

Composição química, atividade bactericida e antioxidante dos óleos essenciais das folhas de *Ocimum basilicum* e *Ocimum gratissimum* (Lamiaceae)

Chemical composition, bactericidal, and antioxidant activity of the essential oils in the leaves of *Ocimum basilicum* and *Ocimum gratissimum* (Lamiaceae)

Composición química, bactericida y actividad antioxidante de los aceites esenciales en las hojas de *Ocimum basilicum* y *Ocimum gratissimum* (Lamiaceae)

Recebido: 12/06/2021 | Revisado: 19/06/2021 | Aceito: 07/07/2021 | Publicado: 17/07/2021

Sarah Carvalho Vasconcelos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4102-1831>

Faculdade de Iporá, Brasil

E-mail: sarahcarvalho98@hotmail.com

Lauana Alves Régis

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3305-0798>

Faculdade de Iporá, Brasil

E-mail: lauanaregis@gmail.com

Antonio Carlos Pereira de Menezes Filho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3443-4205>

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Brasil

E-mail: astronomoamadorgoias@gmail.com

Cristiane de Melo Cazal

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2105-5188>

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Barbacena, Brasil

E-mail: cristiane.cazal@ifsudestemg.edu.br

Paulo Sérgio Pereira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0155-8968>

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Brasil

E-mail: paulo.pereira@ifgoiano.edu.br

Marcela Christofoli

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3361-7747>

Faculdade de Iporá, Brasil

E-mail: marcela.christofoli@seduc.go.gov.br

Resumo

O gênero *Ocimum* da família Lamiaceae compreende um grupo de plantas bem conhecidas como *Ocimum gratissimum* L. (alfavaca) e *Ocimum basilicum* (manjeriço). Estudos revelam que essas plantas apresentam atividade antimicrobiana, inseticida, antioxidante, antifúngica, analgésica e imunoestimulante. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi analisar a composição química dos óleos essenciais de *O. gratissimum* e *O. basilicum* coletadas em diferentes horários e com diferentes tempos de extração, bem como, avaliar sua atividade antioxidante, o teor de fenólicos totais e atividade bactericida sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger, e a composição química realizada por cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM); a análise da atividade antioxidante foi realizada em microplacas de 96 poços com adição de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DDPH) em metanol; o teor de fenólicos totais foi realizado em microplacas de 96 poços utilizando Folin-Ciocalteu para determinação do teor de ácido gálico; e a atividade bactericida realizada por método de difusão de discos na placa de Petri e método de difusão em meio Muller-Hinton em placas de 96 poços. O maior rendimento do óleo essencial de *O. gratissimum* foi de 0,44%, quando coletado no período da manhã, enquanto o óleo essencial de *O. basilicum* teve rendimento de 0,38% quando coletado no período da tarde, ambos, com quatro horas de extração. Os compostos majoritários de *O. gratissimum* foram eugenol e eucaliptol, enquanto os compostos majoritários do óleo essencial de *O. basilicum* foram eugenol, β -linalool e muurool. A atividade antioxidante foi de 100% de sequestro do radical livre DPPH nas maiores concentrações de óleo essencial $15,6 \mu\text{g mL}^{-1}$, tanto para *O. gratissimum* quanto *O. basilicum*. O teor de compostos fenólicos totais dos óleos essenciais de *O. gratissimum* e *O. basilicum* foi = 17,90 e 16,44 mg EAG 100 g^{-1} , respectivamente. Os óleos essenciais de *O. gratissimum* e *O. basilicum* apresentaram 100% e 83% de atividade bactericida sobre *Staphylococcus aureus* e de 100% a 66% sobre *Escherichia coli*, respectivamente, destacando assim o potencial biotecnológico desses óleos essenciais.

Palavras-chave: Compostos fenólicos; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; Atividade antioxidante.

Abstract

The *Ocimum* genus of the Lamiaceae family comprises a group of well-known plants such as *Ocimum gratissimum* L. (lavender) and *Ocimum basilicum* (basil). Studies reveal that plants have antimicrobial, insecticidal, antioxidant, antifungal, analgesic and immunostimulant activity. Thus, the objective of this study was to analyze the chemical composition of the essential oils of *O. gratissimum* and *O. basilicum* collected at different times and with different extraction times, as well as to evaluate their antioxidant activity, total phenolic content and activity bactericide on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The essential oil was obtained by hydrodistillation in a Clevenger type apparatus, and the chemical composition was carried out in a gas chromatograph coupled to the mass spectrometer (GC-MS); the analysis of antioxidant activity was performed in 96-well microplates with the addition of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DDPH) in methanol; the total phenolic content was carried out in 96-well microplates using Folin-Ciocalteu to determine the gallic acid content; and the bactericidal activity performed by the method of diffusion of discs in the Petri dish and method of diffusion in Muller-Hinton broth in 96-well plates. The highest yield of the essential oil of *O. gratissimum* was 0.44% when collected in the morning, while the essential oil of *O. basilicum* had a yield of 0.38% when collected in the afternoon, both with four hours of extraction. The major compounds of *O. gratissimum* were eugenol and eucalyptol, while the major compounds of the essential oil of *O. basilicum* were eugenol, β -linalool and muurolol. The antioxidant activity was 100% free radical scavenging DPPH in the highest concentrations of essential oil $15.6 \mu\text{g mL}^{-1}$ for both, *O. gratissimum* and *O. basilicum*. The total phenolic compounds content of the essential oils of *O. gratissimum* and *O. basilicum* was 17.90 and 16.44 mg AGE 100 g^{-1} respectively. The essential oils of *O. gratissimum* and *O. basilicum* presented 100% and 83% of bactericidal activity against *Staphylococcus aureus*, and the 100% to 66% on *Escherichia coli*, respectively, thus highlighting the biotechnological potential of these essential oils.

Keywords: Phenolic compounds; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; Antioxidant activity.

Resumen

El género *Ocimum* de la familia Lamiaceae comprende un grupo de plantas conocidas como *Ocimum gratissimum* L. (lavanda) y *Ocimum basilicum* (albahaca). Los estudios revelan que las plantas tienen actividad antimicrobiana, insecticida, antioxidante, antifúngica, analgésica e inmunoestimulante. Así el objetivo de este estudio fue analizar la composición química de los aceites esenciales de *O. gratissimum* y *O. basilicum* recolectados en diferentes momentos y con diferentes tiempos de extracción, así como evaluar su actividad antioxidante, contenido de fenólicos totales y actividad antioxidante y bactericida sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. El aceite esencial se obtuvo por hidrodestilación en un aparato tipo Clevenger, y la composición química se realizó en cromatógrafo de gases acoplado al espectrómetro de masas (CG-EM); el análisis de la actividad antioxidante se realizó en microplacas de 96 pocillos con la adición de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DDPH) en metanol; el contenido de fenólicos totales se realizó en microplacas de 96 pocillos utilizando Folin-Ciocalteu para determinar el contenido de ácido gálico; y la actividad bactericida fue realizada por método de difusión en discos en la placa de Petri, y el método de difusión en caldo Muller-Hinton en placas de 96 pocillos. El mayor rendimiento del aceite esencial de *O. gratissimum* fue 0,44% cuando se recogió por la mañana, mientras, que el aceite esencial de *O. basilicum* tuvo rendimiento 0,38% cuando se recogió por la tarde, ambos con cuatro horas de extracción. Los compuestos principales de *O. gratissimum* fue eugenol y eucaliptol, mientras que los compuestos principales del aceite esencial de *O. basilicum* fue eugenol, β -linalol y muurolol. La actividad antioxidante fue 100% de eliminación de radicales libres DPPH en las concentraciones más altas del aceite esencial $15,6 \mu\text{g mL}^{-1}$, tanto para *O. gratissimum* y *O. basilicum*. El contenido total de compuestos fenólicos de los aceites esenciales de *O. gratissimum* y *O. basilicum* fue 17,90 y 16,44 mg EAG 100 g^{-1} , respectivamente. Los aceites esenciales de *O. gratissimum* y *O. basilicum* mostraron 100% y 83% de actividad bactericida sobre *Staphylococcus aureus*, y 100% al 66% sobre *Escherichia coli* respectivamente, destacando el potencial biotecnológico de los aceites esenciales.

Palabras clave: Compuestos fenólicos; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; Actividad antioxidante.

1. Introdução

Óleos essenciais (OE) são misturas de substâncias complexas e voláteis, lipofílicas, líquidas (oleosa) que contêm peso molecular baixo, e a maioria das vezes é constituída por moléculas de natureza terpênica, geralmente extraídos dos órgãos vegetais como flores, folhas, cascas, rizomas e frutos por arraste a vapor d'água, hidrodestilação ou expressão de pericarpo de frutos cítricos, porém, existem métodos que também são utilizados em indústrias como a enfleurage ou enfloração, extração por CO_2 supercrítico e por solventes orgânicos apolares (Morais, 2009).

Esses compostos naturais do metabolismo especial possuem grande aplicação na perfumaria, cosmética, alimentos e como coadjuvantes em medicamentos. São empregados principalmente como aromas, fragrâncias, fixadores de fragrâncias, em composições farmacêuticas e comercializadas na forma *in natura* ou beneficiados, fornecendo substâncias purificadas como o

limoneno, citral, citronelal, eugenol, mentol e safrol (Bizzo; Rovell; Rezende, 2009). Os OEs são geralmente conhecidos pela fragrância, além de suas propriedades fungicidas, antivirais, bactericidas e medicinais, sendo usados como antimicrobianos, analgésicos, sedativos e anti-inflamatórios (Araujo et al., 2018).

O OE de *Ocimum basilicum*, por exemplo, apresenta como principal atividade ação antimicrobiana para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas como *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dentre outras (Alves et al., 2010). Na medicina alternativa se utiliza as folhas e flores de *O. basilicum* para preparo de chás, onde possuem propriedades tônicas e digestivas, além de ajudar no tratamento de problemas respiratórios, dores reumáticas e em períodos de crises epiléticas (Colombare et al., 2011; Blank et al., 2009). O *O. basilicum* é uma espécie vegetal da família Lamiaceae, popularmente conhecida como manjeriço, apresentando grande interesse na área ornamental, como condimento, na aromaterapia, na medicina, bem como, nas indústrias farmacêutica e cosméticos, principalmente ao fato de apresentar não apenas características medicinais, mas também baixo custo de produção (Ferreira; Henrique; Nunes, 2017). Dentre suas características *O. basilicum* apresenta atividade antioxidante, antimicrobiana e antifúngica (Affini et al., 2017), além disso, pode ser utilizado como antisséptico, antiespasmódico, vermífugo, carminativo, diurético, expectorante e estimulante do córtex adrenal (Amaral, 2015).

Outra espécie pertencente à família Lamiaceae é o *Ocimum gratissimum*, conhecido popularmente como “alfavaca”, podendo ser cultivado em quase todos os tipos de solos no mundo, por apresentar diversos compostos especiais em inúmeras classes como (alcalóides, taninos, flavonoides, compostos fenólicos, óleo essencial (timol, cimen-8-ol, eugenol e *Trans*-cariofileno)), pode-se perceber sua grande importância nas indústrias para produção de fármacos, cosméticos e perfumes (Bezerra; Cruz, 2017; Chópito et al., 2012). Estudos retratam que extratos e/ou OE das folhas de *O. gratissimum* apresentam eficácia no controle de *Haemonchus contortus*, parasita helmíntico encontrado em pequenos ruminantes; além disso, outros compostos presentes possuem atividade inseticida, nematocida, fungistática e antimicrobiana. Já o eugenol presente com maior quantitativo na planta contém atividades analgésica, antimicrobiana, antifúngica e imunestimulante (Chópito et al., 2012; Abe et al., 2018).

As bactérias são organismos unicelulares de extrema importância nos processos evolutivos da vida no planeta. No entanto, existem espécies de bactérias que podem trazer danos à saúde (humana e animal), além daquelas envolvidas na deterioração de produtos alimentícios, deixando-os impróprios para o consumo (Abdou et al., 2007; Negi, 2012). Inúmeras vezes, o controle do crescimento bacteriano torna-se inviável ou até mesmo impossível, fato este, relacionado à capacidade que os microrganismos possuem em adquirir resistência as mais variadas formas de tratamento, tanto físico quanto químico, como antibióticos e antifúngicos (Silva et al., 2018).

Staphylococcus aureus possui ampla distribuição, devido ao fato de serem resistentes á dessecação e ao frio, podendo permanecer viável por longos períodos em partículas de poeira (Junior et al., 2018). Segundo os autores, trata-se de uma bactéria encontrada com relativa frequência no ambiente de circulação do ser humano, sendo o próprio homem seu principal reservatório, apresentando-se ainda em diversas partes do corpo, como fossas nasais, pele, garganta e intestino.

Escherichia coli é classificada como variantes de acordo com a caracterização dos antígenos somáticos e denominadas de acordo com as infecções intestinais (Junior et al., 2018). De acordo com os autores, alguns sorovares de *E. coli* não estão relacionados a certas patologias, pois as mesmas também estão presentes na flora natural do trato intestinal do homem, porém, devido aos seus fatores de virulência podem adaptar-se a novos ambientes e em alguns casos causarem doenças graves, como infecção urinária, doenças respiratórias e pneumonia.

Esses dentre outros patógenos são os responsáveis por inúmeros casos de intoxicação e/ou infecções alimentares, uma vez que são veiculadas pela água ou alimentos contaminados (Thanissery et al., 2014; Alali et al., 2013; Fda, 2010). Essas bactérias são amplamente distribuídas no meio ambiente, o que contribui para seu elevado impacto na saúde pública (Back,

2011). Por esse motivo, alguns estudos têm sido realizados no controle desses microorganismos. Os OEs de *Ferula assafoetida* foram avaliados quanto a sua atividade sobre inúmeros microorganismos, entre eles *E. coli* e *S. aureus* (Zomorodian et al., 2018). Benjemaa et al. (2018) também avaliaram a atividade bactericida promovida por *Thymus capitatus* sobre cepas de *E. coli*.

Associada ao controle microbiológico em alimentos, outra aplicação de destaque dos OEs é a sua adição aos óleos comestíveis e outros alimentos com potencial agente antioxidante natural para inibir a deterioração oxidativa, mantendo assim a qualidade e prolongando o prazo de validade do produto alimentar (Siddique et al., 2017). Os antioxidantes vegetais também são conhecidos como sinônimos de nutracêuticos, que são compostos químicos com propriedades redutoras, e tem sido muito utilizados na indústria de alimentos para proteção de um produto orgânico contra a oxidação, além do interesse devido sua capacidade de combater o estresse oxidativo em biomoléculas (Oh; Shahidi, 2018).

Os compostos fenólicos são produtos especiais do metabolismo vegetal fazendo parte de um amplo e complexo grupo de fitomoléculas que possuem em sua estrutura ao menos um anel aromático com uma ou mais hidroxilas (Araujo et al., 2018). Devido sua natureza fitoquímica, atuam como agentes redutores interrompendo a cadeia de reação da oxidação através da doação de elétrons ou de hidrogênio aos radicais livres, convertendo-os em produtos termodinamicamente estáveis, e/ou complexando com metais e componentes iniciadores da oxidação lipídica. Ao retardar a oxidação, eles também podem impedir certas doenças relacionadas ao estresse oxidativo, como lesões de pele, aterosclerose, disfunção, cânceres e distúrbios inflamatórios dentre outros (Oh; Shahidi, 2018).

Por esses motivos, o uso de compostos naturais como aditivos possuem potencial demanda em crescimento. As propriedades antioxidantes de diversas espécies de vegetais têm sido avaliadas buscando aplicação na indústria alimentícia e farmacêutica, com destaque para o tomilho (*Thymus vulgaris*), o cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata*), a canela (*Cinnamomum parthenoxylon*), erva-cidreira (*Melissa officinalis* L.), cedro (*Cedrus libani*), limão (*Citrus limon* (L.) Burm), tangerina (*Citrus reticulata* Blanco), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.), salvia (*Salvia officinalis* L.), manjerição (*Ocimum basilicum* L.), espinheira santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.) dentre outros (Mezza et al., 2018; Olszowy & Dawidowicz, 2016; Amorati et al., 2013; Amiri, 2012; Negri et al., 2009).

Nesse sentido, o presente estudo teve por objetivo avaliar os fatores como horário de coleta e tempo de extração na composição química dos óleos essenciais das folhas de *O. basilicum* e *O. gratissimum* além de avaliar a atividade antioxidante, o teor de compostos fenólicos totais, e a atividade bactericida sobre cepas de *S. aureus* e *E. coli*.

2. Metodologia

2.1 Coleta do material vegetal

As folhas de *O. basilicum* e *O. gratissimum* foram coletadas na cidade de Iporá, Goiás, Brasil, com as seguintes coordenadas geográficas (16°26'15''S; 51°07'21''W), em diferentes horários do dia (manhã: 07:00 e tarde: 14:00 horas) para avaliar a influência do horário de coleta no rendimento dos OEs. Após a coleta, acondicionou-se o material em sacos plásticos umedecidos com água, para manter a hidratação das folhas durante o transporte até o local de extração.

2.2 Obtenção do óleo essencial

Os OEs das folhas de *O. basilicum* e *O. gratissimum*, foram extraídos por hidrodestilação. O material vegetal fresco constituído de 100 g de folhas de *O. basilicum* e *O. gratissimum* foram trituradas utilizando 500 mL de água destilada, e submetidas ao processo de hidrodestilação em diferentes intervalos de tempo com o auxílio de um aparelho Clevenger. O hidrolato foi extraído com 30 mL de diclorometano, e em seguida, seco com sulfato de sódio anidro. O solvente foi removido

em temperatura ambiente, e o OE foi armazenado em refrigerador a -12 °C até as análises. Calculou-se o rendimento percentual de OE conforme equação:

$$\text{Rendimento \%} = \frac{\text{massa de óleo essencial}}{\text{massa de material vegetal}} * 100$$

2.3 Análise química do óleo essencial

Os constituintes químicos dos OEs foram analisados no laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) por cromatografia a gás acoplado ao espectrômetro de massas sequencial (CG-EM/EM). O cromatógrafo é equipado com coluna Restek Rtx-5ms (30m x 0,25 mm x 0,25 µm) fundida com sílica, auto-injetor (Combi PAL AOC-5000 Shimadzu), espectrômetro de massas sequencial (MS TQ8030; Shimadzu) e detector por ionização por impacto eletrônico (IE) (70 eV).

O Software utilizado foi GC-EM Real Time Analysis®. As condições de análise foram: temperatura do injetor: 230 °C, temperatura do detector: 300 °C, pressão de injeção: 57,4 KPa, razão de Splitless: 150, faixa de detecção do espectrômetro de massas: 43-550 m/z, start time (cut time do solvente): 3,0 min e fluxo de 3 mL min⁻¹. Condições da rampa foram: temperatura inicial de 60 °C mantida por 3,0 min, acrescida de 3 °C min⁻¹ até atingir 200 °C e posteriormente programada para um aumento de temperatura de 15 °C min⁻¹ até 280 °C, permanecendo nessa temperatura por mais 1,0 min.

A identificação dos componentes do OE baseou-se no índice de retenção linear - índice de Kovats (IK), calculado em relação aos tempos de retenção da série homóloga de *n*-alcanos (C-7 a C-40) e no padrão de fragmentação observando nos espectros de massas, por comparação destes com dados da literatura (ADAMS, 2007) e da espectroteca Nist 11.

Após a análise da composição química os OEs obtidos de matéria vegetal coletados em diferentes períodos do dia e em diferentes tempos de extração, foram reunidos e homogeneizados para realização dos ensaios subsequentes (teor de fenólicos totais, atividade antioxidante e bactericida).

2.4 Teor de compostos fenólicos totais

O ensaio do teor de fenólicos totais foi realizado de acordo com Tohidi et al. (2017), com adaptações para microplacas de 96 poços para que pudesse obter uma economia dos reagentes. Em cada poço da microplaca, foi adicionado 25 µL de solução metanólica do OE (25 mg mL⁻¹) e 175 µL de Folin-Ciocalteu, diluído em metanol na proporção 1:10 (v/v). O sistema foi mantido em repouso no escuro por 2 horas em BOD a 25 °C e em seguida, foi submetido à leitura em espectrofotômetro (VersaMax Tunable™ - Molecular Devices - Sunnyvale, CA, EUA) a 765 nm, tendo todo experimento realizado em triplicata.

Para que pudesse quantificar o teor de fenólicos totais, preparou-se seis diluições de ácido gálico (1; 2; 4; 6; 8 e 10 mg mL⁻¹), que foram submetidas a leituras em espectrofotômetro UV-Vis a 765 nm, em triplicata. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico por 100 gramas de amostra (mg EAG 100 g⁻¹).

2.5 Atividade antioxidante

O ensaio foi realizado pelo método de microdiluição em microplacas de 96 poços para obter a economia de reagentes, conforme Mezza et al. (2018) com adaptações. Para cada poço da microplaca, adicionou-se 100 µL de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) em metanol, além de serem misturados com 100 µL de OE nas concentrações 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,3125 e 0,15625 mg mL⁻¹ em metanol. O sistema foi mantido em repouso no escuro por 2 horas e em seguida, submetidos à leitura em espectrofotômetro de microplacas (VersaMax Tunable™ - Molecular Devices - Sunnyvale, CA, EUA) a 517 nm. Abaixo está representando a equação da capacidade percentual de eliminação do radical livre:

$$\text{Atividade antioxidante \%} = \frac{AC - AS}{AC} * 100$$

ONDE: AC é a absorvância da solução de controle, e AS é a absorvância da solução de amostra contendo OE antioxidante.

2.6 Atividade bactericida

Foi utilizado cepa bacteriana de *S. aureus* (ATCC 25923) e um isolado de *E. coli* (O157: H7) cedidas pelo laboratório de Microbiologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília, Campus Planaltina, Distrito Federal, Brasil. A cultura em estoque foi armazenada em meio de cultivo (5 g de peptona bacteriológica, 3 g de extrato de carne e 1 L de água destilada). Para reativação das bactérias, inoculou-se 100 µL em tubos contendo 10 mL de meio líquido, e incubadas a 37 °C por 24 horas. Padronizou-se a suspensão bacteriana, onde diluiu em meio líquido até adquirir a turvação da solução equalizado com solução padrão na escala 0,5 McFarland, correspondendo a $1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹.

No método de difusão em discos, as placas de *Petri* foram primeiramente esterilizadas e preparadas com meio Ágar nutriente (5 g de peptona bacteriológica, 3 g de extrato de carne, 25 g de ágar e 1 L de água destilada). Em seguida, após a solidificação do meio, 100 µL da suspensão bacteriana ($1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹) espalhou-se pelo meio sólido com a ajuda de uma alça de *Drigalski* na superfície de toda a placa. Logo, os discos de papel filtro de 6 mm foram mergulhados nas soluções de OE das folhas de *O. basilicum* e *O. gratissimum* em diferentes concentrações (0,6; 0,3; 0,15; 0,075; 0,037 e 0,018 mg mL⁻¹) em DMSO e com isso, colocados sobre o meio de cultura e mantidos em estufa bacteriológica a 37 °C por 24 horas. Para analisar a atividade bactericida determinou-se em termos em diâmetro (mm) do halo de inibição de crescimento.

Para determinar a concentração inibitória mínima (CIM), 150 µL das suspensões bacterianas de *S. aureus* e *E. coli* ($1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹) foram misturadas a 50 µL das soluções de OE das folhas de *O. basilicum* e *O. gratissimum* nas diferentes concentrações em Tween 80 a 1% (v/v), posteriormente manteve-se em estufa bacteriológica a 37 °C por 24 horas. Ao término, as amostras foram submetidas à leitura em espectrofotômetro de microplacas (VersaMax Tunable™ - Molecular Devices - Sunnyvale, CA, EUA) em absorvância no comprimento de ondas de 630 nm. Abaixo está representada a equação para taxa de inibição calculada:

$$\text{Inibição \%} = \frac{AC - AS}{AC} * 100$$

ONDE: AC é a absorvância da solução de controle e AS é a absorvância da solução de amostra contendo o OE.

2.7 Análise estatística

Os experimentos foram realizados em triplicata e o delineamento experimental utilizado, foi inteiramente casualizado. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANAVA), e as médias dos tratamentos foram avaliadas por meio do teste de Tukey com 5% de significância pelo programa SISVAR® (Ferreira, 2011).

3. Resultados

Os OEs de *O. gratissimum* e *O. basilicum* apresentaram características organolépticas: aromáticos, translúcidos, com menor densidade em água, com rendimento médio de 0,44% e 0,38%, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1. Rendimento expresso em percentual de óleo essencial para *Ocimum gratissimum* e *Ocimum basilicum*.

Tempo de Extração/Período	<i>O. gratissimum</i>		<i>O. basilicum</i>	
	Manhã	Tarde	Manhã	Tarde
2 horas	0,41 ± 0,1	0,35 ± 0,01	-	-
4 horas	0,44 ± 0,1	0,36 ± 0,04	0,05 ± 0,01	0,38 ± 0,03

(-) não determinado. Fonte: Autores (2021).

O perfil químico dos OEs, os índices de retenção linear em função do tempo de extração e horário de coleta do material foliar de *O. gratissimum* e *O. basilicum* estão apresentados na (Tabela 2). Os compostos majoritários de *O. gratissimum* foi eugenol e eucaliptol, sendo o maior rendimento de eugenol 89% com as folhas coletadas no período da tarde, e de eucaliptol 9% para as folhas coletadas no período da manhã com quatro horas de extração. Os compostos majoritários do OE de *O. basilicum* foi eugenol, β -linalool e muurolol, sendo o maior rendimento para eugenol 74% nas plantas coletadas no período da tarde e de β -linalool 16% e muurolol 6% nas plantas coletadas pela manhã, ambos com 4 horas de extração.

Tabela 2. Perfil químico por CG-EM dos óleos essenciais das folhas de *Ocimum gratissimum* e *Ocimum basilicum* variando tempo de extração *versus* período do dia coletadas.

Compostos	Óleo essencial foliar de <i>O. gratissimum</i>					
	$I_{Ret\ Lit}$	$I_{Ret\ Cal}$	Tempo 2h/M	Tempo 4h/M	Tempo 2h/T	Tempo 4h/T
Eucaliptol	1014	1031	7,89	9,60	6,64	5,14
β -Trans-ocimeno	1037	1036	0,37	0,85	0,27	0,27
β -linalool	1135	1101	0,09	0,24	0,27	0,27
α -terpineol	1188	1192	0,23	0,30	0,44	0,44
Eugenol	1359	1362	88,44	83,31	89,54	89,54
β -cariofileno	1423	1421	0,77	2,17	1,06	1,06
D-germacreno	1485	1482	0,51	0,84	0,63	0,63
β -selineno	1490	1488	1,43	1,97	1,94	1,94
α -guaieeno	1493	1497	0,27	0,72	0,71	0,71
Compostos	Óleo essencial foliar de <i>O. basilicum</i>					
	$I_{Ret\ Lit}$	$I_{Ret\ Cal}$	Tempo 4h/M	Tempo 4h/T		
Eucaliptol	1014	1031	0,81	0,74		
β -linalool	1135	1101	16,03	14,81		
α -terpineol	1188	1192	0,47	0,32		
Bornil acetato	1288	1287	0,54	0,45		
Eugenol	1359	1361	72,32	74,52		
α -bergamoteno	1434	1437	1,22	1,07		
D-germacreno	1485	1498	0,24	0,24		
γ -cadieno	1513	1516	0,88	0,62		
Cubenol	1619	1618	0,71	0,49		
Muurolol	1646	1644	6,76	6,55		

$I_{Ret\ Lit}$ = Índice de Retenção Literatura (ADAMS, 2007), $I_{Ret\ cal}$ = Índice de Retenção Calculado usando a equação de Van den Dool e Kratz; M = manhã, T = tarde. Fonte: Autores (2021).

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados para compostos fenólicos totais avaliados nos OEs foliares de *O. gratissimum* e *O. basilicum*. O teor de compostos fenólico totais dos OEs de *O. gratissimum* e *O. basilicum* foi = 17 e 16 mg de EAG 100 g⁻¹ respectivamente, não apresentando diferença significativa conforme teste de Tukey com ($p \leq 0,05$) de probabilidade.

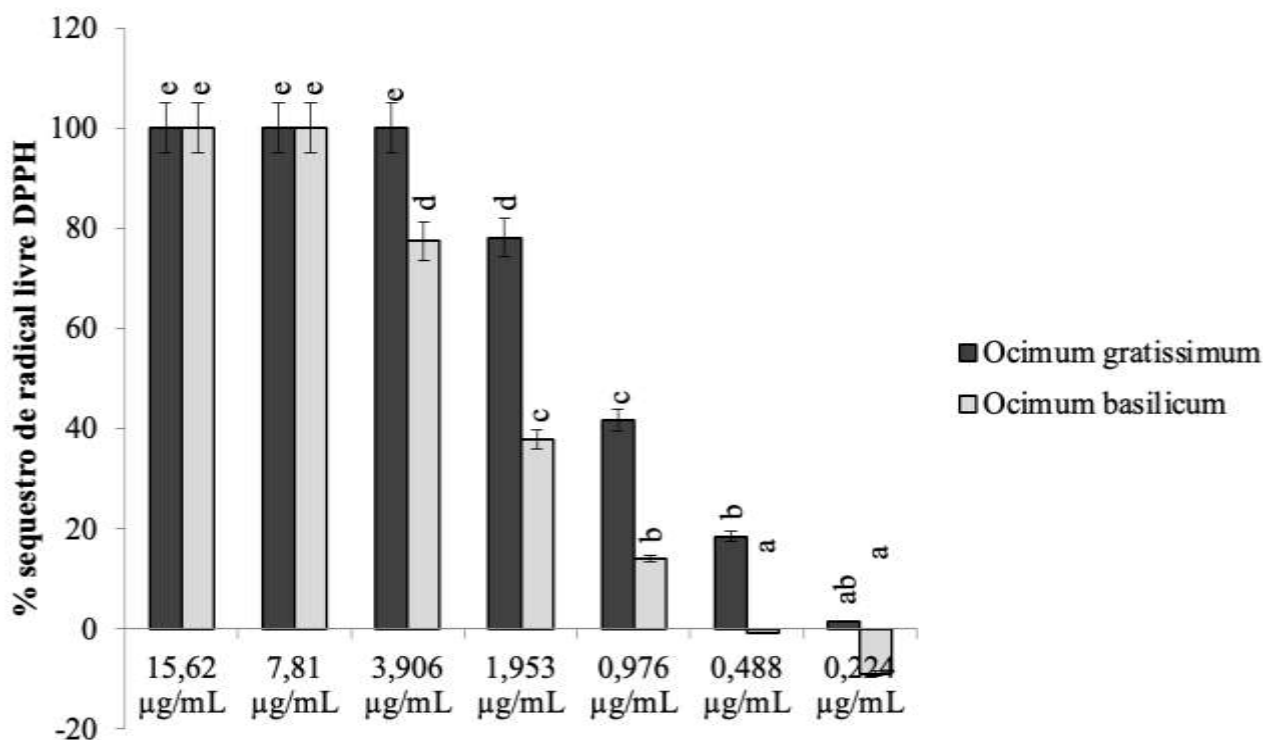
Tabela 3. Teor de compostos fenólicos totais dos óleos essenciais de *Ocimum gratissimum* e *Ocimum basilicum*.

Óleo essencial	*Teor de fenólicos totais em mg de EAG 100 g ⁻¹
<i>O. gratissimum</i>	17,90 ± 0,75a
<i>O. basilicum</i>	16,44 ± 0,69a

* EAG equivalente de ácido gálico por 100 g⁻¹, em base óleo essencial. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05). Fonte: Autores.

Os resultados para atividade antioxidante dos OEs de *O. gratissimum* e *O. basilicum* estão apresentados na (Figura 1). A atividade antioxidante do OE de *O. gratissimum* foi de 100% de sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) nas três maiores concentrações de (15,6; 7,8 e 3,9 µg mL⁻¹). Para o OE de *O. basilicum* a atividade antioxidante variou entre 100 a 77% nas mesmas concentrações.

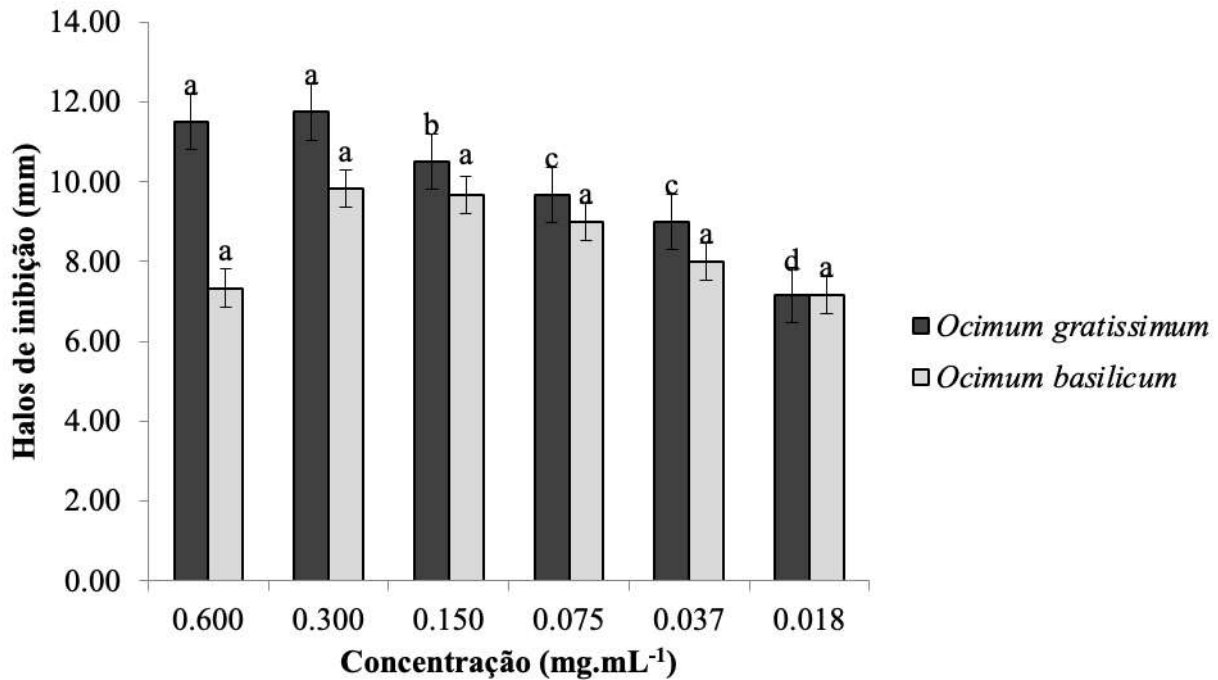
Figura 1. Atividade antioxidante pela redução do radical livre DPPH avaliado nos óleos essenciais foliares de *Ocimum gratissimum* e *Ocimum basilicum*.



Letras diferentes para concentração e óleo essencial da mesma espécie não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05). Fonte: Autores (2021).

Os resultados do teste de difusão em discos e os halos de inibição de crescimento bacteriano causados pelos OEs de *O. gratissimum* e *O. basilicum*, estão representados na (Figura 2 e 3). Os OEs de *O. gratissimum* e *O. basilicum* apresentaram halos de inibição sobre o isolado de *E. coli* = 11 e 7 mm, respectivamente (Figura 2).

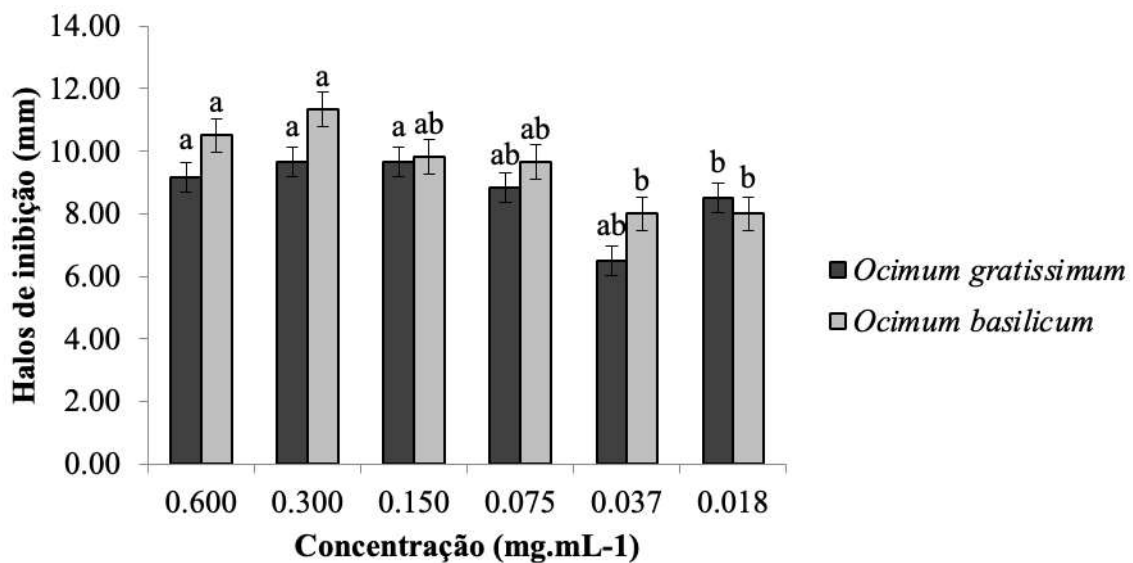
Figura 2. Comparação entre as medidas dos diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano (mm) do isolado de *Escherichia coli* obtidas utilizando os óleos essenciais de *Ocimum gratissimum* e *Ocimum basilicum*.



Letras diferentes para concentração e óleo essencial da mesma espécie não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).
Fonte: Autores (2021).

Os halos de inibição dos OEs de *O. gratissimum* e *O. basilicum* sobre a cepa de *S. aureus* = 9 e 10 mm, respectivamente (Figura 3).

Figura 3. Comparação entre as medidas dos diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano em (mm) da cepa de *Staphylococcus aureus* obtidas utilizando os óleos essenciais de *Ocimum gratissimum* e *Ocimum basilicum*.



Letras diferentes para concentração e óleo essencial da mesma espécie não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).
Fonte: Autores (2021).

Estão apresentados na Tabela 4, os resultados da avaliação da atividade bactericida pelo método de diluição em caldo dos OEs foliares de *O. gratissimum* e *O. basilicum* sobre a cepa de *S. aureus* e o isolado de *E. coli*. A atividade bactericida do OE de *O. gratissimum* sobre o isolado de *E. coli* variou entre 100 e 38% de inibição do crescimento microbiano para as maiores e menores concentrações (0,6 – 0,018 mg mL⁻¹), enquanto que sobre a cepa de *S. aureus* a atividade bactericida variou entre 100 e 15% de inibição do crescimento microbiano nas mesmas concentrações (Tabela 4).

A inibição do crescimento microbiano do isolado de *E. coli* pelo OE de *O. basilicum* variou entre 66 e 21% para as maiores e menores concentrações (0,6 – 0,018 mg mL⁻¹). Sobre a cepa de *S. aureus* apresentou inibição do crescimento micelial onde variou entre 83 a 2%, nas respectivas concentrações (Tabela 4).

Tabela 4. Avaliação da atividade bactericida dos óleos essenciais foliares de *Ocimum gratissimum* e *Ocimum basilicum* o isolado *Escherichia coli* e a cepa de *Staphylococcus aureus*.

Concentração (mg mL ⁻¹)	Inibição de <i>Escherichia coli</i> (%)	
	<i>O. gratissimum</i>	<i>O. basilicum</i>
0,600	100,00 a	66,23 b
0,300	64,98 b	57,08 d
0,150	60,50 c	47,73 f
0,075	53,92 e	37,99 g
0,037	47,08 f	33,17 h
0,018	38,06 g	21,74 i
CIM	0,14	0,31
Concentração (mg mL ⁻¹)	Inibição de <i>Staphylococcus aureus</i> (%)	
	<i>O. gratissimum</i>	<i>O. basilicum</i>
0,600	100,00a	83,67b
0,300	43,58c	33,61d
0,150	31,70d	23,91e
0,075	25,87e	14,41f
0,037	24,57e	7,32g
0,018	15,67f	2,53h
CIM	0,27	0,36

Médias seguidas por letras iguais nas linhas e colunas separadas por cepas não diferem significativamente pelo teste de Tukey a ($p \leq 0,05$); CIM: Concentração inibitória mínima mg mL⁻¹.
 Fonte: Autores.

4. Discussão

As análises por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas identificaram em ambos os OEs de *O. gratissimum* e *O. basilicum* nove e 10 compostos voláteis, respectivamente. Já no estudo realizado por Dris et al. (2017) para *O. basilicum*, os pesquisadores encontraram cerca de 38 compostos. O composto majoritário neste estudo para *O. gratissimum* foi o eugenol com 88% (2h/M), 83% (4h/M), 89% (2h/T) e 89% (4h/T), e para *O. basilicum* eugenol com 72% (4h/M), 74% (4h/T), β -linalool com 16% (4h/M), 14% (4h/T) e para muurolol 6% (4h/M) e 6% (4h/T).

O tempo influenciou no quantitativo de eugenol em *O. gratissimum* para 2 e 4 horas de extração nos períodos da manhã e tarde, o mesmo não foi observado para 2 e 4 horas no período da tarde que se manteve resultados iguais. Já para os compostos linalool, eugenol e muurolol tanto para 4 horas de extração no período da manhã quanto da tarde houve diferença do quantitativo detectado para *O. basilicum* (Tabela 1).

Comparando os resultados desse trabalho com outros estudos, verificaram-se similaridades na composição química dos OEs de *O. gratissimum* e *O. basilicum* identificados nesta pesquisa. O trabalho realizado por Chimnoi et al. (2018) encontraram para o OE de *O. gratissimum* os seguintes compostos majoritários, eugenol 55,6%, *Cis*-ocimeno 13,9%, γ -muuroloeno 11,6%, (*Z,E*)- α -farneseno 5,6%, α -*Trans*-bergamoteno 4,1% e β -cariofileno 2,7%. Já Luz et al. (2009) avaliando os

constituintes químicos dos OEs de dois genótipos de *O. basilicum* encontraram os seguintes compostos 1,8-cineol 2,3% e 4,5%, linalool 60,5% e 64,0%, geraniol 9,0% e 8,2%, calareno 1,7% e 2,8% e D-germacreno 2,9% e 3,8%. Entretanto, no presente estudo não foram detectados os compostos, bornil acetato, α -bergamoteno, γ -cadieno, cubenol e muurolol no OE de *O. gratissimum* e para *O. basilicum* β -Trans-ocimeno, β -cariofileno, β -selineno e α -guaieno.

O conteúdo de fenólicos totais não apresentou diferença significativa entre os OEs de *O. gratissimum* e *O. basilicum* onde apresentaram quantitativos fenólicos com alta expressividade (Tabela 2). Nota-se que a presença de compostos fenólicos pode variar entre os OEs de vários táxons vegetais, alguns podem apresentar taxa de detecção muito baixa como observado por Stiven et al. (2009) onde avaliaram OEs de *Eugenia pyriformis* onde o quantitativo ficou abaixo do nível de quantificação de 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$; ou não apresentarem como observado no estudo desenvolvido por Hossain et al. (2011) avaliando o OE de *Merremia borneensis*, e no OE de *Tetrastigma* no estudo desenvolvido por Hossain; Shah (2015). As quantidades de compostos fenólicos em ambos os OEs avaliados, podem contribuir para atividade antioxidante destes EOs.

Na atividade antioxidante, os OEs de *O. gratissimum* e *O. basilicum* apresentaram 100% de redução do radical DPPH nas maiores concentrações avaliadas (Figura 2). Para as menores concentrações 0,488 e 0,224 $\mu\text{g mL}^{-1}$ não houve atividade de inibição dos OEs nesta pesquisa. Os resultados deste estudo quanto à atividade antioxidante se mostraram promissores quando comparados com outros estudos realizados por Silvestre et al. (2010) onde obtiveram maior atividade antioxidante de 95,6% na concentração de 10000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e menor atividade antioxidante de 44,1% na concentração de 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para o OE de *Eugenia caryophyllata*. A redução do antioxidante DPPH se deve a composição química dos OEs ricos em compostos fenólicos como o eugenol que possui atividade antioxidante reconhecida (LEE et al., 2005).

Substâncias antioxidantes são aquelas capazes de impedir ou retardar a oxidação de um material oxidável (AMORATI et al., 2013). Neste caso, compostos fenólicos são moléculas capazes de agir como antioxidantes pela doação de hidrogênio do polifenol inibindo a produção do radical causador de processos oxidativos (SAHARI & BERENJI, 2015). Os estudos de Amorati et al. (2013) e Torres-Martinez et al. (2017), confirmam esses dados através da avaliação da atividade antioxidante dos OEs de *Satureja macrostema* e seus compostos majoritários isoladamente, verificando que os compostos fenólicos timol, linalool e carvacrol eram os responsáveis pela atividade antioxidante. No entanto, segundo Xu et al. (2017) a atividade antioxidante não se deve apenas pelos compostos majoritários, mas sim pelo conjunto de compostos em diferentes concentrações, agindo como sinergismo.

O ensaio bactericida apresentou inibição do crescimento microbiano de 100 e 66% para *E. coli* e de 100 e 83% para *S. aureus* na maior concentração (0,600 mg mL^{-1}) e na menor concentração (0,018 mg mL^{-1}) a inibição do crescimento microbiano foi de 38 a 21% para *E. coli* e de 15 a 2% para *S. aureus* sobre os OEs de *O. gratissimum* e *O. basilicum* respectivamente (Tabela 3). Pode-se inferir que a presença do eugenol em ambos os OEs de *O. gratissimum* e *O. basilicum* também apresentou potencial bactericida.

Comparando com o estudo realizado por Pombo et al. (2018) a bactéria Gram-negativa *E. coli* demonstrou resistência em todas as concentrações avaliadas, já para a bactéria Gram-positiva *S. aureus* apresentaram maior susceptibilidade de inibição aos OEs de cravo e orégano. Neste estudo, os resultados avaliando os OEs de *O. gratissimum* e *O. basilicum* apresentaram halos de inibição entre 10 e 12 mm, respectivamente, para *E. coli* e halos de inibição entre 9 e 11 mm respectivamente, para *S. aureus*.

Resultados ainda mais promissores foram observados neste trabalho utilizando método de diluição em caldo com CIM = 0,14 e 0,31 mg mL^{-1} sobre *E. coli* e 0,27 e 0,36 mg mL^{-1} sobre *S. aureus*, pelos OEs de *O. gratissimum* e *O. basilicum*, respectivamente. Em comparação com outros trabalhos, o OE de *O. basilicum* apresentou atividade bactericida sobre bactérias *E. coli* e *S. aureus*, com CIM = 0,25 a 1,00 mg g^{-1} (GAIO et al., 2015). O OE de *O. gratissimum* também apresentou resultado

promissor no controle microbiano de *S. aureus* CIM = 0,03 mg mL⁻¹, *Salmonella choleraesuis* e *E. coli* ambas com CIM = 1,0 mg mL⁻¹ e *Listeria innocua* CIM = 2,0 mg mL⁻¹, conforme reportado por Granados et al. (2018).

Os compostos eugenol e eucaliptol encontrado no OE de *O. gratissimum*, e eugenol, β-linalool e muurolol no OE de *O. basilicum* possuem atividade antimicrobiana comprovada. De acordo com Murari et al. (2008) e Xu et al. (2017) os OEs isolados ou em combinação podem potencializar a ação bactericida havendo sinergismo positivo, onde vários compostos se combinam promovendo maior inibição do agente patológico. Adicionalmente, Granados et al. (2018) também identificaram eugenol = 66,4% entre os compostos majoritários presentes no OE de *O. gratissimum*, assim como no presente estudo, destacando o potencial biotecnológico deste OE e seus compostos químicos.

Adicionalmente, o mecanismo de ação do OE de *Enteromorpha linza* L. sobre *E. coli*, está relacionado ao aumento da condutividade elétrica, alteração da morfologia bacteriana, redução da viabilidade celular, rompimento celular e vazamento dos íons de K⁺ após 6 horas de incubação (Patra et al., 2015). Por esse motivo, os OEs são bons candidatos no controle de microrganismos devido ao caráter lipofílico de seus compostos químicos, o que facilita sua permeabilidade na célula, lise e morte celular (Kotzekidou et al., 2008).

Nesse sentido, os resultados deste estudo sugerem que os OEs de *O. gratissimum* e *O. basilicum* apresentam atividade bactericida sobre *E. coli* e *S. aureus*, microrganismo causadores de intoxicações alimentares, podendo atuar como antioxidante e antimicrobiano natural. Ademais, mais estudos são necessários para determinar as concentrações ideais do OE, seus aspectos toxicológicos, tecnológicos e sensoriais a serem explorados pela indústria de alimentos.

5. Conclusão

O horário e tempo de extração influenciaram no rendimento de óleo essencial, bem como nas variações de proporção dos compostos químicos majoritários. Quanto à composição química, os óleos essenciais de *O. gratissimum* e *O. basilicum* apresentaram o eugenol entre os compostos majoritários. Adicionalmente, os resultados obtidos em nosso trabalho demonstraram quantidades de fenóis significativos para ambos os óleos essenciais avaliados, podendo apresentar importante ação antioxidante.

Os óleos essenciais de *O. gratissimum* e *O. basilicum* apresentaram boa atividade antioxidante no sequestro do radical livre DPPH, nas maiores concentrações avaliadas. Quanto a atividade bactericida frente as cepas de *E. coli* e *S. aureus*, o óleo essencial de *O. gratissimum* apresentou maior potencial inibidor que o óleo essencial de *O. basilicum*, nas concentrações avaliadas. Nesse sentido, pode-se concluir que os óleos essenciais de *O. gratissimum* e *O. basilicum* possuem ação antioxidante e bactericida, nas condições avaliadas, e seu potencial biotecnológico pode ser uma excelente alternativa a serem utilizados pela indústria alimentícia ou farmacêutica.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Faculdade de Iporá (FAI), à Universidade Federal de Goiás (UFG), ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano (IF Goiano), ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Barbacena e à Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR) pelo apoio; e aos órgãos de fomento em pesquisa CAPES, CNPq, FINEP.

Referências

- Abe, H., Carneiro, P., Chagas, E., Chaves, F., Couto, M., Cunha, F., Fujimoto, R., Maria, A., Martins, M., Ramos, F., Sousa, N. (2018). Efficacy of *Ocimum gratissimum* essential oil against the monogenean *Cichlidogyrus tilapiae* gill parasite of Nile tilapia. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.70, n.2, p.497-504.
- Abdou, A. M.; Higashiguchi, S.; Aboueleinin, A. M.; Kim, M.; Ibraim, H. R. (2007). Antimicrobial peptides derived from hen egg lysozyme with inhibitory effect against *Bacillus* species. *Food Control*. 18:173-8.

- Adams, R. P. (1995). Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation: Illinois USA, p. 456.
- Affini, R., Bernadi, A., Boeck, E., Lunardi, N., Mangetti, M., Neto, R., Oliveira, G. (2017). In situ evaluation of Basil essential oil cytotoxicity (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Research in Dentistry*.
- Alali, W. Q., Hofacre, C. L., Mathis, G. F., Faltys, L. (2013). Effect of essential oil compound on shedding and colonization of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg in broilers. *Poult Sci.*, 92(3): 836-41.
- Alves, J. A. B., Alves, P. B., Aquino, L. C. L., Blank, A. F., Carvalho, L. M., Santos, G. G., Santos, P. O., Trindade, R. C. (2010) Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de erva-cideira e manjeriço frente a bactérias de carnes bovinas. v. 21, n. 4, p. 529-535.
- Amaral, F. (2016). Técnicas de Aplicação de Óleos Essenciais – Terapias de Saúde e Beleza. Cengage Learning. p. 128.
- Amiri, H. (2012). Essential Oils Composition and Antioxidant Properties of Three *Thymus* Species. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Amorati, R., Foti, M. C., Valgimigli, L. (2013). Antioxidant Activity of Essential Oils. *J. Agric. Food Chem.*, 61, 10835–10847.
- Araujo, E. T. H., Costa, A. C., Ferreira, K. L. C., Junior, E. C., Pereira, E. M., Silva, K. M. R. (2018). Avaliação da ação antimicrobiana do látex de mangabeira em duas cepas de bactérias causadoras de pneumonia. *Revista de prevenção de infecção e saúde*
- Baldin, E. L. L., Pereira, J. M. (2010). Resistência de Génótipos de feijoeiro a *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Ciênc. agrotec.*, v. 34, n. 6, p. 1507-1513.
- Benjamaa, M., Neves, M. A., Falleh, H., Isoda, H., Ksouri, R., Nakajima, M. (2018). Nanoencapsulation of *Thymus capitatus* essential oil: Formulation process, physical stability characterization and antibacterial efficiency monitoring. *Industrial Crops & Products* 113, 414–421.
- Bezerra, S., Cruz, M. (2017). Obtenção do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L para desenvolvimento de cosmético de limpeza facial. *Revista Diálogos Acadêmicos, Fortaleza*, v. 6, n. 2.
- Bizzo, H. R., Rovell, A. M. C., Rezende, C. M. (2009). Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. *Química Nova*, v.32, n.3, p. 7.
- Blank, A. F., Luz, J. M. Q., Morais, T. P. S., Oliveira, G. S., Sodré, A. C. B. (2009). Teor, rendimento e composição química do óleo essencial de manjeriço sob doses de cama de frango. *Horticultura Brasileira*, v. 27, n. 3.
- Bouyahya, A., Et-Touys, A., Abrini, J., Talbaoui, A., Fellah, H., Bakri, Y., Dakka, N. (2017). *Lavandula stoechas* essential oil from Morocco as novel source of antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 12, 179-184.
- Câmera, C. A. G., Coitinho, R. L. B. C., Junior, M. G. C. G., Oliveira, J. V. (2006). Atividade inseticida de óleos vegetais sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae) em milho armazenado. *Revista Caatinga*, v.19, n.2, p. 176-182.
- Colombare, L. F., Echer, M. M., Favorito, P. A., Offemann, L.C., Hachmann, T. L., Schlindwein, M. D., Schineider, R. P. (2011). Características produtivas do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) em função do espaçamento entre plantas e entre linhas. *Revista Brasileira*, v.13, p.582-586.
- Correa, J. C. R., Salgado, H. R. N. (2011). Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. *Rev. Bras. Pl. Med.*, v.13, n.4, p.500-506.
- Chimnoi N., Reuk-Ngam N., Chuysinuan P., Khlaychan P., Khunnawutmanotham N., Chokchaichamnankit D., Thamniyom W., Klayraung S., Mahidol C., Techasakul S. (2018). Characterization of essential oil from *Ocimum gratissimum* leaves: Antibacterial and mode of action against selected gastroenteritis pathogens. *Microb Pathog*, 118: 290-300.
- Chópíte, M., León, N., González, D., Ulacio, D. (2012). Efecto del extracto etanólico de albahaca genovesa (*Ocimum basilicum* var. Genovese) sobre *Cercospora apii* Fressen y el tizón temprano del celery (*Apium graveolens*). *Revista Científica UDO Agrícola* 12 (2): 472-478.
- Dris D., Tine-Djebbar F., Bouabida H., Soltani N. (2017). Chemical composition and activity of an *Ocimum basilicum* essential oil on *Culex pipiens* larvae: Toxicological, biometrical and biochemical aspects. *South African Journal of Botany*, 113: 362-69.
- FDA – U. S. Food & Drug Administration. (2010). National Antimicrobial Resistance Monitoring System—Enteric bacteria (NARMS): 2007 Executive Report. US Department of Health and Human Services, FDA, Rockville, MD.
- Ferreira, D. F. (2011). Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência Agrotecnol.* 35 (6): 1039-1042.
- Ferreira, L., Henrique, V., Nunes, C. (2017). Análise Físico-Química e Antioxidante de Manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) Orgânico. *Revista Interdisciplinar do Pensamento Científico*, v. 3, n. 2.
- Gaio I., Saggiorato, A.G., Treichel, H., Cichoski, A. J., Astolfi V., Cardoso, R. I., Toniazzo G., Valduga E., Paroul N., Cansian, R.L. (2015). Antibacterial activity of basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.) in Italian-type sausage. *J. Verbr. Lebensm.* 10, 323–329.
- Granados A. P. F., Duarte M.C.T., Rodrigues R. (2018). Antimicrobial effect of the Essential Oil from *Ocimum gratissimum*. In: 1ST International Congress On Bioactive Compounds And 2nd International Workshop On Bioactive Compounds: Food Design And Health, 2018, Campinas. Anais eletrônicos... Campinas, Galoá, 2018.
- Gonçalves, P. A. S., Werner, H., Debarba, J. F. (2004). Avaliação de biofertilizantes, extratos vegetais e diferentes substâncias alternativas no manejo de tripes em cebola em sistema orgânico. *Horticultura Brasileira*, v.22, n.3.
- Hossain M. A., Shab M. D., Gnanaraj C., Iqbal M. (2011). In vitro total phenolics, flavonoids contents and antioxidant activity of essential oil, various organic extracts from the leaves of tropical medicinal plant *Tetrastigma* from Sabah. *Asian Pacific J of Trop Medc*, 717-21.

- Hossain M. A., Shah M. D. (2015). A study on the total phenols content and antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of endemic plant *Merremia borneensis*. *Arabian J of Chem*, 2015; 8(1): 66-71.
- Junior, J. I. R., Porcóprio, S. O., Santos, J. B., Vendramim, J. D. (2003). Bioatividade de diversos pós de origem vegetal em relação a *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). *Ciênc. agrotec.*, v.27, n.6, p.1231-1236.
- Lee, S. J., Umamo, K., Shibamoto, T., Lee, K. G. (2005). Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 91: 131-37.
- Lorenzi, H; Matos, F. J. A. (2002). *Plantas Medicinais no Brasil nativas e exóticas*. São Paulo: Nova Odessa. 253-254p.
- Luz, J. M. Q., Morais, T. P. S., Blank, A. F., Sodré, A. C. B., Oliveira, G. S. (2009). Teor, rendimento e Composição química do óleo essencial de manjeriço sob doses de cama de frango. *Rev Hortíc Bras*; 27(3): 349-53.
- Melo, E. A., Maciel, M. I. S., Araujo, C. R., Lima, V. L. A. G. (2008). Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante de polpas congeladas de frutas. *Alim. Nutr.*, Araraquara, v.19, n.1, p. 67-72.
- Mezza, G. N., Borgarello, A. V., Grosso, N. R., Fernandez, H., Pramparo, M. C., Gayol, M. F. (2018). Antioxidant activity of rosemary essential oil fractions obtained by molecular distillation and their effect on oxidative stability of sunflower oil. *Food Chemistry* 242: 9–15.
- Morais, L. A. S. (2009). Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. *Horticultura Brasileira*, v.27, n.2, p.14.
- Murari, A. L., Carvalho, F. H., Heinzmann, B. M., Michelot, T. M., Hörner, R., Mallmann, C. A. (2008). Composição e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus*. *Quim Nova*, 31(5): 1081-84.
- Negi, P. S. (2012). Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability, and safety issues for food application. *International Journal of Food Microbiology*. 156:7-17.
- Negi, M. L. S., Possamai, J. C., Nakashima, T. (2009). Atividade antioxidante das folhas de espinheira-santa - *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., secas em diferentes temperaturas. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 19(2B): 553-556.
- Oh, Y. W., Shahidi, F. (2018). Antioxidant activity of resveratrol ester derivatives in food and biological model systems. *Food Chemistry*.
- Olszowy, M., Dawidowicz, A. L. (2016). Essential oils as antioxidants: their evaluation by DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC, and b-carotene bleaching methods. *Monatshfte für Chemie - Chemical Monthly*, 147: 12, 2083–2091.
- Petretto, G. L., Fancello, F., Bakhy, K., Faiz, C. A. L., Sibawayh, Z., Chessa, M., Zara, S., Sanna, M. L., Maldini, M., Rourke, J. P., Pintore, G. (2018). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from *Cuminum cyminum* L. collected in different areas of Morocco. *Food Bioscience*, 22, 50-58.
- Pombo, J. C. P., Ribeiro, E. R., Pinto, R. L., Silva, B. J. M. Efeito antimicrobiano e sinérgico de óleos essenciais sobre bactérias contaminantes de alimentos. *Sagr Aliment Nutr*, 2018; 25(2): 108-17.
- Sahari, M. A., Berenji, S. A. (2015). Bio-antioxidants Activity: Their Mechanisms and Measurement Methods. *Applied Food Biotechnology*, 2(1): 3-8.
- Siddique, S., Parveen, Z., Bareen, F., Chaudhary, M. N., Mazhar, S., Nawaz, S. (2017). The essential oil of *Melaleuca armillaris* (Sol. ex Gaertn.) Sm. leaves from Pakistan: A potential source of eugenol methyl ether. *Industrial Crops & Products*, 109, 912–917.
- Silvestri, J. D. F., Czyewski, E., Lerin, L., Rotava, L., Cansian, R. L., Mossi, A., Toniazzo, G., Oliveira, D., Treichel, H. Perfil da Composição química e atividade antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thumb.). *Rev Ceres*, 2010; 57(5): 589-94.
- Stiven, A. C., Moreira, J. J. S., Silva, C. F. Óleos essenciais de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess): avaliação das atividades microbiana e antioxidante. *Eclética Quim*, 2009; 34(3): 7-13.
- Bergamo, L., Camargo, L. P., Canazart, D., Fernandes, C., Filho, B. A., Mussato, D., Silva, A. A. (2014). Atividade microbiológica de óleos essenciais obtidos por arraste a vapor. *Revista UNINGÁ Review*, v.20, n.3, p.33-39.
- Thanissery, R., Kathariou, S., Smith, D. P. (2014). Rosemary oil, clove oil, and a mix of thyme-orange essential oils inhibit *Salmonella* and *Campylobacter* *in vitro*. *O Journal of Applied Poultry Research*, 23:2, 221-227.
- Torres-Martínez, R., García-Rodríguez, Y. M., Ríos-Chávez, P., Saavedra-Molina, A., López-Meza, J. E., Ochoa-Zarzosa, A., Garciglia, R. S. (2017). Antioxidant Activity of the Essential Oil and its Major Terpenes of *Satureja macrostema* (Moc. and Sessé ex Benth.) Briq. *Pharmacognosy Magazine*, 13(4): S875–S880.
- Xu P., Wang K., Lu C., Dong L., Gao L., Yan M., Aibai S., Yang Y., Liu X. Protective effects of linalool against amyloid beta-induced cognitive deficits and damages in mice. *Life Sciences*, 2017; 174: 21-7.
- Zomorodian, K., Saharkhiz, J., Pakshir, K., Immeripour, Z., Sadatsharifi, A. (2018). The composition, antibiofilm and antimicrobial activities of essential oil of *Ferula assa-foetida* oleo-gum-resin. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 14, 300-304.