Perfil químico e potencial biotecnológico larvicida de uma nanoemulsão (O/A) do óleo essencial de *Salvia officinalis* L.

Ana Patrícia Matos Pereira (PEREIRA, A. M. P) [1]*; Gustavo Oliveira Everton (EVERTON, G. O.)[1]
Orientador: Victor Elias Mouchrek Filho (MOUCHREK FILHO, V. E.)[1].
[1]Universidade Federal do Maranhão, Departamento de Tecnologia Química, Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleo Essenciais, CEP 65080-805, São Luís, MA, Brasil. *autor.
*Correio eletrônico: ap.matos11@hotmail.com

RESUMO

A nanotecnologia tem alta potencialidade para aplicações em múltiplas áreas, incluindo médica e farmacêutica, otimizando e servindo de sistemas carreadores. Assim, este estudo tem por objetivo avaliar o perfil químico e o potencial biotecnológico larvicida da nanoemulsão do óleo essencial de *Salvia officinalis* L. As folhas do vegetal foram coletadas em São Luís, MA, em janeiro a maio de 2021. O perfil Fitoquímico foi executado de acordo com Matos. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação a 100 ºC por 3h. A caracterização química foi obtida por CG-EM. A nanoemulsão (O/A) foi formulada pelo método de baixa energia de inversão de fases, sendo submetida a testes de estabilidade termodinâmica e caracterização do tamanho de gota e índice de polidispersidade (PDI). A atividade antioxidante realizada pelo método espectrofotométrico de sequestro de radicais hidroxila do ácido salicílico. Para atividade larvicida submeteu-se larvas *Aedes aegypti* a soluções do OE e nanoemulsões em concentrações (10-100 mg L^{-1}), avaliou-se a mortalidade das larvas e determinou-se a CL_{50} pelo método de Probit. Os fitoquímicos ativos foram esteroides, glicosídeos, glicosídeos cardíacos, flavonoides, saponinas, fenóis e taninos. Os metabólitos secundários majoritários do OE foram: eucaliptol com 65,14%, cânfora (30,63%) e α-Terpineol (1,53%). As formulações foram caracterizadas como nanoemulsões com tamanho de gota <200 nm. O PDI foi <0,200, indicando uma distribuição de tamanho estreita. A atividade antioxidante exibiu CE_{50} de 136,29 mg L^{-1} e 51,59 mg L^{-1}. A nanoemulsão com potencial larvicida apresentou CL_{50} de 71,17 mg L^{-1}. A nanoemulsão apresentou potencial bioativo inédito para ação larvicida, podendo estar relacionado a presença de seus compostos químicos, sendo seu uso incentivado no combate ao *Aedes aegypti*.

Palavras-chave: Larvicida; Nanotecnologia; Química; *Salvia officinalis*.

INTRODUÇÃO

As arboviroses têm-se apresentado como um importante problema de saúde pública, pois enfrenta dificuldades de diagnóstico tanto nos baseados em exame clínico-epidemiológico quanto os de análises sorológicas devido a apresentação de reações cruzadas (GRANDADAM, 2007; LIMA-CAMARA, 2016; KURIZKY et al., 2020). Dentre os mosquitos que atuam diretamente na disseminação dos arbovírus tem-se *o Aedes aegypti*, vetor dos vírus da febre amarela, dengue, Zika e Chikungunya, que afetam pessoas em áreas tropicais e subtropicais em todo o mundo (CASTILLO-MORALES et al., 2019; AN et al., 2020).

O controle químico consiste na aplicação de inseticidas sintéticos como os das classes organofosforados, carbamatos e piretroides são utilizados no controle do vetor, mas apesar de apresentarem bons resultados seu uso contínuo pode causar o desenvolvimento de resistência nos mosquitos e acarretar na contaminação do meio ambiente, desequilíbrio e provocar danos à saúde humana (DE SOUZA WUILLDA et al., 2019; BAZ et al., 2022).

Com base nisso, o uso de produtos naturais se coloca como uma alternativa ecológica na formação de inseticidas naturais, seguros para o meio ambiente e para o homem. Pois, as espécies vegetais produzem diversos compostos bioativos que muitas vezes funcionam em sinergia, geralmente biodegradáveis e apresentam menor risco de desenvolver resistência a vetores, e para comprovar isso, testes de toxicidade são necessários contra organismos não-alvo.

Dentro disto, estão os óleos essenciais, compostos por metabolitos secundários provenientes das mais diversas partes das plantas, sendo moléculas naturais que contrariam até mesmo o desenvolvimento da biorresistência aos pesticidas naturais, são uma fonte alternativa satisfatória devido a fatores favoráveis de biodegradabilidade, seletividade, baixa nocividade aos organismos não alvos e ao meio ambiente. Dentre as plantas utilizadas podemos citar do gênero *Salvia*, pertencente à família das Lamiaceae, a qual revela ter uma boa ação inseticida e são relatadas por produzir muitos metabólitos secundários úteis (ALI et al., 2015; ZAHED et al., 2021; BAZ et al., 2022).

Dentre as espécies do gênero *Salvia*, tem-se *Salvia officinalis* L., uma planta ornamental amplamente utilizada desde a antiguidade dentro da medicina popular, culinária e aromática e através dos mais diversos estudos demonstra diversos potenciais biológicos, como propriedades antiviral, antimicrobiana e espasmolítica, sendo sua eficácia relacionada principalmente aos metabólitos secundários (REZAI et al.; VOSOUGHI et al., 2018; JAKOVLJEVIĆ et al., 2019).

Nesse contexto, a nanotecnologia tem alta potencialidade para aplicações em múltiplas áreas, incluindo médica e farmacêutica, otimizando e servindo de sistemas carreadores, proporciona vantagens através de nanoemulsões, como a proteção do composto bioativo da degradação e possibilidade de modulação do perfil de liberação (PASQUOTO-STIGLIANI et al., 2017; FOUDA et al., 2020).

OBJETIVOS

Avaliar o perfil químico e o potencial biotecnológico larvicida da nanoemulsão do óleo essencial de *Salvia officinalis* L.

METODOLOGIA

Obtenção do material vegetal

A obtenção das folhas secas de *Salvia officinalis* utilizadas nesta pesquisa foi realizada em janeiro a maio de 2021. A espécie vegetal foi transportada para o Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV/UFMA), onde as folhas foram pesadas, trituradas e armazenadas para a extração do óleo essencial do vegetal.

Perfil Fitoquímico

Para análise do perfil fitoquímico do material vegetal in natura, foram preparados extratos hidroalcóolicos, empregando-se o processo de maceração (HARBORNE, 1998). Os extratos hidroalcoólicos obtidos foram submetidos a testes químicos na metodologia

apresentada por Matos (2009) para identificação das classes orgânicas de metabólitos secundários: esteroides, alcaloides, flavonoides, glicosídeos, saponinas, fenóis, taninos e glicosídeos cardíacos.

Extração dos óleos essenciais

Para extração dos óleos essenciais foi utilizada 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, utilizando-se água destilada como solvente (1:10). A hidrodestilação foi conduzida a 100°C por 3h recolhendo-se o óleo essencial extraído, sendo seco por percolação com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) e centrifugado. As amostras foram armazenadas em ampolas de vidro âmbar sob refrigeração a 4°C. Posteriormente sendo submetido as análises.

Caracterização química dos óleos essenciais

Os óleos essenciais de *Salvia officinalis* foram caracterizados quimicamente por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM). A identificação foi realizada por normalização das áreas dos picos, e a identificação através da Biblioteca do Equipamento NIST08 (National Institute of Standards and Technology).

Preparo das nanoemulsões (O/A)

O preparo das nanoemulsões (O/A) foi realizado de acordo com as metodologias adaptadas descritas por Lima et al. (2020) e Sugumar et al. (2014), através do método de baixa energia de inversão de fases.

Caracterização das nanoemulsões

A distribuição do tamanho das gotículas (análise por volume) e índice de polidispersidade (PDI) das formulações das nanoemulsões foram determinadas usando um analisador de tamanho de partícula 90 Plus (SUGUMAR et al., 2014, p. 395).

Atividade antioxidante

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

A nanoemulsão e os óleos essenciais em diferentes concentrações de 10-500 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.

Atividade larvicida

Os ensaios para atividade larvicida frente *Aedes aegypti* foram realizados de acordo com a metodologia adaptada proposta por Silva et al. (2006). Inicialmente, foi preparada uma solução mãe de 100 mg L^{-1} de cada um dos óleos essenciais sendo diluídas em solução de DMSO 2% e nanoemulsões (isenta de diluição). Desta solução, preparou-se cinco diluições nas concentrações 1,0-90,0 mg L^{-1}. A cada concentração foram adicionadas 10 larvas na proporção 1 mL por larva.

Todos os testes foram realizados em triplicatas e como controle negativo foi utilizado uma solução formada de DMSO 2%, e como controle positivo, uma solução de etanol (P.A) 70% v/v. Após 24h realizou-se a contagem de vivas e mortas, sendo consideradas mortas, as larvas que não reagem ao toque após 24 horas do início do experimento. Para quantificação da eficiência dos óleos essenciais e nanoemulsões foi aplicado o teste estatístico de Probit (FINNEY, 1952) e classificação da ação por Cheng et al. (2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Perfil Fitoquímico

A Tabela 1 exibe a classe de metabólicos secundários identificados em *S. officinalis.*

Tabela 1- Classes de metabólitos secundários identificados em *Salvia officinalis*

Óleo essencial	1	2	3	4	5	6	7	8
Salvia officinalis	-	+	+	+	+	+	+	+

Nota: 1: Alcaloides; 2: Esteroides; 3: Glicosídeos; 4: Glicosídeos cardíacos; 5: Flavonoides; 6: Saponinas; 7: Fenóis; 8: Taninos; (+) positivo; (-negativo).

Fonte: Autores

Segundo a Tabela 1, dentre os fitoquímicos ativos encontrados neste estudo, destaca-se a presença de esteroides, glicosídeos, glicosídeos cardíacos, flavonoides, saponinas, fenóis e taninos. Tais compostos são conhecidos por sua diversidade farmacológica, como antioxidante, antimicrobiano, além de atuar na defesa da planta frente insetos e outros herbívoros (AMARAL, SILVA e LANNES,2018; OLIVEIRA et al., 2016). Além disso, podem ainda apontar uma possível atividade biológica larvicida de *S. officinalis* L., por exemplo. Dessa forma, a diversidade de compostos ativos presentes é importante, demonstrando um alto potencial biológico.

Resultados semelhantes foram apontados por Da Costa et al., (2018), constatando a presença de flavonoides e taninos, em extratos de *Salvia hispanica* L. Por outro lado, Díaz (2018) ao analisar outra espécie de Salvia (*S. sagittata*), observou a presença de esteroides, compostos fenólicos, alcaloides e saponinas.

Perfil químico

De acordo com os resultados obtidos, a Tabela 2 apresenta os compostos químicos identificados no OE de *S. officinalis* através da CG/EM. Dessa forma, conforme a Tabela 2, 5 componentes foram identificados no OE de *S. officinalis*, sendo o constituinte majoritário do OE, o eucaliptol com 65,14%, seguido por cânfora (30,63%) e α-Terpineol (1,53%).

Tabela 2- Constituintes químicos na amostra do OE de *S. officinalis*

Pico	**Tempo de retenção (min)**	**Área**	**Teor%**	**Compostos - NIST08**
1	10.268	1312912	65,14	Eucaliptol
2	11.617	24822	1,23	Tujona

3	12.352	617523	30,63	Cânfora
4	12.753	29549	1,47	Éster ciclobutil
5	13.092	30939	1,53	α-Terpineol

Fonte: Autores

Resultados semelhantes foram descritos por Alcala-Orozco et al. (2019), que relataram a presença de 6 constituintes caracterizados e identificados por CG/EM, sendo 23,4% do OE de sálvia constituido de eucaliptol, seguido por cis-tujona (18,9%) e trans-β-cariofileno (11,0%). Velandia et al. (2018) também identificaram o eucaliptol (26,6%) como composto majoritário do OE de *S. officinalis* coletado na Colômbia.

Caracterização das nanoemulsões

A Tabela 3 mostra o tamanho médio das formulações contendo surfactante Tween 20, S. officinalis EO e H2O, bem como o índice de polidispersidade ao longo do tempo de 0 a 60 dias.

Tabela 3- Variação da média Z (nm) e índice de polidispersidade (PDI) para a nanoemulsão ao longo do tempo (T0-T60 dias).

	Tempo (dias)	**Média Z (nm)**			**PDI**		
NO/A 1	**0**	106.47	±	1.66	0.187	±	0.010
	T15	102.52	±	0.83	0.184	±	0.005
	T30	96.09	±	0.58	0.181	±	0.009
	T45	93.03	±	1.67	0.178	±	0.010
	T60	90.71	±	0.52	0.182	±	0.002
	Tempo (dias)	**Média Z (nm)**			**PDI**		
NO/A2	**0**	101.14	±	1.58	0.177	±	0.009
	T15	97.40	±	0.79	0.175	±	0.005
	T30	91.29	±	0.55	0.172	±	0.008
	T45	88.38	±	1.58	0.169	±	0.009
	T60	86.18	±	0.49	0.173	±	0.002

Fonte: Autores

De acordo com o conceito de que as nanoemulsões são sistemas que apresentam gotículas na faixa de tamanho entre 50 e 200 nm (JAISWAL et al., 2015), as formulações produzidas foram caracterizadas como nanoemulsões por apresentarem tamanho médio de gotículas < 200 nm após 0 a 60 dias de manipulação, indicando pequeno tamanho de gota. O índice de polidispersidade para todas as EN durante o período avaliado foi baixo e ficou entre 0,169 e 0,187, indicando uma distribuição de tamanho estreita (PDI= < 0,200) (Tabela 4). Assim, NE's foram utilizados para o bioensaio larvicida contra *Ae. aegypti* e outros testes biológicos.

Atividade antioxidante

A Tabela 4 apresenta a CE_{50}, equação da reta e regressão linear para a capacidade antioxidante do OE de *S. officinalis* para os métodos empregados.

Tabela 4- Capacidade antioxidante das nanoemulsões de *S. officinalis*.

Identificação	CE_{50}	y=ax-b	R^2
N O/A 1	136,29	y=55,26x-67,963	0,9589
N O/A 2	51,59	y=90,021x-104,17	0,9941

Fonte: Autores

Segundo Campos et al., (2003), produtos vegetais com concentração inferior a 500 mg L^{-1}, são classificados como ativos. Dessa forma, as formulações do OE de *S. officinalis* foram promissoras e ativas para atividade antioxidante.

Quanto menor o valor da CE_{50}, maior a ação antioxidante do composto natural, pois é necessária uma menor concentração do produto natural (nanoemulsão) para reduzir o radical H_2O_2 em 50% (SOUSA et al., 2007). Assim, ao avaliar a Tabela 4, verificou-se que a nanoemulsão do OE de *S. officinalis* apresentou melhor atividade antioxidante pela formulação N O/A 2 (CE_{50}= 51,59 mg L^{-1}), quando comparado a CE_{50} de 136,29 mg L^{-1} da formulação N O/A 1. Na literatura, não foi possível encontrar estudos sobre a atividade antioxidante da nanoemulsão O/A do OE de *S. officinalis*, o que enfatiza a importância desta pesquisa.

Neves et al., (2018) observaram em seu estudo que as variáveis de tempo e temperatura influenciaram no potencial antioxidante do extrato de *S. officinalis*, com variação de 327,54 a 1628,02 mg AA/100 g de amostra. Resultado semelhante ao obtido neste estudo foram relatos por Melo (2016), onde foi observado uma CE_{50} de 48,800 EAA/g da planta seca de sálvia.

Atividade larvicida

A Tabela 5 apresenta a mortalidade das larvas de *Aedes aegypti* nas concentrações das nanoemulsões testadas com cálculo da CL_{50} e parâmetros estatísticos pelo método de Probit.

Tabela 5- Mortalidade *Aedes aegypti* para ação das nanoemulsões do óleo essencial de *S. officinalis*

Identificação	CL_{50}	$\chi 2$	σ	R^2
N O/A 1	**71,17**	0,976	0,462	0,925
N O/A 2	> 100 mg L^{-1}	-	-	-

Fonte: Autores

Conforme apresenta a Tabela 5, a CL_{50} para a nanoemulsão 1 (O/A) formulada referente a estimativa de mortalidade de 50% de larvas *Aedes aegypti* esteve abaixo de 100 mg L^{-1}, sendo classificada por Dias&Moraes (2014) como ação ativa (CL_{50} de 71,17 mg L^{-1}) para atividade larvicida, sendo seu potencial de uso e aplicação incentivado, enquanto a nanoemulsão 2 (O/A) não obteve potencial ativo (CL_{50} de 214,32 mg L^{-1}).

O potencial biológico de um óleo essencial pode estar relacionado a diferentes concentrações e combinações de seus compostos químicos. Abdellaoui et al. (2017), caracterizaram quimicamente o OE de *S. officinalis* e constataram que os principais compostos químicos foram: β-tujona (20,1%), eucaliptol (15,91%) e cânfora (14,79%). Nesse mesmo estudo, foi observada atividade larvicida significativa, mostrando que tal potencial pode ser atribuído às substâncias químicas do vegetal.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por fim, diante dos resultados obtidos, foi possível observar por meio da determinação dos constituintes químicos, a capacidade de uma boa atividade biológica da planta. Além disso, obteve-se o perfil químico do óleo essencial das folhas de *Salvia officinalis* L., sendo o eucaliptol como composto majoritário. As nanoemulsões apresentaram potencial ativo para atividade antioxidante. A nanoemulsão apresentou potencial bioativo inédito para ação larvicida, podendo estar relacionado a presença de seus compostos químicos. Sendo assim, o uso do óleo em nanoemulsões pode ser utilizado como mecanismo para melhorar a distribuição e durabilidade do produto natural, sendo seu uso incentivado no combate ao *Aedes aegypti* a partir do aprofundamento de mais estudos devido ao potencial apresentado.

REFERÊNCIAS

ALI, A. et al. Composição química e atividade biológica de quatro óleos essenciais de sálvia e compostos individuais contra duas espécies de mosquitos. **Revista de química agrícola e alimentar**, v. 63, n. 2, pág. 447-456, 2015.

AMARAL, A B.; SILVA, M. V.; LANNES, S. C. S. Oxidação lipídica em carnes: mecanismos e fatores de proteção – uma revisão. **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** v. 38, p. 1-15, 2018.

AN, N. T. G. et al. Mosquito larvicidal activity, antimicrobial activity, and chemical compositions of essential oils from four species of myrtaceae from central Vietnam. **Plants**, v. 9, n. 4, p. 544, 2020.

BAZ, M. M. et al. Larvicidal and adulticidal effects of some Egyptian oils against Culex pipiens. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1-18, 2022.

BOLZAN, A. A. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo de orégano livre e em nanoemulsões. Disciplinarum Scientia| Naturais e Tecnológicas , v. 16, n. 2, pág. 325-332, 2015.

BORGES, R. S. et al. Atividade anti-inflamatória de nanoemulsões de óleo essencial de Rosmarinus officinalis L.: estudos in vitro e em zebrafish. **Inflamofarmacologia** , v. 26, n. 4, pág. 1057-1080, 2018.

CAMPOS, M. G. et al. Diminuição induzida pela idade da capacidade de eliminação de radicais livres em pólen de abelha e a contribuição de flavonóides constituintes. **Revista de química agrícola e alimentar**, v. 51, n. 3, pág. 742-745, 2003.

CASTILLO-MORALES, R.M.; DUQUE, J. E. Atividade dissuasiva e biocida de Salvia officinalis (Lamiaceae) com indução de malformações em Aedes aegypti (Diptera: Culicidae). **Revista Colombiana de Entomología** , v. 46, n. 2, 2020.

CHENG, S.S.; CHANG, H.T.; CHANG, S.T.; TSAI, K.H., & CHEN, W.J. Bioatividade de óleos essenciais de plantas selecionadas contra as larvas do mosquito da febre amarela Aedes aegypti. **Bioresource Technology,** v. 89, n.1, p. 99-102, 2003.

DA COSTA, P. M. et al. Perfil dos metabólitos secundários em plântulas de chia (Salvia hispanica L.) submetidas a estresse salino agudo. **Revista Nordestina de Ciências Biológicas (RncBIO)**, v. 1, n. 01, p. 20-25, 2018.

DE SOUZA WUILLDA, A. C. J; CAMPOS MARTINS, R. C.; COSTA, F. N. Larvicidal activity of secondary plant metabolites in Aedes aegypti control: an overview of the previous 6 years. **Natural Product Communications**, v. 14, n. 7, p. 1934578X19862893, 2019.

DIAS, C. N.; MORAES, D. F. C. Óleos essenciais e seus compostos como larvicidas de Aedes aegypti L.(Diptera: Culicidae). **Pesquisa em parasitologia** , v. 113, n. 2, pág. 565-592, 2014.

DÍAZ, S. P. G. **Determinación de la actividad cicatrizante de la planta Salvia Real (Salvia sagittata) mediante lesiones inducidas en ratones (Mus musculus)**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.FINNEY, D. J. **Probit analysis: a statistical treatment of the sigmoid response curve**. Cambridge university press, Cambridge, 1952.

FOUDA, A. et al. Antimicrobial, antioxidant and larvicidal activities of spherical silver nanoparticles synthesized by endophytic Streptomyces spp. **Biological Trace Element Research**, v. 195, n. 2, p. 707-724, 2020.

GRANDADAM, Marc. Surveillance et diagnostic des arboviroses en France mètropolitaine. **Revue Francophone des Laboratoires**, v. 2007, n. 396, p. 75-84, 2007.

HADRI, A. et al. Atividade citotóxica de α-humuleno e transcariofileno de Salvia officinalis em células tumorais animais e humanas. **An R Acad Nac Farm** , v. 76, n. 3, pág. 343-356, 2010.

HAMIDPOUR, M. et al. Química, farmacologia e propriedades medicinais da sálvia (Sálvia) para prevenir e curar doenças como obesidade, diabetes, depressão, demência, lúpus, autismo, doenças cardíacas e câncer. **Revista de medicina tradicional e complementar**, v. 4, n. 2, pág. 82-88, 2014.

HARBORNE, A.J. Métodos fitoquímicos um guia para técnicas modernas de análise de plantas. **Springer Science & Business Media**, 1998.

JAKOVLJEVIĆ, M. et al. Bioactive profile of various Salvia officinalis L. preparations. **Plants**, v. 8, n. 3, p. 55, 2019.

KURIZKY, P. S. et al. Opportunistic tropical infections in immunosuppressed patients. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, v. 34, n. 4, p. 101509, 2020.

LIMA, T. C. P. et al. Desenvolvimento de nanogel de Copaifera reticulata sobre a lesão muscular em ratos usando fonoforese. **Saúde e Pesquisa**, v. 13, n. 1, 2020.

LIMA-CAMARA, T. N. Arboviroses emergentes e novos desafios para a saúde pública no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 50, 2016.

MATOS, F. J. A. Introdução à Fitoquímica Experimental, 3ª. **Edição, UFC, Fortaleza**, 2009.

MELO, I. A. **Avaliação do potencial anti-inflamatório, antioxidante e antimicrobiano de extratos de sálvia, poejo e cebolinho**. 2016. Tese de Doutorado.

NEVES, I. L.; PG, A. A. M.; DELIBERALI, N. **Extração e quantificação dos compostos fenólicos da salvia officialis l. E avaliação da atividade antioxidante,** 2018.

OLIVEIRA, A. E.M.F.M. et al. Development of a larvicidal nanoemulsion with Pterodon emarginatus Vogel oil. **PLoS One**, v. 11, n. 1, p. e0145835, 2016.

OLIVEIRA, N.T.et al. Análise fitoquímica, citotóxica e antimicrobiana do extrato bruto bruto etanólico das folhas das espécies Ambelania acida Aublet (Apocynaceae). **Biota Amazônia (Biote Amazônia, Biota Amazônia, Biota Amazônia)** , v. 6, n. 1, pág. 20-25, 2016.

PASQUOTO-STIGLIANI, T. et al. Nanocapsules containing neem (Azadirachta indica) oil: development, characterization, and toxicity evaluation. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-12, 2017.

REZAI, S. et al. Effect of Light Intensity on Leaf Morphology, Photosynthetic Capacity, and Chlorophyll Content in Sage (Salvia officinalis L.). 2018.

RGUEZ, S. et al. Composição química e atividades biológicas de óleos essenciais de partes aéreas de Salvia officinalis afetadas por variações diurnas. **Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, v. 153, n. 2, pág. 264-272, 2019.

RIOS, N.; STASHENKO, E. E.; DUQUE, J. E. Avaliação da atividade inseticida de óleos essenciais e suas misturas contra Aedes aegypti (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Entomologia** , v. 61, p. 307-311, 2017.

SILVA, W. J. et al. Atividade larvicida do óleo essencial de plantas existentes no estado de Sergipe contra Aedes aegypti Linn. 2006.

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. **Quimica Nova**, v. 30, n. 2, 351-355, 2007.

SUGUMAR, S.; CLARKE, S.K.; NIRMALA, M.J.; TYAGI, B.K.; MUKHERJEE, A., & CHANDRASEKARAN, N. Nanoemulsão de óleo de eucalipto e sua atividade larvicida contra Culex quinquefasciatus. **Boletim de pesquisa entomológica**, v.104, n.3, 393-402, 2014.

VELANDIA, S. A. et al. Atividade antiproliferativa de óleos essenciais de plantas cultivadas na Colômbia. **Ato Biológico Colombiano** , v. 23, não. 2 P. 189-198, 2018.

VOSOUGHI, N. et al. Essential oil composition and total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of sage (Salvia officinalis L.) extract under chitosan application and irrigation frequencies. **Industrial crops and products**, v. 117, p. 366-374, 2018.

WALKER, R. M.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. Estabilidade física e oxidativa de nanoemulsões de óleo de peixe produzidas por emulsificação espontânea: Efeito da concentração de surfactante e tamanho de partícula. **Journal of Food Engineering**, v. 164, p. 10-20, 2015.

ZAHED, K. et al. Chemical composition and larvicidal activities in vitro and in vivo of essential oils of Thymus vulgaris (L) and Lavandula angustifolia (Mill) against pine processionary moth Thaumetopoea pityocampa Den. & Schiff. in Ain Defla (Algeria). **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 128, n. 1, p. 121-137, 2021.