

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO – PPGAN
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE – CCBS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO – UNIRIO

João Paulo Gonçalves Ferreira

**ESTUDO DO PERFIL QUÍMICO, TOXICIDADE E BIOATIVIDADE DE
AMOSTRAS DE MANJERICÃO DO RIO DE JANEIRO**

STUDY OF THE CHEMICAL PROFILE, TOXICITY AND BIOACTIVITY OF BASIL
SAMPLES FROM RIO DE JANEIRO

RIO DE JANEIRO

2024

João Paulo Gonçalves Ferreira

**ESTUDO DO PERFIL QUÍMICO, TOXICIDADE E BIOATIVIDADE DE
AMOSTRAS DE MANJERICÃO DO RIO DE JANEIRO**

**STUDY OF THE CHEMICAL PROFILE, TOXICITY AND BIOACTIVITY OF BASIL
SAMPLES FROM RIO DE JANEIRO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Felipe Alves
Moreira
Coorientadora: Profa. Dra. Cristiane Barbosa
Rocha

RIO DE JANEIRO

2024


João Paulo Gonçalves Ferreira

**ESTUDO DO PERFIL QUÍMICO, TOXICIDADE E BIOATIVIDADE DE
AMOSTRAS DE MANJERICÃO DO RIO DE JANEIRO**


Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

Data de Aprovação: 20 / 06 / 2024


BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **RICARDO FELIPE ALVES MOREIRA**
Data: 24/06/2024 11:45:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Ricardo Felipe Alves Moreira – Orientador e presidente da banca (PPGAN/UNIRIO)

Documento assinado digitalmente
 **ANNIBAL DUARTE PEREIRA NETTO**
Data: 26/06/2024 11:18:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Annibal Duarte Pereira Netto – (1º examinador) (UFF)

Documento assinado digitalmente
 **Alexandre Porte**
Data: 02/07/2024 16:13:02-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Alexandre Porte – (2º examinador) (UNIRIO)

Catálogo informatizada pelo(a) autor(a)

F Ferreira, João Paulo Gonçalves
Estudo do perfil químico, toxicidade e bioatividade de amostras de manjerição do Rio de Janeiro / João Paulo Gonçalves Ferreira. -- Rio de Janeiro, 2024.
65

Orientador: Ricardo Felipe Alves Moreira.
Coorientadora: Cristiane Barbosa Rocha.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, 2024.

1. Ocimum basilicum. 2. SPME. 3. GCMS. I. Moreira, Ricardo Felipe Alves, orient. II. Rocha, Cristiane Barbosa, coorient. III. Título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq, CAPES, FAPERJ e UNIRIO pelo financiamento e viabilização das atividades da pesquisa.

Agradeço enormemente à banca pelo aceite, disponibilidade e contribuições para esta Dissertação!

É imensurável minha gratidão aos meus professores Ricardo e Cristiane por todo o investimento, incentivo e orientação ao longo desses quase 7 anos na equipe LACAPA/LEEM. Tantos foram os bons momentos, as risadas, as histórias que é impossível de contar. Muito obrigado por me acolherem quando eu ainda era um recém calouro de Biomedicina e terem me acompanhado até o momento. Ter percorrido esses primeiros anos da minha trajetória acadêmica ao lado de vocês foi de uma sorte pela qual serei sempre grato ao universo. Espero muito reencontrá-los como colegas na Docência!

Agradeço à Professora Ana Elizabeth Fai e sua equipe de alunas, especialmente Julia, Roberta e Carol, e também Thalita e Raquel, pela oportunidade de realizar experimentos em seu laboratório, por todo o auxílio quando foi preciso, e pela receptividade e amizade! Aproveito e agradeço também ao amigo e colega André Freire e sua Orientadora Tatiana Pinto, do Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, por cederem colônias de cepas bacterianas que pudemos utilizar em nossos experimentos.

Agradeço também a todos amigos e colegas do LACAPA/LEEM e do PPGAN com quem compartilhei trajetórias ao longo desses anos. A Thaisa, Leonardo, Kelly, Thuane, Poliana e a tantos outros, obrigado por todas as conversas, trocas de ideias, descontrações e amizade!

Obrigado Victoria, pela parceria de vida e pelo apoio constante, por todo o amor e por tudo que passamos. Tudo é magicamente lindo com você. A toda a minha família, obrigado pelo apoio, amor e reconhecimento que me ajudaram chegar até aqui!

RESUMO

O manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) é uma planta nativa da Ásia tropical, amplamente cultivada no Brasil e utilizada como tempero culinário e erva medicinal. Atualmente existe uma alta variabilidade genética, química e morfológica no manjeriço. A demanda humana e o interesse pelo seu cultivo têm desempenhado um papel importante nesta diversidade, pois muitas cultivares foram desenvolvidas artificialmente ao longo do tempo visando melhorar a produtividade e os atributos sensoriais. Inicialmente uma revisão sistemática da literatura foi realizada com o principal objetivo de compilar dados obtidos de trabalhos relativos à composição química de óleos essenciais obtidos de manjeriço cultivado no Brasil para estabelecer um estado da arte nesta área. Posteriormente, o trabalho experimental deste projeto objetivou determinar os perfis químicos e avaliar os potenciais antioxidante, antimicrobiano e toxicológico agudo de óleos essenciais obtidos de amostras de manjeriço disponíveis comercialmente na cidade do Rio de Janeiro. Adicionalmente avaliou-se o potencial antioxidante e o perfil de voláteis obtidos por HS-SPME de extratos aquosos dessas mesmas amostras. A revisão sistemática revelou que os quimiotipos ricos em Linalol e Estragol são dominantes entre os óleos essenciais obtidos do manjeriço cultivado no Brasil, representando mais de 50% das amostras nos estudos incluídos nesta revisão. Outros compostos como α -Cadinol, Geranial (isômeros cis ou trans), Cinamato de metila e Eucaliptol também são relevantes devido às altas concentrações em que podem ser encontrados. Os terpenóides são os compostos dominantes nestes óleos essenciais em relação à diversidade de compostos, e os fenilpropanóides, embora menos significativos que os terpenóides em relação à diversidade de compostos, também se destacam por serem frequentemente encontrados como componentes majoritários. O trabalho experimental revelou que o quimiotipo de óleo essencial dominante nas amostras de manjeriço disponíveis comercialmente na cidade do Rio de Janeiro é o rico em Estragol e β -Linalol. Esses compostos, com destaque também para o Cinamato de metila e Metil-eugenol, foram encontrados como os majoritários em todas as amostras. Quanto aos voláteis dos extratos aquosos, destacaram-se o Metil eugenol, β -Linalol, τ -Cadinol e Estragol, sendo estes compostos de grande contribuição para o aroma de um infuso elaborado a partir dessas amostras de manjeriço. Os óleos essenciais apresentaram atividade antimicrobiana frente a diversas cepas bacterianas testadas, em especial à *E. coli*, e também puderam ser considerados citotóxicos. Tanto os óleos essenciais quanto os extratos aquosos de todas as marcas analisadas apresentaram potenciais antioxidante similares, indicando que o manjeriço

disponível em mercados na cidade do Rio de Janeiro apresenta homogeneidade com relação ao teor de compostos redutores, e é uma erva que é fonte acessível de bioativos antioxidantes.

Palavras-chave: *Ocimum basilicum*. Óleos essenciais. PRISMA. SPME. GCMS. Bioatividade.

ABSTRACT

Basil (*Ocimum basilicum* L.) is a plant native to tropical Asia, widely cultivated in Brazil and used as a culinary spice and medicinal herb. A high genetic, chemical and morphological variability exist in basil. Human demand and interest for its cultivation have played an important role in this diversity as many cultivars have been artificially bred over time aiming to improve productivity and sensory attributes. Initially a systematic review of the literature was carried out with the main objective of compiling data obtained from works concerning the chemical composition of essential oils obtained from basil grown in Brazil to establish a state of the art in this area. Subsequently, the experimental work of this project aimed to determine the chemical profiles and evaluate the antioxidant, antimicrobial and acute toxicological potentials of essential oils obtained from basil samples commercially available in the city of Rio de Janeiro. Additionally, the antioxidant potential and volatile profile obtained by HS-SPME of aqueous extracts from these same samples were evaluated. The systematic review revealed that chemotypes rich in Linalool and Estragole are dominant among the essential oils obtained from basil grown in Brazil, representing more than 50% of the samples in the studies included in this review. Other compounds such as α -Cadinol, Geranial (cis or trans isomers), Methyl cinnamate and Eucalyptol are also relevant due to the high concentrations in which they can be found. Terpenoids are the dominant compounds in these essential oils in relation to the diversity of compounds, and phenylpropanoids, although less significant than terpenoids in relation to the diversity of compounds, also stand out for being frequently found as the majority components. The experimental work revealed that the dominant essential oil chemotype in commercially available basil samples in the city of Rio de Janeiro is the one rich in Estragol and β -Linalol. These compounds, especially methyl cinnamate and methyl eugenol, were found as the majority in all samples. As for the volatiles in the aqueous extracts, Methyl eugenol, β -Linalol, τ -Cadinol and Estragol stood out, these being the compounds that may contribute most to the aroma of a tea made from these basil samples. Essential oils showed antimicrobial activity against several bacterial strains tested, especially *E. coli*, and could also be considered cytotoxic. Both essential oils and aqueous extracts from all commercial brands analyzed showed similar antioxidant potential, indicating that basil available in markets in the city of Rio de Janeiro presents homogeneity in relation to the content of reducing compounds, and is an herb that is an accessible source of antioxidant bioactives.

Keywords: *Ocimum basilicum*. Essential oils. PRISMA. SPME. GCMS. Bioactivity.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	12
CAPÍTULO 1.....	14
A diversidade química do óleo essencial de manjeriço (<i>Ocimum basilicum</i> L.) cultivado no Brasil: uma revisão sistemática	15
RESUMO.....	15
CAPÍTULO 2.....	16
Perfil de voláteis e potenciais antioxidante, antimicrobiano e toxicológico do óleo essencial de amostras de manjeriço comercializadas na cidade do Rio de Janeiro.....	17
INTRODUÇÃO	18
2. MATERIAIS E MÉTODOS	19
2.1 Obtenção e processamento das amostras	19
2.2 Extração dos óleos essenciais	19
2.3 Preparo dos extratos aquosos.....	19
2.4 Análise do perfil químico dos óleos essenciais por GC-MS	19
2.5 Análise por GC-MS do perfil de voláteis dos extratos aquosos obtidos por HS-SPME20	19
2.6 Potencial antioxidante dos extratos aquosos e óleos essenciais	21
2.6.1 Redução do reagente de Folin-Ciocalteu	21
2.6.2 Método FRAP	21
2.6.3 Redução do radical ABTS	22
2.6.4 Redução do radical DPPH	22
2.6.5 Teor total de flavonoides dos extratos aquosos	22
2.7 Potencial antimicrobiano dos óleos essenciais	23
2.7.1 Teste de suscetibilidade microbiana	23
2.7.2 Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM)	23
2.8 Toxicidade aguda dos óleos essenciais pelo Teste com <i>Artemia salina</i> (TAS).....	24

2.9 Análise estatística	24
RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
3.1 Extração e análise do perfil químico dos óleos essenciais por GC-MS.....	24
3.2 Análise do perfil de voláteis dos extratos aquosos por HS-SPME/GC-MS	27
3.3 Potencial antioxidante dos óleos essenciais e extratos aquosos	30
3.4 Potencial antimicrobiano dos óleos essenciais	33
3.5 Toxicidade aguda dos óleos essenciais por TAS	34
CONCLUSÕES	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
CONCLUSÕES GERAIS	41

INTRODUÇÃO GERAL

O *Ocimum basilicum* (Lamiaceae), popularmente conhecido como manjeriço, é uma planta nativa da Ásia tropical muito cultivada no Brasil e amplamente difundida no uso culinário e medicinal. É comercializado tanto na forma fresca quanto seca, na forma de tempero, e é também muito cultivado em hortas domésticas (LORENZI; MATOS, 2008). Botanicamente, é uma planta classificada como um subarbusto aromático, anual ou perene, ereto, muito ramificado, medindo de 30 a 50 centímetros de altura, e tem suas inflorescências reunidas em racemos terminais curtos. No mercado de sementes para cultivo encontra-se uma grande variedade de cultivares disponíveis, fruto de programas de melhoramento genético impulsionados pela demanda e interesse humanos por atributos sensoriais e químicos desta planta (BLANK et al., 2004, 2007).

A literatura científica atribui a esta erva diversos efeitos farmacológicos associados, por exemplo, as suas propriedades digestiva, carminativa, antiespasmódica, antimicrobiana, anti-inflamatória e hepatoprotetora (ANTORA; SALLEH, 2017; BIHARI et al., 2011; CHAUDHARY et al., 2016; EL-BESHBISHY; BAHASHWAN, 2012; LORENZI; MATOS, 2008; MACHADO et al., 2011; ZŁOTEK; SZYCHOWSKI; ŚWIECA, 2017). Além dessas propriedades, efeitos hipoglicemiantes já foram relatados em estudos prévios (BIHARI et al., 2011; CHAUDHARY et al., 2016; EL-BESHBISHY; BAHASHWAN, 2012), conferindo ao manjeriço um potencial papel no tratamento da hiperglicemia associada à diabetes *mellitus*. Além dessa relevância etnofarmacológica, o manjeriço também tem grande relevância econômica por conta de seu óleo essencial, comumente utilizado na indústria farmacêutica e alimentícia (GUERRA et al., 2020). Isso coloca esta erva no foco de pesquisas há algumas décadas de modo a ser relatada na literatura uma grande variabilidade no conteúdo de seu óleo essencial, o que eventualmente levou à categorização do manjeriço em quimiotipos em função dos compostos majoritários dessa fração. No caso do manjeriço, este tipo de classificação é bastante heterogêneo devido à grande diversidade de compostos e suas concentrações que podem ser encontradas como majoritários.

O conhecimento da diversidade de constituintes químicos que uma mesma espécie pode apresentar é de grande interesse nas áreas farmacêutica e de fitomedicina já que variações no perfil químico podem direcionar seu uso para diferentes fins tecnológicos ou terapêuticos, ou até mesmo não recomendar seu uso por conta de toxicidade ou outros atributos indesejados (BENOMARI et al., 2023). Além disso, quando se busca determinar o potencial bioativo e tecnológico de um extrato ou matriz, conhecer sua composição química é extremamente relevante pois ajuda a elucidar mecanismos envolvidos nesses potenciais.

Considerando o exposto, esta dissertação explora a caracterização química e bioativa de óleos essenciais de manjeriço em um contexto mais específico que o comumente encontrado na literatura ao estabelecer um recorte geográfico tanto para o trabalho experimental quanto para a revisão da literatura. Trata-se de uma abordagem que busca ser menos abrangente, mas mais exata em um contexto particular. O presente material está dividido em 2 capítulos, sendo o primeiro deles um artigo de revisão sistemática submetido para a revista *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* que trata da variabilidade na composição química do óleo essencial de manjeriço cultivado no Brasil, e o segundo, um artigo original redigido a partir do trabalho experimental desenvolvido. Neste último, são abordados aspectos da composição volátil de amostras de manjeriço comercialmente disponíveis na cidade do Rio de Janeiro, bem como aspectos do potencial antioxidante, antimicrobiano e toxicológico agudo dos óleos essenciais obtidos dessas amostras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTORA, R. A.; SALLEH, R. M. Antihyperglycemic effect of *Ocimum* plants: A short review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. Hainan Medical University, 1 ago. 2017.

BENOMARI, F. Z. et al. Chemical Variability and Chemotype Concept of Essential Oils from Algerian Wild Plants. **Molecules**, v. 28, 2023.

BIHARI, C. G. et al. Phytochemical investigation & evaluation for antidiabetic activity of leafy extracts of various *Ocimum* (Tulsi) species by alloxan induced diabetic model. **Journal of Pharmacy Research**, v. 4, n. 1, p. 28–29, 2011.

BLANK, A. F. et al. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de manjeriço e alfavaca. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 1, p. 113–116, 2004.

BLANK, A. F. et al. Maria Bonita: a linalool type basil cultivar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 12, p. 1811–1813, 2007.

CHAUDHARY, S. et al. In-vivo study for anti-hyperglycemic potential of aqueous extract of Basil seeds (*Ocimum basilicum* Linn) and its influence on biochemical parameters, serum electrolytes and haematological indices. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 84, p. 2008–2013, 1 dez. 2016.

EL-BESHBISHY, H. A.; BAHASHWAN, S. A. Hypoglycemic effect of basil (*Ocimum basilicum*) aqueous extract is mediated through inhibition of α -glucosidase and α -amylase activities: An in vitro study. **Toxicology and Industrial Health**, v. 28, n. 1, p. 42–50, fev. 2012.

GUERRA, A. M. N. DE M. et al. Nitrogênio influencia o acúmulo de biomassa e o rendimento de óleo essencial de manjeriço. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 24739–24756, 2020.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

MACHADO, F. M. V. F. et al. Effects of the use of basil (*Ocimum basilicum* L.) in biochemical profile of Wistar rats. **Journal of the Health Sciences Institute**, v. 29, n. 3, p. 191–195, 2011.

ZŁOTEK, U.; SZYCHOWSKI, K. A.; ŚWIECA, M. Potential in vitro antioxidant, anti-inflammatory, antidiabetic, and anticancer effect of arachidonic acid-elicited basil leaves. **Journal of Functional Foods**, v. 36, p. 290–299, 1 set. 2017.

CAPÍTULO 1

Este capítulo foi submetido para a revista *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* como artigo de revisão sistemática da literatura.

A diversidade química do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) cultivado no Brasil: uma revisão sistemática

João Paulo Gonçalves Ferreira¹; Cristiane Barbosa Rocha²; Ricardo Felipe Alves Moreira¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil

² Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil

RESUMO

Uma alta diversidade genética, química e morfológica existe no manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), planta amplamente cultivada no Brasil e utilizada como tempero culinário e erva medicinal. A variabilidade química é particularmente interessante nas áreas da etnomedicina e farmacêutica, uma vez que diferenças nos perfis químicos dos óleos essenciais da mesma espécie podem orientar a sua utilização para diferentes fins terapêuticos ou tecnológicos. Neste contexto, o objetivo principal desta revisão sistemática foi compilar dados de trabalhos relativos à composição química de óleos essenciais obtidos de manjeriço cultivado no Brasil. Os dados foram coletados com base na metodologia PRISMA, e mais de 3.000 registros foram triados para a inclusão final de 27 estudos de acordo com os critérios de elegibilidade. Os quimiotipos ricos em Linalol e Estragol dominam os óleos essenciais de manjeriço cultivados no Brasil, representando mais de 50% das amostras nos estudos incluídos nesta revisão. α -Cadinol, geranial (isômeros cis ou trans), cinamato de metila e eucaliptol também são relevantes devido às altas concentrações em que podem ser encontrados. Os terpenóides são dominantes nestes óleos essenciais em relação à diversidade de compostos e, embora menos diversos, os fenilpropanóides destacam-se por serem frequentemente encontrados como componentes majoritários.

Palavras-chave: PRISMA. Quimiotipo. Terpenos. Fenilpropanóides. Estragol. Linalol.

CAPÍTULO 2

Este capítulo será traduzido para a língua inglesa e posteriormente submetido como artigo original para revista do estrato Qualis A a definir.

Perfil de voláteis e potenciais antioxidante, antimicrobiano e toxicológico do óleo essencial de amostras de manjeriço comercializadas na cidade do Rio de Janeiro

João Paulo Gonçalves Ferreira¹; Ana Elizabeth Cavalcante Fai¹; Cristiane Barbosa Rocha²;
Ricardo Felipe Alves Moreira¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil

² Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil

RESUMO

O objetivo deste estudo foi determinar os perfis químicos e avaliar os potenciais antioxidante, antimicrobiano e toxicológico agudo de óleos essenciais obtidos de amostras de manjeriço disponíveis comercialmente na cidade do Rio de Janeiro (RJ, Brasil). Também foi objetivo avaliar o perfil de voláteis de extratos aquosos dessas mesmas amostras obtidos por HS-SPME. O quimiotipo de óleo essencial dominante foi identificado como o rico em Estragol e β -Linalol. Esses compostos, com destaque também para o Cinamato de metila e Metil-eugenol, foram encontrados como os majoritários em todas as amostras. Quanto aos voláteis dos extratos aquosos, destacaram-se o Metil eugenol, β -Linalol, τ -Cadinol e Estragol, sendo estes compostos de grande contribuição para o aroma de um chá elaborado a partir dessas amostras de manjeriço. Os terpênicos se destacaram quanto à diversidade de compostos na fração volátil, e os fenilpropanoides, quanto às concentrações nessa fração. Os óleos essenciais apresentaram atividade antimicrobiana frente a diversas cepas bacterianas testadas, em especial à *E. coli*, e também puderam ser considerados citotóxicos. Tanto os óleos essenciais quanto os extratos aquosos de todas as marcas analisadas apresentaram potenciais antioxidante similares, indicando que o manjeriço disponível em mercados na cidade do Rio de Janeiro apresenta homogeneidade com relação ao teor de compostos redutores, e é uma erva que é fonte acessível de bioativos antioxidantes.

Palavras-chave: *Ocimum basilicum*. SPME. GCMS. Antioxidantes. Antimicrobianos. *Artemia salina*.

INTRODUÇÃO

O manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) é uma planta nativa da Ásia tropical muito cultivada no Brasil e de uso culinário e medicinal amplamente difundidos. É comercializado tanto na forma fresca quanto seca, na forma de tempero, e é também muito cultivado em hortas domésticas (LORENZI; MATOS, 2008). No mercado de sementes para cultivo encontra-se uma grande variedade de cultivares disponíveis, fruto de programas de melhoramento genético impulsionados pela demanda e interesse humanos por atributos sensoriais e químicos desta planta (BLANK et al., 2004, 2007).

A literatura científica atribui a esta erva diversos efeitos farmacológicos associados, por exemplo, as suas propriedades digestiva, carminativa, antiespasmódica, antimicrobiana, anti-inflamatória, hepato-protetora e anti-hiperglicêmica (ANTORA; SALLEH, 2017; BIHARI et al., 2011; CHAUDHARY et al., 2016; EL-BESHBISHY; BAHASHWAN, 2012; LORENZI; MATOS, 2008; MACHADO et al., 2011). Os compostos que exercem esses efeitos farmacológicos no metabolismo animal têm papel essencial em inúmeros processos fisiológicos do metabolismo vegetal em que são produzidos, como regulação hormonal, atividade fotossintética, reprodução e interações ecológicas, e seus padrões de síntese respondem a estímulos de fatores bióticos ou abióticos aos quais o vegetal está exposto (HELDT; PIECHULLA, 2011; LI et al., 2021; SHARMA et al., 2019; ZHOU et al., 2017). Compostos como ácidos fenólicos e flavonoides têm aumento de sua síntese estimulado em condições de estresse abiótico, enfatizando sua importância na adaptabilidade metabólica vegetal (SHARMA et al., 2019). Compostos voláteis, relacionados principalmente ao óleo essencial obtidos de plantas aromáticas, no geral têm papéis de destaque na ecologia vegetal (na atração de polinizadores, proteção contra herbivoria ou comunicação interindividual), e, portanto, também são fortemente modulados por essas condições externas (LI et al., 2021; ZHOU et al., 2017). Além dos fatores ambientais, a diversidade genotípica nas variedades também reflete na diversidade de compostos encontrados em diferentes frações químicas das plantas. Isso é de extrema relevância especialmente para o manjeriço dada à ampla distribuição desta planta pelo mundo, refletindo em grandes variabilidades genética, química e morfológica que existem nesta espécie (LIBER et al., 2011).

O conhecimento da diversidade de constituintes químicos que uma mesma espécie pode apresentar é de grande interesse nas áreas farmacêutica e de fitomedicina já que variações no perfil químico podem direcionar seu uso para diferentes fins tecnológicos ou terapêuticos, ou até mesmo não recomendar seu uso por conta de toxicidade ou outros atributos indesejados (BENOMARI et al., 2023). Além disso, quando se busca determinar o potencial bioativo e

tecnológico de um extrato ou matriz, conhecer sua composição química é extremamente relevante pois ajuda a elucidar mecanismos envolvidos nesses potenciais.

Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi determinar os perfis químicos e avaliar os potenciais antioxidante, antimicrobiano e toxicológico agudo de óleos essenciais obtidos de amostras de manjeriço disponíveis comercialmente na cidade do Rio de Janeiro (RJ, Brasil). Os extratos aquosos dessas mesmas amostras também tiveram seu potencial antioxidante e perfil de voláteis do *Headspace* obtidos por microextração em fase sólida avaliados.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Obtenção e processamento das amostras

Foram adquiridas amostras de 3 lotes de 5 marcas distintas em mercados da cidade do Rio de Janeiro comercializadas em embalagens plásticas contendo de 2 a 10 g de erva parcialmente triturada. Essas amostras foram processadas em moinho analítico de bancada para obtenção de uma farinha e acondicionadas em frascos de vidro hermeticamente fechados, ao abrigo da luz e à temperatura ambiente.

2.2 Extração dos óleos essenciais

Os óleos essenciais foram isolados por hidrodestilação em aparelho de Clevenger a partir de 40 g de material vegetal em 400 mL de água destilada (1:10 m/v), em temperatura de 100 °C (temperatura de ebulição da água), por um período de 3 horas (SNOUSSI et al., 2016; TELCI et al., 2006). Ao final da extração, os óleos foram coletados do aparelho com 10 mL de Acetato de Etila P.A (Merk). Também foi utilizado Sulfato de Sódio anidro para remoção de água residual. Após evaporação do solvente com nitrogênio gasoso comercial, os óleos essenciais puros foram transferidos para frascos de 2 mL de cor âmbar, ficando armazenados a -18°C.

2.3 Preparo dos extratos aquosos

Os extratos aquosos foram preparados por infusão de 1,0 g de amostra em 75 mL de água destilada fervente sob agitação durante 10 minutos, seguida de filtração a vácuo. Após resfriamento à temperatura ambiente, os extratos foram avolumados para 100 mL em balão volumétrico para se obter uma concentração inicial de 0,01 g/mL, a partir da qual foram feitas diluições necessárias aos experimentos subsequentes (ABI-ZAID et al., 2015). Para os extratos aquosos submetidos às análises de HS-SPME/GC-MS, foram utilizados 5,0 g de amostra em 75 mL de água para maior concentração dos analitos (JUNG et al., 2022).

2.4 Análise do perfil químico dos óleos essenciais por GC-MS

A identificação e quantificação dos constituintes dos óleos essenciais foram realizadas em um sistema do tipo GC-2010Plus/GCMS-QP2010 da Shimadzu (Japão). As condições

cromatográficas foram modificadas e otimizadas experimentalmente a partir de condições norteadas pela literatura (AVETISYAN et al., 2017; SNOUSSI et al., 2016). As injeções do volume de 1 μL de óleo essencial foram feitas em um split de 1:100 com a temperatura do injetor em 220 $^{\circ}\text{C}$ e tempo de corte de solvente de 3 minutos. Os compostos foram separados em coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm d.i.) revestida com dimetilpolissiloxano (100%) com espessura de filme de 0,25 μm (SPB-1, Supelco, EUA). A temperatura do forno cromatográfico foi programada para aumentar de 60 a 240 $^{\circ}\text{C}$ a uma taxa de 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min.}$, totalizando 60 minutos de corrida cromatográfica, enquanto que as temperaturas da fonte de íons e da interface entre o sistema cromatográfico e o espectrômetro de massas foram mantidas a 240 $^{\circ}\text{C}$. O gás carregador utilizado foi o Hélio em um fluxo de 1,0 mL/min. O espectrômetro de massas operou em uma voltagem de ionização de 70 eV, varrendo fragmentos numa faixa de 30 a 400 m/z em ciclos de 3 décimos de segundo. A identificação dos compostos constituintes dos óleos essenciais foi baseada na comparação de seus espectros de massas com os dados das bibliotecas espectrais NIST12.lib e NIST62.lib, disponíveis no software gerenciador desse sistema de GC-MS. Essa identificação foi complementada pela comparação dos índices de Kovats, calculados (VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963) com o auxílio de uma mistura de alcanos saturados (C7–C40 a 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ cada componente; Supelco, EUA) analisada nas mesmas condições, com aqueles disponíveis na literatura. As concentrações dos compostos foram estimadas com base na técnica de normalização de área.

2.5 Análise por GC-MS do perfil de voláteis dos extratos aquosos obtidos por HS-SPME

O método para análises dos voláteis do *headspace* dos extratos aquosos usando micro extração em fase sólida foi desenvolvido a partir de pequenas modificações do de JUNG et al., (2022). Volumes de 10 mL dos extratos aquosos elaborados imediatamente antes das análises foram transferidos para frascos de vidro de 100 mL tampados com septo de PTFE/silicone e contendo uma pequena barra magnética para agitação. Os frascos foram mantidos a 60 $^{\circ}\text{C}$ por 60 minutos sob constante agitação com uma fibra revestida de 100 μm de polidimetilssiloxano (100% PDMS; Supelco, EUA) exposta ao *headspace* com o auxílio de um Holder manual (Supelco, EUA) inserido pelo septo. Anteriormente à exposição da fibra ao *headspace*, seu pré-condicionamento foi feito a 250 $^{\circ}\text{C}$ por 30 minutos no injetor do cromatógrafo, e posteriormente, sua dessorção foi feita a 250 $^{\circ}\text{C}$ por 5 minutos no injetor antes do início da corrida cromatográfica.

O sistema cromatográfico foi o mesmo utilizado nas análises dos óleos essenciais com pequenas modificações nas condições: as injeções foram realizadas no modo *splitless* a uma temperatura de 250 $^{\circ}\text{C}$. A coluna capilar, rampa de temperatura, fluxo de gás e parâmetros de

operação do espectrômetro de massas foram os mesmos das análises dos óleos essenciais, com modificações na temperatura de interface e da fonte de íons (ambos a 260 °C). A identificação e quantificação dos componentes também foi realizada da mesma forma que para os óleos essenciais, inclusive com o cálculo dos índices de Kovats com o auxílio da mistura de alcanos.

2.6 Potencial antioxidante dos extratos aquosos e óleos essenciais

2.6.1 Redução do reagente de Folin-Ciocalteu

Para as reações do ensaio de redução do reagente de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965), ou teor total de fenólicos (TTFen), 100 µL de solução de amostra (extratos aquosos: 1000 µg/mL; soluções metanólicas de óleo essencial: 3000 µg/mL) foram adicionados a tubos de ensaio contendo 500 µL de solução 10 % (v/v) do reagente de Folin Ciocalteu (Sigma-Aldrich). Nos tubos referentes aos brancos foram adicionados 100 µL de água destilada ou metanol ao invés de solução de amostra. Após homogeneização e 5 minutos à temperatura ambiente, 400 µL de solução de carbonato de sódio 7,5 % (m/v) foram adicionados. As absorbâncias foram determinadas em espectrofotômetro a 760 nm após incubação por 2 horas ao abrigo da luz à temperatura ambiente. Com a equação da reta ($y = 0,01183x$; $R^2 = 0,992$) obtida por regressão linear de uma curva padrão de Ácido Gálico (nas concentrações 5, 10, 25, 50, 75 e 100 µg/mL), foi estimada a capacidade redutora total das amostras de extrato aquoso e óleos essenciais, com os resultados sendo expressos em equivalentes de Ácido Gálico por grama de amostra vegetal (para os extratos aquosos) ou de óleo essencial (mg EAG/g).

2.6.2 Método FRAP

No ensaio de determinação do potencial de redução do ferro⁺³ (*Ferric reducing antioxidant power*) (RUFINO et al., 2006) as seguintes soluções de estoque foram utilizadas: tampão acetato 300 mM (pH 3,6), TPTZ 10 mM (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina; Sigma-Aldrich, Suíça) em HCl 40 mM, FeCl₃.6H₂O 20 mM e, para a curva padrão de sulfato ferroso, FeSO₄ 500, 1000, 1500 e 2000 µM (regressão linear: $y = 0,0004178x + 0,2895$; $R^2 = 0,9771$).

Para as reações, 29,4 µL de solução de amostra em diferentes concentrações (extratos aquosos: 1000, 1500 e 2000 µg/mL; soluções metanólicas de óleo essencial: 1500, 2000, 3000 µg/mL) foram transferidos para tubos de ensaio, onde foi acrescentado 88,2 µL de água destilada e 882,4 µL do reagente de trabalho (25 mL do tampão acetato 300 mM, 2,5 mL de TPTZ 10 mM e 2,5 mL FeCl₃ 20 mM, utilizado imediatamente após preparação). Os tubos foram homogeneizados e incubados por 30 minutos à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Após incubação, absorbância dos meios de reação foi determinada em espectrofotômetro a 595 nm e esses dados foram plotados em função da concentração de amostra. Com as equações das

retas obtidas por regressão linear da curva padrão e da curva gerada para cada amostra, foi estimada a concentração de equivalentes de sulfato ferroso em cada amostra, sendo os resultados expressos em μM de FeSO_4/g de amostra.

2.6.3 Redução do radical ABTS

Para determinar a capacidade de sequestro do radical orgânico 2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolina-6-sulfonato), 80 μL de solução de amostra em diferentes concentrações (extratos aquosos: 200, 300, 400 e 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$; soluções metanólicas de óleo essencial: 200, 400, 600 e 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$) foram adicionados a 720 μL de solução etanólica do radical ABTS (absorbância de $0,800 \pm 0,050$ a 750 nm) e homogeneizadas. Após incubação por 15 minutos ao abrigo da luz à temperatura ambiente, a absorbância do meio foi determinada em espectrofotômetro usando etanol como branco (RUFINO et al., 2007a). A concentração inibitória 50% (IC_{50}) foi estimada a partir da regressão linear da curva gerada pela plotagem do percentual de desativação do radical em função da concentração de amostra.

2.6.4 Redução do radical DPPH

A atividade de sequestro do radical orgânico 2,2-difenil-1-picril-hidrazila foi determinada com base no método de Brand-Williams (GOVINDARAJAN et al., 2003; RUFINO et al., 2007b). Para as reações, 100 μL de solução de amostra em diferentes concentrações (extratos aquosos: 300, 500, 700 e 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$; soluções metanólicas de óleo essencial: 500, 1000, 2000 e 3000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) foram adicionados a 798 μL de solução metanólica do radical DPPH (absorbância de $0,800 \pm 0,050$ a 515 nm) e homogeneizadas. Após incubação por 60 minutos ao abrigo da luz à temperatura ambiente, a absorbância do meio foi determinada em espectrofotômetro usando metanol como branco. A IC_{50} foi estimada assim como no ensaio de redução do radical ABTS.

2.6.5 Teor total de flavonoides dos extratos aquosos

Para determinar o teor total de flavonoides (TTFlav) dos extratos aquosos foi realizado o método de complexação com cloreto de alumínio e nitrito de sódio. 500 μL de solução de extrato aquoso (água destilada no branco) a 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ foram adicionados a 3,2 mL de água destilada e 150 μL de NaNO_2 5 % (m/v). Nos tubos referentes aos brancos foram adicionados 500 μL de água destilada ao invés de solução de amostra. Após homogeneização e incubação a temperatura ambiente por 5 minutos, 150 μL de AlCl_3 10 % (m/v) foram adicionados, e, após 1 minuto, 1,0 mL de NaOH 1 M. As absorbâncias foram determinadas a 510 nm, calibrando o espectrofotômetro previamente com o branco. Com a equação da reta ($y = 0,0005740x$; $R^2 = 0,9928$) obtida por regressão linear de uma curva padrão de Rutina (nas concentrações 300,

600, 900 e 1200 µg/mL), foi estimado o teor total de flavonoides dos extratos aquosos, com os resultados sendo expressos em equivalentes de Rutina por grama de material vegetal (mg ER/g).

2.7 Potencial antimicrobiano dos óleos essenciais

Alíquotas iguais dos 15 óleos essenciais disponíveis foram misturadas de forma a se obter uma amostra única representativa do *pool* de amostras. Esse *mix* único foi utilizado no Teste de suscetibilidade microbiana (TSA), na determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM), cujos procedimentos foram adaptados da literatura (BRITO et al., 2021; DAL POZZO et al., 2011; DOS SANTOS FILHO et al., 2019; STANOJEVIC et al., 2017). Foram utilizadas 7 cepas bacterianas (Gram-positivas: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*; Gram-Negativas: *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Campylobacter jejuni* e *Pseudomonas aeruginosa*). Inicialmente as bactérias mantidas em estoque foram inoculadas em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) e incubadas por 24 horas a 37 °C para crescimento. Após isso, para se preparar os inóculos bacterianos, alíquotas do caldo BHI contendo as bactérias crescidas foram transferidas para solução salina estéril até se obter uma turbidez equivalente a 0,5 na escala de Mac Farland.

2.7.1 Teste de suscetibilidade microbiana

100 µL do inóculo bacteriano foram semeados em ágar Müller-Hinton em placas de petri com o auxílio de um *swab* em triplicata. Discos de papel de filtro estéreis impregnados com solução metanólica de óleo essencial (1:1 v/v; 455 mg/mL) foram então dispostos na superfície do ágar inoculado. O controle negativo consistiu em um disco esterilizado impregnado apenas com metanol, e o controle de esterilidade, em um disco esterilizado sem impregnação. Discos impregnados com 5 µg de Imipinem, ciprofloxacino e azitromicina foram utilizados como controles positivos. As placas foram incubadas por 24 horas a 37 °C e em seguida foram medidos os diâmetros da zona de inibição, em milímetros. A suscetibilidade bacteriana frente ao óleo essencial foi classificada de acordo com Ausência de halo (-), Halo presente < 10 mm (+), halo presente entre 10 e 60 mm (++) e Halo presente > 60 mm (+++).

2.7.2 Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM)

Este ensaio foi realizado em caldo Müller-Hinton em placa de microtitulação. Basicamente, uma solução metanólica do *mix* de óleos essenciais a 50 mg/mL foi diluída em Caldo Müller-Hinton inoculado com bactérias (na concentração $5,0 \times 10^5$ UFC/mL, conforme orienta a CLSI, 2015) nos poços da microplaca para se obter as concentrações 7500, 5000, 3750, 2500, 1875 e 1250 µg/mL (óleo essencial em metanol + caldo) e avaliar o crescimento bacteriano nessas concentrações. Para controle de toxicidade do solvente foi realizado o mesmo

procedimento apenas com metanol, e o controle de crescimento consistiu na incubação apenas do caldo inoculado sem adição de metanol ou solução de óleo essencial. As microplacas foram incubadas a 37 °C por 24 horas em condições de aerobiose. Após isso, foi registrada a menor concentração do óleo capaz de inibir o total crescimento bacteriano (CIM). Para determinação da CBM, uma alíquota de 10 µL dos poços onde não houve crescimento visível após a incubação foi transferida e semeada em placas de petri contendo ágar Müller-Hinton, em triplicata. Após nova incubação por 24 horas a 37 °C em condições de aerobiose, a menor concentração das soluções de óleo essencial em que não foi observado crescimento bacteriano corresponde à CBM do óleo essencial frente às cepas bacterianas.

2.8 Toxicidade aguda dos óleos essenciais pelo Teste com *Artemia salina* (TAS)

O potencial toxicológico agudo dos óleos essenciais foi avaliado pelo bioensaio com *Artemia salina* (MEYER et al., 1982). Primeiramente, a eclosão dos cistos adquiridos comercialmente foi promovida em água marinha (coletada em Itacoatiara, Niterói, RJ, 22°58'28.8"S 43°02'21.8"O) sob iluminação e aeração artificiais durante 48 horas. Após isso, 10 larvas foram coletadas e transferidas para cada tubo de ensaio e foram expostas às concentrações de 5, 10, 15, 20 e 25 µg/mL (ppm) de óleo essencial em água marinha com metanol (2% v/v), e foi avaliada a mortalidade após 24 horas de exposição. No controle negativo as larvas foram expostas apenas à água marinha com metanol (2% v/v). Esses procedimentos foram realizados em triplicata para cada concentração testada. A partir da contagem dos sobreviventes e determinação da taxa de mortalidade em cada concentração, elaborou-se a melhor reta obtida por regressão linear (no software GraphPad Prism 8), a partir da qual foi estimada a concentração letal para 50% dos indivíduos (LC₅₀).

2.9 Análise estatística

O tratamento estatístico dos dados foi realizado nos softwares Microsoft Excel 2016 e GraphPad Prism 8.0 (teste de normalidade de Shapiro-Wilk, análise de variância com teste de comparação múltipla de Tukey e testes de correlação de Pearson ou Spearman).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Extração e análise do perfil químico dos óleos essenciais por GC-MS

O rendimento médio de extração dos óleos essenciais foi de $0,51 \pm 0,11$ % ($5,1 \pm 1,1$ mg de óleo essencial por g de amostra seca), e a análise de variância revelou uniformidade entre as diferentes marcas ($p > 0,05$). As análises de GC-MS permitiram identificar ao todo 95 compostos constituintes desses óleos essenciais. O gráfico 1 mostra a distribuição desses compostos por classes químicas principais, mas é importante ter em mente que sempre há

sobreposição de classes: terpenos são hidrocarbonetos e terpenos oxigenados podem apresentar diferentes grupos funcionais que os tornam cetonas, álcoois, ésteres ou aldeídos, por exemplo.

Os 95 compostos se distribuem em 11 classes químicas: monoterpenos (n = 12), monoterpenos oxigenados (n = 20), sesquiterpenos (n = 22), sesquiterpenos oxigenados (n = 9), diterpeno oxigenado (n = 1), fenilpropanoídeos (n = 7), ácidos graxos (n = 12), álcoois (n = 2), aldeídos (n = 3), cetonas (n = 5) e ésteres (n = 9). A figura 1 também mostra que os compostos terpênicos foram dominantes em relação à diversidade.

Já com relação à contribuição de cada classe no conteúdo dos óleos essenciais, os fenilpropanoídeos se destacam (Figura 2). Essa classe, apesar de agrupar apenas 7 compostos (7,37 % do total de compostos identificados), corresponde a quase metade do conteúdo médio dos óleos essenciais, e abrange o composto identificado como majoritário em todas as amostras: o Estragol.

Figura 1 – Distribuição dos constituintes dos óleos essenciais de manjeriço agrupados por classe química principal.

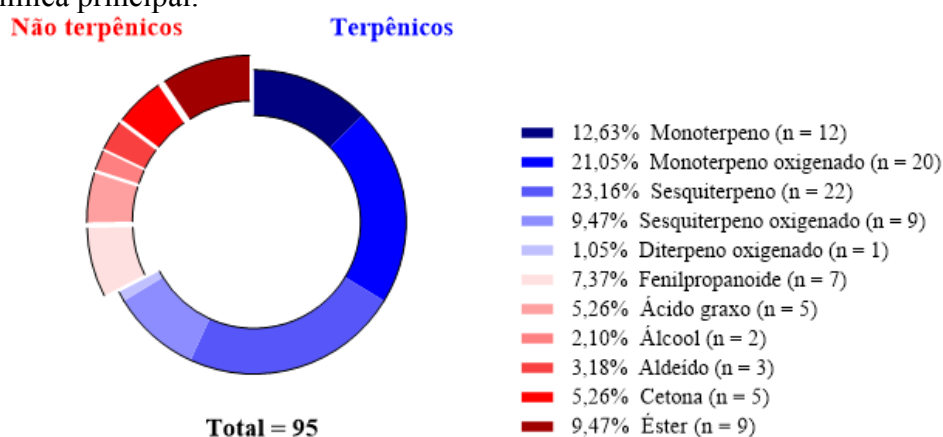
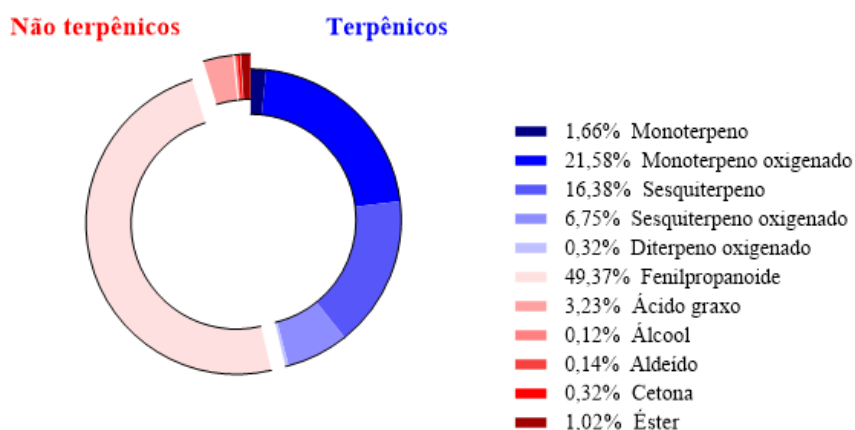


Figura 2 – Contribuição média de cada classe de compostos na composição total dos óleos essenciais.



Os óleos essenciais obtidos das amostras comerciais apresentaram perfil químico qualitativamente e quantitativamente muito semelhantes entre si, com o estragol e β -linalol sendo revelados como compostos majoritários, com destaque também para o cinamato de metila e metil-eugenol. Essa uniformidade indica que todas pertencem à mesma espécie e ao mesmo quimiotipo – rico em estragol e linalol. A tabela 1 apresenta os compostos que se destacaram quantitativamente – compostos cujas concentrações médias corresponderam a no mínimo 0,5 % (n = 23).

Tabela 1 – Principais compostos identificados nos óleos essenciais de manjeriço de concentração relativa média maior que 0,5 %.

Compostos	IK (calc.)	IK (Lit.) (NIST)	Marca 1 (%)	Marca 2 (%)	Marca 3 (%)	Marca 4 (%)	Marca 5 (%)
Eucaliptol ^{MO}	1016	1019	4,40±0,19	4,14±1,57	3,09±0,35	4,24±0,79	1,94±1,10
D-limoneno ^M	1019	1017	-	0,59±0,00	-	-	-
β -Linalol ^{MO}	1087	1091	17,63±0,90	14,74±9,82	9,42±4,71	20,74±3,89	8,91±2,87
Terpinen-4-ol ^{MO}	1156	1154	0,64±0,02	0,88±0,16	0,55±0,11	0,60±0,14	0,60±0,06
Estragol ^{FP}	1179	1170	38,38±2,74	37,28±2,66	37,84±16,86	28,17±2,46	31,33±2,45
Acetato de bornila ^{MO}	1263	1259	0,70±0,12	0,68±0,13	0,61±0,38	0,67±0,12	0,65±0,18
(E)-Cinamaldeído ^{FP}	1267	1257	0,97±0,31	1,10±0,14	0,73±0,42	1,52±0,32	0,95±0,32
Eugenol ^{FP}	1325	1325	1,78±0,59	2,13±0,59	1,01±0,51	2,84±0,62	1,77±0,56
Cinamato de metila ^{FP}	1348	1365	6,50±1,38	7,05±1,09	4,65±2,76	9,26±1,39	6,37±1,89
Metil eugenol ^{FP}	1371	1373	4,24±0,75	4,53±0,52	5,28±1,91	3,88±1,08	6,14±1,09
(-)- β -Elemeno ^S	1380	1380	0,58±0,12	0,48±0,13	0,53±0,22	0,52±0,14	0,52±0,04
β -Cariofileno ^S	1406	1408	1,97±0,36	2,62±1,05	3,75±1,01	1,59±0,54	3,44±0,67
α -Bergamoteno ^S	1426	1434	3,62±0,37	3,48±0,57	3,75±1,17	4,38±0,76	4,24±0,20
α -Cariofileno ^S	1438	1438	0,82±0,09	1,02±0,36	1,35±0,28	0,72±0,20	1,47±0,30
(Z)- β -Farneseno ^S	1443	1452	0,41±0,08	0,46±0,18	0,72±0,08	0,34±0,13	0,66±0,09
Germacreno D ^S	1464	1461	1,53±0,32	1,45±0,43	1,83±0,41	1,43±0,40	1,33±0,16
γ -Cadineno ^S	1496	1492	1,50±0,20	1,45±0,38	1,56±0,64	1,83±0,40	1,96±0,10
α -Bisaboleno ^S	1527	1529	1,27±0,25	1,49±0,65	2,55±0,57	0,96±0,48	2,29±0,34
Óxido de cariofileno ^{SO}	1555	1558	0,34±0,10	0,56±0,24	0,75±0,13	0,37±0,13	0,97±0,21
Cubanol ^{SO}	1590	1605	0,45±0,02	0,46±0,12	0,50±0,30	0,55±0,10	0,59±0,08
τ -Cadinol ^{SO}	1616	1611	3,85±0,11	3,76±0,90	3,82±1,98	4,39±0,60	4,64±0,72
Ác. hexadecanoico ^{AG}	1951	1949	0,81±0,08	0,95±0,72	3,41±1,61	0,96±0,59	4,16±2,26
Ác. linoleico ^{AG}	2112	2113	0,25±0,12	0,15±0,00	1,64±0,19	0,16±0,05	0,34±0,30

% (Méd ± DP); Monoterpeno^M; Monoterpeno oxigenado^{MO}; Sesquiterpeno^S; Sesquiterpeno oxigenado^{SO}; Ácido graxo^{AG}; Diterpeno oxigenado^{DO}; Fenilpropanoide^{FP}; IK – índice de Kovats (VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963);

O β -Linalol é um monoterpeno oxigenado, precisamente um álcool monoterpênico, que é um dos principais compostos florais da natureza (APROTOSOAIE et al., 2014) e frequentemente um dos majoritários em óleos essenciais de manjeriço. Possui propriedades sedativas, analgésicas, anti-inflamatórias (APROTOSOAIE et al., 2014) e anti-hiperlipêmicas (PEREIRA et al., 2018), mas também é considerado um composto citotóxico e potencialmente irritante para a pele (APROTOSOAIE et al., 2014; MAJNOONI et al., 2012). Seu baixo limiar de detecção de odor (0,087 – 7,4 ppb (BOONBUMRUNG et al., 2001; CZERNY et al., 2008)) e altas concentrações nos óleos essenciais tornam esse composto um dos principais contribuintes para o aroma desses óleos. Seu aroma é descrito como cítrico, floral, doce e de lavanda (ACREE; ARN, 2004; ZELLER; RYCHLIK, 2007).

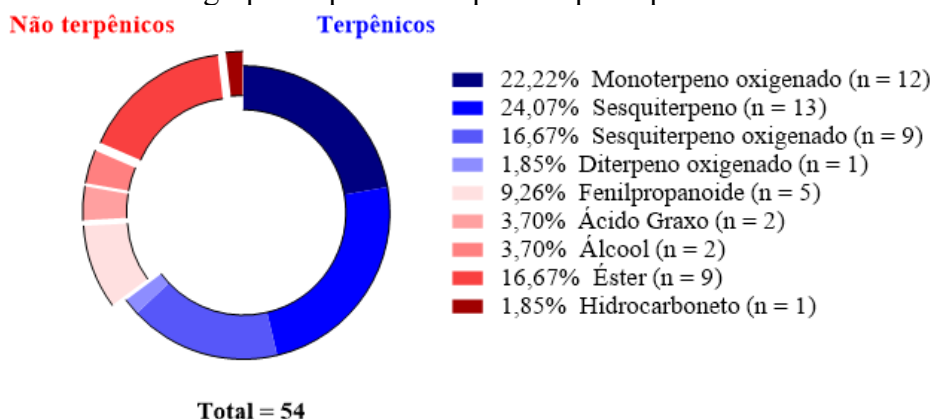
O fenilpropanoide Estragol foi o composto majoritário de todas as amostras analisadas. Assim como o β -Linalol, é composto de destaque para contribuição no aroma desses óleos essenciais por conta seu baixo limiar de detecção de odor (6 – 30 ppb (LEFFINGWELL; LEFFINGWELL, 1991)) e altas concentrações em que foi encontrado. Possui propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e inseticida (GREAY; HAMMER, 2015; KFOURY et al., 2015; VALER et al., 2016), e não é considerado um composto seguro pois sua metabolização gera intermediários genotóxicos e carcinogênicos (BERGAU et al., 2021; FROUSHANI et al., 2016; MONIEN et al., 2019).

O Metil eugenol e o Cinamato de metila também são fenilpropanoides de destaque encontrados nos óleos essenciais das amostras de manjeriço obtidas. O metil-eugenol e alguns compostos relacionados, como o eugenol, são frequentemente utilizados como constituintes de loções na odontologia por conta de propriedades antissépticas e anti-inflamatórias locais, mas em contrapartida também podem gerar metabólitos potencialmente genotóxicos (MOHAMMADI NEJAD; ÖZGÜNEŞ; BAŞARAN, 2017). O cinamato de metila possui efeitos antimicrobiano e larvicida, sendo considerado também um composto citotóxico (FUJIWARA et al., 2017; TSUZUKI et al., 2016). São relatados na literatura quimiotipos de manjeriço ricos em Cinamato de metila, como as variedades *Cinnamon* e *Norine* (BLANK et al., 2015; DA COSTA et al., 2015). Exemplares de manjeriço desses quimiotipos frequentemente apresentam aromas que remetem aos da canela.

3.2 Análise do perfil de voláteis dos extratos aquosos por HS-SPME/GC-MS

Ao todo foram identificados 54 compostos voláteis do *Headspace* dos extratos aquosos, distribuídos em 9 classes químicas (Figura 3): monoterpenos oxigenados (n = 12), sesquiterpenos (n = 13), sesquiterpenos oxigenados (n = 9), diterpeno oxigenado (n = 1), fenilpropanoides (n = 5), ácidos graxos (n = 2), álcoois (n = 2), ésteres (n = 9) e hidrocarboneto (n = 1). Assim como nos óleos essenciais, os terpênicos foram os dominantes em relação à diversidade de compostos no *Headspace* (Figura 3) e os fenilpropanoides se destacaram em relação à concentração (Figura 4). A tabela 2 mostra compostos com concentração relativa maior que 0,5 % ou que foram identificados nos óleos essenciais das amostras correspondentes.

Figura 3 – Distribuição dos compostos voláteis do *Headspace* dos extratos aquosos de manjeriço identificados agrupados por classe química principal.



Os voláteis de maior destaque dos extratos aquosos foram o Metil eugenol, β -Linalol, τ -Cadinol e Estragol, sendo considerados os principais do *headspace*. O Metil eugenol é um fenilpropanoide com odor característico de cravo e especiarias (ACREE; ARN, 2004) e limiar de detecção de odor em água de 820 ppb (LEFFINGWELL; LEFFINGWELL, 1991), e que possui propriedades antisséptica, anti-inflamatória e potencialmente genotóxica (MOHAMMADI NEJAD; ÖZGÜNEŞ; BAŞARAN, 2017). O β -Linalol e o Estragol também foram identificados como majoritários dos óleos essenciais. O aroma do β -Linalol é descrito como cítrico, floral, doce e de lavanda (ACREE; ARN, 2004; ZELLER; RYCHLIK, 2007), e o do Estragol, como semelhante a alcaçuz e anis (ACREE; ARN, 2004). Por serem majoritários e ambos possuírem baixo limiar de detecção de odor (0,087 – 7,4 (BOONBUMRUNG et al., 2001; CZERNY et al., 2008) e 6 – 30 (LEFFINGWELL; LEFFINGWELL, 1991) ppb, respectivamente), podem ser considerados compostos de grande contribuição para o aroma dos extratos aquosos. Quanto ao τ -Cadinol, este é um álcool sesquiterpenoide de farmacologia ainda pouco estudada, mas com propriedades imunomoduladoras e antitripanossômicas já relatadas (DOS SANTOS et al., 2021; TAKEI; UMEYAMA; ARIHARA, 2006). Informações sobre descrição de odor e limiares de detecção de odor desse composto também não foram encontrados, à exceção de seu isômero α -Cadinol, cujo odor é descrito como herbal e amadeirado (ACREE; ARN, 2004).

A obtenção dos óleos essenciais por hidrodestilação de maneira exaustiva (3 horas a 100 °C) com base na volatilidade dos componentes resultou na extração de uma diversidade maior de compostos voláteis em comparação com a infusão em água fervente (94 compostos voláteis identificados nos óleos em comparação com 54 nos extratos aquosos). Além dessa diferença no perfil qualitativo, variações significativas no teor dos principais voláteis também foram observadas. O estragol, tendo sido encontrado como majoritário nos óleos essenciais em

concentrações que variaram de $(28,17 \pm 2,46)$ a $(38,38 \pm 2,74)$ %, foi encontrado na fração volátil dos extratos aquosos em faixas de concentração relativa que não ultrapassaram $(10,71 \pm 4,60)$ % dos voláteis do *headspace* adsorvidos pela fibra. Já o metil eugenol, cujo teor médio nos óleos essenciais correspondeu a $(4,82 \pm 1,42)$ %, foi o principal volátil detectado no *headspace* dos extratos aquosos, correspondendo a $(16,70 \pm 4,59)$ % dos compostos adsorvidos pela fibra. Variações do tipo ilustradas pelo caso desses dois fenilpropanoídes podem ser atribuídas a diferenças na seletividade de extração dos voláteis entre os dois processos (hidrodestilação do material vegetal e micro extração em fase sólida de voláteis de um extrato aquoso desse mesmo material vegetal). Isso também pode explicar a observação de que não foram identificados monoterpênicos na fração volátil dos extratos aquosos. Sugere-se que a extração por infusão em água fervente não foi capaz de extrair esses compostos mais apolares e de menor massa molecular da matriz vegetal, uma vez que, se presentes no extrato, seria possível detectá-los já que o revestimento da fibra utilizada na micro extração em fase sólida era de natureza apolar (100% PDMS).

Figura 4 – Contribuição média de cada classe de compostos do *Headspace* dos extratos aquosos de manjeriço.

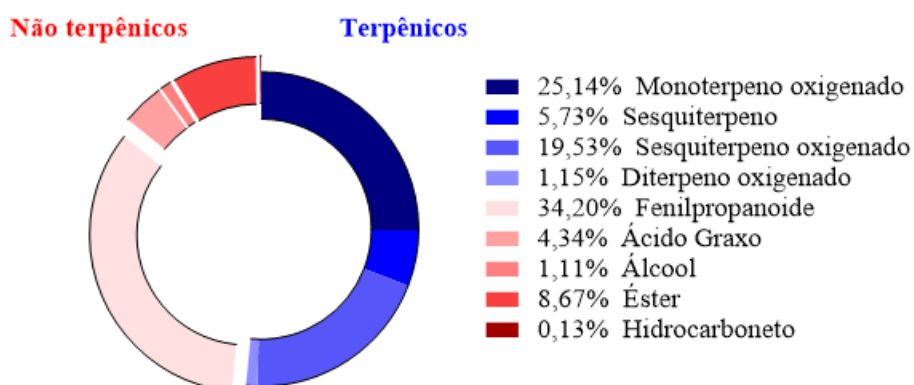


Tabela 2 – Compostos identificados no *Headspace* dos extratos aquosos de manjeriço com concentrações relativas maiores que 0,5% ou que foram identificados nos óleos essenciais das amostras correspondentes.

Compostos	IK (calc.)	IK (Lit.) (NIST)	Marca 1 (%)	Marca 2 (%)	Marca 3 (%)	Marca 4 (%)	Marca 5 (%)
Eucaliptol ^{MO}	1011	1019	4,69±2,47	5,61±0,69	5,12±1,13	4,25±0,52	4,04±1,45
β-Linalol ^{MO}	1081	1091	15,89±4,33	20,04±3,73	14,05±4,97	18,47±1,73	12,20±1,56
Cânfora ^{MO}	1108	1118	0,58±0,13	0,61±0,12	0,53±0,07	0,63±0,07	0,49±0,05
Terpinen-4-ol ^{MO}	1152	1154	1,27±0,08	1,22±0,17	1,28±0,09	1,05±0,16	1,26±0,08
L-α-Terpineol ^{MO}	1164	1172	1,63±0,09	1,36±0,35	1,59±0,31	1,35±0,21	1,05±0,33
Estragol ^{FP}	1168	1170	10,71±4,60	8,21±4,31	8,40±2,63	5,48±3,29	9,65±3,97
Acetato de bornila ^{MO}	1263	1259	0,23±0,12	0,19±0,08	0,18±0,10	0,26±0,05	0,21±0,02
(E)-Cinamaldeído ^{FP}	1265	1257	1,80±0,26	1,45±0,58	1,38±0,56	1,92±0,12	2,11±0,98
Eugenol ^{FP}	1322	1325	2,98±1,34	2,08±0,56	1,34±0,26	2,43±0,24	2,84±2,17
Cinamato de metila ^{FP}	1343	1365	2,53±1,23	4,44±1,56	4,15±2,33	7,69±2,36	10,36±4,88
Metil eugenol ^{FP}	1369	1373	16,49±3,01	14,84±3,24	18,04±5,06	13,04±4,41	21,08±1,72
(-)-β-Elemeno ^S	1380	1380	0,18±0,11	0,15±0,06	-	0,33±0,27	0,06±0,00
α-Bergamoteno ^S	1424	1434	1,83±1,21	1,49±0,51	1,35±0,61	3,32±1,75	1,69±0,50
α-Cariofileno ^S	1438	1438	0,16±0,07	0,30±0,14	0,20±0,05	0,36±0,27	0,23±0,01
Dodecanol ^{ALC}	1457	1459	0,27±0,09	1,64±1,28	0,28±0,15	0,18±0,12	0,48±0,00
(Z)-β-Farneseno ^S	1443	1452	0,17±0,00	0,16±0,00	0,11±0,00	0,15±0,08	-
Germacreno D ^S	1464	1461	0,15±0,05	0,25±0,16	0,38±0,06	0,31±0,23	-
γ-Cadineno ^S	1496	1492	0,90±0,67	0,62±0,22	0,75±0,14	1,97±1,23	0,77±0,19
α-Bisaboleno ^S	1526	1529	0,49±0,30	0,66±0,39	1,38±0,09	0,74±0,20	0,80±0,24
Espatuleno ^{SO}	1551	1552	1,35±0,31	1,43±0,77	1,60±0,67	1,86±0,14	1,65±0,16
Óxido de cariofileno ^{SO}	1555	1558	0,51±0,17	1,07±0,58	1,37±0,43	1,01±0,08	1,64±0,77
Humuleno-1,2-epóxido ^{SO}	1579	1576	0,40±0,08	0,67±0,35	0,64±0,11	0,72±0,08	1,22±0,45
Cubeno ^{SO}	1590	1605	0,89±0,33	1,43±0,83	0,78±0,34	1,58±0,67	1,07±0,41
τ-Cadinol ^{SO}	1616	1611	10,66±3,82	11,63±8,10	9,40±3,52	16,01±3,21	11,27±2,63
α-Cadinol ^{SO}	1627	1631	0,88±0,26	1,48±0,91	0,78±0,24	1,14±0,11	1,05±0,06
α-Bisabolol ^{SO}	1657	1659	0,89±0,18	1,43±0,99	1,03±0,43	0,63±0,16	0,71±0,25
Tetradecanol ^{ALC}	1661	1660	0,63±0,00	-	-	-	-
Epimanol ^{SO}	2025	2036	1,18±0,44	1,13±0,88	2,33±0,72	0,75±0,34	0,61±0,10
Éster metílico do ácido linoleico ^{ES}	2066	2067	2,10±2,65	6,59±0,00	1,13±1,26	0,40±0,40	0,18±0,05
Éster metílico do ácido linolênico ^{ES}	2070	2071	4,26±5,54	12,26±0,00	2,00±2,31	0,81±0,91	0,40±0,14
Éster metílico do ácido (E)-9-octadecenoico ^{ES}	2076	2086	2,77±0,91	1,85±0,00	5,60±4,53	0,32±0,27	1,30±0,00
Fitol ^{DO}	2096	2099	0,28±0,25	0,42±0,00	3,68±0,00	1,23±0,00	-
Ácido hexadecanoico ^{AG}	1951	1949	-	-	-	-	-
Éster metílico do ácido 10-metil-octadecanoico ^{ES}	2106	2110	0,34±0,25	0,87±0,00	1,02±0,61	0,89±0,00	-
Ácido linoleico ^{AG}	2112	2113	0,48±0,00	7,48±0,00	2,52±1,81	-	-
Ácido Oleico ^{AG}	2144	2140	-	0,69±0,00	1,71±0,00	-	-

% (Méd ± DP); Monoterpeno^M; Monoterpeno oxigenado^{MO}; Sesquiterpeno^S; Sesquiterpeno oxigenado^{SO}; Ácido graxo^{AG}; Diterpeno oxigenado^{DO}; Fenilpropanoide^{FP}; IK – índice de Kovats (VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963);

3.3 Potencial antioxidante dos óleos essenciais e extratos aquosos

Os resultados dos experimentos para determinação do potencial antioxidante dos óleos essenciais e extratos aquosos são mostrados nas Figuras 5 e 6 e na Tabela 3.

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas com relação ao TTFen e FRAP entre os óleos essenciais das diferentes marcas, portanto, esses experimentos revelaram uniformidade com relação ao potencial antioxidante dos óleos essenciais obtidos de amostras das diferentes marcas (Figura 5A e 5B). Já nos experimentos de determinação da IC₅₀ em DPPH

e ABTS, essa uniformidade não se manteve: foi observada diferença estatisticamente significativa entre as marcas 3 e 4 em ambos os ensaios (IC_{50} em DPPH: $p = 0,0312$; IC_{50} em ABTS: $p = 0,0385$). A análise das seções C e D da Figura 5 permite a observação de que a marca 5 seguiu tendência similar à marca 3, mas as diferenças em relação à marca 4 não foram estatisticamente significativas.

Quanto à comparação entre extratos aquosos das amostras de diferentes marcas, a análise de variância não demonstrou diferenças estatisticamente significativas com relação ao TTFen, TTFlav, FRAP e IC_{50} em DPPH. Em relação ao IC_{50} em ABTS, a marca 1 se destacou pelos seus menores valores médios em relação às demais marcas. As diferenças, contudo, só foram estatisticamente significativas das marcas 4 e 5 ($p = 0,0185$, $p = 0,0102$, respectivamente).

As diferenças observadas na estimativa do potencial antioxidante dos óleos essenciais e extratos aquosos sustentam a recomendação de que esse potencial não deve ser estimado com base em apenas um método. Cada um possui vantagens, limitações, e até seletividade distintas para antioxidantes de diferentes naturezas químicas (MUNTEANU; APETREI, 2021), e uma abordagem metodológica multiestratégia é essencial para que se possa obter estimativas fidedignas e o mais exatas possíveis.

Uma vez verificada distribuição gaussiana dos dados, foram calculados os coeficientes de correlação de Pearson. Nos óleos essenciais, os valores de IC_{50} em DPPH e ABTS se correlacionaram positivamente entre si ($r = 0,841$; $p = 0,001$) e negativamente com TTFen e FRAP, afinal, quanto menores os valores de IC_{50} , maior o potencial antioxidante da amostra. Contudo, essa correlação negativa foi estatisticamente significativa apenas entre os valores de IC_{50} em DPPH e FRAP ($r = -0,693$, $p = 0,004$).

Nos extratos aquosos, correlações positivas entre os valores de TTFen, TTFlav e FRAP também foram observadas. Essa correlação foi estatisticamente significativa entre TTFlav e TTFen ($r = 0,571$, $p = 0,026$), e TTFlav e FRAP ($r = 0,757$, $p = 0,001$), indicando que essas variáveis dependem umas das outras. Os valores de IC_{50} em DPPH e ABTS se correlacionaram positivamente entre si ($r = 0,582$; $p = 0,023$) e negativamente com os valores de TTFen, TTFlav e FRAP. Contudo, essa correlação negativa foi estatisticamente significativa apenas entre os valores de IC_{50} em ABTS e TTFlav ($r = -0,601$, $p = 0,018$).

Figura 5 – Potencial antioxidante dos óleos essenciais. A: Teor total de fenólicos (mg EAG/g). B: *Ferric reducing antioxidant power* ($\mu\text{M FeSO}_4/\text{g}$). C: IC_{50} em DPPH ($\mu\text{g/mL}$). D: IC_{50} em ABTS ($\mu\text{g/mL}$).

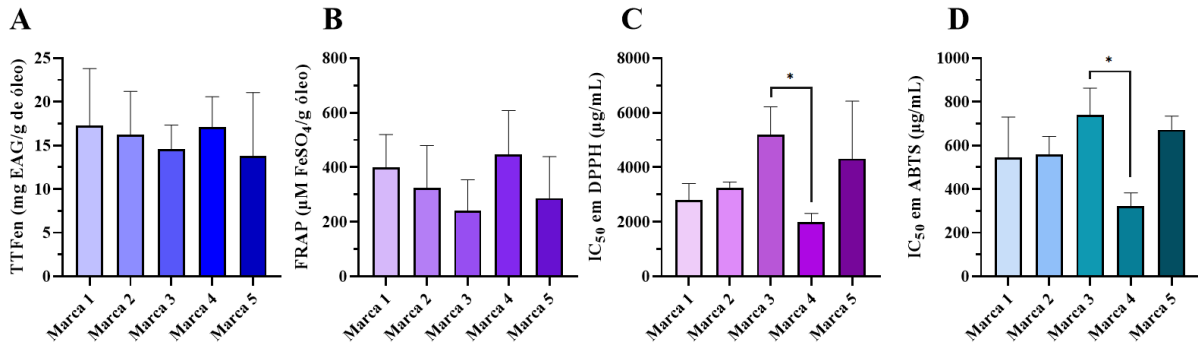


Figura 6 – Potencial antioxidante dos extratos aquosos. A: Teor total de fenólicos (mg EAG/g). B: Teor total de flavonoids (mg ER/g). C: *Ferric reducing antioxidant power* ($\mu\text{M FeSO}_4/\text{g}$). D: IC_{50} em DPPH ($\mu\text{g/mL}$). E: IC_{50} em ABTS ($\mu\text{g/mL}$).

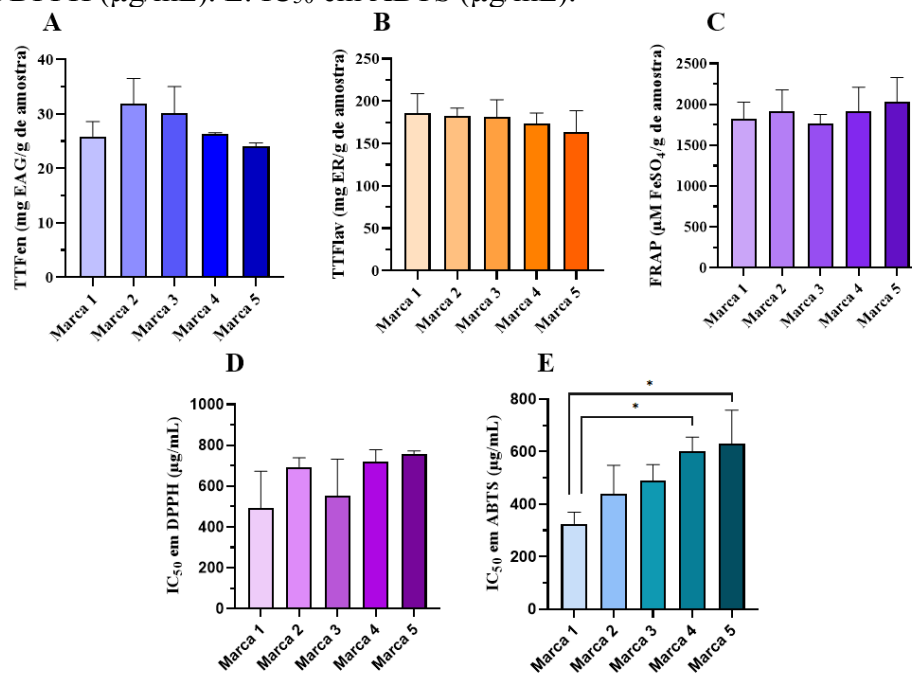
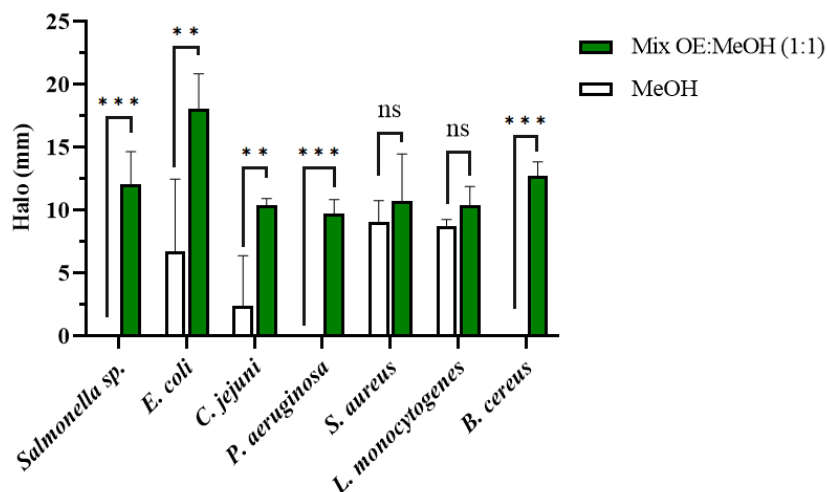


Tabela 3 – Potencial antioxidante dos óleos essenciais e extratos aquosos das amostras comerciais de manjeriço.

Óleos essenciais					
	TTFen. (mg EAG/g)	TTFlav (mg ER/g)	FRAP (μ M FeSO ₄ /g)	IC ₅₀ em DPPH (μ g/mL)	IC ₅₀ em ABTS (μ g/mL)
Marca 1	17,3 \pm 6,48	nd	401 \pm 119	2795 \pm 610	544 \pm 186
Marca 2	16,3 \pm 4,92	nd	325 \pm 155	3259 \pm 199	560 \pm 81,5
Marca 3	14,6 \pm 2,78	nd	241 \pm 114	5197 \pm 1023	740 \pm 123
Marca 4	17,1 \pm 3,47	nd	446 \pm 161	1985 \pm 324	322 \pm 61,1
Marca 5	13,8 \pm 7,27	nd	287 \pm 152	4319 \pm 2104	672 \pm 62,3
Extratos aquosos					
	TTFen. (mg EAG/g amostra)	TTFlav (mg ER/g amostra)	FRAP (μ M FeSO ₄ /g amostra)	IC ₅₀ em DPPH (μ g/mL)	IC ₅₀ em ABTS (μ g/mL)
Marca 1	25,9 \pm 2,73	186 \pm 23,0	552 \pm 57,9	492 \pm 181	326 \pm 44,0
Marca 2	31,9 \pm 4,62	183 \pm 8,89	528 \pm 71,1	694 \pm 45,2	439 \pm 110
Marca 3	30,2 \pm 4,89	182 \pm 20,1	568 \pm 36,7	554 \pm 178	490 \pm 60,2
Marca 4	26,3 \pm 0,214	174 \pm 12,4	529 \pm 76,7	720 \pm 58,2	602 \pm 53,4
Marca 5	24,0 \pm 0,656	164 \pm 25,1	499 \pm 73,7	758 \pm 13,7	630 \pm 129
Resultados expressos em (média \pm desvio padrão). Não determinado (nd).					

3.4 Potencial antimicrobiano dos óleos essenciais

A Tabela 4 mostra os halos de inibição do crescimento de diversas cepas bacterianas promovidos pelo *mix* de óleos essenciais e pelos antimicrobianos utilizados como controle positivo. Os valores de CIM e CBM dos óleos essenciais frente a essas mesmas cepas também são apresentados. Para *C. jejuni*, *P. aeruginosa* e *L. monocytogenes*, essas concentrações não puderam ser determinadas. Os óleos essenciais apresentaram algum grau de atividade antimicrobiana contra todas as bactérias testadas, o que reafirma essa fração do manjeriço como fonte de moléculas com potencial antimicrobiano, corroborando com a literatura (STANOJEVIC et al., 2017; VALERIANO et al., 2012). Atividades mais expressivas foram observadas frente ao crescimento de *E. coli*, e mais sutis, frente ao crescimento de *P. aeruginosa*. No entanto, a atividade dos óleos não foi significativamente superior ao branco do solvente frente às cepas *S. aureus* ($p = 0,6573$) e *L. monocytogenes* ($p = 0,0584$), logo, parte da atividade observada nessas cepas foi causada por ação do metanol (Figura 7). Frente às cepas *Salmonella* sp., *E. coli*, *C. jejuni*, *P. aeruginosa* e *B. cereus*, a atividade do óleo foi significativamente superior à do metanol ($p < 0,05$) (Figura 7).

Figura 7 – Diâmetro dos halos de inibição do crescimento das cepas bacterianas avaliadas.**Tabela 4** – Atividade antimicrobiana do *mix* composto por alíquotas dos óleos essenciais de todas as amostras.

	Gram-Negativas				Gram-Positivas		
	<i>Samonella sp.</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>B. cereus</i>
Atividade	++	++	++	+	++	++	++
CIM (µg/mL)	5000	5000	nd	nd	5000	nd	1250
CBM (µg/mL)	5000	7500	nd	nd	7500	nd	1875
Halo (mm) (Méd ± DP)	12,0 ± 2,16	18,0 ± 2,0	10,3 ± 0,47	9,7 ± 0,94	10,7 ± 3,1	10,3 ± 1,24	12,7 ± 0,94
Halo (mm) Metanol	0,00	6,67 ± 4,71	2,33 ± 3,29	0,00	9,0 ± 1,41	8,67 ± 0,47	0,00
Halo (mm) Imipinem	33	30	45	43	55	27	40
Halo (mm) Ciprofloxacino	30	38	26	29	32	31	35
Halo (mm) Azitromicina	32	26	30	30	27	20	28

Não determinado (nd); Ausência de halo (-), Halo presente < 10 mm (+), halo presente entre 10 e 60 mm (++) e Halo presente > 60 mm (+++). Critérios de atividade conforme Brito *et al.* (2021)(BRITO et al., 2021)

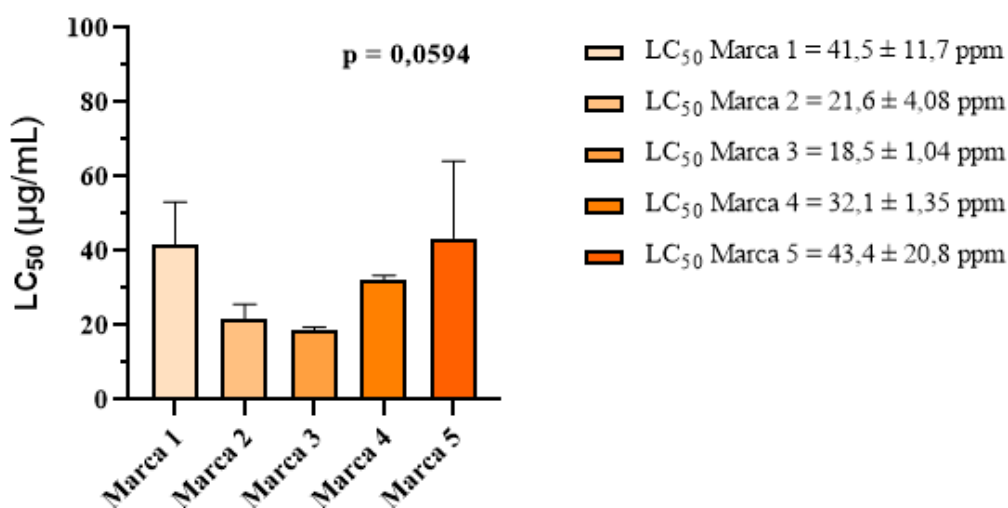
3.5 Toxicidade aguda dos óleos essenciais por TAS

A figura 8 apresenta os valores de LC_{50} estimados para os óleos essenciais das marcas 1 a 5 através do ensaio com *Artemia salina* (Marca 1 = $41,5 \pm 11,7$ ppm, Marca 2 = $21,6 \pm 4,08$ ppm, Marca 3 = $18,5 \pm 1,04$ ppm, Marca 4 = $32,1 \pm 1,35$ ppm e Marca 5 = $43,4 \pm 20,8$ ppm). Com base nos parâmetros de MEYER et al., (1982), sugere-se uma significativa citotoxicidade associada a todos esses óleos essenciais ($LC_{50} < 200$ ppm), e, portanto, o potencial toxicológico

agudo desses óleos essenciais pode ser um fator limitante chave na sua aplicabilidade como intervenção em modelos biológicos. A análise de variância não revelou diferenças estatisticamente significativas entre as marcas ($p = 0,0594$), contudo, observou-se uma tendência dos óleos essenciais das amostras das Marcas 2 e 3 em direção à uma maior toxicidade aguda em comparação com as demais Marcas.

A toxicidade aguda dos óleos essenciais correlacionou-se positivamente e significativamente com TTFen ($r = 0,597$, $p = 0,019$) e FRAP ($r = 0,538$, $p = 0,039$), e negativamente com o IC_{50} em ABTS ($r = -0,684$, $p = 0,02$). A correlação negativa com os valores de IC_{50} em DPPH não foi significativa ($r = -0,494$, $p = 0,061$).

Figura 8 – LC_{50} estimadas para os óleos essenciais das marcas 1 a 5 através do ensaio com *Artemia salina*. A análise de variância não revelou diferenças estatisticamente significativas.



CONCLUSÕES

A análise do perfil químico dos óleos essenciais revelou que todas elas apresentam como compostos majoritários o estragol e β -linalol, com destaque também para o Cinamato de metila e Metil-eugenol. Todas, portanto, pertencem ao mesmo quimiotipo rico em estragol e linalol, indicando que este é o quimiotipo dominante das amostras comercializadas na cidade do Rio de Janeiro. No perfil de voláteis dos extratos aquosos das mesmas amostras, destacaram-se o Metil eugenol, β -Linalol, τ -Cadinol e Estragol, sendo estes os compostos que mais podem contribuir para o aroma de um chá elaborado a partir dessas amostras de manjeriço. Tanto nos óleos essenciais quanto nos extratos aquosos, os terpênicos se destacaram quanto à diversidade de compostos, e os fenilpropanoides, quanto às concentrações. Apesar da baixa diversidade de

fenilpropanoides na fração volátil das amostras analisadas, esses compostos representam a maior parte da composição dessa fração.

Os óleos essenciais apresentaram atividade antimicrobiana frente a diversas cepas bacterianas testadas, em especial à *E. coli*, e também puderam ser considerados citotóxicos segundo os parâmetros do teste de toxicidade aguda em *Artemia salina* ($LC_{50} < 200$ ppm). Essa citotoxicidade desses óleos essenciais pode ser um fator limitante na sua aplicabilidade como intervenção em modelos biológicos. Tanto os óleos essenciais quanto os extratos aquosos de todas as marcas analisadas apresentaram potenciais antioxidante similares, indicando que o manjeriço disponível em mercados na cidade do Rio de Janeiro apresenta homogeneidade com relação ao teor de compostos redutores, e é uma erva que é fonte acessível de bioativos antioxidantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABI-ZAID, I. E. et al. Investigation of the volatile fraction of chamomile (*Matricaria recutita* L.) infusions prepared from Brazilian commercial sachets. **International Food Research Journal**, v. 22, n. 5, p. 2133–2140, 2015.

ACREE, T.; ARN, H. **Flavornet and human odor space**. Disponível em: <<https://www.flavornet.org/index.html>>. Acesso em: 27 fev. 2024.

ANTORA, R. A.; SALLEH, R. M. **Antihyperglycemic effect of Ocimum plants: A short review**. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine** Hainan Medical University, , 1 ago. 2017.

APROTOSOAIE, A. C. et al. Linalool: A review on a key odorant molecule with valuable biological properties. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 29, n. 4, p. 193–219, 2014.

AVETISYAN, A. et al. Chemical composition and some biological activities of the essential oils from basil *Ocimum* different cultivars. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 17, n. 1, 19 jan. 2017.

BENOMARI, F. Z. et al. Chemical Variability and Chemotype Concept of Essential Oils from Algerian Wild Plants. **Molecules**, v. 28, 2023.

BERGAU, N. et al. Bioactivation of estragole and anethole leads to common adducts in DNA and hemoglobin. **Food and Chemical Toxicology**, v. 153, 1 jul. 2021.

BIHARI, C. G. et al. Phytochemical investigation & evaluation for antidiabetic activity of leafy extracts of various *Ocimum* (Tulsi) species by alloxan induced diabetic model. **Journal of Pharmacy Research**, v. 4, n. 1, p. 28–29, 2011.

BLANK, A. F. et al. Caracterização morfológica e agronômica de acessos de manjeriço e alfavaca. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 1, p. 113–116, 2004.

BLANK, A. F. et al. Maria Bonita: a linalool type basil cultivar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 12, p. 1811–1813, 2007.

BLANK, A. F. et al. ‘Norine’, a cinnamon-linalool hybrid cultivar of basil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 15, n. 4, p. 285–289, 2015.

BOONBUMRUNG, S. et al. Characteristic Aroma Components of the Volatile Oil of Yellow Keaw Mango Fruits Determined by Limited Odor Unit Method. **Food Sci. Technol. Res**, v. 7, n. 3, p. 200–206, 2001.

BRITO, T. B. N. et al. Antimicrobial, antioxidant, volatile and phenolic profiles of cabbage-stalk and pineapple-crown flour revealed by GC-MS and UPLC-MSE. **Food Chemistry**, v. 339, 1 mar. 2021.

CHAUDHARY, S. et al. In-vivo study for anti-hyperglycemic potential of aqueous extract of Basil seeds (*Ocimum basilicum* Linn) and its influence on biochemical parameters, serum electrolytes and haematological indices. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 84, p. 2008–2013, 1 dez. 2016.

CZERNY, M. et al. Re-investigation on odour thresholds of key food aroma compounds and development of an aroma language based on odour qualities of defined aqueous odorant solutions. **European Food Research and Technology**, v. 228, n. 2, p. 265–273, dez. 2008.

DA COSTA, A. S. et al. Chemical diversity in basil (*Ocimum* sp.) Germplasm. **Scientific World Journal**, v. 2015, 1 jan. 2015.

DAL POZZO, M. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a *Staphylococcus* spp isolados de mastite caprina. **Ciência Rural**, v. 41, n. 4, p. 667–672, 2011.

DOS SANTOS, A. L. et al. (-)-T-Cadinol—a Sesquiterpene Isolated From *Casearia sylvestris* (Salicaceae)—Displayed In Vitro Activity and Causes Hyperpolarization of the Membrane Potential of *Trypanosoma cruzi*. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, 3 nov. 2021.

DOS SANTOS FILHO, L. G. A. et al. Detecção da atividade antibacteriana in vitro de compostos naturais à base de plantas: metodologia científica. 2019.

EL-BESHBISHY, H. A.; BAHASHWAN, S. A. Hypoglycemic effect of basil (*Ocimum basilicum*) aqueous extract is mediated through inhibition of α -glucosidase and α -amylase activities: An in vitro study. **Toxicology and Industrial Health**, v. 28, n. 1, p. 42–50, fev. 2012.

FROUSHANI, S. M. A. et al. Estragole and methyl-eugenol-free extract of *Artemisia dracunculus* possesses immunomodulatory effects Immunomodulatory effects of *Artemisia dracunculus*. **Avicenna Journal of Phytomedicine**, v. 6, n. 5, p. 526–534, 2016.

FUJIWARA, G. M. et al. Evaluation of larvicidal activity and ecotoxicity of linalool, methyl cinnamate and methyl cinnamate/linalool in combination against *Aedes aegypti*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 139, p. 238–244, 1 maio 2017.

GOVINDARAJAN, R. et al. Studies on the Antioxidant Activities of *Desmodium gangeticum*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 26, n. 10, 2003.

GREAY, S. J.; HAMMER, K. A. Recent developments in the bioactivity of mono- and diterpenes: anticancer and antimicrobial activity. **Phytochemistry Reviews**, v. 14, n. 1, 1 fev. 2015.

HELDT, H. W.; PIECHULLA, B. **Plant Biochemistry**. 4. ed. Amsterdam: Elsevier, 2011.

JUNG, E. P. et al. *Bauhinia forficata* Link Infusions: Chemical and Bioactivity of Volatile and Non-Volatile Fractions. **Molecules**, v. 27, n. 17, 1 set. 2022.

KFOURY, M. et al. Complexation of estragole as pure compound and as main component of basil and tarragon essential oils with cyclodextrins. **Carbohydrate Polymers**, v. 118, p. 156–164, 15 mar. 2015.

LEFFINGWELL, J. C.; LEFFINGWELL, D. GRAS Flavor Chemicals-Detection Thresholds. **Perfumer & Flavourist**, v. 16, n. 1, p. 2–19, 1991.

LI, J. et al. Tissue specificity of (E)- β -farnesene and germacrene D accumulation in pyrethrum flowers. **Phytochemistry**, v. 187, 1 jul. 2021.

LIBER, Z. et al. Chemical characterization and genetic relationships among *ocimum basilicum* L. cultivars. **Chemistry and Biodiversity**, v. 8, n. 11, p. 1978–1989, nov. 2011.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

MACHADO, F. M. V. F. et al. Effects of the use of basil (*Ocimum basilicum* L.) in biochemical profile of Wistar rats. **Journal of the Health Sciences Institute**, v. 29, n. 3, p. 191–195, 2011.

MAJNOONI, M.-B. et al. Chemical composition, cytotoxicity and antioxidant activities of the essential oil from the leaves of *Citrus aurantium* L. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 2, p. 498–503, 5 jan. 2012.

MEYER, B. N. et al. **Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents**. [s.l: s.n.].

MOHAMMADI NEJAD, S.; ÖZGÜNEŞ, H.; BAŞARAN, N. Pharmacological and Toxicological Properties of Eugenol. **Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 14, n. 2, p. 201–206, 2017.

MONIEN, B. H. et al. Detection of N-Acetyl-S-[3'-(4-methoxyphenyl)allyl]-l-Cys (AMPAC) in Human Urine Samples after Controlled Exposure to Fennel Tea: A New Metabolite of Estragole and trans-Anethole. **Chemical Research in Toxicology**, v. 32, n. 11, p. 2260–2267, 18 nov. 2019.

MUNTEANU, I. G.; APETREI, C. Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, 1 abr. 2021.

PEREIRA, I. et al. Linalool bioactive properties and potential applicability in drug delivery systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 171, p. 566–578, 1 nov. 2018.

RUFINO, M. DO S. M. et al. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP)**. Fortaleza, CE: [s.n.].

RUFINO, M. DO S. M. et al. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS +**. Fortaleza, CE: [s.n.].

RUFINO, M. DO S. M. et al. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH**. Fortaleza, CE: [s.n.].

SHARMA, A. et al. Response of phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic stress. **Molecules**, v. 24, n. 13, 2019.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965.

SNOUSSI, M. et al. Chemical composition and antibiofilm activity of *Petroselinum crispum* and *Ocimum basilicum* essential oils against *Vibrio* spp. strains. **Microbial Pathogenesis**, v. 90, p. 13–21, 1 jan. 2016.

STANOJEVIC, L. P. et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 20, n. 6, p. 1557–1569, 2017.

TAKEI, M.; UMEYAMA, A.; ARIHARA, S. T-cadinol and calamenene induce dendritic cells from human monocytes and drive Th1 polarization. **European Journal of Pharmacology**, v. 537, n. 1–3, p. 190–199, 10 maio 2006.

TELICI, I. et al. Variability in essential oil composition of Turkish basils (*Ocimum basilicum* L.). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 34, n. 6, p. 489–497, jun. 2006.

TSUZUKI, H. et al. Methyl cinnamate increases cell vulnerability to oxidative stress induced by hydrogen peroxide in rat thymocytes. **Fundamental Toxicological Sciences**, v. 3, n. 3, p. 121–125, 2016.

VALER, C. M. et al. Anti-inflammatory Activity of the Essential Oil of *Croton zehntneri* and Its Main Constituent Estragole. **International Journal of Pharma And Chemical Research**, v. 2, n. 3, 2016.

VALERIANO, C. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Rev. Bras. Pl. Med**, n. 1, p. 57–67, 2012.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 11, n. C, p. 463–471, 1 jan. 1963.

ZELLER, A.; RYCHLIK, M. Impact of estragole and other odorants on the flavour of anise and tarragon. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 22, p. 105–113, 2007.

ZHOU, W. et al. Tissue-Specific Emission of (E)- α -Bergamotene Helps Resolve the Dilemma When Pollinators Are Also Herbivores. **Current Biology**, v. 27, n. 9, p. 1336–1341, 8 maio 2017.

CONCLUSÕES GERAIS

Esta dissertação estabeleceu um estado da arte da literatura relativa à composição química de óleos essenciais obtidos de manjeriço cultivado no Brasil, bem como explorou o perfil químico e potenciais antioxidante, antimicrobiano e toxicológico agudo de óleos essenciais de amostras de manjeriço disponíveis comercialmente na cidade do Rio de Janeiro. A composição volátil e potencial antioxidante de extratos aquosos dessas mesmas amostras também foram determinados.

A revisão sistemática da literatura permitiu observar que os terpenóides são os compostos dominantes nestes óleos essenciais em relação à diversidade de compostos. A classe mais prevalente é a dos sesquiterpenos, seguida dos monoterpenos oxigenados. Os fenilpropanóides, embora menos significativos que os terpenóides em relação à diversidade de compostos, também se destacam por frequentemente serem encontrados como componentes principais, como é o caso do Estragol, Metil eugenol e Cinamato de metila. Os quimiotipos ricos em β -Linalol e Estragol são dominantes entre os óleos essenciais obtidos de manjeriço cultivado no Brasil. Devido aos seus baixos limiares de detecção de odor e altas concentrações, estes compostos podem ser considerados os principais contribuintes para o aroma dos óleos essenciais desses quimiotipos. Outros compostos como α -Cadinol, Geranial (isômeros *cis* ou *trans*), Cinamato de metila e eucaliptol também são relevantes devido às altas concentrações em que podem ser encontrados. Algumas propriedades farmacológicas dos principais compostos foram discutidas a fim de fornecer uma visão geral dos possíveis mecanismos associados aos efeitos bioativos dos óleos essenciais de manjeriço, sem, no entanto, levar em conta o possível sinergismo entre princípios ativos que é frequentemente observado quando se trata de um complexo mistura, como óleos essenciais ou outros fitocomplexos.

A análise do perfil químico dos óleos essenciais revelou que todas elas apresentam como compostos majoritários o Estragol e β -Linalol, com destaque também para o Cinamato de metila e Metil-eugenol. Todas, portanto, pertencem ao mesmo quimiotipo rico em estragol e linalol, indicando que este é o quimiotipo dominante das amostras comercializadas na cidade do Rio de Janeiro. No perfil de voláteis dos extratos aquosos das mesmas amostras, destacaram-se o Metil eugenol, β -Linalol, τ -Cadinol e Estragol, sendo estes os compostos que mais podem contribuir para o aroma de uma bebida elaborada por infusão a partir dessas amostras de manjeriço. Tanto nos óleos essenciais quanto nos extratos aquosos, de igual maneira ao observado na literatura, os terpenóides se destacaram quanto à diversidade de compostos, e os fenilpropanóides, quanto às concentrações. Apesar da baixa diversidade de fenilpropanóides na

fração volátil das amostras analisadas, esses compostos representam a maior parte da composição dessa fração.

Os óleos essenciais apresentaram atividade antimicrobiana frente a diversas cepas bacterianas testadas, em especial à *E. coli*, e também são considerados citotóxicos, o que pode ser um fator limitante na sua aplicabilidade como intervenção em modelos biológicos. Tanto os óleos essenciais quanto os extratos aquosos de todas as marcas analisadas apresentaram potenciais antioxidante similares, indicando que o manjeriço disponível em mercados na cidade do Rio de Janeiro apresenta homogeneidade com relação ao teor de compostos redutores, e é uma erva que é fonte acessível de bioativos antioxidantes.