

**Potenciais biológicos do óleo essencial de *Ocimum basilicum* Linn coletada na região Pré-
Amazônica do Maranhão**

**Biological potentials of *Ocimum basilicum* Linn essential oil collected in the Pre-Amazon
region of Maranhão**

**Potencial biológico de *Ocimum basilicum* Linn aceite esencial recogido en la región Pre-
Amazona de Maranhão**

Recebido: 13/06/2020 | Revisado: 13/06/2020 | Aceito: 17/06/2020 | Publicado: 29/06/2020

Nilton Silva Costa Mafra

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5353-0596>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: nilton.mafra@hotmail.com

Gustavo Oliveira Everton

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0457-914X>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: gustavooliveiraeverton@gmail.com

Aline Medeiro Ferreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6227-4566>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: alliny_ferreira@hotmail.com

Everton Holanda Sales

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9497-9103>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: everhs16@gmail.com

Paulo Sérgio Santos Júnior

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9628-5594>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: psjr08@gmail.com

Victor Elias Mouchrek Filho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2855-7292>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: victor.mouchrek@ufma.br

Resumo

Ocimum basilicum Linn, pertencente à família Lamiaceae, é uma espécie de grande valor econômico, destacando-se pela sua utilização medicinal, sendo também utilizada para produção de óleos essenciais (OE's) e na indústria de alimentos. Este estudo teve por objetivo a avaliação do perfil químico, fenólicos totais, atividade antioxidante, toxicidade e atividade larvicida do OE extraído das folhas de *O. basilicum* L. O OE foi extraído por hidrodestilação a 100 °C por 3h. Os parâmetros físico-químicos foram determinados e a caracterização química obtida por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM). O teor de fenólicos totais foi quantificado conforme a metodologia de Folin-Ciocalteu. A quantificação de antioxidantes foi feita através dos métodos ABTS e DPPH. O ensaio de toxicidade foi realizado através do bioensaio de letalidade com *Artemia salina* Leach. Para atividade larvicida submeteu-se larvas de *Aedes aegypti* a diferentes concentrações de soluções do OE. O metil chavicol e o linalol foram quantificados como os componentes majoritários no OE obtido sendo a eles atribuídas propriedades biológicas observadas. O OE foi considerado atóxico pelo critério adotado. O teor de fenólicos totais totalizou 440,121 mg EAT g⁻¹. Os melhores resultados antioxidantes foram obtidos para o radical DPPH no CE₅₀. Observou-se ação do OE como larvicida onde foi determinada a CL₅₀ de 43,84mg L⁻¹, sendo considerada eficiente. Os resultados obtidos permitiram concluir que o OE estudado apresentou atividade larvicida eficiente contra as larvas de *Aedes aegypti*, sendo importante e incentivado seu uso e aplicação.

Palavras-chave: *Ocimum*; Toxicidade; *Aedes*.

Abstract

Ocimum basilicum Linn, belonging to the Family Lamiaceae, is a species of great economic value, standing out for its medicinal use, being also used for the production of essential oils (EOs) and in the food industry. This study aimed to evaluate the chemical profile, total phenolics, antioxidant activity, toxicity and larvicidal activity of EO extracted from the leaves of *O. basilicum* L. The EO was extracted by hydrodistillation at 100 °C for 3h. The physicochemical parameters were determined and the chemical characterization obtained by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS). The total phenolic content was quantified according to Folin-Ciocalteu methodology. Antioxidant quantification was performed using the ABTS and DPPH methods. The toxicity assay was performed using the lethality bioassay with *Artemia salina* Leach. For larvicidal activity, larvae of *Aedes aegypti* were submitted to different concentrations of EO solutions. Methyl chavicol and linalool were quantified as the major components in the EO obtained and biological properties were attributed

to them. The EO was considered nontoxic by the criterion adopted. Total phenolic content totaled 440,121 mg EAT g⁻¹. The best antioxidant results were obtained for the DPPH radical in IC₅₀. The action of the was observed as larvicidal where the LC₅₀ of 43.84 mg L⁻¹ was determined, being efficient. The results obtained allowed to conclude that the EO studied presented efficient larvicidal activity against the larvae of *Aedes aegypti*, being important and encouraged its use and application.

Keywords: *Ocimum*; Toxicity; *Aedes*.

Resumen

Ocimum basilicum Linn, perteneciente a la familia Lamiaceae, es una especie de gran valor económico, destacando por su uso medicinal, siendo también utilizado para la producción de aceites esenciales (AEs) y en la industria alimentaria. Este estudio tuvo como objetivo evaluar el perfil químico, los fenólicos totales, la actividad antioxidante, la toxicidad y la actividad larvicida de la OE extraída de las hojas de *O. basilicum* L. AE fue extraído por hidrodestilación a 100°C durante 3h. Se determinaron los parámetros fisicoquímicos y se obtuvo la caracterización química obtenida por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masa (GC-EM). El contenido fenólico total se cuantificó según la metodología Folin-Ciocalteu. La cuantificación antioxidante se realizó utilizando los métodos ABTS y DPPH. El ensayo de toxicidad se realizó utilizando el bioensayo de letalidad con *Artemia salina* Leach. Para la actividad larvicida, las larvas de *Aedes aegypti* se sometieron a diferentes concentraciones de soluciones de AE el chavicol de metilo y el linalool se cuantificaron como los principales componetos en la AE obtenidos y se les atribuyeron propiedades biológicas. El criterio adoptado consideró que la AE no era tóxica. El contenido fenólico total ascendió a 440.121 mg EAT g⁻¹. Los mejores resultados antioxidantes se obtuvieron para el radical DPPH en CE₅₀. La acción de AE se observó como larvicida en la que se determinó la CL₅₀ de 43,84 mg L⁻¹, considerándose eficiente. Los resultados obtenidos permitieron concluir que la AE estudiada presentaba una actividad larvicida eficiente contra las larvas de *Aedes aegypti*, siendo importante y alentado su uso y aplicación.

Palabras clave: *Ocimum*; Toxicidad; *Aedes*.

1. Introdução

A dengue é uma das mais importantes arboviroses que afeta o ser humano e constitui sério problema de saúde pública no mundo. Nos países tropicais esta doença ocorre onde as condições do meio ambiente favorecem o desenvolvimento e a proliferação do seu vetor *Aedes aegypti*. 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; Veloso et al., 2015).

Há 12 anos atrás a Organização Mundial de Saúde já estimava que cerca de 1,3 milhões de pessoas estariam em risco de serem infectadas pelo vírus da Dengue (Who, 2012). Hoje, estima-se que dois quintos da população mundial, ou seja, mais de 2,5 bilhões de pessoas estão em risco de dengue e a Organização Mundial de Saúde (OMS) calcula que pode haver 50 milhões de infecções de dengue cada ano no mundo (Zara et al., 2016).

O controle de doenças infecciosas/parasitárias é um desafio contínuo para a saúde global, que, por sua vez, exige novos métodos de ação e o desenvolvimento de agentes inovadores para serem utilizados em sua prevenção e/ou tratamento. Nesse contexto, o controle de vetores e hospedeiros intermediários de agentes etiológicos é um método eficiente na prevenção de doenças humanas e veterinárias (Echeverría&Albuquerque, 2019).

Em estágios posteriores, é necessário ter compostos bioativos que atuem eficientemente nos agentes que produzem a doença. No entanto, vários agentes sintéticos têm fortes efeitos residuais em humanos e outros animais e causam toxicidade ambiental, afetando a fauna, a flora e desequilibrando o ecossistema local. Portanto, é imprescindível o desenvolvimento de métodos de controle alternativos com um modo de ação diferente daquele dos inseticidas e larvicidas sintéticos (Espizona et al., 2018).

O uso de plantas com propriedades inseticidas e larvicidas é uma alternativa ao controle químico. Eles podem ser aplicados na forma de pó, extratos e óleos (Takagi, 2020), proporcionando maior segurança, seletividade, biodegradabilidade, viabilidade econômica e baixo impacto ambiental (Porto et al., 2017).

Nos últimos anos, o uso de óleos essenciais (OEs) de plantas aromáticas como inseticidas de baixo risco, antifúngicos, anti infectantes, reguladores de crescimento de antivírus, dissuasores de oviposição e repelentes aumentou devido à sua popularidade entre os orgânicos agricultores e consumidores ambientalmente conscientes (Carvajal et al., 2017; Espinoza et al., 2018)

A produção de OE é realizada principalmente através de procedimentos de hidrodestilação. O método de preparação mais utilizado é baseado no aparelho de destilação a vapor Clevenger, que foi adaptado e expandido para produção em escala industrial. Os OE's das plantas podem atuar sobre os insetos de diferentes maneiras, afetando sua sobrevivência ou causando mudanças de comportamento (Gomes et al., 2016).

Os OE's encontrados em plantas aromáticas são, em sua grande maioria, compostos por derivados de terpenos resultantes do metabolismo secundário (Dias et al., 2017). Em vista disso, as análises físico-químicas são de extrema importância, uma vez que aumentam o conhecimento acerca das substâncias presentes nesta espécie, já que são escassos os estudos científicos referentes a este aspecto (Machado & Junior, 2011). No caso do OE, regularmente é recomendado o uso do sistema de cromatografia gasosa acoplada ao espectro de massas (CG/EM), afim de identificar substâncias oriundas do metabolismo secundário (Mirzahosseini et al., 2017; Howyzela et al., 2018).

Alguns OE's da espécie *ocimum ssp.* têm sido afirmados por possuir atividade larvicida contra larvas de mosquitos (Lima, 2018). O manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), pertencente à família Lamiaceae, é uma planta anual originária do Sudoeste Asiático e da África Central, utilizada como planta medicinal, aromática, apresentando substâncias de interesse para as indústrias alimentícia, farmacêutica, cosmética e também para a medicina tradicional, principalmente devido ao teor e composição química do seu óleo essencial (Al-Maskri, et al., 2011; Rosado et al., 2013; Bione et al., 2014).

Aos constituintes majoritários do OE de *O. basilicum* são atribuídas as suas propriedades antimicrobianas, antioxidante, toxicidade e larvicida como sendo predominantemente associada ao metil chavicol e ao linalol, sendo assim, amplamente utilizada no combate de infecções bacterianas até mesmo como um repelente de insetos (Varga et al., 2017). Em vista da importância do OE e dos estudos sobre suas atividades, este trabalho teve por objetivo determinar o perfil químico, fenólicos totais, toxicidade, a atividade antioxidante e a atividade larvicida do OE *O. basilicum* contra larvas de *Aedes aegypti*, os resultados do presente estudo fornecem informações úteis para o desenvolvimento de um agente eficaz e eco-seguro de controle.

2. Metodologia

2.1. Material vegetal

As folhas frescas de *O. basilicum*, foram coletadas em Palmeirândia (MA), identificadas pelo Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão, e transportadas para o Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOVEPAV/UFMA) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), após a colheita, foram selecionadas as folhas com coloração verde mais intenso, assim como as que não apresentaram nenhum dano mecânico e/ou com pragas, onde foi submetido a estufa de secagem de ar conectiva FANEM520 a 45 C por 24 horas, e posteriormente, trituradas individualmente em moinho de facas elétrico (Fritsch Pulverisette 14, Oberstein, Alemanha), e armazenadas para extração do seu respectivo OE.

2.2. Extração dos OE's

Para extração do OE de *O. basilicum* utilizou-se a técnica de hidrodestilação, com um extrator de Clevenger modificado de vidro, acoplado a um balão de fundo redondo de 6000 mL acondicionado em manta elétrica como fonte geradora de calor. A cada rotina de extração utilizou-se 100g de folhas, acrescentando-se água destilada na proporção de 1:10. A hidrodestilação foi conduzida a 100°C por 3h, recolhendo-se o OE extraído. Após a extração o OE foi seco com sulfato anidro de sódio (Na₂SO₄) e armazenado em ampola de vidro âmbar sob refrigeração de 4°C para evitar possíveis perdas de constituintes voláteis.

2.3. Parâmetros físico-químicos do OE

Foram determinados os parâmetros físico-químicos dos OE's extraídos das folhas secas e analisados quanto a densidade, índice de refração, solubilidade em álcool 70% (v/v), cor e aparência conforme descritas pela Farmacopeia Brasileira (2019). O rendimento do OE foi expresso em porcentagem na relação massa/volume pela medida de densidade. Para realização dessa medida, foi utilizado um picnômetro de 1,0 mL, previamente seco, tarado e aferido. Após essa etapa, observou-se o volume (mL) de OE obtido após a extração do óleo por massa (g) de material vegetal descrita pela quarta edição da Farmacopeia Brasileira (2019).

2.4. Caracterização química do OE

Para a identificação dos constituintes presentes OE de *O. basilicum*, utilizou-se a técnica de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM).

Foi dissolvido 1,0 mg da amostra em 1000 µL de diclorometano (pureza 99,9%). As condições de análise foram as seguintes: Método: Adams. M; Volume injetado: 0,3 µL; Coluna : Capilar HP-5MS (5% difenil, 95% dimetil polisiloxano) (Equivalente DB-5MS ou CP-Sil 8CB LB/MS), nas dimensões (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm); Gás de arraste : He (99,9995); 1,0 mL.min⁻¹; Injetor: 280 °C, modo Split (1:10); Forno : 40 °C (5,0 min.) até 240 °C numa taxa de 4 °C min⁻¹, de 240 °C até 300 °C (7,5 min) numa taxa de 8 °C.min⁻¹); t_T = 60,0 min; Detector : EM; EI (70 eV); Modo varredura (0,5 seg scan⁻¹); Faixa de massas: 40 – 500 daltons (uma); Linha transferência: 280 °C.; Filamento: desligado 0,0 a 4,0 min; Espectrômetro de massas tipo quadrupolo linear. Para a identificação dos compostos na amostra utilizou-se o programa AMDIS (*Automated Mass spectral Deconvolution Mass & Identification System*).

2.5. Toxicidade

Para a avaliação da letalidade da *Artemia salina* Leach, foi realizado o teste de acordo com a metodologia descrita por Meyer et al. (1982). Onde foi preparada uma solução salina de cada OE na concentração de 10.000 mg L⁻¹ e 0,02 mg de Tween 80 (tempo ativo). Alíquotas de 5, 50 e 500 µL foram transferidas para tubos de ensaio e suplementadas com solução salina previamente preparada até 5 mL, obtendo no final concentrações de 10, 100 e 1000 mg L⁻¹, respectivamente. Todos os testes foram realizados em triplicatas, onde dez larvas na fase de nauplium foram transferidas para cada um dos tubos de ensaio. Para controle branco, foram utilizados 5 mL da solução salina no controle positivo K₂Cr₂O₇ e no controle negativo 5 mL de uma solução de 4 mg L⁻¹ de Tween 80. Após 24 horas de exposição, foi realizada a contagem das larvas vivas, considerando morto aqueles que não se moveram durante a observação ou com a leve agitação do frasco.

Adotou-se o critério estabelecido por Dolabela (1997) para classificação da toxicidade de OE, sendo considerado altamente tóxico quando CL₅₀ ≤ 80 mg L⁻¹, moderadamente tóxico a 80 mg L⁻¹ ≤ LC₅₀ ≥ 250 mg L⁻¹ e levemente tóxico ou não tóxico quando CL₅₀ ≥ 250 mg L⁻¹. A análise estatística dos dados para o teste de toxicidade foi realizada de acordo o método de Probit (Finney, 1952).

2.6. *Determinação de fenólicos totais*

A metodologia para análise de compostos fenólicos totais do OE foi realizada com adaptação do método de Folin-Ciocalteu (Singleton&Rossi,1965; Waterhouse, 2002). Utilizou-se 5 mg do OE diluído em 1 mL de etanol. A esta solução foi adicionado 3 mL de água destilada, 500 µL do reagente Folin-Ciocalteu e 2,0 mL de carbonato de sódio a 20%. A solução formada foi levada ao banho-maria a 50 °C por 5 min, retirada e deixada para esfriar; e, então, foi realizada a leitura em espectrofotômetro manual, em comprimento de 760 nm. A curva padrão foi expressa em mg L⁻¹ de ácido tânico.

2.7. *Determinação da atividade antioxidante – Método ABTS*

A determinação da atividade antioxidante foi realizada pelo método ABTS [2,2-azinobis-(3- etilbenzotiazolin-6-sulfônico)], de acordo com a metodologia sugerida por Re et al. (1999). O radical ABTS●+ foi preparado pela reação de 5,0 mL de uma solução de 3840 µg mL⁻¹ de ABTS com 88 µL da solução de persulfato de potássio de 37.840 µg mL⁻¹, a mistura foi deixada em um ambiente escuro por 16 horas. Após formação radical, a mistura foi diluída em etanol até a absorção de 0,7±0,01 a 734 nm.

A partir das concentrações dos OE's (5 a 150 µg mL⁻¹) foi preparada a mistura de reação com o cátion radical ABTS. Em um ambiente escuro, uma alíquota de 30 µL de cada concentração do OE foi transferida em tubos de ensaio contendo 3,0 mL do cátion radical ABTS e homogeneizada em um agitador de tubos e após 6 minutos a absorção da mistura de reação foi realizada em espectrofotômetro de 734 nm.

A captura do radical livre foi expressa como um percentual de inibição (%I) da ação radical ABTS de acordo com a Equação 1(Babili et al., 2011).

$$\%I_{ABTS} = \frac{ABS_{ABTS} - ABS_{AM}}{ABS_{ABTS}} * 100 \quad (01)$$

Onde: Abs_{ABTS} representa a absorção da solução radical ABTS e Abs_{AM} representa a absorção da amostra.

A partir dos dados obtidos, foram calculadas as concentrações eficientes IC₅₀e IC₉₀,definidas como a concentração da amostra necessária para sequestrar 50% e 90% dos

radicais da ABTS. O EO é considerado ativo quando apresenta $IC_{50} < 500 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Campos et al., 2003).

2.8. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH

A atividade antioxidante total foi analisada através da capacidade dos antioxidantes presentes na amostra em sequestrar o radical estável DPPH•(2,2-difenil-1-picril-hidrazina), segundo Brand-Williams (1995). A quantificação da Atividade Antioxidante foi expressa como média \pm desvio-padrão em $\mu\text{MTrolox.g}^{-1}$ extrato (capacidade antioxidante equivalente ao Trolox).

Para determinar a capacidade antioxidante pelo método DPPH do OE utilizou-se a metodologia adaptada de Brand-Williams et al. (1995). O radical foi preparado pela dissolução de 3,94 mg de DPPH•(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) em 100 mL de etanol. A partir das concentrações dos OE's (5 a $150 \mu\text{g mL}^{-1}$) foi preparada a mistura de reação com o cátion radical ABTS. $50 \mu\text{L}$ de EO foi misturado a $950 \mu\text{L}$ de etanol, 2 mL de solução radical DPPH, e completado até 4 mL com etanol, e novamente homogeneizado. A mistura foi deixada para reagir no escuro por 30 minutos e a absorção da mistura de reação foi realizada em espectrofotômetro de 517 nm .

A captura do radical livre foi expressa como um percentual de inibição (%I) da ação radical DPPH de acordo com a Equação 2 adaptada de Babili et al. (2011).

$$\%IDPPH = \frac{ABS_{DPPH} - ABS_{AM}}{ABS_{DPPH}} * 100 \quad (02)$$

Onde: ABS_{DPPH} representa a absorção da solução radical DPPH e ABS_{AM} representa a absorção da amostra.

A partir dos dados obtidos, foram calculadas as concentrações eficientes CE_{50} e CE_{90} , definidas como a concentração da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais ABTS. O OE é considerado ativo quando apresenta $CE_{50\%} < 500 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Campos et al., 2003).

2.9. Atividade Larvicida

Os ovos foram coletados na Universidade Federal do Maranhão, Campus Bacanga em São Luís/MA, através de armadilhas denominadas ovitrampas. Estas consistem de baldes

marrons (500 mL), de polietileno, com 1 mL de levedura de cerveja e 300 mL de água corrente e inserida duas palhetas de Eucatex para a ovoposição do mosquito. As armadilhas foram inspecionadas semanalmente para a substituição das palhetas e recolhimento dos ovos e encaminhados para o Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (PCQA-UFMA) do Pavilhão Tecnológico da Universidade Federal do Maranhão – UFMA.

Inicialmente, os ovos do *Aedes aegypti* foram colocados para eclodir a temperatura ambiente em um aquário circular de vidro contendo água mineral como apresentado na Figura 2. A identificação da espécie seguiu a metodologia proposta por Forattini (1962). As larvas obtidas foram alimentadas com ração de gato conforme a metodologia de Silva et al. (1995) até atingirem o terceiro e quarto estágio, idade em que foram feitos os experimentos.

Os testes para atividade larvicida foram realizados de acordo com a metodologia adaptada proposta por Silva (2006). Inicialmente, uma solução mãe L^{-1} de 100 mg de cada um dos EOs foi preparada e diluída em 2% de solução DMSO. Foram preparadas cinco diluições nas concentrações 10, 20, 50, 70 e 90 $mg L^{-1}$. 10 larvas foram adicionadas em cada concentração na proporção de 1 mL/larva.

Todos os testes foram realizados em triplicados e como controle negativo uma solução formada por DMSO 2%, e como controle positivo, uma solução de temephos (O,O',O'-tetramethyl O,O'-tiodi-p-phenylene bis (fosfotiotilato) a 100 ppm, equivalente à concentração utilizada pela Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) para o controle de larvicida do vetor, além de Novaluron (\pm -1-[3-cloro-4-(1-1-3-trifluro-2-trifluorometoxiethoxy) fenil-3-(2,6-difluorobenzoyl) ureia a 0,02 $mg L^{-1}$, dose adotada pela ureia adotada pelo Ministério da Saúde, que indica por quem na faixa de 0,01 a 0,05 $mg L^{-1}$. Após 24 horas, a contagem de vivos e mortos foi realizada, e as larvas que não reagiram ao toque foram consideradas mortas após 24 horas do início do experimento. A análise estatística dos dados para o teste de toxicidade foi realizada de acordo o método de Probit (Finney, 1952).

3. Resultados e Discussão

3.1. Parâmetros físico-químicos

Os parâmetros físico-químicos do OE são importantes não apenas para determinação da qualidade, como também para o controle da sua pureza. Os resultados são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Parâmetros físico-químicos do OE das folhas de *O. basilicum*.

OE	Densidade	Índice de refração	Solubilidade EtOH 70%	Rendimento
<i>O. basilicum</i>	0.9396(g mL ⁻¹)	1.4980(nD 25°)	1:2(v/v)	0.38 %

Fonte: Autores.

De acordo com os resultados expressos na Tabela 1, foi obtido um rendimento de 0,38% para o OE extraído das folhas de *O. basilicum*. Resultados apresentados por Al-Maskria et al. (2011), mostram uma variação significativa na produção de *O. basilicum* para OE de acordo com o estudo o rendimento deste OE variou de 0,1% a 0,3% de acordo com a estação. Beatović et al. (2015) relataram rendimentos de *O. basilicum* entre 0,65% e 1,9%, justificando a grande variação nos níveis em detrimento das diferenças agroclimáticas e das técnicas de cultivo. Pravuschi et al. (2010) observaram que houve um aumento no rendimento desse OE a partir da terceira colheita de material vegetal, uma vez que o corte de inflorescências pode estimular e aumentar a concentração de OE nas folhas remanescentes da planta.

O OE apresentou baixo rendimento o que pode ser atribuído às condições climáticas, altas temperaturas durante o período em que foi coletada, característico da região a qual propicia a evaporação precoce de compostos voláteis da planta. Segundo Barbosa et al. (2017) o OE de *O. basilicum* também sofre influência devido à temperatura e velocidade de secagem das folhas. Esse fenômeno também foi observado no estudo de Hussain et al. (2017), onde o rendimento de OE foi significativamente menor no verão paquistanês, variando de 30 a 40 ° C.

No que se refere à solubilidade em etanol 70%, o resultado demonstra que o OE de *O. basilicum* foi solúvel na proporção de 1:2. A cor apresentada pelo OE foi amarelo típico do OE *O. basilicum* (Henrique et al. 2017).

O índice de refração é dependente do conteúdo total de monoterpenos e seus derivados oxigenados e auxilia no reconhecimento de falsificações (Santos et al., 2015). O índice de refração e densidade do OE obtido de folhas de *O. basilicum* foi de 1,4980 e 0,9396 g.mL⁻¹ respectivamente, se observou no trabalho realizado por Santos et al. (2015) utilizando o OE desta planta o valor do índice de refração de 1,5125 e densidade de 0,9396 g.mL⁻¹, o que demonstra que os valores foram igual ou muito próximo o que aparenta a não alteração na qualidade do OE do presente estudo.

3.2. Perfil químico

Os espectros obtidos na Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas seguidos da comparação com os dados da biblioteca de NIST (2005) e ADAMS (2007), permitiram o conhecimento da composição química do OE. A Tabela 2 apresenta os constituintes identificados no OE *O. basilicum*. No OE foi identificado como constituinte majoritário o metil chavicol com 62,39%, seguido pelo linalol (25,88%) e α -farneseno (6,14%) registrado que a espécie em estudo, é rica em monoterpenos, monoterpenos oxigenados e sesquiterpenos,

Tabela 2: Composição química do OE de *O. basilicum*.

Ordem	RT (min)	Compostos	Classe	%
1	15.66	Eucaliptol	Monoterpeno	3.48
2	18.50	Linalol	Monoterpeno	25.88
3	21.32	α -Terpineol	Monoterpeno	1.43
4	22.16	Metil chavicol	Monoterpeno	62.39
5	20.12	α -Farneseno	Sesquiterpeno	6.14
6	36.21	α -cadinol	Sesquiterpeno	0.67

Onde: RT(min) = tempo de retenção do composto em minutos; Fonte: Autores.

Pinheiro et al., (2017) relataram resultados semelhantes para OE de *O. basilicum*, foram descritos que dos 25 compostos caracterizados e identificados por CG/MS, 38,3% foram compostos por metil chavicol, seguidos por 39,9% metil eugenol. No estudo de Beatovic et al. (2015), OE de *O. basilicum* do genótipo Siam Queen apresentou metil chavicol em 83,6% de sua composição. O metil chavicol também se apresentou como majoritário no OE do *O. basilicum* iraniano relatado por Sajjadi (2006).

O conteúdo linalol do OE no presente estudo foi menor do que o encontrado por Carovic-Stanko et al. (2010) e Al-Abbasy et al. (2015) onde as porcentagens eram 66,40% e 69,86%, respectivamente. Esse resultado pode ser explicado pela sazonalidade e genótipo da planta coletados neste estudo. O α -farneseno (6,14%), terceiro composto majoritário, não foi encontrado em nenhuma variação de *O. basilicum* do estudo de Carovic-Stanko et al. (2010) e em qualquer um dos artigos mencionados acima. No trabalho de Labra et al. (2004), o teor de farneseno variou de 6,97 a 13,53% em detrimento de fatores ambientais e genéticos. No

trabalho de Calín-Sánchez et al. (2012), as concentrações de α -farneseno foram afetadas pelas temperaturas de secagem por convecção, apresentando maiores níveis na extração da planta fresca. Ainda deve-se enfatizar que os componentes minoritários presentes nos OE's desempenham importante papel na atividade antibactericida, devido ao efeito sinérgico entre todos os outros componentes (Martins et al., 2010).

3.3. Fenólicos totais

Os resultados do teor total de fenólicos do OE de *O. basilicum* são apresentados na Tabela 3. O conteúdo fenólico total (CPT) foi expresso como equivalentes de ácido tânico (mg EAT / g de material vegetal) a equação da reta obtida foi $y = 0,05857x + 0,06000$ ($R^2 = 0,9998$), onde y representa a absorbância e a concentração equivalente de ácido tânico.

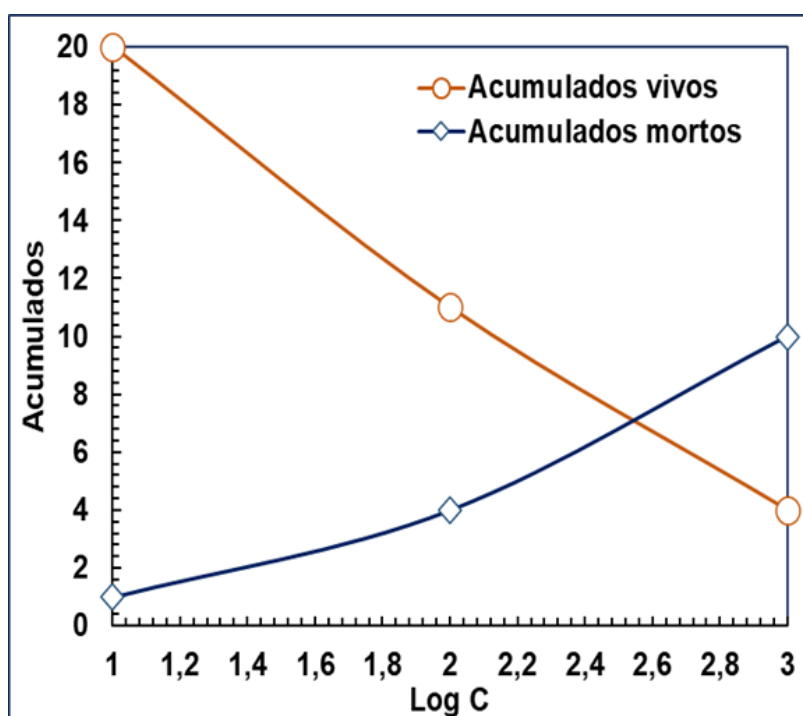
As folhas de *O. basilicum* utilizadas no presente estudo apresentaram uma quantidade importante de compostos fenólicos em 440,121 mg EAT g⁻¹ o que se torna de grande relevância já que os fenólicos são frequentemente associados a vários efeitos positivos à saúde, responsáveis pela sua ação antioxidante e anti-inflamatória (Fischer et al., 2013; Carriço et al., 2018). Segundo Gonçalves et al. (2015), em teste com o extrato etanoico do manjeriço in natura os valores para fenólicos, obtiveram resultados levemente discordantes, chegando a um total de 295,85 mg EAT g⁻¹.

Existem vários fatores que podem interferir no conteúdo de compostos fenólicos nas plantas, dentre os quais se destacam as condições ambientais (sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, poluição atmosférica) e as agronômicas (variedade genética, adição de nutrientes, danos mecânicos, ataques de patógenos) (Gobbo-Neto; Lopes, 2007; Llorach et al., 2008) e, ainda, de acordo com Shimano (2019), os diferentes métodos de extração, o que torna difícil comparar os resultados entre os estudos.

3.4. Toxicidade frente a *Artemia salina* Leach

A Figura 1 apresenta a curva acumulada de mortos e vivos de *Artemia salina* versus logaritmo diante da ação do OE de *O. basilicum*, onde foi possível observar a interseção das curvas em 2,55 e CL₅₀ em 355 mg L⁻¹ ± 3,25 mg L⁻¹. Classificado, portanto, como não tóxico.

Figura 1: Gráfico log da concentração do OE versus os acumulados de mortos e vivos.



Fonte: Autores.

O estudo da toxicidade é extremamente importante, pois fornece informações sobre a qualidade do ambiente ou parte dele, possibilitando assim mensurar qual a concentração letal de um determinado produto (Botelho et al., 2010).

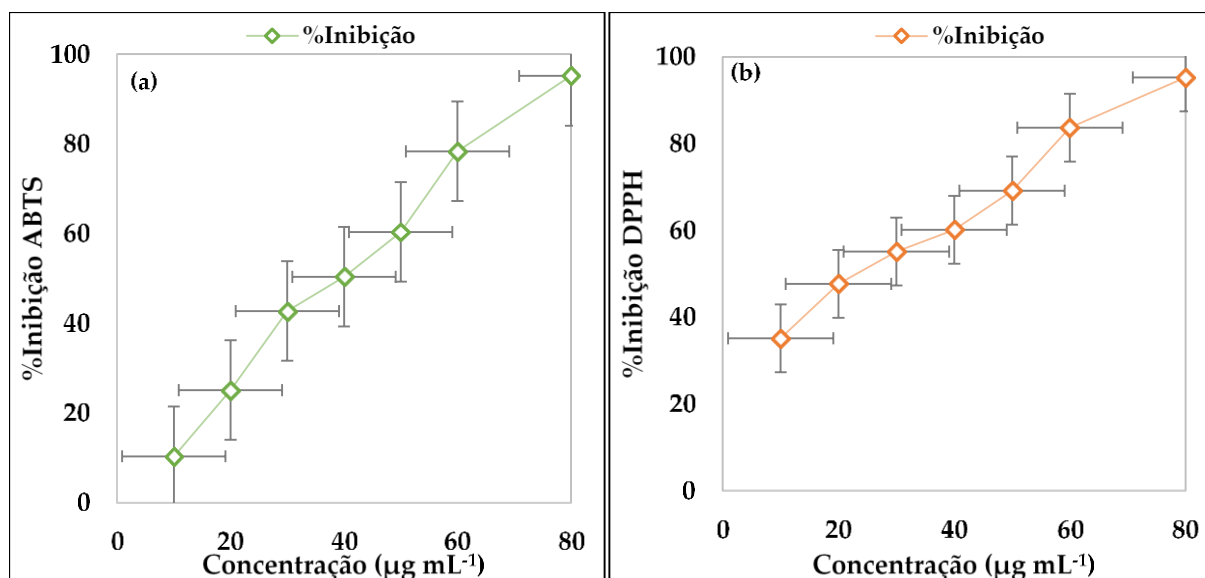
Os resultados relatados para a toxicidade de OE *O. basilicum* foram consistentes com os relatados por Sharopov et al. (2016), onde O OE apresentou letalidade ativa contra *Artemia salina*. Hamidi et al. (2014) e Silva et al. (2010) também encontraram um CL_{50} de $9,92 \text{ mg mL}^{-1}$ e $233,8 (200,7-272,0) \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente, indicando toxicidade moderada de OE. Neste estudo, a OE mostrou pouco tóxico devido ao seu perfil químico singular, onde foram encontrados menores valores de linalol e principalmente metil-chavicol. Acredita-se que a baixa concentração de outros ativos químicos possivelmente tóxicos no OE deste estudo tenha causado a não toxicidade deste estudo. Deste modo, cabe ressaltar que a baixa toxicidade de um OE aumenta seu potencial de aplicação.

3.5. Atividade antioxidante

Os antioxidantes auxiliam na desaceleração da oxidação e conseqüentemente na prevenção de doenças. A Figura 2 apresenta a representação gráfica da concentração do OE

versus o percentual de inibição dos radicais ABTS e DPPH. Observou-se que o percentual de inibição foi próximo para o radical ABTS e DPPH na concentração de 80 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Figura 2: Representação gráfica do percentual de inibição dos radicais pelos métodos ABTS(a) e DPPH(b).



Fonte: Autores.

A Tabela 3 apresenta a CE_{50} , CE_{90} , equação da reta e regressão linear para a capacidade antioxidante do OE de *O. basilicum* para os métodos empregados. Observou-se que os melhores resultados foram obtidos para o radical DPPH no CE_{50} .

Tabela 3: Capacidade antioxidante do OE de *O. basilicum*.

Método	CE_{50}	CE_{90}	$y=ax+b$	R^2
ABTS	39,96 $\mu\text{g m}^{-1}$	73,02 $\mu\text{g m}^{-1}$	$y=1,21x+1,6424$	0,9872
DPPH	25,35 $\mu\text{g m}^{-1}$	72,17 $\mu\text{g m}^{-1}$	$y=0,8545x+28,335$	0,9856

Fonte: Autores.

Os antioxidantes podem ser definidos como substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação de substratos oxidáveis, podendo atuar em alimentos ou sistemas biológicos (Alves et al., 2017).

Assim quanto maior o consumo de uma amostra, menor será a sua concentração inibitória (CE) e maior a sua atividade antioxidante do OE (Sousa et al. 2011; Mishra et al.

2012). Em razão da simplicidade de alguns testes na rotina laboratorial, diversas metodologias têm sido empregadas para determinar a capacidade antioxidante de produtos naturais *in vitro*, principalmente os métodos indiretos como o ABTS e DPPH, os quais foram utilizados neste estudo (Christodouleas et al., 2015).

O método utilizado para determinação da atividade antioxidante, mais conhecidos e utilizados é o método do radical livre DPPH, um método químico capaz de sequestrar radicais livres, determinando, dessa forma, a capacidade antioxidante que o composto possui (Borges; et al., 2011). O método ABTS também é utilizado para determinação de atividades antioxidantes diversas. Tem como vantagem a capacidade de reagir com soluções hidrossolúveis e lipossolúveis. Através da mudança da coloração, é observado a presença dos compostos antioxidantes (Sucupira; et al, 2012).

O potencial inibitório de radical seja pelo método DPPH ou ABTS varia aproximadamente de 50 a 80%, seja para extratos e/ou OE's (Koroch; Simon; Juliani, 2017; Hussain et al., 2017). Sendo assim, pode-se confirmar o grande potencial antioxidante da folha de *O. basilicum* deste presente estudo, apresentando pelo método DPPH o valor de 25,35 para IC₅₀ e 72,17 para o IC₉₀ valores inferiores ao método ABTS.

Em um estudo feito por Hussain et al. (2008) adotando a mesma metodologia ao desta pesquisa, compararam a composição química e atividade antioxidante do OE de *O. basilicum* apresenta atividade antioxidante eficaz, mostrando IC₅₀ de 4,8 a 6,7 µg/mL em plantas coletadas no inverno e verão pelo método DPPH valor superior ao deste estudo, mas que destaca a significância da ação antioxidante deste OE.

Kwee & Niemeyer (2011), ao avaliarem o OE de *O. basilicum* também obtiveram boa eliminação do radical livre DPPH com IC₅₀ 3.36 ± 0.50 µg mL⁻¹ e IC₅₀ 0.28 ± 0.18 µg mL⁻¹ para o método ABTS. Złotek et al. (2016) em ensaios de eliminação de DPPH e ABTS o IC₅₀ foi de 543,15 ± 6,29 e 50,6 ± 3 µg. mL⁻¹

Em outros estudos com objetivo de obter a capacidade antioxidante de *O. basilicum*, também foram encontrados resultados positivos (Gird et al., 2015; Irondi et al., 2016). Pitaro & Jorge (2012) obtiveram uma ótima capacidade eliminadora de radicais livres DPPH, quando comparado aos extratos aquosos e etanólicos.

A capacidade antioxidante de extratos vegetais depende de algumas características estruturais, sendo elas a presença de compostos fenólicos e flavonóides, que são uns dos alvos mais importantes na busca por antioxidantes (Leite, 2019). Fernandes et al. (2018). obtiveram para o manjeriço uma capacidade de sequestrar o radical DPPH de 92,6% com extração etanólica. Os antioxidantes podem ser definidos como substâncias capazes de retardar ou inibir

a oxidação de substratos oxidáveis, podendo atuar em alimentos ou sistemas biológicos (Alves et al., 2017).

3.6. Atividade larvicida

A atividade larvicida frente as larvas do mosquito *Aedes aegypti* do OE de *O. basilicum* com os dados obtidos através dos ensaios de concentrações estão dispostos na Tabela 4.

Tabela 4: Capacidade larvicida do OE de *O. basilicum*

Log Concentração	n	Mortos	CL ₅₀	σ	χ^2	R ²
1,48	20	7				
1,60	20	8				
1,70	20	10	43,84			
1,85	20	15	(34,68-55,41)	0,2940	0,9310	0,9460
1,90	20	17				
2,00	20	20				

Onde: n= número de indivíduos por solução; σ = desvio-padrão; χ^2 =chi quadrado; R²= coeficiente de linearidade; Fonte: Autores.

O CL₅₀ apresentou valor de 43,84mg L⁻¹. De acordo com Dias & Moraes (2014), a atividade larvicida dos compostos é classificada segundo critérios baseados em concentrações letais. Os OE's que apresentarem CL₅₀ superior a 100 mg L⁻¹ devem ser considerados não ativos. Para serem considerados ativos, os OE's devem apresentar CL₅₀ inferior a 100 mg L⁻¹ e altamente ativos quando os valores de CL₅₀ forem inferiores a 50 mg L⁻¹, confirmando assim o alto potencial larvicida do OE avaliado no presente estudo incentivando seu potencial e aplicabilidade larvicida.

Os resultados mostraram a notável capacidade do OE de *O. basilicum* como agente prospectivo de controle e gerenciamento de larvas. O bioensaio não resultou na formação de nenhuma pupa ou de qualquer intermediário, resultado em mortalidade de larvas completas. Os ensaios de controle também não resultaram em nenhuma mortalidade indicando os efeitos inócuos do solvente.

Esses resultados concordam com Faraone et al. (2015), que estudaram o potencial larvicida do OE de *O. basilicum*. Um estudo realizado por Murugan et al. (2015) relatou variada atividade larvicida do OE de *O. basilicum* contra diferentes fases das larvas do mosquito *Aedes aegypti* apresentando uma CL_{50} 105 mg L⁻¹.

Ghosh et al. (2013) demonstraram a atividade do OE de *Ocimum basilicum* L. contra larvas de *Aedes aegypti*. Aidaross & Galalb (2005) investigou extratos de folhas de *O. basilicum* por sua atividade larvicida e observou mortalidade de 50% entre 1000/10000 ppm. Os OE's de algumas espécies de *Ocimum spp* são conhecidas por suas propriedades repelente contra mosquitos e insetos e possuir atividade larvicida contra moscas domésticas, moscas-azul e mosquitos (Kumar et al., 2017).

Em outros estudos realizados com o objetivo de combater o *Aedes aegypti*, também foram encontrados OE's com potencial larvicida. Em estudos desenvolvidos por El-Akhal et al. (2015) ressaltam que o OE de *Citrus aurantium* L. apresentou grande eficiência, com o valor de CL_{50} de 22,64 mg L⁻¹. Kumar & Warikoo (2011) relatou propriedades repelentes notáveis do OE de *M. piperita* contra larvas de *Aedes aegypti*. Mais recentemente, a atividade larvicida contra *Aedes aegypti* também foi demonstrada pelo trabalho de Botas et al. (2017) eles produziram nanoemulsões baseadas em OE de *Baccharis reticulata*, além de D-limoneno, seu principal componente (25%). As duas nanoemulsões causaram mortalidade nas larvas de *A. aegypti*, com valores de CL_{50} de 118,94 µg mL⁻¹ e 81,19 µg mL⁻¹.

Vale ressaltar que o OE de *O. basilicum* apresentou CL_{50} semelhante aos compostos majoritários linalol e chavicol que são responsáveis por 88,27% dos constituintes deste OE. Este fato sugere que sua ação inseticida se deve provavelmente a estes compostos. O Linalol é um exemplo de um terpenóide que opera em conjunto com outros compostos no sistema colinérgico de insetos, promovendo a rápida quebra do sistema nervoso. (Silva et al., 2017). O chavicol (estragol) é um fenilpropanóide com propriedade inseticida (Soares et al., 2012)

O uso de OE de *O. basilicum* na formulação de produtos de controle de mosquitos e larvas pode ser vantajoso em relação a outros métodos de controle, devido à sua produção fácil e econômica, eficácia residual em ambiente natural e segurança a organismos e ambiente. No entanto, a literatura revela que, embora existam alguns relatos disponíveis sobre a bioeficácia de extratos de folhas de manjerição contra larvas de dengue, o OE de *O. basilicum* não foi explorado extensivamente contra eles na fase larvas.

4. Considerações Finais

O OE de *O. basilicum*. apresentou atividade larvicida eficiente contra as larvas de *Aedes aegypti*. onde o critério utilizado considera bons agentes larvicidas as substâncias com valor de CL_{50} inferior a 100 mg L^{-1} . Evidenciando, assim a sua potencialidade e sendo uma alternativa no controle das larvas de *Aedes aegypti*. A toxicidade frente *Artemia salina* L. do OE apresentou uma CL_{50} de $355,0 \text{ mg L}^{-1}$ de acordo com o descrito na literatura, sendo este classificado como atóxico pelo critério utilizado. Na análise da atividade antioxidante e fenólicos totais, as amostras apresentaram ação antioxidante para o método DPPH e um teor de fenólicos de $440,121 \text{ mg EAT g}^{-1}$. É preciso que se conheça não somente as propriedades biológicas dos produtos naturais, mas também os seus respectivos potenciais tóxicos para se possa aplicá-los de modo seguro.

Referências

- Aidaross, M., Kohob, W., & Galalb, M. (2005). Evaluation of repellent and larvicidal activity of *Ocimum basilicum* L. and *Cymbopogon citratus* DC. Against *Culex quinquefasciatus*. *Inti Chern. Pharm. Med J*, 2(2), 243-246.
- Alves, M. A., de Sousa, A., da Silva, C. S., & de Souza, R. (2017). Perfil fitoquímico, capacidade antioxidante e susceptibilidade antibacteriana dos extratos de *Morus alba* L.(Moraceae). *Rev Bras. Farm*, 98(1), 1811-1825.
- Al-Maskri, A. Y., Hanif, M. A., Al-Maskari, M. Y., Abraham, A. S., Al-sabahi, J. N., & Al-Mantheri, O. (2011). Essential oil from *Ocimum basilicum* (Omani Basil): a desert crop. *Natural product communications*, 6(10), 1934578X1100601020.
- Babili, F. E., Bouajila, J., Souchard, J. P., Bertrand, C., Bellvert, F., Fouraste, I., & Valentin, A. (2011). Oregano: chemical analysis and evaluation of its antimalarial, antioxidant, and cytotoxic activities. *Journal of food science*, 76(3), C512-C518.
- Barbosa, C. K. R., de Souza, C. E., Fonseca, M. C. M., & Casali, V. W. D. (2017). Teor de óleo essencial e caracterização organoléptica de hortelã-pimenta após fragmentação e secagem. *MAGISTRA*, 28(2), 279-284.

Beatovic, D., Krstic-Milosevic, D., Trifunovic, S., Siljegovic, J., Glamoclija, J., Ristic, M., & Jelacic, S. (2015). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of twelve *Ocimum basilicum* L. cultivars grown in Serbia. *Records of Natural Products*, 9(1), 62.

Bione, M. A., Paz, V. P. D. S., Silva, F. D., Ribas, R. F., & Soares, T. M. (2014). Crescimento e produção de manjeriço em sistema hidropônico NFT sob salinidade. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 18(12), 1228-1234.

Borges, L. L., Lúcio, T. C., Gil, E. D. S., & Barbosa, E. F. (2011). Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. *Enciclopédia Biosfera*, 7(12), 1-20.

Botas, G. D. S., Cruz, R. A., De Almeida, F. B., Duarte, J. L., Araújo, R. S., Souto, R. N. P., ... & Pereira, V. L. P. (2017). *Baccharis reticularia* DC. and limonene nanoemulsions: promising larvicidal agents for *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) control. *Molecules*, 22(11), 1990.

Botelho, R. G., Inafuku, M. M., Maranhão, L. A., Neto, L. M., de Olinda, R. A., Dias, C. T., & Tornisielo, V. L. (2010). Toxicidade aguda e crônica do extrato de nim (*Azadirachta indica*) para *Ceriodaphnia dubia*. *Pesticidas: revista de ecotoxicologia e meio ambiente*, 20.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

Calín-Sánchez, Á., Lech, K., Szumny, A., Figiel, A., & Carbonell-Barrachina, Á. A. (2012). Volatile composition of sweet basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.) as affected by drying method. *Food Research International*, 48(1), 217-225.

Campos, M. G., Webby, R. F., Markham, K. R., Mitchell, K. A., & Da Cunha, A. P. (2003). Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(3), 742-745.

Carović-Stanko, K., Orlić, S., Politeo, O., Strikić, F., Kolak, I., Milos, M., & Satovic, Z. (2010). Composition and antibacterial activities of essential oils of seven *Ocimum* taxa. *Food Chemistry*, 119(1), 196-201.

Cariço, M., Ramborger, B. P., de Jesus Soares, J., Paz, M. E., Roehrs, R., & Denardin, E. L. G. (2018). Análise de Compostos voláteis e fenólicos totais de folhas de *ocimum basilicum* tratadas por fotoestimulação. *Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão*, 10(2).

Carvajal, F., Huanca, A., González-Teuber, M., Urzúa, A., & Echeverría, J. (2017). Uses of hazardous medicinal plants: composition of the essential oil of *Clinopodium gilliesii* (Benth.) Kuntze (Lamiaceae), collected in Chile. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 16(5), 486-492.

Christodouleas, D. C., Fotakis, C., Nikokavoura, A., Papadopoulos, K., & Calokerinos, A. C. (2015). Modified DPPH and ABTS assays to assess the antioxidant profile of untreated oils. *Food Analytical Methods*, 8(5), 1294-1302.

Dias, C. N., & Moraes, D. F. C. (2014). Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae) larvicides. *Parasitology research*, 113(2), 565-592.

Dias, C. N., de Mesquita, L. S. S., Coutinho, D. F., & Malik, S. (2017). Plant Derived Essential Oils Against *Aedes aegypti* L. and Their Biotechnological Production. In *Medicinal Plants and Environmental Challenges* (pp. 345-357). Springer, Cham.

Dolabela, M. F. (1997). Triagem in vitro para atividade antitumoral e anti Trypanossoma cruzi de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas. 1997. 128p (Doctoral dissertation, Dissertação (Mestrado)-Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Echeverría, J., & Albuquerque, R. D. D. G. D. (2019). Nanoemulsions of essential oils: New tool for control of vector-Borne diseases and in vitro effects on some parasitic agents. *Medicines*, 6(2), 42.

El-Akhal, F., Lalami, A. E. O., & Guemmouh, R. (2015). Larvicidal activity of essential oils of *Citrus sinensis* and *Citrus aurantium* (Rutaceae) cultivated in Morocco against the malaria vector *Anopheles labranchiae* (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(6), 458-462.

Espinoza, J., Urzúa, A., Bardehle, L., Quiroz, A., Echeverría, J., & González-Teuber, M. (2018). Antifeedant effects of essential oil, extracts, and isolated sesquiterpenes from *Pilgerodendron uviferum* (D. Don) florin heartwood on red clover borer *Hylastinus obscurus* (Coleoptera: Curculionidae). *Molecules*, 23(6), 1282.

Faraone, N., Hillier, N. K., & Cutler, G. C. (2015). Plant essential oils synergize and antagonize toxicity of different conventional insecticides against *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *PloS one*, 10(5).

Farmacopeia Brasileira. (2019). Agência Nacional de Vigilância Sanitária Brasília. Anvisa, 6(1), 92.

Fernandes, F. A., Pereira, E., Barros, L., Soković, M., Calhella, R. C., & Ferreira, I. C. (2018). Caracterização do perfil fenólico de *Ocimum basilicum* var. *purpurascens* e avaliação do seu potencial bioativo. XXIV Encontro Luso Galego de Química.

Finney, D. J. (1952). *Probit analysis: a statistical treatment of the sigmoid response curve*. Cambridge university press, cambridge.

Fischer, P., da Rocha, M. B., Gomes, G. S., da Rocha, M. F., Machado, M. M., & de Oliveira, L. F. S. (2013). Análise Fitoquímica Preliminar do Manjericão (*Ocimum basilicum* L.), com Ênfase nos Compostos Antioxidantes. *Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão*, 5(2).

Forattini, O. P. (1962). *Entomologia medica vol. I* Faculdade de Higiene e Saude Publica. Sao Paulo, Brazil. pp.

Gird, C. E., Costea, T., Nencu, I., Dutu, L. E., Popescu, L., & Balaci, T. D. (2015). Comparative pharmacognostic analysis of romanian *Ocimum Basilicum* L. and *O. Basilicum* Var. *Purpurascens* Benth. aerial parts. *Farmacia*, 63(6), 840-844.

Ghosh, V., Saranya, S., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2013). Cinnamon oil nanoemulsion formulation by ultrasonic emulsification: investigation of its bactericidal activity. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 13(1), 114-122.

Gobbo-Neto, L., & Lopes, N. P. (2007). Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química nova*, 30(2), 374-381.

Gomes, P. R. B., Silva, A. L. S., Pinheiro, H. A., Carvalho, L. L., Lima, H. S., Silva, E. F., & Oliveira, M. B. (2016). Avaliação da atividade larvicida do óleo essencial do *Zingiber officinale* Roscoe (gengibre) frente ao mosquito *Aedes aegypti*. *Revista brasileira de plantas medicinais*, 18(2), 597-604.

Gonçalves, J. H. T., Santos, A. S., & MORAIS, H. A. (2015). Atividade antioxidante, compostos fenólicos totais e triagem fitoquímica de ervas condimentares desidratadas. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde*, 13(1), 486-497.

Hamidi, M. R., Jovanova, B., & Panovska, T. K. (2014). Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) model. *Maced pharm bull*, 60(1), 9-18.

Henrique, V. A., Ferreira, L. P., & dos Reis Nunes, C. (2017). Análise físico-química e antioxidante de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) orgânico. *Revista Interdisciplinar Pensamento Científico*, 3(2).

Howyzeh, M. S., Noori, S. A. S., & Shariati, V. (2018). Essential oil profiling of Ajowan (*Trachyspermum ammi*) industrial medicinal plant. *Industrial crops and products*, 119, 255-259.

Hussain, A. I., Anwar, F., Sherazi, S. T. H., & Przybylski, R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food chemistry*, 108(3), 986-995.

Hussain, A. I., Chatha, S. A. S., Kamal, G. M., Ali, M. A., Hanif, M. A., & Lazhari, M. I. (2017). Chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from *Ocimum sanctum*. *International Journal of food properties*, 20(7), 1569-1581.

Irondi, E. A., Agboola, S. O., Oboh, G., & Boligon, A. A. (2016). Inhibitory effect of leaves extracts of *Ocimum basilicum* and *Ocimum gratissimum* on two key enzymes involved in obesity and hypertension in vitro. *Journal of intercultural ethnopharmacology*, 5(4), 396.

Koroch, A. R., Simon, J. E., & Juliani, H. R. (2017). Essential oil composition of purple basil, their reverted green varieties (*Ocimum basilicum*) and their associated biological activity. *Industrial crops and products*, 107, 526-530.

Kumar, S., Wahab, N., & Warikoo, R. (2011). Bioefficacy of *Mentha piperita* essential oil against dengue fever mosquito *Aedes aegypti* L. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 1(2), 85-88.

Kumar, S., Warikoo, R., Mishra, M., & Samal, R. R. (2017). Impact of *Ocimum basilicum* Leaf Essential Oil on The Survival and Behaviour of An Indian Strain of Dengue Vector, *Aedes aegypti* (L.). *Vector Biol J* 2: 2. of, 6, 12-16.

Kwee, E. M., & Niemeyer, E. D. (2011). Variations in phenolic composition and antioxidant properties among 15 basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. *Food Chemistry*, 128(4), 1044-1050.

Labra, M., Miele, M., Ledda, B., Grassi, F., Mazzei, M., & Sala, F. (2004). Morphological characterization, essential oil composition and DNA genotyping of *Ocimum basilicum* L. cultivars. *Plant Science*, 167(4), 725-731.

Leite Nogueira, T. (2019). Otimização de uma mistura de solventes para extração de compostos fenólicos antioxidantes a partir dos frutos de *Muntingia calabura* L.

Lima, Y. D. M. S. (2018). Identificação química e análise da atividade larvicida e de repelência do óleo essencial das folhas de *Siparuma guianensis* Aublet frente a *Aedes aegypti* Linnaeus.

Llorach, R., Martínez-Sánchez, A., Tomás-Barberán, F. A., Gil, M. I., & Ferreres, F. (2008). Characterisation of polyphenols and antioxidant properties of five lettuce varieties and escarole. *Food chemistry*, 108(3), 1028-1038.

Machado, B. F. M. T., & Junior, A. F. (2011). Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. *Cadernos Acadêmicos*, 3(2), 105-127.

Martins, A. G. L. D. A., Nascimento, A. R., Mouchrek Filho, J. E., Mendes Filho, N. E., Souza, A. G., Aragão, N. E., & Silva, D. S. V. D. (2010). Atividade antibacteriana do óleo essencial do manjeriço frente a sorogrupos de *Escherichia coli* enteropatogênica isolados de alfaces. *Ciência Rural*, 40(8), 1791-1796.

Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. J., & McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta medica*, 45(05), 31-34.

Mirzahosseini, S. M., Noori, S. A. S., Amanzadeh, Y., Javid, M. G., & Howyzeh, M. S. (2017). Phytochemical assessment of some native ajowan (*Therachyspermum ammi* L.) ecotypes in Iran. *Industrial crops and products*, 105, 142-147.

Mishra, A., & Bäuerle, P. (2012). Small molecule organic semiconductors on the move: promises for future solar energy technology. *Angewandte Chemie International Edition*, 51(9), 2020-2067.

Murugan, K., Aarthi, N., Kovendan, K., Panneerselvam, C., Chandramohan, B., Kumar, P. M., & Suresh, U. (2015). Mosquitocidal and antiplasmodial activity of *Senna occidentalis* (Cassiae) and *Ocimum basilicum* (Lamiaceae) from Maruthamalai hills against *Anopheles stephensi* and *Plasmodium falciparum*. *Parasitology research*, 114(10), 3657-3664.

Ootani, M. A., Ramos, A. C. C., de Azevedo, E. B., de Oliveira Garcia, B., dos Santos, S. F., & de Sousa Aguiar, R. W. (2011). Avaliação da toxicidade de estirpes de *Bacillus thuringiensis* para *Aedes aegypti* Linneus, (Díptera: Culicidae). *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 2(2), 37-43.

Pinheiro, P. F., Chaves, B. V., Silva, P. I., Della Lucia, S. M., Saraiva, S. H., & Pinheiro, C. A. (2017). Óleos essenciais de manjeriço e gengibre na aromatização de azeite de oliva. *Nucleus*, 14(1), 189-196.

Pitaro, S. P., Fiorani, L. V., & Jorge, N. (2012). Potencial antioxidante dos extratos de manjeriço (*Ocimum basilicum* Lamiaceae) e orégano (*Origanum vulgare* Lamiaceae) em óleo de soja. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, 14(4), 686-691.

Porto, K. R., Motti, P. R., Yano, M., Roel, A. R., Cardoso, C. A., & Matias, R. (2017). Screening of plant extracts and fractions on *Aedes aegypti* larvae found in the state of Mato Grosso do Sul (Linnaeus, 1762)(Culicidae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89(2), 895-906.

Pravuschi, P. R., Marques, P. A. A., Rigolin, B. H. M., & Santos, A. C. P. (2010). Effect of different water depths in basil (*Ocimum basilicum* L.) oil production/Efeito de diferentes lamina de irrigacao na producao de oleo essencial do manjericao (*Ocimum basilicum* L.). *Acta Scientiarum. Agronomy*, 32(4), 687-694.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.

Rosado, L. D. S., Pinto, J. E. B. P., Bertolucci, S. K. V., Jesus, H. C. R. D., & Alves, P. B. (2013). Changes in the content and composition of the essential oil of *Ocimum basilicum* L. during storage. *Journal of essential oil research*, 25(3), 227-232.

Sajjadi, S. E. (2006). Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L.) from Iran. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(3), 128-130.

Santos, A. G. S., Dutra, K. A., Dutra, M. T. D., Silva, F. S. V. C. B., Maranhão, C. A., Navarro, D. M. A. F., & Brandão, S. S. F. (2015). Plantas medicinais comercializadas no mercado público de casa amarela-recife-pe: influência do modo de conservação na composição química do óleo essencial. *HOLOS*, 1, 36-48.

Silva, H. H. G. D., Silva, I. G. D., Elias, C. N., Lemos, S. P. S., & Rocha, A. P. (1995). Idade fisiológica dos ovos de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762)(Diptera, Culicidae).

Silva, W. J. D. (2006). Atividade larvicida do óleo essencial de plantas existentes no estado de Sergipe contra *Aedes aegypti* Linn.

Silva, L. L., Heldwein, C. G., Reetz, L. G., Hörner, R., Mallmann, C. A., & Heinzmann, B. M. (2010). 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*, 20(5), 700-705.

Silva, S. M., Cunha, J. P. A. R. D., Carvalho, S. M. D., Zandonadi, C. H. S., Martins, R. C., & Chang, R. (2017). *Ocimum basilicum* essential oil combined with deltamethrin to improve the management of *Spodoptera frugiperda*. *Ciência e Agrotecnologia*, 41(6), 665-675.

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

Sharopov, F. S., Satyal, P., Ali, N. A. A., Pokharel, S., Zhang, H., Wink, M., & Setzer, W. N. (2016). The essential oil compositions of *Ocimum basilicum* from three different regions: Nepal, Tajikistan, and Yemen. *Chemistry & Biodiversity*, 13(2), 241-248.

Shimano, M. Y. H. (2019). Ação antioxidante de extratos de especiarias e suas misturas binárias e ternárias sobre a estabilidade oxidativa de óleo de soja (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

Soares, C. S. A., Silva, M., Costa, M. B., Bezerra, C. E. S., Carvalho, L. M., & Soares, A. H. V. (2012). Atividade inseticida de óleos essenciais sobre o pulgão da roseira *Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera: Aphididae). *Revista Brasileira de Agroecologia*, 7(1).

Sousa, M. S. B., Vieira, L. M., Silva, M. D. J. M. D., & Lima, A. D. (2011). Caracterização nutricional e compostos antioxidantes em resíduos de polpas de frutas tropicais. *Ciência e Agrotecnologia*, 35(3), 554-559.

Sucupira, N. R., da Silva, A. B., Pereira, G., & da Costa, J. N. (2012). Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. *Journal of Health Sciences*, 14(4).

Takagi, B. A., de Souza, T. G. B., de Oliveira, M. D., Bernardes, L. G., Oda, J. Y., Machado, A. R. D. S. R., & Machado, A. M. (2020). Efeito larvídica e ovocídica de extratos de *Crotalaria pallida* sobre o vetor *Aedes aegypti*/Larvicidal and ovocidal effects of *Crotalaria pallida* extracts on the vector *Aedes aegypti*. *Brazilian Journal of Development*, 6(5), 23060-23074.

Varga, F., Carović-Stanko, K., Ristić, M., Grdiša, M., Liber, Z., & Šatović, Z. (2017). Morphological and biochemical intraspecific characterization of *Ocimum basilicum* L. *Industrial Crops and Products*, 109, 611-618.

Veloso, R. A., de Castro, H. G., Cardoso, D. P., Chagas, L. F. B., Freitas, A., & Júnior, C. (2015). Óleos essenciais de manjeriçã e capim citronela no controle de larvas de *Aedes aegypti* Essential oils of basil and citronella grass in the control of larvae of *Aedes aegypti*. *Revista Verde (Pombal-PB-Brasil)* v, 10(2), 101-105.

Waterhouse, A. L. (2002). Determination of total phenolics. *Current protocols in food analytical chemistry*, 6(1), I1-1.

World Health Organization. (2012). Global strategy for dengue prevention and control 2012-2020.

Zara, A. L. D. S. A., Santos, S. M. D., Fernandes-Oliveira, E. S., Carvalho, R. G., & Coelho, G. E. (2016). Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 25, 391-404.

Złotek, U., Szymanowska, U., Karaś, M., & Świeca, M. (2016). Antioxidative and anti-inflammatory potential of phenolics from purple basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves induced by jasmonic, arachidonic and β -aminobutyric acid elicitation. *International journal of food science & technology*, 51(1), 163-170.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Nilton Silva Costa Mafra– 20%

Gustavo Oliveira Everton– 20%

Aline Medeiro Ferreira– 13,3%

Everton Holanda Sales– 13,3%

Paulo Sérgio Santos Júnior – 13,3%

Victor Elias Mouchrek Filho – 20%