



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA (RENORBIO)
DOUTORADO EM BIOTECNOLOGIA**

CELMA DE OLIVEIRA BARBOSA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS ÓLEOS
ESSENCIAIS E EXTRATOS ALCOÓLICOS DAS ESPÉCIES *Ocimum* spp.
(Manjeriçã) E *Curcuma longa* (açafreã da terra)**

**FORTALEZA
2018**

CELMA DE OLIVEIRA BARBOSA

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS ÓLEOS
ESSENCIAIS E EXTRATOS ALCOÓLICOS DAS ESPÉCIES *Ocimum* spp.
(Manjeriçã) E *Curcuma longa* (açafã da terra)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduaçã em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia no ponto focal na Universidade Federal do Cearã, como requisito para obtençã do grau de doutor em biotecnologia. Área de Concentraçã: Biotecnologia em Recursos Naturais, Sub-área: Química dos produtos naturais

Orientador: Drº José Osvaldo Beserra
Carioca

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- B196c Barbosa, Celma de Oliveira.
Caracterização química e atividades biológicas dos óleos essenciais e extratos alcoólicos das espécies *Ocimum* spp. (manjeriçom) e *Curcuma longa* (açafmão da terra) : estudo químico / Celma de Oliveira Barbosa. – 2018.
140 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (Rede Nordeste de Biotecnologia), Fortaleza, 2018.
Orientação: Prof. Dr. José Osvaldo Beserra Carioca.
1. *Ocimum* spp.. 2. *Curcuma longa*. 3. Química. 4. Antioxidante. 5. *Aedes aegypti*. I. Título.

CDD 660.6

CELMA DE OLIVEIRA BARBOSA

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS ÓLEOS
ESSENCIAIS E EXTRATOS ALCOÓLICOS DAS ESPÉCIES *Ocimum* spp.
(Manjerição) E *Curcuma longa* (açafraão da terra)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia no ponto focal na Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do grau de doutor em biotecnologia.

Área de Concentração: Biotecnologia em Recursos Naturais, Sub-área: Química dos produtos naturais

Aprovado em: 02 de fevereiro de 2018

BANCA EXAMINADORA

Profº Dr. José Osvaldo Beserra Carioca
(Universidade Federal do Ceará - Presidente)

Drª Selene Maia de Moraes - Examinador externo
(Universidade Estadual do Ceará)

Drº André Luis Coelho da Silva – Examinador interno
(Universidade Federal do Ceará)

Drª Rita de Cássia Alves Pereira – Examinador externo
(Embrapa Agroindústria Tropical)

Drº Ícaro Gusmão Pinto Vieira – Examinador externo
(Universidade Estadual do Ceará)

À **Deus**, por seu infinito amor e proteção.
Aos meus pais Alcides e Benedita, irmãos
Lilian, Luciano e Lucelli, cunhados Geir e
Áurea, e minha sobrinha Valentina.
Aos meus tios Lourival e Maria Burlamaqui
(*in memoriam*), Ritinha (minha madrinha),
primos Lourival Neto, Elisa e Leonardo
Burlamaqui.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof Dr José Osvaldo Beserra Carioca (Departamento de Engenharia de alimentos/UFC), pela orientação, compreensão, amizade e exemplo de empreendedor.

À Prof^a Dr^a Selene Maia de Moraes (Departamento de Química/UECE), pelo auxílio, exemplo de amor à pesquisa, orientação em todas as etapas dessa pesquisa, incentivo ao meu crescimento nessa jornada e abertura de possibilidades ao desenvolvimento desse estudo no LQPN/UECE e parcerias.

Ao Prof. Dr. Ícaro Gusmão Pinto Vieira (PADETEC–UFC/Departamento de química/UECE) pelo pesquisador admirável, por sua gentileza em acompanhar e disponibilizar seu conhecimento em HPLC.

À Dr^a Rita de Cássia Alves Pereira (Embrapa Agroindústria Tropical), pela produção agrônômica das espécies vegetais desse estudo e incentivo.

Aos químicos colaboradores, Ana Livya Rodrigues (Doutoranda Renorbio/UECE), Vitor Carvalho Martins (Mestrando de química/UFC), João Francisco Câmara Neto (Mestrando de Químico/UFC), Franklin Maia (Químico/UECE), Halisson Araújo de Sousa (Mestrando de bioquímica/UFC) e Marcelo Freire (aluno do Curso de Química/UECE), pelo auxílio em análises, amizade, motivação e incentivo.

Aos parceiros do LQPN, Prof Dr. Edilberto Rocha Silveira (CENAUREMN/UFC), Dr. Herbert Magalhães (CENAUREMN/UFC), Prof Dr. Marcos Carlos de Mattos (Depto de química/UFC), Pós-Dra Daniele Alves Ferreira (Depto de Química/UFC), auxílio e análises realizadas nesse trabalho.

À bióloga Sarah Souza, Herbário Prisco Bezerra/UFC, pela identificação das plantas do estudo.

Ao Prof Dr^o André Luis Coelho da Silva (Departamento de Biotecnologia/Universidade Federal do Ceará), pelo incentivo e conselhos nas etapas iniciais do doutorado.

A família LQPN/UECE, Géssica, Eranildo Teles, Hortência Liberato, Gilveline, Silvana, Bruno Felismino, Evaristo, Livia, Paulo Roberto, Caio, Edvar, Beatriz Jales, Liara, Roberta Bussons, Katherine, Karla Larissa, Cátia, Augusta, Diana, Wesley, Sherida, Flávio, Helena Andrade, Daniela Ribeiro, Ana Raquel, Carol, Matheus, Vitor, Daniele, Vivian, Laryssa, Alice, Rayanne, pela força, amizade e carinho.

Aos amigos do Programa RENORBIO, Ana Erbênia, Jânia, Luanna, Max, Carlos Sobrinho, Claita, Alexandre, Alexandre Penildo, Alex, Cícero e a todos da turma RENORBIO/2013, pela amizade, força e incentivo.

Aos amigos especiais do PADETEC/UFC, Prof^a Dr^a. Vera Nascimento (IFPI), Prof^a Doutoranda Eveline, Antonia Neves Peçe, Natália Aquino e sua família (pais, amigos), Doutoranda Gabrielle (Renorbio/UFC), Rubberfesson, Túlio Colaço, Victória Bermúdez, André, Maurício, Rejane, Éder, Catarina, Eduardo Galdino, Yasmine, Emanuel, Ingrid, Rafaela, Leidyane, Monique, Ana Paula, pelo incentivo, amizade e carinho.

Aos coordenadores, Prof Dr Arlindo A. de Moura (Programa em Biotecnologia da UFC) e Prof^a Dr^a Maria Izabel Florindo (Programa em Biotecnologia da UECE), pela compreensão e incentivo, por sempre estar disponível em resolver os problemas de matrículas.

À FUNCAP, pela concessão de bolsa de financiamento para realização desta pesquisa.

Aos secretários RENORBIO/UFC/UECE, Adil, Rafaela e Maria Helena, por sempre me ouvirem e me acalmarem nos momentos mais difíceis dessa jornada, pela amizade e força.

Aos professores, em especial, Profa Dr^a Jane Eires, e alunos do Departamento da Química UECE, Labiotec/UECE, que tanto me ajudaram com palavras de incentivo, análises e aprendizados.

Aos funcionários, Eli (NUPESA/UECE) e Sr Manoel (PADETEC/UFC), pela dedicação e profissionalismo.

Aos meus pais, Alcides Barbosa e Benedita M^a de Oliveira Barbosa, pelo apoio, incentivo, dedicação e exemplo de força e estudo.

À minha irmã, Lilian O. Larsen e Geir Larsen, pela ajuda, amizade e companheirismo.

Ao meu irmão, Luciano Barbosa e sua família, pelos momentos de lazer, especialmente à minha sobrinha Valentina, pelos momentos de brincadeiras e amor condicional.

Em especial, à minha irmã caçula, Lucelli de O. Barbosa, não me deixando desistir no momento em que fraquejei e incansavelmente, me dando força dia a dia.

Aos meus familiares, em especial Tia Maria e Tio Lourival (*in memoriam*), minha madrinha Rita de Cássia Burlamaqui e meus primos Lourival Neto e Joyce, Leonardo

e Elisa; e à minha madrinha Rita Oliveira Paiva, seu esposo Fifi e família, pelo estímulo, apoio e amizade durante todo esse caminho; e todos os tios e tias.

À Tia Ninfa, Tio Valdemir e família, Tia Rita e família, Tia Deusa e família, pela moradia, apoio, lazeres, incentivo, carinho, amizade e amor dedicado nesses 4 anos que muito supriram a falta de minha família.

Aos amigos de Teresina (PI), em especial Tattiana, Luzia, Seânia, Amanda e Jonilda, aos vizinhos do Ceará, Dona Simone e Karol; Dona Zuleide e filhas; Samara e filhos Dona Fátima, e D. Reijane Caula que entenderam minha ausência, agradeço a ajuda, torcida, força, amizade, momentos de descontração e incentivo para seguir firme nessa jornada.

À todos que direta ou indiretamente ajudaram nesse trabalho e que não foram mencionados aqui.

"Os sonhos não determinam o lugar onde vocês vão chegar, mas produzem a força necessária para tirá-los do lugar em que vocês estão. Sonhem com as estrelas para que vocês possam pisar pelo menos na Lua. Sonhem com a Lua para que vocês possam pisar pelo menos nos altos montes"

Augusto Cury

RESUMO

As plantas aromáticas, *Ocimum* spp (Lamiaceae) e a *Curcuma longa* (Zingiberaceae), têm grande potencial econômico, ecológico e biotecnológico de utilidade na medicina, Indústria farmacêutica e Indústria alimentícia, pela produção de óleos essenciais e extratos com propriedades biológicas que podem prevenir doenças crônicas não transmissíveis, doenças negligenciadas como dengue, Zika e Chikungunya e doença de Alzheimer. O objetivo deste estudo foi avaliar as características químicas e as atividades biológicas de óleos essenciais e extratos alcoólicos das espécies de *Ocimum* spp. (manjeriço) e variedades de *Curcuma longa* (açafraão da terra), bem como as potenciais aplicações biotecnológicas. O material vegetal foi produzido pela Embrapa Agroindústria Tropical, sendo extraídos os óleos essenciais e preparado os extratos das espécies de *Ocimum* spp. e *Curcuma longa* para análise de composição química, atividade antioxidante, inibição da enzima acetilcolinesterase, toxicidade frente *Artemia salina* e larvicida contra *Aedes aegypti*. A composição dos óleos essenciais de *Ocimum* spp. teve grande variabilidade de quimiotipos quando comparada a outras localidades, apresentou um elevado teor de eugenol em *O. tenuiflorum*, *O. gratissimum*, *O. campechianum* e *O. basilicum* variedades greco e bola, e forte potencial antioxidante quando analisados pelos métodos de DPPH, ABTS e sistema beta - caroteno/ácido linoleico comparado ao eugenol puro. O metil-chavicol foi o principal constituinte de *O. selloi*; linalol e metil-chavicol para *O. basilicum* var. Maria bonita. Os óleos essenciais de *Curcuma longa* variedade vermelha teve maior teor em alfa-turmerona e a variedade branca rica em 1,8-cineol, e o extrato etanólico de curcuma vermelha teve alto teor de carotenóides totais com melhor potencial antioxidante. Todas as plantas apresentaram toxicidade frente à *Artemia salina*, porém, as espécies ricas em eugenol apresentaram moderada inibição para a enzima acetilcolinesterase e forte atividade larvicida. Dessa forma, os óleos essenciais estudados apresentaram os quimiotipos de eugenol, E-cariofileno, metil-chavicol, 1,8-cineol e alfa-turmerona, agregando um valor diferencial à Indústria alimentícia pelo poder antioxidante, larvicida e inibição de acetilcolinesterase, podendo ser incorporadas a novos alimentos funcionais ou biofilmes de alimentos para a preservação ou contribuindo no controle de doenças crônicas e negligenciadas.

Palavra-chaves: *Ocimum* spp. *Curcuma longa*. Química. Antioxidante. *Aedes aegypti*.

ABSTRACT

The aromatic plants, *Ocimum* spp (Lamiaceae) and *Curcuma longa* (Zingiberaceae), have great economic, ecological and biotechnological potential of utility in medicine, Pharmaceutical industry and Food industry, for the production of essential oils and extracts with biological properties that can prevent chronic non-communicable diseases, neglected diseases like dengue, Zika and Chikungunya and Alzheimer's disease. The purpose of this study is to evaluate the chemical characteristics and the biological activities of the essential oils and alcoholic extracts of species of species of *Ocimum* spp. (basil) and varieties of *Curcuma longa* (saffron) as future biotechnological applications. The plants were supplied by Tropical Agroindustry Embrapa (CE), being extracted essential oils and prepared extracts of the species *Ocimum* spp. and *Curcuma longa* for analysis of chemical composition, antioxidant activity, inhibition of acetylcholinesterase, toxicity against *Artemia salina* and larvicide against *Aedes aegypti*. The composition of essential oils from *Ocimum* has shown great variability of chemotypes when compared to other localities, presenting a high content of eugenol in *O. tenuiflorum*, *O. gratissimum*, *O. campechianum* and *O. basilicum* (greek and ball varieties), and the samples showed a strong antioxidant potential in the methods analyzed, DPPH, ABTS and beta-carotene/linoleic acid methods, when compared to pure eugenol. Methyl chavicol was the major constituent of *O. selloi*; linalool and methyl-chavicol for *O. basilicum* var. "Maria Bonita". The essential oils from the red variety of *Curcuma longa* had a higher content of alpha-turmerone, the white variety had 1,8-cineol as main constituent, and the ethanolic extract of red curcuma had a high content of total carotenoid, which conferred a better antioxidant potential to the extracts. All plants showed toxicity to *Artemia salina*, but eugenol-rich samples presented moderate inhibition for the acetylcholinesterase enzyme and strong larvicidal activity. Thus, the essential oils analyzed presented the chemotypes of eugenol, E-caryophyllene, methyl-chavicol, 1,8-cineol and alpha-turmerone, with a strong antioxidant and larvicidal potential in the species with eugenol content, adding value to the food industry, being able to be incorporated into new functional food or food biofilms for preservation or contributing to the control of chronic and neglected diseases.

Keywords: *Ocimum* spp. *Curcuma longa*. Chemical. Antioxidant. *Aedes aegypti*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	<i>Ocimum x citriodorum</i>	25
Figura 2 –	<i>Ocimum gratissimum</i> L.....	26
Figura 3 –	<i>Ocimum campechianum</i>	27
Figura 4 –	<i>Ocimum selloi</i> Benth.....	27
Figura 5 –	<i>Ocimum tenuiflorum</i>	28
Figura 6 –	<i>Ocimum basilicum</i> variedade italiano.....	29
Figura 7 –	<i>Ocimum basilicum</i> variedade branco.....	30
Figura 8 –	<i>Ocimum basilicum</i> L. cultivar Maria Bonita.....	30
Figura 9 –	<i>Ocimum basilicum</i> variedade bola.....	31
Figura 10 –	<i>Ocimum basilicum</i> variedade lima.....	31
Figura 11 –	<i>Ocimum basilicum</i> variedade licorice.....	32
Figura 12 –	<i>Ocimum basilicum</i> variedade canela.....	32
Figura 13 –	<i>Ocimum basilicum</i> x <i>thyrsoiflorum</i>	33
Figura 14 –	<i>Ocimum basilicum</i> variedade greco a palla.....	33
Figura 15 –	Representação da estrutura química do isopreno.....	34
Figura 16 –	Via biossintética dos principais percussores da classe dos terpenos.....	35
Figura 17 –	Representação das estruturas dos principais constituintes presentes no manjeriço.....	36
Figura 18 –	Representação de estruturas químicas de alguns constituintes majoritários do manjeriço.....	37
Figura 19 –	Representação da estrutura do ácido ursólico.....	42
Figura 20 –	<i>Curcuma longa</i> variedade vermelha e seu rizoma.....	43
Figura 21 –	<i>Curcuma longa</i> variedade branca e seu rizoma.....	43
Figura 22 –	Representação de estruturas químicas de alguns constituintes químicos majoritários de <i>C. longa</i>	48
Figura 23 –	Mecanismo de ação dos antioxidantes naturais.....	50
Figura 24 –	Representação de estrutura química do DPPH.....	55
Figura 25 –	Reação antioxidante por DPPH.....	55
Figura 26 –	Reação de redução do Radical ABTS.....	56

Figura 27 – Representação da estrutura química do beta-caroteno.....	57
Figura 28 – Representação da estrutura química do ácido linoléico.....	57
Figura 29 – Reação da oxidação do β -caroteno/ácido linoleico.....	58
Figura 30 – <i>Artemia salina</i>	62
Figura 31 – Esquema da degradação da acetilcolina pela acetilcolinesterase na fenda sináptica.....	64
Figura 32 – Representação estrutural da fisostigmina e rivastigmina.....	65
Figura 33 – Metamorfose completa do <i>Aedes aegypti</i>	66
Figura 34 – Transmissão do <i>Aedes aegypti</i>	67

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 –	Levantamento da composição química de óleos essenciais de <i>Ocimum</i> (Manjeriçã) em diversas partes do mundo.....	38
Quadro 2 –	Composição química de óleos essenciais do rizoma do açafrã em diversas partes do mundo.....	45
Quadro 3 –	Substâncias antioxidantes.....	52
Quadro 4 –	Levantamento bibliogrãfico da atividade antioxidante (Cl ₅₀) de óleos essenciais e extratos de manjeriçã, segundo diferentes autores.....	59
Quadro 5 –	Exsicatas das plantas de manjeriçã e açafrã.....	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Rendimento dos óleos essenciais de <i>Ocimum</i> spp.....	78
Tabela 2 –	Constituintes químicos de óleos essenciais de <i>Ocimum</i> spp.....	79
Tabela 3 –	Constituintes químicos de óleos essenciais de <i>Ocimum basilicum</i> L. e suas variedades.....	83
Tabela 4 –	Potencial antioxidante de óleos essenciais de espécies do gênero <i>Ocimum</i>	85
Tabela 5 –	Teste de letalidade contra <i>Artemia salina</i> e atividade antiacetilcolinesterase de óleos essenciais de <i>Ocimum</i> spp.....	91
Tabela 6 –	Atividade Larvicida de óleos essenciais de <i>Ocimum</i> spp. contra <i>Aedes aegypti</i>	94
Tabela 7 –	Teor de ácido ursólico por CLAE em folhas de <i>Ocimum</i> spp.....	99
Tabela 8 –	Composição química dos óleos essenciais de <i>Curcuma longa</i> variedade vermelha e variedade branca.....	101
Tabela 9 –	Perfil fitoquímico dos extratos etanólicos de <i>Curcuma longa</i>	102
Tabela 10 –	Teores de fenóis totais, flavonóides e carotenoides totais dos extratos etanólicos de <i>Curcuma longa</i>	103
Tabela 11 –	Potencial antioxidante de óleos essenciais e extratos etanólicos de <i>Curcuma longa</i>	104
Tabela 12 –	Toxicidade frente à <i>Artemia salina</i> e inibição de AChE da <i>Curcuma longa</i> variedade vermelha e variedade branca.....	105
Tabela 13 –	Atividade larvicida da <i>Curcuma longa</i> contra <i>Aedes aegypti</i>	106

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –	Correlação entre conteúdo de eugenol e atividade antioxidante, segundo métodos DPPH e ABTS.....	87
Gráfico 2 –	Cromatograma do ácido ursólico.....	97
Gráfico 3 –	Espectro de UV do ácido ursólico.....	97
Gráfico 4 –	Perfil cromatográfico dos extratos de <i>Ocimum</i> spp.....	98

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

O.	<i>Ocimum</i>
C. longa	<i>Curcuma longa</i>
BHT	Butil-hidroxi-tolueno
BHA	Hidroxi-anisol
TBHQ	terc-butil-hidroquinona
PG	Propil-galato
LQPN	Laboratório de Química de Produtos Naturais
UECE	Universidade Estadual do Ceará
OE	Óleo essencial
CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada a espectrometrias de massas
CLAE	Cromatografia liquida de alta eficiência
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
ABTS	2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-ácido sulfônico
mg	Miligrama
µg	Micrograma
nm	Nanomêtros
mL	Mililitro
IV%	Índice de varredura
CI ₅₀	Concentração de inibição em 50%
CL ₅₀	Concentração letal em 50%
CL ₉₀	Concentração letal em 90%
DMSO	Dimetilsulfóxido
NUVET	Núcleo de Controle de Vetores do Ceará
IAA	Índice da atividade antioxidante
ACHÉ	Acetilcolinesterase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
2	OBJETIVOS.....	21
2.1	Geral.....	21
2.2	Específico.....	21
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	22
3.1	Ervas e especiarias: perspectiva Histórica, mercado global e aspectos gerais.....	22
3.2	Manjeriço (<i>Ocimum</i> spp.).....	24
3.2.1	<i>Espécies e Variedades – Aspectos Botânicos</i>	24
3.2.1.1	<i>Ocimum x citriodorum</i>	25
3.2.1.2	<i>Ocimum gratissimum</i>	26
3.2.1.3	<i>Ocimum campechianum</i>	26
3.2.1.4	<i>Ocimum selloi</i> Benth.....	27
3.2.1.5	<i>Ocimum tenuiflorum</i>	28
3.2.1.6	<i>Ocimum basilicum</i> L.....	28
3.2.2	<i>Constituintes químicos de Ocimum spp</i>	34
3.3	Açafrão (<i>Curcuma longa</i>).....	42
3.3.1	<i>Botânica e variedades</i>	42
3.3.2	<i>Constituintes químicos de Curcuma longa</i>	44
3.4	Potencial biológico e aplicações biotecnológicas de óleos essenciais e extratos alcóolicos de manjeriço e açafrão.....	48
3.4.1	<i>Atividade antioxidante e aplicações tecnológicas de óleos essenciais e extratos alcoólicos de Ocimum spp. e Curcuma longa</i>	48
3.4.2	<i>Toxicidade por Artemia salina de óleos essenciais e extratos alcoólicos de Ocimum spp. e Curcuma longa</i>	61
3.4.3	<i>Atividade antiacetilcolinesterase de óleos essenciais e extratos alcoólicos de Ocimum spp. e Curcuma longa</i>	63
3.4.4	<i>Atividade larvicida de óleos essenciais e extratos alcoólicos de Ocimum spp. e Curcuma longa contra Aedes aegypti</i>	65
4	METODOLOGIA.....	69

4.1	Local do Estudo.....	69
4.2	Material vegetal.....	69
4.3	Extração dos óleos essenciais.....	70
4.4	Preparo dos extratos de <i>Ocimum</i> spp. e <i>Curcuma longa</i>	70
4.5	Análise química dos óleos essenciais por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM).....	71
4.6	Análise química dos extratos de <i>Ocimum</i> spp. por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	71
4.7	Análises fitoquímica e quantificação química dos extratos etanólico de açafrão.....	72
4.7.1	Perfil fitoquímico – Teste qualitativo.....	72
4.7.2	Determinação de fenóis totais.....	72
4.7.3	Determinação de flavonoides.....	72
4.7.4	Determinação de carotenóides totais.....	73
4.8	Potencial antioxidante.....	73
4.8.1	Capacidade de captura de radical livre estável 2,2'-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH).....	73
4.8.1.1	Índice de Atividade Antioxidante.....	74
4.8.2	Método antiradical ABTS (2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-ácido sulfônico)	74
4.8.3	Sistema β -Caroteno/ácido linoleico.....	75
4.9	Toxicidade frente à <i>Artemia salina</i>	75
4.10	Atividade antiacetilcolinesterase (qualitativo e quantitativo).....	76
4.11	Larvicida contra <i>Aedes aegypti</i>	76
4.12	Análises Estatísticas.....	77
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	78
5.1	Óleos essenciais de <i>Ocimum</i> spp.....	78
5.2	Extratos de variedades de <i>Ocimum</i> spp. para Quantificação de Ácido Ursólico por CLAE.....	96
5.3	Óleos essenciais e extratos de <i>Curcuma longa</i> variedade vermelha e variedade branca.....	100
6	CONCLUSÕES.....	108
7	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	109

REFERÊNCIAS.....	110
ANEXO A – CROMATOGRAMAS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>Ocimum spp</i>.....	133
ANEXO B – Curva de calibração da determinação de Ácido ursólico por CLAE.....	137
ANEXO C – CROMATOGRAMA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>Curcuma longa</i>.....	138
ANEXO D – ARTIGOS SUBMETIDOS.....	139

1 INTRODUÇÃO

As ervas e as especiarias têm sido usadas desde os tempos mais remotos não só devido suas propriedades aromáticas como para conservação de alimentos. Notavelmente, é indispensável em pratos culinários por conferir sabor marcante, desempenhando papel fundamental por possuir várias propriedades medicinais e interessantes à saúde humana.

O termo botânico especiaria designa uma série de produtos de origem vegetal, casca, botões, flores, frutos, folhas, rizomas, raízes, sementes ou estigmas, que apresenta característica comum de conferir sabores e odores agradáveis aos alimentos. O uso no passado servia para ressaltar o sabor, mascarar o estado de decomposição dos alimentos, e como medicamentos. O termo "erva" é usado como um subconjunto de especiarias e refere-se a plantas com folhas aromáticas. E, podem ser muitas vezes usadas secas ou em um estado mais completo, como exemplo, na forma de extratos e como óleos essenciais extraídos por destilação (FAO, 2005; DUARTE, 2014).

As especiarias fornecem macro e micronutrientes em uma dieta habitual, e mais especialmente, também apresentam os metabólitos secundários, denominados compostos bioativos de alimentos, que inspirou no Japão, em 1980, o termo alimentos funcionais (CARVALHO et al., 2006), por exercer influência na redução do risco de doenças cardiovasculares, cânceres, distúrbios metabólicos, doenças neurodegenerativas e enfermidades inflamatórias (CARRATU; SANZINI, 2005; DUARTE, 2014).

O gênero *Ocimum* pertencente à família Lamiaceae é caracterizado por uma grande variabilidade na morfologia e quimiotipos de regiões tropicais e subtropicais da Ásia, África, Américas Central e Sul, gerando um grande número de subespécies, variedades e formas pela sua facilidade de polinização cruzada, dentre estes: *Ocimum gratissimum* (alfavaca), *Ocimum basilicum* L., *Ocimum tenuiflorum*, *Ocimum selloi* Benth (elixir paregórico), espécies que produzem óleos essenciais ricos em metil-chavicol, metil-cinamato, eugenol, citral, linalol, timol, cânfora, pineno e taninos com grande valor econômico no desenvolvimento de fármacos, alimentos, perfumes e cosméticos (PEREIRA; MOREIRA, 2011; VELOSO, 2012; BORGES et al., 2012), despertando atenção de pesquisadores por suas propriedades antioxidantes. Vale ressaltar ainda, os extratos de folhas de *Ocimum* ricos em compostos fenólicos

e flavonóides, como o ácido cinâmico, ácido cafeico, o ácido sinápico, e ácido ferúlico (LUZ et al., 2009), e terpenos como o ácido ursólico, que são potentes antioxidantes, por sequestrarem radical livre e serem quelantes de metais (SILVA et al., 2008).

A *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae), nativa do sul e sudeste da Ásia, é uma planta tropical conhecido como curcuma, açafrão-da-terra, açafrão da Índia, batatinha amarela, gengibre dourado ou mangarataia. A parte mais utilizada da planta é o rizoma seco de cor vermelha a laranja, inclusive sendo parte integrante do curry (FREIRE-GONZALEZ; VISTEL-VIGO, 2015). Duas variedades de *Curcuma longa* L. são conhecidas, vermelha e branca, mas pouco estudo químico tem sido registrado para a variedade branca (MATOS, 2015). Esse rizoma oferece óleos essenciais ricos em α -felandreno, p -cinemo, terpinoleno, 1,8-cineol, curcumeno α -zingibereno, tumerol, sabineno, borneol e sesquiterpenos (CHATTOPADHYAY et al., 2004) e pigmentos como curcumina, desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina em seus extratos (SINGH et al., 2011; SUETH-SANTIAGO et al., 2015), conferindo-lhes propriedades anti-inflamatórias (RAMADAN et al., 2011; NONOSE et al., 2014), imunoestimulante (SRIVASTAVA et al., 2011), antioxidante (RAMADAN et al., 2011), anticarcinogênico (LIU et al., 2013) e antimicrobiana (GAIKWARD et al., 2014).

As plantas aromáticas constituem potencial biotecnológico com perspectivas para a Indústria de Alimentos não somente por conferir sabor, odor ou como um intensificador de cor, mas agregando valor funcional que contribua igualmente na preservação de alimentos e no controle de doenças crônicas e doenças negligenciadas. O *Ocimum* é um gênero bem estudado, no entanto, a espécie *O. basilicum* é bem relatado, mas poucos são os estudos que determinam a variedade analisada, e inclusive quanto ao teor de ácido ursólico, mostrando a relevância desse estudo. *Curcuma longa* apresenta significativos relatos com poucos estudos para sua variedade branca. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar as características químicas e as atividades biológicas dos óleos essenciais e extratos alcoólicos das espécies de *Ocimum* spp. (manjerição) e variedades de *Curcuma longa* (açafrão), bem como as potenciais aplicações biotecnológicas.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar as características químicas e as atividades biológicas dos óleos essenciais e extratos alcoólicos das espécies de *Ocimum* spp. (manjeriçã) e variedades de *Curcuma longa* (açafã), bem como as potenciais aplicações biotecnolõgicas.

2.2 Específicos

- Extrair óleos essenciais e obter extratos alcoólicos das espécies de *Ocimum* spp. e *Curcuma longa*.
- Determinar as características químicas dos óleos essenciais de manjeriçã (*Ocimum* spp.) e de açafã (*Curcuma longa* variedades vermelha e branca) por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massas.
- Quantificar o teor de ácido ursólico nas folhas de manjeriçã por cromatografia Líquida de alta eficiência (CLAE).
- Analisar perfil fitoquímico, teor de fenóis totais, flavonoides e carotenóides totais em extratos etanólicos de rizoma de *Curcuma longa* variedades vermelha e branca.
- Avaliar o potencial antioxidante *in vitro* de óleos essenciais de manjeriçã e açafã, e dos extratos etanólicos do rizoma de açafã pelos métodos de DPPH, ABTS e sistema beta-caroteno/ácido linoléico.
- Determinar a capacidade de inibir a enzima acetilcolinesterase e a toxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina* dos óleos essenciais de *Ocimum* spp. e *C. longa*, e extratos etanólico de rizomas de *C. longa*.
- Analisar a atividade larvicida contra o *Aedes aegypti* de óleos essenciais de *Ocimum* spp. e *C. longa*, e extratos etanólico de rizomas de *C. longa*.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Ervas e especiarias: perspectiva histórica, mercado global e aspectos gerais

A história dos condimentos naturais está ligada à história da própria humanidade seja quanto a produção de alimentos ou a cura de doenças. A busca por rotas marinhas entre Índia e China surgiram nos primórdios como elo de troca de especiarias e foi importante para a busca de pimenta-do-reino, cravo-da-india, noz-moscada, canela, orégano, cúrcuma e gengibre, espécies vegetais dentre outras que estabeleceram o comércio de especiarias e guerras no continente asiático (LE COUTER; BURRESON, 2006). Economicamente, muitos países se desenvolveram com o comércio de especiarias, aplicando –as na conservação de alimentos e o uso na medicina tradicional (PARTHASARATHY; CHEMPAKAM; ZACHARIAH, 2008, DUARTE, 2014), como remédios consagrados (ALVES FILHO; DI GIOVANNI, 2000).

No mundo, destaca-se os EUA, União Européia, Japão, Singapura, Arábia Saudita e Malásia como principal mercado. China, Índia, Madagascar, Indonésia, Vietnã, Brasil, Espanha, Guatemala e Sri Lanka são os fornecedores principais. No Brasil, o IEA/APTA (2013) aponta que a exportação de especiarias de janeiro a setembro foi de 192 milhões de dólares em 2012 para 232 milhões de dólares em 2013, sendo que o mercado global de especiarias gira em torno de \$3.67 bilhões (DUARTE, 2014).

Nessa ótica, as especiarias se configuram num patamar de plantas condimentares apreciados por suas propriedades medicinais, palatáveis e aromáticas, que na botânica, não há uma diferenciação precisa, mas, na gastronomia, distinguem-se especiarias de ervas. Chama-se ervas quando utilizamos as folhas, os caules ou as flores. Entretanto, as especiarias são as sementes, as raízes, os frutos, bagas ou as cascas. As ervas são plantas de regiões temperadas, enquanto as especiarias, em sua maioria, são provenientes dos trópicos. Adiciona-se ainda que as ervas geralmente são verdes e de sabor sutil; a coloração das especiarias varia do preto a tons de marrom e vermelho, com sabor marcante e pungente. O sabor das especiarias é proveniente da presença dos óleos essenciais (NORMAN, 2012).

O sabor das especiarias pode ser proveniente também na presença de compostos bioativos que podem ser agrupados em duas categorias: metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários (carboidratos, lipídeos e proteínas) são substâncias amplamente distribuídas na natureza e necessárias para a fisiologia

da célula vegetal, além de originarem os metabólitos secundários. Os metabólitos secundários são substâncias que garantem a sobrevivência da planta no seu ecossistema, sendo responsável pela atração dos polinizadores, adaptação química das plantas à pressão ambiental, e, ação contra microrganismos, insetos e predadores superiores. O metabolismo secundário é responsável pela produção de compostos ativos, como os alcalóides, terpenos, saponinas, polifenóis e taninos que apresentam propriedades terapêuticas (CHAGAS, 2004), estando presentes em óleos essenciais extraídos por arraste a vapor e extratos vegetais.

Nos últimos anos, os óleos essenciais e extratos de plantas medicinais têm atraído um grande interesse, devido ao seu potencial antioxidante e outras atividades biológicas (HUSSAIN et al., 2008).

Os óleos essenciais são partes do metabolismo secundário que apresentam uma complexidade contendo centenas de compostos orgânicos, dentre estes: mono e sesquiterpenos e fenilpropanóides, metabólitos que conferem suas características organolépticas. Seus constituintes químicos podem pertencer às mais diversas classes de compostos, porém os terpenos são as classes mais encontradas. Os fenilpropanóides, metabólitos derivados da rota do ácido chiquímico, também são frequentemente encontrados como constituinte dos óleos essenciais (CASTRO et al., 2010; VELOSO et al., 2014).

No âmbito mundial, o Brasil é o quarto maior exportador, depois dos EUA, França e Reino Unido. Os valores exportados pelo setor nacional de óleos essenciais decorreram da comercialização de óleos essenciais cítricos, em especial do óleo essencial de laranja. Há uma discrepância considerável no valor unitário/tonelada pago aos exportadores brasileiros, cerca de 10 vezes menor (SANTOS, 2007).

Dos métodos mais utilizados para obtenção dos óleos essenciais, a destilação por arraste a vapor é um processo tradicional para a obtenção a partir das folhas e caules de plantas aromáticas, e usada pela indústria por ser barata quando comparada a extração com fluido supercrítico (CASSEL; VARGAS, 2006). Steffens (2010) explica que a destilação por arraste a vapor consiste na vaporização a temperaturas inferiores, ocorrendo a ebulição de cada um dos componentes voláteis por efeito de uma corrente direta de vapor de água, os vapores gerados na caldeira permeiam pelo material vegetal contido no extrator e são resfriados no condensador, onde ocorre a liquefação e finalmente a separação em um decantador, conhecido como vaso florentino.

Os extratos vegetais de plantas são misturas da planta com solventes diversos (água, etanol, metanol, acetato de etila, clorofórmio), podendo ser obtidos por vários métodos para obtenção do extrato líquido como a maceração e percolação (técnicas em que o solvente fica em contato estático ou dinâmico com a planta) e a turbólise (emprego de um equipamento tipo um liqüidificador industrial, que pulveriza as partes vegetais e lava os conteúdos celulares). Quando o extrato líquido não é o objetivo final, este é filtrado e evaporado para eliminação do solvente, fornecendo o extrato seco (MARQUES, 2005).

Atualmente, os extratos são usados como antioxidantes pela Indústria Alimentícia. Evidências científicas permitem afirmar que propriedades antioxidantes de vegetais e outros benefícios se devem as substâncias bioativas que incluem os organossulfurados, fenólicos (tocoferóis, flavonóides e ácidos fenólicos), terpenos, os carotenóides e o ácido ascórbico (DEL RE; JORGE, 2012).

3.2 Manjeriço (*Ocimum* spp.)

3.2.1 Espécies e Variedades – Aspectos Botânicos

O gênero *Ocimum* (Lamiaceae), popularmente conhecido de manjeriço, tem cerca de 150 espécies. Geralmente, são plantas herbácea ou arbustiva, anual ou perene, aromáticas, de porte pequeno com mais de 40 cm de altura. Espécies como *Ocimum canum* Sims, *Ocimum gratissimum* L., *Ocimum suave* Willd., *Ocimum basilicum* L., *Ocimum minimum* L. e *Ocimum kliman ex-daschaicrum* Baker Gürke são encontradas em regiões tropicais e subtropicais da Ásia, África, América Central e América do Sul. A África é o principal centro de diversidade (KWEE; NIEMEYER, 2011; HASSANE, 2011). O *O. basilicum* foi trazido para o Brasil pelos imigrantes europeus no século XIX e cultivado principalmente na região sul e sudeste do país (JANUZZI, 2013).

Dentre as espécies do gênero *Ocimum*, o *O. basilicum* L. é a mais cultivada comercialmente pela utilização de suas folhas verdes como ervas aromáticas, usadas frescas ou secas como condimento, ou na obtenção de óleo essencial, importante na Indústria de perfumaria e na aromatização de alimentos e bebidas (MAROTTI et al., 1996; SANTOS, 2007).

As diferentes espécies ou variedades de manjeriço podem ser classificadas em função do aroma: doce, limão, cinamato ou canela, cânfora, anis e cravo (BLANK et al., 2004). Quanto às características morfológicas da planta, a nomenclatura do manjeriço pode ser dependendo do porte, formato da copa, tamanho e coloração da folhagem. As espécies de maior importância na produção de óleos essenciais são *O. gratissimum* (alfavaca), *O. basilicum* (manjeriço branco), *O. tenuiflorum* (manjeriço santo), *O. selloi* Benth (elixir paregórico) (PEREIRA; MOREIRA, 2011).

3.2.1.1 *Ocimum x citriodorum*

Uma cultivar de manjeriço que é caracterizado por aroma cítrico, é 'Thai Manjeriço limão', que tem um sabor semelhante ao bálsamo (MAKRI; KINTZIOS, 2008). A planta apresenta altura de 31 cm, floração de 53 a 58 dias; folha larga e de forma redonda (MORALES; SIMON, 1997). *Ocimum africanum*, também referido como *O. x citriodorum* (Figura 1) seria produto de um cruzamento de *O. americanum* e *O. basilicum*, segundo relatado por Paton e Putievsky (1996).

Figura 1 – *Ocimum x citriodorum*



Fonte: <http://www.herbgarden.co.za/mountainherb/herbinfo.php?id=125>

3.2.1.2 *Ocimum gratissimum*

O. gratissimum (Figura 2) conhecido por alfavaca cravo, é originária da Ásia e subespontânea em todo o Brasil. O nome alfavaca é dado a várias plantas do mesmo gênero pela diversidade de quimiotipos, se caracterizando pelas semelhanças umas com as outras, aroma forte e agradável que lembra o cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllus* Spreng). As folhas são ovaladas-lanceoladas, de bordos duplamente dentados, membranáceas, de 4 a 8 cm de comprimento. As flores são pequenas, de coloração roxo-pálidas, dispostas em ramos paniculados eretos e geralmente em grupos de três (MATOS, 2000).

Figura 2 – *Ocimum gratissimum* L.



Fonte: Próprio autor

3.2.1.3 *Ocimum campechianum*

O. campechianum (Figura 3) é originário da América Central, Sul e Índias Ocidentais, conhecido também como *Ocimum micranthum* Willd (LINO et al., 2005). No Brasil, aos 60 dias apresenta altura de 34,86 cm, folhas finas e flores brancas a azulada (PEREIRA; MOREIRA, 2011).

Figura 3 – *Ocimum campechianum*

Fonte: Próprio autor

3.2.1.4 *Ocimum selloi* Benth

O. selloi Benth (Figura 4), erva nativa da América do Sul, é conhecido como 'alfavaca-de-anis', anis, 'alfavaquinha' e 'elixir paregorigo' (VIEIRA; SIMON, 2000). No Brasil, essa planta apresenta altura de 40 a 80 cm, folhas simples, opostas e mebranáceas com comprimento variando de 4 a 7 cm, e flores curtas e na cor branca (PEREIRA; MOREIRA, 2011).

Figura 4 – *Ocimum selloi* Benth

Fonte: Próprio autor

3.2.1.5 *Ocimum tenuiflorum*

O *O. tenuiflorum* (Figura 5), originário da Índia, é um manjericão cujo nome comum: alfavaca da Índia, manjericão santo, caracterizado por um arbusto anual pequeno. As folhas são pequenas, apresentando cheiro forte e agradável. As flores têm coloração purpúrea e sementes muito pequenas (LORENZI; MATOS, 2002; PEREIRA; MOREIRA, 2011).

Figura 5 – *Ocimum tenuiflorum*



Fonte: Próprio autor

3.2.1.6 *Ocimum basilicum* L.

Carovic-Stanko et al. (2011) construíram um dendrograma com base nas características morfológicas das variedades de *Ocimum basilicum*. Os seis grupos foram: I- manjericões de folhas pequenas; II-manjericões tipo “Folha de Alface”; III-manjericões verdadeiros; IV- manjericões roxos (A); V-manjericões roxos (B) e VI-manjericões roxos (C). No grupo I, estariam os manjericões anões e os tipos “Folha Fina”. No grupo II, “Folha de Alface”, Mamute e assemelhados. No grupo III basicamente, o “Genovese” e “Sweet Basil”. No grupo IV, os roxos do tipo *O. basilicum* var. *purpurascense* e quatro outros assemelhados. No grupo V, também roxos, destacando-se: Dark opal e Rubin. No grupo VI, roxos dos tipos: Purple ruffles e Moulin Rouge.

O *O. basilicum* variedade italiano (Figura 6) é uma planta vigorosa, folhosa e caule bem ramificado, caracterizado por uma altura que varia de 40 a 50 cm, folhas grandes, de cor verde clara e flores agrupadas em racimos que floram tardiamente. O uso mais conhecido desse manjericão é na culinária, para temperar vários tipos de alimentos (LORENZI; MATOS, 2002).

Figura 6 – *Ocimum basilicum* variedade italiano



Fonte: <http://www.matosdecomer.com.br/2016/01/manjericao-zaatar-e-alfavacao.html>

O. basilicum variedade branco é um subarbusto aromático, anual, ereto, muito ramificado, de 30 a 60 cm de altura, muito cultivado em quase todo o Brasil (Figura 7). Finamente estriado, ramoso, verde claro a avermelhado na base, folhas simples, membranáceas, com margens onduladas, e nervuras salientes, ovaladas e verdes claras, com cheiro forte e ardente (PEREIRA; MOREIRA, 2011).

Figura 7 – *Ocimum basilicum* variedade branco



Fonte: Próprio autor

O *O. basilicum* cultivar "Maria Bonita" (Figura 8) é o primeiro cultivar de manjeriço registrado no Registro Nacional de Cultivares (RNC) pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento no Brasil, e foi obtida a partir do programa de melhoramento genético da Universidade Federal de Sergipe. Apresenta altura de 45,7 cm, folhas de 6,5 cm de comprimento, flores azuladas a lilás e floração em 80 dias (BLANK et al., 2007; PEREIRA; MOREIRA, 2011).

Figura 8 – *Ocimum basilicum* L. cultivar Maria Bonita



Fonte: Próprio autor

O *O. basilicum* L. é uma planta com mais de 30 cm de altura, lenhosa ou sublenhosa, de aparência tenra; folhas ovaladas geralmente com mais de 1,4 cm de comprimento, iguais a todas as variedades. As inflorescências são do tipo espiga e compostas por flores brancas, lilas ou avermelhadas (como mostrado nas figuras 9, 10, 11, 12 e 13 para as variedades bola, lima, licorice, canela e *O. basilicum* x *thrysiflorum*, respectivamente) (SANTOS; SANTOS, 2014).

Figura 9 – *Ocimum basilicum* variedade bola



Fonte: Próprio autor

Figura 10 – *Ocimum basilicum* variedade lima



Fonte: http://plantamundo.com/produto_completo.asp?IDProduto=564

Figura 11 – *Ocimum basilicum* variedade licorice



Fonte: Próprio autor

Figura 12 – *Ocimum basilicum* variedade canela



Fonte: http://www.theseedsmaster.com/index.php?route=product/product&product_id=5

Figura 13 – *Ocimum basilicum* x *thyrsiflorum*



Fonte: <http://www.burpee.com/herbs/basil/basil-siam-queen-prod000461.html>

O. minimum é denominado também *O. basilicum* var greco, é a planta de *O. basilicum* que não cresce além dos 30 cm de altura, sendo lenhosa e compacta com folhas muito pequenas, habitualmente menos de 1 mm (Figura 14) (SANTOS; SANTOS, 2014).

Figura 14 – *Ocimum basilicum* variedade greco palla



Fonte: <http://www.tocadoverde.com.br/manjericao-grecco-a-palla.html>

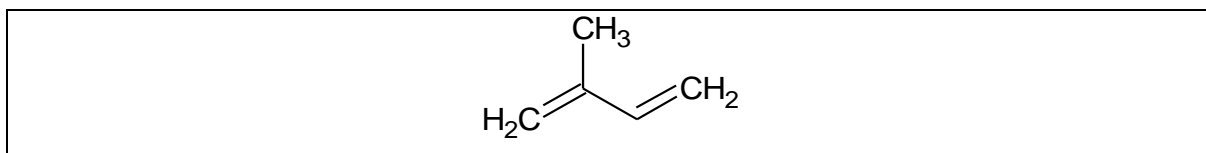
3.2.2 Constituintes químicos de *Ocimum spp.*

A constituição química dos óleos essenciais varia pela existência dos seguintes compostos: hidrocarbonetos terpênicos, terpenóides, álcoois terpênicos simples, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos e cumarinas (VENANCIO, 2006).

Os terpenos podem diferir tanto em estrutura quanto em forma, sendo formados pela condensação de unidades de isopreno (C5) (Figura 15) pela via do acetato-mevalonato e compartilhando a sua origem com os ácidos graxos. A diferença deste último ocorre pela presença de ramificações e estrutura cíclica (SIMÕES et al., 1994).

Os terpenos são classificados pelo número de unidades presentes no seu esqueleto de carbono, sendo estes: monoterpênicos (C10), sesquiterpenos (C15) e diterpenos (C20) (BAKKALI et al., 2008). Adicionalmente, quando apresenta o oxigênio, denomina-se de terpenóides (TOSCAN, 2010).

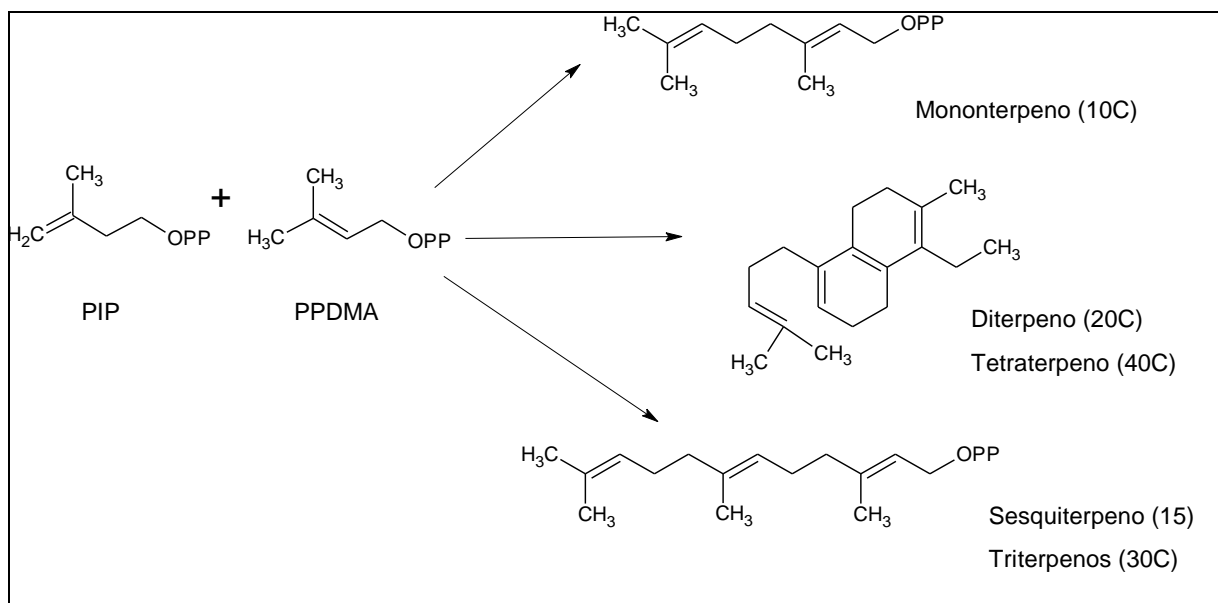
Figura 15 – Representação da estrutura química do isopreno



Fonte: Próprio autor

Os terpenos são metabolitos resultantes da condensação do pirofosfato de isopentenila (PIP) e do pirofosfato de dimetilalila (PPDMA), que atuam como precursores na biossíntese de moléculas em diversos processos, nomeadamente na manutenção da membrana celular. O PIP e PPDMA utilizados para a formação de terpenos são constituintes da via do mevalonato (CHAPPELL, 2002; EISENREICH, 2004). A Figura 16 mostra o esquema biossintética da classe dos terpenos.

Figura 16 – Via biossintética dos principais precusores da classe dos terpenos



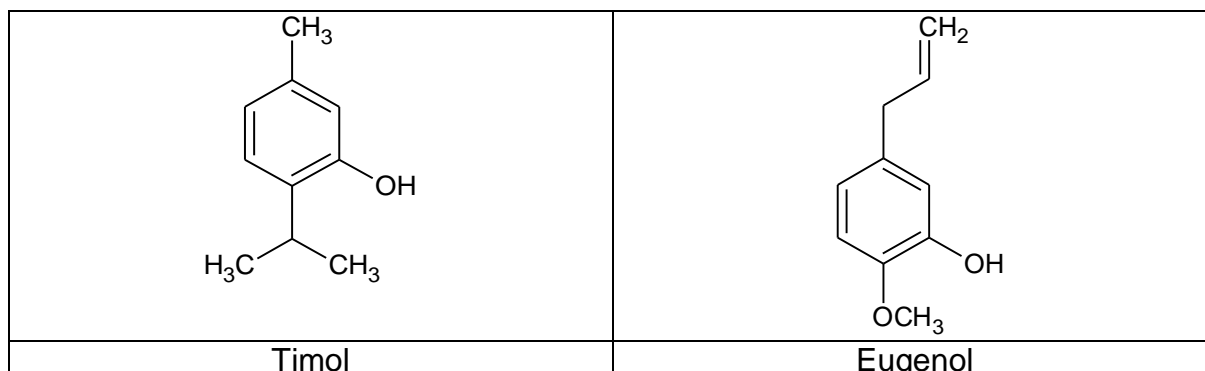
Fonte: Próprio autor

Vale destacar que os diterpenos são encontrados apenas em óleos extraídos com solventes orgânicos (STEINEGGER; HANSEL, 1992).

Os fenilpropanóides são substâncias formadas a partir do ácido chiquímico, que forma as unidades básicas dos ácidos cinâmico e p-cumárico. Esses últimos, por meio de reduções enzimáticas produzem propenilbenzenos e/ou alilbenzenos e, por meio de oxidações com degradação das cadeias laterais, formam aldeídos aromáticos. Ciclizações enzimáticas intramoleculares produzem cumarinas (SIMÕES; SPITZER, 2000).

Nessa visão, a composição dos óleos essenciais extraídos de folhas e de ápices do manjeriço pode apresentar variações de acordo com a constituição genética da planta e a localização geográfica. Outro aspecto que envolve algumas espécies do gênero *Ocimum* está relacionado a variação da cor nas variedades predominantemente púrpura, geralmente diferenciando no teor de timol ou eugenol (Figura 17). Entretanto, essa característica desperta interesse dos pesquisadores devido ao potencial biológico (SANTOS, 2007; MARTINS, 2010).

Figura 17 – Representação das estruturas dos principais constituintes presentes no manjeriço.



Fonte: Próprio autor

A variedade de espécies do gênero *Ocimum* e sua composição química tem sido relatada em diversos trabalhos, sendo este apresentado no Quadro 1 mediante levantamento de 2000 a 2017.

Em estudo sobre a composição química do óleo essencial de 24 espécies frescas e secas de *O. basilicum*, Chalchat, Garry e Sidibe (1999) identificaram 53 componentes. Todas as espécies de plantas tiveram presença de linalol com quatro subtipos: Linalol (60-70%) e eugenol (5-15%); linalol (<60%) e eugenol; linalol e metil eugenol ou linalol e metil chavicol (Figura 18).

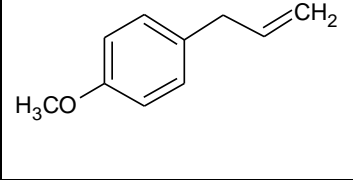
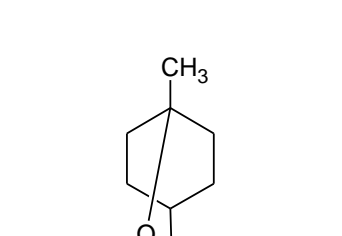
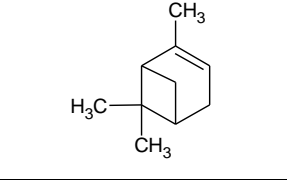
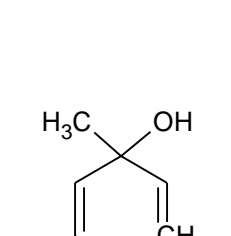
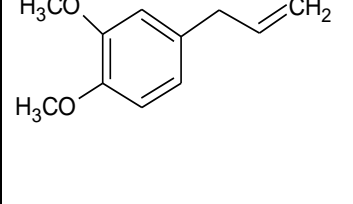
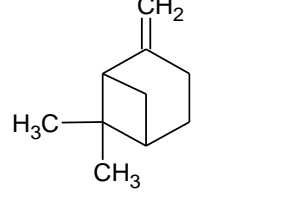
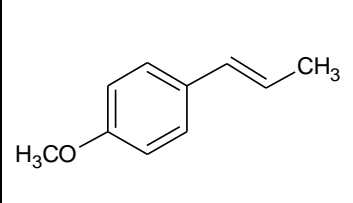
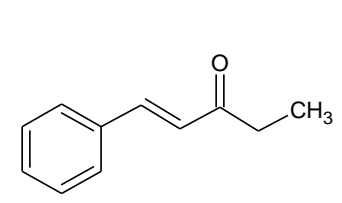
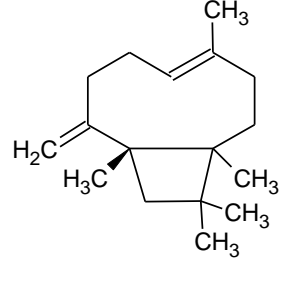
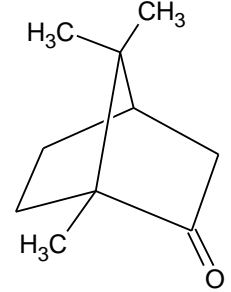
As folhas e inflorescências de alfavaca (*O. gratissimum*) contêm, respectivamente 3,6% e 0,02% de óleo essencial, cujo teor de eugenol alcança em cada um 77,3% e 50,17%. Os óleos essenciais de *O. gratissimum* podem ser divididos em dois grupos, o primeiro com alto teor de eugenol, e o segundo com alto teor de timol (Figura 17) (VIEIRA et al., 2002).

O óleo essencial do manjeriço Maria Bonita (*O. basilicum*) apresenta metil-chavicol, linalol, lineol, cineol, eugenol, timol, pineno (Figura 18) (BLANK et al., 2007). E, a variação retratada por Silva et al. (2003), ao analisarem *O. basilicum* L., *O. basilicum var minimum* e *O. basilicum var purpurascens*, em manjeriço cultivado no Nordeste do Brasil constatou uma composição química do óleo extraído de *O. basilicum var. minimum* com predomínio de metil chavicol (estragol), enquanto nas demais espécies predomina o linalol (Figura 18) (JANUZZI, 2013).

No Brasil, as espécies mais estudadas foram os óleos essenciais de *O. basilicum* (Maria Bonita), *O. gratissimum*, *O. selloi* e *O. basilicum var. purpurascen*

(Quadro 1), que apresentaram majoritariamente o trans-anetol, estragol, eugenol e linalol (Figura 18).

Figura 18 – Representação de estruturas químicas de alguns constituintes químicos majoritários do manjeriço (*Ocimum spp.*).

			
Metil - chavicol		α -pineno	
	1,8-cineol		Linalol
Metil- eugenol		β -pineno	
			
Anetol	Cinamato de metila		

Fonte: Próprio autor

Em outras localidades, EUA, Irã, Índia, Turquia, Iraque e Paquistão, os óleos essenciais apresentaram maior teores de linalol, timol, 1,8-cineol e acetato de geranial (Figura 18), sendo estudado as folhas de *O. tenuiflorum*, *O. campechianum*, *O. selloi*, *O. basilicum* e *O. gratissimum* (Quadro 1).

Quadro 1 – Levantamento da composição química de óleos essenciais de *Ocimum* (Manjeriçã) em diversas partes do mundo.

Espécie (Origem)	Caracterização química	Autores
<i>O. basilicum</i> L. <i>O. gratissimum</i> <i>O. sauve</i> L. (Republica de Guiné)	Linalol (69%), eugenol (10%) Timol (46%), p-cimeno (12%) p-cimemo (59%), α -tujeno (10%)	KÉITA et al. (2000)
<i>O. americanum</i> <i>O. basilicum</i> <i>O. campechianum</i> <i>O. gratissimum</i> <i>O. selloi</i> (EUA)	cinamato de metila (65,5%), linalol (49,7%), metil chavicol (47%) e 1,8-cineol (22%) β -cariofileno (78,7%), 1,8-cineol (62%) Eugenol (40-66%) e timol (31%).	VIEIRA; SIMON (2000)
<i>O. basilicum</i> (Turquia)	Cânfora, borneol, anetol, α -pineno, β - pineno, metil chavicol, e geraniol, variando de 0,1 a 5,4%	NACAR; TANSI (2000)
<i>O. selloi</i> (Minas Gerais)	trans-anetol (41,34%; 45,42%; 58,59%) e metil chavicol (27,10%; 24,14%; 29,96%).	MORAES et al. (2002)
<i>O. basilicum</i> L. <i>O. minimum</i> (Turquia)	Chavicol (78,02%) Acetato geranial (69,48%) e Eugenol (0,12%)	OZCAM; CHALCHAT (2002)
<i>O. selloi</i> (Ponta Grossa, MG)	Estragol (55,3%); trans-anetol (34,2%); cis-anetol (3,9%)	PADILHA-PAULA; GOMES-CARNEIRO; PAUMAGARTTEN (2003)

Cont. Quadro 1

Espécie (Origem)	Caracterização química	Autores
12 variedades de <i>Ocimum</i> spp. (Colômbia)	Cinamato de metila (35-80%)	VIÑA; MURILLO (2003)
<i>O. basilicum</i> (Tehran)	linalol (65,25%), β -eudesmol (4,08%)	OMIDBAIGI; HASSANI; SEFIDKON (2003)
<i>O. tenuiflorum</i> (Índia)	Metil eugenol (72,97% a 78,40%) e eugenol (4,36% a 8,48%).	KOTHARI; BHATTACHARRYA; RAMESH (2004)
<i>O. basilicum</i> (Maria Bonita), EUA	Linalol (78,12%), 1,8-cineol (8,77%) e Geraniol (8,27%)	BLANK et al. (2007)
<i>O. basilicum</i> (Croácia)	Eugenol (5,00%), linalol (28,6%) e estragol (21,7%)	POLITEO; JUKIC; MILOS (2007)
<i>O. gratissimum</i> (Viçosa)	Eugenol (53,9%)	PEREIRA; MAIA (2007)
<i>O. gratissimum</i> (Goiânia)	Eugenol (57,82%), α -bisaboleno (17,19%), γ -terpineno (13,06%)	FRANCO et al. (2007)
<i>O. basilicum</i> (Mersin)	Estragol (52,6%); Limoneno (13,64%), Eugenol (0,12%)	CHALCHAT; OZCAM (2008)
<i>O. basilicum</i> (Paquistão)	Linalol (56,7% a 60,6%); Monoterpenos (68,9%).	HUSSAIN et al. (2008)

Cont. Quadro 1

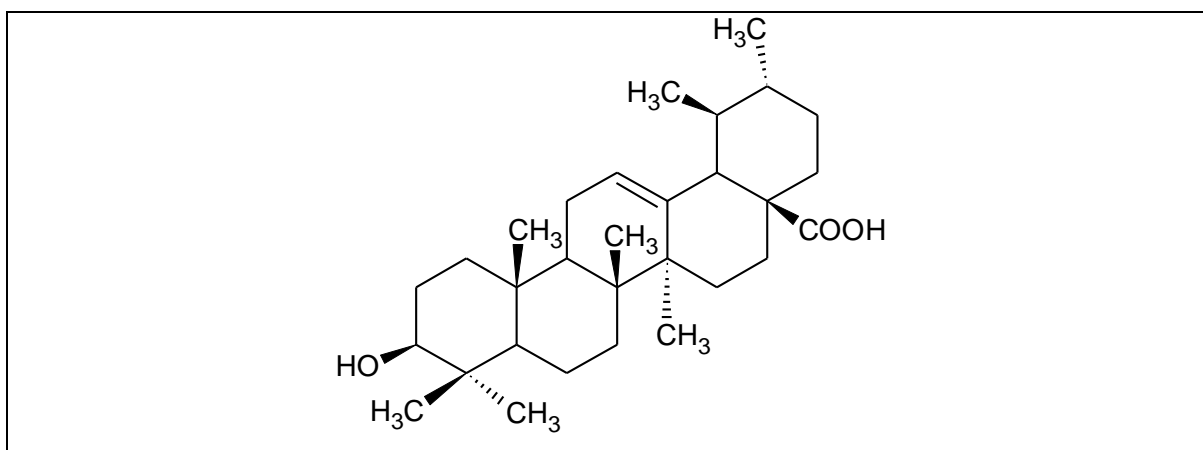
Espécie (Origem)	Caracterização química	Autores
<i>O. basilicum</i> (Índia)	Metil chavicol (39,3%) e metil chavicol (38,3%)	ZHELJAZKOV et al. (2008)
Genótipos de manjeriço (Minas Gerais)	Linalol (60,5% a 64%)	LUZ et al. (2009)
Maria bonita Manjeriço roxo (Tocantins)	E-cinamato de metila (39,23%), Linalol (36,32%) Linalol (47,76%) e Estragol (28,41%)	VELOSO et al. (2014)
<i>O. basilicum</i> L. (Índia)	Metil eugenol (39,3%) e metil chavicol (38,3%)	JOSHI (2014)
<i>O. canum</i> (Índia)	Cânfora (39,77%)	SELVI; THIRUGNANASAMPANDAN; SUNDARAMMAL (2015)
<i>O. basilicum</i> (Oman)	Linalol (69,87%)	AL ABBASY et al. (2015)
<i>O. basilicum</i> (Irã)	Metil chavicol (85,19%), 1,8 cineol (3,96%)	SHARAFATI-CHALESTORI et al. (2015)
<i>O. sanctum</i> (Irã)	Eugenol (24,63%), β - bisaboleno (18,76%)	SAHARKHIZ et al. (2015)
<i>O. basilicum</i> (Iraque)	Eugenol (24,2%), β -bisaboleno (15,4%), α -bisaboleno (10,6%), metil chavicol (11,16%).	KADHIM et al. (2016)

Cont. Quadro 1

Espécie (Origem)	Caracterização química	Autores
<i>O. basilicum</i> (Índia)	Metil chavicol (71,15 a 71,88%) e linalol (24,16 a 24,59%)	PANDEY; PATEL; PATRA (2016)
<i>O. gratissimum</i> (Santa Cruz)	Eugenol (76,83 a 34,68%)	SANTANA et al. (2016)
<i>O. basilicum</i> (Egito)	Estragol (55,95%), 1,8-Cineol (10,56%), metileugenol (10,09%) e linalol (5,57%)	ELSHERBINY; EL-KHATEEB; AZZAZ (2016)
<i>O. basilicum var. purpureum</i>	Metil-chavicol (estragol) (57,3%)	AVETISYAN et al. (2017)
<i>O. basilicum var. thyrsoiflora</i>	Linalol (68,0%)	
<i>O. citriodorum</i> Vis. (Armênia)	Nerol (23,0%), citral (20,7%).	

O manjeriço tem sido amplamente estudado pelo uso histórico e presença dos compostos fenólicos em seus extratos, especialmente (MAKRI; KINTZIOS, 2008; DEL RÉ; JORGE, 2012). Lee e Scagel (2009) caracterizaram o conteúdo de compostos fenólicos do manjeriço e identificaram a presença de ácido chicórico e ácido caftárico. O ácido rosmarínico tem presença em extratos metanólicos de *O. basilicum* L., com acúmulo acima de 6 mg/g (SHIGA et al., 2009). Os extratos metanólicos de oito espécies de *Ocimum* apresentaram presença de ácido ursólico variando de 0,27 a 2,02% (SILVA et al., 2008) (Figura 19).

Figura 19 – Representação da estrutura do ácido ursólico.



Fonte: Próprio autor

3.3. Açafrão (*Curcuma longa*)

3.3.1. Botânica e variedades

Curcuma (família Zingiberaceae) é um gênero que contém 70 espécies historicamente conhecida e utilizada como uma especiaria, conservante de alimentos e material de coloração. *Curcuma longa* L. é distribuído por todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo, sendo utilizado como um remédio caseiro para várias doenças (ABDEL-LATEEF et al., 2016).

A *C. longa* é uma planta herbácea, anual, aromática de folhas grandes longamente, invaginantes e oblongo-lanceoladas. As flores são amareladas, pequenas, dispostas em espigas compridas. As raízes terminam em um rizoma elíptico, de onde partem vários rizomas menores, todos marcados e de brácteas secas. O rizoma mede até 10 cm de comprimento; possuindo variedades com uma

superfície de cores vermelha alaranjada em corte transversal (Figura 20) e branca (Figura 21). Tem cheiro forte agradável e sabor aromático e picante (PEREIRA, 2013; MATOS, 2015).

Figura 20 – *Curcuma longa* variedade vermelha e seu rizoma



Fonte: Próprio autor

Figura 21 – *Curcuma longa* variedade branca e seu rizoma



Fonte: Próprio autor

3.3.2 Constituintes químicos de *Curcuma longa*

O açafrão apresenta quimicamente os compostos fenólicos, como curcuminóides e óleos essenciais. O óleo essencial do açafrão comercial (*Curcuma longa*) foi mais efetivo, considerando seu conteúdo total de compostos fenólicos comparados aos resultados publicados dos extratos metanólicos, solução aquosa e óleo essencial obtido em laboratório (ANTUNES et al., 2012).

Os principais componentes dos óleos essenciais de *Curcuma longa* var. vermelha são turmerona, dehidroturmerona e cetonas aromáticas (zingibereno, alfa-felandreno, sabineno, 1,8-cineol e borneol) em menores proporções (Figura 22) (MATA et al., 2004). A *C. longa* variedade branca apresenta como constituinte majoritário o 1,8-cineol (25,39%), seguido da boldenona (23,17%) (Figura 22) (MATOS, 2015).

O quadro 2 destaca a composição química de óleos essenciais do açafrão em diversas partes do mundo. As representações das estruturas dos constituintes majoritários estão apresentadas na Figura 22.

No Brasil, no estado de Goiás, Paraná, Goiânia e Minas Gerais, os principais componentes majoritários encontrados nos óleos essenciais de *C. longa* variedade vermelha foram α - turmerona, ar-turmerona e β - turmerona (Figura 22). Não houve relatos da composição química da *C. longa* variedade branca no levantamento.

Na Índia, os óleos essenciais de *C. longa* tiveram ar-turmerona, α -turmerona e timol. Na Itália, foram encontrados α - felandreno e terpinoleno. Na China, os óleos essenciais apresentaram ar-turmerona e na Nigéria, tiveram ar – turmerona e α - bisaboleno (Figura 22).

Quadro 2 – Composição química de óleos essenciais do rizoma do açafrão em diversas partes do mundo.

Espécie (Origem)	Caracterização química	Autores
<i>C. longa</i> (Índia)	Ar-tumerona (51,70%)	SINGH; SINGH; MAURYA (2002)
<i>C. longa</i> (Índia)	Mirceno (40,19%), <i>p</i> -cimeno (23,05%)	TRIPATHI et al. (2002)
<i>C. longa</i> (Paraná, Brasil)	Ar-turmerona, α -turmerona e β -turmerona	MANZAN et al. (2003)
<i>C. longa</i> (Índia)	Timol (39,10%), <i>p</i> -cimeno (30,80%), γ -terpineno (23,20%)	SINGH et al. (2004)
<i>C. longa</i> (Roma e Kasturi)	Terpinoleno (87,80%), Mirceno (48,80%) e terpinoleno (10,10%)	BEHURA; SRIVASTAVA (2004)
<i>C. longa</i> (Minas Gerais, Brasil)	Sabineno, 1,8-cineol, 1,4-terpineol, ar-curcúmeno, zingibereno, b-sesquifelandreno e ar-turmerona.	MATA et al. (2004)
<i>C. longa</i> (China)	β -curcumeno (11,48%) e β -sesquifelandreno (9,52%)	TANG; CHEN (2004)
<i>C. longa</i> (Índia)	α -turmerona (44,10%), β -turmerona (18,50%) e ar-turmerona (5,40%)	RAINA; SRIVASTAVA; SYAMSUNDAR (2005)
<i>C. longa</i> (Itália)	α -felandreno (20,42%), α -turmerona (19,80%)	SACCHETTI et al. (2005)
<i>C. longa</i> (Goiânia, Brasil)	Turmerona (28,67%), γ -Z-atlantona (26,10%)	FRANCO et al. (2007)

Cont. Quadro 2

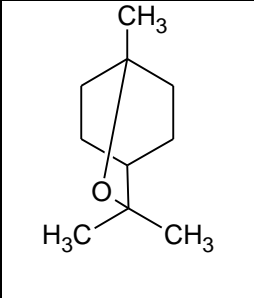
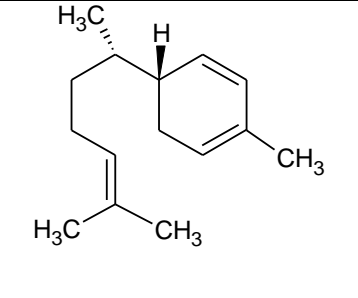
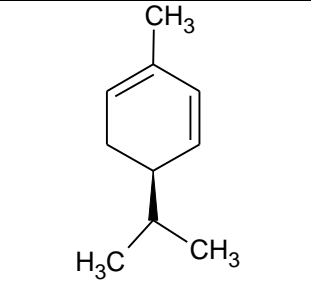
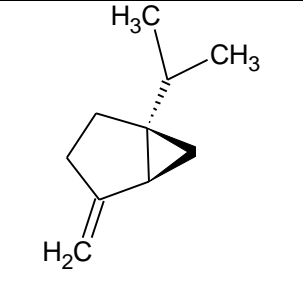
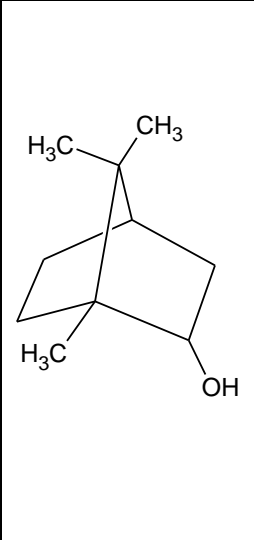
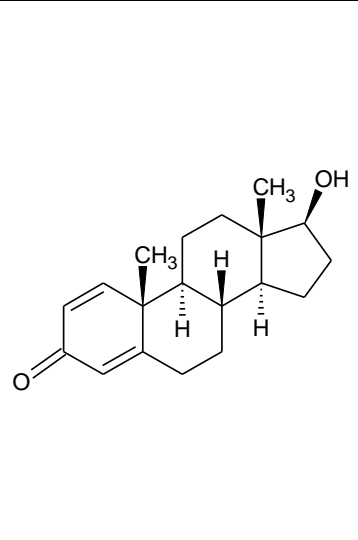
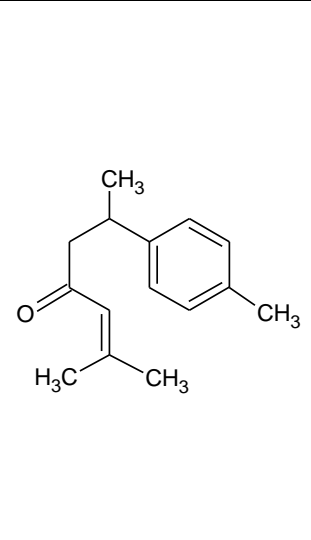
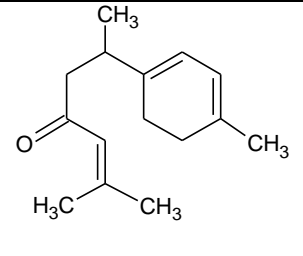
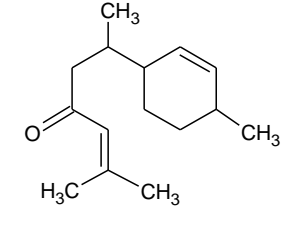
Espécie (Origem)	Caracterização química	Autores
<i>C. longa</i> (Nigéria)	ar-turmerona (44,40%), β -turmerona (26,50%), α -turmerona (20,80%)	AJAIYEOBA et al. (2008)
<i>C. longa</i> (Nigéria)	Alfa- Bisaboleno (13,90%)	USMAN et al. (2009)
Curcuma (Índia)	Ar-turmerona (24,40%), α -turmerona (20,40%), β -turmerona (11,10%)	SINGH et al. (2010)
<i>C. longa</i> (Índia)	ar-turmerona (61,79%), curiona (12,48%) e ar-curcumena (6,11%)	LIJU; JEENA; KUTHAN (2011)
<i>C. longa</i> (Índia)	α -turmerona (33,5%), ar-turmerona (21,0%), β -turmerona (18,90%)	GOUNDER; LINGAMALLU (2012)
<i>C. longa</i> (Goiás, Brasil)	ar-turmerona (33,2%), α -turmerona (23,5%) e β -turmerona (22,7%)	FERREIRA et al. (2013)
Curcuma (Turquia)	ar-turmerona (22,7%), turmerona (26%)	STANOJEVIĆ et al. (2015)
<i>C. longa</i> (Cairo, Egito)	Ar-turmerona (20,50%), β -sesquifelandreno (5,20%), Curcumenol (5,11%)	ABDEL-LATEEF et al. (2016)
<i>C. longa</i> (Índia)	Ar-turmerona (53,10%), β -turmerona (6,42%), α -turmerona (6,15%), Ar-curcumena (4,81%), β -felandreno (4,39%).	KUMAR et al. (2016)

Cont. Quadro 2

Espécie (Origem)	Caracterização química	Autores
<i>C. longa</i> (Jeju – Coréia do Sul)	α -zingiberona (27,70%-36,75%), ar-turmerona (19,54-32,24%), β -sesquifelandreno (13,14-18,23%), α -turmerona (3,72-6,50%)	HWANG et al. (2016)
<i>C. longa</i> (Goiás, Brasil)	α -turmerona (42,60%), β -turmerona (16,00%), ar-turmerona (12,90%)	AVANÇO et al. (2016)
<i>C. longa</i> (Peshawar)	β -sesquifelandreno (38,69%), α -curcumeno (18,44%), p-mentha-1,4(8)-dieno(16,29%)	HASSAN et al. (2016)
<i>C. longa</i> (China)	Ar-turmerona (35,17%), tumerona (11,93%), β -sesquifelandreno (11,50%), curcumeno (7,29%)	HU et al. (2017)

Nishiyama et al. (2005) estudaram extratos de rizomas de *C. longa* originária do Japão e encontraram curcuminóides em extrato hexânico, Ar-turmerona (Figura 22) numa concentração de 6,70 g/100 g no extrato etanólico e 10,8 g/100 g no extrato hexânico e 1,40 g/100 g no extrato hexânico-etanólico.

Figura 22 – Representação de estruturas químicas de alguns constituintes químicos majoritários de *C. longa*.

			
1,8-cineol	Zingibereno	α -felandreno	Sabineno
			
Borneol	Boldenona	Ar-turmerona	α -Turmerona
			
			β -Turmerona

Fonte: Próprio autor

3.4 Potencial biológico e aplicações biotecnológicas de óleos essenciais e extratos alcoólicos de manjeriço e açafrão

3.4.1 Atividade antioxidante e aplicações tecnológicas de óleos essenciais e extratos alcoólicos de *Ocimum spp.* e *Curcuma longa*

Os antioxidantes podem ser definidos como substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação de substratos oxidáveis, podendo atuar em alimentos ou sistemas biológicos (SOUSA et al., 2007; ALVES et al., 2010).

Em alimentos, os processos de oxidação são responsáveis pela redução da vida de prateleira das matérias-primas e dos produtos industrializados levando a importante perda econômica. A rancidez em óleos vegetais ocorre principalmente durante o processamento de armazenagem e resulta em alterações dos principais parâmetros de qualidade como a cor, produção de compostos voláteis responsáveis pela formação de sabores e odores desagradáveis. As principais alterações químicas que ocorrem nos óleos vegetais são por processos químicos como a auto-oxidação, a polimerização térmica ou a oxidação térmica, que podem ser acelerados pelo calor, luz (foto-oxidação), ionização, traços de metais ou catalisadores (NOGALA-KALUCKA et al., 2005; THODE FILHO et al., 2014), sendo utilizado os antioxidantes que inibem esse processo.

Nos sistemas biológicos, o estresse oxidativo ocorre como um desequilíbrio entre o balanço pró-oxidante/antioxidante, em favor da situação pró-oxidante, promovendo um dano potencial. O dano oxidativo de biomoléculas pode levar à inativação enzimática, mutação, ruptura de membrana, ao aumento na aterogenicidade de lipoproteínas plasmáticas de baixa densidade e à morte celular. Estes efeitos tóxicos dos radicais livres têm sido associados ao envelhecimento precoce e ao desenvolvimento de doenças crônicas, inflamatórias e degenerativas (ALVES et al., 2010).

Os componentes celulares não são protegidos totalmente por antioxidantes endógenos, e é bem estabelecido que antioxidantes obtidos da dieta são indispensáveis para a defesa apropriada contra oxidação e, portanto, têm importante papel na manutenção da saúde. Os incontestáveis benefícios para a saúde associados ao consumo de frutas e hortaliças devem-se, em parte, à presença de antioxidantes nestes alimentos (ALVES et al., 2010).

Os antioxidantes podem ser classificados de naturais e sintéticos. Os sintéticos são proporcionalmente adicionados em matrizes alimentares sem a intenção de nutrir, e sim, de retardar o aparecimento de alteração oxidativa no alimento durante as etapas de fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento (ANVISA, 1997). Nessa ótica, são eles: o butil-hidróxi-tolueno (BHT), o butil-

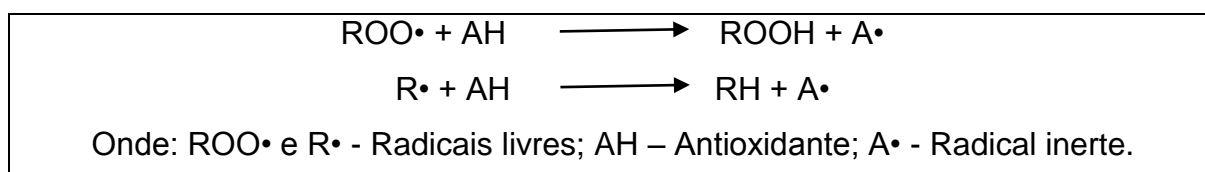
hidróxi-anisol (BHA), terc-butil-hidroquinona (TBHQ), tri-hidroxo-butil-fenona (THBP) e galato de propila (GP) (Quadro 3) (JARDINI; MANCINI-FILHO, 2007).

A estrutura fenólica dos compostos sintéticos permite a doação de um próton a um radical livre, regenerando, assim, a molécula do acilglicerol e interrompendo o mecanismo de oxidação por radicais livres. Dessa maneira, os derivados fenólicos transformam-se em radicais livres. Entretanto, estes radicais podem se estabilizar sem promover ou propagar reações de oxidação (RAMALHO; JORGE, 2006).

Os antioxidantes naturais tiveram seu uso crescente na substituição dos antioxidantes sintéticos pelo apelo não somente de manter as propriedades organolépticas e químicas de alimentos, mas manter a saúde e prevenir a doenças por evitar o processo oxidativo. Entre os naturais, têm-se as vitaminas C (ácido ascórbico) e E (tocoferol), os carotenoides e os compostos fenólicos, especialmente os flavonoides (PODSEDEK, 2007) e entre como os mais utilizados pela indústria de alimentos para conservação de alimentos lipídicos (SOUSA et al., 2007; JARDINI; MANCINI-FILHO, 2007).

O consumo de antioxidantes naturais, como os compostos fenólicos presentes na maioria das plantas que inibem a formação de radicais livres, também chamados de substâncias reativas, tem sido associado a uma menor incidência de doenças relacionadas com o estresse oxidativo (DROGE, 2002; MORAIS et al., 2009). O mecanismo de ação desses antioxidantes pode ser observado na figura 23.

Figura 23 – Mecanismo de ação dos antioxidantes naturais



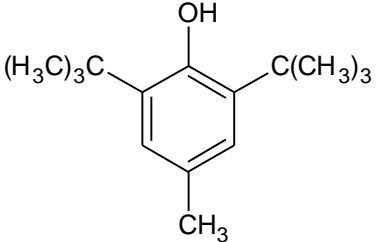
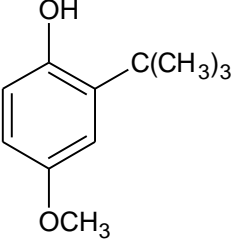
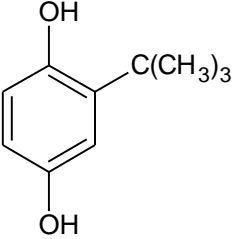
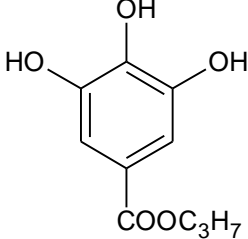
Fonte: RAMALHO; JORGE, 2006

O átomo de hidrogênio ativo do antioxidante é abstraído pelos radicais livres R• e ROO• com maior facilidade do que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas, formando espécies inativas para a reação em cadeia e um radical inerte (A•) procedente do antioxidante. Este radical, estabilizado por ressonância, não tem a capacidade de iniciar ou propagar as reações oxidativas (RAMALHO; JORGE, 2006).

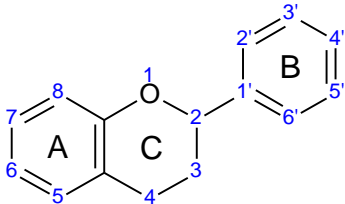
As atividades antioxidantes dos fenóis são devidas às suas propriedades de oxirredução, que permitem agirem como agentes redutores, doadores de hidrogênio e eliminadores de oxigênio singlete (GUERRA, 2001; SOUSA et al., 2007). Vale destacar que se atribui o efeito antioxidante das plantas aromáticas à presença de grupamentos hidroxilas em seus compostos fenólicos (SCHAHIDI et al., 1992), tais como: os polifenóis, flavonoides e taninos (MORAIS et al., 2009).

O Quadro 3 detalha a estrutura, características e aplicações das substâncias antioxidantes.

Quadro 3 – Substâncias antioxidantes

Antioxidantes sintéticos	Estrutura química	Ação antioxidante
BHT		Efetivo na supressão da oxidação em gorduras animais que em óleos vegetais (ANVISA, 2014).
BHA		Age como seqüestrante de radicais peróxidos (RAMALHO; JORGE, 2006).
TBHQ		Melhor antioxidante para óleos de fritura, pois resiste ao calor e proporciona uma excelente estabilidade para os produtos acabados (RAMALHO; JORGE, 2006).
PG		É um éster do 3,4,5 ácido triidroxibenzóico; em níveis elevados pode atuar como pró-oxidante. Seu poder para estabilizar alimentos fritos e alimentos gordurosos é baixo (ANVISA, 2014).

Cont. Quadro 3

Antioxidantes naturais	Estrutura química	Ação antioxidante
Compostos fenólicos	Possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos. São eles: os flavonoides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas e taninos.	
Flavonóides (antocianinas, flavonóis, flavonas, isoflavonas, flavononas e flavanas)	<p>Consiste de 15 carbonos com dois anéis aromáticos (anéis A e B), os benzenos, interligados a uma estrutura heterocíclica central, o pirano (anel C) (DORNAS et al. 2007).</p> 	Funcionam como sequestradores de radicais e algumas vezes como quelantes de metais, interrompendo a reação em cadeia provocada por estes (RAMALHO; JORGE, 2006).

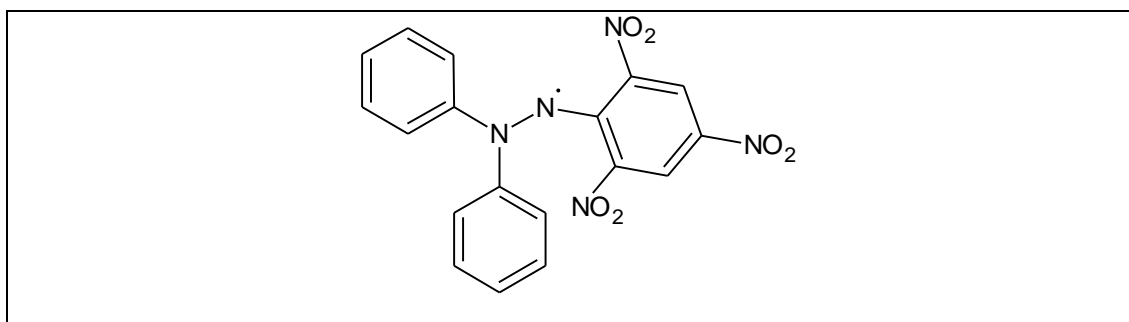
Cont. Quadro 3

Antioxidantes naturais	Estrutura química	Ação antioxidante
Taninos	Compostos que contêm suficientes grupos hidroxila fenólica; classificados em dois grupos: hidrolisáveis e condensados. Os hidrolisáveis por hidrólise ácida liberam ácidos fenólicos: gálico, caféico, elágico e um açúcar. Os condensados (flavolanos) são polímeros dos flavonóides, formados predominantemente por unidades de flavan-3-ols (catequina) e flavan 3,4-diols (leucoanto-cianidina) (SILVA; SILVA, 1999).	Funcionam como sequestradores de radicais e algumas vezes como quelantes de metais, interrompendo a reação em cadeia provocada por estes.
Carotenóides	São hidrocarbonetos poliênicos, com variados graus de insaturação. O β -caroteno e o licopeno são exemplos de carotenoides (LIMA et al., 2012).	A atividade antioxidante é decorrente da habilidade de deslocar elétrons desemparelhados pela estrutura de ligações duplas conjugadas (SOUSA et al., 2007).

Existem métodos diversos para avaliar a atividade antioxidante *in vitro* de substâncias biologicamente ativas, envolvendo desde ensaios químicos com substratos lipídicos a ensaios mais complexos utilizando as mais diversas técnicas instrumentais. Devido aos diferentes tipos de radicais livres existentes e as diferentes formas de sua atuação nos organismos vivos, dificilmente existirá um método simples e universal pelo qual a atividade antioxidante possa ser medida precisa e quantitativamente (ALVES et al., 2010).

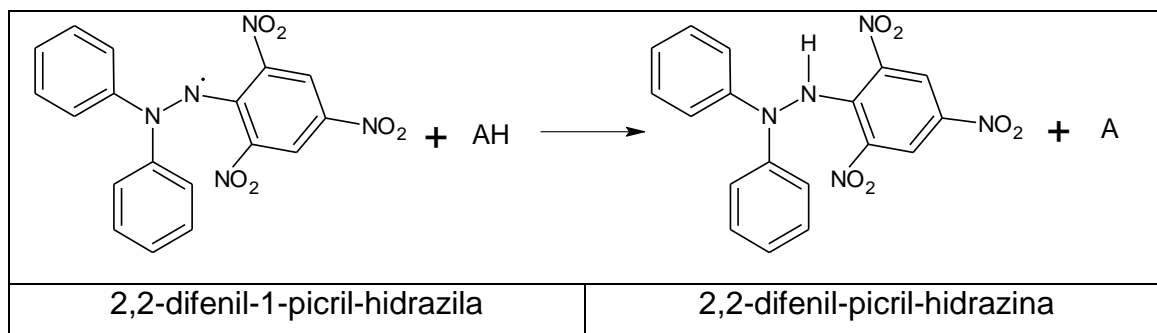
O teste de DPPH surgiu em 1950, sendo um dos métodos indiretos que determina a atividade antioxidante descobrindo os doadores de hidrogênio em matérias naturais. Esse método consiste em avaliar a capacidade antioxidante via atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila – DPPH (Figura 24). O radical DPPH possui coloração púrpura absorvendo a um comprimento de onda máximo de aproximadamente 515-517 nm. Por ação de um antioxidante (AH) ou uma espécie radicalar (R.), o DPPH é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da absorção (Figura 25), podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância e sendo possível calcular a porcentagem de atividade antioxidante (BORGES et al., 2011).

Figura 24 – Representação da estrutura química do DPPH



Fonte: Próprio autor

Figura 25 – Reação antioxidante por DPPH

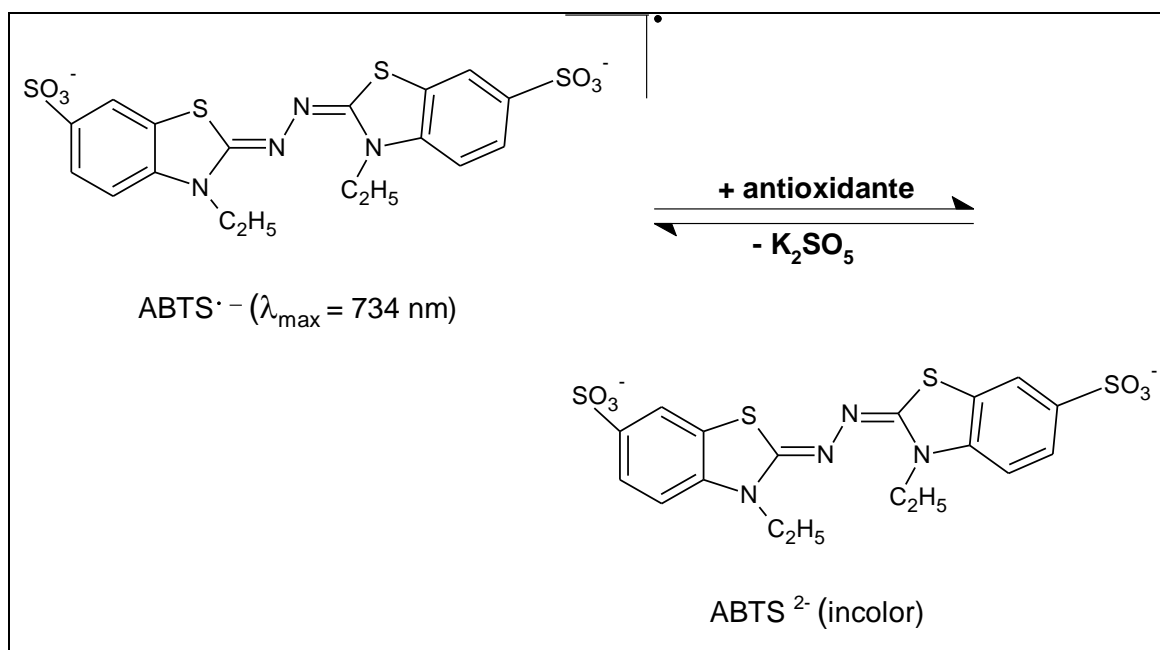


Fonte: PYRZYNSKA; PEKAL (2013)

A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) pode ser mensurado correlacionando a quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante, sendo que a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração eficiente (CE_{50}), também chamada de concentração inibitória (CI_{50}). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua CE_{50} e maior a sua atividade antioxidante (SOUSA et al, 2007).

Outro método muito utilizado para medir a atividade antioxidante é a captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolína-6- ácido sulfônico) (ABTS+) (Figura 26), que pode ser gerado pela reação química, eletroquímica ou enzimática. Com essa metodologia, pode-se medir a atividade de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica (KUSKOSKI et al, 2005). Na versão comercial do teste ABTS+, conhecido como TEAC protocolo, ABTS+ é gerado de ABTS pela sua reação com o radical ferromioglobina e H_2O_2 na presença de peroxidase (CAMPOS; LISSI, 1997).

Figura 26 – Reação de redução do Radical ABTS

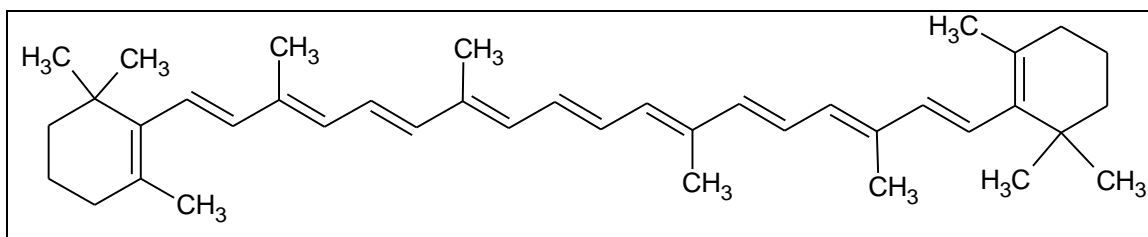


Fonte: HUANG; OU; PRIOR (2005)

O β -caroteno (Figura 27) é o mais abundante dos carotenoides e largamente utilizado em terapias. É quase completamente insolúvel em água, mas facilmente solúvel em ambientes hidrofóbicos e solventes pouco polares. Tem sido reportado nos últimos 30 anos que o β -caroteno exibe alta reatividade com eletrófilos e oxidantes. Muitos estudos demonstram a inibição da auto-oxidação de lipídios em

tecidos biológicos e produtos alimentícios com a presença do β -caroteno, porém poucos detalhes da cinética e mecanismo destas reações têm sido revelados (ALVES et al., 2010).

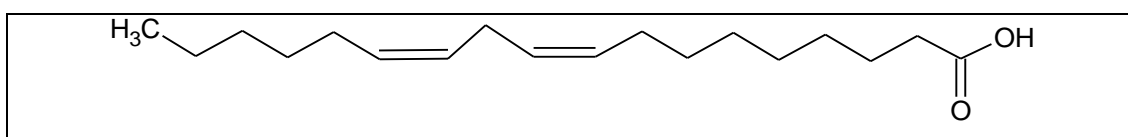
Figura 27 – Representação da estrutura química do β -caroteno



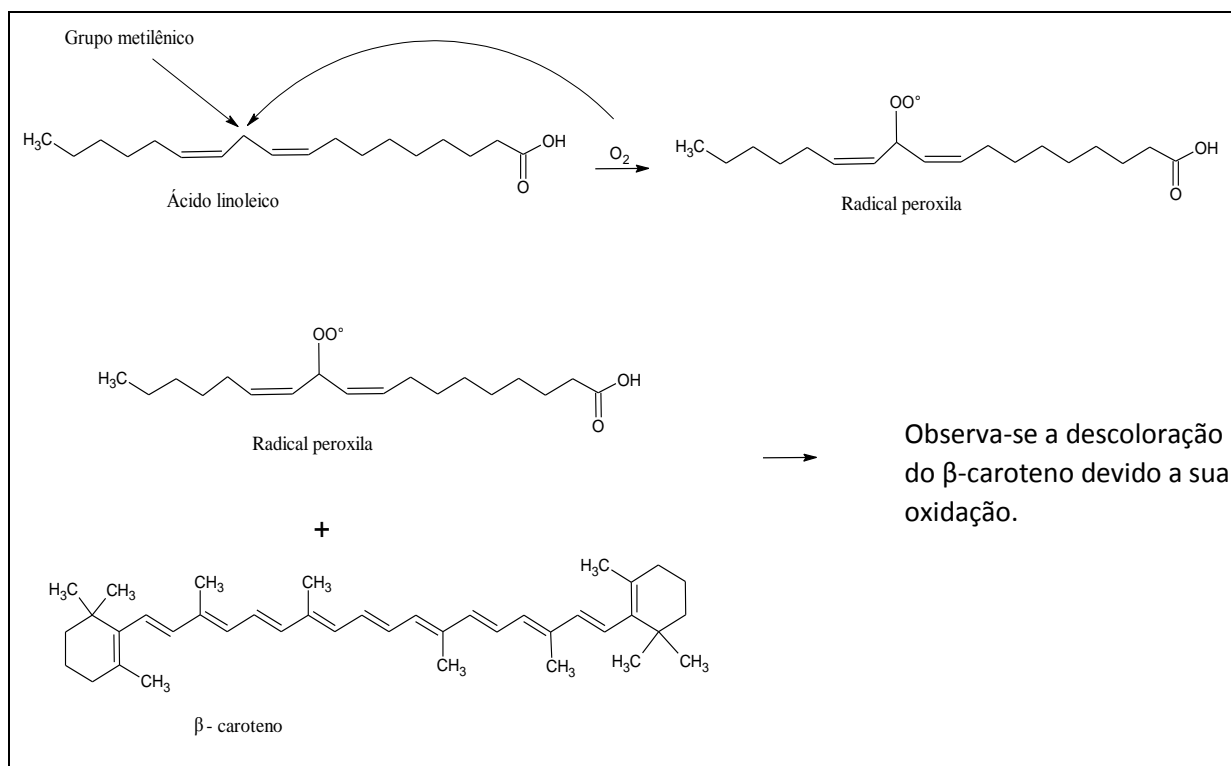
Fonte: Próprio autor

O método de oxidação do β -caroteno/ ácido linoléico avalia a atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoleico (Figura 28). O método está fundamentado em medidas espectrofotométricas da descoloração (oxidação) do β -caroteno induzida pelos produtos de degradação oxidativa do ácido linoleico (Figura 29) (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006), determinando a atividade de uma amostra ou composto de proteger um substrato lipídico da oxidação. Entretanto, de forma a permitir uma rápida seleção de substâncias e/ou misturas potencialmente interessante na prevenção de doenças crônico-degenerativas (ALVES et al., 2010).

Figura 28 – Representação da estrutura química do ácido linoléico



Fonte: Próprio autor

Figura 29 – Reação da oxidação do β -caroteno/ácido linoleico

Fonte: Próprio autor

Mediante esses testes antioxidantes, os valores de capacidade inibitória em 50% de diferentes espécies e variedades de manjeriço podem ser medidos e estes estão apresentados no levantamento bibliográfico no Quadro 4.

Quanto ao manjeriço, atividade antioxidante pelo método do DPPH vem sendo estudado e usado por vários anos. Em estudo, sequência de sequestro de DPPH foi destacada na seguinte ordem decrescente: eugenol>BHT>óleos essenciais de manjeriço>agliconas voláteis (POLITEO; JUKIC; MILOS, 2007). O óleo essencial de *Ocimum basilicum* apresenta atividade antioxidante eficaz, mostrando CI_{50} de 4,8 a 6,7 $\mu\text{g/mL}$ em plantas coletadas no inverno e verão pelo método DPPH e inibe a oxidação do ácido linoleico de 80,30% a 91,20% pelo sistema beta-caroteno/ácido linoleico (HUSSAIN et al., 2008). O potencial inibitório de radical seja pelo método DPPH ou ABTS varia aproximadamente de 50 a 80%, seja para extratos e/ou óleos essenciais (SACCHETTI et al., 2004; KOROCH; SIMON; JULIANI, 2017; HUSSAIN et al., 2017), como mostra o levantamento bibliográfico no Quadro 4.

Quadro 4 – Levantamento bibliográfico da atividade antioxidantes (CI₅₀) de óleos essenciais e extratos de manjeriço, segundo diferentes autores.

Espécies	Atividade antioxidante (Método/CI₅₀)	Autores
OE de <i>O. micranthum</i>	DPPH: 76,61 % de inibição de radical	SACCHETTI et al. (2004)
OE de <i>O. basilicum</i>	DPPH: 0,263 µL/mL	TOMAINO et al. (2005)
OE de Ocimum	DPPH: <i>O. tenuiflorum</i> : 0,26 µL/mL; <i>O. gratissimum</i> : 0,29 µg/MI	TREVISAN et al. (2006)
OE <i>O. basilicum</i>	DPPH, Tiocianato férrico, Quelante de metal e Sequestrante de Peróxido: Capacidade de antioxidante para extrato aquoso e etanólico.	GÜLÇİN; ELMASTAT; ABOUL-ENEIN (2007)
OE de <i>Ocimum basilicum</i> , <i>O. canum</i> , <i>O. gratissimum</i> , <i>O. sanctum</i>	DPPH: <i>O. gratissimum</i> : 30,20 mcg/mL	BUNRATHEP; PALANUVEJ; RUANGRUNGSI (2007)
OE de <i>O. basilicum</i>	DPPH: 1,378 g/L	POLITEO; JUKIC; MILOS (2007)
Extrato metanólico de <i>O. gratissimum</i>	Atividade de sequestro de DPPH de 84,6% na concentração de 250 µg/mL	ACKINOMOLADUN et al. (2007)
OE de <i>O. basilicum</i>	DPPH: 6,7 ± 0,1 µg/mL (verão); 6,0 ± 0,2 µg/mL (outono); 4,8 ± 0,1 µg/mL (inverno); 5,3 ± 0,2 µg/mL (primavera)	HUSSAIN et al. (2008)
OE de <i>O. basilicum</i> e <i>O. gratissimum</i>	DPPH: <i>O. gratissimum</i> : 6,8 µL/L; <i>O. basilicum</i> : >10 µL/L	DAMBOLENA et al. (2010)
15 cultivares de <i>O. basilicum</i>	DPPH: 3,36 ± 0,50mmol/100 g DW Nufar F1, <i>O. basilicum</i> FRAP: 0,28 ± 0,18mmol/100 g DW Sweet Dani Lemon	KWEE; NIEMEYER (2011)
<i>O. basilicum</i>	Extrato aquoso: 8,17 µg/mL	KAURINOVIC et al. (2011)
OE <i>O. basilicum</i>	DPPH: 83,54 mg/ml	KHELIFA et al. (2012)

cont. Quadro 4

Espécies	Atividade antioxidante (Método/CI₅₀)	Autores
OE de <i>O. basilicum</i>	B-caroteno/ácido linoleico: 51,1±3,8 %	SHARAFATI-CHALESHTORI et al., 2015
OE de <i>O. canum</i>	DPPH (IC ₅₀ 523,55 ± 0,001 µg/mL), radical hidroxil (491,12 ± 0,002 µg/mL), quelante de metal (781,38 ± 0,001 µg/mL) e prevenção de degradação de desoxirribose (168,50 ± 0,003 µg/mL)	SELVI; THIRUGNANASAMPANDAN; SUNDARAMMAL, 2015
5 cultivares de <i>Ocimum</i> spp.	ABTS: mais eficiente Manjerição roxo: 50,1 µmol de Trolox	KOROCH; SIMON; JULIANI (2017)
Extrato metanólico de <i>O. sanctum</i>	DPPH: 11,10 µg/mL para óleo essencial	HUSSAIN et al. (2017)

Os óleos essenciais de *Ocimum* por sua forte capacidade antioxidante relatada pode ser destacado com ação anti-hipertensiva, anti-hiperlipidêmico, anti-carcinogênico e anti-proliferativa (PANDEY; SINGH; TRIPATHI, 2014).

A atividade antioxidante de *Curcuma longa* apresentou com poucos relatos na literatura, em especial, dando mais ênfase na variedade vermelha e nenhum estudo com a variedade branca. Os extratos etanólicos de curcuma inibem processos oxidativos de 15 a 25% (BRAGA et al., 2003).

Singh et al. (2010) afirmaram que o óleo essencial de *Curcuma longa* tem atividade antioxidante significativamente maior que os antioxidantes comerciais. Óleos essenciais e extratos de curcuma tiveram atividade antioxidante *in vitro* e CI_{50} para sequestros de superóxidos, radicais hidroxil, e peroxidação lipídica de 135 µg/ml, 200 µg/ml, e 400 µg/ml, respectivamente (LIJU et al., 2011). Os valores de CI_{50} pelo método DPPH para óleos essenciais rizomas de *Curcuma longa* frescas, secas e curadas foram 4,4, 3,5 e 3,9 mg/ml, respectivamente (GOUNDER; LINGAMALLU, 2012). O óleo essencial de *C. longa* exibe atividade antioxidante de 10,30 mg/mL pelo método de DPPH (AVANÇO et al., 2016). Além disso, tem sido relatado que essa espécie possui múltiplas atividades farmacológicas, incluindo antimicrobianos, anti-inflamatórios, anti-cancerígenos, anticoagulante, anti-diabética e os imunológicos (ABDEL-LATEEF et al., 2016).

3.4.2 Toxicidade de óleos essenciais e extratos alcoolicos de *Ocimum* spp. e *Curcuma longa*

A toxicidade de plantas pode ser conhecida por ensaios de letalidade em organismos simples. O uso de microcrustáceo marinho *Artemia salina* Leach (Figura 30) estão entre os ensaios mais citados (SILVA et al., 2015).

Artemia salina é um crustáceo da ordem Anostraca (sem carapaça) que vive em lagos de água salinas de todo o mundo, estando adaptada para sobrevivência em corpos de água que sofrem grandes variações sazonais, podendo tolerar salinidades que flutuam de 3,5 a 70‰ (PELKA et al., 2000; SILVA et al., 2015).

A *Artemia* é um crustáceo filtrador usado como bioindicador de toxicidade que se alimenta basicamente de bactérias, algas unicelulares, pequenos protozoários e detritos dissolvidos no meio. A filtração ocorre nos toracópodos, encarregados de conduzir as partículas alimentícias em direção ao sistema digestivo. A taxa de filtração

diminui com o aumento da concentração de partículas, ficando estas acumuladas e interferindo o processo normal de seus batimentos. Outro efeito das altas concentrações é que podem passar diretamente pelo tubo digestivo sem sofrer digestão, tornando o microcrustáceo subnutrido (MEYER et al., 1982).

Figura 30 – *Artemia salina*



Fonte: <http://www.thefishguide.com/brine-shrimps-artemia-salina-live-fish-food>

A simplicidade com que a *Artemia* pode ser manuseado, a rapidez dos ensaios e o baixo custo favorecem a sua utilização rotineira em diversos estudos, além do que, tais ensaios de letalidade são muito utilizados em análises preliminares de toxicidade geral de plantas (LUNA et al., 2005; ARCANJO et al., 2012).

Parra et al. (2001) estudaram a toxicidade de extratos etanólico de *O. basilicum* (CL₅₀ de 9,92 µg/mL), *O. gratissimum* (CL₅₀ de 18,76 µg/mL) e *O. tenuiflorum* (CL₅₀ de 18,75 µg/mL). No trabalho de Silva (2010), o óleo essencial das inflorescências de *O. gratissimum* apresentou CL₅₀ de 233,8 µg/mL, variando de 200,7 a 272,0 µg/mL e sem diferença estatística quando comparado ao eugenol de CL₅₀ de 186,1 µg/mL, variando nas concentrações letais de 144,1 a 228,5 µg/mL.

Os testes de toxicidade podem ser classificados em agudos e crônicos, diferindo na duração e nas respostas finais. Os testes de toxicidade aguda usam a *Artemia salina* para medir os efeitos de agentes tóxicos sobre espécies aquáticas durante um curto período de tempo em relação ao período de vida do organismo-teste e objetiva estimar a dose ou concentração de um agente tóxico capaz de produzir uma resposta específica mensurável em um organismo-teste ou população, em um período curto, geralmente de 24 a 96 h. Normalmente, o efeito medido em estudos de toxicidade aguda com organismos aquáticos é a letalidade em 50% em altas concentrações do produto-teste (CL₅₀) ou alguma outra manifestação do organismo que a antecede como, por exemplo, o estado de imobilidade (COSTA et al., 2008).

Os óleos essenciais de *Curcuma longa* apresentaram princípios ativos com CL_{50} frente a *Artemia salina* de 319,82 $\mu\text{g/mL}$ (SILVA FILHO et al., 2009). O extrato etanólico de seu rizoma apresentou toxicidade para *Artemia salina* de dose letal de 33 $\mu\text{g/mL}$, apontando possíveis atividades anticâncer e antitumoral (KHATTAK et al., 2005). Os extratos de *C. longa* não mostraram letalidade frente *Artemia salina* (VALDÉS et al., 2005).

Boa correlação de toxicidade frente a *Artemia salina* foi bem relatado com várias outras atividades biológicas (MEYER et al., 1982), como atividade antitumoral (McLAUGHLIN et al., 1993), fagorepelente (LABBE; CASTILLO; CONNOLY, 1993), larvicida e inseticida (OBERLIES et al., 1998), atividade antibacteriana (BRASILEIRO et al., 2006; NIÑO et al., 2006; MAGALHÃES et al., 2007), antifúngico (NIÑO et al., 2006; MAGALHÃES et al., 2007), e antimalárica (PEREZ et al., 1997; SAMOYLENKO et al. 2008).

3.4.3 Atividade antiacetilcolinesterase de óleos essenciais e extratos de *Ocimum* spp. e *Curcuma longa*

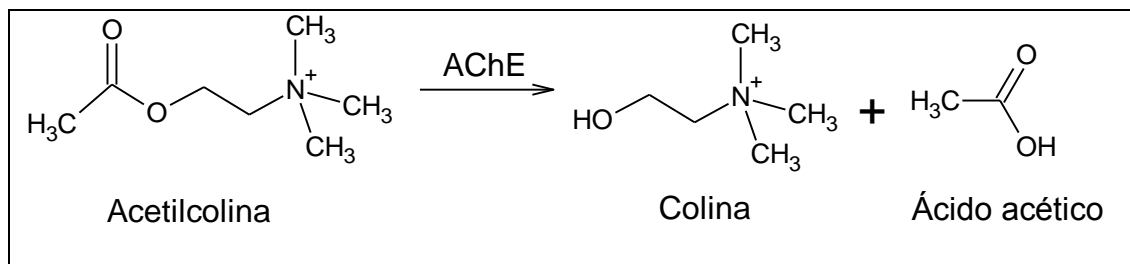
A acetilcolinesterase (AChE) é uma serina hidrolase que desempenha papel essencial no mecanismo colinérgico, sendo uma enzima que catalisa a hidrólise da acetilcolina na transmissão do impulso nervoso na sinapse colinérgica entre neurônios colinérgicos. A enzima está ligada à membrana basal entre as membranas pré- e pós-sinápticas desempenhando seu papel fisiológico (RANG et al., 2004).

A acetilcolina (ACh) é um neurotransmissor que tem efeitos principalmente excitatórios e são mediados por vários subtipos de receptores nicotínicos (ionotrópicos) e muscarínicos (metabotrópicos); estes últimos, são inibitórios (ROUSE et al., 1999; RANG et al., 2004).

Em 1976, foi estabelecida a hipótese colinérgica a qual associa os sintomas cognitivos, funcionais e comportamentais presentes na doença de Alzheimer (DA), com a deficiência na neurotransmissão colinérgica ligada a perda dos neurônios colinérgicos por pouca oferta da acetilcolina (CUMMINGS; BACK, 1998). As alterações relacionadas com o sistema colinérgico no cérebro com DA são observadas entre elas: perda seletiva e significativa da atividade de CHAT em diferentes partes do cérebro (córtex, hipocampo e amígdalas) e degeneração seletiva dos neurônios colinérgicos basais do cérebro (GARCIA-SANCHEZ et al., 2003).

Nessa visão, o tratamento mais eficaz para a DA compreende no aumento dos níveis de acetilcolina a partir da inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), ou seja, a hipótese colinérgica. Nesta hipótese, a deficiência de acetilcolina ocorre devido a uma atrofia do núcleo basalis de Meynert que é fonte da enzima colina transferase, esta por sua vez é transportada para áreas cerebrais tais como, hipocampo, córtex cerebral e amígdala, onde catalisa a reação de síntese da acetilcolina a partir da colina e da acetilcoenzima, por fim a acetilcolina restante é degradada pela acetilcolinesterase na fenda sináptica em colina e acetato (Figura 31; SANTOS et al., 2007; SÁ et al., 2012).

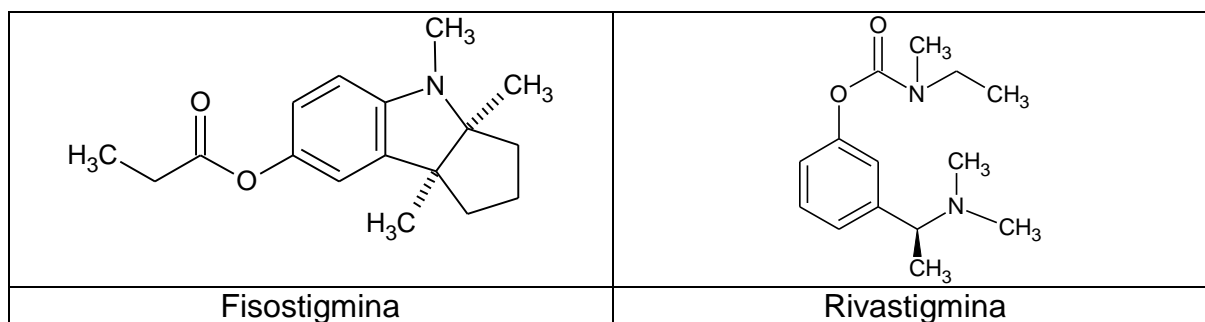
Figura 31 – Esquema da degradação da acetilcolina pela acetilcolinesterase na fenda sináptica



Fonte: SANTOS et al. (2007)

A fisostigmina (Figura 32) é um alcaloide, primeiramente isolado da espécie *Physostigma venenosum*, L. (Fabaceae), usado como inibidor da acetilcolinesterase em terapêuticas iniciais. Clinicamente, a fisostigmina deixou de ser utilizada por seu curto tempo de meia vida. Entretanto, sua estrutura química forneceu um modelo para o desenvolvimento da rivastigmina (Figura 32), outra substância com melhor perfil farmacocinético utilizado atualmente na terapia da doença (MARCO; CARREIRAS, 2006).

Figura 32 – Representação estrutural da fisostigmina e rivastigmina



Fonte: Próprio autor

Produtos naturais com ação em inibir a enzima acetilcolinesterase vem sendo estudada. O óleo essencial de *O. sanctum* mostrou atividade de inibir de AChE ($IC_{50} = 1,6 \pm 0,69$ mg/ml) (DOHI; TERASAKI; MAKINO, 2009). Os óleos essenciais de *O. basilicum* e *O. americanum* apresentaram IC_{50} (mg/ml): $0,22 \pm 0,2$ e $0,175 \pm 0,09$, respectivamente (TADROS et al., 2014). O OE de *O. basilicum* não teve concentração inibitória determinada em estudo de Kiendrebeogo et al. (2011). A inibição à acetilcolinesterase não foi relatada em estudos para a planta *Curcuma longa*.

Vale destacar, outra relação importante da inibição da acetilcolinesterase com a ação inseticida no controle do mosquito *Aedes aegypti*. O organofosforado temephos, registrado nos EUA em 1965, para utilização em agricultura e controle de mosquitos, é o único larvicida desse grupo com uso generalizado no controle de larvas de mosquitos, recomendado pela OMS para uso em água potável. O mecanismo de ação dos organofosforados é diretamente na inibição da acetilcolinesterase (AChE), importante enzima do sistema nervoso central. Essa enzima é fosforilada pelo inseticida, ficando irreversivelmente inativada. A inibição da AChE resulta no acúmulo de acetilcolina nas junções nervosas (ou sinapses), o que interrompe a propagação do impulso elétrico. Conseqüentemente, o sistema nervoso central continuará sendo estimulado, desencadeando o processo de paralisia que pode culminar com a morte do inseto (BRAGA; VALE, 2007).

3.4.4 Atividade larvicida de óleos essenciais e extratos de *Ocimum* spp. e *Curcuma longa* contra *Aedes aegypti*

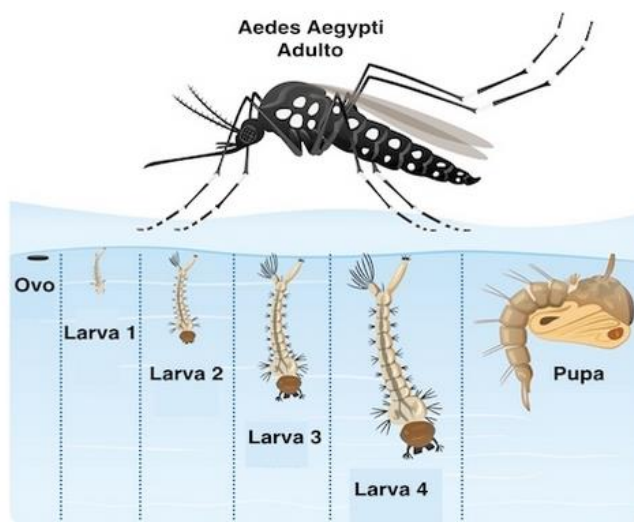
O controle do *Aedes* tem constituído um importante desafio, especialmente nos países em desenvolvimento. Mesmo considerando-se situações em que os recursos destinados ao controle do vetor sejam apropriados para a implementação de

programas, muitas vezes não se tem alcançado sucesso. Os problemas de infraestrutura das cidades são fatores que mais comprometem a efetividade dos métodos tradicionais de controle do *Aedes*, tais como: baixa cobertura na coleta de lixo e intermitência no abastecimento de água. Dando ênfase, há duas espécies principais de mosquitos do gênero *Aedes* capazes de transmitir, além da dengue, outras arboviroses como chikungunya, zika vírus e febre amarela: *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (ZARA et al., 2016).

O *Aedes aegypti* é um díptero da família Culicidae proveniente da África, atualmente encontra-se distribuído por quase todo o mundo, com ocorrência em regiões tropicais e subtropicais (OOTANI et al., 2011; JOIA et al., 2012).

No Brasil sua existência é conhecida desde o século XVII (HALSTED; GLUBER; KURO, 1997; COSTA et al., 2005). Quanto à biologia do *A. aegypti*, os mosquitos adultos não apresentam grande dispersão, os machos, fitófagos, costumam permanecer próximos aos criadouros, onde ocorre acasalamento, as fêmeas realizam a hematofagia em período diurno, com pico de atividade entre 16 a 18h. Contudo, o *A. aegypti* se desenvolve em água poluída. A postura é feita nas paredes de recipientes, acima da água, onde os ovos podem ser vistos pontos escuros. O desenvolvimento do mosquito ocorre por metamorfose completa, passando pelas fases de ovo, quatro estágios larvas, pupa e adulto (Figura 33) (FORATTINI; BRITO, 2003; SILVA; SILVA; LUZ, 2004).

Figura 33 – Metamorfose completa do *Aedes aegypti*



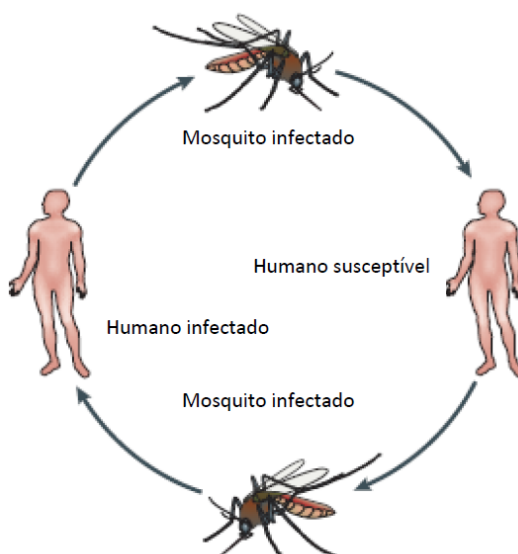
Fonte: GONÇALVES (2014)

Adaptações do *A. aegypti* permitiram que se tornassem abundantes nas cidades e fossem facilmente levados para outras áreas pelos meios de transporte, o que aumentou sua competência vetorial, ou seja, a sua habilidade em tornar-se infectado por um vírus, replicá-lo e transmiti-lo. A fêmea consegue fazer ingestões múltiplas de sangue durante um único ciclo gonadotrófico, o que amplia a sua capacidade de se infectar e de transmitir os vírus. Este comportamento torna o *A. aegypti* um vetor eficiente. A quiescência dos ovos permite a manutenção do ciclo na natureza durante as variações climáticas sazonais, uma vez que a viabilidade dos ovos de *A. aegypti* chega até 492 dias na seca, eclodindo após contato com a água (SILVA; SILVA, 1999). Após uma pessoa ser picada por um mosquito infectado, o vírus passa por um período de incubação de quatro a sete dias no qual os sinais e sintomas da fase aguda da doença são apresentados (GONÇALVES, 2014).

A partir disso, determinou a transmissão do *Aedes aegypti* (Figura 34).

Figura 34 – Transmissão do *Aedes aegypti*

Mosquito infectado → homem susceptível → homem infectado → mosquito infectado



Fonte: ZARA et al., 2016

Em face do atual cenário de surtos e epidemias de zika vírus, chikungunya e dengue, estratégias de controle do *A. aegypti*, com ênfase nas inovações tecnológicas promissoras se utiliza de três mecanismos: a) Controle mecânico: consiste na adoção de práticas capazes de eliminar o vetor e os criadouros ou reduzir o contato do mosquito com o homem, que são a proteção, a destruição ou a

destinação adequada de criadouros, drenagem de reservatórios e instalação de telas em portas e janelas; b) Controle biológico: é baseado na utilização de predadores ou patógenos com potencial para reduzir a população vetorial que são os peixes e os invertebrados aquáticos, que comem as larvas e pupas, e os patógenos que liberam toxinas, como bactérias, fungos e parasitas; c) Controle químico: consiste no uso de produtos químicos, que podem ser neurotóxicos, análogos de hormônio juvenil e inibidores de síntese de quitina para matar larvas e insetos adultos, que seja racional e seguro ao meio ambiente (ZARA et al., 2016).

Os inseticidas utilizados no controle do *A. aegypti* têm apresentado efeitos indesejáveis como a permanência por longos períodos de tempo no meio ambiente, afetando os ecossistemas; que a sua utilização indiscriminada tem promovido o surgimento de populações de mosquitos resistentes (VELOSO et al., 2015). O tratamento focal ocorre com a aplicação de um produto larvicida (químico ou biológico) nos depósitos positivos para formas imaturas de mosquitos que não possam ser eliminados mecanicamente (ZARA et al., 2016).

O óleo essencial de *O. basilicum purpurascens* apresentou CL₅₀ de 67 mg/ml, indicando a possibilidade de ação do linalol ou outros compostos em sinergismo serem responsáveis pela atividade larvicida do óleo essencial de manjeriço. Os óleos essenciais de *O. gratissimum* e *O. tenuiflorum*, ricos em eugenol mostraram CL₅₀ de 104,6 mg/ml e 71,3 mg/ml respectivamente. O óleo essencial de *O. gratissimum* apresentou a menor atividade larvicida entre todos os óleos testados nesse estudo (FURTADO et al., 2005).

Os óleos essenciais de manjeriço (*O. basilicum* L.) apresentaram eficiente ação larvicida, causando a morte das larvas de *Aedes aegypti* em última fase larval (4ª fase) (VELOSO et al., 2015).

Ali, Wang e Khan (2015), em estudo com óleo essencial de *Curcuma longa*, atribuíram o potencial larvicida de ar-turmerona, turmerona, e os extratos como agente para controle vetor e proteção humana. O ar-turmerona foi mais ativa como larvicida, matando o *Aedes aegypti*.

4 METODOLOGIA

4.1 Local do estudo

O estudo foi realizado no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Estadual do Ceará (UECE) e Laboratório de Cromatografia Gasoso/Espectrometria de massas do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará (UFC).

4.2 Material vegetal

O material vegetal constou de 14 espécies de manjeriço (*Ocimum* spp.) e 2 variedades de açafrão (*Curcuma longa*), sendo extraídos óleos essenciais de folhas e rizomas frescas e preparados extratos alcoólicos.

As mudas de manjeriço, obtidas por sementes, foram produzidas em estufas e colocadas em bandejas plásticas de 72 células com substratos orgânicos comercial, sendo transferidas a canteiros quando atingidos 15 cm de altura. Os canteiros foram adubados dez dias antes do plantio com 5 Kg/m² de esterco de gado curtido. As covas de plantação das mudas tiveram espaçamento de 0,50 m entre as plantas, e sendo irrigadas diariamente por gotejamento. A curcuma foi plantada por meio de suas raízes em canteiros para ser cultivada após um período de 8 meses.

As colheitas das plantas foram realizadas após o início de estágio de floração, o manjeriço foi cortado a uma altura de 10 cm do solo e acondicionadas em sacos de papel. Após 8 meses do plantio, foi verificado a presença de rizomas na curcuma, sendo estas coletadas, higienizadas e pesadas.

As plantas foram coletadas às 7h da manhã no Horto da Embrapa Agroindústria Tropical, no período de janeiro a março de 2013 e de janeiro a julho de 2015 para o manjeriço e de agosto a outubro de 2015 para as cúrcumas vermelha e branca. As plantas foram depositadas e registradas no Herbário Prisco Bezerra da Universidade Federal do Ceará, conforme quadro 5:

Quadro 5 – Exsicatas das plantas de manjeriço e açafrão.

Material vegetal	Voucher
<i>O. x citriodorum</i>	-
<i>O. selloi</i>	58826
<i>O. gratissimum</i>	59298
<i>O. tenuiflorum</i>	49103
<i>O. campechianum</i>	59299
<i>O. basilicum</i> L. (greco)	59300
<i>O. basilicum</i> L. (canela)	59809
<i>O. basilicum</i> L. (licorice)	59296
<i>O. basilicum</i> L. (Maria Bonita)	58997
<i>O. basilicum</i> L. (branco)	59297
<i>O. basilicum</i> L. (bola)	58858
<i>O. basilicum</i> (lima)	-
<i>O. basilicum</i> (Italiano)	-
<i>O. basilicum x thysiflorum</i> (Rainha do sean)	-
<i>C. longa</i> var vermelha	59673
<i>C. longa</i> var. branca	60403

4.3 Extração dos óleos essenciais

O método utilizado para extração dos óleos essenciais foi o de destilação por arraste com vapor d'água em aparelho tipo Clevenger (A.O.A.C, 1995). O tempo de extração foi de 4 h para cada planta. O óleo essencial foi em seguida seco com sulfato de sódio anidro e mantidos em refrigerador até a análise. O cálculo do rendimento foi realizado pela fórmula abaixo:

$$\text{Rendimento de óleos essenciais (\%)} = \frac{100 \times n}{P}$$

Onde, n: nº mL de óleo essencial destilado; P: quantidade em gramas da planta.

4.4 Preparo dos extratos de *Ocimum* spp. e *Curcuma longa*

As plantas do manjeriço foram coletadas e secas em microondas por 9 minutos. As 5 g de folhas tiveram extração do ácido ursólico com metanol usando extrator de Soxhlet por 12 horas. Após a rotaevaporação do metanol, o extrato concentrado foi diluído em 1 mL de clorofórmio e 9 mL de metanol passado em filtro

de 0,45 µm para uso na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), método de Silva et al. (2008) com adaptações.

Os rizomas de *Curcuma longa* de ambas as variedades foram coletados, cortados e colocados *in natura* em etanol comercial (70%) por sete dias. Posteriormente, a solução foi filtrada e o solvente foi rotaevaporado para obtenção dos extratos etanólicos do rizoma de curcuma vermelha e rizoma de curcuma branca, conforme metodologia descrita por Pizzolatti et al. (2003).

4.5 Análise química dos óleos essenciais por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM)

A análise química dos constituintes dos óleos essenciais das plantas manjerição e açafraão foi realizada em um instrumento Shimadzu QP-2010, usando coluna DB-1 (Agilent, parte nº 122-5532) com revestimento da coluna capilar de sílica fundida (30mm x 0,25 mm x 0.25 µm); gás Hélio como transportador em modo de velocidade linear constante de 47,4 cm/seg; temperatura da injeção inicial foi de 25 °C, modo controle: *split*, e a temperatura de interface foi de 250 °C. A programação de temperatura da coluna foi de 35 a 180 °C a 4 °C/min, em seguida, 180-280 °C a 17 °C/min, e a 280 °C por 10 min; e espectros de massa com o impacto de elétrons de 70 eV. O volume do óleo essencial injetado foi de 1 µL. Os compostos foram identificados pelos seus tempos de retenção de CG em relação a compostos conhecidos (Anexos 1 e 3), e por comparação dos seus espectros de massa com os presentes no banco de dados de computador (NIST) e espectros publicados (ADAMS, 2001; ADAMS, 2007).

4.6 Análise química dos extratos de *Ocimum* spp. por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

O ácido ursólico usado como padrão foi extraído do *Ocimum gratissimum* por Silva et al. (2008). A CLAE foi ajustada usando coluna de fase-reversa (Shim-pack (CLC) ODS GOLD 25 cm) eluída de 1,5 mL/min com solvente A:B (A-acetonitrila; B-1,25% H₃PO₄; A:B = 74:26 (v/v), comprimento de onda de 206 nm e injeção de 20 µL. A solução padrão de ácido ursólico teve concentração de 1mg/mL.

A solução padrão de ácido ursólico foi injetada (0,01, 0,05, 0,1, 0,5 e 1 µL, respectivamente) e corrida para curva de calibração (Anexo 2).

4.7 Análises fitoquímica e quantificação química dos extratos etanólicos de açafraão

4.7.1 Perfil fitoquímico – Teste qualitativo

O perfil fitoquímico foi realizado qualitativamente para identificação da ausência ou presença de fenóis, esteroides, triterpenos, alcaloides e flavonoides baseado na observação visual das mudanças de cor ou a formação de precipitado após a adição dos reagentes específicos (MATOS, 2009).

4.7.2 Determinação de fenóis totais

Foi pesado 7,5 mg de extrato etanólico das variedades de açafraão e dissolveu em metanol PA, sendo este transferido para um balão volumétrico de 25 mL e o volume final completado com metanol PA. Uma alíquota de 100µL dessa solução foi agitada com 500µL de Folin – Ciocalteu por trinta segundos, em seguida acrescentados 6 mL de água destilada e 2 mL de Na₂CO₃ a 15% à mistura e agitada por 1 minuto, completou-se o volume para 10 mL com água destilada. Após 2 horas foi medida a absorbância dos extratos a 750 nm em espectrofotometria, tendo como “branco” o metanol e todos os reagentes, exceto o extrato. Todas as análises foram realizadas em triplicata e foi realizado uma curva padrão com ácido gálico de 1 a 10 mL para obtenção de uma reta, cujo equação obtida foi utilizada para quantificação de fenóis totais (SOUSA et al., 2007).

4.7.3 Determinação de flavonóides

O método descrito por Funari e Ferro (2006), foi realizado pelo preparo da curva padrão com quercetina em alíquotas de 2 a 6 mL de solução etanólica de quercetina, a 50 µg/mL, transferidas para balões volumétricos de 25 mL, contendo 1 mL de solução de cloreto de alumínio a 2,5% para formação do complexo do flavonoide com AlCl₃ que absorve a 425 nm. O volume final de cada balão é ajustado com etanol. Em seguida, foi obtida uma reta entre as concentrações e absorbâncias correspondentes.

A quantificação de flavonóides nos extratos etanólicos de curcuma vermelha e branca, foi determinado pela adição de 2 mL de solução na concentração de 2 mg/mL (obtida pela dissolução de 20 mg de resíduo seco em 10 mL de etanol), sendo misturados com 1 mL da solução aquosa de cloreto de alumínio diluído em balão de 25 mL. Decorridos 30 min, foi tomada a leitura da triplicata a 425 nm, em espectrofotômetro.

4.7.4 Determinação de carotenóides totais

Os extratos etanólicos de curcuma vermelha e branca foram pesados 1g e transferidos em tubo de ensaio. Em seguida, misturou 10 mL de acetona-hexano (4:6). O tubo foi agitado em vortex por 1 minuto e foi feito a leitura em espectrofotômetro nos seguintes comprimentos de onda: 453 nm, 505 nm, 645 nm e 663 nm. Posteriormente, os comprimentos de onda foram substituídos nas fórmulas para quantificação do licopeno e beta-caroteno, segundo método de Nagata e Yamashita (1992).

4.8 Potencial antioxidante

O potencial antioxidante das espécies de manjeriço e açafrão foi determinado pelos métodos descritos a seguir:

4.8.1 Capacidade de captura de radical livre estável 2,2'-difênil-1-picrilhidrazila (DPPH)

Inicialmente, preparou-se a solução de DPPH, pesando 2,6 mg de DPPH e fazendo a diluição em 100 mL de metanol. Pesou-se 15 mg de óleos e extratos para a preparação da primeira concentração de 10000 µg/mL, que foi diluído em 1,5 mL de metanol, sendo feitas diluições de 10000 a 1 µg/mL, se transfere 0,1 mL dessas concentrações adicionados a 3,9 mL da solução de DPPH. Posteriormente, estas concentrações com DPPH são guardadas sob abrigo da luz por 60 minutos para a leitura a 515 nm em espectrofotômetro. O índice de varredura (IV%) de cada concentração foi calculado mediante fórmula abaixo:

$$IV = \frac{ABS\ DPPH - ABS\ AMOSTRA}{ABS\ DPPH} \times 100$$

A partir desses resultados, foi obtido CI_{50} (concentração inibitória em 50%) por meio da equação da reta que correlaciona as concentrações e seus respectivas índices de varredura (YEPEZ et al., 2002).

4.8.1.1 *Índice de Atividade Antioxidante*

O Índice de atividade antioxidante (AAI) foi calculado de acordo com Scherer e Godoy (2009), um método de avaliação da capacidade antioxidante (AAI), correlacionando a concentração metanólica de DPPH ([DPPH]) e a capacidade antioxidante em 50% em $\mu\text{g/mL}$ ($CI_{50}[\text{DPPH} \cdot]$). A capacidade antioxidante foi avaliada por classificação de AAI $<0,5$ (fraca), $0,5$ a $1,0$ (moderada), $1,0$ a $2,0$ (forte) e $> 2,0$ (muito forte).

4.8.2 **Método antiradical ABTS (2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-ácido sulfônico)**

A solução de $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (7 mM, 5 mL) foi misturado a 88 μL de persulfato de potássio (140 mM). A mistura foi homogeneizada e mantida no escuro a temperatura ambiente por 16h. Posteriormente, 1 ml desta solução foi adicionado em 99 mL de etanol, até obtenção de uma absorvância de 0,715 a 734nm em espectrofotometria.

A concentração mãe foi preparada com 15mg dos óleos essenciais e extratos alcóolico de manjeriço e açafreão diluída em 1,5mL de etanol, obtendo a concentração de 10000 $\mu\text{g/mL}$ e as outras concentrações de 5000 a 5 $\mu\text{g/mL}$. Em seguida, alíquotas de 30 μL das concentrações foram transferidas em 3,0 mL da solução de ABTS para leituras das absorvâncias em 734 nm por espectrofotometria após decorrido 6 minutos (RE et al., 1999). O índice de varredura (IV%) de cada concentração foi calculado mediante fórmula abaixo:

$$IV(\%) = \frac{ABS\ ABTS - ABS\ AMOSTRA}{ABS\ ABTS} \times 100$$

A partir desses resultados, foi obtido CI_{50} (concentração inibitória em 50%) por meio de uma regressão linear com equação da reta que correlaciona as concentrações e seus respectivas índices de varredura.

4.8.3 Sistema β -Caroteno/ácido linoleico

O método utilizado foi o descrito por Wettasinghe e Shahidi (1999). Inicialmente, foi pesado 1 mg de β -caroteno e diluído em 5 mL de clorofórmio.

No preparo da solução de β -caroteno, utilizou-se água aerada (oxigênio livre), 200 μ L de Tween 40, 20 μ L de ácido linoleico e 2 mL de β -caroteno. Ajustou-se o espectrofotômetro para o comprimento de onda 470 nm. Após isso, ajustou-se a solução de β -caroteno entre 0,6 e 0,7 nm.

Para a solução mãe (concentração de 500 μ g/mL), pesou-se 12,5 mg dos óleos essenciais e extratos alcóolicos de manjeriço e açafreão para 25 mL de metanol. Em seguida, foi feita as concentrações de 250, 100, 50 e 25 μ g/mL). Após as concentrações adquiridas, colocou-se 5 mL da solução de β -caroteno em vidrinhos com 200 μ L de cada concentração. O branco foi realizado com a solução de β -caroteno/ácido linoléico sem a amostra. O teste foi realizado em duplicata. A leitura foi feita no espectrofotômetro antes e após passados 2h de incubação das concentrações em solução de β -caroteno/ácido linoléico em banho maria. O cálculo foi feito da seguinte forma:

$$IV\% = 1 - \frac{ABS\ Amostra - ABS\ Amostra\ 2h}{ABS\ Branco - ABS\ Branco\ 2h} \times 100$$

O CI_{50} (concentração inibitória em 50%) por meio de uma regressão linear foi calculado por meio de equação da reta que correlaciona as concentrações e seus respectivas índices de varredura.

4.9 Toxicidade frente à *Artemia salina*

O potencial tóxico das plantas foi determinado usando as larvas de *Artemia salina*, descrito por Meyer et al. (1982). Os ovos de *Artemia salina* foi adquirido em comércio local, sendo colocado em pequeno tanque dividido em dois compartimentos contendo água salina.

Os ovos de *Artemia salina* foram adicionados ao compartimento coberto contendo uma lâmpada em cima e hidratadas numa solução salina contendo água de aquário sintético adaptado para 12 μ g/mL, a temperatura ambiente cerca de 25 °C. Depois de um período de tempo de aproximadamente 48 horas, a eclosão dos ovos e

as larvas produzidas, foram recolhidos para o bioensaio. As diluições de óleos e extratos em solvente evaporado foram realizadas em solução salina sintética, 0,5 mL de concentração de dimetilsulfóxido (DMSO), a qual dez larvas foram adicionados em copos de plástico de 50 mL. Para o controle negativo, as larvas foram mantidas apenas em solução salina sintética e DMSO. Após 24 horas de incubação, as larvas mortas foram contadas para calcular a CL_{50} (concentração letal para 50% das larvas).

4.10 Atividade antiacetilcolinesterase (qualitativo e quantitativo)

No ensaio de inibição da acetilcolinesterase, avaliação qualitativa, seguiu-se a metodologia de Ellman (1961), adaptada por Rhee et al. (2001), para cromatografia em camada delgada. Neste ensaio, utilizou-se a solução dos reagentes ácido 5,5-ditiobis-2-nitrobenzóico (DTNB), iodeto de acetilcolina (ATCI) em tampão e solução da enzima acetilcolinesterase. A fisostigmina foi utilizada como padrão positivo.

Na avaliação quantitativa de antiAChE, 25 μ L de óleos essenciais e extratos alcóolico de manjeriço e açafreão foram diluídas em 25 μ L de iodeto de acetilcolina (15 mM), 125 μ L of 5,5'-ditiobis- [2-nitrobenzóico] em solução de Tris/HCl (50 nM, pH = 8 com 0,1 M NaCl e 0,02 M $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ (3 mM, DTNB ou reagente Ellman's)), solução de 50 μ l Tris/HCL (50 nM, pH = 8, com 0,1% soro de abumina bovina (BSA)), lidos antes e depois da adição de 25 μ L da enzima de acetilcolinesterase a 405 nm em Elisa BIOTEK (RHEE et al., 2001). A fisostigmina foi usada como padrão.

4.11 Larvicida contra *Aedes aegypti*

As larvas no 3º estágio foram doadas pelo Núcleo de Controle de Vetores do Ceará (NUVET), localizado na Secretaria de Saúde do Estado do Ceará.

Inicialmente, mediu-se em triplicata 1 mg, 2 mg, 5 mg e 10 mg de óleos essenciais e extratos alcóolico de manjeriço e açafreão, que foram dissolvidas em 0,3 mL de DMSO. Em seguida, foi adicionado 19,7 mL de água juntamente com 50 larvas de 3º estágio do *Aedes aegypti*. O teste controle foi usado apenas com DMSO, H₂O destilada e 50 larvas. Após 24 horas, as larvas mortas foram contadas e os resultados obtidos foram colocados em uma regressão linear para o cálculo da concentração letal capaz de matar 50% das larvas (CL_{50}) e em 90% (CL_{90}) (OLIVEIRA et al., 2002).

4.12 Análises Estatísticas

As análises estatísticas deste trabalho foram realizadas no software R versão 3.2.2. Os dados foram expressos como medidas de tendência central e dispersão. Testou-se a normalidade dos dados utilizando o teste de Kolmogorov-Smirnov e a homogeneidade dos dados utilizando o teste de Levene. Para a comparação entre duas médias, com dados normais e homogêneos, utilizou-se o teste t de Student para resultados independentes, e com dados não normais e não homogêneos, o teste de Mann-Whitney. Para a comparação entre três médias, quando os dados foram normais e homogêneos utilizou-se o teste de ANOVA, e quando não, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis. Utilizou-se o pós-teste de comparações múltiplas LSD de Fisher. Os dados foram considerados significativos com valores de p abaixo de 0,05.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Óleos essenciais de *Ocimum* spp.

Os óleos essenciais do gênero *Ocimum* apresentaram rendimentos variando de 0,03 a 2,00% (Tabela 1), sendo considerado satisfatório e tais quantidades podem estar associadas aos fatores ambientais: a temperatura, intensidade da radiação solar, solo e outros, como explicaram Botrel et al. (2010). Além de que devem ser considerados fatores experimentais, como: a matriz utilizada, a extração por arraste a vapor realizada pelo destilador e a coleta (BURT, 2004). No entanto, os rendimento dos óleos essenciais estudados foram superiores quando comparado ao estudo de Sartoratto et al. (2004), que obtiveram 0,1%.

Tabela 1 – Rendimento dos óleos essenciais de *Ocimum* spp.

Material vegetal	Rendimento de óleo essencial (%)
<i>O. x citriodorum</i>	0,12
<i>O. selloi</i>	0,40
<i>O. gratissimum</i>	0,40
<i>O. tenuiflorum</i>	0,30
<i>O. campechianum</i>	2,00
<i>O. basilicum</i> L. (greco)	0,40
<i>O. basilicum</i> L. (canela)	0,31
<i>O. basilicum</i> L. (licorice)	0,20
<i>O. basilicum</i> L. (Maria Bonita)	0,03
<i>O. basilicum</i> L. (branco)	0,30
<i>O. basilicum</i> L. (bola)	0,40
<i>O. basilicum</i> (lima)	0,00
<i>O. basilicum</i> (Italiano)	0,00
<i>O. basilicum x thysiflorum</i> (Rainha do sean)	0,00

Similarmente com este estudo, Trevisan et al. (2006) atribuíram maior rendimento a alfavaca (*O. gratissimum*) (3,5%) e o menor ao *O. basilicum* variedade *purpurascens* (0,5%), sendo *O. campechianum* deste estudo dentro dessa faixa.

Os constituintes químicos dos óleos essenciais de espécies de *Ocimum* spp. foi mostrada na Tabela 2.

Tabela 2 – Constituintes químicos de óleos essenciais de *Ocimum* spp.

Constituintes	IK exp	Oc (%)	Os (%)	Og (%)	Ot (%)	Ocm (%)
α-pineno	933	-	-	0,39	-	-
octen-3-ol <1>	970	0,08	-	-	-	0,16
Sabineno	970	-	-	0,30	-	-
β-pineno	973	-	-	1,13	-	-
6-metil-5-hepten-2-one	977	0,34	-	-	-	-
1,8-cineol (Eucaliptol)	1023	-	4,26	22,10	-	1,01
E- β-ocimeno	1042	-	0,45	-	-	-
γ-terpineno	1053	-	0,33	-	-	-
2,2-dimetil-3,4-octadienal	1087	0,52	-	-	-	-
Linalol	1096	-	17,10	0,58	-	0,76
Trans-verbenol	1140	0,76	-	-	-	-
Cânfora	1143	-	0,57	-	-	-
Cis-crisantenol	1160	1,28	-	-	-	-
Delta – Terpeneol	1166	-	-	0,29	-	-
Terpinen-4-ol	1179	-	2,41	-	-	-
α-terpineol	1191	-	-	0,80	-	-
Metil chavicol	1208	-	65,82	-	-	-
Acetato octanol	1215	-	0,35	-	-	-
Nerol	1234	2,88	-	-	-	-
Neral	1249	36,10	-	-	-	-
Geraniol	1261	1,55	-	-	-	-
Geranial	1281	47,62	-	-	-	-
Timol	1299	-	-	0,43	-	-
Delta-Elemeno	1340	-	-	-	-	0,58
Eugenol	1360	-	-	47,03	81,91	68,74
Acetato neril	1368	0,71	-	-	-	-
α-copaeno	1381	-	-	0,31	-	-
β-elemeno	1394	-	-	0,75	6,54	4,40
Metil-eugenol	1408	-	-	-	-	1,52
α-cis-bergamoteno	1420	-	3,95	-	-	-
E-cariofileno	1426	1,66	-	7,09	10,05	7,65
α-trans-bergamoteno	1437	0,67	-	-	-	-
α-humuleno	1455	0,70	0,52	1,04	0,59	1,67
Alo-aromadendreno	1460	-	-	-	-	0,28
Germacreno D	1480	0,52	0,36	1,67	-	0,34
β-selineno	1485	1,15	-	11,12	-	1,16
α-selineno	1493	0,81	-	3,20	-	-
Biclogermacreno	1494	-	-	-	-	4,95
α-bulneseno	1503	-	-	-	0,91	-
γ-cadineno	1510	-	0,94	-	-	-
7-epi-α-selineno	1511	-	-	0,87	-	-
β-sesquifelandreno	1520	-	-	-	-	1,45
α-Z-bisaboleno	1534	1,57	-	-	-	-
Elemicina	1547	-	-	-	-	4,16

Spathulenol	1570	-	-	-	-	0,35
Óxido cariofileno	1571	1,08	-	0,91	-	0,82
Epi- α -cadinol	1621	-	2,47	-	-	-
Monoterpeno hidrocarboneto	-	-	0,78	1,82	-	-
Monoterpeno oxigenado	-	90,71	90,51	24,20	-	1,77
Fenilpropanoides	-	-	-	47,03	81,91	68,74
Sesquiterpeno hidrocarboneto	-	7,08	7,95	26,04	18,09	22,48
Sesquiterpeno oxigenados	-	1,08	-	0,91	-	1,12
Outros	-	7,13	-	-	-	5,84
% Total identificado	-	100,00	99,24	100,00	100,00	99,95

Legenda: Oc = *Ocimum x citriodorum*, Os = *Ocimum selloi*, Og = *Ocimum gratissimum* (Alfavaca), Ot = *Ocimum tenuiflorum*, Ocm = *Ocimum campechianum* (syn *O. micranthum*). IK exp: Índice kovat experimental.

O óleo essencial (OE) de *O. x citriodorum* analisado por CG/EM teve 18 constituintes químicos encontrados, tendo no total 90,71% de monoterpenos oxigenados, representado majoritariamente por geranial e neral. O OE de *Ocimum selloi* apresentou 13 constituintes químicos, sendo o majoritário metil chavicol (65,82%), seguido do linalol (17,10%).

A análise dos constituintes químicos de OE de *Ocimum selloi* mostrou a variedade química por região, onde plantas cultivados em diferentes estados apresentaram composição distinta. O OE de *O. selloi* apresentou elevados teores de monoterpenos oxigenados, tendo 13 componentes identificados, com teor elevado de metil chavicol e diferenciando quando comparado ao estudo de Moraes et al. (2002) em que a mesma espécie cultivado em São Paulo teve majoritariamente em seus óleos essenciais de várias partes da planta, teores variando de 41,34 a 58,59% de trans-anetol e de 24,14 a 29,96% de metil chavicol. Os teores encontrados de linalol para *O. selloi* neste estudo foi similar ao referido por Vieira et al. (2014) que encontraram 52,20% de anetol e 16,80% de linalol.

O teor de estragol ou metil chavicol encontrado em óleo essencial de *Ocimum selloi* deste experimento foi similar ao estudo de Padilha-Paula, Gomes-Carneiro e Paunargatten (2003) que identificaram estragol (55,30%), trans-anetol (34,20%) e cis-anetol (3,90%) em de folhas frescas de cultivo de Curitiba.

O OE de *O. gratissimum*, também conhecido como manjeriço alfavaca, teve 19 constituintes identificados com teores de 47,03% do fenilpropanóide eugenol, 22,10% de 1,8-cineol, 11,12% de β -selineno e outros minoritários, como o timol. Resultado concordante ao estudo de Pereira e Maia (2007) que encontraram 53,90% de eugenol em plantas originária de Viçosa (MG).

Pereira e Maia (2007) ressaltaram acerca da distinção nas espécies do gênero de *Ocimum* que ocorre pela presença de timol ou pelo alto teor de eugenol, tendo a espécie *O. gratissimum* com um teor significativamente elevado de eugenol, dentre as cultivares de *Ocimum*.

Das espécies de manjeriço, *O. gratissimum* apresenta maior variabilidade por locais do mundo. O óleo essencial dessa espécie na Índia teve como maior constituinte, o eugenol (56,00 a 74,50%) (CHOUDRHURY; BORDOI, 1993), corroborando com o resultado desse estudo. Enquanto, que no óleo essencial obtido na Tailândia não foi detectado eugenol, sendo o timol (47,60%), o constituinte majoritário (SAINSBURRY; SOFOWORA, 1971).

O. gratissimum apresentou teor de eugenol similar em seu óleo essencial ao estudo de Vieira e Simon (2000), que teve teor de 60,30% em um dos genótipos originário de Goiás.

O OE de *O. tenuiflorum* mostrou composição química composta por cinco substâncias, tendo o fenilpropanóide eugenol majoritariamente (81,91%). O teor de eugenol no óleo essencial de *O. tenuiflorum* foi superior a todos os óleos essenciais desse estudo e também quando comparado ao estudo de Kothari, Bhattacharya e Ramesh (2004) que pesquisaram a mesma espécie e encontraram teores de 4,36% a 8,48% para eugenol em plantas da Índia, possuindo elevado teor de metil eugenol. É interessante notar que *Ocimum tenuiflorum* apresentou teor de eugenol similar ao *Syzygium aromaticum* (cravo) (82,47%) e *Pimenta dioica* (pimenta jamaicana) (82,56%) (OLIVEIRA et al., 2009), especiarias mais utilizadas na extração de eugenol para uso em alimentos por este constituinte fenólico volátil possuir ação antioxidante.

O hidrocarboneto sesquiterpênico E-cariofileno foi um dos constituintes com maior teor no óleo essencial de *O. tenuiflorum*, possivelmente com propriedades antimicrobiana, antioxidante, antiviral, antiinflamatória e antiparasitária. O β -elemeno foi um constituinte que apareceu com 6,54% no óleo essencial analisado, sendo, segundo Zhu (2011), um sesquiterpeno de efeitos antiproliferativos em algumas células cancerígenas.

A variabilidade química por região, clima, época de colheita foi destacado na comparação química do OE de *O. campechianum*, também conhecido com *O. micranthum*, tendo poucos relatos acerca da química na literatura. Segundo a Tabela 2, o OE de *O. campechianum* contém 17 constituintes químicos, representado por 68,74% de eugenol, sendo similarmente ao valor reportado pelo Vieira et al. (2014),

que encontraram teor de 64,80% de eugenol. Vale destacar ainda que o teor de eugenol desse *Ocimum* foi superior quando comparado ao estudo de Sacchetti et al. (2004) que encontraram 46,55% de eugenol como principal constituinte em folhas originárias da Amazônia e com relação a Charles, Simon e Wood (1990), 20,50% de eugenol em folhas de Chicago.

O *O. basilicum* L. é uma das espécies mais utilizadas na Indústria de Alimentos na aromatização de produtos alimentícios. Neste estudo, os óleos essenciais dessa espécie tiveram 6 variedades analisadas, denominadas: greco a palla, canela, licorice, Maria bonita, branco e bola, mostrando distinção química em seus componentes majoritários. Os resultados da variabilidade química de *O. basilicum* estão na tabela 3.

As variedades de *O. basilicum* apresentaram majoritariamente nos óleos essenciais analisados de 6 a 24 constituintes químicos, classificados entre monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides. Os monoterpenos hidrocarbonetos variaram de 0,79 a 2,62%, monoterpenos oxigenados de 16,83 a 96,41%, fenilpropanóides entre 42,15 e 56,53%, sesquiterpenos hidrocarboneto de 2,79 a 13,65%, sesquiterpeno oxigenado de 3,61 a 5,64 e outros componentes 1,57 a 2,51%, sendo majoritariamente nos teores de metil chavicol (estragol), eugenol e linalol (Tabela 3).

Similarmente a este estudo com teores elevados de monoterpenos, 12 variedades de óleo essencial de *O. basilicum* mostraram teores de monoterpenos (45,60%), sesquiterpenos (35,30%) e fenilpropanóides (7,40%) (VIÑA; MURILLO, 2003).

O OE de *Ocimum basilicum* variedade greco a palla teve 24 constituintes químicos identificados pelo CG/MS, predominando em ordem decrescente o eugenol (42,15%) > linalol (23,54%) > 1,8-cineol (11,46%) > epi- α -cadinol (4,67%) > α -cis-bergamoteno (3,24%), e outros minoritários.

Os óleos essenciais de *Ocimum basilicum* vulgarmente chamado de manjeriçã canela, branco e licorice mostraram teores elevados de metil chavicol, destacando ainda na variedade branca, um conteúdo de 17,08% de linalol.

Tabela 3 – Constituintes químicos de óleos essenciais de *Ocimum basilicum* L. e suas variedades.

Constituintes	IK exp	Obg (%)	Obc (%)	Obl (%)	Obmb (%)	Obw (%)	Obb (%)
α-pineno	939	0,30	-	-	-	-	-
Sabineno	970	0,38	-	-	-	-	-
β-pineno	971	0,75	-	-	-	-	-
Mirceno	985	0,57	-	-	-	-	-
1,8-cineol (Eucaliptol)	1018	11,46	3,55	3,36	3,63	2,96	1,07
Z-β-ocimeno	1040	0,62	-	0,79	-	-	-
E-β-ocimeno	1041	-	0,89	-	-	-	2,25
Linalol	1095	23,54	-	-	70,58	17,08	10,96
Cânfora	1140	1,59	0,63	0,57	-	0,44	0,55
Borneol	1160	-	-	-	-	-	0,46
Terpinen-4-ol	1174	-	-	-	-	2,12	2,99
α-terpineol	1190	1,77	-	-	0,75	-	0,41
Metil-chavicol	1190	-	87,47	92,48	-	67,85	0,39
Acetate octanol	1216	0,62	-	-	-	-	0,31
Neral	1243	-	0,99	-	-	0,79	-
Formato de Isobornil	1286	-	-	-	-	-	1,12
Geraniol	1260	-	-	-	18,01	-	-
Geranial	1274	-	1,30	-	-	0,98	-
Acetate de Bornil	1293	1,01	-	-	-	-	-
Eugenol	1369	42,15	-	-	-	-	56,53
Acetato de Geranil	1384	-	-	-	2,51	-	-
β-elemeno	1396	1,36	-	-	-	0,45	1,38
Metil-eugenol	1405	-	-	-	-	-	0,45
α-cis-bergamoteno	1437	3,24	0,79	-	2,12	-	9,27
E- Cariofileno	1424	-	-	-	-	0,48	-
α-trans-bergamoteno	1439	-	-	-	-	0,73	-
α-guaieno	1440	0,38	-	-	-	-	0,40
α-humuleno	1455	0,39	0,74	-	-	0,61	-
Germacreno D	1480	0,94	-	-	-	0,72	0,91
Biciclogermacreno	1498	0,30	-	-	-	-	-
α-bulneseno	1503	1,03	-	-	-	-	0,99
γ-cadineno	1509	1,13	0,93	0,71	0,71	1,19	2,08
Eugenol-acetato	1524	0,83	-	-	-	-	-
Spathulenol	1569	0,41	-	-	-	0,53	0,47
1,10-di-epi-cubenol	1603	0,56	-	-	-	-	-
1-epi-cubenol	1600	-	-	-	-	-	0,55
Epi-α-cadinol	1622	4,67	2,72	2,08	1,69	3,08	4,46
Monoterpeno hidrocarboneto	-	2,62	0,89	0,79	-	-	2,25
Monoterpeno oxigenados	-	38,98	93,94	96,41	92,97	92,22	16,83
Fenilpropanoide	-	42,15	-	-	-	-	56,53
Sesquiterpeno hidrocarboneto	-	8,77	5,18	2,79	4,52	4,18	13,65
Sesquiterpeno oxigenado	-	5,64	-	-	-	3,61	5,01

Outro	-	1,84	-	-	2,51	-	1,57
% Total identificado	-	100,00	100,00	99,99	100,00	100,00	96,15

Legenda: Obg = *Ocimum basilicum* var greco, Obc = *Ocimum basilicum* var canela, Obl = *Ocimum basilicum* var licorice, Obmb = *Ocimum basilicum* var Maria Bonita, Obw = *Ocimum basilicum* var branco, Obb = *Ocimum basilicum* var bola. IK exp: Índice Kovat experimental.

Variações na composição química de óleos essenciais, produtos do metabolismo secundário de plantas, ocorre devido a mudanças nos fatores abióticos, bem como a localização geográfica da planta e época da coleta da planta (SOBRINHO et al., 2016).

Quanto às variedades que apresentavam metil chavicol como constituinte majoritário, os teores estavam similares a plantas da Turquia (78,02%) (OZCAM; CHALCHAT, 2002) e a plantas cultivadas na Índia (39,30%) (ZHELJAZKOV et al., 2008).

O OE de *O. basilicum* var. Maria bonita mostrou alto conteúdo de linalol (70,58%), um monoterpene oxigenado comum nessa variedade como referido em plantas cultivadas no exterior como no Brasil. Houve similaridade na presença de linalol quando comparado a plantas cultivadas na Itália (MAROTTI; PICCAGLICA; GIOVANELLI, 1996), Estados Unidos (BLANK et al., 2007), Paquistão (HUSSAIN et al., 2008), Minas Gerais (LUZ et al., 2009) e Tocantins (VELOSO et al., 2014), que apresentaram teores variando de 36,32 a 78,12 %.

O óleo essencial de *O. basilicum* var. bola apresentou um alto conteúdo de eugenol (56,53%), seguido de linalol (10,96%), discordando com Joshi (2014) que em cultivares da Índia identificou teores de 39,30% de metil eugenol e 38,30% de metil chavicol.

A Tabela 4 mostra a avaliação do potencial antioxidante dos óleos essenciais de espécies de *Ocimum spp.* As análises mostraram similaridade entre os valores de Cl_{50} das espécies de *Ocimum spp.* e variedades de *Ocimum basilicum* L., onde 5 espécies de óleos essenciais apresentaram interessantes concentrações inibitórias de oxidação. Neste contexto, Pandey, Singh e Tripathi (2014) ressaltaram que plantas aromáticas, particularmente óleos essenciais, apresentaram atividade antioxidante.

O sequestro do radical livre do DPPH é um dos métodos mais usados para comparar as atividades antioxidantes *in vitro* entre amostras. Dentre as espécies de óleo essencial de *Ocimum*, as ativas em ordem foram: *O. basilicum* var. greco a palla > *O. gratissimum* > *O. basilicum* var. bola > *O. campechianum* > *O. tenuiflorum*,

quando comparado com as outras espécies. Estatisticamente, os valores de Cl_{50} de *O. tenuiflorum* foi igual ao padrão eugenol, sem diferença estatisticamente significativo ($p < 0,05$). Os valores de Cl_{50} de *O. basilicum* var. greco, *O. gratissimum* e *O. basilicum* var. bola e *O. campechianum* foram iguais estatisticamente entre si, e diferentes estatisticamente significativo ($p < 0,05$) quando comparado ao eugenol.

Tabela 4 – Potencial antioxidante de óleos essenciais de espécies do gênero *Ocimum*.

Material vegetal	DPPH	ABTS	β -caroteno/ Ácido Linoléico
	Cl_{50} ($\mu\text{g/mL}$) $\chi \pm DP$	Cl_{50} ($\mu\text{g/mL}$) $\chi \pm DP$	Cl_{50} ($\mu\text{g/mL}$) $\chi \pm DP$
<i>O. x citriodorum</i>	465,81 \pm 6,70 ^{a,A}	346,37 \pm 6,12 ^{a,b,B}	34,41 \pm 13,39 ^{a,C}
<i>O. selloi</i>	439,35 \pm 38,63 ^{a,A}	282,42 \pm 21,2 ^{a,B}	22,55 \pm 4,78 ^{b,C}
<i>O. gratissimum</i>	6,53 \pm 0,34 ^{b,A}	2,84 \pm 0,26 ^{c,B}	3,43 \pm 0,50 ^{c,B}
<i>O. tenuiflorum</i>	2,31 \pm 0,02 ^{c,A}	2,22 \pm 0,23 ^{c,A}	16,11 \pm 3,59 ^{d,B}
<i>O. campechianum</i>	4,93 \pm 0,03 ^{b,A}	2,51 \pm 0,07 ^{c,B}	8,79 \pm 0,12 ^{e,C}
Variedades de <i>O. basilicum</i>			
Greco a palla	7,40 \pm 0,34 ^{b,A}	3,20 \pm 0,35 ^{c,B}	12,44 \pm 0,64 ^{d,C}
Canela	205,00 \pm 35,36 ^{a,A}	679,16 \pm 64,02 ^{d,B}	160,17 \pm 45,43 ^{f,A}
Licorice	2111,06 \pm 176,94 ^{d,A}	515,71 \pm 157,60 ^{e,B}	-
Maria Bonita	1989,20 \pm 834,23 ^{d,A}	681,00 \pm 56,65 ^{d,A,C}	213,88 \pm 176,10 ^{f,B,C}
Branco	386,80 \pm 15,18 ^{a,A}	391,24 \pm 48,20 ^{b,A}	11,95 \pm 4,63 ^{d,B}
Bola	6,13 \pm 0,13 ^{b,A}	2,69 \pm 0,39 ^{c,B}	20,85 \pm 1,81 ^{b,C}
Eugenol (padrão)	1,91 \pm 0,06 ^{c,A}	2,17 \pm 0,03 ^{c,A}	7,85 \pm 2,25 ^{e,B}
Valor p	0,001	0,001	0,025

Legenda: χ – Média; DP – Desvio padrão; £ – Teste de ANOVA seguido do pós-teste LSD Fisher; † – Teste de Kruskal-Wallis. LSD: letras médias – diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Letras minúsculas: comparação entre espécies; letras maiúsculas: comparação entre métodos.

A capacidade antioxidante de óleos essenciais de manjeriço tem sido estudada ao longo dos anos. Dado similar a este estudo foi referido por Trevisan et al. (2006) que avaliaram a capacidade antioxidante de cinco espécies de gêneros *Ocimum* originários de plantações em Fortaleza, denominado de *O. basilicum* var. *purpurascens*, *O. basilicum*, *O. gratissimum*, *O. micranthum* e *O. tenuiflorum*

(sinônimo *O. sanctum*), usando métodos de DPPH e oxidação da hipoxantina/xantina por HPLC, o qual a capacidade antioxidante mais forte foi obtida pelo OE de *O. tenuiflorum*.

Os valores de CI_{50} deste estudo foram melhores quando comparado ao estudo de Bunarathep, Palanuvez e Ruangrunsi (2007) que reportaram um comparativo de atividade antioxidante de óleos essenciais de *O. basilicum*, *O. canum*, *O. gratissimum*, e *O. sanctum* pelo método de DPPH e encontraram que o *O. gratissimum* foi mais antioxidante seguido pelo *O. sanctum* (sinônimo *O. tenuiflorum*), *O. canum* e *O. basilicum* com valores de CI_{50} de 30,20, 767,82, 8434,19 e 47057,45 $\mu\text{g/mL}$.

Vale ressaltar, os óleos essenciais são uma mistura complexa de dezenas de compostos com diferentes comportamentos, grupos funcionais e polaridade. O efeito antioxidante de um óleo essencial não pode ser atribuído a um ou a alguns de seus constituintes devido à sua complexidade estrutural. Concentrações mais baixas podem contribuir significativamente para a atividade do óleo (MIRANDA et al., 2016).

Resultados discordantes a este estudo para variedades de *O. basilicum* foram apontados por Hussain et al. (2008) que atribuíram atividade antioxidante ao constituinte majoritário linalol, sendo os valores de CI_{50} de 4,80, 5,30, 6,00 e 6,70 $\mu\text{g/mL}$ em folhas coletadas no inverno, primavera, outono e verão, respectivamente.

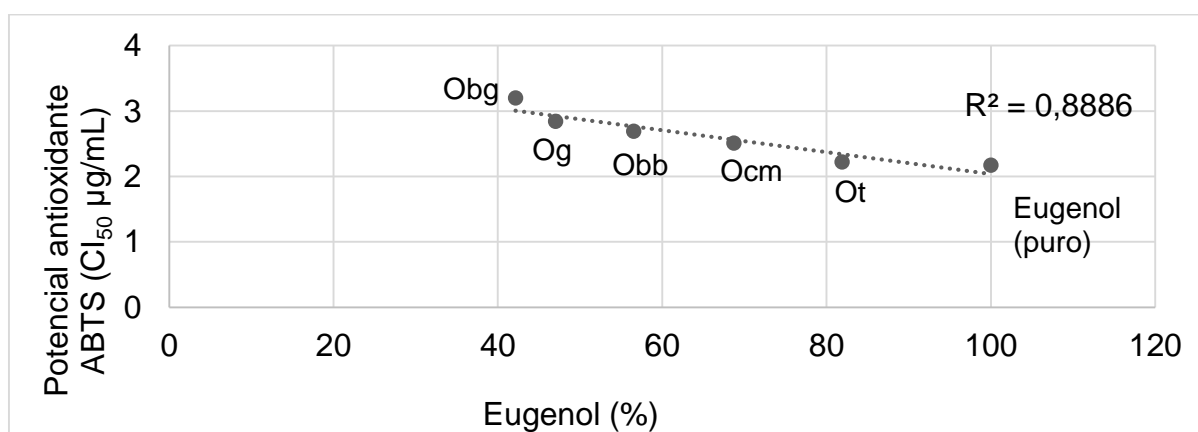
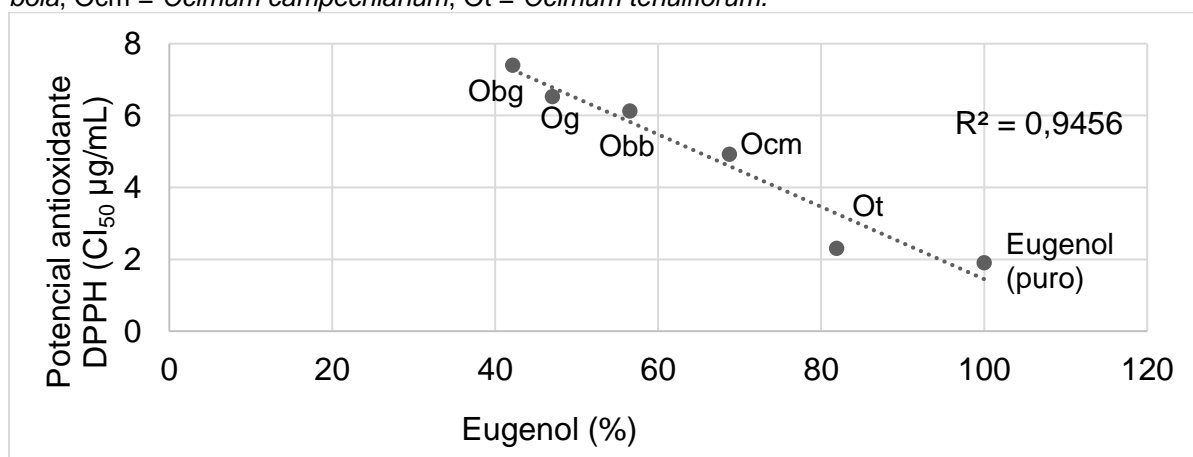
O índice de atividade antioxidante, calculado por meio da relação entre concentração da solução de DPPH e CI_{50} , determinou uma capacidade antioxidante fraca para *O. x citriodorum*, *O. selloi*, *O. basilicum* var Maria Bonita, *O. basilicum* var. licorice e *O. basilicum* var branco, sem diferença estatística entre eles. Em ordem, os óleos essenciais de forte capacidade antioxidante com quimiotipo de eugenol foram: *O. tenuiflorum* (10,97) > *O. campechianum* (5,14) > *O. basilicum* var bola (4,14) > *O. gratissimum* (3,88) > *O. basilicum* var greco a palla (3,42).

Utilizando o método de ABTS neste estudo, o potencial antioxidante de 4 óleos essenciais de *Ocimum* não diferiram estatisticamente significativa quando comparado ao padrão eugenol, mostrando excelente atividade dos seguintes óleos essenciais: *O. tenuiflorum*, *O. campechianum*, *O. basilicum* var. bola e *O. gratissimum*, confirmando os resultados pelo anti-radical DPPH. O OE de *O. basilicum* var. greco a palla teve uma boa atividade antioxidante, diferindo estatisticamente significativo quando comparado ao padrão eugenol.

Os óleos essenciais de *Ocimum* com melhores potenciais antioxidantes pelos métodos analisados DPPH e ABTS foram às plantas com maior teor de eugenol, o aumento do teor de eugenol reduziu a capacidade inibitória em 50%, mostrando a forte eficiência antioxidante do eugenol pela sua estrutura química fenólica, aproximadamente 0,9 de regressão (Gráfico 1), mesmo com características distintas dos radicais usados: DPPH (hidrofílico) e ABTS (hidrofílico e lipofílico) (KUSKOSKI et al., 2005).

Gráfico 1 – Correlação entre conteúdo de eugenol e atividade antioxidante, segundo métodos DPPH e ABTS.

Obg = *Ocimum basilicum* var greco a palla, Og = *Ocimum gratissimum*, Obb = *Ocimum basilicum* var bola, Ocm = *Ocimum campechianum*, Ot = *Ocimum tenuiflorum*.



Segundo Tomaino et al. (2005) e Trevisan et al. (2006), essa atividade foi correlacionada positivamente em óleos essenciais com uma alta proporção de eugenol, enquanto uma forte correlação negativa foi observada quando outros compostos majoritários foram identificados. Vale ressaltar que o eugenol é o princípio ativo do cravo (85-92%), de plantas do gênero *Ocimum*, da canela e noz-moscada,

tendo capacidade explicada pela característica estrutural do grupo fenólica que fortemente sequestra radicais livres (TREVISAN et al., 2006; PEREIRA; MAIA, 2007) e retarda a autoxidação do ácido linoleico (FARAG; BADEL; EL-BAROTY, 1989; STOILOVA et al., 2008).

Propriedades já conhecidas do eugenol são as funções antioxidantes (NAGABABU; LAKSHMAIAH, 1992; SATOH et al., 1998; DORMAN; SURAI; DEANS, 2000; POLITEO; JUKIC; MILOS, 2007), anticarminativa, antiespasmódica, antisséptica e antimicrobiana, como muito bem conhecido como anestésico e analgésico na odontologia (VIEIRA et al., 2014).

A atividade antioxidante determinada pelo sistema beta-caroteno/ácido linoléico é um método que estima a inibição da formação de radicais livres, baseando na atividade de uma amostra ou composto de proteger um substrato lipídico da oxidação (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006), podendo possivelmente estimar a capacidade antioxidante *in vivo* e a estabilidade da amostra testada em gorduras. Este resultado foi capaz de identificar o OE de *O. gratissimum* como a espécie de forte capacidade antioxidante, inclusive mais ativo que o eugenol isolado, diferindo estatisticamente ($p < 0,05$). Vale ressaltar que este resultado é interessante, mostrando que esse óleo essencial apresentou a capacidade de inibir a formação de radicais livres frente aos fatores promotores da oxidação usados neste teste *in vitro*: oxigênio e altas temperaturas, possivelmente promovendo sequestro de radicais livres *in vivo* e estabilidade de alimentos.

O OE de *O. campechianum* teve uma boa capacidade antioxidante pelo método beta-caroteno/ácido linoleico com um valor igualmente significativo estatisticamente quando comparado ao valor de Cl_{50} do padrão eugenol. Estatisticamente, os *O. basilicum* das variedades branco e greco a palla e *O. tenuiflorum* foram igualmente significativos com moderada capacidade antioxidante.

Os óleos essenciais de *O. tenuiflorum*, *O. gratissimum*, *O. campechianum* e *O. basilicum* (variedades de greco a palla e bola) mostraram potencial biotecnológico com excelentes rendimentos e fortes atividades antioxidantes atribuídas ao eugenol e efeito sinérgico por vários quimiotipos presentes, que podem ser utilizados na preservação de alimentos (embalagem inteligente e estabilidade dos produtos alimentares), na alimentação animal e dieta humana como alimento funcional, prevenindo doenças crônicas não transmissíveis como Obesidade, Diabetes Mellitus,

Hipertensão, Dislipidemias e Câncer, e também doenças neurológicas como Mal de Alzheimer.

Correlacionando efeito antioxidante de óleos essenciais e preservação de alimentos, pesquisas recentes tentam desenvolver embalagens inteligentes que agregam qualidade aos produtos incorporando óleos essenciais em polímeros. Nessa ótica, os óleos essenciais com ação antioxidantes incorporados ou utilizados em embalagens podem erradicar a ação da oxidação por meio de eliminação e/ou inibição de radicais livres, conferindo maior vida de prateleira a alimentos. Por exemplo, o uso de coberturas comestíveis (carragenina, concentrado de proteína de trigo) em combinação com antioxidantes de plantas foi eficiente para prolongar a vida útil de maçãs minimamente processadas durante duas semanas quando armazenado a 3 °C (LEE et al., 2003).

Vale ressaltar ainda, biofilmes para frutas incluídas de OE de cravo, orégano e combinações binárias 1:1 de OE de ambas as especiarias teve efeito antioxidante com diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos em relação aos valores de TBA (ácido 2-tiobarbitúrico) no final do período 15 dias de armazenamento sob-refrigeração (UGALDE, 2014).

Ao longo das últimas duas décadas, vários estudos relataram resultados positivos de uso de óleos essenciais de plantas (OEs) como aditivo dietético em várias espécies de animais. Recentemente, essas alternativas nutricionais foram avaliadas e relatadas na produção de ração para peixes, a fim de aumentar a resistência a doenças e prevenir surtos, além de melhorar o crescimento de peixes, bem-estar animal, melhor estabilidade de constituintes químicos e composição nutricional para uso na dieta humana (SUTILI et al., 2017).

Um produto comercial à base de misturas de especiarias mostrou melhor atividade antioxidante que o TBHQ (antioxidante sintético) em flocos de batata (BAARDSETH, 1989; MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2007).

A atividade antioxidante do óleo essencial de plantas da família Lamiaceae em margarina encontrou que este óleo pode ser usado como um antioxidante natural e aromatizante na margarina (OZKAN; SIMSEK; KULEASAN, 2007).

Alho (*Allium sativum*), pimenta negra (*Piper nigrum*) e pimenta (*Capsicum frutescens*) são especiarias geralmente adicionadas em produtos de carne fermentados para melhorar seus gostos e sabores, mostrando ações cruciais como

conservantes e antioxidantes naturais quando comparados com antioxidantes sintéticos (KITTSAKULNAM; SAETAE; SUNTORNSUK, 2017).

Trevisan et al. (2006) sugeriram que óleos essenciais obtidos de várias plantas do gênero *Ocimum* além de aromatizantes podem ser empregados na quimioprevenção do câncer e como alimentos funcionais.

Com a proposta de verificar a toxicidade de novos compostos bioativos, vários ensaios utilizam a letalidade com o microcrustáceo *Artemia salina*, que foi desenvolvido para detectar compostos ativos em vegetais. Este ensaio tem sido utilizado por sua eficiência em rastrear o potencial biológico das plantas, mostrando especialmente substâncias com atividade antifúngica, antiviral, antibacteriana e tripanossomicida (LEITE et al., 2009), e outras atividades interessantes, como a correlação com a citotoxicidade em linhagens de células tumorais humanas (McLAUGHLIN, 1991).

A Tabela 5 destaca letalidade contra *Artemia salina* e atividade antiacetilcolinesterásica de óleos essenciais de *Ocimum* spp.

Na avaliação da toxicidade de compostos ativos nos materiais vegetais para *Artemia salina*, um valor de CL₅₀ inferior a 1000 µg/mL permite considerar o composto como tóxico (MEYER et al., 1982; SILVA et al., 2010; SILVA et al., 2015).

Os óleos essenciais estudados apresentaram concentrações letais em 50% (CL₅₀) inferiores a 1000 µg/mL, mostrando possivelmente uma atividade biológica, seja antiacetilcolinesterásica, antimicrobiana, antitumoral, larvicida contra *Aedes aegypti* e outros. O óleo essencial de *O. basilicum* var. bola apresentou elevada toxicidade frente *Artemia salina*, seguido de *O. tenuiflorum* e *O. basilicum* var. licorice que foram moderadamente tóxicos, diferindo estatisticamente ao dicromato de potássio (p<0,05).

Poucos relatos de toxicidade dos óleos essenciais do gênero *Ocimum* frente às *Artemia salina* existem, sendo o *O. gratissimum*, o mais relatado. Dados distintos a estes resultados, porém mostrando a toxicidade dessas plantas, foram comparados aos estudos de Parra et al. (2001) que estudaram a toxicidade de extratos etanólico de *O. basilicum* (CL₅₀ de 9,92 µg/mL), *O. gratissimum* (CL₅₀ de 18,76 µg/mL) e *O. tenuiflorum* (CL₅₀ de 18,75 µg/mL) e Silva et al. (2010) que o óleo essencial das inflorescências de *O. gratissimum* teve CL₅₀ de 233,8 µg/mL e o eugenol isolado, CL₅₀ de 186,1 µg/mL. Estes dados toxicológicos podem ser correlacionados com testes de toxicidade aguda oral em animais e antitumoral.

Tabela 5 – Teste de letalidade contra *Artemia salina* e atividade antiacetilcolinesterase de óleos essenciais de *Ocimum* spp.

Material vegetal	Toxicidade CL ₅₀ (µg/mL) χ ± DP	AChE Halo (mm)	Inibição de AChE Cl ₅₀ (µg/mL) χ ± DP
<i>O. x citriodorum</i>	398,50 ± 3,45 ^a	0	0,00 ^a
<i>O. selloi</i>	420,25 ± 27,22 ^a	0	0,00 ^a
<i>O. gratissimum</i>	519,29 ± 16,66 ^c	7	27,70 ± 0,06 ^b
<i>O. tenuiflorum</i>	288,206 ± 17,97 ^b	8	14,53 ± 0,34 ^c
<i>O. campechianum</i>	499,77 ± 29,54 ^c	9	15,48 ± 0,06 ^c
Variedades de <i>Ocimum basilicum</i> L.			
<i>O. basilicum</i> var. Greco a palla	562,27 ± 41,53 ^c	7	7,25 ± 0,98 ^d
<i>O. basilicum</i> var. canela	459,49 ± 21,28 ^a	0	0,00 ^a
<i>O. basilicum</i> var. licorice	327,04 ± 18,69 ^a	0	0,00 ^a
<i>O. basilicum</i> “Maria Bonita”	520,35 ± 0,01 ^c	0	0,00 ^a
<i>O. basilicum</i> var. branco	445,16 ± 0,50 ^a	0	0,00 ^a
<i>O. basilicum</i> var. bola	47,13 ± 5,40 ^d	8	14,39 ± 0,16 ^c
Fisostigma (padrão)	-	9	1,15 ± 0,05 ^a
Eugenol (padrão)	-	9	3,102 ± 0,05 ^a
Dicromato de potássio (padrão)	11,81 ± 0,02 ^e	-	-

Diferentes letras - significa diferenças estatísticas significativas (p <0,05), (-) Não realizado, TCL - Cromatografia em camada fina. χ: Média; DP: desvio padrão.

Kpoviessi et al. (2012) destacaram toxicidade frente a *Artemia salina* para o óleo essencial de *O. gratissimum* de 43-146 µg/mL, mostrando correlação positiva a menores concentrações letais e citotoxicidade com teores de eugenol da planta.

A inibição da enzima acetilcolinesterase é uma hipótese requerida no tratamento da Doença de Alzheimer por aumentar a acetilcolina e reparando sintomas cognitivos, funcionais e comportamentais ligados a deficiência na neurotransmissão colinérgica ligada a perda dos neurônios colinérgicos (Tabela 5).

Alguns estudos sugerem que o cérebro de um doente de Alzheimer está sob estresse oxidativo resultante de um desequilíbrio de íons de cálcio dentro de seus neurônios e mitocôndrias e sugeriu que a ingestão adequada de antioxidantes pode reduzir o dano oxidativo (TABET, 2006; GOLFAKHRABADI, 2015). Tadros et al. (2014) determinaram que os óleos voláteis de *O. basilicum* apresentaram atividade inibitória *in vitro* significativa contra a acetilcolinesterase, e seus principais constituintes foram linalol, 1,8-cineol e eugenol, que também apresentam potencial antioxidante.

Houve valores mais eficientes de CI_{50} para a inibição de acetilcolinesterase do *O. basilicum* var. greco a palla, *Ocimum basilicum* var. bola, *Ocimum tenuiflorum*, *Ocimum gratissimum* e *Ocimum campechianum* quando comparado ao estudo de Kiendrebeogo et al. (2011) que encontraram CI_{50} de 36,16 $\mu\text{g/mL}$ para *O. canum*. Esses óleos essenciais também apresentaram forte potencial antioxidante *in vitro*, sugerindo interessante papel na Doença de Alzheimer, seja em inibir a enzima acetilcolinesterase e reduzindo os danos oxidativos.

Adewusi e Steenkamp (2011) mostraram que extratos de plantas, dentre estas especiarias, concentração de inibição até 125 $\mu\text{g/mL}$ representa excelente ação inibitória da enzima acetilcolinesterase.

Muitos dos constituintes químicos dos óleos da família Lamiaceae têm sido identificados como inibidores da enzima acetilcolinesterase, incluindo os monoterpenos neral, geranial e linalol (PERRY et al., 2000; PICOLLO et al., 2008; DOHI; TERASAKI; MAKINO, 2009), sesquiterpeno óxido de cariofileno e tumerona (FUJIWARA et al., 2010), e alguns fenilpropanóides como eugenol (DOHI; TERASAKI; MAKINO, 2009). Estudos sobre a relação estrutura-atividade entre a acetilcolinesterase e monoterpenóides mostraram que os hidrocarbonetos apresentam forte inibição comparada a álcoois e cetonas. A presença do grupo funcional oxigenado diminui a força da inibição da acetilcolinesterase (MIYAZAWA; YAMAFUJI, 2005). E, mais recentemente, estudos de estrutura-atividade com sesquiterpenóides do tipo bisabolano, por Fujiwara et al. (2010) constataram que estes inibem a acetilcolinesterase na seguinte ordem de potência: cetonas < álcoois < hidrocarbonetos (SOUZA et al., 2012).

Entre os componentes do óleo essencial, cinco componentes como 1,8-cineol, α -pineno, eugenol, α -terpineol e terpinen-4-ol, apresentaram alta atividade inibitória da AChE, com valores de CI_{50} de 0,015, 0,022, 0,48, 1,3 e 3,2 mg/mL ,

respectivamente (DOHI; TERASAKI; MAKINO, 2009). A presença desses compostos nos óleos essenciais mais ativos estudados confirmou a sua ação anti-acetilcolinesterase.

Os OE ricos em eugenol apresentaram de forte a moderada inibição da acetilcolinesterase, diferindo estatisticamente dos padrões fisostigmina e eugenol. Corroborando com outros estudos, este trabalho apontou que a variedade de *O. basilicum* rica em eugenol, efetua a atividade de inibição da AChE e combate ao estresse oxidativo em maior extensão. Em seguida, estas espécies podem ser eficazes na prevenção ou na terapia do tratamento de Alzheimer e outros distúrbios neurodegenerativos (VLADIMIR-KNEŽEVIĆ et al., 2014), por serem plantas muito usada na alimentação e saborização de produtos alimentícios industrializados.

No entanto, o eugenol é reconhecido pela *Food and Drug Administration* (FDA) como seguro quando usado em alimentos em concentrações de até 1.500 µg/mL. Em alimentos, o eugenol vem sendo usado basicamente como flavorizante, mas tem também outras aplicações na Indústria Farmacêutica (PEREIRA; MAIA, 2007).

A dengue, zika e chikungunya ganha notoriedade, entrando no grupo de doenças negligenciadas e de importância à saúde pública, por seus sintomas e agravos à saúde humana desperta pesquisadores na descoberta de estratégias usando produtos naturais com menor ecotoxicidade (substâncias liberadas ao meio ambiente).

Dos óleos essenciais estudados em concentração de 10 mg, apenas *O. tenuiflorum*, *O. campechianum*, *O. x citriodorum*, *O. basilicum* (variedades greco a palla, licorice e bola) e o *O. gratissimum* causaram mortalidade média de 100% das larvas testadas (Tabela 6).

Todas as espécies de manjerição mostraram efeito larvicida, sendo que a maior eficiência larvicida foi verificada nos óleos essenciais de *O. tenuiflorum*, *O. basilicum* var. bola, *O. x citriodorum* e *O. gratissimum*, precisando de concentrações bem menores quando comparados ao padrão eugenol para matar as larvas de *A. aegypti* no terceiro estágio, diferindo estatisticamente significativo ($p < 0,05$).

Tabela 6 – Atividade larvicida de óleos essenciais de *Ocimum* spp. contra *Aedes aegypti*

Material vegetal	CL ₅₀ (µg/mL)	CL ₉₀ (µg/mL)
	$\chi \pm DP$	$\chi \pm DP$
<i>O. x citriodorum</i>	40,05 ± 3,01 ^{a,b}	73,23 ± 6,20 ^a
<i>O. selloi</i>	106,92 ± 2,21 ^{c,d}	261,36 ± 6,64 ^b
<i>O. gratissimum</i>	42,20 ± 2,54 ^{a,e,f}	75,82 ± 2,90 ^a
<i>O. tenuiflorum</i>	37,09 ± 3,88 ^a	137,86 ± 21,86 ^f
<i>O. campechianum</i>	68,06 ± 7,21 ^g	181,91 ± 6,36 ^c
<i>O. basilicum</i> var. greco a palla	87,80 ± 1,97 ^{c,g}	214,08 ± 4,56 ^d
<i>O. basilicum</i> var. canela	86,67 ± 5,22 ^{c,g}	215,91 ± 12,79 ^{d,e}
<i>O. basilicum</i> var. licorice	98,02 ± 3,26 ^{c,h,i}	245,17 ± 6,25 ^{b,e}
<i>O. basilicum</i> var. “Maria Bonita”	112,41 ± 6,72 ^{d,h}	381,46 ± 16,60 ^g
<i>O. basilicum</i> var. branco	110,04 ± 5,33 ^{e,g}	278,87 ± 30,31 ^b
<i>O. basilicum</i> var. bola	51,46 ± 10,43 ^{b,f}	176,83 ± 30,49 ^c
Eugenol (padrão)	78,92 ± 16,49 ^{g,i}	203,74 ± 26,52 ^{c,d}
Valor p [£]	0,002	0,001

Legenda: χ : Média; DP: Desvio padrão; £: Teste de ANOVA seguido do pós-teste LSD Fisher; †: Teste de Kruskal-Wallis. LSD: Letras diferentes – diferença estatisticamente significativa (p<0,05).

De acordo com Cheng et al. (2003), valores de CL₅₀<100 µg/mL são considerados ativos. Em comparação ao larvicida comercial utilizado no combate ao dengue, o temephos, estudos recentes quanto à susceptibilidade deste composto referem que se trata de um produto que com o passar dos anos perdeu a sua força frente ao mosquito, sendo necessárias doses cada vez maiores no seu combate (FURTADO et al., 2005). Diante da resistência a estes inseticidas sintéticos, os óleos essenciais de espécies de plantas são por natureza tóxicos para os mosquitos, e menos agressores ao meio ambiente.

O teste efetuado com larvas de *Aedes aegypti* de Curitiba utilizando a concentração-diagnóstico (CD) 0,0125 ppm i.a. do organofosforado temephos, resultou em sobrevivência de 10% e mortalidade de 90% (LUNA et al., 2004).

A melhor concentração para matar 50% e 90% das larvas foi do *O. tenuiflorum*, óleo essencial de maior teor de eugenol. Vale destacar que os dados desse estudo foram interessantes contra o *Aedes aegypti*, apresentando similaridade

ao estudo de Furtado et al. (2005) que encontraram atividade larvívica para os óleos essenciais de *O. gratissimum* e *O. tenuiflorum*, ricos em eugenol. Veloso et al. (2014) justificou que a presença do fenilpropanóide no manjeriço age como defesa contra pragas.

A atividade larvívica do eugenol já foi apontada. O óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (cravo), rico em eugenol, apresentou CL₅₀ de 93,3 e 71,9 µg/mL, para as larvas de linhagem Rockefeller e coletadas em campo, respectivamente (BARBOSA et al., 2012), similarmente a este trabalho. A presença de cariofileno, que também apresenta alta atividade larvívica (CL₅₀ = 26 µg/mL), poderia promover o sinergismo aumentando as atividades de óleo (ALI et al., 2014).

A ação larvívica do *O. x citriodorum* possivelmente estava relacionado a presença de geraniol e neral, valor de CL₅₀ que não diferiu estatisticamente ao resultado do óleo essencial de *O. tenuiflorum*. Vários óleos essenciais foram investigados quanto à atividade larvívica contra *A. aegypti*, *C. flexuosus*, com citral (geraniol + neral) como componente principal, apresentou maior atividade larvívica (CL₅₀ = 17,1 µg/mL) (VERA et al., 2014).

Outra relação com a atividade larvívica e ação insetívica é a inibição da acetilcolinesterase, já que o acúmulo de acetilcolina nas junções nervosas impede a propagação do impulso elétrico que paralisa e causa a morte de larvas e mosquitos. Os óleos essenciais de *O. tenuiflorum*, *O. gratissimum*, *O. campechianum* e *Ocimum basilicum* var. *bola* tiveram os melhores valores de inibição de acetilcolinesterase e apresentaram ação larvívica, supostamente pelo acúmulo de acetilcolina nas junções nervosas e causando a morte das larvas.

A hipótese da morte das larvas de *A. aegypti* pela inibição da acetilcolinesterase foi confirmada no estudo de Braga e Vale (2007), via paralisações das larvas pelo acúmulo de acetilcolina nas junções nervosas que impede a propagação do impulso elétrico.

O. x citriodorum não apresentou resultado de anti-acetilcolinesterase, demonstrando outro mecanismo na ação larvívica. Yu et al. (2015) encontraram alterações citopatológicas e destruição nas células epiteliais do intestino médio após exposição com produtos naturais, e caracterizada pelo escurecimento larval. Esta hipótese pode estar relacionada à ação de *O. x citriodorum*.

A atividade larvívica contra *A. aegypti* é interessante para agregar valor à Indústria de Alimentos. Em estudos com o óleo de citronela (*Cymbopogon nardus* (L.)

Rendle) incorporado a embalagens para atuar como repelente de insetos verificou-se que a utilização de extratos naturais de plantas, como a citronela, pode auxiliar na conservação do alimento e facilitar aceitação do mesmo pelos consumidores. Observou-se também neste estudo, que a aplicação de 0,2 g/m² de citronela nas embalagens de papelão, poderia reduzir infestações de insetos nas embalagens para alimentos atuando, definitivamente, como repelente de insetos (WONG et al., 2005).

5.2 Extratos de variedades de *Ocimum* spp. para quantificação de Ácido Ursólico por CLAE

Ácido Ursólico (AU) é um triterpenóide pentacíclico pertencente ao grupo dos ursanos, geralmente associado ao seu isômero ácido oleanólico. Atualmente, desperta interesse dos pesquisadores em estudar o teor de ácido ursólico, elucidando suas propriedades farmacológicas, como anti-inflamatória, hepatoprotetor, rejuvenescedora e mais recentemente anti-câncer (FU et al., 2013). Além disso, o ácido ursólico vem sendo usado em regimes alimentares na forma de suplementos alimentares em dietas Mediterrâneas (CALIGIANE et al., 2013), e na prevenção da obesidade (CHU et al., 2015).

A identificação do ácido ursólico nas folhas de manjeriço foi possível mediante o cromatograma do ácido ursólico obtido pela injeção do produto e confirmado pelo espectro de UV (Gráfico 2 e 3), que foi mostrado no tempo de retenção de 13,54 minutos.

A curva de calibração foi construída nas concentrações 0,01 a 1 µg/mL. A equação da curva foi $y = 5E+06x + 46437$ ($R^2 = 0,9994$) (Anexo 2), determinando o teor de ácido ursólico nos extratos estudados (Tabela 6). Houve eficiência na extração, pois a repetição em duplicata teve proximidade nos valores encontrados, permitindo justificar que a extração de ácido ursólico foi 98%.

Geralmente, o ácido ursólico é extraído da folha de *Rosmarinus officinalis* que apresenta um bom rendimento de 1,5%, sendo também detectada e extraída em espécies *Plectranthus* e *Salvia* (SILVA et al., 2008).

Gráfico 2 – Cromatograma do ácido ursólico

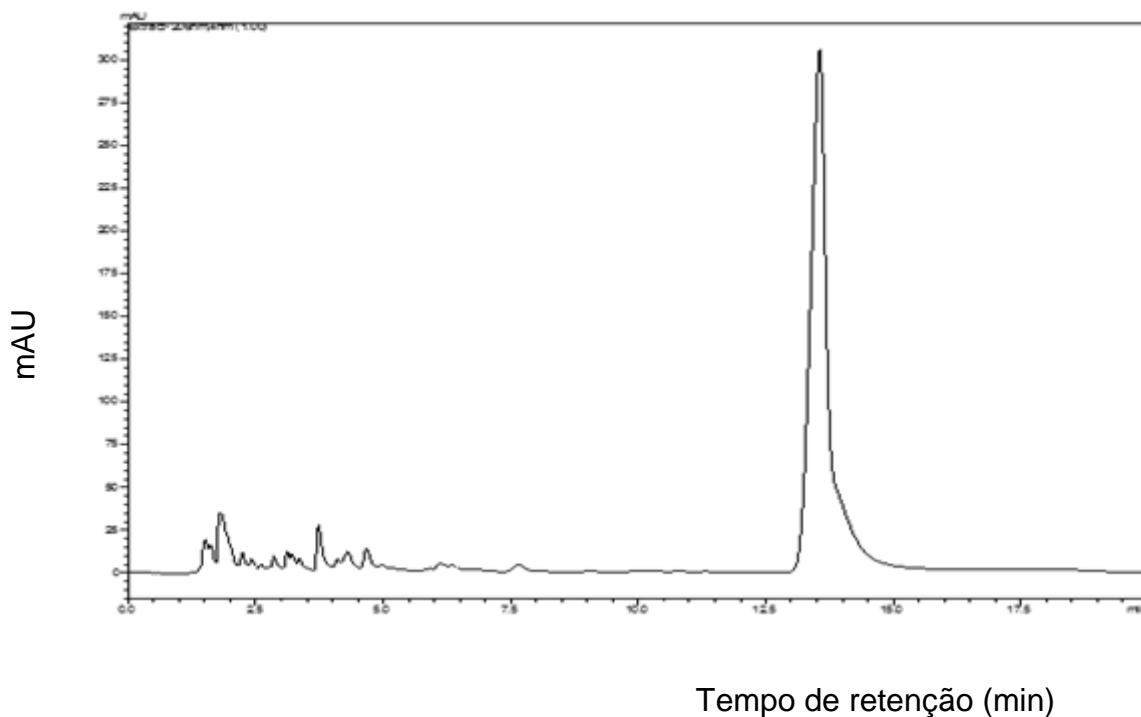
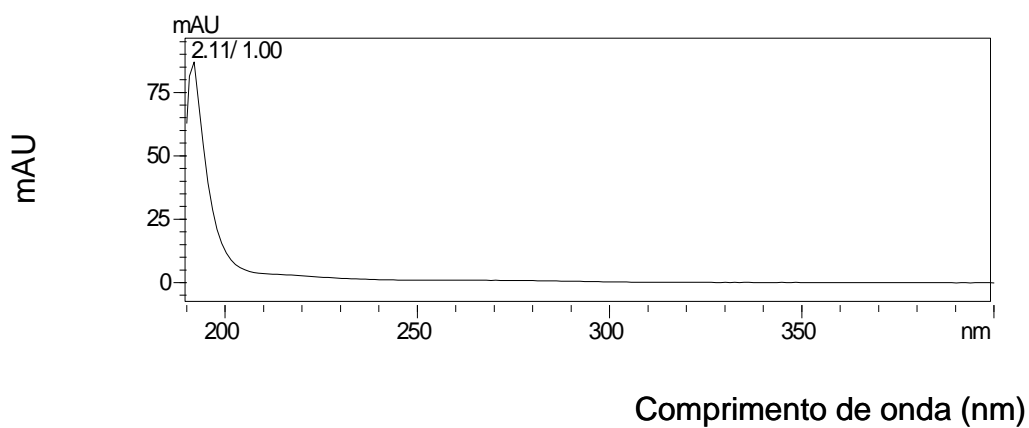
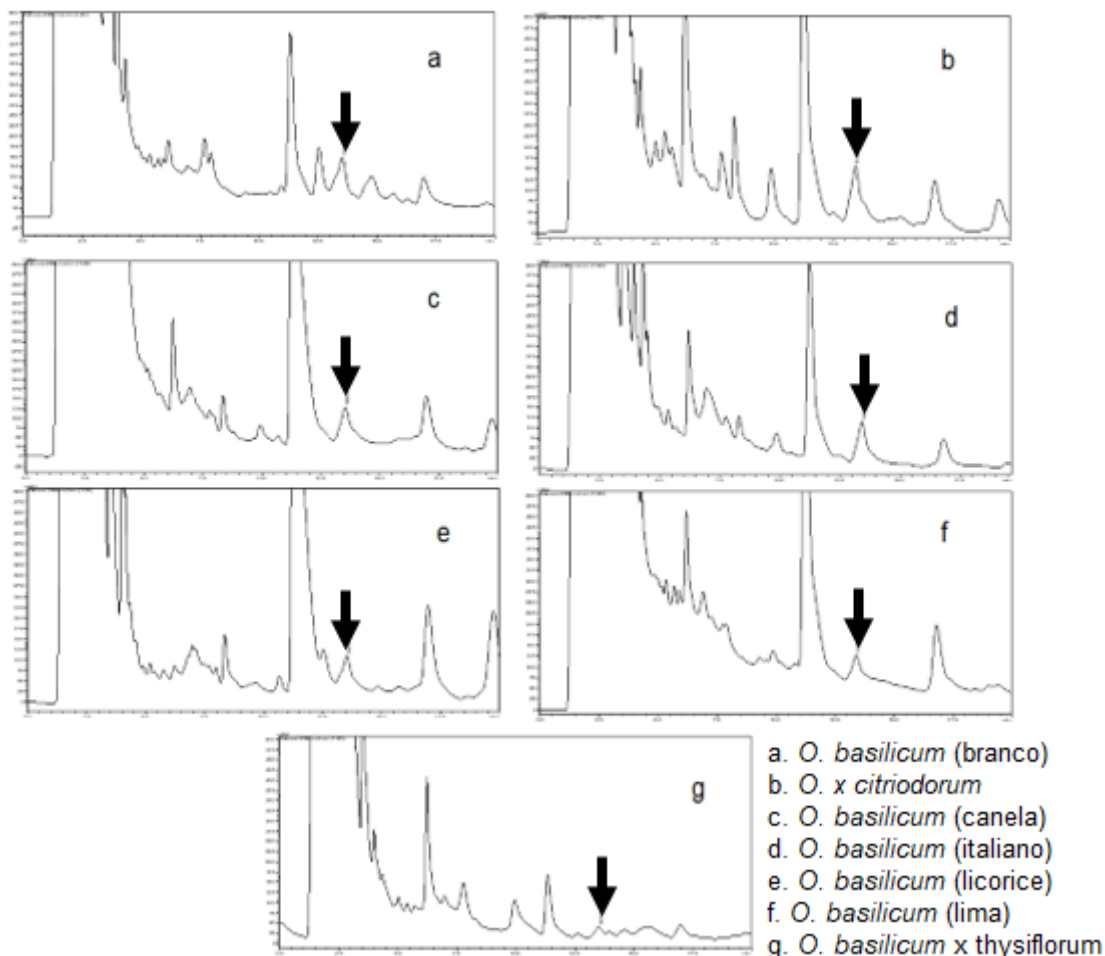


Gráfico 3 – Espectro de UV do ácido ursólico



Os cromatogramas das espécies vegetais mostraram a presença de ácido ursólico em todos os extratos analisados, comprovado pela proximidade do tempo de retenção quando comparado ao padrão ácido ursólico (Gráfico 4 e Tabela 6).

Gráfico 4 – Perfil cromatográfico dos extratos de *Ocimum* spp.

Os extratos de *Ocimum* spp. foram analisadas igualmente e apresentaram diferentes rendimentos. Valores próximos foram encontrados para *O. basilicum* var. *lima*, *O. basilicum* var. *italiano*, *O. x citriodorum*, *O. basilicum* var. “branco” e *O. basilicum* var. *canela*, não diferindo estatisticamente. O teor majoritário foi encontrado na espécie de *Ocimum x citriodorum* (Tabela 7).

O teor de ácido ursólico da espécie de *O. x citriodorum* estudado estava similar aos teores encontrados por Silva et al. (2008) para os extratos das folhas de *O. basilicum* var. *minimum* e *O. basilicum* que foram 0,27% e 0,29%, respectivamente.

Silva et al. (2008) mostraram teores de ácido ursólico em três variedades de *Ocimum basilicum* que variou entre 0,27 a 0,38%, podendo ainda destacar nessa pesquisa o menor teor em *O. basilicum* var. *minimum* (0,27%) e o maior conteúdo em *O. tenuiflorum* (2,02%), sendo este último considerado promissor em comparação a outras origens de plantas.

Tabela 7 – Teor de ácido ursólico por CLAE em folhas de *Ocimum* spp.

Material vegetal	Tempo de retenção (min)	%
<i>O. basilicum</i> var. <i>lima</i>	13,37	0,10 ^a
<i>O. basilicum</i> var. <i>italiano</i>	13,40	0,14 ^a
<i>O. x citriodorum</i>	13,42	0,20 ^a
<i>O. basilicum</i> var. <i>branco</i>	13,51	0,12 ^a
<i>O. basilicum</i> var. <i>licorice</i>	13,50	0,082 ^b
<i>O. basilicum x thysiflorum</i> (Rainha do Sean)	13,50	0,004 ^c
<i>O. basilicum</i> var. <i>canela</i>	13,53	0,13 ^a
Ácido ursólico (padrão)	13,54	-

A presença de ácido ursólico foi identificada em *O. stamineus*, *C. monogyna*, folhas de *L. speciosa* e *A. uva-ursi* (7773, 4165, 2108 e 1034 mg/kg, respectivamente) (CALIGIANE et al., 2013).

Estudos apontaram concentrações de ácido ursólico para ação farmacológica (QUERE; WENGER; SCHRAMM, 1996; LEE et al., 1999; BARICEVIC et al., 2001; LI; GUO; YANG, 2002). Quere, Wenger e Schramm (1996) ressaltaram a atividade anti - HIV em um valor de CI_{50} de apenas 1 micromol de ácido ursólico. Lee et al. (1999) destacaram que o ácido ursólico não é antioxidante, mas um moderado indutor da quinona redutase (enzima ativa no metabolismo de substâncias químicas estranhas e tóxicas ao organismo). Extrato clorofórmico de folhas de *Salvia officinalis* L. teve teor de ácido ursólico de 480 mg/g, sendo o mais forte como efeito anti-inflamatório quando comparado ao extrato n-hexano da mesma folha, reduzindo edema em 86,20% numa dose de 0,4 μ Moles (BARICEVIC et al., 2001). E, Li, Guo, Yang, (2002) apontaram efeito interessante do ácido ursólico na concentração de 30 micromoles/L em células específicas de carcinoma de colón humano, reduzindo células cancerígenas.

Experiências *in vivo* confirmaram que nanoesfera de ácido ursólico suprimiu significativamente a progressão do tumor e metástase pulmonar em camundongos portadores de tumor, refletindo no uso do ácido ursólico como agente anticâncer ou quimiopreventivo metastático (JIANG et al., 2017).

5.3 Óleos essenciais e extratos de *Curcuma longa* variedade vermelha e variedade branca

Os rendimentos de *Curcuma longa* foram 0,3% para ambas as espécies vermelha e branca, estando próximos quando comparado a literatura, sendo 0,56% (INTIRACH et al., 2012).

A Tabela 8 destaca a composição química de *Curcuma longa* variedade vermelha e variedade branca. Os resultados mostraram elevados teores de α -turmerona no óleo essencial de *Curcuma longa* variedade vermelha e 1,8 – cineol na *Curcuma longa* variedade branca.

Os dados deste estudo foram discordantes quando comparado a vários estudos tais como Singh et al. (2010), Ferreira et al. (2013), Ali, Wang e Khan (2015), Abdel-Lateef et al. (2016), Kumar et al. (2016) e Hu et al. (2017), que em seus achados encontraram elevado conteúdo de α -turmerona em óleos essenciais extraídos seja de rizomas de açafrão brasileiros e coletadas na Índia.

Neste estudo, houve similaridade na presença de α -turmerona quando comparado ao estudo de Raina, Srivastava e Syamsundar (2005) que verificaram essa substância no açafrão da Índia com teor de 44,10% e em plantas de Goiás (Brasil) como destacado por Avanço et al. (2016) que encontraram 42,60% de α -turmerona. No entanto, esses estudos não ressaltaram as variedades do açafrão.

A variedade branca de *Curcuma longa* teve como substância majoritária o 1,8-cineol ou eucaliptol, similarmente ao estudo de Raina et al. (2002), o óleo essencial de *Curcuma longa* obtido de rizomas crescidas no norte indiano contém 11,20% de eucaliptol, 11,10% de α -turmerona, 9,80% de β -cariofileno, 7,30% de α -turmerona e 7,10% de β -sesquifelandreno.

A composição de *Curcuma longa* variou significativamente, sendo a *Curcuma longa* var. vermelha a mais estudada. A variabilidade química pode ser explicada pelo perfil químico de óleos essenciais que depende da genética, natureza da matéria-prima (seca ou fresca) e parte da planta, tempo de colheita, condições geográficas, luminosidade e método analítico utilizado para extração de óleo (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Tabela 8 – Composição química dos óleos essenciais de *Curcuma longa* variedade vermelha e variedade branca

Constituintes	IK exp	OECv (%)	OECb (%)
α-pineno	928	-	0,80
Canfeno	942	-	1,46
β-pineno	969	-	1,79
Mirceno	984	-	0,70
α –felandreno	1002	14,25	-
para-Cimeno	1022	2,04	-
Silvestreno	1026	0,90	-
1,8-cineol	1029	17,70	45,37
γ-terpineno	1058	0,58	-
Terpinoleno	1089	3,74	-
2-nonanona	1091	-	0,38
Cânfora	1150	-	15,71
Isoborneol	1163	-	3,19
Borneol	1172	-	1,05
Terpinen-4-ol	1184	-	1,00
α –terpineol	1199	0,77	2,20
β-elemeno	1408	-	2,01
E-cariofileno	1435	-	0,38
Z-β-farneseno	1469	-	2,19
Germacreno-D	1495	-	0,72
α-zingibereno	1502	0,77	-
Curzereno	1510	-	1,38
β-sesquifelandreno	1528	0,63	-
Ar-turmerol	1578	0,64	-
Curzerenona	1612	-	13,55
β-atlantol	1627	0,65	-
Ar-turmerona	1655	10,42	-
α-turmerona	1659	33,09	-
β-turmerona	1685	13,82	-
Curcumenol	1730	-	0,76
Selina -1,3,7 (11)- trien -8-one-epoxi	1763	-	1,31
Monoterpeno Hidrocarboneto	-	21,51	4,75
Monoterpeno Oxigenado	-	18,47	68,90
Sesquiterpeno Hidrocarboneto	-	1,40	5,30
Sesquiterpeno oxigenado	-	57,98	14,93
Outro	-	0,64	1,31
% Total identificado	-	100,00	95,21

Legenda: OECv: óleo essencial de *Curcuma longa* var. vermelha; OECb: óleo essencial de *Curcuma longa* var. branca. IK exp: Índice Kovat experimental.

A Tabela 9 destaca o perfil fitoquímico dos extratos estudados. Resultados estes que mostraram presença de fenóis totais, alcalóides, flavononas, flavonóis, xantonas, flavonoides, saponinas, taninos, dentre outros no óleo essencial de *Curcuma longa* var. vermelha, havendo similaridade as substâncias químicas detectadas por Freire-González e Vistel-Vigo (2015).

O rastreamento fitoquímico estabelece os compostos químicos específicos presentes nas plantas, sendo importante no caso dessas plantas estudadas oriundas de cultivos experimentais, dentre estas a variedade branca da *Curcuma longa* ainda é pouco conhecida.

Tabela 9 – Perfil fitoquímico dos extratos etanólicos de *Curcuma longa*

Metabólicos secundários	Vermelha	Branca
Fenóis totais	+	+
Alcalóides	+	-
Antocianina	+	-
Esteróides	-	+
Flavononas	+	-
Flavonóis e Xantonas	+	+
Flavonóides	+	-
Saponinas	+	+
Chalconas e Auronas	+	-
Taninos	+	+
Triterpenoides	+	-

(+) presença (-) ausência

Os teores de fenóis, flavonoides e carotenóides totais estão destacados na Tabela 10. O constituinte majoritário presente em ambas as amostras foram a classe de terpenos.

Tabela 10 – Teores de fenóis totais, flavonóides e carotenoides totais dos extratos etanólicos de *Curcuma longa*

Constituintes	Vermelha	Branca
	$\chi \pm DP$	$\chi \pm DP$
Fenóis totais (mg EAG/g)	9,43 \pm 0,14 ^a	8,51 \pm 0,43 ^a
Flavonóides (mg EQ/g)	1,44 \pm 0,07 ^a	0,37 \pm 0,04 ^b
Licopeno (mg/100mL)	32,68 \pm 2,52 ^a	36,24 \pm 1,45 ^a
Beta – caroteno (mg/100mL)	160,29 \pm 16,44 ^a	0,0 ^b
Carotenóides totais (mg/100mL)	192,97	36,24

Tukey: letras diferentes – diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre colunas

Os resultados deste estudo encontraram teores inferiores de fenóis totais e flavonoides. No entanto, teores superiores de fenóis totais foram identificados em outras variedades de *Curcuma*. Antunes et al. (2012) encontraram $56,79 \pm 1,37$ mg GAE/g de açafrão da Índia que é um valor superior quando comparado aos extratos metanólicos estudado por Chen et al. (2008) que identificaram $21,4 \pm 1,7$ mg GAE/g para *Curcuma longa*, $33,4 \pm 5,7$ mg GAE/g para *Curcuma zedoaria*, e $35,6 \pm 5,5$ mg GAE/g para *Curcuma domestica*.

Os teores de fenóis totais corroboraram aos valores encontrados em outra espécie por Castro, Pinheiro e Marinho (2017). Screening realizado pelos autores em extratos do rizoma da *Curcuma zerumbet* Roscoe (Zingiberaceae) coletado na Comunidade Tarumã-mirim, Ramal do Pau Rosa, localizado no Estado do Amazonas/Brasil, tais como: óleo essencial, extrato aquoso e extrato hidroalcoólico, apresentaram componentes bioativos de interesse nutricional e funcional. Os resultados dos respectivos extratos aquoso e hidroalcoólico de Castro, Pinheiro e Marinho (2017) foram: flavonoides ($60,2 \pm 0,02$; $65,75 \pm 1,25$ mg), antocianinas ($13,49 \pm 1,25$; $18,56 \pm 0,05$ mg), compostos fenólicos ($5,81 \pm 0,09$; $9,29 \pm 0,05$ mg) e carotenoides ($5,42 \pm 0,07$; $12,67 \pm 1,03$ mg), compostos com propriedades farmacológicas.

A complexidade química nas plantas vegetais se deve a mistura de diferentes compostos de grupos funcionais distintas, polaridade e conhecimento

químico, como explicado por Sacchetti et al. (2005). Portanto, Gounder e Lingamallu (2012) destacaram a importância de uma triagem com múltiplos ensaios na determinação do potencial antioxidante. A determinação da potencial antioxidante *in vitro* foi observada por dois métodos (Tabela 11).

Na presente análise de atividade antirradical por DPPH, os valores de Cl_{50} dos óleos essenciais de ambas as variedades de *Curcuma longa* apresentaram potencial fraco em sequestrar radical livre quando comparado aos extratos etanólicos, possivelmente pela característica do radical DPPH que se oxida melhor quando a amostra apresenta mais compostos hidrofílicos.

O potencial antioxidante pelo método antirradical ABTS demonstrou Cl_{50} inferiores e melhores para óleo essencial e extrato etanólico da *Curcuma longa* variedade vermelha, não diferindo estatisticamente quando compara os valores entre si. O óleo essencial de *Curcuma longa* variedade vermelha apresentou potencial antioxidante moderada quando comparado ao OE de curcuma branca pelo método β -caroteno/ácido linoléico, diferindo estatisticamente.

Tabela 11 – Potencial antioxidante de óleos essenciais e extratos etanólicos de *Curcuma longa*

Material Vegetal	DPPH	ABTS	β -caroteno/ Ácido Linoléico
	Cl_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Cl_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Cl_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
	$\chi \pm DP$	$\chi \pm DP$	$\chi \pm DP$
OECv	1346,08 \pm 3,68 ^a	199,34 \pm 7,37 ^a	133,44 \pm 60,04 ^a
OECb	1128,60 \pm 5,47 ^a	419,51 \pm 9,36 ^b	329,90 \pm 105,04 ^b
EECv	229,26 \pm 2,99 ^c	135,87 \pm 7,74 ^c	-
EECb	341,88 \pm 3,60 ^b	229,00 \pm 0,76 ^a	-

Legenda: χ : Média; DP: Desvio padrão; LSD: letras diferentes – diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$). OECv: óleo essencial de *Curcuma longa* var. vermelha; OECb: óleo essencial de *Curcuma longa* var. branca; EECv: extrato etanólico de *Curcuma longa* var. vermelha; EECb: extrato etanólico de *Curcuma longa* var. branca. Letras minúsculas: comparação entre amostras.

Os resultados deste estudo apresentaram valores distintos de Cl_{50} quando comparado aos óleos essenciais de *Curcuma longa* var. vermelha estudado por Angel, Vimala e Nambisan (2012) que mostraram valores de Cl_{50} variando de 1,6 a 8 $\mu\text{g/mL}$

pelo método de DPPH. Não foi possível comparar o resultado de OE e extratos de curcuma branca por este dado ser inédito.

No geral, a atividade antioxidante das amostras foi considerada fraca. No entanto, a atividade antioxidante não pode ser atribuída somente a presença de constituintes terpênicos, fenólicos, cetonas, aldeídos e hidrocarbonos (EDRIS, 2007), pois outros podem contribuir seja em sinergismo para inibir a formação de radicais livres ou antagonizar esse efeito.

Vale ressaltar que se atribui atividade antioxidante significativa em óleos essenciais de açafraão com presença de ar-turmerona (LIJU; JEENA; KUTTAN, 2011), justificando a fraca ação antioxidante dos óleos essenciais pela presença majoritariamente α -turmerona e 1,8-cineol, respectivamente, curcuma vermelha e curcuma branca.

A toxicidade frente à *Artemia salina* e inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) estão apresentados na Tabela 12. As amostras mostraram toxicidade, mas não deram inibição para enzima no teste quantitativo.

Tabela 12 – Toxicidade frente à *Artemia salina* e inibição de AChE da *Curcuma longa* variedade vermelha e variedade branca

Material Vegetal	Toxicidade CL₅₀ (µg/mL) $\chi \pm DP$	Inibição AChE Halo (mm)
OECv	484,54 \pm 8,75 ^a	8
OECb	500,50 \pm 0,00 ^a	0
EECv	532,73 \pm 35,18 ^a	9
EECb	36,24 \pm 1,45 ^b	6
Dicromato de potássio	11,81 \pm 0,02 ^c	-
Fisostigmina	-	9

Legenda: OECv: óleo essencial de *Curcuma longa* var. vermelho; OECb: óleo essencial de *Curcuma longa* var. branca; EECv: extrato etanólico de *Curcuma longa* var. vermelha; EECb: extrato etanólico de *Curcuma longa* var. branca.

Silva Filho et al. (2009) acharam resultados de toxicidade contra *Artemia salina* para o óleo essencial de curcuma com CL₅₀ de 319,82 µg/mL. A literatura

científica registrou algumas atividades biológicas, tais como: efeito antibacteriano, antifúngico e antiinflamatório, atribuídos à ação dos compostos presentes no óleo essencial de cúrcuma vermelha, sugerindo possivelmente que estes compostos podem agir como o princípio ativo em doenças.

Os extratos e óleos essenciais de *C. longa* foram documentados com ação inseticida contra vários insetos, em especial, os membros da ordem de Diptera. O óleo essencial da *Curcuma longa* var. branca apresentou atividade larvicida no 3º estágio larval de *Aedes aegypti* (Tabela 13), diferindo estatisticamente em relação a *Curcuma longa* var. vermelha.

Os valores de CL₅₀ e CL₉₀ de óleo essencial da *Curcuma longa* var. branca foi mais ativo quando comparado a pesquisa de Prajapati et al. (2005), que encontraram os seguintes valores para CL₅₀: 226,90, 274,50, e 292 µg/mL, para óleo essencial de rizoma vermelha da *Curcuma longa* contra o 4º estágio larval de *An. Stephensi* e *Ae. Aegypti*, respectivamente.

Tabela 13 – Atividade larvicida da *Curcuma longa* contra *Aedes aegypti*

Material Vegetal	CL ₅₀ (µg/mL)	CL ₉₀ (µg/mL)
	$\chi \pm DP$	
OECv	95,52 ± 6,68 ^{aA}	253,29 ± 31,38 ^{bA}
OECb	46,33 ± 1,21 ^{aB}	93,48 ± 1,28 ^{bB}
EECv	-	-
EECb	-	-

Legenda: χ : Média; DP: Desvio padrão. OECv: óleo essencial de *Curcuma longa* var. vermelha; OECb: óleo essencial de *Curcuma longa* var. branca; EECv: extrato etanólico de *Curcuma longa* var. vermelha; EECb: extrato etanólico de *Curcuma longa* var. branca. (-) nenhuma ação

A maioria dos inseticidas comerciais apresentam substâncias antioxidantes em sua composição para a preservação e não oxidação dos constituintes químicos presentes.

As espécies estudadas de *Ocimum* spp. com maior teor de eugenol em óleos essenciais apresentaram excelente potencial antioxidante pelos três métodos *in vitro* e larvicida contra *Aedes aegypti* e os óleos essenciais de *Curcuma longa* foram potenciais como larvicida e mostrando ação antioxidante pelo sistema β -caroteno/ácido linoléico, sendo bem interessante em futuras aplicações

biotecnológicas em incorporação de embalagens alimentícias por apresentar ambas as propriedades biológicas e evitando custos com acréscimo de substâncias antioxidantes na preservação de alimentos com agregação de valor funcional a várias doenças crônicas e doenças negligenciadas como Dengue, Zika e Chikungunya.

6 CONCLUSÃO

Os óleos essenciais do gênero *Ocimum* (manjeriço) mostraram bons rendimentos, merecendo destaque ao *O. campechianum*. Os óleos essenciais de *O. tenuiflorum*, *O. gratissimum*, *O. campechianum*, *O. basilicum* var. greco a palla e *O. basilicum* var. bola apresentaram teores elevados de eugenol que conferiu a estes fortes potenciais antioxidantes, toxicidade frente à *Artemia salina*, capacidade de inibir a enzima acetilcolinesterase e excelente atividade larvicida contra o *Aedes aegypti*. O OE de *O. x citriodorum* apresentou ação larvicida igual estatisticamente significativa quando comparado às espécies de alto teor em eugenol mesmo sem capacidade de inibir ação à enzima AChE, provavelmente pelo alto teor de neral e geranial. Houve presença significativa de ácido ursólico nos extratos de *O. x citriodorum*, *O. basilicum* var. italiano, *O. basilicum* var. canela, *O. basilicum* var. branco e *O. basilicum* var. lima.

Os óleos essenciais de *Curcuma longa* (açafrão) mostraram uma composição química variada com maior teor de alfa-turmerona na *C. longa* variedade vermelha e 1,8 cineol na *C. longa* variedade branca. Os extratos de açafrão apresentaram maior teor de carotenoides totais, sendo a *C. longa* variedade vermelha, a espécie que teve uma boa ação antioxidante. Observou-se fraco potencial antioxidante nos óleos essenciais, e melhor resultado de toxicidade para *Artemia salina* e larvicida contra o *Aedes aegypti*.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Amplamente usado na culinária, sugere-se mais estudos biotecnológicos com os óleos essenciais de *Ocimum tenuiflorum* e *Ocimum gratissimum* que foram as espécies de melhores atividades biológicas no intuito de utilização seja como produtos fitoterápicos na prevenção de doenças crônicas e/ou incorporados em produtos alimentícios com a função de promover estabilidade de óleos vegetais e preservação de alimentos. Sugere-se estudos com a produção de embalagens inteligentes usando nanoemulsões de OE, biofilmes comestíveis para frutas, ou embalagens de papelão de utilidade para a Indústria de alimentos, agregando valor funcional e econômico a essas embalagens quanto à ação larvicida contra *Aedes aegypti*, ação antioxidante contra o estresse oxidativo e na inibição da enzima acetilcolinesterase na prevenção de doenças crônicas e Mal de Alzheimer.

Perspectivas de estudos de dose-efeito de ácido ursólico em doenças crônicas e neurodegenerativas são interessantes, já que os extratos de *Ocimum* desse estudo apresentaram teores de ácido ursólico, substância muito bem relatada na literatura como anti-câncer, inibidora da enzima acetilcolinesterase e antiinflamatória.

Novas pesquisas podem ser sugeridas para *Curcuma longa* pelas classes fitoquímicas encontradas neste estudo, motivando a realizações de estudos aprofundados quanto aos teores de curcuminóides por cromatografia líquida de alta eficiência e isolamentos destes constituintes químicos na formulação de nutracêuticos e ensaios clínicos no controle de doenças crônicas.

Os resultados encontrados para manjerição e açafraão apresentaram características promissoras como alternativas não somente à Indústria de alimentos, mas à Indústria farmacêutica, desenvolvimento de inseticidas, tendo alto valor agregado ao mercado.

REFERÊNCIAS

ABDEL-LATEEF, E.; MAHMOUD, F.; HAMMAM, O.; EL-AHWANY, E.; EL-WAKIL, E.; KANDIL, S.; TALEB, H. A.; EL-SAYED, M.; HASSENEIN, H. Bioactive chemical constituents of *Curcuma longa* L. rhizomes extract inhibit the growth of human hepatoma cell line (HepG2). **Acta Pharmaceutica**, v. 66, p. 387–398, 2016.

AKINMOLADUN, A. C.; IBUKUN, E. O.; AFOR, E.; OBUOTOR, E. M.; FAROMBI, E. O. Phytochemical constituent and antioxidant activity of extract from the leaves of *Ocimum gratissimum*. **Scientific Research and Essay**, v. 2, n. 5, p. 163-166, 2007.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy**. Allured Publishing Corporation, Carol Stream. 2001. 455 p

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**, 4th Edition, Allured Publishing Corporation: USA, 2007.

ADEWUSI, E. A.; STEENKAMP, V. *In vitro* screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from southern Africa. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, p. 829-835, 2011.

AJAIYEGBA, E. O.; SAMA, W.; ESSIEN, E. E.; OLAYEMI, J. O.; EKUNDAYO, O.; WALKER, T. M.; SETZER, W. N. Larvicidal activity of turmerone - rich essential oils of *Curcuma longa* leaf and rhizome from Nigeria on *Anopheles gambiae*. **Pharmaceutical Biology**, v. 46, n. 4, p. 279–282, 2008.

AL ABBASY, D. W.; PATHARE, N.; AL-SABAHI, J. N.; KHAN, S. A. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil isolated from Omani basil (*Ocimum basilicum* Linn.). **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 5, n. 8, p. 645-649, 2015.

ALI, A.; TABANCA, N.; KURKCUOGLU, M.; DURAN, A.; BLYTHE, E. K.; KHAN, I. A.; BASER, K. H. Chemical composition, larvicidal, and biting deterrent activity of essential oils of two subspecies of *Tanacetum argenteum* (Asterales: Asteraceae) and individual constituents against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 51, p. 824-30, 2014.

ALI, A.; WANG, Y. H.; KHAN, I. A. Larvicidal and biting deterrent activity of essential oils of *Curcuma longa*, ar-turmerone, and curcuminoids against *Aedes aegypti* and *Anopheles quadrimaculatus* (Culicidae: Diptera). **Journal of Medical Entomology Advance**, v. 52, n. 5, p. 979-986, 2015.

ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.

ALVES FILHO, I.; DI GIOVANNI, R. **Cozinha brasileira com recheio de história**. Rio de Janeiro: Revan, 2000. 109 p.

ANGEL, G. R.; VIMALA, B.; NAMBIAN, B. Antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from nine starchy *Curcuma* species. **International Journal of Current Pharmaceutical Research**, v. 4, p. 45-47, 2012.

ANTUNES, S. A.; ROBAZZA, W. S.; SCHITTLER, L.; GOMES, G. A. Synergistic and antimicrobial properties of commercial turmeric (*Curcuma longa*) essential oil against pathogenic bacteria. **Ciência & Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 3, p. 525-530, 2012.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Portaria nº 540 – SVS/MS de 27 de outubro de 1997. Brasília: **ANVISA**, 1997.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Compêndio da legislação brasileira de aditivos alimentares. Brasília: **ANVISA**, 2014.

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL. **Official methods of analysis**. 16th ed. AOAC International: Gaithersburg, MD, 1995.

ARCANJO, D. D. R.; ALBUQUERQUE, A. C. M.; MELO-NETO, B.; SANTANA, L. C. L. R.; MEDEIROS, M. G. F.; CITÓ, A. M. G. L. Bioactivity evaluation against *Artemia salina* Leach of medicinal plants used in Brazilian Northeastern folk medicine. **Brazilian Journal Biology**, v. 72, p. 505-509, 2012.

AVANÇO, G. B.; FERREIRA, F. D.; BONFIM, N. S.; SANTOS, P. A. S. R.; PERALTA, R. M.; BRUGNARI, T.; MALLMANN, C. A.; ABREU FILHO, B. A.; MIKCHA, J. M. G.; MACHINSKI M. Jr. *Curcuma longa* L. essential oil composition, antioxidant effect, and effect on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production. **Food Control**, v. 73, parte B, p. 806-813, 2016.

AVETISYAN, A.; MARKOSIAN, A.; PETROSYAN, M.; SAHAKYAN, N.; BABAYAN, A.; ALOYAN, S.; TRCHOUNIAN, A. Chemical composition and some biological activities of the essential oils from basil *Ocimum* different cultivars. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 17, n. 60, p. 1-8, 2017.

BARBOSA, J. D. F.; SILVA, V. B.; ALVES, P. B.; GUMINA, G.; SANTOS, R.L.C.; SOUSA, D.P.; CAVALCANTI, S.C.H. Structure–activity relationships of eugenol derivatives against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. **Pest management Science**, v. 68, p. 1478-1483, 2012.

BAARDSETH, P. Effect of selected antioxidants on the stability of dehydrated mashed potatoes. **Food Additives and Contaminants**, v. 6, n. 2, p. 201-207, 1989.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.

BEHURA, S.; SRIVASTAVA, V. K. Essential oils of leaves of *Curcuma* species. **Journal Essential Oil Research**, v. 16, p. 109-110, 2004.

BARICEVIC, D.; SOSA, S.; DELLA LOGGIA, R.; TUBARO, A.; SIMONOVSKA, B.; KRASNA, A.; ZUPANCIC, A. Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 75, p. 125–132, 2001.

BORGES, A. M.; PEREIRA J.; CARDOSO M. G.; ALVES J. A.; LUCENA E. M. P. Determinação de óleos essenciais de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 4, p. 656-665, 2012.

BORGES, L. L.; LÚCIO, T. C.; GIL, E. S.; BARBOSA, E. F. Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. **Enciclopédia biosfera: Centro Científico Conhecer**, v. 7, n.12; p. 1-20, 2011.

BOTREL, P. P.; PINTO, J. E. B. P.; FERRAZ, V.; BERTOLUCCI, S. K. V.; FIGUEIREDO, F. C. Teor e composição química do óleo essencial de *Hyptis marrubioides* Epl. Laminaceae em função da sazonalidade. **ACTA Scientiarum Agronomy**, v. 32, n.3, p.533-538, 2010.

BLANK, A. F.; CARVALHO FILHO, J. L. S.; SANTOS NETO, A. L.; ALVES, P. B.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; SILVA-MANN, R.; MENDONÇA, M. C. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de manjerição e alfavaca. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n.1, p. 113-116, 2004.

BLANK, A. F.; SOUZA, E. M.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; PAULA, J. W. A.; ALVES, P. B. A. Maria Bonita: cultivar de manjerição tipo linalol. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 42, p. 1811-1813, 2007.

BRAGA, M. E.; LEAL, P. F.; CARVALHO, J. E.; MEIRELES, M. A. Comparison of yield, composition, and antioxidant activity of turmeric (*Curcuma longa* L.) extracts obtained using various techniques. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 22, p. 6604-11, 2003.

BRAGA, I. M.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviço de Saúde**, v. 16, p. 113-118, 2007.

BRASILEIRO, B. G.; PIZZILOLO, V. R.; RASLAN, D. S.; JAMAL, C. M.; SILVEIRA, D. Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 195-202, 2006.

BUNARATHEP, S.; PALANUVEZ, C.; RUANGRUNGSI, N. Chemical composition and antioxidative activities of essential oils from four *Ocimum* species endemic to Thailand. **Journal of Health Research**, v. 21, p. 201–206, 2007.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 223-253, 2004.

- CALIGIANI, A.; MALAVASI, G.; PALLA, G.; MARSEGLIA, A.; TOGNOLINI, M.; BRUNI, R. A simple GC–MS method for the screening of betulinic, corosolic, maslinic, oleanolic and ursolic acid contents in commercial botanicals used as food supplement ingredients. **Food Chemistry**, v. 136, p. 735–741, 2013.
- CAMPOS, A. M.; LISSI, E. A. Kinetics of the reaction between 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) derived radical cations and phenols. **International Journal of Chemical Kinetics**, v. 29, p. 219–224. 1997.
- CAROVIC-STANKO, K.; ŠALINOVIĆ, A.; GRDIŠA, M.; LIBER, Z.; KOLAK I.; SATOVIC, Z. Efficiency of morphological trait descriptors in discrimination of *Ocimum basilicum* L. accessions. **Plant Biosystems**, v. 145, n. 2, p. 298–305, 2011.
- CARRATU, E.; SANZINI, E. Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetable. **Annali dell'Istituto Superiore di Sanità**, v. 41, n. 1, p.7-16, 2005.
- CARVALHO, P. G. B.; MACHADO, C. M. M.; MORETTI, C. L.; FONSECA, M. E. N. Hortaliças como alimentos funcionais. **Horticultura Brasileira**, v. 24, n. 4, p. 397-404, 2006.
- CASSEL, E.; VARGAS, R. M. F. Experiments and modeling of the *Cymbopogon winterianus* essential oil extraction by steam distillation. **Journal of the Mexican Chemical Society**, v. 55, p. 57-60, 2006.
- CASTRO, H. G.; PERINI, V. B. M.; SANTOS, G. R.; LEAL, T. C. A. B. Avaliação do teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.) em diferentes épocas de colheita. **Revista de Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2, p.308-314, 2010.
- CASTRO, M. S.; PINHEIRO, C. C. S.; MARINHO, H. A. Screening fitoquímico e físico-químico dos extratos da *Curcuma zerumbet* Roscoe (Zingiberaceae) do Amazonas para a produção de alimentos terapêuticos. **Biota Amazônia**, v. 7, p. 6-11, 2017.
- CHAGAS, A. C. S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, p. 156-160, 2004.
- CHALCHAT, J. C.; GARRY, R. P.; SIDIPE, L. Aromatic plants of Mali. *Ocimum basilicum* and *Ocimum canum* Sims. **Rivista Italiana EPPOS**, v. 7, (spec. Num.), p. 618-626, 1996.
- CHALCHAT, J. C.; OZCAM, M. M. Comparative essential oil composition of flowers, leaves and stems of basil (*Ocimum basilicum* L.) used as herb. **Food Chemistry**, v. 110, p. 501–503, 2008.
- CHAPPELL, J. The genetics and molecular genetics of terpene and sterol origami. **Current Opinion in plant biology**, v. 5, p. 151-157. 2002.

CHARLES, D. J.; SIMON, J. E.; WOOD, K. V. Essential oil constituents of *Ocimum micranthum* Willd. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 1, p. 120–122, 1990.

CHATTOPADHYAY, I.; BISWAS, K.; BANDYOPADHYAY, U.; BANERJEE, R. K. Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. **Current Science**, v. 87, n. 1, p. 44-53, 2004.

CHEN, I. N.; CHANG, C. C.; NG, C. C.; WANG, C. Y.; SHYU, Y. T.; CHANG, T. L. Antioxidant and antimicrobial activity of Zingiberaceae plants in Taiwan. **Plants Foods Human Nutrition**, v. 63, p. 15 – 20, 2008.

CHENG, S.S.; CHANG, H. T., CHANG, S. T., TSAI, K. H., CHEN, W. J. Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae. **Bioresource Technology**, v. 89, p.99-102, 2003.

CHOUDRHURY, S. N.; BORDOI, D. N. Phenological observations of *Ocimum gratissimum* Linn. **Indian Perfume**, v. 37, n. 1, p. 51-55, 1993.

CHU, X.; HE, X.; SHI, Z.; LI, C.; GUO, F.; LI, S.; LI, Y.; NA, L; SUN, C. Ursolic acid increases energy expenditure through enhancing free fatty acid uptake and β -oxidation via an UCP3/AMPK - dependent pathway in skeletal muscle. **Molecular Nutrition Food Research**, v. 59, n. 8, p. 1491-503, 2015.

COSTA, J. G. M.; RODRIGUES, F. F. G.; ANGÉLICO, E. C.; SILVA, M. R.; MOTA, M. L.; SANTOS, N. K. A.; CARDOSO, A. L. H.; LEMOS, T. L. G. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzygium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 304-309, 2005.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Quimica Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008.

CUMMINGS, J. L.; BACK, C. The cholinergic hypothesis of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. **The American Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 6, p. S64-S78, 1998.

DAMBOLENA, J. S.; ZUNINO, M. P., LÓPEZ, A. G.; RUBINSTEIN, H. R.; ZYGADLO, J. A.; MWANGI, J. W.; THOITHI, G. N.; KIBWAGE, I. O.; MWALUKUMBI, J. M.; KARIUKI, S. T. Essential oils composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. from Kenya and their inhibitory effects on growth and fumonisin production by *Fusarium verticillioides*. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 410–414, 2010.

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 2, p. 389-399, 2012.

DOHI, S.; TERASAKI, M.; MAKINO, M. Acetylcholinesterase inhibitory activity and chemical composition of commercial essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 4313-8, 2009.

DORMAN, H. J. D., SURAI, P., DEANS, S. G. In vitro antioxidant activity of a number of plant essential oils and phytoconstituents. **Journal of Essential Oil Research**, v. 12, p. 241–248, 2000.

DORNAS, W. C.; OLIVEIRA, T. T. D.; RODRIGUES R. G. D.; SANTOS, A. F. D.; NAGEM, T. J. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciência Farmacêutica Básica Aplicada**, v. 28, n. 3, p. 241-249, 2007.

DROGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiological Reviews**, v. 82, p. 47-95, 2002.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciência & Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

DUARTE, R. C. **Estudo dos compostos bioativos em especiarias (*Syzygium aromaticum* L., *Cinnamomum zeylanicum* Blume e *Myristica fragans* Houtt) processadas por radiação ionizante**. 2014. 145f. Tese (Doutorado em Ciências na área de tecnologia nuclear) – Universidade São Paulo, São Paulo, 2014.

EDRIS, A. E. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy Research**, v. 21, p. 308–323, 2007.

ELLMAN, G. L.; COURTNEY, K. D.; ANDRES JR, V.; FEATHERSTONE, R. M. A new rapid calorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, p. 88-95, 1961.

EISENREICH, W.; BACHER, A.; ARIGONI, D.; ROHDICH, F. Biosynthesis of isoprenoids via the non-mevalonate pathway. **Cell Molecular Life Science**, v. 61, n. 12, p. 1401-1426, 2014.

ELSHARBINY, E. A.; EL-KHATEEB, A. Y.; AZZAZ, N. A. Chemical composition and fungicidal effects of *Ocimum basilicum* essential oil on bipolaris and cochliobolus species. **Journal Agricultural Science Technology**, v. 18, p. 1143-1152, 2016.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Report n. 1: Nutmeg processing and marketing in Grenada**, 2005.

FARAG, R. S.; BADEL, A. Z. M. A.; EL-BAROTY, G. S. A. Influence of thyme and clove essential oils on cottonseed oil oxidation. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 66, n. 6, p. 800-804, 1989.

FERREIRA, F. D.; MOSSINI, S. A. G.; FERREIRA, F. M. D.; ARROTÉIA, C. C.; COSTA, C. L.; NAKAMURA, C. V.; MACHINSKI JUNIOR, M. the inhibitory effects of

curcuma longa l. essential oil and curcumin on *Aspergillus flavus* Link growth and morphology. **The Scientific World Journal**, s/v, p. 1-6, 2013.

FORATTINI, O. P.; BRITO, M. Reservatórios domiciliares de água e controle do *Aedes aegypti*. **Revista de Saúde Pública**, v. 6, p.6-7, 2003.

FU, S. B.; YANG, J. S., CUI, J. L., SUN, D. A. Biotransformation of ursolic acid by *Syncephalastrum racemosum* CGMCC 3.2500 and anti-HCV activity. **Fitoterapia**, v. 86, p. 123–128, 2013.

FUJIWARA, T.; YASUFUKU, K.; NAKAJIMA, T.; CHIYO, M.; YOSHIDA, S.; SUZUKI, M.; SHIBUYA, K.; HIROSHIMA, K.; NAKATANI, Y.; YOSHINO, I. The utility of sonographic features during endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for lymph node staging in patients with lung cancer: a standard endobronchial ultrasound image classification system. **Chest**, v. 138, n. 3, p. 641-7, 2010.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Análise de própolis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 171-178, 2006.

FURTADO, R. F.; LIMA, M. G. A.; ANDRADE NETO, M.; BESERRA, J. N. S.; SILVA, E. G. V. Atividade larvicida de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 5, p. 843-847, 2005.

FRANCO, A. L. P.; OLIVEIRA, T. B.; FERRI, P. H.; BARA, M. T. F.; REALINO, J. Avaliação da composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Aloysia gratissima* (Gilles & Hook) Tronc (Alfazema), *Ocimum gratissimum* L. (alfavaca-cravo) e *Curcuma longa* (açafrão). **Revista eletrônica de farmácia**, v. 4, n. 2, p. 208-220, 2007.

FREIRE-GONZÁLEZ, R. A.; VISTEL-VIGO, M. Caracterización fitoquímica de la *Curcuma longa* L. **Revista Cubana de Química**, v. 27, n. 1, p. 9-18, 2015.

GAIKWAD, A.; BODHANKAR, M.; ITTADWAR, A.; WAIKAR, S. Antibacterial activity of isoflavone extracted from *Curcuma longa* linn. Zingiberaceae. **The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 1, n. 1, p. 06-09, 2014.

GARCIA-SANCHEZ, C.; ESTEVEZ-GONZALEZ, A.; BOLTES, A.; OTERMIN, P.; LOPEZ-GONGORA, M.; GIRONELL A.; KULISEVSKY, J. Cognitive and functional decline in the stage previous to the diagnosis of Alzheimers disease. **Neurologia**, v. 18, p. 716-722, 2003.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Medicinal plants: factors of influence on the content of secondary metabolites. **Quimica Nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.

GOLFAKHRABADI, F.; YOUSEFBEYK, F.; MIRNEZAMI, T.; LAGHAEI, P.; HAJIMAHMOODI, M.; KHANAVI, M. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activity of *Teucrium hyrcanicum*. **Pharmacognosy Research**, v. 7, p. 15-19, 2015.

GONÇALVES, C. M. **Diferenças na variação da competência vetorial entre nove populações de *Aedes aegypti* do município de Belo Horizonte, Minas Gerais, ao Dengue virus 2**. 2014. 83 f. Tese (Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

GOUNDER, D. K.; LINGAMALLU, J. Comparison of chemical composition and antioxidant potential of volatile oil from fresh, dried and cured turmeric (*Curcuma longa*) rhizomes. **Industrial Crops and Products**, v. 38, p. 124– 131, 2012.

GUERRA, E. J. I. Oxidative stress, diseases and antioxidant treatment. **Annales De Medecine Interne**, v. 18, p. 326, 2001.

GÜLÇİN, I.; ELMASTAT, M.; ABOUL-ENEIN, H. Y. Determination of antioxidant and radical scavenging activity of basil (*Ocimum basilicum* L. Family Lamiaceae) assayed by different methodologies. **Phytotherapy Research**, v. 21, p. 354–361, 2007.

HALSTED, S. B.; GLUBER, D. J.; KUNO, G. **Dengue and dengue hemorrhagic fever**. CAB international. New York, p. 23-44, 1997.

HASSAN, W.; GUL, S.; REHMAN, S.; KANWAL, F.; AFRIDI, M. S.; FAZAL, H.; SHAH, Z.; RAHMAN, A. U.; ROCHA, J. B. T. Gas chromatography coupled with mass spectrometric characterization of *Curcuma longa*: protection against pathogenic microbes and lipid peroxidation in rat's tissue homogenate. **Pakistan Journal Pharmaceutical Sciences**, v. 29, n. 2, p. 615-621, 2016.

HASSANE, S. O. S.; GHANMI, M.; SATRANI, B.; FARAH, A.; AMARTI, F.; ACHMET, S. M.; CHAOUCH, A. Composition chimique et bioactivité des huiles essentielles de deux provenances d'*Ocimum canum* S. de l'île de la Grande Comore. **Phytothérapie**, v. 9, p. 18-24, 2011.

HU, Y; ZHANG, J.; KONG, W.; ZHAO, G.; YANG, M. Mechanisms of antifungal and anti-aflatoxigenic properties of essential oil derived from turmeric (*Curcuma longa* L.) on *Aspergillus flavus*. **Food Chemistry**, v. 220, p. 1–8, 2017.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

HUSSAIN, A.I.; ANWAR, F., SHERAZI, S. T. H., PRZYBYLSKI, R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. **Food Chemistry**, v. 108, n.3, p.986-95, 2008.

HUSSAIN, A. I.; CHATHA, S. A. S.; KAMAL, G. M.; ALI, M. A.; HANIF, M. A.; LAZHARI, M. I. Chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from *Ocimum sanctum*. **International Journal of Food Properties**, v. 20, p. 1569-1581, 2017.

HWANG, K-W.; SON, D.; JO, H-W.; KIM, C. H.; SEONG, K. C.; JOON-KWAN MOON, J-K. Levels of curcuminoid and essential oil compositions in turmeric

(*Curcuma longa* L.) grown in Korea. **Applied Biological Chemistry**, v. 59, n. 2, p. 209–215, 2016.

IEA/APTA – Instituto de Economia Agrícola. Balança Comercial dos Agronegócios Paulista e Brasileiro de janeiro a setembro de 2013. **Brasília**: IEA, 2013.

INTIRACH, J.; JUNKUM, A.; TUETUN, B.; CHOOCHOTE, W.; CHAITHONG, U.; JITPAKDI, A.; RIYONG, D.; CHAMPAKAEW, D.; PITASAWAT, B. Chemical constituents and combined larvicidal effects of selected essential oils against *Anopheles cracens* (Diptera: Culicidae). **Psyche**, v. 1, p. 1-11, 2012.

JANNUZZI, H. **Rendimento e caracterização química do óleo essencial de genótipos de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) no Distrito Federal**. 2012. 69 f. Tese (Doutorado em agronomia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

JARDINI, F. A.; MANCINI FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes da romã (*Punica granatum*, L.). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 1, p. 137-147, 2007.

JIANG, K.; CHI, T.; LI, T.; ZHENG, G.; FAN, L.; LIU, Y.; CHEN, X.; CHEN, S.; JIA, L.; SHAO, J. A smart pH-responsive nano-carrier as a drug delivery system for targeted delivery of ursolic acid: suppresses cancer growth and metastasis by modulating P53/MMP-9/PTEN/CD44 mediated multiple signaling pathways. **Nanoscale**, s/v, 2017.

JOIA, L. C.; REGO, E. C. M.; BARBOSA, M. A. N.; PINTO, S. M. S. Nível de informação e prevenção da dengue entre os moradores de Barreiras/BA. **Revista de APS-Atenção Primária à Saúde**, v.15, n. 1, p. 42–48, 2012.

JOSHI, R. K. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ocimum basilicum* L. (sweet basil) from Western Ghats of North West Karnataka, India. **Ancient Science Life**, v. 33, p. 151–6, 2014.

KADHIM, M. J.; SOSA, A. A.; HAMEED, I. H. Evaluation of anti-bacterial activity and bioactive chemical analysis of *Ocimum basilicum* using Fourier transform infrared (FT-IR) and gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) techniques. **Journal of Pharmacognosy Phytotherapy**, v. 8, n. 6, p. 127-146, 2016.

KAURINOVIC, B.; POPOVIC, M.; VLAISAVLJEVIC, S.; TRIVIC, S. Antioxidant capacity of *Ocimum basilicum* L. and *Origanum vulgare* L. extracts. **Molecules**, v. 16, p. 7401-7414, 2011.

KHATTAK, S.; REHMANA, S.; SHAHB, H. U.; AHMADC, W.; AHMADD, M. Biological effects of indigenous medicinal plants *Curcuma longa* and *Alpinia galanga*. **Fitoterapia**, v. 76, p. 254–257, 2005.

KEITA, S. M.; VINCENT, C.; SCHMIT, J. P.; BELANGER, A. Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L., *O. gratissimum* L. and *O. suave* L. in the Republic of Guinea. **Flavour Fragrance Journal**, v. 15, p. 339-341, 2000.

KHELIFA, L. H.; BRADA, M.; BRAHMI, F.; ACHOUR, D.; FAUCONNIER, M. L.; LOGNAY, G. Chemical composition and antioxidant activity of essential oil of *ocimum basilicum* leaves from the northern region of Algeria. **Topclass Journal of Herbal Medicine**, v. 1, n. 2, p. 25-30, 2012.

KIENDREBEOGO, M.; COULIBALY, A. Y.; NEBIE, R. C. H.; ZEBA, B.; LAMIEN, C. E.; LAMIEN-MEDA, A.; NACOULMA, O. G. Antiacetylcholinesterase and antioxidant activity of essential oils from six medicinal plants from *Burkina faso*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, p. 63-69, 2011.

KITTISAKULNAM, S.; SAETAE, D.; SUNTORNSUK, W. Antioxidant and antibacterial activities of spices traditionally used in fermented meat products. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n/a, p. e13004, 2017.

KOROCH, A. R.; SIMON, J. E.; JULIANI, H. R. Essential oil composition of purple basils, their reverted green varieties (*Ocimum basilicum*) and their associated biological activity. **Industrial Crops & Products**, s/v, p. 1-5, 2017.

KOTHARI, S. K.; BHATTACHARYA, A. K.; RAMESH, S. Essential oil yield and quality of methyl eugenol rich *Ocimum tenuiflorum* L. (syn. *O. sanctum* L.) grown in south India as influenced by method of harvest. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, p. 67–72, 2004.

KPOVIESSI, B. G. H. K.; LADEKAN, E. Y.; KPOVIESSI, D. S. S.; GBAGUIDI, F.; YEHOUEYOU, B.; QUETIN-LECLERCQ, J.; FIGUEREDO, G.; MOUDACHIROU, M.; ACCROMBESSI, G. C. Chemical variation of essential oil constituents of *Ocimum gratissimum* L. from Benin, and impact on antimicrobial properties and toxicity against *Artemia salina* Leach. **Chemistry & Biodiversity**, v. 9, p. 139–150, 2012.

KUMAR, K. N.; VENKATARAMANA, M.; ALLEN, J. A.; CHANDRANAYAKA, S.; MURALI, H. S.; BATRA, H. V. Role of *Curcuma longa* L. essential oil in controlling the growth and zearalenone production of *Fusarium graminearum*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 69, p. 522-528, 2016.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 726-732, 2005.

KWEE, E. M.; NIEMEYER, E. D. Variations in phenolic composition and antioxidant properties among 15 basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. **Food Chemistry**, v. 128, p. 1044–1050, 2011.

LABBE, C.; CASTILLO, M.; CONNOLY J.D. Mono and sesquiterpenoids from *Satureja gilliesii*. **Phytochemistry**, v. 34, p. 441-444, 1993.

LE COUTEUR, P. M.; BURRESON, J. **Os botões de Napoleão: as 17 moléculas que mudaram a história**. Rio de Janeiro: Jorge Zahar, 2006.

LEE, S. K.; SONG, L.; MATA-GREENWOOD, E.; KELLOFF, G. J.; STEELE, V. E.; PEZZUTO, J. M. Modulation of in vitro biomarkers of the carcinogenic process by chemopreventive agents. **Anticancer Research**, v. 19, p. 35-44, 1999.

LEE, J. Y.; PARK, H. J.; LEE, C. Y.; CHOI, W. Y. Extending shelf life of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents. **LWT - Lebensmittel Wissenschaft and Technology**, v. 36, p. 323- 329, 2003.

LEE, J.; SCAGEL, C. F. Chicoric acid found in basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. **Food Chemistry**, v. 115, p. 650–656, 2009.

LEITE, J. J. G.; BRITO, E. H. S.; CORDEIRO, R. A., BRILHANTE, R. S. N., SIDRIM, J. J. C., BERTINI, L. M., MORAIS, S. M., ROCHA, M. F. G. Chemical composition, toxicity and larvicidal and antifungal activities of *Persea americana* (avocado) seed extracts. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, p. 110-113, 2009.

LI, J.; GUO, W.; YANG, Q-Y. Effects of ursolic acid and oleanolic acid on human colon carcinoma cell line HCT15. **World Journal of Gastroenterology**, v. 8, n. 3, p. 493-495, 2002.

LIJU, V. B.; JEENA, K.; KUTTAN, R. An evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, and antinociceptive activities of essential oil from *Curcuma longa* L. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 43, 2011.

LIMA, J. P.; LOPES, C. O.; DIAS, N. A. A.; PEREIRA, M. C. A. Atividade e biodisponibilidade dos carotenóides no organismo. **Revista de Ciências em Saúde**, v. 2, n. 1, 2012.

LINO, C. S.; GOMES, P. B.; LUCETTI, D. L.; DIÓGENES, J. P. L.; SOUSA, F. C. F.; SILVA, M. G. V.; VIANA, G. S. B. Evaluation of antinociceptive and antiinflammatory activities of the essential oil (EO) of *Ocimum micranthum* Willd. from Northeastern Brazil. **Phytotherapy Research**, v. 19, n. 8, p. 708–712, 2005.

LIU, M.; JOHNSTON, M. B.; SNAITH, H. J. Efficient planar heterojunction perovskite solar cells by vapour deposition. **Nature**, v. 501, p. 395–398, 2013.

LORENZI, M.; MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512 p.

LUNA, J. E. D.; MARTINS, M. F.; ANJOS, A. F.; KUWABARA, E. F.; NAVARRO-SILVA, M. A. Susceptibilidade de *Aedes aegypti* aos inseticidas temephos e cipermetrina, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, n. 6, p. 842-843, 2004.

LUNA, J. S.; SANTOS, A. F.; LIMA, M. R. F.; OMENA, M. C.; MENDONÇA, F. A. C.; BIEBER, L. W.; SANT'ANA, A. E. G. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from Northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, n. 2, p. 199-206, 2005.

- LUZ, J. M. Q.; MORAIS, T. P. S.; BLANK, A. F.; SODRÉ, A. C. B.; OLIVEIRA, G. S. Teor, rendimento e composição química do óleo essencial de manjeriço sob doses de cama de frango. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p 349-353, 2009.
- MAGALHÃES, A. F.; TOZZI, A. M. G. A.; SANTOS, C. C.; SERRANO, D. R.; ZANOTTI; MAGALHÃES, E. M.; MAGALHÃES, E. G.; MAGALHÃES, L. A. Saponins from *Swartzia langsdorffii*: biological activities. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 713-718., 2007.
- MAKRI, O.; KINTZIOS, S. *Ocimum sp.* (basil): Botany, cultivation, pharmaceutical properties, and biotechnology. **Journal of Herbs Spices and Medicinal Plants**, v. 13, p. 123–150, 2008.
- MANZAN, A. C. C. M.; TONIOLO, F. S.; BREDOW, E.; POVH, N. P. Extraction of essential oil and pigments from *Curcuma longa* L. by steam distillation and extraction with volatile solvents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 6802-6807, 2003.
- MARCO, L.; CARREIRAS, C. M. Galanthamine, a natural product for the treatment of Alzheimer's disease. **Recent Patents CNS Drug Discovery**, v. 1, p. 105-111, 2006.
- MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Revisão: antioxidantes naturais da família Lamiaceae - aplicação em produtos alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, n. 2, p. 96-103, 2007.
- MAROTTI, M.; PICCAGLIA, R.; GIOVANELLI, E. Differences in essential oil composition of basil (*Ocimum basilicum* L.) Italian cultivars related to morphological characteristics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 3926-3929, 1996.
- MARTINS, A. G. L. A. **Antibacterial activity of essential oils of basil (*Ocimum basilicum* Linnaeus) and ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) front the line of enteropathogenic *Escherichia coli* isolated of grasses.** 2010. 179 f. Tese (Doutorado em ciência e tecnologia de alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.
- MARQUES, L. C. Preparação de extratos vegetais. **Jornal Brasileiro de Fitomedicina**, v. 3, n. 2, p. 74 - 76, 2005.
- MAROTTI, M.; PICCAGLIA, R.; GIOVANELLI, E. Differences in essential oil composition of basil (*Ocimum basilicum* L.) Italian cultivars related to morphological characteristics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p. 3926-3929, 1996.
- MATA, A. R.; NELSON, D. L.; AFONSO, R. J. C. F.; GLÓRIA, M. B. A.; JUNQUEIRA, R. G. Identificação de compostos voláteis da cúrcuma empregando microextração por fase sólida e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. **Ciência & Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 1, p. 151-157, 2004.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais - guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil.** Fortaleza: Imprensa Universitária/UFC, 2000. 344 p.

MATOS, T. A. M. **Estudo fitoquímico e avaliação farmacológica de *Curcuma longa* (Zingiberaceae).** 2015. 80 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental.** Fortaleza, Ce: Editora UFC, 2009.

McLAUGHLIN, J. L. Crown gall tumours on potato discs and brine shrimp lethality: two simple bioassays for higher plant screening and fractions. **In:** Dey PM, Harbone JB (ed.) *Methods in Plant Biochemistry.* New York: Academic Press, p.1-32, 1991.

McLAUGHLIN, J. L.; CHANG, C. J.; SMITH, D. L. **In:** Human Medicinal Agents from Plants, Symposium Series, American Chemical Society, Washington, D.C. n. 534, p. 112-137, 1993.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAN, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; AUGHLIN. A convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medical Plant Research**, v.45, n.1, p.31-34, 1982.

MIRANDA, C. A. S. F.; CARDOSO, M. G.; BATISTA, L. R.; RODRIGUES, L. M. A.; FIGUEIREDO, A. C. S. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. **Revista de Ciência Agrônômica**, v. 47, p. 213-220, 2016.

MIYAZAWA, M., YAMAFUJI, C. Inhibition of acetylcholinesterase activity by bicyclic monoterpenoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 1765-1768, 2005.

MORAES, L. A. S.; FACANALI, R.; MARQUES, M. O. M., LIN, C. M.; MEIRELES, M. A. A. Phytochemical characterization of essential oil from *Ocimum selloi*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 74, n. 1, p. 183-186, 2002.

MORAIS, S. M.; CAVALCANTI, E. S. B.; COSTA, S. M. O.; AGUIAR, L. A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1b, p. 315-320, 2009.

MORALES, M. R.; SIMON, J. E. 'Sweet Dani': a new culinary and ornamental lemon basil. **HortScience**, v.32, n.1, p.148-149, 1997.

NACAR, S.; TANSI, S. Chemical components of different basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars grown in Mediterranean regions in Turkey. **Israel Journal of Plant Sciences**, v. 48, p. 109-112, 2000.

NAGABABU, E., LAKSHMAIAH, N. Inhibitory effect of eugenol on non-enzymatic lipid peroxidation in rat liver mitochondria. **Biochemical Pharmacology**, v. 43, p. 2393–2400, 1992.

NAGATA, M.; YAMASHITA, I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. **Nippon Shokuh in Kogyo Gakkaisk**, v. 39, p. 925-92, 1992.

NIÑO, J.; NARVÁEZ, D. M.; MOSQUERA, O. M.; CORREA, Y. M.; Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of eight Asteraceae and two Rubiaceae plants from colombian biodiversity. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, p. 566-570, 2006.

NISHIYAMA, T.; MAE, T.; KISHIDA, H.; TSUKAGAWA, M.; MIMAKI, Y.; KURODA, M.; SASHIDA, Y.; TAKAHASHI, K.; KAWADA, T.; NAKAGAWA, K.; KITAHARA, M. Curcuminoids and sesquiterpenoids in turmeric (*Curcuma longa* L.) suppress an increase in blood glucose level in type 2 Diabetic KK-Ay mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 959-963, 2005.

NOGALA-KALUCKA, M., KORCZAK, J., DRATWIA, M., LAMPSRT-SZCZAPA, E., SIGER, A. e BUCHOWSKI, M. Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of rosemary extract and tocopherols in isolated rapeseed oil triacylglycerols during accelerated tests. **Food Chemistry**, v. 93, 227-235, 2005.

NONOSE, N.; PEREIRA, J. A.; MACHADO, P. R. M.; RODRIGUES, P. R.; SATO, D. T.; MARTINEZ, C. A. R. Oral administration of curcumin (*Curcuma longa*) can attenuate the neutrophil inflammatory response in zymosan-induced arthritis in rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 29, n. 11, p. 727-734. 2014.

NORMAN, J. **Ervas e especiarias**. São Paulo: PubliFolha, 2012. 336 p.

OBERLIES, N. H.; ROGERS, L. L.; MARTIN, J. M.; MCLAUGHLIN, J. L. Cytotoxic and insecticidal constituents of the unripe fruit of *Persea americana*. **Journal Nature Product**, v. 61, p. 781-785, 1998.

OLIVEIRA, M. F.; LEMOS, T. L. G.; MATTOS, M. C.; SEGUNDO, T. A.; SANTIAGO, G. M. P.; BRAZ-FILHO, R. New enamines derivatives of lapachol and biological activity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 74, p. 311-221, 2002.

OLIVEIRA, R. A.; REIS, T. V.; SACRAMENTO, C. K.; DUARTE, L. P.; OLIVEIRA, F. F. Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 3, p. 771-775, 2009.

OMIDBAIGI, R.; HASSANI, A.; SEFIDKON, F. Essential oil content and composition of sweet basil (*Ocimum basilicum*) at different irrigation regimes. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 6, p. 104-108, 2003.

OOTANI, M. A.; RAMOS, A. C. C.; AZEVEDO, E. B.; GARCIA, B. O.; SANTOS, S. F.; AGUIAR, R. W. S. Avaliação da toxicidade de estirpes de *Bacillus thuringiensis* para *Aedes aegypti* Linneus, (Díptera: Culicidae). **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 2, n.2: p. 37 - 43, 2011.

ÖZCAM, M.; CHALCHAT, J.C. Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum minimum* L. in Turkey. **Czech Journal Food Science**, v. 20, p. 223-228, 2002.

OZKAN, G.; SIMSEK, B.; KULEASAN, H. Antioxidant activities of *Satureja ciclicica* essential oil in butter and in vitro. **Journal Food Engineering**, v. 79, p. 1391-1396, 2007.

PADILHA-PAULA, J.; GOMES-CARNEIRO, M.R.; PAUMGARTTEN, F.J. Chemical composition, toxicity and mosquito repellency of *Ocimum selloi* oil. **Journal Ethnopharmacology**, v. 88, p. 253-60, 2003.

PANDEY, A. K.; SINGH, P.; TRIPATHI, N. N. Chemistry and bioactivities of essential oils of some *Ocimum* species: an overview. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, 9, 682-694, 2014.

PANDEY, V.; PATEL, A.; PATRA, D. D. Biochar ameliorates crop productivity, soil fertility, essential oil yield and aroma profiling in basil (*Ocimum basilicum* L.). **Ecological Engineering**, v. 90, p. 361–366, 2016.

PARRA, A.L.; YHEBRA, R. S.; SARDIÑAS, I. G.; BUELA, L. I. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD₅₀ value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. **Phytomedicine**, v.8, n.5, p.395-400, 2001.

PARTHASARATHY, V. A.; CHEMPAKAM, B.; ZACHARIAH, T. J. **Chemistry of spices**. Eds CAB International Oxfordshire, 2008.

PATON, A.; PUTIEVSKY, E. Taxonomic problems and cytotoxic relationships between and within varieties of *Ocimum basilicum* and related species (Labiatae). **Kew Bulletin**, v.1, p.509-524, 1996.

PELKA, M.; DANZL, C.; DISTLER, W.; PETSCHERT, A. A new screening test for toxicity testing of dental materials. **Journal of Dentistry**, v. 28, p. 341–5, 2000.

PEREIRA, R. C. A.; MOREIRA, A. L. M. **Manjeriço: cultivo e utilização**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2011.

PEREIRA, R. C. A. **Plantas condimentares: cultivo e utilização**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013.

PEREIRA, C. A. M.; MAIA, J. F. Estudo da atividade antioxidante do extrato e do óleo essencial obtidos das folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.). **Ciência & Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 624-632, 2007.

PEREZ, H.; DIAZ, F.; MEDINA, J.D. Chemical investigation and in vitro antimalarial activity of *Tabebuia ochracea* ssp. neochrysantha. **International Journal of Pharmacognosy**, v. 35: p. 227-231, 1997.

- PERRY, N.S.; HOUGHTON, P.J.; THEOBALD, A.; JENNER, P.; PERRY, E.K. In-vitro inhibition of human erythrocyte acetylcholinesterase by salvia lavandulaefolia essential oil and constituent terpenes. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 52, p. 895–902, 2000.
- PICOLLO, M. I.; TOLOZA A. C.; MOUGABURE C. G.; ZYGADLO, J.; ZERBA, E. Anticholinesterase and pediculicidal activities of monoterpenoids. **Fitoterapia**, v. 79, p. 271–278, 2008.
- PIZZOLATTI, M. G.; CUNHA JR, A.; SZPOGANICZ, B.; SOUSA, E. D.; BRAZ-FILHO, R.; SCHRIPISEMA, J. Flavonoids glycosides from leaves and flowers of *Bauhinia forficata* (Leguminosae). **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 466-469, 2003.
- PODSEDEK, A. Natural antioxidants capacity of brassica vegetables: a review. **Food Science and Technology**, v. 40, n. 1, p. 1-11, 2007.
- POLITEO, O.; JUKIC, M.; MILOS, M. Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (*Ocimum basilicum* L.) compared with its essential oil. **Food Chemistry**, v. 101, p. 379-385, 2007.
- PRAJAPATI, V.; TRIPATHI, A. K.; AGGARWAL, K. K.; KHANUJA, S. P. S. Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **Bioresource Tech.**, v. 96, p. 1749–1757, 2005.
- PYRZYNSKA, K.; PEKAL, A. Application of free radical diphenyl picryl hydrazyl (DPPH) to estimate the antioxidant capacity of food samples. **Analytical Methods**, v. 5, p. 4288–4295, 2013.
- QUERE, L.; WENGER, T.; SCHRAMM, H. J. Triterpenes as potential dimerization inhibitors of HIV-1 protease. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 227, p. 484-488, 1996.
- RAINA, V. K.; SRIVASTAVA, S. K.; JAIN, N.; AHMAD, A.; SYAMASUNDAR, K. V.; AGGARWAL, K. K. Essential oil composition of *Curcuma longa* L. cv. Roma from the plains of northern India. **Flavour and Fragrance Journal**, 17: 99–102, 2002.
- RAINA, V. K.; SRIVASTAVA, S. K.; SYAMSUNDAR, K. V. Rhizome and leaf oil composition of *Curcuma longa* from the lower Himalayan region of Northern India. **Journal of Essential Oil Research**, v. 17, p. 556-559, 2005.
- RAMADAN, G.; AL-KAHTANI, M. A.; EL-SAYED, W. M. Anti-inflammatory and antioxidant properties of *Curcuma longa* (Turmeric) versus zingiber officinale (Ginger) rhizomes in rat adjuvant-induced arthritis. **Inflammation**, v. 34, n. 4, 2011.
- RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.
- RANG, H. P.; DALE, M. M.; RUTTER, J. M.; MOORE, P. K. **Farmacologia**. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.

RE, R.; PELLEGRINE, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical biological & medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

RHEE, I. K.; MEENT, M. V.; INGKANINAN, K.; VERPOORTE, R. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity stain in. **Journal of Chromatography A**, v. 915, p. 217-223, 2001.

ROUSE, S. T.; MARINO, M. J.; POTTER, L. T.; CONN, P. J.; LEVEY, A. I. Muscarinic receptor subtypes involved in hippocampal circuits. **Life Science**, v. 64, p. 501-509, 1999.

SÁ, C. G.; CARDOSO, K. M. F.; FREITAS, R. M.; FEITOSA, C. M. Efeito do tratamento agudo do óleo essencial de *Citrus sinensis* (L) Osbeck na aquisição da memória espacial de ratos avaliada no labirinto aquático de Morris. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 2, n. 33, p. 211-215, 2012.

SACCHETTI, G.; MEDICI, A.; MAIETTI, S.; RADICE, M.; MUZZOLI, M.; MANFREDINI, S.; BRACCIOLI, E.; BRUNI, R. Composition and functional properties of the essential oil of amazonian basil, *Ocimum micranthum* Willd., Labiatae in comparison with commercial essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3486-91, 2004.

SACCHETTI, G.; MAIETTI, S.; MUZZOLI, M.; SCAGLIANTI, M.; MANFREDINI, S.; RADICE, M.; BRUNI, R. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. **Food Chemistry**, v. 91, p. 621-632, 2005.

SAHARKHIZ, M. J.; KAMYAB, A. A.; KAZERANI, N. K.; ZOMORODIAN, K.; PAKSHIR, K.; RAHIMI, M. J. Chemical compositions and antimicrobial activities of *Ocimum sanctum* L. essential oils at different harvest stages. **Jundishapur Journal of Microbiology**, v. 8, n. 1, p. e13720, 2015.

SAINSBURRY, M.; SOFOWORA, E. A. Essential oil from the leaves and inflorescence of *Ocimum gratissimum*. **Phytochemistry**, v. 10, p. 3309-3310, 1971.

SAMOYLENKO, V.; DUNBAR, D. C.; GAFUR, M. A.; KHAN, S. I.; ROSS, S. A.; MOSSA, J. S.; EL-FERALY, F. S.; TEKWANI, B. L.; BOSSELAERS, J.; MUHAMMAD, I. Antiparasitic, nematicidal and antifouling constituents from *Juniperus berries*. **Phytotherapy Research**, n. 22, p. 1570-1576, 2008.

SANTANA, A. C. M.; UETENABARO, A. P. T.; BRITO E SILVA, T. M., COSTA, L. C. B.; OLIVEIRA, R. A. Storage conditions of *Ocimum gratissimum* L. leaves influence the quality of essential oil. **Journal of Essential Oil Research**, p. 1-8, 2016.

SANTOS, E. F. **Seleção de tipos de *Ocimum basilicum* L. de cor purpura para o mercado de plantas ornamentais.** 2007. 58 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

SANTOS, V. M. R.; DONNICI, C. L.; DACOSTA, J. B. N.; CAIXEIRO, J. M. R. Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 159-170, 2007.

SANTOS, T. S.; SANTOS V. X. **Atualização de uma coleção de trabalho de acessos do gênero *Ocimum*.** 2014. 25 f. Monografia (Bacharelado em agronomia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

SARTORATTO, A., MACHADO, A.L.M., DELARMELENA, C., FIGUEIRA, G.M., DUARTE, M.C.T., REHDER, V.L.G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 275-80, 2004.

SATOH, K., IDA, Y., SAKAGAMI, H., TANAKA, T., FUSISAWA, S. Effect of antioxidants on radical intensity and cytotoxic activity of eugenol. **Anticancer Research**, v. 18, p. 1549–1552, 1998.

SCHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDRA, P. D. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 32, p. 67-103, 1992.

SCHERER, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry**, v. 112, p. 654-658, 2009.

SELVI, M. T.; THIRUGNANASAMPANDAN, R.; SUNDARAMMAL, S. Antioxidant and cytotoxic activities of essential oil of *Ocimum canum* Sims. from India. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 19, p. 97–100, 2015.

SHARAFATI-CHALESTORI, R.; ROKNI, N.; RAFIEIAN-KOPAEI, M.; DREES, F.; SALEHI, E. Antioxidant and antibacterial activity of basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil in beef burger. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 17, p. 817-826, 2015.

SHIGA, T.; SHOJI, K.; SHIMADA, H.; HASHIDA, S-N.; GOTO, F.; YOSHIHARA, T. Effect of light quality on rosmarinic acid content and antioxidant activity of sweet basil, *Ocimum basilicum* L. **Plant Biotechnology**, v. 26, p. 255–259, 2009.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 1, p. 21-32, 1999.

SILVA, H. H. G.; SILVA, I. G. Influência do período de quiescência dos ovos sobre o ciclo de vida de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) em condições de laboratório. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 4, p. 349-55, 1999.

SILVA, M. G. V.; MATOS, F. J. A.; MACHADO, M. I. L.; CRAVEIRO, A. A. Essential oils of *Ocimum basilicum* L., *O. basilicum* var. *minimum* L. and *O. basilicum* var. *purpurascens* Benth. grown in North-eastern Brazil. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 18, p. 13–14, 2003.

SILVA, R. O.; SILVA, H. H. G.; LUZ, C. Effect of *Metarhizium anisopliae* isolated from soil samples of the central Brazilian cerrado against *Aedes aegypti* larvae under laboratory conditions. **Revista de Patologia Tropical**, v. 33, p. 207-216, 2004.

SILVA, M. G. V.; VIEIRA, I. G. P.; MENDES, F. N. P.; ALBUQUERQUE, I. L.; SANTOS, R. N. S.; SILVA, F. O.; MORAIS, S. M. Variation of ursolic acid content in eight *Ocimum* species from Northeastern Brazil. **Molecules**, v. 13, p. 2482-2487, 2008.

SILVA FILHO, C. R. M.; SOUZA, A. G.; CONCEIÇÃO, M. M.; SILVA, T. G.; SILVA, T. M. S.; RIBEIRO, A. P. L. Avaliação da bioatividade dos extratos de cúrcuma (*Curcuma longa* L., Zingiberaceae) em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 919-923, 2009.

SILVA, L. L.; HELDWEIN, C. G.; REETZ, L. G.; HÖRNER, R.; MALLMANN, C. A.; HEINZMANN, B. M. Composição química, atividade antibacteriana in vitro e toxicidade em *Artemia salina* do óleo essencial das inflorescências de *Ocimum gratissimum* L., Lamiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 5, p. 700-705, 2010.

SILVA, E. M. F.; NASCIMENTO, R. B. C.; BARRETO, F. S.; MORAES FILHO, M. O.; GRIZ, S. A. S.; SANTOS, A. F.; MOUSINHO, K. C. Estudo in vitro do potencial citotóxico da *Annona muricata* L. **Revista de Ciência Farmacêutica Básica Aplicada**, v. 36, n. 2, p. 277-283, 2015.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STEHMANN, J. R. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. 4ª ed., Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1994.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. Farmacognosia. Porto Alegre: UFRGS, 2000, p. 387-415.

SINGH, G.; SINGH, O. P.; MAURYA, S. Chemical and biocidal investigations on essential oils of some Indian *Curcuma* species. **Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials**, v. 45, p. 75-81, 2002.

SINGH, G.; MAURYA, S.; CATALAN, C.; LAMPASONA, M. P. Chemical constituents, antifungal and antioxidative effects of Ajwain essential oil and its acetone extract. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 3292-3296, 2004.

SINGH, G.; KAPOOR, I. P. S.; SINGH, P.; HELUANI, C. S.; LAMPASONA, M. P.; CATALAN, C. A.N. Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of fresh and dry rhizomes of turmeric (*Curcuma longa* Linn.). **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 1026–1031, 2010.

SINGH, S.; SANKAR, B.; RAJESH, S.; SAHOO, K.; SUBUDHI, E.; NAYAK, S. Chemical composition of turmeric oil (*Curcuma longa* L. cv. Roma) and its antimicrobial activity against eye infecting pathogens. **Journal of Essential Oil Research**, n. 23, v. 6, p. 11-18, 2011.

SOBRINHO, A. C. N., SOUZA, E. B., ROCHA, M. F. G., ALBUQUERQUE, M. R. J. R., BANDERA, P. N., SANTOS, H. S., PEREIRA, R., DE MORAIS, S. M., FONTENELLE, R. O. S., CAVALCANTE, C. S. P. Cytotoxicity, antifungal and antioxidant activities of the essential oil from *Eupatorium ballotifolium* Kunth (Asteraceae). **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 10, n. 16, p. 346-355, 2016.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA, S. P.; VALVERDE, S. S.; SILVA, R. L. N. R.; LIMA, K. S. C.; LIMA, A. L. S. Óleos essenciais como inibidores da acetilcolinesterase. **Fitos**, v. 7, n. 04, 2012.

SRIVASTAVA, R. M.; SINGH, S.; DUBEY, S. K.; MISRA, K.; KHAR, A. Immunomodulatory and therapeutic activity of curcumin. **International Immunopharmacology**, v. 11, p. 331–341, 2011.

STANOJEVIĆ, J. S.; STANOJEVIĆ, L. P.; CVETKOVIĆ, D. J.; DANILOVIĆ, B. R. Hemijski sastav, antioksidativna i antimikrobna aktivnost etarskog ulja kurkume (*Curcuma longa* L.). **Advanced Technologies**, v. 4, br. 2, p. 19-25, 2015.

STEINEGGER, E.; HANSEL, R. **Pharmakognosie**. 5^a ed. Berlin: Springer Verlag, 1992.

STOILLOVA, I.; BAILB, S.; BUCHBAUER, G.; KRASTANOVA, A.; STOYANOVAC, A.; SCHMIDTD, E.; JIROVETZ, L. Chemical composition, olfactory evaluation and antioxidant effects of an essential oil of *Thymus vulgaris* L. from Germany. **Natural Product Communications**, v.3, n.7, p. 1047-1050, 2008.

SUETH-SANTIAGO, V.; MENDES-SILVA, G. P.; DECOTÉ-RICARDO, D.; LIMA, M. E. F. Curcumina, o pó dourado do açafão-da-terra: introspecções sobre química e atividades biológicas. **Química Nova**, v. 38, n. 4, p. 538-552, 2015.

SUTILI, F. J.; GATLIN, D. M.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. Plant essential oils as fish diet additives: benefits on fish health and stability in feed. **Revista de Aquicultura**, v. 0, p. 1-11, 2017.

TABET, N. Acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease: Anti-inflammatory in acetylcholine clothing! **Age Ageing**, v. 35, p. 336-8, 2006.

TADROS, M. G.; EZZAT, S. M.; SALAMA, M. M.; FARAG, M. A. In vitro and in vivo anticholinesterase activity of the volatile oil of the aerial parts of *Ocimum basilicum* L.

and *O. africanum* L our growing in Egypt. **International Scholarly and Scientific Research & Innovation**, v. 8, p. 157-161, 2014.

TANG, KE-WEN; CHEN, GUO-BIN. Analysis of chemical component of volatile oil from turmeric by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. **Journal Chinese Mass Spectrometry Society**, v. 3, 2004.

THODE FILHO, S.; CABRAL, G. B.; MARANHÃO, F. S.; SENA, M. F. M.; SILVA, E. R. Deterioração de óleos vegetais expostos a diferentes condições de armazenamento. **REGET**, v. 18, p. 07-13, 2014.

TOMAINO, A.; CIMINO, F.; ZIMBALATTI, V.; VENUTI, V.; SULFARO, V.; PASQUALE, A. Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. **Food Chemistry**, v. 89, p. 549–554, 2005.

TOSCAN, C. M. **Atividade antimicrobiana e antioxidante de terpenóides**. 2010. 84 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2010.

TREVISAN, M. T. S., VASCONCELOS SILVA, M. G., PFUNDSTEIN, B., SPIEGELHALDER, B., OWEN, R. W. Characterization of the volatile pattern and antioxidant capacity of essential oils from different species of the genus *Ocimum*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 4378-4382, 2006.

TRIPATHI, A. K.; PRAJAPATI, V.; VERMA, N.; BAHL, J. R.; BANSAL, R. P.; KHANUJA, S. P.; KUMAR, S. Bioactivities of the leaf essential oil of *Curcuma longa* (var. ch-66) on three species of stored-product beetles (Coleoptera). **Journal of Economic Entomology**, v. 95, n. 1, p. 183-9, 2002.

UGALDE, M. L. **Biofilmes ativos com incorporação de óleos essenciais**. 2014. 168 f. Tese (Doutorado em engenharia de alimentos) - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Rio Grande do Sul, 2014.

USMAN, L. A.; HAMID, A. A.; GEORGE, O. C.; AMEEN, O. M.; MUHAMMAD, N. O.; ZUBAIR, M. F.; LAWAL, A. Chemical composition of rhizome essential oil of *Curcuma longa* L. growing in North Central Nigeria. **World Journal of Chemistry**, v. 4, n. 2, p. 178-181, 2009.

VALDÉS, A. FERNÁNDEZ-CALIENES; MARTÍNEZ, J. M.; FIDALGO, L. M.; PARRA, M. G.; RAMOS, I. S.; RODRÍGUEZ, D. A.; LIZAMA, R. S.; GAITÉN, Y. G. Evaluación de la toxicidad de extractos de plantas cubanas con posible acción antiparasitaria utilizando larvas de *Artemia salina* L. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 61, n. 3, p. 254-258, 2009

VELOSO, R. A. **Divergência genética, análise do óleo essencial e bioatividade de acessos de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) no estado do Tocantins**. 2012. 93 f. Dissertação (Mestrado em produção vegetal) - Universidade Federal do Tocantins, Gurupi-TO, 2012.

VELOSO, R. A.; CASTRO, H. G.; BARBOSA, L. C. A.; CARDOSO, D. P.; CHAGAS JÚNIOR, A. F.; SCHEIDT, G. N. Teor e composição do óleo essencial de quatro acessos e duas cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2, p. 364-371, 2014.

VELOSO, R. A.; CASTRO, H. G.; CARDOSO, D. P.; CHAGAS, L. F. B.; CHAGAS JUNIOR, A. F. Óleos essenciais de manjeriço e capim citronela no controle de larvas de *Aedes aegypti*. **Revista Verde**, v. 10, n.2, p 101 – 105, 2015.

VENANCIO, A. M. **Toxicidade aguda e atividade antinociceptiva do óleo essencial do *Ocimum basilicum* L. (manjeriço), em *Mus musculus* (camundongos)**. 2006. 110 f. Dissertação (Mestrado em ciências da saúde) – Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, 2006.

VERA, S. S.; ZAMBRANO, D. F.; MÉNDEZ-SANCHEZ, S. C.; RODRÍGUEZ-SANABRIA, F.; STASHENKO, E. E.; DUQUE LUNA, J. E. Essential oils with insecticidal activity against larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 113, p. 2647-54, 2014.

VIEIRA, R. F.; SIMON, J. E. Chemical characterization of basil (*Ocimum* spp.) found in the markets and used in traditional medicine in Brazil. **Economic Botany**, v. 54, n. 2, p. 207-216, 2000.

VIEIRA, R. F.; GRAYER, R. J.; PATON, A.; SIMON, J. E. Uso de marcadores químicos no estudo da diversidade genética de *Ocimum gratissimum* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, supl., p. 126-129, 2002.

VIEIRA, P.R.N., MORAIS, S.M., BEZERRA, F.H.Q., FERREIRA, P.A.T., OLIVEIRA, I.R., SILVA, M.G.V. Chemical composition and antifungal activity of essential oils from *Ocimum* species. **Industrial Crops and Products**, v. 55, p. 267–271, 2014.

VIÑA, A.; MURILLO, E. Essential oil composition from twelve varieties of basil (*Ocimum* spp.) grown in Colombia. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.14, n.5, p.744-749, 2003.

VLADIMIR-KNEŽEVIĆ, S., BLAŽEKOVIĆ, B., KINDL, M., VLADIĆ, J., LOWER-NEDZA, A. D., BRANTNER, A. H. Acetylcholinesterase inhibitory, antioxidant and phytochemical properties of selected medicinal plants of the Lamiaceae Family. **Molecules**, v. 19, p. 767-82, 2014.

WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. **Journal of Agricultura and Food Chemistry**, v. 47, p. 1801-1812, 1999.

WONG, K. K. Y.; SIGNAL, F. A.; CAMPION, S.H.; MOTION, R.L. Citronella as an insect repellent in food packaging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 11, p. 4633–4636, 2005.

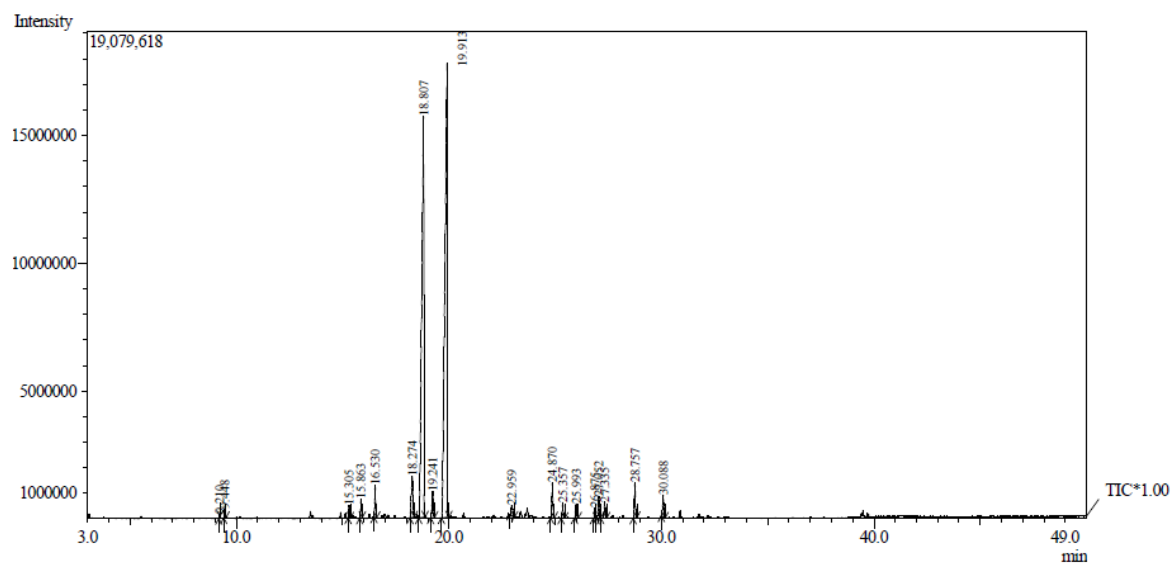
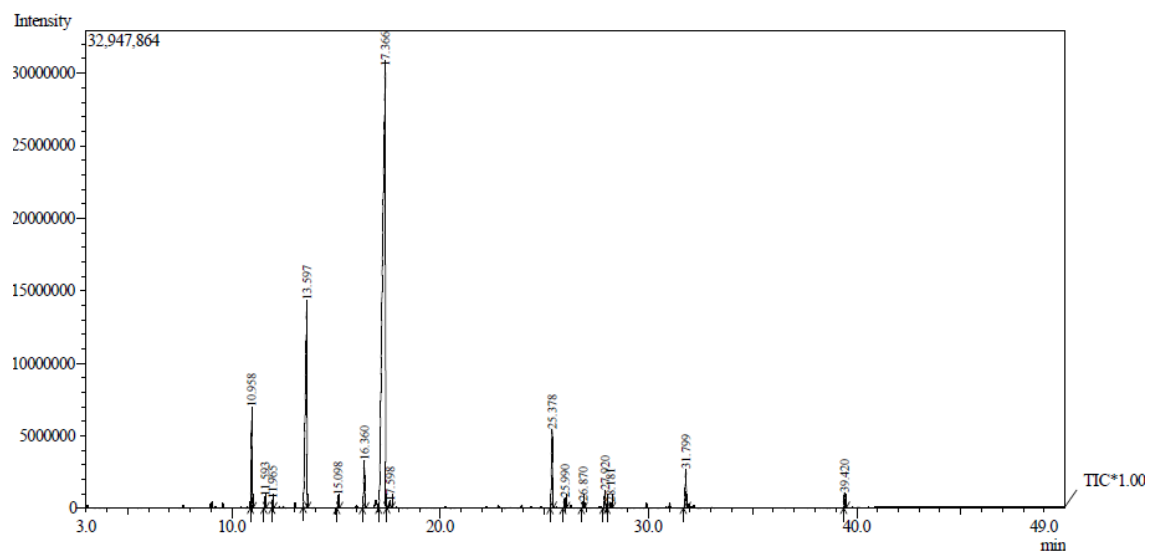
YEPEZ, B.; ESPINOSA, M.; LOPEZ, S.; BOLANOS, G. Producing antioxidant fractions from herbaceous matrices by super-critical fluid extraction. **Fluid Phase Equilibria**, v. 194, p. 879–884, 2002.

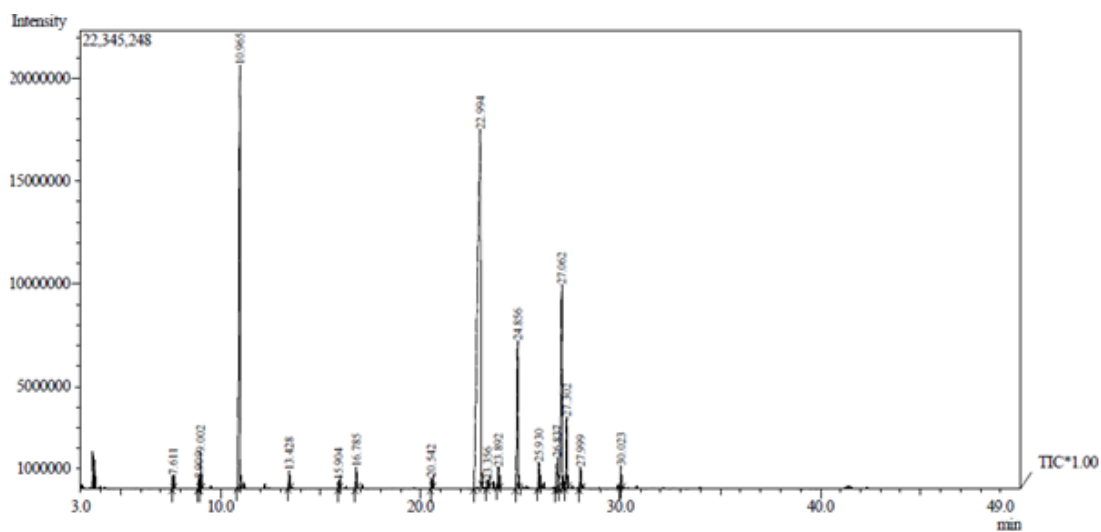
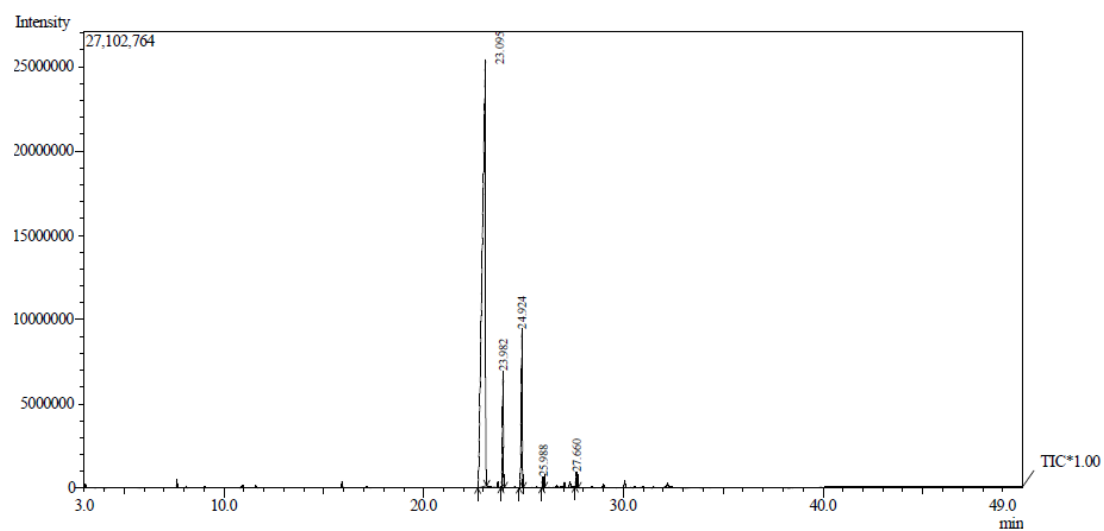
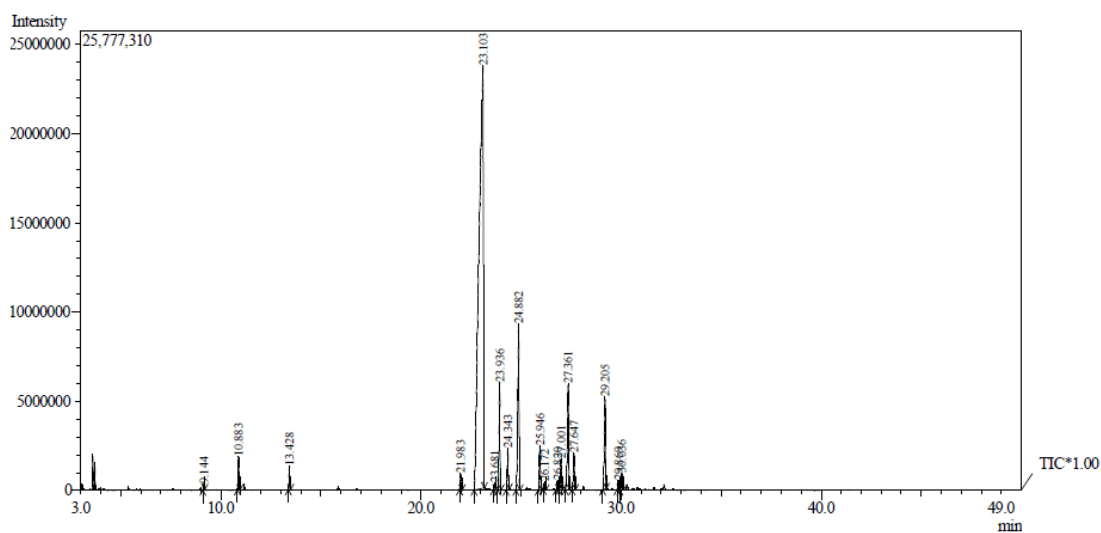
YU, K. X.; WONG, C. L., AHMAD, R.; JANTAN, I. Larvicidal activity, inhibition effect on development, histopathological alteration and morphological aberration induced by seaweed extracts in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 8, p. 1006–1012, 2015.

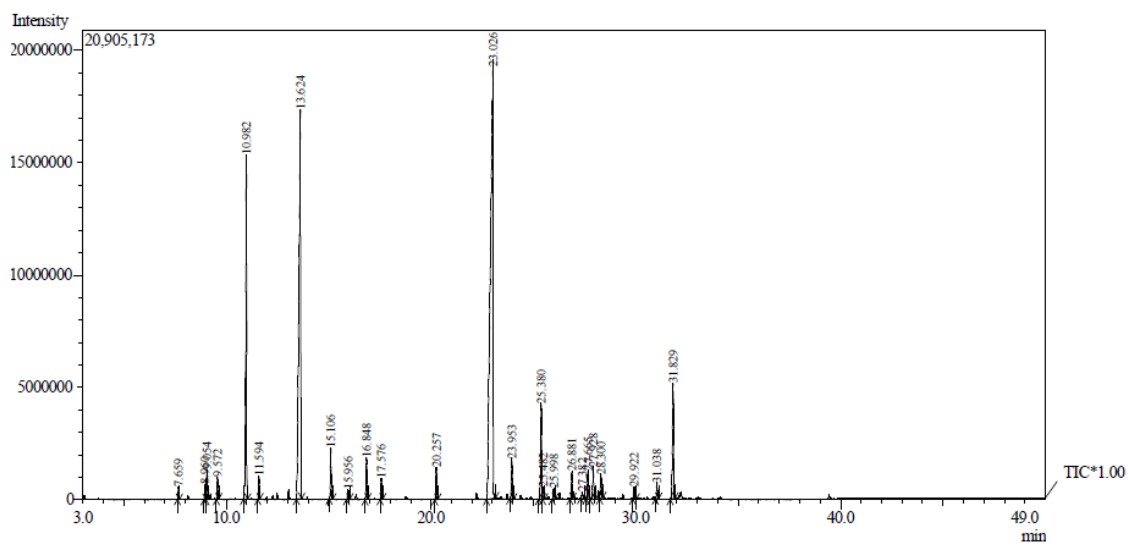
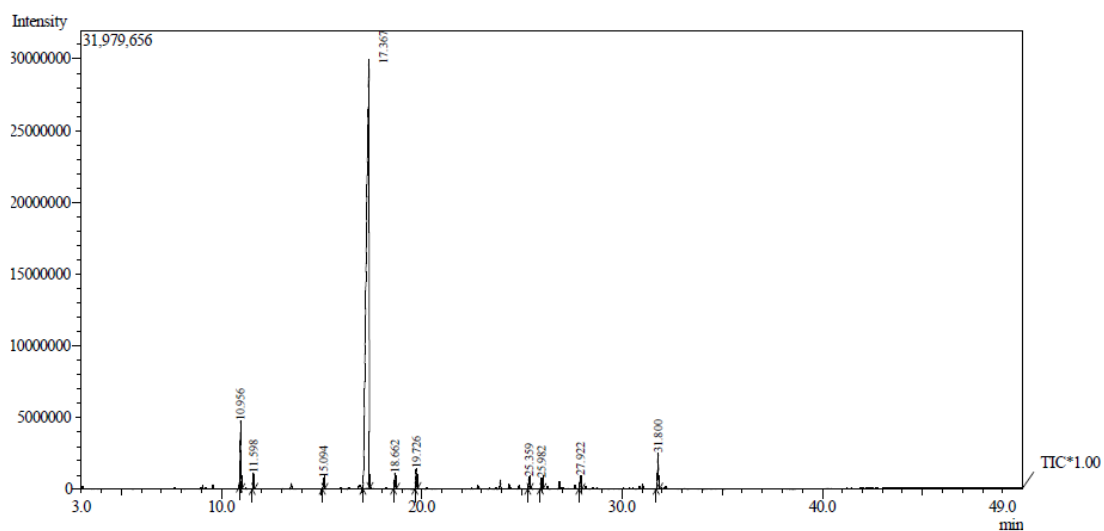
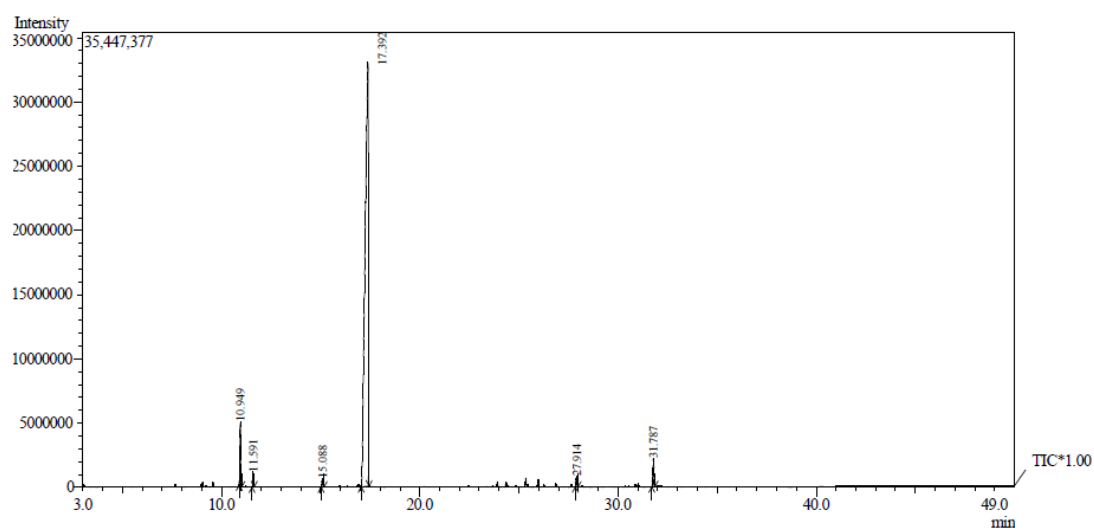
ZARA, A. L. S. A.; SANTOS, S. M.; FERNANDES-OLIVEIRA, E. S.; Carvalho, R. G.; Coelho, G. E. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e Serviço de Saude**, v. 25, n. 2, p. 391-404, 2016.

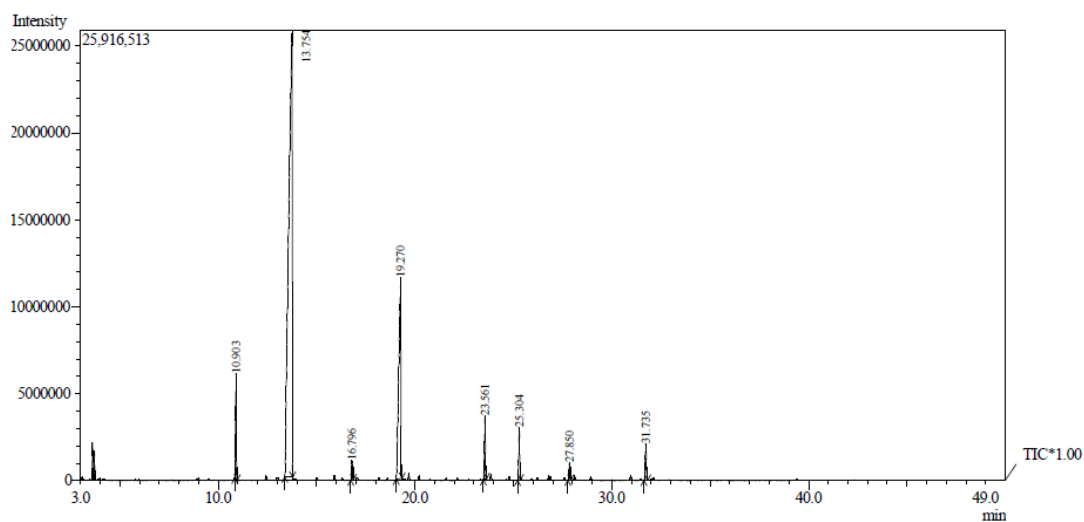
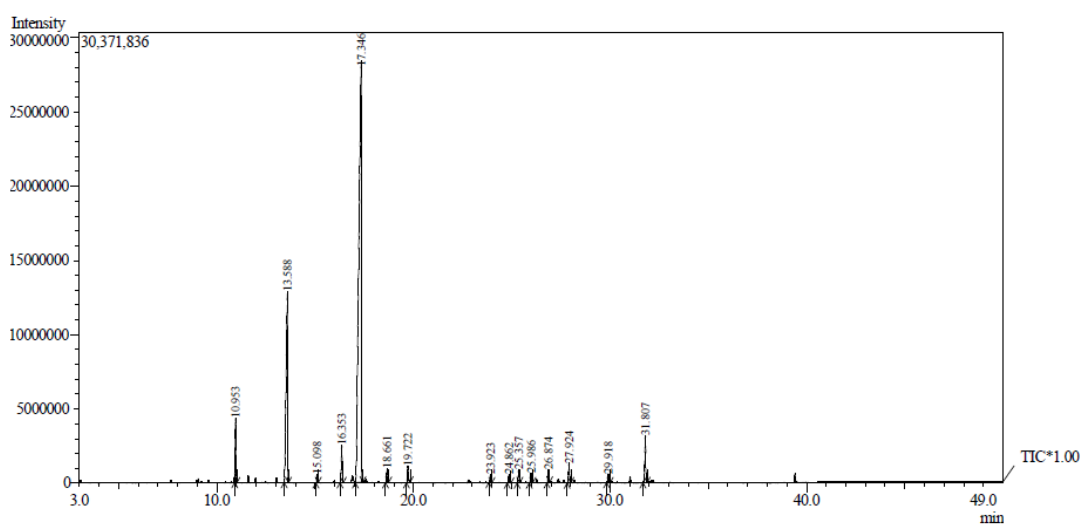
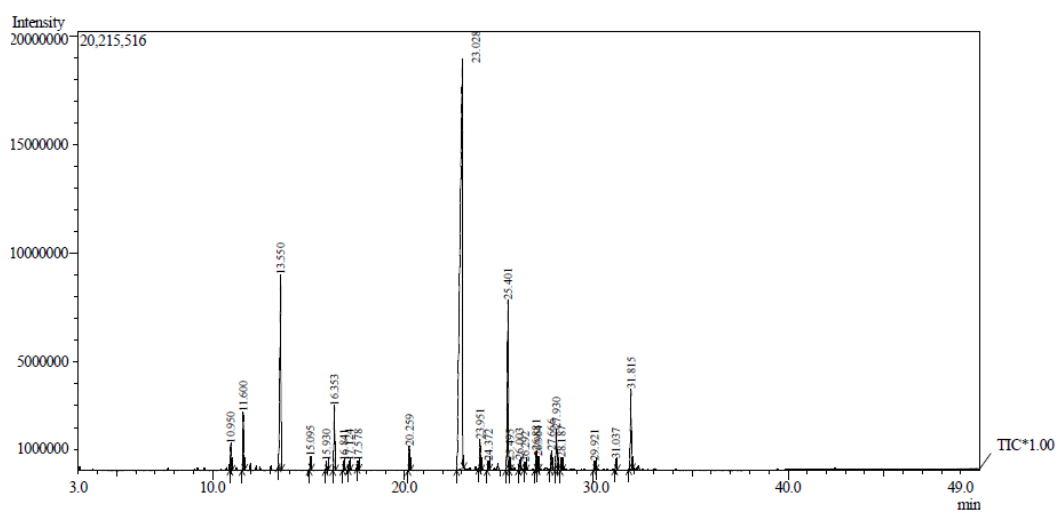
ZHELJAZKOV, V. D.; CANTRELL, C. L.; EVANS, W. B.; EBELHAR, M. W.; COKER, C. Yield and composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum sanctum* L. grown at four locations. **HORTSCIENCE**, v. 43, n. 3, p. 737–741. 2008.

ZHU, T; XU, Y; DONG, B; ZHANG, J; WEI, Z; XU, Y; YAO, Y. " β -elemene inhibits proliferation of human glioblastoma cells through the activation of glia maturation factor β and induces sensitization to cisplatin". **Oncology Reports**, v. 26, n. 2, p. 405–13. 2011.

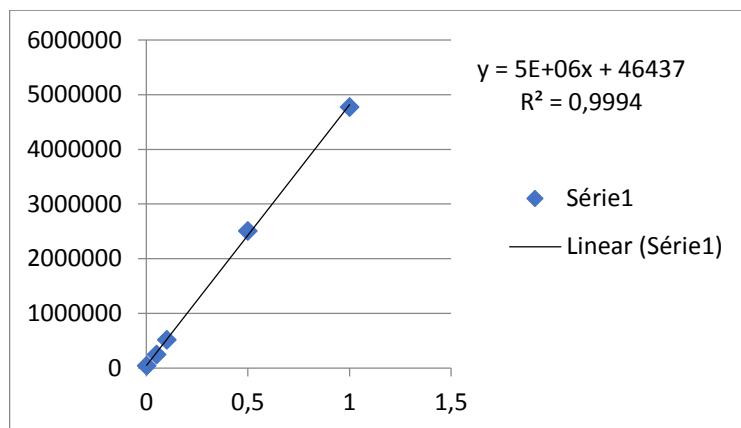
ANEXO A – CROMATOGRAMAS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Ocimum spp.**Ocimum x citriodorum**Ocimum selloi*

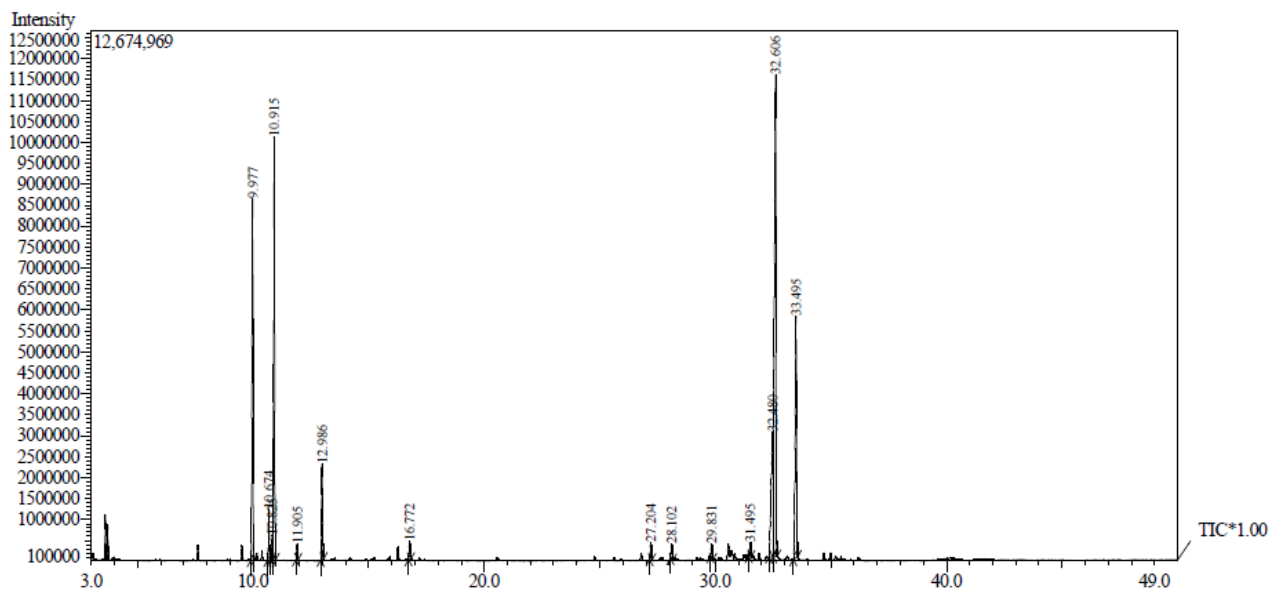
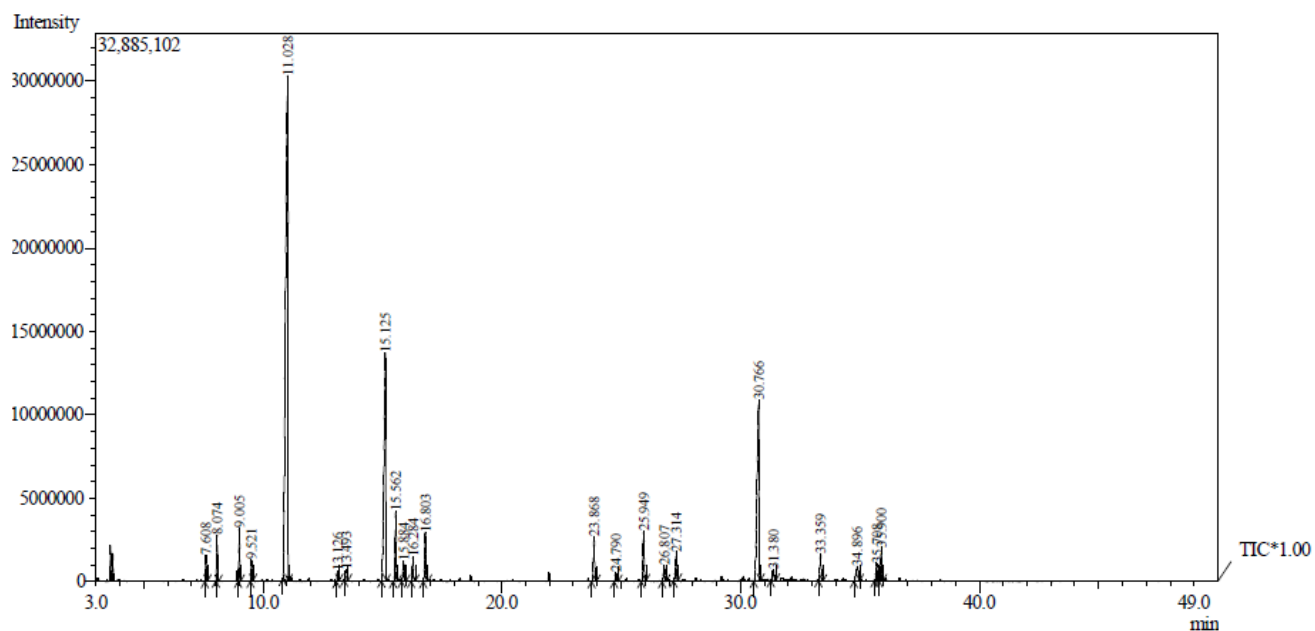
Ocimum gratissimum***Ocimum tenuiflorum******Ocimum campechianum***

Ocimum basilicum* var. *greco a palla***Ocimum basilicum* var. *canela******Ocimum basilicum* var. *licorice***

Ocimum basilicum* var. Maria Bonita**Ocimum basilicum* var. branco*****Ocimum basilicum* var. bola**

ANEXO B – CURVA DE CALIBRAÇÃO DA DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO URSÓLICO POR CLAE



ANEXO C – CROMATOGRAMA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Curcuma longa**Curcuma longa* var. vermelha*Curcuma longa* var. branca

ANEXO D: ARTIGOS SUBMETIDOS



Dear author:

Your submission entitled "Chemical characterization and antioxidant potential of essential oils from different *Ocimum* species (Basil)" has been received by Journal of Food Science and Technology

The submission id is: JFST-D-17-01796

Please refer to this number in any future correspondence.

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to Editorial Manager as an author. The URL is <http://jfst.edmgr.com/>.

Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned.

Thank you for submitting your work to our journal.

Kind regards,

Editorial Office,
Journal of Food Science and Technology



Dear author:

You are receiving this email because you have been listed as an author on a manuscript recently submitted to Parasitology Research.

The submission is entitled: "Larvicidal activity of essential oils from *Ocimum* species against *Aedes aegypti*"

The submission has the following manuscript number: PARE-D-17-01211

The corresponding author of the submission is: Dr. Selene Maia de Moraes

The full author list is: Celma Oliveira Barbosa, Doctorate student; Selene Maia de Moraes, Ph.D; Victor Carvalho Martins, Chemist; João F Camara Neto, Chemist; Rita de Cassia Alves Pereira, Researcher; Ana Livya Moreira Rodrigues, Doctorate student; José Oswaldo Beserra Carioca, Professor

If you are not aware of the submission, or if you should not be listed as contributing author, please contact the Editorial Office under "Contact Us".

Kind regards,

Editorial Office,
Parasitology Research