

**DETERMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA E
TOXICOLÓGICA DO EXTRATO BRUTO SECO DE
Laurus nobilis L. (LOURO)**

**MICROBIOLOGICAL AND TOXICOLOGICAL
DETERMINATION FROM THE DRY RAW EXTRACT OF *Laurus
nobilis* L. (LAUREL)**

**DETERMINACIÓN MICROBIOLÓGICA Y TOXICOLÓGICA DEL
EXTRACTO SECO BRUTO DE *Laurus nobilis* L. (LAUREL)**

Eduarda Rodrigues do Nascimento

Graduanda em Farmácia, pelo Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita), Avenida Portugal, 584, Universitário- Caruaru, Pernambuco, Brasil.

E-mail: 2017207023@app.asces.edu.br

José Renato Lemos dos Santos

Graduanda em Farmácia, pelo Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita), Avenida Portugal, 584, Universitário- Caruaru, Pernambuco, Brasil.

E-mail: 2017207108@app.asces.edu.br

Maria Laura Silva Santos

Graduanda em Farmácia, pelo Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita), Avenida Portugal, 584, Universitário- Caruaru, Pernambuco, Brasil.

E-mail: 2017207083@app.asces.edu.br

Risonildo Pereira Cordeiro

Farmacêutico pela Universidade Federal de Pernambuco - UFPE. Instituição Tabosa de Almeida (Asces-Unita), Avenida Portugal, 584, Universitário-Caruaru, Pernambuco, Brasil.

E-mail: risonildocordeiro@asces.edu.br

RESUMO: Identificar a partir do Extrato Bruto Seco (EBS) de *Laurus nobilis* L. a atividade antimicrobiana a partir da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a CL₅₀ frente a *Artemia salina* L. Foi realizado o EBS alcóolico das folhas desidratadas de *Laurus nobilis* L. que foi submetido à avaliação da toxicidade baseada na concentração letal média (CL₅₀), segundo a metodologia de Mayer (1982). A atividade antimicrobiana foi analisada por meio do teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM), segundo metodologia descrita por Koneman (2008). No bioensaio toxicológico a CL₅₀ foi de 1320,26 µL/ml, observando-se que o percentual de náuplios vivos na concentração de 1000 µL/ml foi superior a 80%, o que categoriza a espécie como praticamente atóxica nas condições e parâmetros testados. No ensaio microbiológico O EBS das folhas não apresentou atividade antimicrobiana frente as cepas testadas. Frente ao exposto foi verificado que *Laurus nobilis* L não possui atividade microbiológica. No tocante ao seu potencial toxicológico verificou-se um perfil apropriado para uso. Desta forma, o seguinte artigo aprofunda os conhecimentos sobre a espécie, contribuindo com a comunidade científica, visando aprimorar os dados existentes, enfatizando a necessidade de novas pesquisas a fim de verificar suas demais atividades biológicas.

Palavras-chave: Folha de louro; ervas medicinais; medicamentos fitoterápicos; medicina alternativa.

Keywords: Bay leaf; medicinal herbs; herbal medicines; alternative medicine.

Palabras clave: Hoja de laurel; hierbas medicinales; hierbas medicinales; medicina alternativa.

1. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais é uma das práticas mais antigas na história da humanidade, as observações populares que foram sendo realizadas ao longo dos anos possibilitaram a produção de diversos remédios para doenças degenerativas a base dos seus extratos, isso porque de maneira indireta o saber popular despertou o interesse da comunidade científica, que deu início aos estudos toxicológicos, farmacológicos e bioquímicos das espécies ⁽¹⁾. A utilização de plantas medicinais ainda é uma prática recorrente, principalmente, devido à baixa acessibilidade financeira e/ou geográfica de algumas populações aos medicamentos alopáticos. Essas tendências levam ao uso crescente de remédios tradicionais por certas populações ⁽²⁾.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define planta medicinal como sendo “todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos sintéticos” ⁽³⁾. A fitoterapia é legitimada dentro do Sistema Único de Saúde (SUS) e nos últimos anos, as pesquisas científicas estão progredindo com relação às propriedades biológicas das plantas. O emprego da fitoterapia no SUS ocorre prioritariamente, na atenção básica e diversos são os instrumentos norteadores sobre o uso racional das plantas medicinais no Brasil, como por exemplo, a Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS ⁽⁴⁾.

Muito se confunde o termo fitoterápico com plantas medicinais. As plantas medicinais são usadas para aliviar ou curar alguma enfermidade, em que normalmente são aproveitadas em formato de chás ou infusões. Já o fitoterápico é um medicamento que passa pelo processo de industrialização,

procedimento esse que torna o produto mais seguro para consumo devido à baixa taxa de contaminação por microrganismos, e pela padronização na quantidade ofertada ao consumo ⁽⁵⁾. A segurança do uso correto de planta medicinal depende da identificação da mesma, o uso correto da parte da planta, modo de preparo e a quantidade correta a ser utilizada de acordo com os saberes populares consolidados com as comprovações científicas ⁽⁶⁾.

Nos últimos anos a demanda por medicamentos fitoterápicos vem crescendo mundialmente nos países desenvolvidos, como alternativa mais saudável, ou menos danosa de tratamento; e nos países em desenvolvimento, como resultante da falta de acesso aos 5 medicamentos farmoquímicos ⁽⁷⁾. Em alguns países, a medicina tradicional ou medicina não convencional é conhecida como medicina complementar, por atuar junto com fármacos convencionais no tratamento de diversas doenças. No Brasil as práticas integrativas e complementares, incluindo a Fitoterapia estão em expansão, existindo em todas as regiões do país diversos programas de Fitoterapia implantados ou em fase de implantação ⁽⁸⁾.

Laurus nobilis L. é uma árvore perenifólia, de folhas verde-escuras e aromáticas, além de flores amareladas. Suas folhas são bastante utilizadas na culinária, mas também para fins medicinais, apresentando ações anti-inflamatória, antifúngica, antioxidante, antiviral, gástrica, dentre outras. Sua composição química é formada pelos taninos, pectinas, ácidos graxos, terpenos (geraniol, linalol, cineol, eugenol, terpineno e pineno) e açúcares. Geralmente, a composição química das folhas do louro dá-se de acordo com a região cultivada e sazonalidade ⁽⁹⁾.

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 ⁽¹⁰⁾. Diversas propriedades são atribuídas às suas folhas, incluindo atividades antioxidante, antimicrobiana, antifúngica, anti-inflamatória e analgésica ⁽¹¹⁾. Com base no que foi exposto, este estudo teve como finalidade analisar a toxicidade e a atividade antimicrobiana do extrato

bruto seco de *Laurus nobilis L.* frente a alguns microrganismos, de modo a suscitar discussões e trazer subsídios para os profissionais e estudantes da saúde.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Tipo de trabalho e amostragem

Esse estudo possui delineamento transversal do tipo laboratorial experimental, realizado nos laboratórios do Centro Universitário Tabosa de Almeida (Asces-Unita).

Preparação do extrato bruto seco

As folhas desidratadas de *Laurus nobilis L.* foram obtidas através de um fornecedor idôneo, reduzidas a pó no moinho industrial e encaminhadas a maceração, a qual foi realizada com álcool etílico a 95% V/V durante 7 dias. Após esse processo a solução foi filtrada, obtendo-se o extrato bruto fluído, o qual foi seco em evaporador rotativo à temperatura de 60°C tendo uma evaporação de 95% do álcool. O extrato foi colocado em um dessecador a vácuo, até a estabilização da massa, quando se obteve o extrato bruto seco do vegetal. Com o preparo do extrato bruto seco foram realizados os testes toxicológicos e microbiológicos.

Determinação da CL₅₀ frente à *Artemia salina*

A metodologia adotada foi descrita por Meyer ⁽¹²⁾. Na qual, os cistos de *Artemia salina* Leach foram incubados em solução salina, em recipiente, que foi mantido sob iluminação e temperatura constante, durante um período de 48 horas. Após o período estabelecido, os cistos eclodiram em formas larvais, conhecidas como metanúplios, estágio padrão para análises toxicológicas devido a sua maior sensibilidade. Em sequência, 50 miligramas do extrato bruto seco de *Laurus nobilis L.* foi solubilizado em solução de água do mar, 5mL com água salinizada a pH = 8,0, com auxílio de Tween a 5%. Desta solução, preparou-se alíquotas de 500, 375, 250, 125, 50 e 25 µL que foram transferidas para tubos de ensaio que continham 5ml de solução salina,

obtendo-se concentrações de 1000, 750, 500, 250, 100 e 50 µg/mL para cada amostra. No final, as soluções em contato com os náuplios foram incubadas durante 24 horas, e em seguida os resultados foram tabulados utilizando o programa OriginPro 2021.

Cepas utilizadas

Foram utilizadas as cepas *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridans*, *Lactobacillus casei* e *Enterococcus faecalis*. As respectivas cepas foram obtidas mediante compra na empresa Labor & Labor Bioclin Comercial Ltda., todas com certificados de qualidade.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato de *Laurus nobilis L.* foi feita a partir da técnica de difusão em poços, conforme metodologia determinada por Koneman ⁽¹³⁾. Foram preparados inóculos dos respectivos patógenos em solução salina, a partir de semeio por esgotamento feito anteriormente. Para controlar a concentração bacteriana foi utilizada a escala 0,5 de Marc-Farland. E com o auxílio do swab, se deu o semeio com o inóculo de toda a extensão das placas de Petri contendo Ágar Mueller-Hinton. Para cada placa semeada houve produção de poços com tamanho de 6 milímetros de diâmetro, onde aconteceu a inclusão do extrato de 50µL nas seguintes concentrações: 100%, 50%, 25%, 12,50% a partir da amostra inicial de 1 grama. A metodologia descrita foi realizada em duplicata, com posterior incubação em estufa microbiológica a 37°C durante 24 horas, para então medir em milímetro dos halos formados. Por fim, a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), sendo esta entendida como a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento bacteriano.

Análise estatística

As informações obtidas foram calculadas por técnicas estatísticas descritivas através de distribuições absolutas, percentuais de medidas e

técnicas de estatísticas inferenciais (Teste qui-quadrado e/ou Exato de Fisher). O software utilizado foi o OriginPro 2021.

3. RESULTADOS

Para a obtenção do extrato bruto seco, foi utilizado 500g das folhas secas de *Laurus nobilis* L. (Louro), que após o processo de maceração, filtragem e evaporação, obteve-se um rendimento de 6g, de cor escura e aspecto pastoso. Foram utilizados dois processos extrativos: extração sólido-líquido e maceração, onde apresentou um rendimento de 1,2% em relação ao peso inicial da planta, esse processo influenciou diretamente no rendimento. A literatura investigada não apresenta resultados de rendimento por processos de extração similares aos utilizados na obtenção dos extratos vegetais de *Laurus nobilis* L. O cálculo do rendimento de extratos é fundamental no cultivo e colheita de plantas medicinais, pois, implicará diretamente na massa fresca necessária para obter-se, por dado processo de secagem, determinação do teor de extrato, com redução das estimativas de custo e menor perda na cadeia produtiva de plantas medicinais e fitoterápicos ⁽¹⁴⁾.

A atividade antimicrobiana foi testada com micro-organismos gram positivo das seguintes espécies: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridans*, *Enterococcus faecalis* e *Lactobacillus casei*, no qual foi possível observar que em todas as diluições de diferentes concentrações o extrato seco bruto não apresentou inibição como pode ser observado na Tabela 3.

Na avaliação da toxicidade frente à *Artemia Salina* revelaram que nas concentrações utilizadas, o extrato mostrou-se praticamente atóxico, com índice de sobrevivência que variaram de 80% na maior concentração e 100% no mais diluído (Figura 1).

4. DISCUSSÃO

A resistência bacteriana é um fenômeno que ocorre naturalmente, mas nos últimos anos tem representado uma ameaça à saúde, desta forma, a busca por novas alternativas que sejam eficazes no controle do desenvolvimento de tais microrganismos tem sido um grande desafio para os pesquisadores ⁽¹⁵⁾. Na avaliação microbiológica frente a *S.aureus* não houve formação de halo, corroborando com o resultado observado por Bara e Vanetti ⁽¹⁶⁾, o qual avaliou a atividade antimicrobiana de *Laurus nobilis* L a partir dos testes de susceptibilidade de microdiluição em caldo frente a *S. aureus*, evidenciado que a espécie não possui ação frente a esse patógeno.

Não foram encontrados dados na literatura para fins comparativos, demonstrando a escassez de estudos a respeito das atividades antimicrobianas do *Laurus nobilis* L. Na tentativa de demonstrar relatos acerca atividade antibacteriana de outros microrganismos foram analisados os estudos realizados por Ballen e colaboradores⁽¹⁷⁾ que relataram atividade antimicrobiana do louro frente a bactérias gram negativas, demonstrando a falta de pesquisas em relação as atividades biológicas da espécie com bactérias gram positivas, o que caracteriza o presente estudo como inédito e de caráter inovador, por realizar testes frente à patógenos gram positivos ainda não elencados na literatura.

De acordo com a escala da metodologia usada ⁽¹²⁾, quanto apenas substâncias que apresentam valores de DL50 abaixo de 1000 ppm serão consideradas tóxicas. Até o presente teste de realizado foi notado que nas concentrações utilizadas, o índice de sobrevivência variou de 80% na maior concentração e de 100% no mais diluído (Figura 1). Comparando com a literatura, Matos e colaboradores ⁽¹⁸⁾ apresentou que os extratos aquosos obtidos das folhas de *Laurus. nobilis* L. não apresentam potencial genotóxico, corroborando com os resultados obtidos.

CONCLUSÃO

O presente estudo de pesquisa teve como objetivo identificar a partir do extrato bruto seco de *Laurus Nobilis L.* (louro) atividade antimicrobiana e a toxicidade frente a *Artemia salina*. Assim, verificou-se que após a realização dos testes, que a espécie (*Laurus nobilis L.*) foi considerada praticamente atóxica.

No tocante a atividade microbiológica não foi identificada inibição em nenhuma das concentrações e microrganismo testados. Por fim, destacamos a relevância da temática continuar sendo tratada e desenvolvida em estudos na área da Farmácia, com a intenção de possibilitar práticas alternativas e seguras de tratamento, que possuam eficácia e baixo custo, podendo ser utilizado como medicamento fitoterápico.

REFERÊNCIAS

1. JARDIM, Mauro Fernandes Aparecido et al. Atividade antibacteriana e antioxidante dos extratos aquosos das folhas e dos rizomas de *Zingiber officinale* Roscoe cultivadas no horto medicinal da Unipar. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 10, p. 18292-18309, 2019
2. CERQUEIRA TMG, et al. The use of medicinal plants in Maceió, northeastern Brazil: An ethnobotanical survey. **Medicines (Basel, Switzerland)**, 2020; 7(2): 7 DACIE JV, LEWIS SM. Practical hematology. 5ª ed. Churchill Livingstone, London. 1975; 772p.
3. OMS, 1998. Quality control methods for medicinal plants methods. p. 41 - 3, 1998.
4. MECCATTI, V. M.; RIBEIRO, M. C. M. .; OLIVEIRA, L. D. de . The benefits of phytotherapy in Dentistry. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 11, n. 3, p. e46611327050, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i3.27050. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/27050>.
5. MOURA, Jennifer Sousa de, et al. Uso de fitoterápicos: aplicações no desempenho esportivo. **Research, Society and Development**, [S.I], v. 8, n.1, 2022. DOI: 0.34117/bjdv8n1-404. Disponível em: < <https://brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/43123/pdf>
6. PEDROSO, Reginaldo dos Santos et al., Plantas medicinais: uma abordagem sobre o uso seguro e racional. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 31(2), e310218, 2021. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/physis/a/kwsS5zBL84b5w9LrMrCjy5d/?lang=pt&format=pdf>.
7. FREITAS, A. de; JUNIOR, A. G. S.; VIDAL, R.; JORGE, E. A. Mercado de medicamentos fitoterápicos. Anais – Associação Brasileira de Economia de Saúde, 2007.

8. IBIAPINA, W.V.; et al. Inserção da Fitoterapia na atenção primária aos usuários do SUS. **Rev. Ciência Saúde Nova Esperança**, v.12, n.1, p.58-68, 2014.
9. MORAIS, LAS; GONÇALVES, GG; CASTANHA, RF; SCRAMIN, S. Caracterização fitoquímica de óleos essenciais de louro proveniente de material nacional e importado. 2010. **Horticultura Brasileira** 28: S124-S1228. Disponível em: <http://www.abhorticultura.com.br/EventosX/Trabalhos/EV_4/A3050_T5110_Comp.pdf>.
10. 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.
11. BALLEEN, Sandra C. DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE (DPPH) E ANTIMICROBIANO DE EXTRATOS VEGETAIS E ÓLEO ESSENCIAL DE LOURO (*Laurus nobilis*). **Erechim, PERSPECTIVA, Erechim**. v. 43, n.163, p. 61-70, setembro/2019. Disponível em: <[163_772.pdf \(uricer.edu.br\)](#)>.
12. B.N. Meyer, N.R. Ferrigni, J.E. Putnam, Jacobsen LB, Nichols DEJ, McLaughlin JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Med** 1982;45:31-4.
13. KONEMAN EW, et al. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 6ª ed. Rio de Janeiro: **Ed. Médica e Científica**, 2008; 719p.
14. RODRIGUES, T.S et al. Métodos de secagem e rendimento dos extratos de folhas de *Plectranthus barbatus* (boldo-da-terra) e *P. ornatus* (boldo-miúdo). **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.13, especial, p.587-590, 2011. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbpm/a/MJVfy6c5DMrVMLhrZJSF8YJ/?lang=pt&format=pdf>>

15. Vidal FR. Impacto da formação de biofilme por Staphylococcus aureus resistente à metilina na área da saúde humana. 2020;
16. LUZZI, João C. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO ETANÓLICO DE FOLHAS DE LOURO - Laurus nobilis L.- FRENTE ÀS BACTÉRIAS Escherichia coli E Salmonella enteritidis. Disponível em: <<https://www.univates.br/bdu/bitstream/10737/464/1/2010JoaoLuzzi.pdf>>.
17. BALLEEN, Sandra C. DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE (DPPH) E ANTIMICROBIANO DE EXTRATOS VEGETAIS E ÓLEO ESSENCIAL DE LOURO (Laurus nobilis). **Erechim, PERSPECTIVA, Erechim**. v. 43, n.163, p. 61-70, setembro/2019. Disponível em: <[163_772.pdf \(uricer.edu.br\)](#)>.
18. MATOS, Aline F. et al. LAURUS NOBILIS L. POTENCIAL GENOTÓXICO E CITOTÓXICO DO EXTRATO AQUOSO ATRAVÉS DO TESTE DE ALLIUM CEPA. Rio de Janeiro, 2016. Disponível em: <<http://eventos.ufrrj.br/raic/files/2016/06/2846-10081-2-SM.pdf>>.

ANEXOS

Tabela 1. Informações botânicas de *Laurus nobilis* L.

Partes da planta	Características
Ramos	Eretos, atingem 15 metros de altura
Caule	Casca lisa e escura
Flores	Pedunculares de coloração amarela
Folhas	Coloração verde brilhante na face superior e pálida na face inferior
Frutos	Globulosos, contém uma semente

Tabela 2: Atividades terapêuticas de *Laurus nobilis L.*

Discussão	Referência
Atividade antimicrobiana do extrato etanólico de folhas de louro – <i>Laurus nobilis L.</i> – frente as bactérias <i>Escherichia coli</i> e <i>Salmonella enteritidis</i> .	LUZZI, 2010.
Determinação do potencial antioxidante (DPPH) e antimicrobiano de extratos vegetais e óleo essencial de Louro (<i>Laurus Nobilis</i>).	Ballen et al. (2019)
Desempenho antifúngico de óleos essenciais de canela, cravo e louro em bolores de pães de forma integrais.	SILVEIRA, 2019
<i>Laurus nobilis L.</i> : assessment of the cytotoxic and genotoxic potential of aqueous extracts by micronucleus and <i>Allium cepa</i> assays	Silva, Mayara Christine et al. (2020)

Tabela 3. Atividade inibitória do extrato bruto seco de *Laurus nobilis L.*

Microrganismos testados	Concentrações	Resultado
<i>Staphylococcus aureus</i>	100%, 50%, 25%, 12,50%	NA*
<i>Streptococcus viridans</i>	100%, 50%, 25%, 12,50%	NA*
<i>Enterococcus faecalis</i>	100%, 50%, 25%, 12,50%	NA*
<i>Lactobacillus casei</i>	100%, 50%, 25%, 12,50%	NA*

NA*: não ativo

Figura 1. Gráfico de percentual de vivos em função da concentração Ug/mL do extrato bruto seco.

