



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO – CAMPUS DOM DELGADO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
BACHARELADO EM QUÍMICA

KAREN CAROLINE CANTANHEDE CHAVES

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E POTENCIAIS BIOTECNOLÓGICOS DAS
NANOEMULSÕES DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Salvia rosmarinus* Spenn
(ALECRIM)

SÃO LUÍS – MA
2022

KAREN CAROLINE CANTANHEDE CHAVES

2015046761

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E POTENCIAIS BIOTECNOLÓGICOS DAS
NANOEMULSÕES DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Salvia rosmarinus* Spenn
(ALECRIM)**

Monografia apresentada ao Curso de Química Bacharelado da Universidade Federal do Maranhão como requisito para a obtenção do título de Bacharelado em Química.

Orientador: Prof. Dr. Victor Elias Mouchrek Filho.

Coorientador: Prof. Dr. Gustavo Oliveira Everton.

SÃO LUÍS – MA

2022

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pela autora.

Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Caroline Cantanhede Chaves, Karen.

Caracterização química e potenciais biotecnológicos das nanoemulsões do óleo essencial de *Salvia rosmarinus* Spenn alecrim / Karen Caroline Cantanhede Chaves. - 2022.

51 p.

Coorientador(a): Prof. Dr. Gustavo Oliveira Everton.

Orientador(a): Prof. Dr. Victor Elias Mouchrek Filho.

Curso de Química, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2022.

1. Nanoemulsões. 2. Óleo essencial. 3. *Salvia rosmarinus*. I. Elias Mouchrek Filho, Prof. Dr. Victor. II. Oliveira Everton, Prof. Dr. Gustavo. III. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

KAREN CAROLINE CANTANHEDE CHAVES

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E POTENCIAIS BIOTECNOLÓGICOS DAS
NANOEMULSÕES DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Salvia rosmarinus* Spenn
(ALECRIM)**

Monografia apresentada ao Curso de Química
Bacharelado da Universidade Federal do
Maranhão como requisito para a obtenção do
título de Bacharelado em Química.

Aprovada em 22 / 07 / 2022

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Victor Elias Mouchrek Filho (Orientador)
Doutorado em Química (USP)
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Gustavo Oliveira Everton (Coorientador)
Doutorado em Química (UFMA-IFMA)
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Gilvan de Oliveira Costa Dias
Doutorado em Química (UFSM)
Universidade Federal do Maranhão

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ser minha fortaleza e esperança durante todos os dias, sendo luz que me guia durante os momentos de escuridão.

À minha família, em especial minha avó Maria José por tanto me ensinar sobre fé e amor a Deus, aos meus pais Thelma Maria e Francisco das Chagas por apoiarem minhas decisões e sempre contribuírem para minha formação.

Aos meus queridos amigos de graduação, principalmente Matheus Ribeiro, Sara Alena, Emília Araújo, Sabrina Rodrigues e Gessiane Sanches por me oferecerem suporte emocional principalmente nas últimas etapas desta caminhada.

A equipe de pesquisadores do Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV), que me auxiliaram e contribuíram para realização deste trabalho, em especial ao meu coorientador Prof. Dr. Gustavo Oliveira Everton pelo seu apoio, conhecimento e paciência, agradeço igualmente ao meu orientador Prof. Dr. Victor Elias Mouchrek Filho.

Aos professores, pelos ensinamentos e incentivos, em especial a Prof.^a Dr.^a Cáritas de Jesus Silva Mendonça por sempre acreditar no meu potencial e me ensinar com tanto amor pela ciência.

E a todos que contribuíram diretamente ou indiretamente para realização desse trabalho.

*“Te dei meus fracassos Deus, e
as vitórias te darei também”*

Lauren Daigle

RESUMO

Este estudo teve por objetivo a determinação dos fenólicos totais, avaliação das atividades antioxidante e a anti-inflamatória das nanoemulsões (O/A) e dos óleos essenciais (OEs) de *Salvia rosmarinus* (alecrim). O material vegetal foi obtido no município de São Luís (MA). O OE foi obtido através da técnica de hidrodestilação em um sistema extrator de Clevenger modificado e as nanoemulsões pelo processo de inversão de fases. Os constituintes químicos do OE foram determinados por Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrometria de Massas (CG-EM). A determinação de fenólicos totais (CFT) foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu. A atividade anti-inflamatória foi realizada pelo método de desnaturação proteica e a atividade antioxidante pelo método espectrofotométrico de eliminação de radicais hidroxilas. A CG/EM possibilitou a quantificação de 1,8-cineol (30,22%), α -pineno (22,14%), cânfora (18,33%) e canfeno (10,36%) como componentes majoritários do OE. O CFT do OE foi quantificado em 26,74 mg EAT g⁻¹ e o índice de refração em 1,466 nD 25°. No ensaio de atividade antioxidante foi obtida CE₅₀ de 80,33 mgL⁻¹ para o OE e 19,56 a 408,85 mg L⁻¹ para as nanoemulsões. No ensaio de atividade anti-inflamatória foi obtida CE₅₀ de 62,46 mgL⁻¹ para o OE e 64,96 a 4220,25 mg L⁻¹. Por fim, as atividades farmacológicas testadas apresentaram valores eficientes para CE₅₀ sendo assim considerados ativos. Essa atividade é atribuída aos seus compostos químicos presentes, incentivando assim estudos com esta espécie visando seu potencial de aplicação em um bioproduto formulado como apresentado neste estudo.

Palavras-chave: *Salvia rosmarinus*; Nanoemulsões; Óleo essencial.

ABSTRACT

This study aimed to determine the total phenolics, evaluate the antioxidant and anti-inflammatory activities and the toxicity of nanoemulsions (O/W) and essential oils (EOs) from *Salvia rosmarinus* (rosemary). The plant material was obtained in the municipality of São Luís (MA). The EO was obtained through the hydrodistillation technique in a modified Clevenger extractor system and the nanoemulsions through the phase inversion process. The chemical constituents of EO were determined by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS). The determination of total phenolics (CFT) was performed by the Folin-Ciocalteu method. The anti-inflammatory activity was performed by the protein denaturation method and the antioxidant activity by the spectrophotometric hydroxyl radical scavenging method. GC/MS enabled the quantification of 1,8-cineole (30.22%), α -pinene (22.14%), camphor (18.33%) and camphene (10.36%) as major components of EO. The EO CFT was quantified at 26.74 mg EAT g⁻¹ and the refractive index at 1.466 nD 25°. In the antioxidant activity assay, an EC₅₀ of 80.33 mgL⁻¹ was obtained for the EO and 19.56 to 408.85 mg L⁻¹ for the nanoemulsions. In the anti-inflammatory activity assay, an EC₅₀ of 62.46 mgL⁻¹ was obtained for the EO and 64.96 to 4220.25 mg L⁻¹. Finally, the pharmacological activities tested showed efficient values for EC₅₀, thus being considered active. This activity is attributed to its chemical compounds present, thus encouraging studies with this species aiming at its potential application in a bioproduct formulated as presented in this study.

Keywords: *Salvia rosmarinus*; Nanoemulsions; Essential oil.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	2
2. OBJETIVOS	4
2.1. OBJETIVO GERAL	4
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO - CAPÍTULO 1- ARTIGO CIENTÍFICO	5
1 INTRODUÇÃO.....	7
2 MATERIAL E MÉTODOS	8
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
4 CONCLUSÕES	22
REFERENCES	23
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
ANEXO A - NORMAS DA REVISTA	34

1. INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais (OEs) são substâncias aromáticas voláteis, presentes em plantas aromáticas e medicinais, são metabólitos secundários extraídos em diversas partes das plantas. Possuem composição química complexa e garantem aos vegetais vantagens adaptativas no meio em que estão inseridos (MIRANDA et al., 2016; VIEIRA et al., 2018).

Estes compostos apresentam baixa capacidade de interação com a água por serem compostos lipofílicos e esta questão tem sido considerada um desafio tecnológico. As indústrias farmacêuticas têm utilizado sistemas de transporte coloidais para encapsular compostos lipofílicos, como as nanoemulsões, permitindo sua dispersão em meio aquoso (MCCLEMENTS& RAO, 2011).

As nanoemulsões podem ser definidas como sistemas heterogêneos, nos quais um líquido (a fase interna) é disperso em outro (a fase externa) na forma de gotículas de tamanho nanométrico, na presença de um agente emulsionante (FRONZA et al., 2007). Essas formulações são caracterizadas por sua estabilidade termodinâmica e pequenas gotículas, variando de 20 a 200 nm e possuem uma ampla variedade de aplicações industriais (IZQUIERDO et al. 2002 ; TADROS et al. 2004; OSTERTAG et al., 2012).

As nanoemulsões são sistemas promissores para liberação de fármacos com pouca solubilidade em água e já foram propostas para serem associadas ao óleo essencial de *Salvia rosmarinus* Spenn (DUARTE et al., 2015).

S. rosmarinus é popularmente conhecida como alecrim, sendo uma planta aromática com folhas em forma de agulha pertencente à família Lamiaceae. Tem como características ser um subarbusto com ramificações de cor verde, possuindo hastes lenhosas e folhas pequenas (SILVA et al., 2008; MACEDO, 2020).

Esta é uma planta medicinal nativa da região mediterrânea e cultivada em todo o mundo. Além de ser comumente utilizada como condimento e conservante de alimentos, é amplamente utilizado na área de cosméticos e agentes aromatizantes, apresenta ação antibacteriana, citotóxica, antimutagênica, antioxidante, propriedades anti-inflamatórias e quimiopreventivas (DE OLIVEIRA, 2019; HUSSAIN, et al., 2010).

O OE de *S. rosmarinus* é caracterizado por ser OE com altas concentrações de alguns monoterpenos, como α -pineno, limoneno, 1,8-cineol, borneol e cânfora, que são conhecidos por inibir a germinação de sementes, crescimento e sobrevivência de mudas de muitas espécies vegetais (DE MARTINO et al., 2012; MACCIONI et al., 2019).

A *S. rosmarinus* contém uma abundância de propriedades atribuídas aos seus metabolitos secundários, porém poucos relatos que relacionem estas atividades as suas nanoemulsões, ocorrendo assim o relevante interesse de explorar as particularidades das suas atividades biológicas.

Este trabalho de conclusão de curso foi apresentado no formato de artigo científico submetido a revista Ciência e Natura. Este estudo teve por objetivo avaliar os constituintes químicos e potencial biotecnológico das nanoemulsões (O/A) do OE de *Salvia rosmarinus* formuladas por inversão de fases.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

- Avaliar o potencial biotecnológico das nanoemulsões (O/A) do óleo essencial (OE) de *Salvia rosmarinus* (Alecrim).

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar os constituintes químicos do OE de *S. rosmarinus*;
- Quantificar o conteúdo fenólico total e índice de refração;
- Avaliar atividade antioxidante das nanoemulsões do OE de *S. rosmarinus*;
- Avaliar atividade anti-inflamatória das nanoemulsões do OE de *S. rosmarinus*;

Caracterização química e potenciais biotecnológicos das nanoemulsões do óleo essencial de *Salvia rosmarinus* Spenn (alecrim)

Karen Caroline Cantanhede Chaves¹, Ana Patrícia Matos Pereira¹, Thaylanna Pinto de Lima¹, Brendha Araújo de Sousa¹, Rodrigo de Aquino Almeida¹, Beatriz Jardim Rodrigues das Chagas¹, Gustavo Oliveira Everton¹, Victor Elias Mouchrek Filho¹

¹Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brasil

ABSTRACT

Este estudo teve por objetivo a determinação dos fenólicos totais, avaliação das atividades antioxidante e a anti-inflamatória das nanoemulsões (O/A) e dos óleos essenciais (OEs) de *Salvia rosmarinus* (alecrim). O material vegetal foi obtido no município de São Luís (MA). O OE foi obtido através da técnica de hidrodestilação em um sistema extrator de Clevenger modificado e as nanoemulsões pelo processo de inversão de fases. Os constituintes químicos do OE foram determinados por Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrometria de Massas (CG-EM). A determinação de fenólicos totais (CFT) foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu. A atividade anti-inflamatória foi realizada pelo método de desnaturação proteica e a atividade antioxidante pelo método espectrofotométrico de eliminação de radicais hidroxilas. A CG/EM possibilitou a quantificação 1,8-cineol (30,22%), α -pineno (22,14%), cânfora (18,33%) e canfeno (10,36%) como componentes majoritários do OE. O CFT do OE foi quantificado em 26,74 mg EAT g⁻¹ e o índice de refração em 1,466 nD 25°. No ensaio de atividade antioxidante foi obtida CE₅₀ de 80,33 mgL⁻¹ para o OE e 19,56 a 408,85 mg L⁻¹ para as nanoemulsões. No ensaio de atividade anti-inflamatória foi obtida CE₅₀ de 62,46 mgL⁻¹ para o OE e 64,96 a 4220,25 mg L⁻¹. Por fim, as atividades farmacológicas testadas apresentaram valores eficientes para CE₅₀ sendo assim considerados ativos. Essa atividade é atribuída aos seus compostos químicos presentes, incentivando assim estudos com esta espécie visando seu potencial de aplicação em um bioproduto formulado como apresentado neste estudo.

Keywords: *Salvia rosmarinus*; Nanoemulsões; Óleo essencial.

RESUMO

Este estudo teve por objetivo a determinação dos fenólicos totais, avaliação das atividades antioxidante e a anti-inflamatória das nanoemulsões (O/A) e dos óleos essenciais (OEs) de *Salvia rosmarinus* (alecrim). O material vegetal foi obtido no município de São Luís (MA). O OE foi obtido através da técnica de hidrodestilação em um sistema extrator de Clevenger modificado e as nanoemulsões pelo processo de inversão de fases. Os constituintes químicos do OE foram determinados por Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrometria de Massas (CG-EM). A determinação de fenólicos totais (CFT) foi realizada



pelo método de Folin-Ciocalteu. A atividade anti-inflamatória foi realizada pelo método de desnaturação proteica e a atividade antioxidante pelo método espectrofotométrico de eliminação de radicais hidroxilas. A CG/EM possibilitou a quantificação 1,8-cineol (30,22%), α -pineno (22,14%), cânfora (18,33%) e canfeno (10,36%) como componentes majoritários do OE. O CFT do OE foi quantificado em 26,74 mg EAT g⁻¹ e o índice de refração em 1,466 nD 25°. No ensaio de atividade antioxidante foi obtida CE₅₀ de 80,33 mgL⁻¹ para o OE e 19,56 a 408,85 mg L⁻¹ para as nanoemulsões. No ensaio de atividade anti-inflamatória foi obtida CE₅₀ de 62,46 mgL⁻¹ para o OE e 64,96 a 4220,25 mg L⁻¹. Por fim, as atividades farmacológicas testadas apresentaram valores eficientes para CE₅₀ sendo assim considerados ativos. Essa atividade é atribuída aos seus compostos químicos presentes, incentivando assim estudos com esta espécie visando seu potencial de aplicação em um bioproduto formulado como apresentado neste estudo.

Palavras-chave: *Salvia rosmarinus*; Nanoemulsões; Óleo essencial.

1 INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais (OEs) são substâncias aromáticas voláteis, presentes em plantas aromáticas e medicinais, são metabólitos secundários extraídos em diversas partes das plantas. Possuem composição química complexa e garantem aos vegetais vantagens adaptativas no meio em que estão inseridos (MIRANDA et al., 2016; VIEIRA et al., 2018).

Estes compostos apresentam baixa capacidade de interação com a água por serem compostos lipofílicos e esta questão tem sido considerada um desafio tecnológico. As indústrias farmacêuticas têm utilizado sistemas de transporte coloidais para encapsular compostos lipofílicos, como as nanoemulsões, permitindo sua dispersão em meio aquoso (MCCLEMENTS& RAO, 2011).

As nanoemulsões podem ser definidas como sistemas heterogêneos, nos quais um líquido (a fase interna) é disperso em outro (a fase externa) na forma de gotículas de tamanho nanométrico, na presença de um agente emulsionante (FRONZA et al., 2007). Essas formulações são caracterizadas por sua estabilidade termodinâmica e pequenas gotículas, variando de 20 a 200 nm e possuem uma ampla variedade de aplicações industriais (IZQUIERDO et al. 2002; TADROS et al. 2004; OSTERTAG et al., 2012).

As nanoemulsões são sistemas promissores para liberação de fármacos com

pouca solubilidade em água e já foram propostas para serem associadas ao óleo essencial de *Salvia rosmarinus* Spenn (DUARTE et al., 2015).

S. rosmarinus é popularmente conhecida como alecrim, sendo uma planta aromática com folhas em forma de agulha pertencente à família Lamiaceae. Tem como características ser um subarbusto com ramificações de cor verde, possuindo hastes lenhosas e folhas pequenas (SILVA et al., 2008; MACEDO, 2020).

Esta é uma planta medicinal nativa da região mediterrânea e cultivada em todo o mundo. Além de ser comumente utilizada como condimento e conservante de alimentos, é amplamente utilizado na área de cosméticos e agentes aromatizantes, apresenta ação antibacteriana, citotóxica, antimutagênica, antioxidante, propriedades anti-inflamatórias e quimiopreventivas (DE OLIVEIRA, 2019; HUSSAIN, et al. 2010).

O OE de *S. rosmarinus* é caracterizado por ser OE com altas concentrações de alguns monoterpenos, como α -pineno, limoneno, 1,8-cineol, borneol e cânfora, que são conhecidos por inibir a germinação de sementes, crescimento e sobrevivência de mudas de muitas espécies vegetais (DE MARTINO et al., 2012; MACCIONI et al., 2019).

A *S. rosmarinus* contém uma abundância de propriedades atribuídas aos seus metabolitos secundários, porém poucos relatos que relacionem estas atividades as suas nanoemulsões, ocorrendo assim o relevante interesse de explorar as particularidades das suas atividades biológicas. Desta forma, este estudo teve por objetivo avaliar os constituintes químicos e potencial biotecnológico das nanoemulsões (O/A) do OE de *Salvia rosmarinus* formuladas por inversão de fases.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

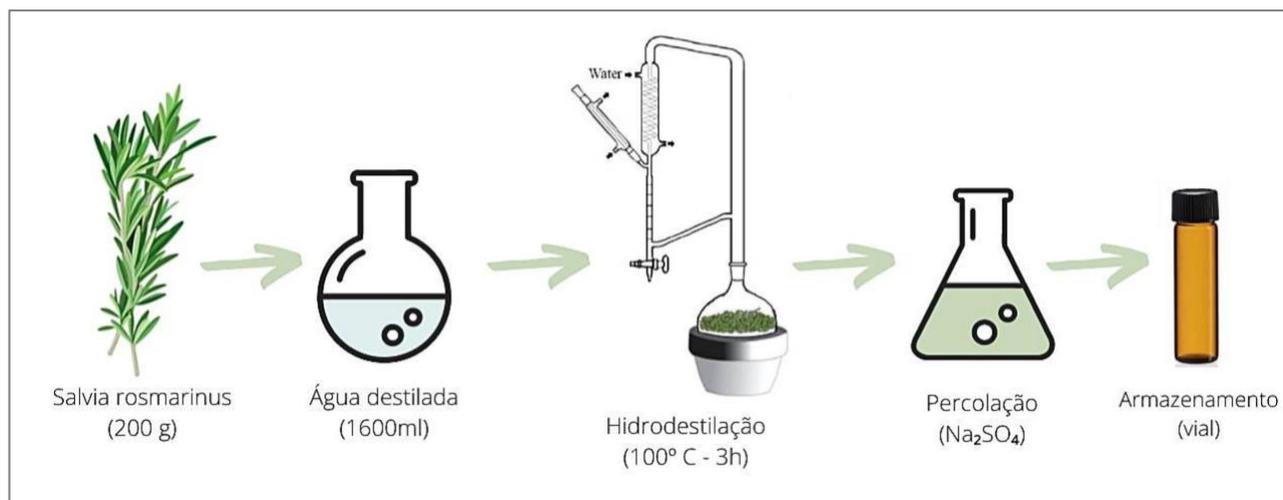
Folhas de *S. rosmarinus* foram adquiridas no município de São Luís (MA) da distribuidora certificada de Produtos Naturais Muniz LTDA. A amostra foi encaminhada ao

Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos essenciais (LOEPAV/UFMA) para extração do OE.

Obtenção do óleo essencial

Para extração do OE, foi aplicada a técnica de hidrodestilação com um extrator de Clevenger de vidro acoplado a um balão de fundo redondo acondicionado em manta elétrica como fonte geradora de calor. Foram utilizadas 200 g das folhas secas e trituradas de *S. rosmarinus*, adicionando-se água destilada (1:8) ao material vegetal contido no balão. A hidrodestilação foi conduzida a 100°C por 3h e logo após recolheu-se o OE extraído. O OE foi seco por percolação com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4). A amostra foi armazenada em vial de vidro âmbar sob refrigeração de 4°C. Os procedimentos dos experimentos descritos são apresentados resumidamente na Figura 1. Posteriormente submetidos as análises.

Figura 1 - Extração do óleo essencial



Fonte: Autor (2022)

Constituintes químicos

Os constituintes do OE foram identificados por cromatografia gasosa acoplada à

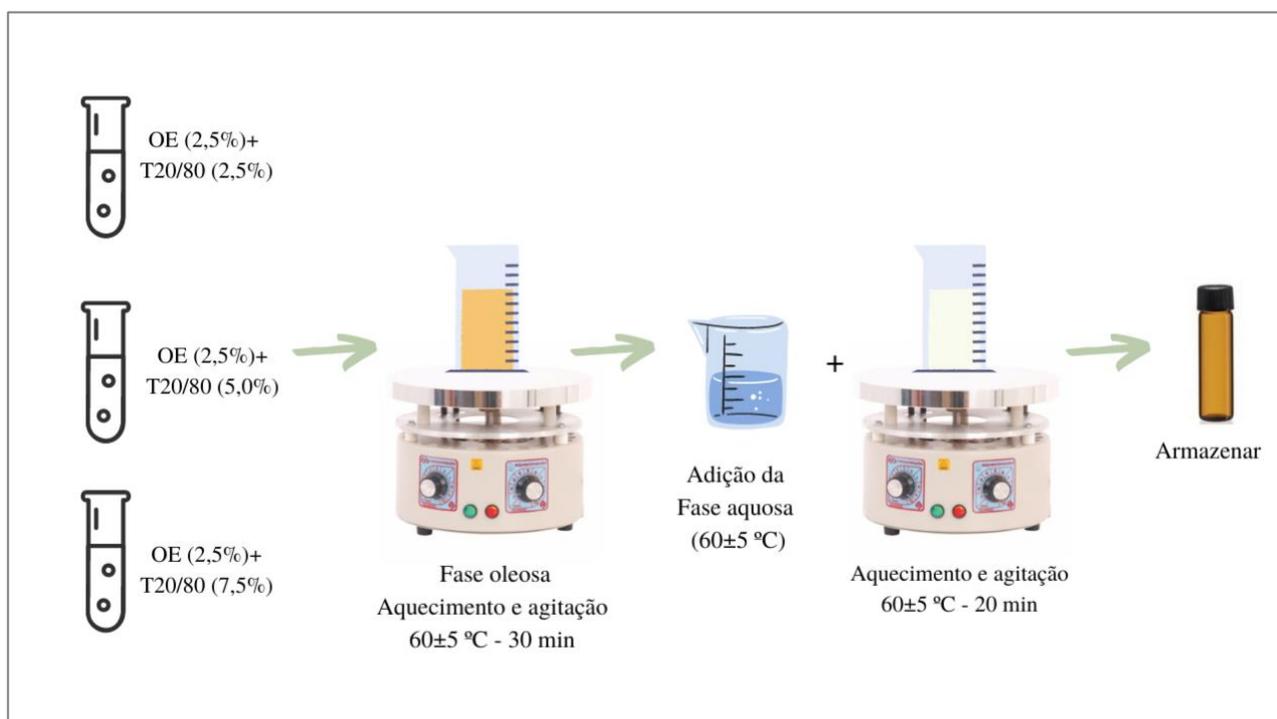
espectrometria de massas (CG-EM). Foi dissolvido 1,0 mg da amostra em 1000 μL de diclorometano (pureza 99,9%).

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 (30m x 0,25 mm x 0,25 μm); Gás de arraste : He (99,9995); 1,0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 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}); tT= 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).

Formulação das nanoemulsões

O preparo das nanoemulsões foi realizado de acordo com as metodologias adaptadas descritas por Lima et al. (2020), Sugumar et al. (2014), Kubitschek et al. (2014) e Rodrigues et al. (2014). A nanoemulsão óleo-em-água foi formulada com o óleo essencial, surfactante não iônico (tween 20 e tween 80) e água. As quantidades necessárias de cada constituinte da fase oleosa (óleo+surfactante) foram aquecidas a 65 ± 5 °C. A fase aquosa foi aquecida separadamente a 65 ± 5 °C, proporcionando uma formulação primária, pelo método de inversão de fases. Os procedimentos dos experimentos descritos são apresentados resumidamente na Figura 2.

Figura 2 - Preparo das nanoemulsões através do método de inversão de fases



Fonte: Autor (2022)

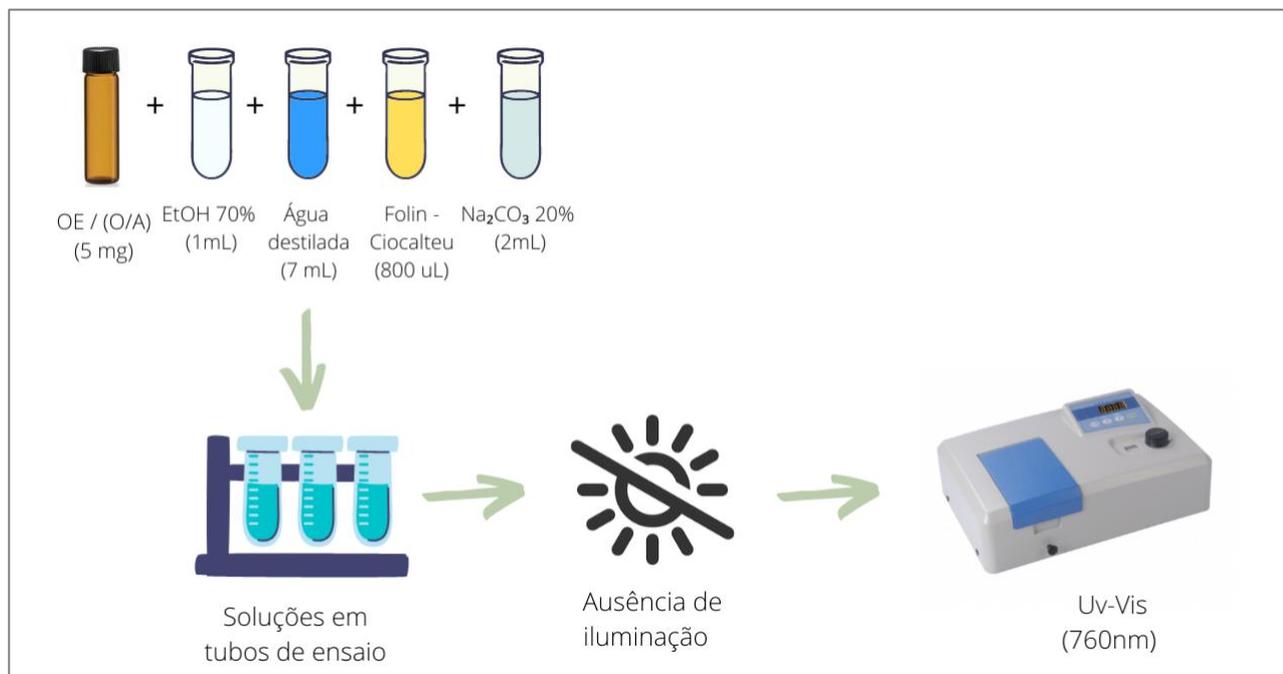
Para comprovar a estabilidade, a emulsão formulada foi submetida a diferentes testes de estresse (SHAFIQ et al., 2007). Ciclo de aquecimento-resfriamento: foi realizado mantendo as nanoemulsões formulada a 40 e 4 °C, alternando cada temperatura por 48 h. O ciclo foi repetido três vezes. Estresse de congelamento-descongelamento: nanoemulsão alternativamente a -21 e 25 °C por 48 h em cada temperatura. O ciclo foi repetido três vezes. As formulações que passaram nos testes de estresse termodinâmico foram levadas para os estudos posteriores.

Determinação espectrofotométrica do Conteúdo Fenólico Total (CFT)

A determinação dos compostos fenólicos totais do OE e das nanoemulsões, foi realizada com adaptação do método de Folin-Ciocalteu (WATERHOUSE, 2002). Utilizou-se 5 mg do OE diluído, ou de nanoemulsões, em 1 mL de etanol a 70%. A esta solução foi adicionado 7 mL de água destilada, 800 µL do reagente Folin-Ciocalteu e 2,0 mL de carbonato de sódio a 20%. Após duas horas foi realizada a leitura em espectrofotômetro UV-

VIS em comprimento de 760 nm. Os procedimentos dos experimentos descritos são apresentados resumidamente na Figura 3.

Figura 3 - Ensaio de Folin-Ciocalteu



Fonte: Autor (2022)

A curva padrão foi expressa em mg L⁻¹ de ácido tânico.

Determinações do índice de refração

Foi determinado o índice de refração do OE e das formulações com o auxílio do aparelho Refratômetro Abbé, calibrado inicialmente conforme o índice de refração da água destilada, a 25°C, informado pelo fabricante, de 1,332.

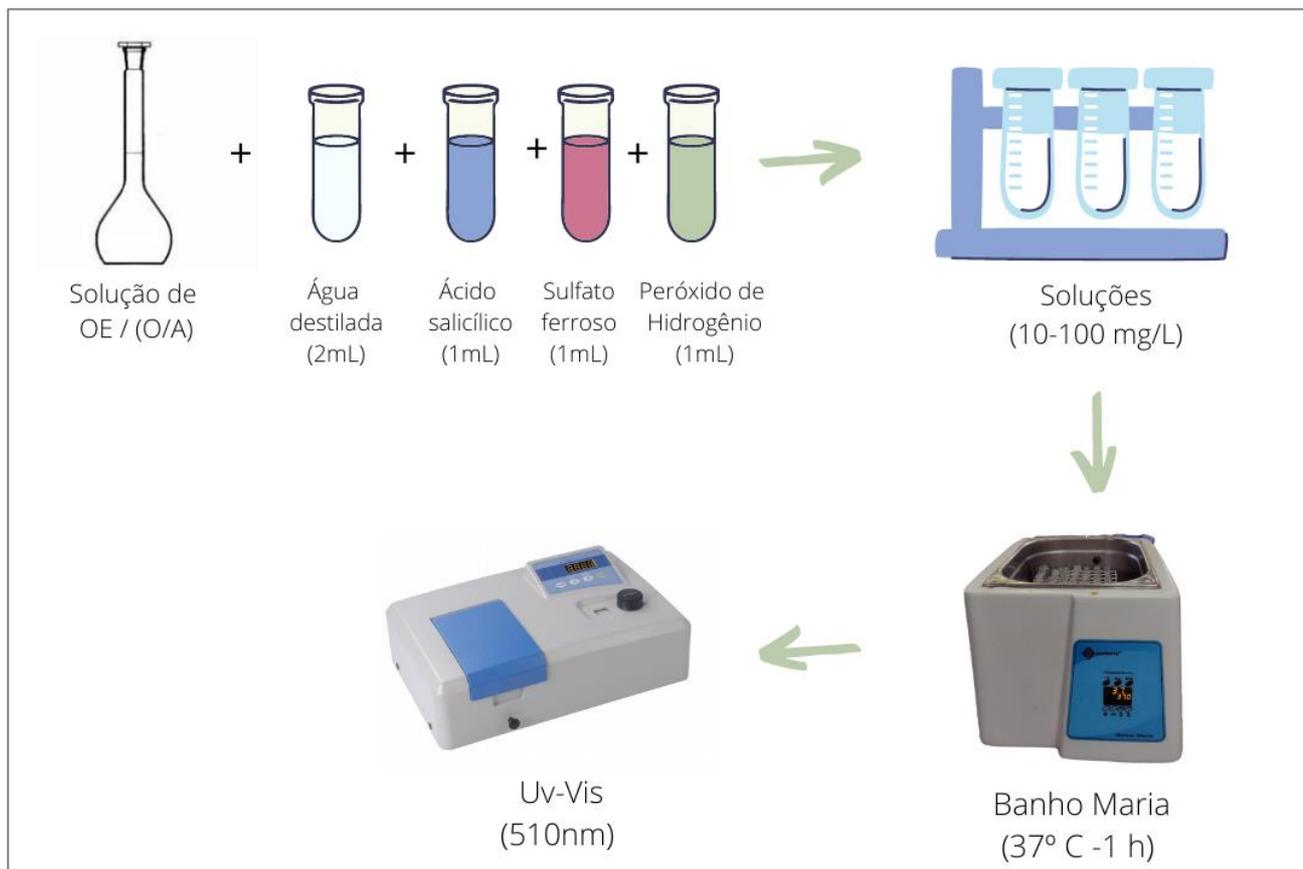
Determinação da Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante foi feita pelo método espectrofotométrico de eliminação de radicais hidroxila do ácido salicílico conforme os métodos descritos por Smirnoff e Cumbes (1989) e Sundarajan et al. (2016).

O OE e as nanoemulsões em diferentes concentrações de 10-100 mg L⁻¹ foram

dissolvidos em DMSO 0,2% e água destilada, respectivamente. Foram adicionadas a essas concentrações 1 mL de ácido salicílico (9 mM), 1 mL de sulfato ferroso (9 mM) e 1 mL de peróxido de hidrogênio (9 mM). Utilizou-se ácido ascórbico como padrão positivo. A mistura reacional foi incubada durante 60 min a 37 °C em banho-maria; após a incubação, a absorbância das misturas foi medida a 510 nm usando um espectrofotômetro UV/VIS e a CE_{50} calculada. Os procedimentos dos experimentos descritos são apresentados resumidamente na Figura 4.

Figura 4 - Ensaio antioxidante de eliminação de radicais hidroxilas



Fonte: Autor (2022)

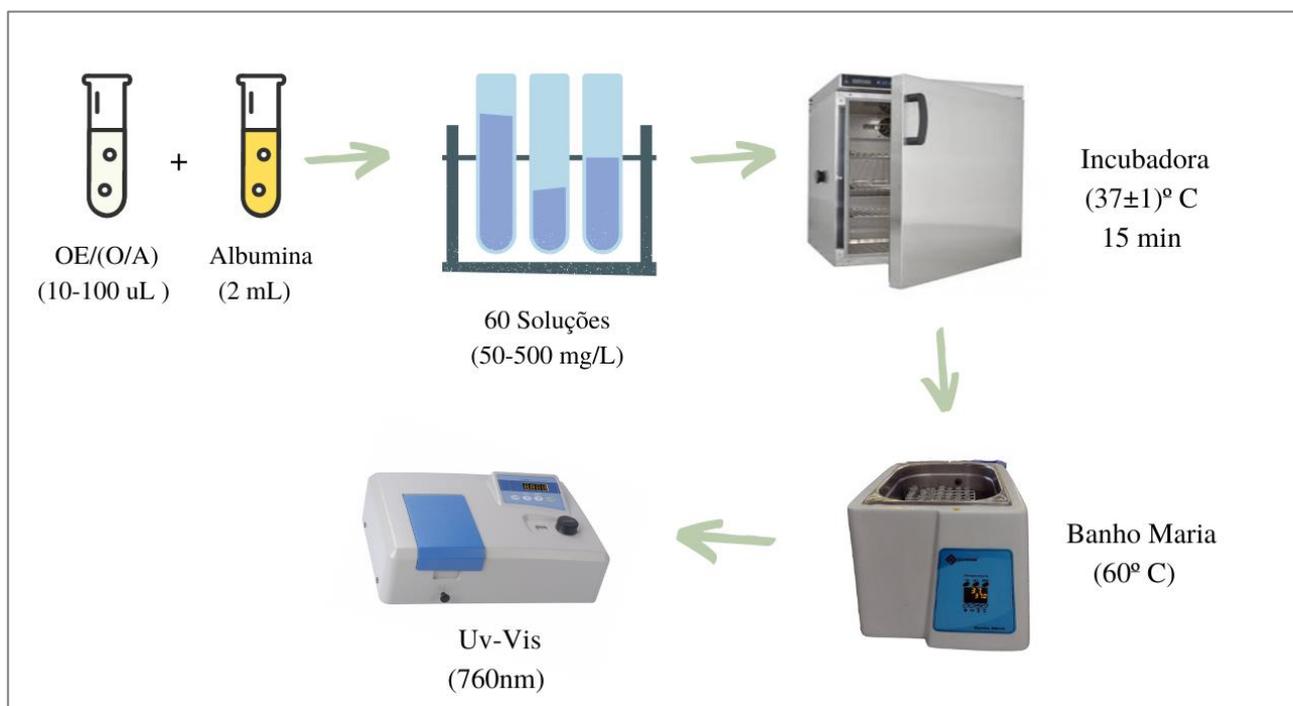
Determinação da Atividade Anti-Inflamatória

A atividade anti-inflamatória foi avaliada pelo método de desnaturação proteica (PADMANABHAN; JANGLE, 2012). A mistura reacional (4 mL) consistiu em 2 mL de

diferentes concentrações do OE, assim como para as formulações (50-500 mg L⁻¹) e 2 mL de uma solução a 10% de albumina diluída em PBS e incubado a (37±1) °C por 15 minutos.

A desnaturação foi induzida mantendo a mistura de reação a 60°C em um banho-maria de água por 10 minutos. Após o resfriamento, a absorbância foi medida em 660 nm. Os procedimentos dos experimentos descritos são apresentados resumidamente na Figura 5.

Figura 5 - Ensaio anti-inflamatório de eliminação de radicais hidroxilas



Fonte: Autor (2022)

A inibição da desnaturação proteica foi expressa em percentual e a Concentração Eficiente 50% (CE₅₀/IC₅₀) capaz de inibir 50% da desnaturação foi expressa em mg L⁻¹.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constituintes químicos

De acordo com os resultados obtidos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) para os constituintes químicos deste estudo, foram

identificados 12 compostos presentes na amostra do OE de *S. rosmarinus*. Na Tabela 1 estão relacionados os componentes encontrados na amostra com os seus respectivos tempos de retenção. Os 12 compostos foram identificados atingindo o total de 100% da composição, neste total encontram-se os compostos majoritários como, 1,8-cineol (30,22%), α -pineno (22,14%), cânfora (18,33%) e canfeno (10,36%).

Tabela 1 - Identificação dos constituintes químicos na amostra de óleo essencial de *Salvia rosmarinus*.

Pico	Tempo de retenção (min)	Compostos NIST08	Teor (%)
1	6,01	α -pineno	22,14
2	6,41	Canfeno	10,36
3	7,22	β -pineno	5,98
4	8,26	<i>p</i> -Cymene	1,08
5	8,37	Limoneno	1,88
6	8,51	1,8-Cineol	30,22
7	9,16	Linalol	0,75
8	10,28	Isopulegol 2	1,55
9	11,88	Cânfora	18,33
10	13,19	α -Terpineol	3,01
11	13,60	Verbenona	2,01
12	19,70	β -cariofileno	2,69

Fonte: Autor (2022)

Composição química similar a esta foi identificada por Zaouali et al. (2010), que encontraram dentre aos 25 componentes identificados, o 1,8-cineol (40,0%), cânfora (17,9%), α -pineno (10,3%), e canfeno (6,3%) como componentes majoritários.

De modo semelhante, Bouyahya et al. (2017) também apresentaram como os principais componentes do OE de *S. rosmarinus*, α -pineno (14,07%), 1,8-Cineol (23,67%) e cânfora

(18,74%) dentre os 29 componentes identificados.

Em outro estudo proposto por Sales e Pashazadeh (2020), foram identificados 19 compostos no OE de *S. rosmarinus* que correspondiam a 96,57% do OE. Os componentes majoritários foram 1,8 cineol (21,8%), α -pineno (18,7%), cânfora (14,6%), linalol (13,4%) e canfeno (7,2%). Maia et al. (2014), identificaram a seguinte composição: 1,8-cineol (44,39 %), cânfora (19,75 %), α -pineno (12 %) e β -cariofileno (4,53 %).

Até agora, cerca de 150 compostos químicos foram identificados em amostras de OE de *S. rosmarinus*, as moléculas relatadas com mais frequência foram os monoterpenos 1,8-cineol, α -pineno e cânfora (BORGES et al., 2019). A presença de monoterpenos em OEs é amplamente relatada em diversos estudos como os principais metabólitos. São responsáveis por diversas atividades biológicas, incluindo o efeito alelopático (FILHO et al. 2009; SAWI et al. 2019; ASSAEED et al. 2020).

Comparando os resultados para o OE de *S. rosmarinus* estudado com os disponíveis na literatura de referência, pode-se perceber que houve semelhanças entre os valores encontrados, sendo observadas diferenças apenas em seus níveis de concentração e na quantidade de compostos encontrados. Segundo Zaouali et al. (2010), estas diferenças podem depender de fatores como o tempo e estágio de colheita da planta, idade da planta, tipo de solo, clima e método de extração do OE, uma vez que estes são eficazes nos constituintes efetivos da planta.

Índice de refração e Conteúdo Fenólico Total (CFT)

Os resultados para o índice de refração e teor de fenólicos totais do OE e das O/A do material vegetal, estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Índice de refração e conteúdo fenólico total do óleo essencial e nanoemulsões estáveis de *S. rosmarinus*

ID	Índice de refração (nD 25°)	CFT (mg EAT g ⁻¹)	Equação da reta	R ²
OE	1,466	26,74		
NOE1	1,341	7,32		
NOE2	1,343	6,59		
NOE3	1,344	7,44	y=0,3151x-0,1813	0,998
NOE4	1,338	6,56		
NOE5	1,344	6,73		
NOE6	1,342	7,05		

Nota: OE- óleo essencial; NOE– Nanoemulsão estável do óleo essencial formulada por inversão de fases; 1 – Nanoemulsão composição 2,5% óleo essencial, 2,5% Tween 80 e 95% de H₂O; 2 – Nanoemulsão composição 2,5% óleo essencial, 5,0% Tween 80 e 92,50% de H₂O; 3 – Nanoemulsão composição 2,5% óleo essencial, 7,5% Tween 80 e 90,0% de H₂O; 4 – Nanoemulsão composição 2,5% óleo essencial, 2,5% Tween 20 e 90,0% de H₂O; 5 – Nanoemulsão composição 2,5% óleo essencial, 5,0% Tween 20 e 92,50% de H₂O; 6 – Nanoemulsão composição 2,5% óleo essencial, 7,5% Tween 20 e 92,50% de H₂O; Fonte: Autor (2022)

A amostra de OE de *S. rosmarinus* apresentou um índice de refração de 1,466. Segundo Santos et al., (2005), os óleos de *S. rosmarinus* brasileiros apresentaram índice de refração médio de 1,468, rotação óptica média de +11,82. Carreiro et al. (2020), encontraram valores semelhantes para amostras comerciais e uma amostra cultivada de *R. officinalis*, sendo elas, 1,466, 1,469 e 1,471 respectivamente.

De acordo com a Farmacopeia Brasileira (2019), os OEs de *S. rosmarinus* apresentam índice de refração na faixa de 1,460 - 1,476. De forma semelhante, as especificações recomendadas pela International Standard Organization (ISO) estabelecem, para *S. rosmarinus*, um índice de refração na faixa de 1,464 - 1,472 de acordo com a ISO 1342:2012.

Este parâmetro físico-químico é utilizado para a identificação e determinação de uma pureza de compostos e para análise de composição de misturas binárias homogênea de constituintes conhecido. Esta propriedade é utilizada para controlar a pureza dos OEs, que têm

um índice de refração característico (BANDONI, 2000). Observando os valores para o OE estudado neste trabalho e os da literatura, pode-se observar que há semelhanças entre eles, estando o índice de refração da amostra dentro dos padrões estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira (2019).

A Tabela 2 também apresenta os resultados das nanoemulsões (O/A) em diferentes concentrações, estes valores são menos, tendo como referência o OE, porém ainda assim resultados próximos. Segundo o Instituto Adolfo Lutz (1985), o índice de refração é característico para cada tipo de óleo, dentro de certos limites.

Isto está relacionado com o grau de saturação das ligações, mas é afetado por outros fatores tais como: teor de ácidos graxos livres, oxidação e tratamento térmico. As nanoemulsões por serem um material nanométrico, que possuem tamanho de faixa reduzido apresentam propriedades físico-químicas particulares em relação aos materiais estruturados em escala macroscópica (DURAN, 2006).

O conteúdo fenólico total (CFT) do OE, assim como para a O/A foram apresentados na Tabela 2. O conteúdo fenólico total (CFT) foi expresso como equivalente de ácido tânico (mg EAT/g de material vegetal) a equação da reta obtida foi $y = 0,3151x - 0,1813$ ($R^2 = 0,998$), sendo y a absorvância e x a concentração equivalente de ácido tânico.

O resultado do CFT para o OE de *S. rosmarinus* deste estudo apresentou um valor de compostos fenólicos de 26 mg EAT g⁻¹. Silva et al. (2011) relataram um resultado semelhante, através de um estudo com extrato aquoso de *S. rosmarinus*, em base equivalente em grama de ácido gálico, uma quantidade expressiva de compostos fenólicos com uma média de 30,70 mg g⁻¹. O conteúdo fenólico total para o OE da espécie em estudo possui poucas referências disponíveis na literatura, sendo assim evidenciada a importância deste estudo.

O teor de CFT de *S. rosmarinus* também é confirmado por Wang et al. (2018) e Moczowska et al. (2020). Em estudo realizado por Mendes et al. (2015) para extratos de condimentos alimentares, *S. rosmarinus* obteve um rendimento de compostos fenólicos de 47,86

mg mL⁻¹. Wang et al. (2018), relataram a quantidade do CFT na faixa de 10,30 a 160,70 mg EAG g⁻¹ de extrato.

S. rosmarinus é reconhecido como fonte potencial de compostos fenólicos, destacando três grandes: os ácidos fenólicos, flavonoides e diterpenos fenólicos (SILVA, 2012). As atividades biológicas desta planta têm sido relacionadas com os seus compostos fenólicos e os seus constituintes voláteis, tais como o α -pineno, acetato de bornilo, cânfora e 1,8-cineol presentes no óleo essencial desta planta (BABOVIC et al. 2010).

A presença de compostos fenólicos tem sido constantemente relacionada com potencial antioxidante e com outras atividades biológicas, como anti-inflamatória (BASTIANETTO et al., 2000; SILVA et al., 2009; ABDEL-HAMEED et al., 2014; LIU et al. 2014; LOU et al., 2014).

Atividade antioxidante

A Tabela 3 apresenta a atividade antioxidante do OE e das formulações estáveis. A partir das equações da reta, foram calculados os respectivos valores da concentração efetiva 50% (CE₅₀) responsável pela inibição de 50% de radicais hidroxilas.

Tabela 3 - Atividade antioxidante do OE e formulações estáveis

ID	CE ₅₀ (mg L ⁻¹)	Equação da reta	R ²
OE	80,33	y=144,22x-224,72	0,9882
NOE1	408,85	y= 26,733x-19,815	0,9929
NOE2	157,41	y= 31,528x-19,268	0,9919
NOE3	82,51	y=36,125x+19,234	0,9998
NOE4	110,51	y=59,963x-72,529	0,991
NOE5	109,03	y=35,808x-22,961	0,9995
NOE6	19,56	y= 39,916x+1,5459	0,9907

Nota: OE- óleo essencial; NOE– Nanoemulsão estável do óleo essencial formulada por inversão de fases; 1 – Nanoemulsão composição 2,5% óleo essencial, 2,5% Tween 80 e 95% de H₂O; 2 – Nanoemulsão composição 2,5% óleo essencial, 5,0% Tween 80 e 92,50% de H₂O; 3 – Nanoemulsão composição 2,5% óleo essencial, 7,5% Tween 80 e 90,0% de H₂O; 4 – Nanoemulsão composição 2,5% óleo essencial, 2,5% Tween 20 e 90,0% de H₂O; 5 – Nanoemulsão composição 2,5% óleo essencial, 5,0% Tween 20 e 92,50% de H₂O; 6 – Nanoemulsão composição 2,5% óleo essencial, 7,5% Tween 20 e 92,50% de H₂O; Fonte: Autor (2022)

Observa-se nos resultados da Tabela 3, os valores da CE_{50} das amostras em estudo, assim como as respectivas equações das retas obtidas a partir do padrão de ácido ascórbico. O valor da CE_{50} para o OE de *S. rosmarinus* foi de 80,33 mg L⁻¹, suas nanoemulsões apresentaram resultados superiores, exceto a formulação de NOE6 (nanoemulsão com 2,5% de OE e 7,5% de Tween 20) com o valor de 19,56 mg L⁻¹.

As amostras estudadas apresentaram concentrações efetivas menores que 500 mg L⁻¹, segundo Campos et al. (2003), produtos naturais com este nível de concentrações possuem atividade antioxidante.

Segundo Sousa et al. (2007) quanto menor o valor de CE_{50} maior a atividade antioxidante do composto vegetal, pois é necessária uma menor concentração de óleo essencial para reduzir o radical hidroxila em 50%. Assim destacando-se a formulação NOE6 com CE_{50} de 19,56 mgL⁻¹, a presença de uma maior quantidade de surfactante e água destilada na formulação proporcionou uma maior diluição do óleo essencial colaborando para este resultado, sendo este o melhor resultado para atividade antioxidante.

Wanderley (2016) apresentou a CE_{50} em diferentes amostras desse OE pelo método do sequestro do radical livre DPPH, observou-se concentrações variando de 33,44 a 36,43 mg mL⁻¹. Sabe-se que a atividade antioxidante de um OE está primeiramente relacionada à genética da planta e as condições climáticas do crescimento da mesma, e como segundo parâmetro o processo de extração do OE.

A atividade antioxidante também é uma das atividades biológicas que têm sido reportadas tanto para o OE como para os seus compostos isolados. Evidências científicas concluíram que o OE de *S. rosmarinus* tem maior atividade antioxidante devido aos seus compostos majoritários, nomeadamente 1,8-cineole, α -pineno e cânfora (WANG et al., 2008). Segundo Takayama et al. (2016) os monoterpenos estão entre os responsáveis pela ação antioxidante do OE do *S. rosmarinus*. A literatura demonstra que o *S. rosmarinus*, na forma de

seu OE, possui capacidade antioxidante. No entanto, deve ser levada em consideração a composição do óleo, tendo em vista que fatores ambientais e de cultivo podem alterar a resposta antioxidante (TIUZZI e FURLAN, 2016).

Atividade anti-inflamatória

A Tabela 4 apresenta os resultados da atividade anti-inflamatória do OE e nanoemulsões de *S. rosmarinus*, estes valores são as concentrações Eficientes Inibitórias (CE₅₀) resultantes dos processos de desnaturação proteica.

Tabela 4 - Atividade anti-inflamatória do OE e nanoemulsões estáveis

ID	CE ₅₀ (mg L ⁻¹)	Equação da reta	R ²
OE	62,46	y=6,782x+37,822	0,9986
NOE1	64,96	y=24,196x+ 6,1419	0,9977
NOE2	624,66	y=111,62x-262,05	0,9998
NOE3	-	-	-
NOE4	4220,25	y=32,117x-66,435	0,9997
NOE5	477,71	y=110,71x+246,61	0,9981
NOE6	101,57	y=56,881x+64,148	0,9997

Nota: OE- óleo essencial; NOE– Nanoemulsão estável do óleo essencial formulada por inversão de fases; 1 – Nanoemulsão composição 2,5% óleo essencial, 2,5% Tween 80 e 95% de H₂O; 2 – Nanoemulsão composição 2,5% óleo essencial, 5,0% Tween 80 e 92,50% de H₂O; 3 – Nanoemulsão composição 2,5% óleo essencial, 7,5% Tween 80 e 90,0% de H₂O; 4 – Nanoemulsão composição 2,5% óleo essencial, 2,5% Tween 20 e 90,0% de H₂O; 5 – Nanoemulsão composição 2,5% óleo essencial, 5,0% Tween 20 e 92,50% de H₂O; 6 – Nanoemulsão composição 2,5% óleo essencial, 7,5% Tween 20 e 92,50% de H₂O; Fonte: Autor (2022)

O resultado obtido para o OE de *S. rosmarinus*, em comparação aos apresentados pelas formulações, foi menor tendo uma CE₅₀ de 62,46 mg L⁻¹, sendo assim o OE apresenta uma maior atividade anti-inflamatória.

As nanoemulsões avaliadas apresentaram respostas de maiores concentrações, porem

relacionadas a desnaturação da proteína, com exceção da NOE1 que difere das demais por apresentar inibição do processo de desnaturação, com CE_{50} de 64,96 mg L⁻¹ sendo este resultado a melhor atividade anti-inflamatória para as nanoemulsões. A nanoemulsão NOE3 não apresentou resultado satisfatório ou conclusivo.

A atividade anti-inflamatória das nanoemulsões foi avaliada no estudo desenvolvido por Borges et al. (2018) que avaliaram o potencial anti-inflamatório de nanoemulsões contendo OE de *S. rosmarinus* in vitro e in vivo, e observada a capacidade das nanoemulsões de potencializar a ação anti-inflamatória dos OEs. Enquanto que estudos realizados por Altinier et al. (2007) da atividade anti-inflamatória resultaram em um efeito fraco para os extratos de *S. rosmarinus*.

Este resultado para as nanoemulsões pode ser justificado pela da composição majoritária encontrada na amostra avaliada neste trabalho, principalmente os monoterpenos, na disposição das formulações ou até mesmo no fenótipo da planta. A desnaturação proteica é um dos principais problemas documentados em condições inflamatórias (PADMANABHAN e JANGLE, 2012). Entretanto estudos que avaliassem a atividade anti-inflamatória por desnaturação proteica não foram encontrados para OE e formulações de *S. rosmarinus* sendo este um estudo inédito.

4 CONCLUSÕES

Através dos resultados obtidos neste estudo, o OE de *Salvia rosmarinus* (alecrim) encontra-se dentro das normas e padrões estabelecidos, tendo em vista seus parâmetros físico-químicos e composição majoritária de seus constituintes químicos. Também foram avaliadas as formulações de nanoemulsões, o índice de refração e fenólicos totais apresentaram valores satisfatórios muito similares ao seu OE e estando de acordo com as referências encontradas na literatura de outros estudos. As atividades farmacológicas, como anti-inflamatória apresentaram valores baixos para CE_{50} sendo assim considerados eficientes. A atividade antioxidante mostrou potencial e resultado satisfatório, evidenciando

uma das nanoemulsões com resultado melhor que o OE. Por se tratar de um estudo relativamente novo poucas referências estão disponíveis para nanoemulsões de *S. rosmarinus*, evidenciando assim a importância da continuidade de trabalhos como este em busca de novos resultados.

REFERÊNCIAS

ABREU, I. N.; CHOI, Y. H.; SAWAYA, A. C. H. F. et al. Metabolic alterations in different developmental stages of *Pilocarpus microphyllus*. **Planta Medica**, v. 77, n. 3, p. 293–300, 2011

ALTINIER, G.; SOSA, S.; AQUINO, R.P.; MENCHERINI, T.; LOGGIA, R.D.; TUBARO, A. Characterization of Topical Antiinflammatory Compounds in *Rosmarinus officinalis* L. J. **Agric. Food Chem.**, v. 55, p. 1718 –1723, 2007.

ASSAEED, A. et al. Sesquiterpenes-rich essential oil from above ground parts of *pulicaria somalensis* exhibited antioxidant activity and allelopathic effect onweeds. **Agronomy**, v. 10, n. 3, p. 399, 2020.

BABOVIC N, DJILAS S, JADRANIN M, VAJS M, IVANOVIC J, PETROVIC R & ZIZOVIC I. Supercritical carbon dioxide extraction of antioxidant fractions from selected Lamiaceae herbs and their antioxidant capacity. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 98-107, 2010.

BANDONI, A. Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. Argentina: **Red de Editoriales Universitarias: La Plata**, pp. 13-43, 149-171, 197- 232, 2000.

BASTIANETTO, S.; ZHENG, W. H.; QUIRION, R. Neuroprotective abilities of resveratrol and other red wine constituents against nitric oxide-related toxicity in cultured hippocampal neurons. **British Journal of Pharmacology**, v. 131, n. 4, p. 711– 20, 2000.

BORGES, S. R. et al. Anti-inflammatory activity of nanoemulsions of essential oil from *Rosmarinus officinalis* L.: in vitro and in zebrafish studies. **Inflammopharmacology**, v. 26, p. 1057-1080, 2018.

BORGES, S.R.; ORTIZ, B.L.S.; PEREIRA, A.C.M.; KEITA, H.; CARVALHO, J.C.T. *Rosmarinus officinalis* essential oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 229, p.29-45, 2019.

BOUYAHYA, A.; ET-TOUYS, A.; BAKRI, Y.; AHMED, T.; FELLAH, H.; ABRINI, J.; DAKKA, N. Chemical composition of *Mentha pulegium* and *Rosmarinus officinalis* essential oils and their antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities. **Microbial Pathogenesis**, v. 111, p. 41-49, 2017.

CARREIRO, O.G.; RAHAL, I.L.; BORTOLUCCI, W.C.; GONÇALVES, J.E.; FARIA, M.G.I.; FERNANDEZ, C.M.M.; RUIZ, S.P.; COLAUTO, N.B.; LINDE, G.A.; GAZIM, C.Z. Determinação dos índices físico-químicos dos óleos essenciais de *Rosmarinus officinalis*, *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon winterianus*. **Research, Society and development**, v. 9, n. 11, 2020.

DE MARTINO, L.; MANCINI, E.; MARANDINO, A.; DE ALMEIDA, L.F.R.; DE FEO, V. Chemistry and antigerminative activity of essential oils and monoterpenoids from Mediterranean plants. *Curr. Bioact.*, v. 8, p. 13–49, 2012.

DE OLIVEIRA, R. J.; CAMARGO, S.E.A.; DE OLIVEIRA, L.D. *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary) as therapeutic and prophylactic agente. *Journal of Biomedical Science*, v. 26, n. 5, 2019.

DONSI, F.; FERRARI, G. **Nanoemulsões de óleos essenciais como agentes antimicrobianos em alimentos.** *J. Biotechnol.*, v. 233, p. 106-120, 2016.

DUARTE, J.L.; AMADO, J.R.R.; OLIVEIRA, A.E.M.F.M.; CRUZ, R.A.S.; FERREIRA, A.M.; SOUTO, R.N.P.; FALCÃO, D.Q.; CARVALHO, J.C.T.; FERNANDES, C.P. Evaluation of larvicidal activity of a nanoemulsion of *Rosmarinus officinalis* essential oil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 25, p. 189–192, 2015.

DURAN, N.; MATTOSO, L. H. C.; MORAIS, P. C. Nanotecnologia: Introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e Exemplos de aplicação; Artliber: São Paulo, 2006.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 6 ed., 2019.

FILHO, A. P. S. S. et al. Efeitos potencialmente alelopáticos dos óleos essenciais de *Piper hispidinervium* C. DC. e *Pogostemon heyneanus* Benth sobre plantas daninhas. *Acta Amazonica*, v. 39, n. 2, p. 389–395, 2009.

FRONZA, T.; GUTERRES, S.; POHLMANN, A.; TEIXEIRA, H. Nanocosméticos: Em direção ao estabelecimento de Marcos Regulatórios. Porto Alegre: UFRGS, 2007.

GUPTA, A.; ERAL, H.B.; HATTON, T.A.; DOYLE, P.S. Nanoemulsões: formação, propriedades e aplicações. *Matéria Mole*, v.12, p. 2826-2841, 2016.

HUSSAIN, A. I; ANWAR F.; CHATHAI, S. A. S; JABBAR, A.; MAHBOOBIII, S.; NIGAM, P. S. *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 41, p. 1070-1078, 2010.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v.1.: **Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**, 3. ed. São Paulo: IMESP, p.245-246. 1985.

INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. (ISO 1342:2012) Essencial oil Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), 3 ed., 2012.

IZQUIERDO, P., ESQUENA, J., TADROS, T.F., DEDEREN, C., GARCIA, M.J., AZEMAR, N., SOLANS, C. Formation and stability of nano-emulsions prepared using the phase inversion temperature method. *Langmuir*, v. 18, p. 26–30, 2002.

KUBITSCHK-KM, A. R. J.; ZERO, J. M. Development of jojoba oil (*Simmondsia chinensis* (Link) CK Schneid.) based nanoemulsions. *Lat. Am. J. Pharm*, v.33, p. 459-63, 2014.

LIMA, T. C. P.; DE ALMEIDA, A. F.; DE OLIVEIRA, E. C. P.; CARRERA SILVA JÚNIOR, J. O.; RIBEIRO COSTA, R. M.; PENA MATOS, A.; FONSECA GOMES, M. R. Desenvolvimento de nanogel de *Copaifera reticulata* sobre a lesão muscular em ratos usando fonoforese. *Saúde e Pesquisa*, v.13, p.181-192, 2020.

LIU, P.; KALLIO, H.; YANG, B. Flavonol glycosides and other phenolic compounds in buds and leaves of

different varieties of black currant (*Ribes nigrum* L.) and changes during growing season. **Food Chemistry**, v. 160, p. 180–9, 2014.

LOU, S.-N.; LIN, Y.-S.; HSU, Y.-S.; CHIU, E.-M.; HO, C.-T. Soluble and insoluble phenolic compounds and antioxidant activity of immature calamondin affected by solvents and heat treatment. **Food chemistry**, v. 161, p. 246–53, 2014.

MACCIONI, A., SANTO, A., FALCONIERI, D., PIRAS, A., MANCONI, M., MAXIA, A., BACCHETTA, G. Inhibitory effect of rosemary essential oil, loaded in liposomes, on seed germination of *Acacia saligna*, an invasive species in Mediterranean ecosystems. **Botany**, v. 97, p. 283–291, 2019.

MACEDO, L. M., SANTOS, É. M. D., MILITÃO, L., TUNDISI, L. L., ATAIDE, J. A., SOUTO, E. B., & MAZZOLA, P. G. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L., syn *Salvia rosmarinus* Spenn.) and It's topical applications: a review. **Plants**, v. 9(5), 651, 2020.

MAIA, A. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; FARIA, C. M. D. R.; OLIVEIRA, J. S. B.; JARDINETTI, V. A.; BATISTA, B. N. Óleo essencial de alecrim no controle de doenças e na indução e resistência em videira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, n.5, p.330-339, 2014.

MCCLEMENTS, D.J.; RAO, J. Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v. 51, p. 285–330, 2011.

MIRANDA, C. A. S. F. et al. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, p. 213-220, 2016.

MOCZKOWSKA, MALGORZATA; KARP, SABINA; HORBANCZUK, OLAF K.; HANULA, MONIKA; WYRWISZ, JAROSLAW; KUREK, MARCIN A. Effect of rosemary extract addition on oxidative stability and quality of hemp seed oil. **Food and Bioproducts Processing**, v.124, p. 33–47, 2020.

OSTERTAG, F.; WEISS, J.; MCCLEMENTS, D.J. Low-energy formation of edible nanoemulsions: factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion. **J. Colloid Interface Sci.**, v. 388, p. 95-112, 2012.

PADMANABHAN, P.; JANGLE, S.N. Evaluation of *in vitro* anti-inflammatory activity of herbal preparation, a combination of four medicinal plants. **JMS**, v. 2, p. 109-116, 2012.

RODRIGUES, E. D. C.; FERREIRA, A. M.; VILHENA, J. C.; ALMEIDA, F. B.; CRUZ, R. A.; FLORENTINO, A. C.; SOUTO, R.N.P.; CARVALHO, J.C.T.; FERNANDES, C. P. Development of a larvicidal nanoemulsion with Copaiba (*Copaifera duckei*) oleoresin. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.24, p.699-705, 2014.

SALES, A.J.; PASHAZADEH, M. Study of Chemical composition and antimicrobial properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil on *Staphylococcus Aureus* and *Escherichia coli* *in vitro*. **International Journal of Life Sciences and Biotechnology**, v. 3, p.60-69, 2020.

SANTOS, A.C.; ROSSATO, M.; PAULETTI, G.F.; ROTA, L.D.; RECH, J.C.; PANSERA, M.R.; AGOSTINI, F.; SERAFINI, L.A.; MOYNA, P. Physico-chemical evaluation of *Rosmarinus officinalis* L. essential oils. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, p.: 1035-1039, 2005

SAWI, S. A. EL. et al. Allelopathic potential of essential oils isolated from peels of three citrus species. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 64, n. 1, p. 89–94, 2019.

SHAFIQ, S.; SHAKEEL, F.; TALEGAONKAR, S.; AHMAD, F. J.; KHAR, R. K.; ALI, M. Development and bioavailability assessment of ramipril nanoemulsion formulation. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, v. 66(2), p. 227-243, 2007.

SILVA, A. M. O. Efeitos do extrato aquoso de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) na inflamação aguda e sobre os marcadores de estresse oxidativo de ratos diabéticos. Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de alimentos e nutrição experimental, São Paulo, 2012.

SILVA, A. M. O.; WARTHA, E. R. S. A.; DE CARVALHO, E.B.T; LIMA, A.; MOVOA, A.V.; FILHO, J. M. Efeitos do extrato aquoso de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) sobre o estresse oxidativo em ratos diabéticos. **Ver. Nutr.**, v. 24, p. 121-130, 2011.

SILVA, M. S. A.; SILVA, M. A. R.; HIGINO, J. S.; PEREIRA, M. S. V.; CARVALHO, A. A. T. Atividade antimicrobiana e antiaderente in vitro do extrato de *Rosmarinus officinalis Linn.* sobre bactérias orais planctônicas. **Revista Brasileira Farmacognosia**, Curitiba, v. 18, n. 2, 2008.

SMINORFF, N.; CUMBES, Q. J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. **Phytochemistry**, v. 28(4), p. 1057-1060, 1989.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de nutrição da PUCCAMP**, v.15, n.1, p. 71-81, 2002.

SOUSA, C. M. D. M.; SILVA, H. R.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S. D.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; Chaves, M. H. Total phenolics and antioxidant activity of five medicinal plants. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SUGUMAR, S., CLARKE, S. K., NIRMALA, M. J., TYAGI, B. K., MUKHERJEE, A., & CHANDRASEKARAN, N. Nanoemulsion of eucalyptus oil and its larvicidal activity against *Culex quinquefasciatus*. **Bulletin of entomological research**, v. 104, p. 393-402, 2014.

SUNDARARAJAN, R., & KODURU, R. In vitro antioxidant activity on roots of *Limnophila heterophylla*. *Free Radicals and Antioxidants*, v. 6, p. 178-185, 2016.

TADROS, T.; IZQUIERDO, P.; ESQUENA, J.; SOLANS, C. Formation and stability of nano-emulsions. **Adv Colloid Interface Sci**, v. 108–109, p. 303–318, 2004.

TAKAYAMA, C.; DE-FARIA, F. M.; ALMEIDA, A. C. A. et al. Chemical composition of *Rosmarinus officinalis* essential oil and antioxidant action against gastric damage induced by absolute ethanol in the rat. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, 2016.

TIUZZI, M.; FURLAN, M.R. Atividade antioxidante do alecrim. **Revista eletrônica thesis**, n. 26, p.99 – 114, 2016.

VIEIRA, Ana Julia et al. Limonene: Aroma of innovation in health and disease. **Chemico-Biological Interactions**, v. 283, p. 97-106, 2018.

WANDERLEY, A. L. Atividade antioxidante e antimicrobiana do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis L.*, cultivado em sistema orgânico sob diferentes condições, frente a bactérias causadoras de mastite bovina.

Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasil, 2016.

WANG, YU-ZHU; FU, SHIH-GUEI; WANG, SHENG-YAO; YANG, DENG-JYE; WU, YI-HSIENG SAMUEL; CHEN, YI-CHEN. Effects of a natural antioxidant, polyphenol-rich rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract, on lipid stability of plant-derived omega-3 fatty-acid rich oil. *LWT - Food Science and Technology*, v. 89, p. 210–216, 2018.

WATERHOUSE, A.L. Folin-Ciocalteu Micro Method for Total Phenol in Wine. 2002.

ZAOUALI, Y.; BOUZAINÉ, T.; BOUSSAID, M. Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food and Chemical Toxicology*, v. 48, p.3144-3152, 2010.

ZHUANG, H.; TANG, N.; YUAN, Y. Purification and identification of antioxidant peptides from corn gluten meal. *Journal of Functional Foods*, v. 5, n. 4, p. 1810-1821, 2013.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por Através dos resultados obtidos neste estudo, o OE de *Salvia rosmarinus* (alecrim) encontra-se dentro das normas e padrões estabelecidos, tendo em vista seus parâmetros físico-químicos e composição majoritária de seus constituintes químicos. Também foram avaliadas as formulações de nanoemulsões, o índice de refração e fenólicos totais apresentaram valores satisfatórios muito similares ao seu OE e estando de acordo com as referências encontradas na literatura de outros estudos. As atividades farmacológicas, como anti-inflamatória apresentaram valores baixos para CE₅₀ sendo assim considerados eficientes. A atividade antioxidante mostrou potencial e resultado satisfatório, evidenciando uma das nanoemulsões com resultado melhor que o OE. Por se tratar de um estudo relativamente novo poucas referências estão disponíveis para nanoemulsões de *S. rosmarinus*, evidenciando assim a importância da continuidade de trabalhos como este em busca de novos resultados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, I. N.; CHOI, Y. H.; SAWAYA, A. C. H. F. et al. Metabolic alterations in different developmental stages of *Pilocarpus microphyllus*. **Planta Medica**, v. 77, n. 3, p. 293–300, 2011

ALTINIER, G.; SOSA, S.; AQUINO, R.P.; MENCHERINI, T.; LOGGIA, R.D.; TUBARO, A. Characterization of Topical Antiinflammatory Compounds in *Rosmarinus officinalis* L. J. **Agric. Food Chem.**, v. 55, p. 1718 –1723, 2007.

ASSAEED, A. et al. Sesquiterpenes-rich essential oil from above ground parts of *pulicaria somalensis* exhibited antioxidant activity and allelopathic effect onweeds. **Agronomy**, v. 10, n. 3, p. 399, 2020.

BABOVIC N, DJILAS S, JADRANIN M, VAJS M, IVANOVIC J, PETROVIC R & ZIZOVIC I. Supercritical carbon dioxide extraction of antioxidant fractions from selected Lamiaceae herbs and their antioxidant capacity. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, p. 98-107, 2010.

BANDONI, A. Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica, su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores. Argentina: **Red de Editoriales Universitarias: La Plata**, pp. 13-43, 149-171, 197- 232, 2000.

BASTIANETTO, S.; ZHENG, W. H.; QUIRION, R. Neuroprotective abilities of resveratrol and other red wine constituents against nitric oxide-related toxicity in cultured hippocampal neurons. **British Journal of Pharmacology**, v. 131, n. 4, p. 711– 20, 2000.

BORGES, S. R. et al. Anti-inflammatory activity of nanoemulsions of essential oil from *Rosmarinus officinalis* L.: in vitro and in zebrafsh studies. **Inflammopharmacology**, v. 26, p. 1057-1080, 2018.

BORGES, S.R.; ORTIZ, B.L.S.; PEREIRA, A.C.M.; KEITA, H.; CARVALHO, J.C.T. *Rosmarinus officinalis* essencial oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 229, p.29-45, 2019.

BOUYAHYA, A.; ET-TOUYS, A.; BAKRI, Y.; AHMED, T.; FELLAH, H.; ABRINI, J.; DAKKA, N. Chemical composition of *Mentha pulegium* and *Rosmarinus officinalis* essential oils and their antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities. **Microbial Pathogenesis**, v. 111, p. 41-49, 2017.

CARREIRO, O.G.; RAHAL, I.L.; BORTOLUCCI, W.C.; GONÇALVES, J.E.; FARIA, M.G.I.; FERNANDEZ, C.M.M.; RUIZ, S.P.; COLAUTO, N.B.; LINDE, G.A.; GAZIM, C.Z. Determinação dos índices físico-químicos dos óleos essenciais de *Rosmarinus officinalis*, *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon winterianus*. **Research, Society and development**, v. 9, n. 11, 2020.

DE MARTINO, L.; MANCINI, E.; MARANDINO, A.; DE ALMEIDA, L.F.R.; DE FEO, V. Chemistry and antigerminative activity of essential oils and monoterpenoids from Mediterranean plants. **Curr. Bioact.**, v. 8, p. 13–49, 2012.

DE OLIVEIRA, R. J.; CAMARGO, S.E.A.; DE OLIVEIRA, L.D. *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary) as therapeutic and prophylactic agente. **Journal of Biomedical Science**, v. 26, n. 5, 2019.

DONSI, F.; FERRARI, G. **Nanoemulsões de óleos essenciais como agentes antimicrobianos em alimentos.** **J. Biotechnol.**, v. 233, p. 106-120, 2016.

DUARTE, J.L.; AMADO, J.R.R.; OLIVEIRA, A.E.M.F.M.; CRUZ, R.A.S.; FERREIRA, A.M.; SOUTO, R.N.P.; FALCÃO, D.Q.; CARVALHO, J.C.T.; FERNANDES, C.P. Evaluation of larvicidal activity of a nanoemulsion of *Rosmarinus officinalis* essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 189–192, 2015.

DURAN, N.; MATTOSO, L. H. C.; MORAIS, P. C. Nanotecnologia: Introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e Exemplos de aplicação; Artliber: São Paulo, 2006.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 6 ed., 2019.

FILHO, A. P. S. S. et al. Efeitos potencialmente alelopáticos dos óleos essenciais de *Piper hispidinervium* C. DC. e *Pogostemon heyneanus* Benth sobre plantas daninhas. **Acta Amazonica**, v. 39, n. 2, p. 389–395, 2009.

FRONZA, T.; GUTERRES, S.; POHLMANN, A.; TEIXEIRA, H. Nanocosméticos: Em direção ao estabelecimento de Marcos Regulatórios. Porto Alegre: UFRGS, 2007.

GUPTA, A.; ERAL, H.B.; HATTON, T.A.; DOYLE, P.S. Nanoemulsões: formação, propriedades e aplicações. **Matéria Mole**, v.12, p. 2826-2841, 2016.

HUSSAIN, A. I; ANWAR F.; CHATHAI, S. A. S; JABBAR, A.; MAHBOOBIII, S.; NIGAM, P. S. *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, p. 1070-1078, 2010.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v.1.:**Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**, 3. ed. São Paulo: IMESP, p.245-246. 1985.

INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. (ISO 1342:2012) Essencial oil Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), 3 ed., 2012.

IZQUIERDO, P., ESQUENA, J., TADROS, T.F., DEDEREN, C., GARCIA, M.J., AZEMAR, N., SOLANS, C. Formation and stability of nano-emulsions prepared using the phase inversion temperature method. **Langmuir**, v. 18, p. 26–30, 2002.

KUBITSCHKE-KM, A. R. J.; ZERO, J. M. Development of jojoba oil (*Simmondsia chinensis* (Link) CK Schneid.) based nanoemulsions. *Lat. Am. J. Pharm*, v.33, p. 459-63, 2014.

LIMA, T. C. P.; DE ALMEIDA, A. F.; DE OLIVEIRA, E. C. P.; CARRERA SILVA JÚNIOR, J. O.; RIBEIRO COSTA, R. M.; PENA MATOS, A.; FONSECA GOMES, M. R. Desenvolvimento de nanogel de *Copaifera reticulata* sobre a lesão muscular em ratos usando fonoforese. **Saúde e Pesquisa**, v.13, p.181-192, 2020.

LIU, P.; KALLIO, H.; YANG, B. Flavonol glycosides and other phenolic compounds in buds and leaves of different varieties of black currant (*Ribes nigrum* L.) and changes during growing season. **Food Chemistry**, v. 160, p. 180–9, 2014.

LOU, S.-N.; LIN, Y.-S.; HSU, Y.-S.; CHIU, E.-M.; HO, C.-T. Soluble and insoluble phenolic compounds and antioxidant activity of immature calamondin affected by solvents and heat treatment. **Food chemistry**, v. 161, p. 246–53, 2014.

MACCIONI, A., SANTO, A., FALCONIERI, D., PIRAS, A., MANCONI, M., MAXIA, A., BACCHETTA, G. Inhibitory effect of rosemary essential oil, loaded in liposomes, on seed germination of *Acacia saligna*, an invasive species in Mediterranean ecosystems. **Botany**, v. 97, p. 283–291, 2019.

MACEDO, L. M., SANTOS, É. M. D., MILITÃO, L., TUNDISI, L. L., ATAIDE, J. A., SOUTO, E. B., & MAZZOLA, P. G. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L., syn *Salvia rosmarinus* Spenn.) and It's topical applications: a review. **Plants**, v. 9(5), 651, 2020.

MAIA, A. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; FARIA, C. M. D. R.; OLIVEIRA, J. S. B.; JARDINETTI, V. A.; BATISTA, B. N. Óleo essencial de alecrim no controle de doenças e na indução e resistência em videira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, n.5, p.330-339, 2014.

MCCLEMENTS, D.J.; RAO, J. Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v. 51, p. 285–330, 2011.

MIRANDA, C. A. S. F. et al. Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 47, p. 213-220, 2016.

MOCZKOWSKA, MALGORZATA; KARP, SABINA; HORBANCZUK, OLAF K.; HANULA, MONIKA; WYRWISZ, JAROSLAW; KUREK, MARCIN A. Effect of rosemary extract addition on oxidative stability and quality of hemp seed oil. **Food and Bioproducts Processing**, v.124, p. 33–47, 2020.

OSTERTAG, F.; WEISS, J.; MCCLEMENTS, D.J. Low-energy formation of edible nanoemulsions: factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion. **J. Colloid Interface Sci.**, v. 388, p. 95-112, 2012.

PADMANABHAN, P.; JANGLE, S.N. Evaluation of *in vitro* anti-inflammatory activity of herbal preparation, a combination of four medicinal plants. **JMS**, v. 2, p. 109-116, 2012.

RODRIGUES, E. D. C.; FERREIRA, A. M.; VILHENA, J. C.; ALMEIDA, F. B.; CRUZ, R. A.; FLORENTINO, A. C.; SOUTO, R.N.P.; CARVALHO, J.C.T.; FERNANDES, C. P. Development of a larvicidal nanoemulsion with Copaiba (*Copaifera duckei*) oleoresin. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.24, p.699-705, 2014.

SALES, A.J.; PASHAZADEH, M. Study of Chemical composition and antimicrobial properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil on *Staphylococcus*

Aureus and Escherichia coli in vitro. **International Journal of Life Sciences and Biotechnology**, v. 3, p.60-69, 2020.

SANTOS, A.C.; ROSSATO, M.; PAULETTI, G.F.; ROTA, L.D.; RECH, J.C.; PANSERA, M.R.; AGOSTINI, F.; SERAFINI, L.A.; MOYNA, P. Physico-chemical evaluation of *Rosmarinus officinalis* L. essential oils. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, p.: 1035-1039, 2005

SAWI, S. A. EL. et al. Allelopathic potential of essential oils isolated from peels of three citrus species. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 64, n. 1, p. 89–94, 2019.

SHAFIQ, S.; SHAKEEL, F.; TALEGAONKAR, S.; AHMAD, F. J.; KHAR, R. K.; ALI, M. Development and bioavailability assessment of ramipril nanoemulsion formulation. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, v. 66(2), p. 227-243, 2007.

SILVA, A. M. O. Efeitos do extrato aquoso de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) na inflamação aguda e sobre os marcadores de estresse oxidativo de ratos diabéticos. Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de alimentos e nutrição experimental, São Paulo, 2012.

SILVA, A. M. O.; WARTHA, E. R. S. A.; DE CARVALHO, E.B.T; LIMA, A.; MOVOA, A.V.; FILHO, J. M. Efeitos do extrato aquoso de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) sobre o estresse oxidativo em ratos diabéticos. **Ver. Nutr.**, v. 24, p. 121-130, 2011.

SILVA, M. S. A.; SILVA, M. A. R.; HIGINO, J. S.; PEREIRA, M. S. V.; CARVALHO, A. A. T. Atividade antimicrobiana e antiaderente in vitro do extrato de *Rosmarinus officinalis* Linn. sobre bactérias orais planctônicas. **Revista Brasileira Farmacognosia**, Curitiba, v. 18, n. 2, 2008.

SMINORFF, N.; CUMBES, Q. J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. **Phytochemistry**, v. 28(4), p. 1057-1060, 1989.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de nutrição da PUCAMP**, v.15, n.1, p. 71-81, 2002.

SOUSA, C. M. D. M.; SILVA, H. R.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S. D.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; Chaves, M. H. Total phenolics and antioxidant activity of five medicinal plants. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SUGUMAR, S., CLARKE, S. K., NIRMALA, M. J., TYAGI, B. K., MUKHERJEE, A., & CHANDRASEKARAN, N. Nanoemulsion of eucalyptus oil and its larvicidal activity against *Culex quinquefasciatus*. **Bulletin of entomological research**, v. 104, p. 393-402, 2014.

SUNDARARAJAN, R., & KODURU, R. In vitro antioxidant activity on roots of *Limnophila heterophylla*. **Free Radicals and Antioxidants**, v. 6, p. 178-185, 2016.

TADROS, T.; IZQUIERDO, P.; ESQUENA, J.; SOLANS, C. Formation and stability of nano-emulsions. **Adv Colloid Interface Sci**, v. 108–109, p. 303–318, 2004.

TAKAYAMA, C.; DE-FARIA, F. M.; ALMEIDA, A. C. A. et al. Chemical composition of *Rosmarinus officinalis* essential oil and antioxidant action against gastric damage induced by absolute ethanol in the rat. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, 2016.

TIUZZI, M.; FURLAN, M.R. Atividade antioxidante do alecrim. **Revista eletrônica thesis**, n. 26, p,99 – 114, 2016.

VIEIRA, Ana Julia et al. Limonene: Aroma of innovation in health and disease. **Chemico-Biological Interactions**, v. 283, p. 97-106, 2018.

WANDERLEY, A. L. Atividade antioxidante e antimicrobiana do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L., cultivado em sistema orgânico sob diferentes condições, frente a bactérias causadoras de mastite bovina. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasil, 2016.

WANG, YU-ZHU; FU, SHIH-GUEI; WANG, SHENG-YAO; YANG, DENG-JYE; WU, YI-HSIENG SAMUEL; CHEN, YI-CHEN. Effects of a natural antioxidant, polyphenol-rich rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract, on lipid stability of plant-derived omega-3 fatty-acid rich oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 89, p. 210–216, 2018.

WATERHOUSE, A.L. Folin-Ciocalteu Micro Method for Total Phenol in Wine. 2002.

ZAOUALI, Y.; BOUZAINÉ, T.; BOUSSAID, M. Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p.3144-3152, 2010.

ZHUANG, H.; TANG, N.; YUAN, Y. Purification and identification of antioxidant peptides from corn gluten meal. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 4, p. 1810-1821, 2013.

ANEXO A - NORMAS DA REVISTA

Submissions

Make a new submission or view your pending submissions.

Submission Preparation Checklist

As part of the submission process, authors are required to check off their submission's compliance with all of the following items, and submissions may be returned to authors that do not adhere to these guidelines.

The contribution is original and unpublished, and is not being evaluated by other journal.

If not, justify on “Editor’s Comments”.

The files for submission must comply with the "Template for new articles" located in Author Guidelines. LaTeX files must be prepared in LaTeX2e, which are also available in Author Guidelines.

The name of the authors must not appear anywhere in the file. Thus, authors should remove the name of the manuscript and the “Properties” function in Word. References and bibliographic citations must follow ABNT, NBR 6023 and NBR 10520 standards, according to the examples presented in the template.

The text follows the style standards and bibliographic requirements described in Author Guidelines, in the section About - Submissions - Author Guidelines.

The name of the authors must not appear anywhere in the file. Thus, authors should remove the name of the manuscript and the “Properties” function in Word.

References and bibliographic citations must follow ABNT, NBR 6023 and NBR 10520 standards, according to the examples presented in the template.

It is mandatory to include 3 possible Evaluators with **Full Name, E-mail, Institution and ORCID**.

Send as “Supplementary Document” in the Submission moment.

In Section of Mathematics will be accepted **ONLY** articles in **LaTeX** format with the PDF file.

DO NOT will be accepted articles in Microsoft Word format.

The authorship identification of the work **must be removed** from the **file** and from the **Word's “Properties”** option, providing this how the Journal's secrecy criteria,

if submitted to evaluation by pairs (Ex.: articles) according to the available instructions on Ensuring the Evaluation by Blind Pairs.

Add "HIGHLIGHTS" of the article (submitted as supplementary material), which are the main contributions of the article. Example: <https://www.elsevier.com/authors/journal-authors/highlights>;

We also require GRAPHICAL ABSTRACTS; A figure that represents or summarizes the article. Example: <https://www.elsevier.com/authors/journal-authors/graphical-abstract>

DEAR AUTHORS,

PLEASE, CHECK CAREFULLY BEFORE YOUR SUBMISSION:

- IF ALL AUTHORS "METADATA" (ORCID, LINK TO LATTES, SHORT BIOGRAPHY, AFFILIATION) WERE ADDED,
- THE CORRECT IDIOM YOUR SECTION,
- IF THE HIGHLIGHTS WERE ADDED,
- IF THE GRAPHIC ABSTRACTS WAS ADDED,
- IF THE REVIEWERS INDICATION WAS DONE,
- IF THE REFERENCES FORMAT ARE CORRECT(ABNT)
- IF THE RESOLUTION YOUR FIGURES (600 DPI) ARE SUITABLE
- IF THE STATEMENT BY THE ETHICS COMMITTEE (IF IT INVOLVES HUMANS) WAS ADDED;
- IF THE DECLARATION OF ORIGINALITY WAS ADDED.
- IF THE TEXT IS ORIGINAL. IF THE IDEA HAS ALREADY BEEN REGISTERED IN SUMMARY FORM, OR PUBLISHED IN CONGRESS ANNUALS, PLEASE INFORM THE EDITOR.

Author Guidelines

Since Ciência e Natura Journal has an interdisciplinary character, it is paramount that the authors, when submitting their works, do so in the proper section: **STC, MTM, PSC, CMT, BLG, MTR, GSC, EDC**.

Also, they must indicate the specific area on the "Comments to the Editor" section and mention the paper's title or the classification code according to the CNPq table.

Authors should also specify: Original Article, Review Article or Issued Article. Articles that do not attend to the specifications will not be accepted.

Currently, this Journal accepts submissions in Microsoft Word and LaTeX format, according to the conditions for submissions mentioned below:

1. The Article must be in accord with :

Template for new articles

1.2. When submitting a **LaTeX format file**²

- Page limit: 25;
- The Articles must be written in LaTeX2e, according to the model available at "Template CeN LaTeX";
- The figures should preferably be in ".pdf" or ".eps" format;
- The references should be preferably prepared in BibTeX, using "cen.bst";
- The Article must be submitted for evaluation **WITHOUT THE AUTHORS IDENTIFICATION**, in ".pdf" format, to make sure the "blind" evaluation by pairs;
- The original files must be in ".tex" format and should be sent along with the figures and "Supplementary Documents" files.

1 The Section of Mathematics DOES NOT accept articles in Microsoft Word format;

2 DO NOT insert the Authors' Names in the body of the Article, either in the Microsoft Word version or in the LaTeX version.

2. Examples of Quotations. Access here.

3. The Authors should sign and attach the "Declaration of Originality and Exclusivity" (text given in the item About - Submissions - Copyright Notice) as "Supplementary Document".

It must contain the following information about the Authors: **Full Name, E-mail Address and Signature.**

4. It is MANDATORY to include 3 possible Evaluators with Full Name and E-mail (Send as "Supplementary Document").

In the absence of one of these Documents, the Submission will be automatically "REJECTED", which does not prevent the Authors from a new Submission.

5. All articles will be initially submitted to two Consultants *ad hoc*. The Authors will be asked, when necessary, to modify or to rewrite their texts as suggested by the Revisers and Editors. The Authors may also be asked for consultant names to opine about the article.

6. Prior to publication, the Authors will receive the Final Proof of the articles. At this moment, no modification will be allowed. Only typographical errors due to diagraphation will be accepted. If the Final Proof cannot be sent for any reason, the Editorial Team will do this review.

7. The cases that do not follow any of the above will be solved by the Ciencia e Natura's Editorial Team.

8. **Researches that involve Human Beings** have to, mandatorily, make clear on the paper the compliance with the rules described on **CNS Resolutions 196/96** and **466/12** and the Consubstantiated Opinion of the Committee of Ethics in Research with Human Beings (CEP) indicating the approval number emitted by the Ethics Committee (CEP), properly recognized by the National Bioethics Commission of Brazil (CONEP) of the National Health Council (CNS).

This information must be attached as "Supplementary Document".

Biology-Botany

- **Only article written in ENGLISH**, and the Authors **should send a Statement** that the Article was revised by a specialist in English Grammar.

"Manuscripts with agronomic subjects are expected to contain a substantial amount of basic plant biology. Merely agricultural approaches will not be considered for publication."

Make a new submission to the Biology-Botany section.

Biology-Ecology

CeN-Ecology publishes papers on basic and applied ecology. Ecology, by definition, is the study of interactions between living organisms and the environment. The journal is focused on ecological questions, and tangent studies will not be considered. Studies

on physiological responses of organisms to their abiotic environments, evolutionary ecology, population and communities structure and dynamics, intra- and interspecific interactions, ethology, landscape ecology, and ecosystems processes and services are common examples within the scope of CeN-Ecology. Studies that are not purely ecological, but that still retain a clean relationship with ecology can be considered (e.g. agroecology). In order to ensure an accurate process of peer review, the authors are encouraged to submit the study data along with their manuscript.

- **Only article written in ENGLISH**, and the Authors **should send a Statement** that the Article was revised by a specialist in English Grammar.

Make a new submission to the Biology-Ecology section.

Biology-Genetics

- **Only article written in ENGLISH**, and the Authors **should send a Statement** that the Article was revised by a specialist in English Grammar.

Make a new submission to the Biology-Genetics section.

Biology-Zoology

- **Only article written in ENGLISH**, and the Authors **should send a Statement** that the Article was revised by a specialist in English Grammar.

Make a new submission to the Biology-Zoology section.

Chemistry

This Section **will accept** works on the following areas:

- | | | | |
|----------------------------|-------------------------|----------------------------------|-----------------------|
| - Environmental Chemistry; | - Medicinal Chemistry; | - Biological Chemistry; | - Material Chemistry; |
| - Catalysis; | - Natural Products; | - Chemistry of Surface Colloids; | - Organic Chemistry. |
| - Physical-Chemistry; | - Analytical Chemistry; | - Inorganic Chemistry; | |

- **ONLY ACCEPTED ENGLISH MANUSCRIPTS**, and the Authors should send a Statement that the Article was revised for English grammar.

Make a new submission to the Chemistry section.

Education

This Section **will accept** Articles about Education regarding the following areas:

- Physics;
- Chemistry;
- Biology;
- Mathematics;
- Geosciences;
- Meteorology;
- Statistics;
- Geography;
- Sciences;

- **EXCLUSIVELY** will be accepted Works in **PORTUGUESE LANGUAGE**.

Make a new submission to the Education section.

Environment

Will be received articles in:

- Environmental Management;
- Environmental Education;
- Environmental Technology.

- **ONLY ACCEPTED ENGLISH MANUSCRIPTS**, and the Authors should send a Statement that the Article was revised for English grammar.

Make a new submission to the Environment section.

Geography

This Section **will accept** works on the areas of Physical Geography with emphasis on Exacts and Earth Sciences.

Make a new submission to the Geography section.

Mathematics

This Section **will accept** works on the following areas:

- Mathematics
- Applied Mathematics

The Mathematics Section *DO NOT ACCEPT* articles in *Microsoft Word* format, being accepted **only** articles in LaTeX format.

The article written in **ENGLISH**, the Authors **should send a Statement** that the Article was revised by a specialist in English Grammar.

Make a new submission to the Mathematics section.

Meteorology

This Section **will accept** Articles on the following areas:

- General Meteorology;
- Agrometeorology;
- Atmospheric Pollution;
- Environmental Studies focused on Exact and Earth Sciences.

- **ONLY ACCEPTED ENGLISH MANUSCRIPTS**, and the Authors should send a Statement that the Article was revised for English grammar.

Make a new submission to the Meteorology section.

Physics

- **ONLY ACCEPTED ENGLISH MANUSCRIPTS**, and the Authors should send a Statement that the Article was revised for English grammar.

Make a new submission to the Physics section.

Statistics

This Section will accept Scientific Articles about any area of the Probability and Statistics, mostly on Computational and Applied Statics.

Make a new submission to the Statistics section.

Copyright Notice

To access the DECLARATION AND TRANSFER OF COPYRIGHT AUTHOR'S DECLARATION AND COPYRIGHT LICENSE click [here](#).

Ethical Guidelines for Journal Publication

The **Ciência e Natura** journal is committed to ensuring ethics in publication and quality of articles.

Conformance to standards of ethical behavior is therefore expected of all parties involved: Authors, Editors, Reviewers, and the Publisher.

In particular,

Authors: Authors should present an objective discussion of the significance of research work as well as sufficient detail and references to permit others to replicate

the experiments. Fraudulent or knowingly inaccurate statements constitute unethical behavior and are unacceptable. Review Articles should also be objective, comprehensive, and accurate accounts of the state of the art. The Authors should ensure that their work is entirely original works, and if the work and/or words of others have been used, this has been appropriately acknowledged. Plagiarism in all its forms constitutes unethical publishing behavior and is unacceptable. Submitting the same manuscript to more than one journal concurrently constitutes unethical publishing behavior and is unacceptable. Authors should not submit articles describing essentially the same research to more than one journal. The corresponding Author should ensure that there is a full consensus of all Co-authors in approving the final version of the paper and its submission for publication.

Editors: Editors should evaluate manuscripts exclusively on the basis of their academic merit. An Editor must not use unpublished information in the editor's own research without the express written consent of the Author. Editors should take reasonable responsive measures when ethical complaints have been presented concerning a submitted manuscript or published paper.

Reviewers: Any manuscripts received for review must be treated as confidential documents. Privileged information or ideas obtained through peer review must be kept confidential and not used for personal advantage. Reviews should be conducted objectively, and observations should be formulated clearly with supporting arguments, so that Authors can use them for improving the paper. Any selected Reviewer who feels unqualified to review the research reported in a manuscript or knows that its prompt review will be impossible should notify the Editor and excuse himself from the review process. Reviewers should not consider manuscripts in which they have conflicts of interest resulting from competitive, collaborative, or other relationships or connections with any of the authors, companies, or institutions connected to the papers.

Privacy Statement

The Names and Addresses informed to this journal will be used **exclusively** for publication services and they will not be available for different finalities or to others.

Ethical Guidelines for Journal Publication

The **Ciência e Natura** journal is committed to ensuring ethics in publication and quality of articles.

Conformance to standards of ethical behavior is therefore expected of all parties involved: Authors, Editors, Reviewers, and the Publisher.

In particular,

Authors: Authors should present an objective discussion of the significance of research work as well as sufficient detail and references to permit others to replicate the experiments. Fraudulent or knowingly inaccurate statements constitute unethical behavior and are unacceptable. Review Articles should also be objective, comprehensive, and accurate accounts of the state of the art. The Authors should ensure that their work is entirely original works, and if the work and/or words of others have been used, this has been appropriately acknowledged. Plagiarism in all its forms constitutes unethical publishing behavior and is unacceptable. Submitting the same manuscript to more than one journal concurrently constitutes unethical publishing behavior and is unacceptable. Authors should not submit articles describing essentially the same research to more than one journal. The corresponding Author should ensure that there is a full consensus of all Co-authors in approving the final version of the paper and its submission for publication.

Editors: Editors should evaluate manuscripts exclusively on the basis of their academic merit. An Editor must not use unpublished information in the editor's own research without the express written consent of the Author. Editors should take reasonable responsive measures when ethical complaints have been presented concerning a submitted manuscript or published paper.

Reviewers: Any manuscripts received for review must be treated as confidential documents. Privileged information or ideas obtained through peer review must be kept confidential and not used for personal advantage. Reviewers should be conducted objectively, and observations should be formulated clearly with supporting arguments, so that Authors can use them for improving the paper. Any selected Reviewer who

feels unqualified to review the research reported in a manuscript or knows that its prompt review will be impossible should notify the Editor and excuse himself from the review process. Reviewers should not consider manuscripts in which they have conflicts of interest resulting from competitive, collaborative, or other relationships or connections with any of the authors, companies, or institutions connected to the papers.

Ciência e Natura

E-mail: cienciaenatura@ufsm.br

Universidade Federal de Santa Maria, Campus Sede

Editora Central de Periódicos da UFSM

Av. Roraima, nº 1000. Cidade Universitária. Bairro Camobi.

Prédio 30, Biblioteca Central, Sala 202/205, 2º Pavimento.

Santa Maria, RS. Brasil.

CEP: 97105-900

E-mail: centraldeperiodicos@ufsm.br

Sala Virtual de Atendimento: <https://meet.google.com/chp-xyxw-kfp> (das 8h30min às 12h)