

DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE (DPPH) E ANTIMICROBIANO DE EXTRATOS VEGETAIS E ÓLEO ESSENCIAL DE LOURO (*Laurus nobilis*)

Determination of antioxidant potential (DPPH) and antimicrobial activity of vegetable extracts and essential oil of laurel (*Laurus nobilis*)

Sandra Cristina Ballen^{1*}; Diane Rigo¹; Marshall Paliga¹; Bruna Maria Saorin Puton¹; Rogério Luis Cansian¹; Natália Paroul¹

¹ Engenharia de Alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI Erechim. *E-mail: sandra-ballen@live.com

Data do recebimento: 18/04/2019 - Data do aceite: 09/07/2019

RESUMO: O louro (*Laurus nobilis*) é uma especiaria com propriedades medicinais amplamente utilizada em aplicações alimentícias e farmacêuticas. A planta é rica em compostos bioativos que lhe conferem atividades antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, dentre várias outras. Este trabalho teve como objetivo a obtenção de extratos vegetais e óleo essencial das folhas de *L. nobilis* e a avaliação de suas capacidades antioxidantes, pelo método de captura de radicais DPPH e antimicrobianas, pelo método de diluições em microplacas. Foi encontrado rendimento de 1,13% para o óleo essencial e entre 2,70% e 6,66% para os extratos vegetais. A atividade antioxidante dos extratos vegetais foi superior à do óleo essencial, com destaque ao extrato etanólico, o qual apresentou concentração inibitória de 50% dos radicais em 0,093 mg/mL. Com relação à capacidade antimicrobiana, o óleo essencial apresentou desempenho inferior ao esperado. Concentrações inibitórias mínimas do extrato etanólico para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas entre 3,1 e 4,7 mg/mL foram encontradas. Desta forma, os resultados obtidos demonstraram a potencialidade de aplicação em alimentos e, assim, agregar valor aos produtos.

Palavras-chave: Louro. Extrato Vegetal. Óleo Essencial. Potencial Antioxidante. Atividade Antimicrobiana.

ABSTRACT: Laurel (*Laurus nobilis*) is a spice with medicinal properties widely used in food and pharmaceutical applications. The plant is rich in bioactive compounds that give it antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory activities, among many others. The objective of this work was to obtain plant extracts and essential oil from the leaves of *L. nobilis* and the evaluation of its antioxidant capacity by the method of DPPH radicals scavenging and antimicrobial capacity by the microplate dilution method. Yield of 1.13% for essential oil and between 2.70 and 6.66% for vegetable extracts were found. The antioxidant activity of the extracts was superior to that of the essential oil, with emphasis on the ethanolic extract, which presented inhibitory concentration of 50% of the radicals in 0.093 mg / mL. Regarding the antimicrobial capacity, the essential oil showed inferior performance than expected. Minimal inhibitory concentrations of ethanolic extract for Gram-positive and Gram-negative bacteria between 3.1 and 4.7 mg / mL were found. In this way the results obtained demonstrated the potential of application in food and, thus, to add value to the products.

Keywords: Laurel. Vegetable Extract. Essential Oil. Potential Antioxidant. Antimicrobial Activity.

Introdução

Laurus nobilis, popularmente conhecida como louro, é uma árvore perene que atinge até 10 metros de altura, possui tronco liso, é repleta de ramos e folhas, apresenta inflorescências amarelas e frutos globosos que, quando maduros, adquirem coloração negra (ROSS, 2001). Pertence à família Lauraceae, que compreende uma grande variedade de plantas medicinais e aromáticas (FIORINI et al., 1997). O louro está entre as especiarias mais antigas de que se tem registro utilizadas pelo homem. É empregado como condimento em preparos domésticos, na medicina popular e pelas indústrias de alimentos, cosméticos e farmacêutica (PATRAKAR; MANSURIYA; PATIL, 2012).

Diversas propriedades são atribuídas às folhas de louro, incluindo atividades antioxidante, antimicrobiana, antifúngica, anti-inflamatória e analgésica (FERNÁNDEZ

et al., 2018; PINHEIRO, 2014; SAYYAH et al., 2003). Essas propriedades se devem, principalmente, pelo elevado teor de óleo essencial, rico em compostos bioativos, e pelos compostos fenólicos presentes na planta (SANTOYO et al., 2006). Tradicionalmente, esses compostos são extraídos da matriz da planta por meio de extração sólido-líquido, utilizando processos como hidrodestilação, para obtenção de óleos essenciais, ou solventes orgânicos, água e soluções hidroalcolólicas, para a obtenção de extratos vegetais (BOULILA et al., 2015).

Estudos epidemiológicos sugerem que o consumo de compostos bioativos com atividade antioxidante reduzem o risco de incidência de doenças como hipertensão, ataque cardíaco e câncer endometrial, além de apresentar efeitos favoráveis para o controle de desordens metabólicas (PRIOR, 2015). Ainda, há evidências apontando que o estresse oxidativo está relacionado a doenças neurodegenerativas, como as doenças de Alzheimer e Parkinson (NIKI, 2010).

A deterioração microbiana de alimentos e doenças transmitidas por alimentos são usualmente contornadas pelo uso processos de conservação de alimentos, como tratamentos térmicos, por exemplo, em conjunto com a adição de conservantes. Os conservantes podem ser divididos em sintéticos e de ocorrência natural. Recentemente, as plantas com propriedades antimicrobianas vêm sendo reavaliadas como alternativas aos compostos atualmente empregados como conservantes em alimentos, de modo a substituir conservantes sintéticos por extratos naturais contendo compostos com propriedades antimicrobianas, atraindo a atenção de consumidores que buscam produtos mais naturais (CASTRO-ROSAS et al., 2017; DERWICH; BENZIANE; BOUKIR, 2009; FU et al., 2016; NOSTRO et al., 2000).

O presente trabalho teve o objetivo de avaliar quantitativamente o potencial antioxidante e antimicrobiano de extratos e óleo essencial da folha de louro (*L. nobilis*).

Material e Métodos

Material Vegetal

As folhas do louro (*Laurus nobilis*) foram coletadas no município de Campinas do Sul, RS, no mês de setembro. Exsiccatas encontram-se depositadas no Herbário Balduino Rambo da URI Erechim, sob registro 12.292.

As folhas foram selecionadas manualmente e lavadas em água corrente. Posteriormente, foram secas a temperatura ambiente (25 °C) por 15 dias e depois levadas em estufa a 40 °C por 3 dias. O material vegetal seco foi adicionado em um gral e macerado com o auxílio de um pistilo.

Obtenção do Óleo Essencial

O óleo essencial foi obtido pelo método de destilação por arraste a vapor, utilizando-se

equipamento Clevenger, durando aproximadamente 1 hora. No protocolo estabelecido para extração do óleo essencial da folha de louro foram utilizadas 380 g do material vegetal seco e triturado, colocado em balão de fundo redondo, onde foi adicionado água até completar metade do volume do balão. O aparelho foi ligado na potência máxima até a água atingir seu ponto de ebulição, sendo a partir deste ponto a potência reduzida à metade. O volume de óleo obtido foi determinado para avaliar o rendimento da extração do óleo essencial (Equação 1). Depois, o óleo essencial foi transferido para um frasco âmbar e armazenado no *freezer*.

(1)

$$R_{OE}(\%) = \frac{(V_{OE})}{M} \cdot 100$$

Onde:

R_{OE} (%) = rendimento do óleo essencial;

V_{OE} = volume de óleo essencial obtido e

M = massa de folhas de louro.

Preparação dos Extratos

Para a obtenção dos extratos, 10,736 g de folhas de louro trituradas foram acondicionadas em cartucho de papel filtro, amarrados com barbante e então conduzidos para o aparelho extrator tipo Soxhlet (Nova Ética, modelo NT340), utilizando a metodologia de IAL (2008), adaptado. Utilizou-se primeiramente n-hexano (Cinética, 95%), seguido por diclorometano (Neon, 99,5%) e por fim etanol (Êxodo científica, 99,8%), como solventes extratores. Junto ao extrator foi acoplado um balão de fundo chato contendo aproximadamente 200 mL do solvente utilizado, a extração foi conduzida durante 4 horas. Após a extração os extratos foram transferidos para balões de fundo redondo de massa conhecido e os solventes foram evaporados por meio de evaporador rotativo

(Quimis) acoplado a uma bomba de vácuo (Tecnal TE-058). Os balões contendo os extratos foram submetidos a secagem em estufa a 40 °C até a obtenção de extratos semissólidos. Após esta etapa os balões foram pesados para determinação do rendimento das extrações. O rendimento em porcentagem foi calculado conforme Equação 2.

(2)

$$R_E(\%) = \frac{(M_2 - M_1)}{M_A} \cdot 100$$

Onde:

R_e = rendimento;

M_2 = massa do extrato + balão;

M_1 = massa do balão e

M_A = massa de folhas de louro.

As soluções mãe foram geradas a partir da dissolução dos extratos semissólidos em etanol e armazenadas para posteriores diluições. Para determinar a concentração exata das soluções mãe, os balões foram levados a estufa por 48 h a 60 °C, sendo pesados em seguida. As concentrações das soluções mãe foram determinadas segundo a Equação 3.

(3)

$$C = \frac{(M_2 - M_3)}{V_E}$$

Onde:

C = concentração da solução mãe;

M_2 = massa do extrato + balão;

M_3 = massa de extrato não diluída e

V_E = volume de etanol.

Determinação da Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante baseia-se na captação do radical 2-2 difenil 1 picrilhidrazil (DPPH) em 512 nm (MIRANDA; FRAGA,

2006). As soluções mãe foram diluídas em etanol (Synth, 95,0%) em diferentes concentrações (de 0,0007 a 9,3103 mg/mL para os extratos vegetais e 0,0009 a 9 mg/mL para o óleo essencial). A solução de DPPH (Sigma Aldrich) 0,1mM foi preparada diluindo 0,0040 g de DPPH em 100 mL de etanol (Synth, 95,0%) em um balão volumétrico. As diferentes concentrações foram adicionadas à solução de DPPH 0,1mM diluída em etanol, na proporção de 1:1. Seguindo a mesma proporção, o controle consistiu na adição de DPPH e etanol, enquanto o branco de apenas os extratos em cada concentração diluídos em etanol. Posteriormente, as amostras foram mantidas em repouso por 30 minutos ao abrigo da luz, procedeu-se então à leitura em espectrofotômetro (Logen, Modelo Ls-7052-BIV) em comprimento de onda de 515 nm.

A Equação 4 foi utilizada para calcular o percentual de captação do radical DPPH em termos de atividade antioxidante.

(4)

$$AA(\%) = 100 - \frac{(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \cdot 100}{Abs_{controle}}$$

Onde:

AA (%) = percentagem de atividade antioxidante;

$Abs_{amostra}$ = absorbância da amostra;

Abs_{branco} = absorbância do branco e

$Abs_{controle}$ = absorbância do controle.

A partir da avaliação da faixa de concentração ideal, por análise de regressão, calculou-se então a concentração de extrato necessária para captar 50% dos radicais livres (CI_{50}) (Equação 5).

(5)

$$CI_{50} = \frac{(50 - b)}{a}$$

Onde:

a = coeficiente angular e

b = coeficiente linear.

Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Para os testes de concentração inibitória mínima (CIM) do extrato etanólico e do óleo essencial das folhas de louro, foram selecionados quatro micro-organismos, duas bactérias Gram-positivas, *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e duas bactérias Gram-negativas, *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Salmonella choleraesuis* (ATCC 10708), obtidas da American Type Culture Collection. As cepas foram crescidas previamente em meio Luria Bertani (LB) (10 g/L de triptona (Kasvi), 5 g/L de extrato de levedura (Vetec, 94%) e 5 g/L de NaCl (Mazsochini, 99%) durante 24 h a 36 ± 1 °C em estufa bacteriológica (J.PROLAB JP 101). Após esse período a suspensão bacteriana correspondia a aproximadamente 10^8 células/mL.

O teste consistiu em microdiluições seriadas com caldo LB com 1% de DMSO (Nuclear, 99,5%), em microplacas de ELISA, até a obtenção das concentrações de 13,5 a 180 mg/mL para o óleo essencial e 0,3906 a 75 mg/mL para o extrato etanólico. Em seguida, inoculou-se 10 µL de bactéria, efetuou-se a leitura (0 h) em leitor de microplaca ELISA (Bio Tek Instruments EL 800), no comprimento de onda de 490nm, e incubou-se a placa por 24 h a 36 ± 1 °C em estufa bacteriológica. Após esse período realizou-se a leitura (24 h) da microplaca em leitor microplaca ELISA e averiguou-se a diferença da densidade da turbidez provocada pelo crescimento microbiano após 24 h (GAIO et al., 2015). A CIM foi definida como a menor concentração do extrato, em mg/mL, capaz de inibir o crescimento microbiano.

Resultados e Discussões

A partir da extração utilizando o aparato de Soxhlet foram obtidos três diferentes extratos vegetais. Extratos utilizando os solventes Hexano, Diclorometano e Etanol resultaram nos extratos identificados como E₁, E₂ e E₃, respectivamente. Estes foram obtidos na forma de semissólidos e apresentaram coloração verde-escura. O óleo essencial da folha de louro foi obtido por meio de destilação por arraste a vapor com aparato de Clevenger por 1h e a amostra resultante foi identificada como OE. Foi obtido óleo essencial translúcido e de coloração levemente amarelada. As massas de cada extrato e o volume de óleo essencial foram mensurados após as extrações e são expressas na forma de rendimento em função da massa de material vegetal utilizado na Tabela I.

Tabela I - Rendimento encontrado na obtenção dos extratos vegetais e óleo essencial da folha de *L. nobilis*

Rendimento			
E ₁ (m/m)	E ₂ (m/m)	E ₃ (m/m)	OE (V/m)
3,43%	2,70%	6,66%	1,13%

Nota-se, a partir da Tabela I, que rendimentos entre 6,66% e 1,13% foram encontrados, sendo que o extrato etanólico (E₃) apresentou maior rendimento quando comparado aos demais extratos vegetais e o óleo essencial. A literatura investigada não apresenta resultados de rendimento por processos de extração similares ao utilizado na obtenção dos extratos vegetais E₁, E₂ e E₃. Por outro lado, diversos autores investigaram o rendimento na obtenção de óleo essencial. Derwich, Benziane e Boukir (2009), em estudo investigando a composição e atividade antimicrobiana de óleo essencial de folha de louro, encontraram rendimento de

1,86% (V/m) após 2,5h, utilizando aparato e metodologia similares ao deste trabalho. O rendimento de óleo essencial encontrado no presente trabalho (1,13%) se encontra dentro da faixa dos valores encontrados na literatura para a folha de *L. nobilis*, os quais variam de 0,22 a 1,86% (DERWICH; BENZIANE; BOUKIR, 2009; FERNÁNDEZ et al., 2018).

Atividade Antioxidante

O método de DPPH foi utilizado para determinação da atividade antioxidante dos extratos vegetais e óleo essencial obtidos. Trata-se de um dos métodos mais utilizados em ensaios de atividade antioxidante em amostras vegetais. O DPPH é um radical estável de intensa coloração roxa. A reação deste com outros radicais, elétrons ou átomos de hidrogênio presente em extratos ou óleos essenciais leva a uma perda de coloração em comprimento de onda de 515 nm. Decréscimos acentuados na absorbância neste comprimento de onda quando o DPPH é reagido com a amostra vegetal indicam a presença de compostos com atividade de captura de radicais livres (KRISHNAIAH; SARBATLY; NITHYANANDAM, 2011; SCHAICH; TIAN; XIE, 2015). A partir dos ensaios realizados, foram obtidos valores de atividade antioxidante (AA) para as diversas concentrações dos extratos vegetais e do óleo essencial. Os valores de AA encontrados foram plotados em função da concentração e uma equação da reta foi gerada através

de regressão linear. Da equação da reta, foi calculada para cada amostra a concentração em que 50% dos radicais livres são capturados, CI_{50} . Os valores de CI_{50} , a equação da reta utilizada para sua determinação e o R^2 encontrados para as 4 amostras são apresentados na Tabela II.

Observa-se, na Tabela II, que valores menores de CI_{50} e, conseqüentemente, maior atividade antioxidante foram encontrados nos extratos vegetais obtidos por meio de extração por solventes em aparato Soxhlet (E_1 , E_2 e E_3) em comparação com o óleo essencial (OE). Dentre estes, o extrato E_3 , obtido empregando etanol como solvente, foi o que apresentou melhor atividade antioxidante, com CI_{50} de 0,093 mg/mL. Em comparação, a amostra OE apresentou a menor atividade antioxidante, com CI_{50} de 4,749 mg/mL. Fernández et al. (2018) investigou a capacidade antioxidante de extrato hidroalcoólico de *L. nobilis*, obtido por maceração com uma mistura de água e etanol, e óleo essencial, obtido por meio do método de arraste por vapor. Resultados similares foram observados, sendo que o extrato hidroalcoólico e o óleo essencial apresentaram CI_{50} de 0,257 e 4,000 mg/mL, respectivamente. Este comportamento pode ser atribuído aos diferentes compostos presentes em cada uma das amostras. O óleo essencial de *L. nobilis* possui composição mais rica em terpenos, como o 1-8-cineol (entre 27 e 60%) e menor teor de compostos fenólicos, como metil-eugenol (entre 11 e 22%) (DERWICH; BENZIANE; BOUKIR,

Tabela II - Atividade antioxidante (CI_{50}), equação da reta e coeficiente de determinação para os extratos vegetais e óleo essencial de *L. nobilis*

Amostra	CI_{50}		Equação da Reta	R^2
E_1	1,015	mg/mL	AA(%) = 41,85x + 7,520	0,9911
E_2	0,235	mg/mL	AA(%) = 187,78x + 5,880	0,9896
E_3	0,093	mg/mL	AA(%) = 449,87x + 8,136	0,9765
OE	4,749	mg/mL	AA(%) = 6,831x + 13,952	0,9491

2009; FERNANDEZ, 2014; FIORINI et al., 1997). Estudo comparativo avaliando a capacidade de captura de radicais livres entre diferentes classes de compostos químicos indicou que compostos fenólicos apresentam, *in vitro*, atividade antioxidante muito superior a compostos não fenólicos (GOUDJIL et al., 2015). Os compostos fenólicos englobam uma enorme gama de compostos que são, em sua grande maioria, polares (ANGELO; JORGE, 2007).

Atividade Antimicrobiana

Foram realizados testes de concentração inibitória mínima empregando o óleo essencial de *L. nobilis* e o extrato vegetal E₃ diluído em etanol para 4 diferentes micro-organismos, sendo 2 bactérias Gram-positivas e 2 Gram-negativas. Os ensaios consistiram de microdiluições seriadas das amostras em caldo nutriente. Neste tipo de método, a turbidez é utilizada como indicador de crescimento microbiano. Quando não ocorre crescimento, o meio permanece translúcido e, nos casos em que a amostra não possui atividade antimicrobiana, ocorre crescimento microbiano e, por consequência, turvação do meio. O grau de inibição é relacionado à turbidez do meio, sendo esta medida por espectrofotometria (RIOS; RECIO; VILLAR, 1988).

Na Tabela III são apresentados os valores de CIM encontrados para as amostras OE e E₃ sobre os micro-organismos testados.

As concentrações inibitórias mínimas para o OE variam de 16,9 a 67,5 mg/mL e para a amostra E₃ entre 3,1 e 4,7 mg/mL. Nota-se que o extrato vegetal apresentou atividade antimicrobiana muito superior ao óleo essencial, comportamento oposto ao observado por Ozcan et al. (2010), em estudo comparando as propriedades antimicrobianas de extrato metanólico e óleo essencial de sementes de *L. nobilis*. O resultado encontrado para o extrato vegetal E₃ se encontra muito próximo ao encontrado por Ertürk (2006) ao avaliar a atividade antimicrobiana de extrato etanólico de *L. nobilis*, onde CIM de 5 mg/mL foi observado para as bactérias *S. aureus* e *E. coli*.

O óleo essencial avaliado apresentou atividade antimicrobiana muito inferior aos demais trabalhos presentes na literatura. Outros autores encontraram CIM entre 4,7 e 10,0 mg/mL para a bactéria *S. aureus*, enquanto o valor encontrado no presente trabalho foi de 18,8 µL/mL. Para *E. coli* os resultados são ainda mais discrepantes, sendo que a literatura apresenta valores entre 2,3 e 5,0 mg/mL em contraste com os 22,5 mg/mL observados. O mesmo acontece para *L.*

Tabela III - Atividade antimicrobiana por concentração inibitória mínima contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas de extrato vegetal e óleo essencial de *L. nobilis*

Bactérias Gram-Positivas	ATCC	CIM	
		OE (mg/mL)	E ₃ (mg/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	16,9	4,7
<i>Listeria monocytogenes</i>	7644	22,5	4,7
Bactérias Gram-Negativas	ATCC	CIM	
		OE (mg/mL)	E ₃ (mg/mL)
<i>Salmonella choleraesuis</i>	10708	67,5	3,1
<i>Escherichia coli</i>	25922	22,5	4,7

monocytogenes, quando um CIM dez vezes que o de outros autores foi encontrado (EL MALTI; AMAROUC, 2009; FERNANDEZ, 2014; SILVEIRA, 2012).

Conclusão

No presente trabalho, diferentes extratos vegetais e óleo essencial das folhas de *L. nobilis* foram obtidos e suas atividades antioxidante e antimicrobiana foram avaliadas com

sucesso. Os extratos vegetais apresentaram resultados superiores ao óleo essencial para os parâmetros avaliados. Dentre as amostras avaliadas, o extrato etanólico (E₃) foi o que apresentou maior rendimento (6,66%), melhor atividade antioxidante (CI₅₀ 0,093 mg/mL) e melhor atividade antimicrobiana (CIM entre 3,1 e 4,7 mg/mL). As propriedades antimicrobianas do óleo essencial encontradas para todas as bactérias foram muito inferiores às encontradas na literatura.

REFERÊNCIAS

- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - Uma breve revisão. **Revista Instuto Adolfo Lutz**, v. 66, n.1, p. 1-9, 2007.
- BOULILA, A.; HASSEN, I.; HAOUARI, L.; MEJRI, F.; AMOR, I. BEN; CASABIANCA, H.; HOSNI, K. Enzyme-assisted extraction of bioactive compounds from bay leaves (*Laurus nobilis* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 485-493, 2015.
- CASTRO-ROSAS, J.; FERREIRA-GROSSO, C. R.; GÓMEZ-ALDAPA, C. A.; RANGEL-VARGAS, E.; RODRÍGUEZ-MARÍN, M. L.; GUZMÁN-ORTIZ, F. A.; FALFAN-CORTES, R. N. Recent advances in microencapsulation of natural sources of antimicrobial compounds used in food - A review. **Food Research International**, v. 102, p. 575-587, 2017.
- DERWICH, E.; BENZIANE, Z.; BOUKIR, A. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Leaves Essential Oil of *Laurus nobilis* from Morocco. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 3, n. 4, p. 3818-3824, 2009.
- EL MALTI, J.; AMAROUC, H. Antibacterial effect, histological impact and oxidative stress studies from laurus nobilis extract. **Journal of Food Quality**, v. 32, n. 2, p. 190-208, 2009.
- ERTÜRK, Ö. Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. **Biologia**, v. 61, n. 3, p. 275-278, 2006.
- FERNANDEZ, C. M. M. **Avaliação da composição química e atividades biológicas do óleo essencial de *Laurus nobilis* L. (Lauraceae)**. 2014. 52 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – UNIOESTE Campus Cascável, Cascável, PR, 2014.
- FERNÁNDEZ, N. J.; DAMIANI, N.; PODAZA, E. A.; MARTUCCI, J. F.; FASCE, D.; QUIROZ, F.; MERETTA, P. E.; QUINTANA, S.; EGUARAS, M. J.; GENDE, L. B. *Laurus nobilis* L. Extracts against *Paenibacillus larvae* : Antimicrobial activity, antioxidant capacity, hygienic behavior and colony strength. **Saudi Journal of Biological Sciences**, abr. 2018.
- FIORINI, C.; FOURASTÉ, I.; DAVID, B.; BESSIÈRE, J. M. Composition of the Flower, Leaf and Stem Essential Oils from *Laurus nobilis* . **Flavour and Fragrance Journal**, v. 12, n. 2, p. 91-93, 1997.

- FU, Y.; SARKAR, P.; BHUNIA, A. K.; YAO, Y. Delivery systems of antimicrobial compounds to food. **Trends in Food Science & Technology**, v. 57, p. 165-177, 2016.
- GAIO, I.; SAGGIORATO, A. G.; TREICHEL, H.; CICHOSKI, A. J.; ASTOLFI, V.; CARDOSO, R. I.; TONIAZZO, G.; VALDUGA, E.; PAROUL, N.; CANSIAN, R. L. Antibacterial activity of basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.) in Italian-type sausage. **Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit**, v. 10, n. 4, p. 323-329, 2015.
- GOUDJIL, M. B.; LADJEL, S.; BENCHEIKH, S. E.; ZIGHMI, S.; HAMADA, D. Study of the chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of the essential oil extracted from the leaves of Algerian *Laurus nobilis* Lauraceae. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 7, n.1, p. 379-385, 2015.
- KRISHNAIAH, D.; SARBATLY, R.; NITHYANANDAM, R. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. **Food and Bioproducts Processing**, v. 89, n. 3, p. 217-233, 2011.
- NIKI, E. Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, n. 4, p. 503-515, 15, 2010.
- NOSTRO, A.; GERMANO, M. P.; D'ANGELO, V.; MARINO, A.; CANNATELLI, M. A. Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. **Letters in Applied Microbiology**, v. 30, n. 5, p. 379-384, 2000.
- OZCAN, B.; ESEN, M.; SANGUN, M. K.; COLERI, A.; CALISKAN, M. Effective antibacterial and antioxidant properties of methanolic extract of *Laurus nobilis* seed oil. **Journal of Environmental Biology**, v. 31, n. 5, p. 637-641, 2010.
- PATRAKAR, R.; MANSURIYA, M.; PATIL, P. Phytochemical and Pharmacological Review on *Laurus Nobilis*. **International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences**, v. 1, n.2, p. 595-602, 2012.
- PINHEIRO, L. S. **Atividade antifúngica in vitro do óleo essencial de *Laurus nobilis* L. (louro) sobre cepas de *Cryptococcus neoformans***. 2014. 78 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, 2014
- PRIOR, R. L. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC): New horizons in relating dietary antioxidants/bioactives and health benefits. **Journal of Functional Foods**, v. 18, part B, p. 797-810, 2015.
- RIOS, J. L.; RECIO, M. C.; VILLAR, A. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: A review of the literature. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 23, n. 2-3, p. 127-149, jul. 1988.
- ROSS, I. A. **Medicinal Plants of the World**. Totowa, NJ: Humana Press, 2001.
- SANTOYO, S.; LLORÍA, R.; JAIME, L.; IBAÑEZ, E.; SEÑORÁNS, F. J.; REGLERO, G. Supercritical fluid extraction of antioxidant and antimicrobial compounds from *Laurus nobilis* L. chemical and functional characterization. **European Food Research and Technology**, v. 222, n. 5-6, p. 565-571, 2006.
- SAYYAH, M.; SAROUKHANI, G.; PEIROVI, A.; KAMALINEJAD, M. Analgesic and anti-inflammatory activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* L. **Phytotherapy Research**, v. 17, n. 7, p. 733-736, 2003.
- SCHAICH, K. M.; TIAN, X.; XIE, J. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 111-125, 2015.

SILVEIRA, S. M. DA. Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante de extratos vegetais e óleos essenciais e aplicação do óleo essencial de louro (*L. nobilis*) como agente conservador natural em embutido cárneo fresco. 2012. 215 f. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2012.