi *et al.*, 2021). Considerando que o LSS se trata de um surfactante aniônico (Morais *et al.*, 2013), observamos que as partículas do LCcTL formadas também são carregadas negativamente, como representado pelo potencial zeta negativo.

O sinal do potencial zeta indica a natureza das interações eletrostáticas entre partículas, influenciando a estabilidade de dispersões e emulsões, com valores superiores a ± 30 mV sendo considerados completamente estáveis (Carneiro-da-Cunha *et al.*, 2011; Matusiak e Grządka, 2017). Estudos como o de Jorge *et al.* (2020) demonstraram valores de potencial zeta entre $-43,8 \pm 2,1$ e $-48,5 \pm 1,6$ para a mistura de LCcT no LCcT sulfonato

de sódio, enquanto o LCCTL diluído em 100 e 10 × apresentou valores ainda mais estáveis, de $-48,93 \pm 1,54$ e $-64,97 \pm 1,50$, respectivamente. Além disso, a estabilidade do sistema também depende de interações hidrofóbicas e viscosidade, características adequadas para aplicações biológicas de curto prazo, como ação larvicida (Sharma *et al.*, 2020). Assim, o LCCT formulado demonstra-se aceitável para aplicação comercial como um surfactante aniônico comum, para fins domésticos ou industriais, com destaque em formulação de nanoemulsões larvicidas.

3.1.2. Avaliação Coloidal por efeito Tyndall

Os resultados confirmaram a ausência de interação do feixe de laser com a solução de água deionizada (Figura 2a), caracterizada como homogênea e não coloidal. Em contrapartida, as análises das soluções veículo (LSS+DMSO) e do produto LCCTL demonstraram a formação de sistemas coloidais, evidenciados pelo efeito Tyndall (Figuras 2b e 2c).

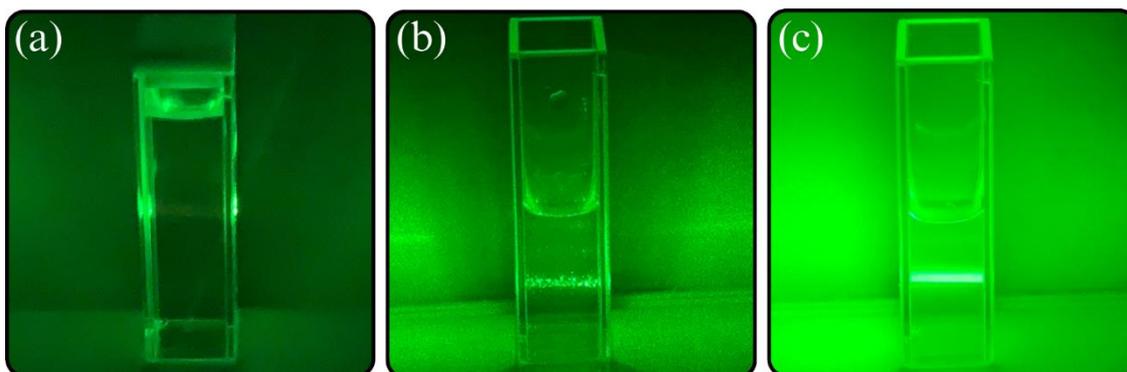


Figura 2. Avaliação do efeito Tyndall nas soluções analisadas: (a) água deionizada (controle negativo), demonstrando ausência de interação com o feixe de laser; (b) solução veículo (água deionizada, LSS e DMSO), confirmando a formação de um sistema coloidal; e (c) LCCTL, evidenciando dispersão coloidal. O feixe de laser visível nas soluções coloidais (b e c) indica a presença de partículas nanométricas, essenciais para a estabilidade e eficácia do bioproduto. Fonte: Autora.

Coloides são misturas heterogêneas formadas por partículas dispersas em um meio contínuo, com tamanhos entre 1 e 1000 nm, de modo a permanecerem suspensas e essas partículas têm a capacidade de espalhar luz de maneira eficiente, o que possibilita a visualização de sua trajetória dentro de um fluido (Ghimire e Jaroniec, 2021). Assim, quando o feixe de luz é observado se movendo no sistema, pode-se confirmar que se trata de um coloide. Caso contrário, está presente um sistema homogêneo, no qual as moléculas possuem dimensões inferiores a 1 nm (Philipse, 2005).

Observa-se que o feixe de laser e o registro das imagens foram realizados no escuro para garantir uma relação sinal-ruído favorável, permitindo uma análise mais

precisa da intensidade do brilho. Assim, é possível inferir que, à medida que a o brilho torna-se mais intenso, a concentração coloidal aumenta (Xiao *et al.*, 2019). Dessa forma, pode-se afirmar que o LCCtL apresenta uma maior concentração de coloides em comparação ao CV, com base na maior intensidade luminosa observada. A formação de soluções coloidais é crucial para garantir a dispersão homogênea do produto em ambientes aquáticos, aumentando a interação com as larvas e potencializando a ação biológica do produto (Sharma *et al.*, 2020).

3.1.3. Espalhamento dinâmico de luz (EDL) e MEV do produto

O espalhamento dinâmico de luz (EDL) foi avaliado no bioproduto a fim de caracterizar o diâmetro hidrodinâmico (Dh) e índice de polidispersividade (PDI) das nanopartículas em solução. Na Tabela 3 está apresentado os valores médios do Dh e PDI do LCCtL.

Tabela 3. Valores médios do diâmetro hidrodinâmico (Dh) e índice de polidispersividade (PDI) de amostras do bioproduto LCCtL.

Amostra	Dh (nm)	PdI
LCCtL	279,7±27,2	0,462±0,064

Dh: diâmetro hidrodinâmico; PDI: índice de polidispersividade. Fonte: Autora.

Os parâmetros obtidos para a nanoformulação do LCCtL caracterizam um sistema nanométrico, cujas dimensões variam de 1 a 1000 nm (Dos Santos *et al.*, 2023). O valor médio de Dh (279,7±27,2 nm) sugere que o produto forma micelas ou agregados no meio aquoso, facilitando a solubilização do bioativo. Esse tamanho é ideal para garantir a dispersão eficiente do composto, favorecendo sua biodisponibilidade e permitindo que o produto atinja seus alvos biológicos de forma eficaz (Sharma *et al.*, 2020; Yetisgin *et al.*, 2020). O valor de PDI de 0,462±0,064 mostra uma dispersão homogênea no tamanho das partículas. Valores abaixo de 0,6 geralmente indicam sistema monodisperso, enquanto valores maiores indicariam sistema polidisperso (Sharma *et al.*, 2020). Essa dispersão é compatível com sistemas micelares, reforçando a formação de agregados estáveis.

Kala *et al.* (2019) relataram que ao utilizarem o LCCt com uma solução surfactante de Propilenoglicol, Tween 80 e Span 20, obtiveram nanopartículas menores, com um tamanho médio de 52 ± 3,9 nm e um PDI de 0,27 ± 0,06. Em outro estudo, Jorge *et al.* (2020) reportaram valores de diâmetro em 136,7±3,9 nm e PDI de 0,5± ,1 para uma solução diluída a 10⁻³, composta por uma mistura de LCCt e LCCtSNa (LCCt sulfonado com ácido sulfúrico fumegante e hidróxido de sódio). Essa diferença considerável

surfactantes em relação ao LCCtL (com valores de Dh e PdI de $279,7 \pm 27,2$ nm e $0,462 \pm 0,064$, respectivamente) sugere que a formulação desempenha um papel crucial na estabilização e no controle das características físico-químicas das nanopartículas. Assim, a formação de micelas é influenciada por diversos parâmetros, como a concentração do surfactante, temperatura, força iônica do meio, pH, rotação e agitação da solução, sendo que essas variáveis podem afetar a estabilidade, o tamanho e a forma das micelas, modificando suas propriedades físico-químicas e seu comportamento em diferentes condições ambientais (Jahan *et al.*, 2020; Moulik *et al.*, 2024).

Além disso, as imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) confirmaram a conformação esférica das micelas presentes no bioproduto. A estrutura do LSS foi observada no CV (Figura 3a e 3b), apresentando um brilho/intensidade mais pronunciada, enquanto as micelas do bioproduto (Figura 3c e 3d) se destacaram por sua menor dimensão, tonalidade mais clara e formato esférico.

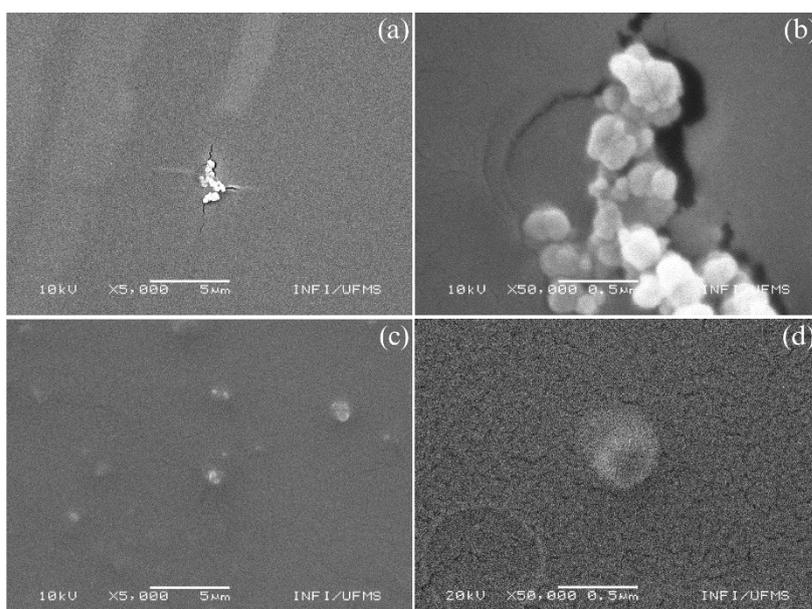


Figura 3. Observação em microscopia eletrônica de varredura (MEV) das estruturas presentes no CV e no bioproduto. (a) Estruturas do CV ampliadas a 5.000x; (b) Estruturas do CV ampliadas a 50.000x; (c) Micelas do bioproduto LCCtL ampliadas a 5.000x; (d) Micelas do bioproduto LCCtL ampliadas a 50.000x.

Os resultados também mostraram que as micelas apresentam um diâmetro homogêneo, confirmado pela monodispersividade do PdI, o que demonstra a uniformidade na distribuição do tamanho das partículas. Essas características indicam uma formulação bem definida e estável, fatores que podem ser determinantes para a eficácia biológica do bioproduto (Sharma *et al.*, 2020). A uniformidade e o tamanho controlado das nanopartículas indicam um maior potencial de penetração nos sistemas biológicos das larvas, facilitando a interação com as estruturas celulares e otimizando a

absorção e distribuição do bioproduto (Wang *et al.*, 2022). Isso favorece o direcionamento da toxicidade, resultando em um controle mais eficiente das larvas.

3.1.4. Espectroscopia de absorção ultravioleta/visível (UV-vis) e Fluorescência

Os resultados de absorção (Figura 4a) revelaram picos localizados na região do ultravioleta (255 nm e 264 nm) e na faixa da banda azul (340 nm e 400 nm), que corresponde à luz visível.

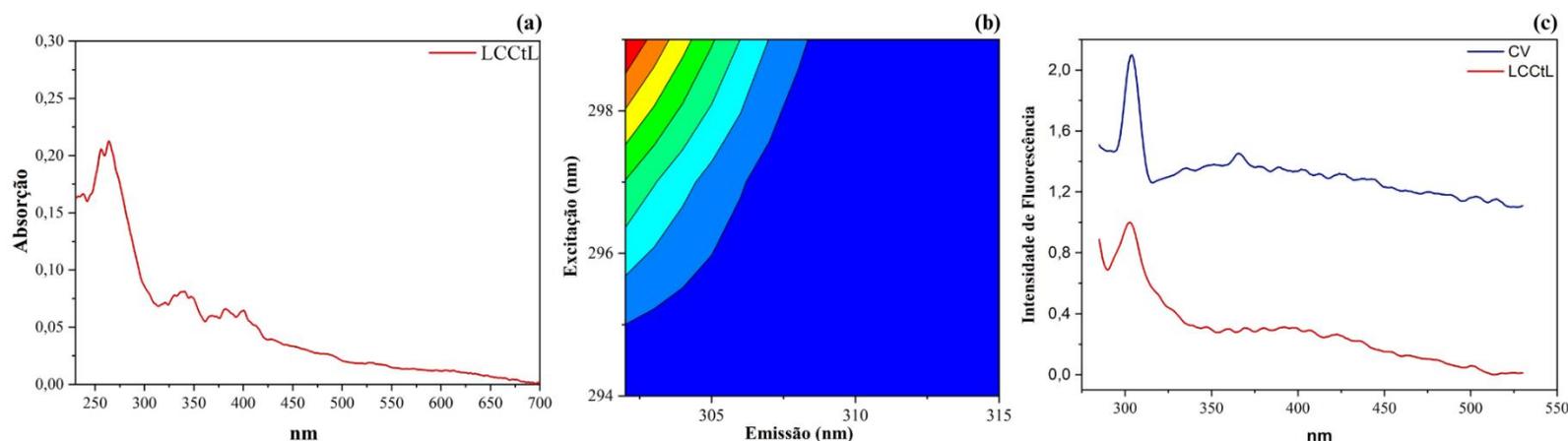


Figura 4. (a) Espectro de absorção UV-Vis do LCcTL; (b) Mapa de excitação-emissão do LCcTL; (c) Espectro de intensidade de fluorescência, do CV (Controle Veículo - LSS + DMSO) e do LCcTL. Os dados estão normalizados e destacam picos característicos na região do ultravioleta e luz visível, associados às propriedades ópticas do bioproduto. Fonte: Autora.

O mapa de excitação-emissão (Figura 4b) confirma os dados de absorção, mostrando que a emissão máxima ocorre com excitação entre 295 e 298 nm. Esse mapa foi estudado em excitações variando de 225 a 299 nm, com intervalos de 2 nm. A análise de UV-Vis mostrou que a excitação teve seu maior pico em 303 nm, encontrando-se em região de ultravioleta.

Este gráfico evidencia que o LCcTL possui propriedades ópticas que podem ser exploradas em diferentes contextos, como estudos de biodistribuição em sistemas biológicos. Isso ocorre porque nem todas as moléculas possuem a capacidade de emitir luz no comprimento de onda do espectro visível, o que significa que elas não apresentam fluorescência (Penner, 2017). Essa propriedade é essencial para a visualização de compostos no interior de organismos, já que, sem fluorescência, essas moléculas permanecem invisíveis aos métodos ópticos baseados na emissão de luz (Sun *et al.*, 2024).

Conforme ilustrado no mapa de excitação-emissão (Figura 4b), o espectro de fluorescência do LCcTL, mostrado na Figura 4c, apresentou uma banda com um pico de emissão em 303 nm, quando excitado a 275 nm. Esse resultado, localizado na região do

ultravioleta, confirma os dados obtidos no mapa de excitação-emissão, reforçando a consistência das propriedades fluorescentes do material. Além disso, há uma banda larga entre 350 e 450 nm com menor intensidade, situada na região da luz visível, correspondente ao comprimento de onda da luz azul.

Para o LCCtL, observou-se um alargamento da banda na região da luz visível em comparação ao CV. Dessa forma, é possível afirmar que a fluorescência na faixa do visível é atribuída à contribuição específica do produto. Isso pode estar relacionado à composição química do LCCt, possivelmente devido à presença de compostos como o cardanol, que é seu principal constituinte (Lomonaco *et al.*, 2017). Há indícios de que o cardanol, conhecido por suas propriedades químicas e ópticas particulares, contribua tanto para a emissão de fluorescência quanto para a atividade biológica do material (Braga *et al.*, 2017).

3.1.5. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A análise espectroscópica por FTIR da nanoemulsão revelou as ligações químicas presentes e sua conformação molecular. As bandas correspondentes à deformação axial C=C do anel aromático, geralmente observadas em torno de 1.587 cm^{-1} no LCCt puro (Jorge *et al.*, 2020), foram detectadas a 1.591 cm^{-1} na amostra de LCCtL (Figura 5). Esse resultado sugere que a estrutura aromática da nanoemulsão permaneceu inalterada durante o processo de formulação.

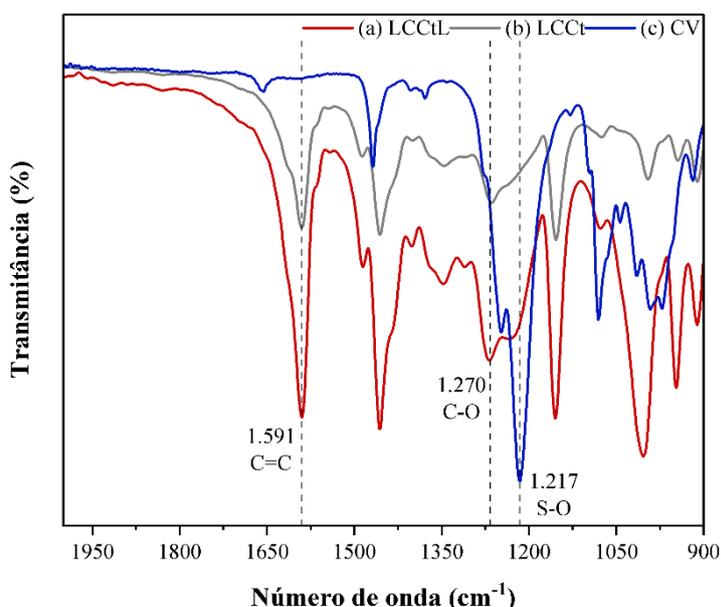


Figura 5. Espectros de FTIR das amostras: (a) LCCtL, (b) LCCt e (c) CV, destacando as principais bandas características de cada amostra. Fonte: Autora.

Além disso, as bandas na região de $1.280\text{--}1.120\text{ cm}^{-1}$, atribuídas às vibrações de estiramento das ligações C–O (Lopes e Fascio, 2004), foram identificadas a 1.270 cm^{-1}

no bioproduto, em concordância com o observado no LCCT puro. Em relação ao CV, a banda correspondente ao estiramento da ligação S–O foi identificada a 1.217 cm^{-1} , valor consistente com os dados da literatura, que reportam essa banda nas regiões de 1.248 e 1.216 cm^{-1} (Merwe *et al.*, 2014). A análise do LCCTL também revelou a presença dessa banda, embora com menor intensidade, sugerindo que as características estruturais do LSS também são preservadas. Esses resultados confirmam que a formulação da nanoemulsão preserva as principais características estruturais dos componentes utilizados, principalmente do LCCT puro, com pequenas variações que podem ser atribuídas às interações entre as moléculas no sistema, mas sem indicar modificações consideráveis nas estruturas químicas dos componentes individuais.

3.2. Atividade biológica do bioproduto

Ensaio em condições de laboratório e campo em pequena escala foram realizados para avaliar a eficácia do bioproduto, em condições favoráveis e com variáveis ambientais e biológicas. Dessa forma, em ambas as condições experimentais, o CN não apresentou mortalidade, enquanto no CP (*fipronil*) todas as larvas morreram em menos de 24 h. Em relação ao bioproduto LCCTL, foi observado a atividade larvicida em *Ae. aegypti* com uma CL_{50} menor que 10 mg/L e CL_{90} menor que 17 mg/L (Tabela 4), onde não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre as condições de laboratório e em campo em pequena escala (semi-campo).

Tabela 4. Concentrações letais 50% (CL_{50}) e 90% (CL_{90}) (mg/L), em 24 h e 48 h de exposição, obtidas a partir do LCCTL em larvas de 3^o e 4^o ínstar do *Ae. aegypti* (Rockfeller) em condições de laboratório e campo em pequena escala (semi-campo).

Condição	24 h		48 h	
	CL_{50} (IC _{0,05})	CL_{90} (IC _{0,05})	CL_{50} (IC _{0,05})	CL_{90} (IC _{0,05})
Laboratório	9,59 (8,73 – 10,51) ^a	16,61 (14,71 – 19,61) ^b	6,61 (5,82 – 7,37) ^a	13,01 (11,32 – 15,88) ^b
Semi-campo	6,59 (4,57 – 8,61) ^a	15,77 (11,52 – 30,69) ^b	5,76 (3,69 – 7,62) ^a	14,29 (10,37 – 29,34) ^b

LCCTL – LCCT + LSS; CL_{50} – Concentração letal para 50% dos organismos testados; CL_{90} – Concentração letal para 90% dos organismos testados; IC_{0,5} – Intervalo de Confiança; ^aRepresenta ausência de diferença ($p \leq 0,05$) entre as CL_{50} dos testes; ^brepresenta ausência de diferença ($p \leq 0,05$) entre as CL_{90} dos testes. Fonte: Autora.

Segundo Komalamisra *et al.* (2005), os produtos larvicidas são considerados ativos quando a CL_{50} for menor que 50 mg/L , moderadamente ativos se os valores estiverem em um intervalo de 50 a 100 mg/L , pouco ativo com valores de CL_{50} entre 100 a 750 mg/L e os produtos com concentrações acima de 750 mg/L são considerados inativos. Sendo assim, o LCCTL foi considerado ativo sobre larvas do *Ae. aegypti* (CL_{50-24h} $9,59\text{ mg/L}$), apresentando desempenho superior a alguns inseticidas comerciais, como

o novalurom, cuja CL_{50-24h} foi estimada em 18,57 mg/L (Fiaz *et al.*, 2021). Essa atividade biológica pode ser atribuída à insaturação na cauda apolar dos fenóis lipídicos, o que os torna capazes de atravessar a membrana celular e causar toxicidade nas larvas do mosquito (Lomonaco *et al.* 2009; Paiva *et al.* 2017).

Estudos indicam que, em comparação ao LCCn, o LCCT pode apresentar maior eficácia, especialmente quando modificações químicas são realizadas para aumentar sua solubilidade. Isso pode ocorrer devido à maior atividade biológica do cardol, que está presente em maior concentração em sua composição, o que potencializa suas propriedades larvicidas. (Lomonaco *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2011; Raraswati *et al.*, 2014). Além disso, o uso do LCCT mostra-se uma alternativa sustentável em comparação ao LCCn, principalmente por ser um resíduo agroindustrial amplamente disponível, de baixo custo e produzido em grande escala (Attanasi *et al.*, 2006; Dourado *et al.*, 2015).

Em outros estudos realizados pelo nosso grupo de pesquisa, uma série de modificações químicas foram aplicadas ao LCCT com o objetivo de melhorar tanto sua solubilidade quanto a atividade larvicida. No entanto, nenhum dos trabalhos anteriores conseguiu abordar esses dois aspectos simultaneamente de maneira eficaz (Jorge *et al.*, 2020; Nascimento *et al.*, 2022). O bioproduto LCCTL não apenas facilitou a diluição do bioativo em água, mas também manteve eficiente sua ação sobre as larvas de *Ae. aegypti*. Sua atividade larvicida pode ser explicada pela conformação micelar do produto, que favorece a distribuição eficiente do bioativo, facilitando sua interação com as larvas. Assim, compostos fenólicos, como o LCCT, podem solubilizar-se em micelas aniônicas na interface polar ou no núcleo hidrofóbico próximo à água, onde sua estruturação pode aumentar a biodisponibilidade do composto, potencializando sua ação no organismo (Sharma *et al.*, 2020; Talens-Alesson *et al.*, 2006).

3.3. Efeitos do LCCTL nas larvas observado por microscopias

As imagens de fluorescência do produto foram demonstradas no interior da larva de *Ae. aegypti* em diferentes intensidades de emissão, de acordo com uma escala de cores, variando de vermelho (maior intensidade) a violeta (menor intensidade). Assim, é possível observar que o acúmulo do LCCTL ocorre nos sistemas gastrointestinal (ceco gástrico e intestino) e excretor (túbulos de Malpighi e reto) do organismo (Figura 6).

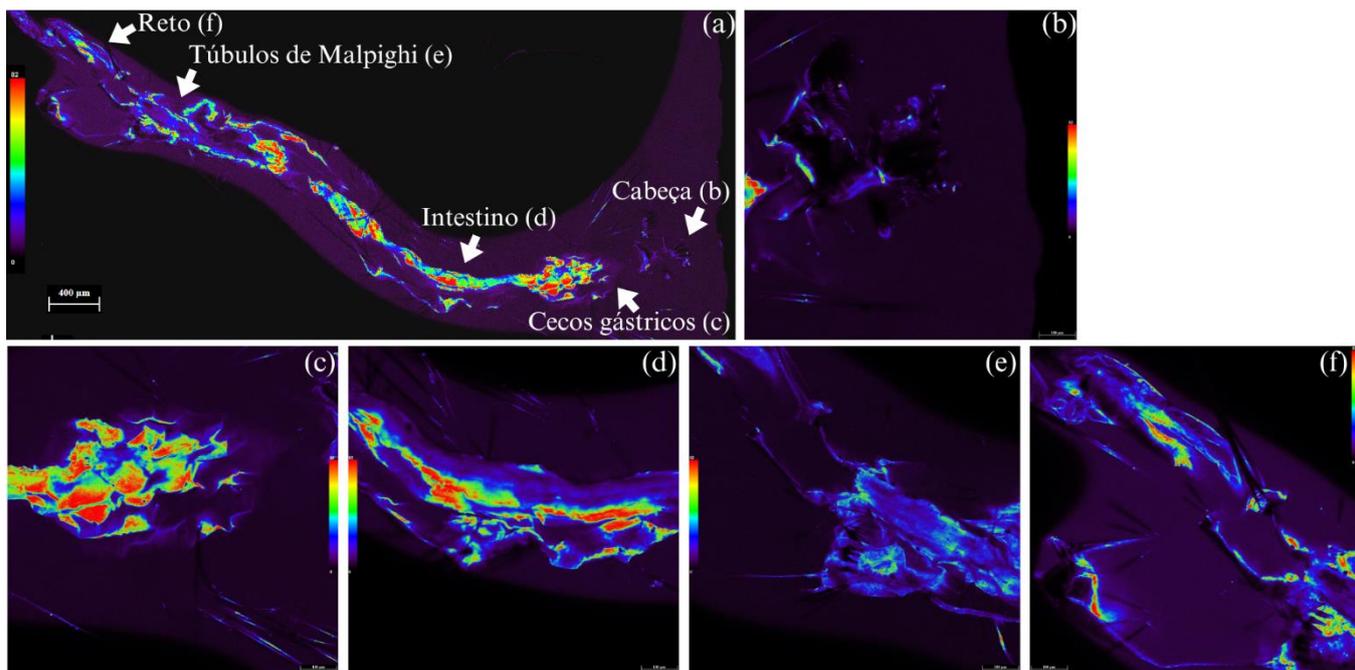


Figura 6. Imagens de fluorescência confocal evidenciando a distribuição do LCCTl (25,5 mg/L) nos diferentes órgãos e estruturas de larvas de *Ae. aegypti*. (a) Visão geral da larva; (b) detalhe da região da cabeça; (c) cecos gástricos; (d) intestino; (e) túbulos de Malpighi; e (f) reto. A escala de cores representa a intensidade da fluorescência, variando de vermelho (maior intensidade) a violeta (menor intensidade). Fonte: Autora.

Os padrões de fluorescência observados nas larvas indicam as vias de entrada do produto, demonstrando que o bioativo é ingerido e se acumula em estruturas-chave relacionadas à metabolização e excreção. A intensidade de fluorescência pode estar associada ao aumento da concentração do produto, como observado para outros compostos (Costa *et al.*, 2021). Regiões com maior intensidade de fluorescência podem indicar áreas de maior concentração do bioativo, interferindo potencialmente em processos fisiológicos essenciais e contribuindo para a mortalidade das larvas. Esses resultados são fundamentais para elucidar o trajeto e o mecanismo de ação larvicida do LCCTl no organismo-alvo (López-Molina *et al.*, 2021).

Além disso, a fluorescência do produto pode ser explorada como uma ferramenta valiosa em estudos de toxicocinética (Chen *et al.*, 2022). Essa propriedade permite rastrear o comportamento do composto no organismo, incluindo absorção, distribuição, metabolização e excreção. Isso facilita a análise da permanência do composto em diferentes tecidos e do potencial impacto em organismos não-alvo (Calmão *et al.*, 2023). Assim, a fluorescência pode ser usada para desenvolver aplicações mais seguras e eficazes do bioproduto, além de auxiliar no ajuste de formulações para maximizar sua eficiência.

A partir das imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura, também foi possível observar que o tegumento das larvas nos controles (CN e CV) se manteve preservado (Figura 7a e 6b), apresentando apenas vestígios mínimos de biofilme no tórax (Anexo: Figura A14).

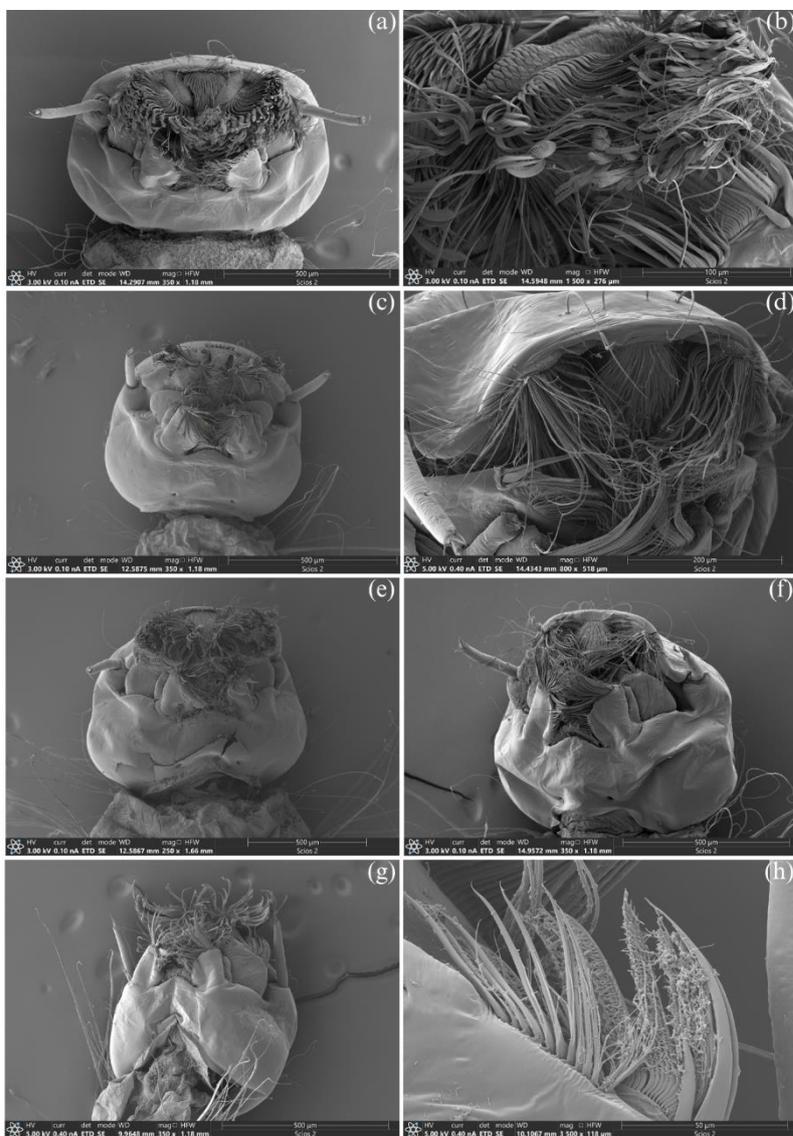


Figura 7. Zona cefálica de larvas de *Ae. aegypti* em MEV, expostas a diferentes concentrações do bioproduto. (a) Controle negativo (CN); (b) Detalhe das sedas cefálicas no controle veículo (CV); (c) Estruturas cefálicas ligeiramente deterioradas em 4,5 mg/L; (d) Semelhanças na deterioração das estruturas em 7 mg/L; (e) Aumento do biofilme e bactérias em 11 mg/L, com sedas e outros componentes afetados; (f) Em 17 mg/L, o biofilme endurece as sedas, comprometendo sua independência; (g) Aos 25,5 mg/L, a funcionalidade das estruturas é severamente afetada pelo biofilme; (h) Detalhe do biofilme em 25,5 mg/L. Fonte: Autora.

Em contraste, nas concentrações crescentes do larvicida, observou-se uma deterioração progressiva do tegumento e das estruturas cefálicas, como as sedas, associada ao aumento na colonização microbiana e à formação de biofilmes (Figura 7c à 7h). Esse efeito pode estar relacionado à ação dos surfactantes presentes no larvicida, que,

ao reduzirem a tensão superficial, desestabilizam as membranas celulares e comprometem a integridade do tegumento (Richard *et al.*, 2025). Além disso, a interação entre o solvente e o composto bioativo pode reagir com lipídeos, proteínas ou polissacarídeos do tegumento, provocando alterações estruturais que aumentam a permeabilidade da cutícula larval e facilitam a penetração de compostos tóxicos nas células subjacentes (Aguirre-Ramírez *et al.*, 2021).

Nas concentrações mais elevadas (17 e 25,5 mg/L), os danos ao tegumento foram mais evidentes, sugerindo que o larvicida afeta diretamente a estrutura externa das larvas, promovendo sua desestruturação e expondo superfícies internas. Com sua integridade comprometida, a superfície larval pode tornar-se mais suscetível à colonização microbiana, favorecendo a formação de biofilmes e potencialmente ampliando os efeitos deletérios sobre as larvas (Admella e Torrentes, 2023). O tegumento de *Ae. aegypti* desempenha um papel essencial como barreira física e química contra microrganismos e agentes tóxicos, e sua degradação pode desencadear efeitos adversos (Da Silveira *et al.*, 2021).

Assim, diversas técnicas de caracterização confirmaram que o bioproduto estudado é uma nanoemulsão estável composta por micelas coloidais, com tamanho nanométrico e eficácia sobre larvas do *Ae. aegypti*. Essas características podem indicar que, após sua biodistribuição nos sistemas gastrointestinal e excretor, o nanomaterial pode estar induzindo efeitos internos, como o aumento de espécies reativas de oxigênio e genotoxicidade, os quais podem explicar a morte das larvas (Dos Santos *et al.*, 2023). Além disso, as estruturas cefálicas das larvas, como as sedas, sofreram deterioração progressiva, com acúmulo de biofilme e comprometimento da funcionalidade das estruturas. No entanto, para um entendimento completo do mecanismo de ação do LCCTL nas larvas do vetor, são necessários estudos adicionais que aprofundem essa investigação.

4. Conclusão

O bioproduto LCCTL revelou-se uma emulsão estável composta por micelas nanométricas, com um tamanho médio do diâmetro hidrodinâmico de 279,7 nm, configurando-se como um sistema monodisperso, conforme o valor de PDI obtido (0,462). Além disso, apresentou fluorescência no espectro visível, o que possibilitou o rastreamento de sua biodistribuição no organismo-alvo. A eficácia larvicida foi comprovada em condições laboratoriais e de campo, com CL_{50} inferior a 10 mg/L, destacando-se como uma alternativa promissora aos inseticidas químicos convencionais.

Além disso, o LCcTL foi absorvido pelas larvas, afetando os sistemas digestório e excretor, e provocando danos nas estruturas da região cefálica e no tegumento. Os danos podem ter contribuído para o crescimento de biofilmes, indicando que o bioproduto interfere em processos essenciais para a sobrevivência das larvas. Esses resultados reforçam o potencial do LCcTL como uma solução sustentável para o controle de *Ae. aegypti*, embora sejam necessários estudos adicionais para avaliar a segurança ambiental do bioproduto em organismos não-alvo.

Referências

- Abe, F. R., Machado, A. A., Coleone, A. C., da Cruz, C., Machado-Neto, J. G., 2019. Toxicity of diflubenzuron and temephos on freshwater fishes: ecotoxicological assays with *Oreochromis niloticus* and *Hyphessobrycon eques*. *Water Air Soil Pollut.*, 230, 1-10. <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4128-7>
- Admella, J., Torrents, E., 2023. Investigating bacterial infections in *Galleria mellonella* larvae: Insights into pathogen dissemination and behavior. *J. Invertebr. Pathol.*, 200, 107975. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2023.107975>
- Aguirre-Ramírez, M., Silva-Jiménez, H., Banat, I. M., Rienzo, M. A. D., 2021. Surfactants: physicochemical interactions with biological macromolecules. *Biotechnol. Let.*, 43, 3, 523-535.
- Attanasi, O. A., Berretta, S., Fiani, C., Filippone, P., Mele, G., Saladino, R., 2006. Synthesis and reactions of nitro derivatives of hydrogenated cardanol. *Tetrahedron*, 62, 25, 6113-6120. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2006.03.105>
- Bahr, M. N., Modi, D., Patel, S., Campbell, G., Stockdale, G., 2019. Understanding the role of sodium lauryl sulfate on the biorelevant solubility of a combination of poorly water-soluble drugs using high throughput experimentation and mechanistic absorption modeling. *J Pharm Pharm Sci*, 22, 221-246. <https://doi.org/10.18433/jpps30347>
- Braga, F. C., Prasad, A. N., Gomes, R. S., do Nascimento, V. A., Oliveira, S. L., Caires, A. R., de Lima, D. P., Beatriz, A., 2017. Design, synthesis and fluorescence analysis of potential fluorescent markers based on cardanol and glycerol. *Dyes Pigm.*, 141, 235-244. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2017.02.032>
- Brito, R. R., de Sousa, N. P. R., De Souza, D. P. M., 2020. Aspectos epidemiológicos e as adaptações do *Aedes Aegypti*: considerações sobre arboviroses. *Facit Bus. Technol. J.*, 1, 19, 205-213.
- Calmão, M., Blasco, N., Benito, A., Thoppil, R., Torre-Fernandez, I., Castro, K., Izagirre, U., Garcia-Velasco, N., Soto, M., 2023. Time-course distribution of fluorescent microplastics in target tissues of mussels and polychaetes. *Chemosphere*, 311, 137087. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.137087>
- Carneiro-da-Cunha, M. G., Cerqueira, M. A., Souza, B. W., Teixeira, J. A., Vicente, A. A., 2011. Influence of concentration, ionic strength and pH on zeta potential and mean hydrodynamic diameter of edible polysaccharide solutions envisaged for multilayered films production. *Carbohydr. Polym.*, 85, 3, 522-528. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.03.001>

- Chen, Q., Riviere, J. E., Lin, Z., 2022. Toxicokinetics, dose–response, and risk assessment of nanomaterials: Methodology, challenges, and future perspectives. *Wiley Interdiscip. Rev.: Nanomed. Nanobiotechnology.*, 14, 6, e1808. <https://doi.org/10.1002/wnan.1808>
- Cho, H. J., Sresht, V., Wang, E. N., 2018. Predicting surface tensions of surfactant solutions from statistical mechanics. *Langmuir*, 34, 6, 2386-2395. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b03749>
- Conway, M. J., Haslitt, D. P., Swarts, B. M., 2023. Targeting *Aedes aegypti* metabolism with next-generation insecticides. *Viruses*, 15, 2, 469. <https://doi.org/10.3390/v15020469>
- 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., dos Passos, R. A., Nascimento, S., Lima, J. B. P, Naveca, F. G., 2018. Evidence of vertical transmission of Zika virus in field-collected eggs of *Aedes aegypti* in the Brazilian Amazon. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 12, 7, e0006594. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006594>
- Costa, C. Q., Cruz, J., Martins, J., Teodósio, M. A. A., Jockusch, S., Ramamurthy, V., da Silva, J. P., 2021. Fluorescence sensing of microplastics on surfaces. *Environ. Chem. Lett.*, 19, 1797-1802. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01136-0>
- Da Silveira, A. A., Andrade, J. S. P., Guissoni, A. C. P., da Costa, A. C., de Carvalho e Silva, A., da Silva, H. G., Brito, P., De Souza, G. R. L, Fernandes, K. F., 2021. Larvicidal potential of cell wall degrading enzymes from *Trichoderma asperellum* against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Biotechnol. Prog.*, 37, 5, e3182.
- Diallo, D., Diallo, M., 2020. Resting behavior of *Aedes aegypti* in southeastern Senegal. *Parasit. Vectors.*, 13, 1-7. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04223-x>
- Dos Santos, D. R., Chaves, L. L., Pires, V. C., Rodrigues, J. S., de Assunção, M. A. S., Faienstein, G. B., Neto, A. G. B., Rebouças, J. S., Albuquerque, E. C. M. C, de Melo, S. A. B. V., Gaspar, M. C., Barbosa, R. M. R., Braga, M. E. M., de Sousa, H. C., Formiga, F. R., 2023. New weapons against the disease vector *Aedes aegypti*: From natural products to nanoparticles. *Int. J. Pharm.*, 643, 123221. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2023.123221>
- Dourado, D. M., Rosa, A. C., de Andrade Porto, K. R., Roel, A. R., Cardoso, C. A. L., Favero, S., Guilhermino, J., Matias, R., 2015. Effects of cashew nut shell liquid (CNSL) component upon *Aedes aegypti* Lin. (Diptera: Culicidae) larvae's midgut. *Afr. J. Biotechnol.*, 14, 9, 829-834. <https://doi.org/10.5897/AJB2014.14347>
- Eke, W. I., Achugasim, O., Ajienska, J., Akaranta, O., 2021. Glycerol-modified cashew nut shell liquid as eco-friendly flow improvers for waxy crude oil. *Petrol. Sci. Technol.*, 39, 4, 101-114. <https://doi.org/10.1080/10916466.2020.1849284>
- Equipe RStudio, 2023. RStudio: Desenvolvimento Integrado para R. RStudio, v2023.06.0 [software]. <http://www.rstudio.com/>
- Fiaz, M., Martínez, L. C., Plata-Rueda, A., Cossolin, J. F. S., Serra, R. S., Martins, G. F., Serrão, J. E., 2021. Behavioral and ultrastructural effects of novaluron on *Aedes aegypti* larvae. *Infect. Genet. Evol.*, 93, 104974. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.104974>
- Ghimire, P. P., Jaroniec, M., 2021. Renaissance of Stöber method for synthesis of colloidal particles: New developments and opportunities. *J. Colloid Interface Sci.*, 584, 838-865. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.10.014>

- Jahan, R., Bodratti, A. M., Tsianou, M., Alexandridis, P., 2020. Biosurfactants, natural alternatives to synthetic surfactants: Physicochemical properties and applications. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 275, 102061. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.102061>
- Jamovi Project, 2021. Jamovi. v2.3.28 [software]. <https://www.jamovi.org>.
- 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, C., Ventura, J., Nogueira, C. R., Gomes, R. S., de Arruda, E. J., 2020. 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. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08998-5>
- Jorge, M. R., Merey, F. M., Crispim, B. D. A., Kummrow, F., Barufatti, A., Dantas, F. G. S., Oliveira, K. M. P., Arruda, E. J. D., 2022. Ecotoxicological Evaluation of Products Obtained from Technical Cashew Nutshell Liquid (tCNSL) Proposed as Larvicide to Control *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Ecologies*, 3, 2, 161-174. <https://doi.org/10.3390/ecologies3020013>
- Kala, S., Sogan, N., Verma, P., Naik, S. N., Agarwal, A., Patanjali, P. K., Kumar, J., 2019. 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. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.10.006>
- Komalamisra, N., Trongtokit, Y., Rongsriyam, Y., Apiwathnasorn, C., 2005. Screening for larvicidal activity in some Thai plants against four mosquito vector species. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.*, 36, 6, 1412-1422.
- Lomonaco, D., Santiago, G. M. P., Ferreira, Y. S., Arriaga, Â. M. C., Mazzetto, S. E., Mele, G., Vasapollo, G., 2009. Study of technical CNSL and its main components as new green larvicides. *Green Chem.*, 11, 1, 31-33. <https://doi.org/10.1039/b811504d>
- Lomonaco, D., Mele, G., Mazzetto, S. E., 2017. Cashew nutshell liquid (CNSL): from an agro-industrial waste to a sustainable alternative to petrochemical resources, in: Anilkumar, P. (Ed.), *Cashew nut shell liquid: a goldfield for functional materials*. Springer International Publishing AG, pp. 19-38.
- Lopes, W. A., Fascio, M., 2004. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. *Quim. nova*, 27, 4, 670-673. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000400025>
- López-Molina, S., do Nascimento, N. A., Silva-Filha, M. H. N. L., Guerrero, A., Sánchez, J., Pacheco, S., Gill, S. S., Soberón, M., Bravo, A., 2021. *In vivo* nanoscale analysis of the dynamic synergistic interaction of *Bacillus thuringiensis* Cry11Aa and Cyt1Aa toxins in *Aedes aegypti*. *PLoS Pathog.*, 17, 1, e1009199. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009199>
- Lunardi, C. N., Gomes, A. J., Rocha, F. S., De Tommaso, J., Patience, G. S., 2021. Experimental methods in chemical engineering: Zeta potential. *Can. J. Chem. Eng.*, 99, 3, 627-639. <https://doi.org/10.1002/cjce.23914>
- Martínez-Mercado, J. P., Sierra-Santoyo, A., Verdín-Betancourt, F. A., Rojas-García, A. E., Quintanilla-Vega, B., 2022. Temephos, an organophosphate larvicide for residential use: a review of its toxicity. *Crit. Rev. Toxicol.*, 52, 2, 113-124. <https://doi.org/10.1080/10408444.2022.2065967>

- Matusiak, J., Grządka, E., 2017. Stability of colloidal systems-a review of the stability measurements methods. *Annales UMCS, Sectio AA (Chemia)*, 72, 1, 33. <http://dx.doi.org/10.17951/aa.2017.72.1.33>
- McLaughlin, J. C., 1991. Crown gall tumours on potato discs and brine shrimp lethality: Two simple bioassays for higher plant screening and fractionation. *Methods Plant Biochem.*, 6, 1-32.
- Merwe, E. M. V., Mathebula, C. L., Prinsloo, L. C., 2014. Characterization of the surface and physical properties of South African coal fly ash modified by sodium lauryl sulphate (SLS) for applications in PVC composites. *Powder Technol.*, 266, 70-78. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2014.06.008>
- Morais, A. G. D., Baltar, C. A. M., Pereira, C. A., 2013. Lead recovery by flotation with sodium lauryl sulfate. *Rem: Rev. Esc. Minas*, 66, 117-121. <https://doi.org/10.1590/S0370-44672013000100016>
- Moulik, S. P., Rakshit, A. K., Naskar, B., 2024. Physical chemical properties of surfactants in solution and their applications: A comprehensive account. *J. Surfactants Deterg.*, 27, 6, 895-925.
- Nascimento, H. D. S., Crispim, B. D. A., Merey, F. M., Kummrow, F., dos Passos, R. A., Cardoso, C. A. L., Lomonaco, D., Oliveira, K. M. P., Dantas, F. G. S., Arruda, E. J., Barufatti, A., 2022. Self-emulsifiable bioactive derivatives of technical Cashew Nut Shell Liquid (tCNSL) developed to control *Aedes aegypti* populations. *Waste Biomass Valorizat.*, 13, 5, 2539-2552. <https://doi.org/10.1007/s12649-022-01683-3>
- Nascimento, H. S., da Luz, S. R., Crispim, B. A., Lampugnani, G., Kummrow, F., Barufatti, A., 2024. By-Products of the Cashew Nut Production Chain as Alternatives for the Development of Larvicides: A Review. *Waste Biomass Valorizat.*, 15, 6, 3217-3237. <https://doi.org/10.1007/s12649-023-02365-4>
- Obuebite, A. A., Eke, W. I., Udoh, T., 2022. Evaluation of modified cashew nutshell liquid as natural surfactants for chemical flooding in sandstone oil reservoirs. *J. Appl. Eng. Sci.*, 69, 1, 114. <https://doi.org/10.1186/s44147-022-00167-4>
- Oliveira, M. S. C., de Morais, S. M., Magalhães, D. V., Batista, W. P., Vieira, Í. G. P., Craveiro, A. A., de Manezes, J. E. S. A., Carvalho, A. F. U., de Lima, G. P. G., 2011. Antioxidant, larvicidal and antiacetylcholinesterase activities of cashew nut shell liquid constituents. *Acta Tropica*, 117, 3, 165-170. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2010.08.003>
- Paiva, D. R., Lima, D. P., Avvari, N. P., de Arruda, E. J., Cabrini, I., Marques, M. R., Edson, A. S., Biaggio, F. C., Sangi, D. P., Beatriz, A., 2017. A potent larvicidal agent against *Aedes aegypti* mosquito from cardanol. *An. Acad. Bras. Ciênc.*, 89, 373-382. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720160615>
- Penner, M. H., 2017. Ultraviolet, visible, and fluorescence spectroscopy, in: Nielsen, S. (Ed.), *Food analysis*. Springer International Publishing, pp. 89-106.
- Philipse, A., 2005. Particulate colloids: aspects of preparation and characterization, in: Lyklema, J. (Ed.), *Fundamentals of Interface and Colloid Science*. Academic Press, v. 4, pp. 2.1-2.71.
- Prihapsara, F., Saputra, W. A., Artanti, A. N., Ermawati, D. E., Rohmani, S., Yugatama, A., 2019. Permeability of Piroxicam with Sodium Lauryl Sulfate as Surfactant. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.*, 578, 1, 012054. doi:10.1088/1757-899X/578/1/012054

- Prophiro, J. S., da Silva, M. A. N., de Oliveira, J. G., Variza, P. F., de Lemos, A. B., Pilz-Júnior, H. L., da Silva, O. S., 2021. Change in susceptibility response of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) to organophosphate insecticide and Copaifera oleoresin. *Acta Trop.*, 221, 106014. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.106014>
- Prosser, A. J., Franses, E. I., 2001. Adsorption and surface tension of ionic surfactants at the air–water interface: review and evaluation of equilibrium models. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.*, 178, 1-3, 1-40. [https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(00\)00706-8](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(00)00706-8)
- Rajam, R. P., Raj, M. K., Shanmugam, G., 2023. Formulation and evaluation of cashew nut shell oil and pungam oil-loaded nanocapsules for larvicidal activity against *Aedes aegypti*. *Int. J. Green Pharm.*, 17, 01 67-75. <https://doi.org/10.22377/ijgp.v17i1.3378>
- Raji, J. I., Gonzalez, S., DeGennaro, M., 2019. *Aedes aegypti* Ir8a mutant female mosquitoes show increased attraction to standing water. *Commun. Integr. Biol.*, 12, 1, 181-186. <https://doi.org/10.1080/19420889.2019.1681063>
- Raraswati, G. R., Sudarsono, S., Mulyaningsih, B., 2014. 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, 2, 53-57. <https://doi.org/10.14421/biomedich.2014.32.53-57>
- Richard, C. M., Renault, D., Wallart, V., Denis, B., Tarapacki, P., Marion-Poll, F., Colinet, H., 2025. Effects of nonionic surfactants on life history traits of *Drosophila melanogaster*. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 1-13. <https://doi.org/10.1007/s11356-025-35932-4>
- Shahi, V. K., Thampy, S. K., Rangarajan, R., 1999. Studies on transport properties of surfactant immobilized anion-exchange membrane. *J. Membr. Sci.*, 158, 1-2, 77-83. [https://doi.org/10.1016/S0376-7388\(99\)00029-0](https://doi.org/10.1016/S0376-7388(99)00029-0)
- Sharma, S., Loach, N., Gupta, S., Mohan, L., 2020. Phyto-nanoemulsion: An emerging nano-insecticidal formulation. *Environ. Nanotechnol. Monit. Manag.*, 14, 100331. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2020.100331>
- Silvério, M. R. S., Espindola, L. S., Lopes, N. P., Vieira, P. C., 2020. Plant natural products for the control of *Aedes aegypti*: The main vector of important arboviruses. *Molecules*, 25, 15, 3484. <https://doi.org/10.3390/molecules25153484>
- Sun, T., Zhao, H., Hu, L., Shao, X., Lu, Z., Wang, Y., Ling, P., Li, Y., Zeng, K., Chen, Q., 2024. Enhanced optical imaging and fluorescent labeling for visualizing drug molecules within living organisms. *Acta Pharm. Sin. B.*, 14, 6, 2428-2446. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2024.01.018>
- Swan, T., Lounibos, L. P., Nishimura, N., 2018. Comparative oviposition site selection in containers by *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) from Florida. *J. Med. Entomol.*, 55, 4, 795-800. <https://doi.org/10.1093/jme/tjy034>
- Vani, J. M., Monreal, M. T. F. D., Auharek, S. A., Cunha-Laura, A. L., de Arruda, E. J., Lima, A. R., Silva, C. M, Antonioli-Silva, A. C. B., de Lima, D. P., Beatriz, A., Oliveira, R. J., 2018. 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, 3, e0193509. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193509>
- Ventapane, A. L. D. S., Santos, P. D., 2021. Aplicação de princípios de Química Verde em experimentos didáticos: um reagente de baixo custo e ambientalmente seguro para

detecção de íons ferro em água. *Quím. Nova Esc.*, 43, 2, 201-205.
<http://dx.doi.org/10.21577/0104-8899.20160253>

Wang, D., Saleh, N. B., Byro, A., Zepp, R., Sahle-Demessie, E., Luxton, T. P., Ho, K. T., Burgess, R. M., Flury, M., White, J. C., Su, C., 2022. Nano-enabled pesticides for sustainable agriculture and global food security. *Nat. nanotechnol.*, 17, 4, 347-360.
<https://doi.org/10.1038/s41565-022-01082-8>

Wang, J., Li, Y., Liu, H., Tong, J., 2022. Surface tension, viscosity and electrical conductivity characteristics of new ether-functionalized ionic liquids. *J. Mol. Liq.*, 351, 118621. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.118621>

WHO - World Health Organization, 2005. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. <https://pacmossi.org/carbon/assets/0007e8/00000a/Guidelines-for-laboratory-and-field-testing-of-mosquito-larvicides.pdf>. (acessado em 25 mar 2024).

Xiao, W., Deng, Z., Huang, J., Huang, Z., Zhuang, M., Yuan, Y., Nie, J., Zhang, Y., 2019. Highly sensitive colorimetric detection of a variety of analytes via the Tyndall effect. *Anal. Chem.*, 91, 23, 15114-15122. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b03824>

Yetisgin, A. A., Cetinel, S., Zuvun, M., Kosar, A., Kutlu, O., 2020. Therapeutic nanoparticles and their targeted delivery applications. *Molecules*, 25, 9, 2193.
<https://doi.org/10.3390/molecules25092193>

Zhang, S., Xin, Y., Sun, Y., Xi, Z., Wei, G., Han, M., Liang, B., Ou, P., Xu, K., Qiu, J., Huang, Z., 2024. Particle size effect on surface/interfacial tension and Tolman length of nanomaterials: A simple experimental method combining with theoretical. *J. Chem. Phys.*, 160, 19. <https://doi-org.ez50.periodicos.capes.gov.br/10.1063/5.0204848>

Capítulo 4

Considerações Finais

O estudo desenvolvido revelou o potencial promissor do LCcTL como uma alternativa eficiente aos larvicidas convencionais, apresentando dupla funcionalidade larvicida e surfactante, direcionada ao controle do *Ae. aegypti*. A combinação dessas propriedades possibilita uma aplicação prática e acessível, aproveitando o escoamento de águas residuais domésticas para atingir múltiplos criadouros de maneira ampla e integrada, o que pode facilitar a adesão da população e promover impactos positivos na saúde pública.

Apesar dos resultados encorajadores, a segurança ambiental e a viabilidade de produção e aplicação do LCcTL em larga escala ainda requerem maior investigação. Ensaios ecotoxicológicos são indispensáveis para compreender os efeitos do produto sobre organismos não-alvo e avaliar seu potencial risco ambiental, bem como sua genotoxicidade. Esses estudos são essenciais para assegurar a conformidade com as normas regulatórias, viabilizando a produção comercial do LCcTL e sua inclusão em estratégias de controle de zoonoses e programas de saúde pública voltados à redução de arboviroses.

O uso de resíduos agroindustriais como matéria-prima para o desenvolvimento do LCcTL reforça a relevância do estudo em um contexto socioeconômico e ambiental, ao mesmo tempo em que atende às demandas por alternativas eficazes e menos impactantes ao meio ambiente. O avanço de sua utilização depende da execução de estudos complementares que assegurem a sua segurança e contribuir para a redução das arboviroses e fortalecimento de práticas ambientalmente responsáveis.

Anexos

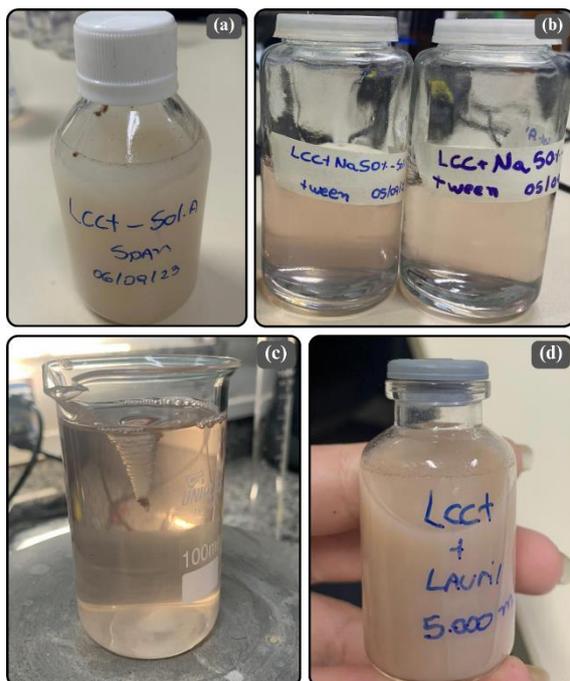


Figura A1. Amostras do LCCT e LCCTNa50 emulsionados com diferentes surfactantes. (a) LCCT com Span 60, onde se observa separação de fases e precipitação do bioativo, indicando instabilidade da emulsão; (b) LCCTNa50 em diferentes diluições da solução estoque (SI) utilizando o surfactante Tween 80; (c) emulsão de LCCTNa50 com CTAB, exibindo características intermediárias de solubilidade; (d) emulsão de LCCT com Lauril Sulfato de Sódio (LSS), destacando-se pela homogeneidade e ausência de separação de fases. Fonte: Autora.



Figura A2. Larva de *Aedes aegypti* tratada com LCCTL (25,5 mg/L) em estágio de desenvolvimento avançado, identificada entre o 3º e 4º instares. Fonte: Autora.



Figura A3. Ensaio larvicida realizado em condições de laboratório para avaliar a eficácia de diferentes surfactantes (Tween 80, Span 80, Lauril Sulfato de Sódio - LSS e CTAB) em emulsões formuladas com o Líquido da Casca da Castanha de Caju técnico (LCCt) e seu derivado parcialmente neutralizado (LCCtNa50). Cada conjunto de copos representa réplicas experimentais para diferentes tratamentos. Fonte: Autora.



Figura A4. Processo de síntese do bioproduto LCCtL, obtido pela emulsificação do Líquido da Casca da Castanha de Caju técnico (LCCt) utilizando Lauril Sulfato de Sódio (LSS) como surfactante. A imagem destaca o gotejamento controlado do LCCt na solução de LSS sob agitação mecânica, uma etapa essencial para garantir a homogeneidade e a formação de uma nanoemulsão estável. Fonte: Autora.



Figura A5. Amostras de LCCtL puro (10.000 mg/L) e diluídas em 10, 100 e 1000 × utilizadas para análises de tensão superficial, condutividade elétrica e potencial zeta. Fonte: Glenda Biasotto Porzani.



Figura A6. Equipamento de Espalhamento Dinâmico de Luz (EDL) utilizado para a determinação do Tamanho Hidrodinâmico (Dh) e do Índice de Polidispersidade (PDI) das micelas formadas nas nanoemulsões. Fonte: Autora.



Figura A7. Espectrofotômetro UV-Vis utilizado para analisar o espectro de absorção do bioproduto LCCTL. Fonte: Autora.



Figura A8. Fluorímetro utilizado para medir a intensidade de fluorescência do bioproduto LCCTL, permitindo a detecção e caracterização de compostos fluorescentes presentes na formulação. Fonte: Autora.



Figura A9. Equipamento de FTIR acoplado a acessório de refletância total atenuada (ATR), utilizado para análise de infravermelho das amostras. Fonte: Autora.

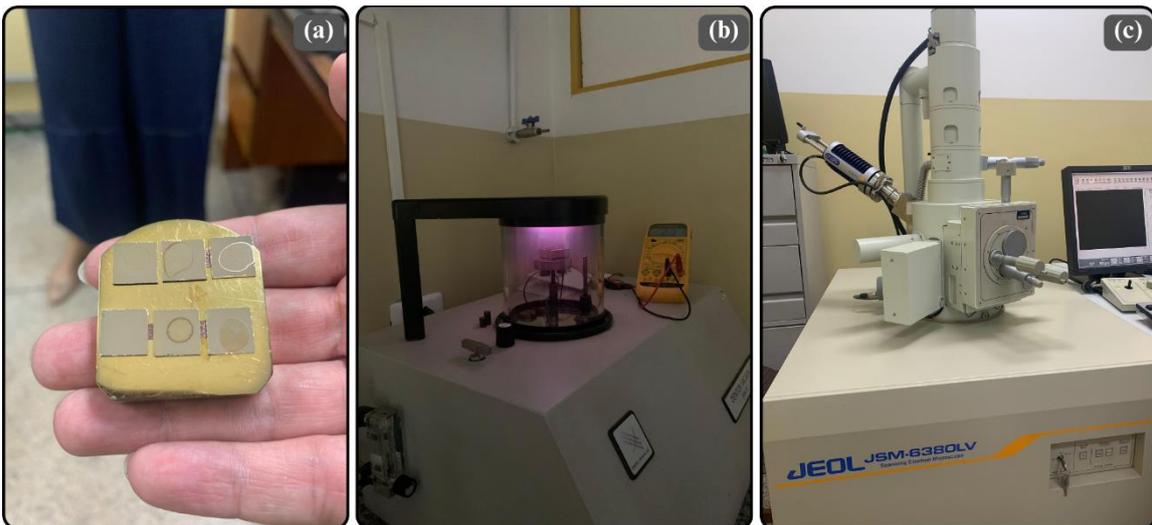


Figura A10. Imagens de MEV do produto: (a) "stubs" fixados em uma placa de latão, (b) amostra na câmara da evaporadora para metalização e (c) visualização no microscópio eletrônico de varredura (MEV). Fonte: Autora.



Figura A11. Larvas de 3^o e/ou 4^o instares de *Aedes aegypti* submetidas ao ensaio larvicida utilizando diferentes concentrações do bioproduto LCCTL. As avaliações foram realizadas após 24 e 48 h de exposição, considerando como mortas as larvas que permaneceram imóveis na superfície ou no fundo do recipiente, sem qualquer reação ao estímulo tátil. Fonte: Autora.



Figura A12. Ensaio larvicida em condições de campo em pequena escala, conduzido para avaliar a eficácia do bioproduto LCCTL em ambientes naturais não controlados. O experimento utilizou recipientes contendo água desclorada e larvas de *Ae. aegypti*, monitorando a mortalidade em diferentes concentrações do produto. Fonte: Autora.

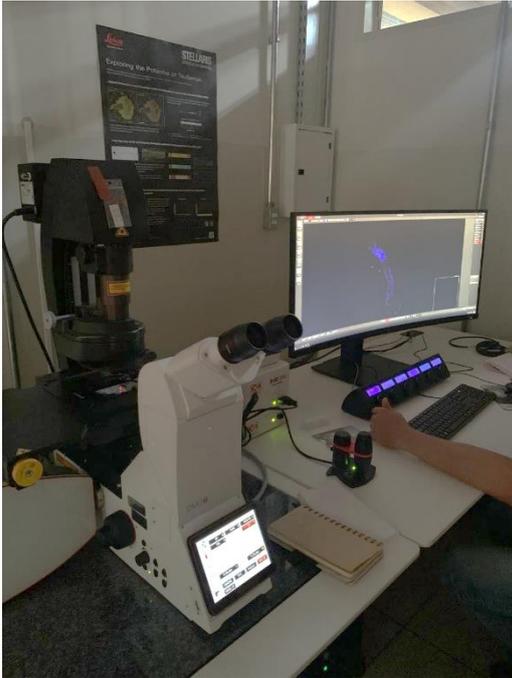


Figura A13. Microscópio confocal utilizado para análise da distribuição do bioproduto LCCTL nas larvas de *Aedes aegypti*, com base na fluorescência emitida pelo composto. A técnica permitiu visualizar a biodistribuição do produto nos tecidos e órgãos das larvas, contribuindo para o entendimento de seu mecanismo de ação larvicida. Fonte: Autora.

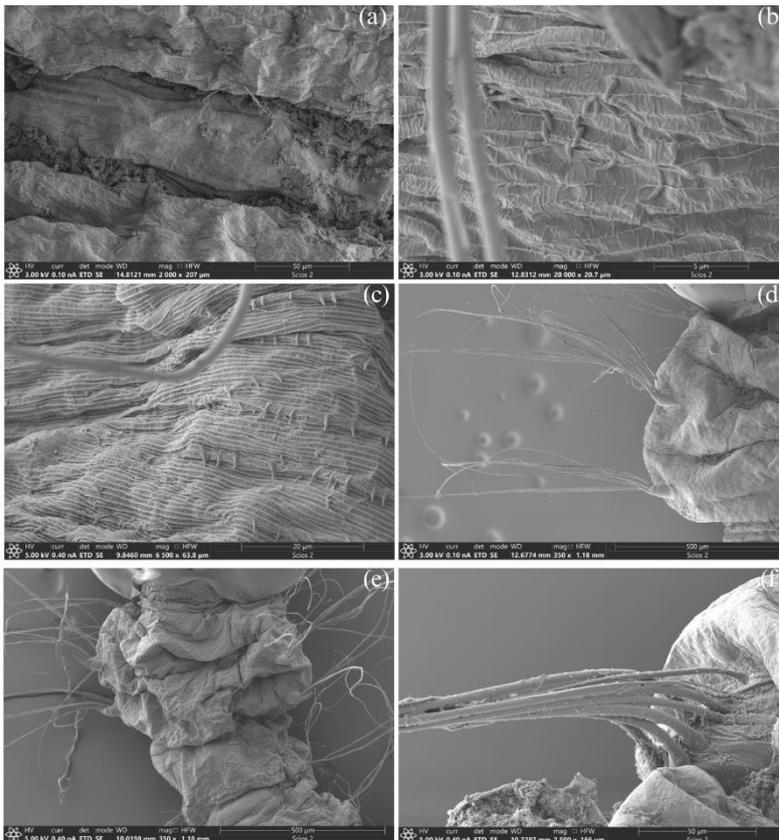


Figura A14. Imagens do tórax e abdômen das larvas de *Ae. aegypti*, destacando o crescimento do biofilme e os danos ao tegumento. (a) Detalhes do tegumento e membranas intersegmentares no controle negativo (CN), com presença de biofilme e restos orgânicos; (b) Em 4,5 mg/L, depósitos de biofilme e elementos bacterianos visíveis no tegumento, alguns pertencentes ao grupo das bactérias prospectadas; (c) Em 7 mg/L, sinais claros de crescimento microbiológico, tanto bacilar

quanto prospectadas; (d) Em 11 mg/L, crescimento bacteriano nas sedas; (e) Em 17 mg/L, as sedas são afetadas pelo crescimento bacteriano, cobrindo completamente algumas áreas do tegumento; (f) Em 25,5 mg/L, quase toda a superfície do tegumento e das sedas está comprometida pelo crescimento bacteriano. Fonte: Autora.