

## Atividade antioxidante do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) pelo método DPPH e emprego em fluido hidratante

Carolina Dal Bianco Rosa<sup>1</sup>, Gabriele Verginaci<sup>1</sup>, Sandra Inês Adams Angnes Gomes<sup>2</sup>,  
Letícia Thaís Chendynski<sup>2\*</sup>, Edneia Durlí Giusti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal do Paraná - Campus Palmas, PR, Brasil. <sup>2</sup>Instituto Federal do Paraná - Campus Ivaiporã, PR, Brasil. \*[leticia.chendynski@ifpr.edu.br](mailto:leticia.chendynski@ifpr.edu.br)

Recebido em: 14/07/2023

Aceito em: 17/05/2024

Publicado em: 31/07/2024

<https://doi.org/10.29327/269504.6.1-4>

### RESUMO

O óleo essencial do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) têm despertado o interesse científico devido a sua rica composição química e propriedades farmacológicas. No entanto, fatores como as características intrínsecas da planta e o método de extração utilizado, são frequentemente descritos como interferentes no rendimento e na capacidade antioxidante, anti-inflamatória ou antibacteriana do óleo. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi extrair o óleo essencial de folhas de alecrim por hidrodestilação em aparelho de Clevenger para determinação de rendimento e avaliação da atividade antioxidante a partir do método de DPPH e o seu emprego em fluido hidratante. As extrações foram realizadas em um tempo de duas horas, em duplicata, com resultados expressos em percentual, enquanto a determinação da atividade antioxidante foi realizada em duplicata pelo método do DPPH expressas em  $\mu\text{g}_{\text{trolox}} \text{g}^{-1}$  por grama de amostra. Os resultados mostraram rendimento médio de 0,92% e atividade antioxidante de  $68,73 \mu\text{g}_{\text{trolox}} \text{g}^{-1} \pm 0,61$  com 63,5 % de redução do radical DPPH no óleo essencial de alecrim e para o fluido hidratante com 0,5 % de óleo essencial de alecrim  $37,3 \mu\text{g}_{\text{trolox}} \text{g}^{-1} \pm 8,21$ , com 36% redução do radical DPPH.

**Palavras-chave:** *Rosmarinus officinalis* L. Propriedades farmacológicas. Atividade antioxidante.

### Antioxidant activity of rosemary essential oil (*Rosmarinus officinalis* L.) by the DPPH method and use in moisturizing fluid

#### ABSTRACT

The essential oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) has sparked scientific interest due to its rich chemical composition and pharmacological properties. However, factors such as the intrinsic characteristics of the plant and the extraction method used are often described as interfering with the yield and antioxidant, anti-inflammatory, or antibacterial capacity of the oil. Therefore, the aim of this study was to extract the essential oil from rosemary leaves by hydrodistillation using a Clevenger apparatus for yield determination and evaluation of antioxidant activity using the DPPH method, as well as its use in a hydrating fluid. The extractions were performed for a duration of two hours in duplicate, with results expressed as a percentage. The determination of antioxidant activity was also performed in duplicate using the DPPH method, expressed as  $\mu\text{g}_{\text{trolox}} \text{g}^{-1}$  per gram of sample. The results showed an average yield of 0.92% and an antioxidant activity of  $68.73 \mu\text{g}_{\text{trolox}} \text{g}^{-1} \pm 0.61$  with a 63.5% reduction of DPPH in the rosemary essential oil. For the hydrating fluid containing 0.5% of rosemary essential oil, the antioxidant activity was  $37.3 \mu\text{g}_{\text{trolox}} \text{g}^{-1} \pm 8.21$ , with a 36% reduction of DPPH.

**Keywords:** *Rosmarinus officinalis* L. Pharmacological properties. Antioxidant activity.

## INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais e seus compostos ativos têm despertado o interesse das indústrias de cosméticos, principalmente por serem ingredientes naturais minimamente processados, com menores riscos potencialmente adversos à saúde, e possuírem atividades antioxidante e antimicrobiana (KADRI et al., 2011; RASKOVIĆ et al., 2014; SHARMEEN et al., 2021). Evidências recentes demonstraram que os óleos essenciais também podem promover efeitos, antidepressivos, cognitivos, antifúngicos, antidiabéticos, antitrombóticos e anticancerígenos (RAFIE et al., 2017; MWITHIGA et al., 2022).

Os óleos essenciais conferem aromas agradáveis à diversos produtos cosméticos, além de atuarem como conservantes e agentes ativos, simultaneamente, oferecem diversos benefícios à pele (SHARMEEN et al., 2021). Devido a sua natureza volátil, os óleos essenciais são comumente empregados na produção de fragrâncias, das quais podem ser beneficiadas com mais de 300 tipos obtidos de cerca de 3.000 espécies de plantas. No entanto, embora existam uma vasta variedade de fragrâncias e espécies de plantas disponíveis, até ao momento, a maioria dos óleos essenciais produzidos são os de laranja, menta de milho, citronela, eucalipto, hortelã-pimenta e limão (BARBIERI; BORSOTTO, 2018; SHARMEEN et al., 2021).

O *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim) é uma planta perene e aromática, amplamente utilizada no tratamento de doenças devido às suas propriedades antimicrobianas, antiinflamatórias, antioxidantes, antiapoptóticas, antitumorigênicas, antinociceptivas e neuroprotetoras (OLIVEIRA et al., 2019; RAHBARDAR; HOSSEINZADEH, 2020). Além disso, seus os extratos são amplamente utilizados na indústria alimentícia para a conservação de alimentos, devido ao seu potencial antioxidante e antimicrobiano (RASKOVIĆ et al., 2014; NIETO et al., 2018).

Recentemente, o notável interesse científico de diferentes tipos de extratos de *Rosmarinus officinalis* L. está focado em suas propriedades farmacológicas e seus principais constituintes químicos (RAHBARDAR; HOSSEINZADEH, 2020), empregados na medicina popular como agentes estimulantes, analgésicos, coleréticos, hepatoprotetores e antioxidantes (CUTRIM et al., 2019; RAHBARDAR; HOSSEINZADEH, 2020).

Na literatura, os extratos de *Rosmarinus officinalis* L., administrados topicamente têm demonstrado potente atividade antioxidante na eliminação de radicais livres e potente

atividade anticancerígena em diferentes tipos de câncer de pele (MOORE et al., 2016; LEE et al., 2017; LO et al., 2002). Já as preparações contendo óleos essenciais vêm sendo investigadas principalmente na cicatrização de feridas (ABU-AL-BASAL, 2010; UMASANKAR et al., 2012; NEJATI et al., 2015), celulite (YIMAM et al., 2017), sobrevivência e viabilidade tecidual (INCE et al., 2015), efeitos transdérmicos (AKBARI et al., 2015), atividade antifúngica (GAUCH et al., 2014; SUDAN; SINGH, 2019) e atividade antienvhecimento (MONTENEGRO et al., 2017). Em todas essas condições, os estudos disponíveis na literatura demonstram efeitos promissores dos óleos essenciais, principalmente na redução da necrose tecidual (INCE et al., 2015), aumento da capacidade de cicatrização e angiogênese (ABU-AL-BASAL, 2010; UMASANKAR et al., 2012), hidratação, e melhora na elasticidade da pele (MONTENEGRO et al., 2017). Além disso, atribuem a atividade anticancerígena principalmente a presença de carnosol, ácido carnósico e ácido rosmarínico (LO et al., 2002; MOORE et al., 2016; LEE et al., 2017), e o efeito transdérmico, aos monoterpenos (AKBARI et al., 2015). Além desses constituintes, outros componentes incluindo os ácidos ursólicos, oleanólicos e microméricos foram relacionados aos efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes, e observados em diferentes preparações como cremes e emulsões (MACEDO et al., 2020).

Como vimos, a maioria dos efeitos farmacológicos do *Rosmarinus officinalis* L. são consequência da atividade antioxidante de seus principais constituintes químicos, incluindo terpenoides, óleos essenciais, alcaloides e flavonoides (RAHBARDAR; HOSSEINZADEH, 2020). Entre estes compostos, os triterpenos, diterpenos fenólicos e ácidos fenólicos, incluindo ácido rosmarínico, ácido carnósico, rosmanol, carnosol, ácido ursólico e ácido betulínico são os componentes ativos mais potentes (RASKOVIĆ et al., 2014; RAHBARDAR; HOSSEINZADEH, 2020). Os autores ressaltam que o ácido rosmarínico e o ácido carnósico são os compostos mais eficazes, com atividade antiinflamatória e antioxidante (RAHBARDAR; HOSSEINZADEH, 2020).

Os óleos essenciais de *Rosmarinus officinalis* L., é secretado pelos tricomas glandulares das folhas e flores, e pode ser obtido por destilação ou extração com solventes (ELYEMNI et al., 2019). O óleo essencial obtido por destilação a vapor das folhas de alecrim varia de incolor a amarelo-claro, é insolúvel em água e possui aromas característicos de cânfora (BEGUM et al., 2013). A cânfora, 1,8-cineol,  $\alpha$ -pineno, borneol, canfeno,  $\beta$ -pineno e o limoneno são os principais constituintes voláteis do óleo de alecrim. Além disso, entre as diversas estruturas químicas presentes nesses compostos,

destacamos os terpenos (monoterpenos e sesquiterpenos), terpenóides (isoprenóides), compostos alifáticos e aromáticos (FREIRES et al., 2015). Entretanto, suas concentrações variam de acordo com o estágio vegetativo da planta e as condições bioclimáticas (BEGUM et al., 2013; ANDRADE et al., 2018).

As extrações por destilação podem ser realizadas por hidrodestilação, hidrodifusão e destilação a vapor (ELYEMNI et al., 2019). Enquanto as extrações com solventes podem ser realizadas por Soxhlet, maceração, decocção e infusão (ANDRADE et al., 2018). A extração com solventes orgânicos é utilizada para avaliar a eficiência da extração de vários compostos bioativos, entretanto, apresentam algumas desvantagens (RODRÍGUEZ-SOLANA et al., 2014; HIRONDART et al., 2020. RADIVOJAC et al., 2021). Entre as principais desvantagens está o uso de grandes volumes de solventes, como hexano, éter dietílico, acetato de etila, etanol e metanol, dos quais geram resíduos nocivos à saúde e ao meio ambiente (RODRÍGUEZ-SOLANA et al., 2014, RADIVOJAC et al., 2021), longos períodos de operação (horas ou dias), alto consumo de energia e inadequação para analitos termolábeis (HIRONDART et al., 2020).

O uso de extrator Clevenger segue o sistema de arraste por vapor d'água ou destilação a vapor. Ou seja, a extração de compostos bioativos por meio deste método ocorre pela combinação de água e o aumento de temperatura, que resultará na formação de vapor e liberação de compostos bioativos do tecido vegetal (AZMIR et al., 2013; SHARMEEN et al., 2021). O resfriamento atua na condensação da mistura de vapor de água e óleo, que flui do condensador para um separador, onde o óleo e os compostos bioativos se separam automaticamente da água. No entanto, embora sejam técnicas mais comuns e ecológicas, por não utilizarem solventes orgânicos, apresentam algumas limitações para extrações em altas temperaturas, em que componentes voláteis podem ser perdidos (AZMIR et al., 2013).

Em ambas as técnicas, destilação ou extração com solventes, vários parâmetros podem ser avaliados, tais como o tempo de extração, o percentual de rendimento e a composição química dos óleos essenciais. No entanto, tanto o rendimento quanto a composição química dos compostos bioativos dependem da escolha adequada do método de extração, incluindo o modelo do extrator, e de fatores relacionados às propriedades da planta, solvente, temperatura, pressão e tempo de extração (GUPTA et al., 2012; AZMIR et al., 2013).

Importante ressaltar que algumas pesquisas mostram a diminuição do teor de antioxidantes, principalmente ácido rosmarínico e ácido carnósico após extração por hidrodestilação (WOLLINGER et al., 2016; CONDE-HERNÁNDEZ et al., 2017). Essa diminuição pode ser explicada pela solubilização e a degradação desses compostos devido ao tempo em que são submetidos à ebulição (WOLLINGER et al., 2016). Para exemplo, após 1,5 h de destilação, o teor de ácido carnósico pode ser reduzido de 23,6 mg/g para 16,3 mg/g e o ácido rosmarinico de 8,9 mg/g para 2,1 mg/g após 4 h de destilação. Quanto ao rendimento, a quantidade máxima obtida de óleo essencial em relação ao peso inicial da folha também é menor na extração por hidrodestilação (1,8% p/p) quando comparada a outros métodos, como a destilação a vapor (2,5% p/p) (WOLLINGER et al., 2016) ou extração supercrítica com CO<sub>2</sub> (CONDE-HERNÁNDEZ et al., 2017). No entanto, a influência do tempo de extração parece ser dependente do tipo de vegetal e do óleo essencial extraído. Para exemplo, na extração do óleo essencial de *Salvia officinalis* L, o tempo de extração não parece ter influenciado no seu rendimento (MIGUEL et al., 2011), embora tenha influenciado em sua composição e na atividade antioxidante (MIGUEL et al., 2011).

Por outro lado, quando extraídos com solventes orgânicos, o teor de flavonoides, ácidos fenólicos e taninos foi comprovadamente maior (HAMINIUK et al., 2014). Isso porque os polifenóis, principais componentes vegetais com atividade antioxidante, são mais facilmente extraídos em solventes orgânicos menos polares (HAMINIUK et al., 2014). Além disso, outros componentes responsáveis pela eliminação de radicais livres, incluindo tocoferóis, carotenóides, ácido ascórbico e macromoléculas, também são facilmente extraídos, e juntamente com os polifenóis, podem ser avaliados através de métodos químicos (MICHALAK et al., 2022).

Entre os estudos existentes com óleos essenciais, os métodos analíticos espectrométricos, eletroquímicos e cromatográficos são os mais comuns utilizados para essas avaliações (MUNTEANU; APETREI, 2021). Os métodos espectrométricos incluem testes de capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC) ou de capacidade antioxidante de radicais hidroxílicos (HORAC); testes baseados na transferência de elétrons, como o teste redutor cúprico (CUPRAC) ou redutor férrico (FRAP); ou ainda, testes mistos, baseados na transferência de um átomo de hidrogênio e um elétron, como o teste de ácido 2,2'-azinobis-(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS) e o teste [2,2-di(4-tert-octilfenil)-1-picrilhidrazil] (DPPH) (MUNTEANU;

APETREI, 2021). Os métodos eletroquímicos incluem a voltametria, amperometria e biamperometria. Os métodos cromatográficos abrangem a cromatografia em fase gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência (MUNTEANU e APETREI, 2021).

Em relação aos testes espectrométricos, o teste DPPH é o de menor custo, com boa estabilidade, precisão e reprodutibilidade na avaliação das atividades antioxidantes (MUNTEANU, APETREI, 2021; ALVES et al., 2010). O princípio deste teste é baseado na alteração da cor devido a adição de potenciais antioxidantes à solução (PARCHETA et al., 2021).

O DPPH é utilizado em investigações fitoquímicas e antioxidantes de inúmeras amostras complexas, incluindo extratos aquosos e orgânicos (FERNANDO et al., 2015; BOUABID et al., 2020), hidroetanólicos (MARINHO et al., 2021) e óleos essenciais (DENKOVA-KOSTOVA et al., 2020). Para os óleos essenciais, os estudos disponíveis na literatura relatam o uso de uma solução de DPPH dissolvido em metanol (UMARU, 2019; AEBISHER et al., 2021) ou etanol (LI et al., 2022) e, em seguida, adicionadas a concentração da amostra para a leitura da absorbância (UMARU et al., 2019; AEBISHER et al., 2021).

A atividade de eliminação de DPPH foi evidenciada em estudos utilizando compostos como o alecrim (PINTORE et al., 2009; VALKOVÁ et al., 2021), lavanda e menta (VALKOVÁ et al., 2021). Em relação à composição química, o 1,8-cineol foi o composto ativo mais frequente em amostras de óleo essencial de alecrim (PINTORE et al., 2009, VALKOVÁ et al., 2021). Para o óleo essencial de lavanda e menta, foram o acetato de linalol e o mentol, respectivamente (VALKOVÁ et al., 2021). Nas amostras cítricas, o maior teor foi de d-limoneno (LI et al., 2022).

Além da composição química, já se sabe que fatores extrínsecos e características físico-químicas das plantas podem influenciar nas atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas dos óleos essenciais (GUPTA et al., 2012; AZMIR et al., 2013). Em relação ao alecrim, alguns autores sugerem que esses fatores afetam a composição química desses compostos, principalmente a concentração de verbenona e borneol (SACCHETTI et al., 2005), e que estes estariam relacionados à atividade antioxidante (MEZZA et al., 2018). No entanto, outros autores indicam que os monoterpenos oxigenados e hidrocarbonetos sesquiterpenos, éteres alcoólicos e compostos fenólicos, 1,8-cineol,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -tujeno, trans-cariofileno,  $\beta$ -tujona, borneol e cânfora, ou mirceno são os constituintes químicos responsáveis por

essas atividades (BERETTA et al., 2011; KADRI et al., 2011; OJEDA SANA et al., 2013). Por outro lado, também é possível evidenciar, com base na literatura, diferenças significativas entre as atividades promovidas pelos óleos essenciais e compostos antioxidantes sintéticos (SHARIFI-RAD et al., 2017).

Segundo Bizzo et al., (2009), os apelos de políticas de preservação ambiental são instrumentos de marketing muito eficientes, particularmente no mercado europeu. O que é considerado por estes autores, uma ótima oportunidade para o desenvolvimento de processos sustentáveis de exploração da biodiversidade, podendo tornar uso de fontes renováveis para a produção de óleos essenciais um lugar de destaque nas pesquisas.

Visto o número elevado de estudos trazidos neste manuscrito quanto a alta atividade antioxidante, anti-inflamatório e antibacteriano do óleo essencial de alecrim, o aumento do interesse dos consumidores por produtos naturais e veganos e, principalmente pelo fato de ainda existirem poucas informações disponíveis, especificamente sobre o emprego do óleo em fluidos hidratantes e seu real potencial conservante e antioxidante, delimitou-se os objetivos deste trabalho, que consistiram em verificar o rendimento do óleo essencial de folhas de *Rosmarinus officinalis* L. a partir do método de extração Clevenger e determinar a atividade antioxidante do óleo essencial in natura e quando inserido em fluido hidratante para o corpo pelo método de DPPH.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### ***Coleta do material vegetal***

A coleta de *Rosmarinus officinalis* L. conhecido como alecrim, foi realizada no período vespertino, às 18 horas, no Sítio São Bento localizado no assentamento cruzeiro do Sul, Palmas/PR.

### ***Extração do óleo essencial do alecrim***

A extração do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) (Figura 1) foi realizada de acordo com as recomendações de Prins et al., (2006) e Silveira et al., (2012), durante um período de 2 horas.

Para a extração, colocou-se o material vegetal no balão de destilação com 500 mL de água deionizada. Em seguida, o balão de destilação foi acoplado ao aparelho de Clevenger para extração do óleo essencial, conforme demonstrado na Figura 1. As extrações foram conduzidas em duplicata

**Figura 1** - Hidrodestilação em aparelho de Clevenger.



Fonte: acervo pessoal (2023).

Na hidrodestilação, o material vegetal permanece em contato com a água, que está em ebulição. Sendo assim, o vapor força a abertura das paredes celulares e ocorre a evaporação do óleo que está entre as células da planta. O vapor consiste em uma mistura de óleo e água, da qual passa por um condensador para resfriamento. Como os componentes voláteis presentes na amostra e a água, são imiscíveis, ocorre a formação de duas fases líquidas, das quais podem ser facilmente separadas (SILVEIRA et al., 2012).

#### ***Atividade antioxidante pelo método DPPH***

O método de DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl-hidrazil) foi desenvolvido por Blois em 1958 e consiste em uma reação em que o radical da molécula que se encontra na cor violeta escuro reage com a substância antioxidante, resultando em uma coloração amarelo ou violeta claro. Essa alteração pode ser observada em espectrofotômetro à 517 nanômetros (nm), como resultado da redução do elétron de valência desemparelhado do átomo de nitrogênio no radical DPPH pelo átomo de hidrogênio de uma molécula antioxidante, do qual resulta na formação de hidrazina (SIRIVIBULKOVIT et al., 2018).

Neste estudo, a determinação da atividade antioxidante do óleo essencial de alecrim foi realizada de acordo com Silveira et al., (2018) que recomendam o uso do Trolox (6-Hidroxi-2,5,7,8-etrametilchroman-2-ácido carboxílico) como antioxidante. O Trolox é uma substância derivada da vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol), solúvel em água e etanol, e por conta do seu potencial antioxidante, é capaz de reagir com a molécula de DPPH (SILVEIRA et al., 2018). As concentrações apropriadas de Trolox são preparadas a partir de soluções estoques e adicionados à solução de DPPH para determinação da concentração de óleo essencial na mistura (AEBISHER et al., 2021).

### ***Preparo da solução estoque de DPPH***

Com o auxílio de uma balança analítica, foram pesados 2,4 mg do reagente DPPH (Massa Molar = 394,32 g mol<sup>-1</sup>) e foi preparada uma solução estoque com concentração de 60 µmol L<sup>-1</sup>. Esta quantidade foi dissolvida em álcool etílico absoluto e completado para 100 mL em um balão volumétrico com o mesmo solvente. Em seguida, foi homogeneizado e transferido para um frasco de vidro âmbar coberto por papel alumínio para evitar contato com a luz (SILVEIRA et al., 2018).

A solução de uso de DPPH 60 µmol L<sup>-1</sup> foi preparada vertendo-se 10 mL da solução estoque em um balão volumétrico de 100 mL com o auxílio de uma pipeta volumétrica. O volume foi completado com álcool etílico absoluto. A solução foi homogeneizada e transferida para um frasco de vidro âmbar coberto por papel alumínio para evitar contato com a luz, devidamente identificado. Essa solução foi preparada e utilizada no mesmo dia da análise (SILVEIRA et al., 2018).

### ***Preparo da solução estoque de Trolox***

Com o auxílio de uma balança analítica, foram pesados 5 mg de Trolox (Massa Molar = 250,29 g mol<sup>-1</sup>) para o preparo da solução padrão 2 mM. Em seguida, foi realizada a dissolução do Trolox em álcool etílico absoluto. O volume foi completado para 50 mL em um balão volumétrico com o mesmo solvente, homogeneizado e transferido para um frasco de vidro âmbar devidamente identificado e coberto por papel alumínio para evitar contato com a luz. A preparação e uso dessa solução foi realizada no mesmo dia. Para a construção da curva padrão de trolox foram preparadas soluções de concentrações de 50 µM a 1000 µM, utilizando 7 tubos de ensaio revestidos por papel alumínio e identificados com numerações de 1 a 7, conforme demonstrado na Tabela 1.

**Tabela 1**– Preparo das soluções para curva padrão.

<b>Tubo</b>	<b>Trolox (µL)</b>	<b>Álcool (µL)</b>	<b>Concentração (µL)</b>
<b>1</b>	25	975	50
<b>2</b>	50	950	100
<b>3</b>	100	900	200
<b>4</b>	200	800	400
<b>5</b>	300	700	600
<b>6</b>	400	600	800
<b>7</b>	500	500	1000

Fonte: adaptado de Silveira et al., (2018).

### ***Determinação da Curva Padrão***

A determinação da curva padrão foi realizada em ambiente escuro. Para isso, uma alíquota de 150µL de trolox de cada concentração (Tabela 1) foi transferida para 7 tubos de ensaio e adicionados 5,850 mL da solução de uso de DPPH. Após homogeneização, a mistura foi mantida em repouso por 30 minutos (Tempo IC<sub>50</sub> = tempo para redução e estabilização da absorbância, que ocorre quando todo o antioxidante é consumido pela reação com o radical) (SILVEIRA et al., 2018).

As leituras das absorbâncias foram conduzidas em espectrofotômetro à 517 nm, utilizando como controle o álcool etílico. A equação da reta obtida é mostrada na equação 1.

$$Y = - 0,0005x + 0,3397, R^2 = 0,999 \text{ (Equação 1)}$$

A alteração de cor, violeta escuro para violeta claro, foi identificada com o auxílio de um espectrofotômetro UV/visível Shimadzu 1800. A determinação da capacidade antioxidante foi ser realizada na ausência de luz, uma vez que esta é um interferente da reação do radical DPPH. Na presença de luz, ocorre a diminuição da absorbância mais rapidamente e, conseqüente, pode resultar em resultados pouco confiáveis (OLIVEIRA, 2015; SILVEIRA et al., 2018).

### ***Porcentagem de redução do radical e percentual de radical remanescente***

De acordo com Magalhães, Matos e Lorençon (2018), a quantidade de radical DPPH remanescente na solução é calculada a partir da razão entre a absorbância da amostra e a média das absorbâncias da solução controle no tempo de IC<sub>50</sub>, equação 2.

$$\%DPPH = \frac{|amostra|}{|controle|} X 100 \text{ (Equação 2)}$$

A porcentagem de redução é obtida pela diferença entre a porcentagem total de radical no início da reação (100%) e o percentual de radical remanescente (Equação 3).

$$\% \text{ Redução de DPPH} = 100 - \% \text{ DPPH remanescente (Equação 3)}$$

### Concentração inibitória - IC<sub>50</sub>

De acordo com Magalhães, Matos e Lorençon (2018), a partir da equação da reta, pode-se calcular qual a concentração de antioxidante necessária para que haja 50% de DPPH remanescente no sistema (IC<sub>50</sub>) (Equação 4), o resultado é dado em mg L<sup>-1</sup>.

$$IC_{50} = \frac{50-b}{a} \quad (\text{Equação 4})$$

Onde:

b = Intercepção do eixo y

a = Inclinação da reta

### Concentração eficiente - EC<sub>50</sub>

O valor de EC<sub>50</sub> é obtido a partir da razão entre o valor de IC<sub>50</sub> e da concentração inicial do radical. A concentração inicial de DPPH. Portanto, para se obter o valor de EC<sub>50</sub> basta aplicar a equação 6. O resultado é dado em mg de óleo/mg de DPPH.

$$EC_{50} = \frac{IC_{50}}{[DPPH]_{inicial}} \quad (\text{Equação 6})$$

### *Preparo do fluido hidratante para o corpo*

Preparou-se um creme neutro sem conservantes e antioxidantes. O óleo essencial de alecrim foi acrescentado a loção sob agitação lenta até a incorporação total. Quando há alteração de pH é necessário corrigir para 5,5 - 6,5, com o auxílio de soluções acidulantes ou alcalinizantes. Na Tabela 2 apresenta a formulação do creme com óleo essencial de alecrim 0,5%.

**Tabela 2** - Formulação do creme adquirido em farmácia, e com a adição do óleo essencial de alecrim.

COMPONENTES	QUANTIDADE (g)
<b>Fase A (aquosa)</b>	
Edetato dissódico	0,1
Água purificada qsp	100
<b>Fase B (oleosa)</b>	
Cera auto emulsionante não iônica (álcool cetoestearílico, cetearate 20, óleo mineral, álcool de lanolina e vaselina)	15,0
Dimeticona	2,0
Óleo essencial de alecrim	0,5
Estearato de octila	2,0

Fonte: Adaptado de Martin (2018) e Brasil (2019).

A Fase A (aquosa) e a Fase B (oleosa) foram preparadas separadamente à temperatura de 70 -75°C. Por fim, sob agitação lenta a fase aquosa foi adicionada a fase oleosa. A agitação lenta foi mantida até atingir uma temperatura de 40 °C.

### ***Atividade antioxidante do óleo essencial de alecrim e do fluido hidratante***

A diluição do óleo essencial do fluido hidratante para testar a atividade antioxidante com o óleo essencial estão descritas na Tabela 3. Utilizou-se 150 µg do óleo essencial, dissolvido em 1500 µg álcool absoluto e, por fim, foram adicionados 5,850 µg de solução estoque de DPPH. O fluido hidratante foi preparado utilizando 150 µg do mesmo dissolvendo em 1500 µg de álcool absoluto e por fim, foram adicionados 5,850 µg de solução estoque de DPPH. Em seguida foi realizado a leitura em espectrofotômetro 517 nm.

**Tabela 3** – Diluição do óleo essencial em etanol.

<b>Óleo essencial</b>	<b>Álcool absoluto</b>	<b>DPPH</b>
150 µg	1500 µg	5850 µg
<b>Fluido hidratante</b>	<b>Álcool absoluto</b>	<b>DPPH</b>
150 µg	1500 µg	5850 µg

Fonte: Autores (2023).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### ***Período de colheita do Alecrim***

A amostra de alecrim foi coletada no sítio São Bento localizado à 10 km de Palmas, Sudoeste do Paraná (PR). A coleta foi realizada às 18:00 horas de acordo com as recomendações de Gonçalves, Mancinelli e Moraes (2009), dos quais demonstraram que o melhor horário de coleta é a partir das 16h30min.

Na literatura, inúmeros estudos investigaram a influência do período da coleta com o rendimento do óleo essencial. Para exemplo, Souza (2011) descreve que horários específicos para a coleta podem contribuir para uma maior ou menor concentração de princípios ativos na planta. De acordo com o autor, menores teores de princípios ativos podem estar relacionados à presença de orvalho sobre as folhas, que aumentam a umidade e diminuem a quantidade de material a ser extraído (SOUZA, 2021).

No entanto, outros autores recomendam que a coleta do material vegetal para extração do óleo essencial deve ocorrer no período da manhã. Isso porquê as plantas acumulam óleo essencial durante a noite e, no decorrer do dia, o perdem por volatilização (GONÇALVES, MANCINELLI, MORAES, 2009; MELO et al., 2011; SOUZA, 2021).

Orientações semelhantes também foram descritas por Santos e Inecco (2005), que atribuem as interações das condições ambientais que ocorrem ao longo do dia, às variações quantitativas e qualitativas dos óleos essenciais.

### ***Extração e rendimento de essencial do alecrim***

Neste estudo, o rendimento do óleo essencial foi calculado a partir de uma média de 215,646 g de folhas frescas de alecrim, obtendo um percentual médio de 0,92% (Tabela 4).

**Tabela 4** – Valor de pesagem do material vegetal.

<b>Extração</b>	<b>Massa do material vegetal (g)</b>	<b>Rendimento (%)</b>
<b>Extração 1</b>	92,6259	0,85
<b>Extração 2</b>	123,0201	1,0
<b>Média:</b>	107,823	0,925
<b>Desvio Padrão:</b>	± 21,4919	± 0,106

Fonte: Autores (2023).

Embora o tempo decorrido entre a coleta e a extração possa ter influenciado no rendimento do óleo essencial, os resultados estão próximos aos obtidos por Ribeiro et al., (2012), que obtiveram 1% de rendimento. Neste estudo, os autores relataram condições experimentais, tipo de amostra e método de extração semelhantes. Contudo, empregaram hidrodestilação com extrator Clevenger por um tempo de 3 horas (RIBEIRO et al., 2012), enquanto neste estudo o período de extração foi de 2 horas.

Na literatura, resultados inferiores (OKOH, SADIMENKO, AFOLAYAN, 2010; CUTRIM et al., 2019) e superiores (PRINS LEMOS, FREITAS, 2006) também foram relatados. Cutrim et al., (2019) relataram um rendimento de 0,30% na extração do óleo essencial das folhas frescas de alecrim empregando o método de hidrodestilação. Esses resultados são semelhantes aos obtidos por Okoh et al., (2010) (0,31% e 0,39%), Oliveira (2019) (0,42%), Probst (2012) (0,58%), Heinke et al., (2009) (0,59%) e Rocha (0,59%). Outros métodos incluindo extração assistida por micro-ondas, ou arraste a vapor, também apresentaram baixos rendimentos (HEINKE et al., 2009). A extração por micro-ondas foi de 0,31%, enquanto a extração por arraste à vapor foi de 0,25% (HEINKE et al., 2009). Por outro lado, Prins Lemos e Freitas (2006) relataram um rendimento de 2,08%. Em seu estudo, os autores também demonstraram resultados satisfatórios após 1 h, 1,5 h e 2 h de extração por hidrodestilação, sem diferença significativa entre os compostos ativos presentes na amostra, dos quais correspondem a cerca de 90% da composição total do

óleo essencial (PRINS LEMOS; FREITAS, 2006). Resultados semelhantes para composição do óleo essencial também foi demonstrada por Ribeiro et al., (2012), as análises foram conduzidas por cromatografia gasosa e os constituintes majoritários identificados foram o  $\alpha$ -pineno (19,8%),  $\beta$ -mirceno (24,2%), 1,8-cineol (22,2%) e verbenona (9,3%), dos quais constituem cerca de 75,5% da composição total.

Vale ressaltar que variações significativas na composição química do óleo essencial do alecrim podem ser influenciadas pela região de cultivo, método de extração, método de análise e características da amostra, principalmente relacionados à parte da planta utilizada e ao modo de preparo da matéria prima (RIBEIRO et al., 2012). A concentração desses compostos é diretamente proporcional ao percentual de rendimento do óleo essencial (RIBEIRO et al., 2018), sendo que o rendimento é um fator importante para a determinação de fontes de substâncias bioativas entre as espécies de plantas, caso seja de interesse o isolamento de seus componentes, ou a identificação de atividade equiparada à da substância isolada (RIBEIRO et al., 2018). Além disso, a partir do rendimento é possível estimar a quantidade de biomassa que é necessária para produzir uma quantidade de óleo essencial satisfatória (RIBEIRO et al., 2018).

No entanto, assim como a composição química, o rendimento do óleo essencial também é influenciado por diferentes fatores extrínsecos, incluindo as variações de umidade e temperatura ao longo do dia. Dessa forma, conhecer o horário mais apropriado para colheita da matéria-prima é uma estratégia para a obtenção de maiores teores de princípios ativos (MELO et al., 2011).

#### ***Atividade antioxidante pelo método DPPH***

Para quantificar antioxidante do óleo essencial de alecrim e do fluido hidratante com óleo essencial de alecrim 0,5%, primeiramente foi estabelecida uma curva analítica utilizando como reagente padrão, Trolox e DPPH. Foi obtida uma reta ascendente e, através do ajuste linear, foi obtida a equação  $y = -0,0005x + 0,3397$  e  $R^2 = 0,999$ . Com a equação da reta estabelecida foram realizadas as leituras do óleo essencial de alecrim e posteriormente do fluido hidratante. A atividade antioxidante do óleo de alecrim avaliada pelo método DPPH foi de  $68,73 \pm 0,61 \mu\text{g}_{\text{trolox}} \text{g}^{-1}$  (Tabela 5). O valor médio das absorbâncias das amostras de óleo de alecrim para determinação da atividade antioxidante foi de 0,117.

**Tabela 5** - Atividade antioxidante do óleo de alecrim.

Extratos	Diluição	Absorbância (nm)	Atividade antioxidante ( $\mu\text{g}_{\text{Trolox}} \text{g}^{-1}$ )
Alecrim	1/10	0,115	69,35
Alecrim	1/10	0,119	68,12
Média	-	0,117	68,73
Desvio Padrão	-	-	$\pm 0,61$

Fonte: Autores (2023).

Já a atividade antioxidante do óleo essencial com o fluido hidratante foi de  $37,3 \pm 8,21 \mu\text{g}_{\text{Trolox}} \text{g}^{-1}$  (Tabela 6). O valor médio das absorbâncias das amostras de óleo de alecrim para determinação da atividade antioxidante foi de 0,204.

**Tabela 6** – Fluido antioxidante hidratante com óleo essencial.

Extratos	Diluição	Absorbância (nm)	Atividade antioxidante ( $\mu\text{g}_{\text{Trolox}} \text{g}^{-1}$ )
Alecrim	1/10	0,170	46,7
Alecrim	1/10	0,218	33,7
Alecrim	1/10	0,225	31,5
Media	-	0,204	37,3
Desvio Padrão	-	-	$\pm 8,21$

Fonte: Autores (2023).

Na literatura, há atividades antioxidantes inferiores e superiores aos encontrados neste estudo. Por exemplo, pesquisadores demonstraram atividade antioxidante do óleo essencial do alecrim pelo mesmo método em concentrações variando de 33,44 a 36,43  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . No entanto, esses valores foram inferiores aos demonstrados por Cutrim et al., (2019) e Ramos (2014), dos quais obtiveram atividade antioxidante em concentrações de 144,9  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e 250  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente (CUTRIM et al., 2019).

Na literatura, também foi demonstrado que o método de extração pode influenciar na capacidade antioxidante do óleo essencial. Para exemplo, Karakaya et al., (2014) obtiveram valores de 1,52 mM  $\text{mL}^{-1}$  para a capacidade antioxidante equivalente a Trolox em amostras extraídas por hidrodestilação assistida por micro-ondas, e 1,95 mM  $\text{mL}^{-1}$  em amostras extraídas por hidrodestilação convencional (KARAKAYA et al., 2014). Esses valores em percentuais demonstram atividade sequestradora do radical DPPH de 60,55% e 51,04%, respectivamente (KARAKAYA et al., 2014). Além disso, são iguais a atividade antioxidante de extratos aquosos e etanólicos, conforme demonstrados por Mata et al., (2007), mas inferiores ao demonstrado por Dorman e colaboradores (2003) que demonstraram atividade contra o radical DPPH de 236,5  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (valores de  $\text{IC}_{50}$ ).

Na Tabela 7 apresenta-se a porcentagem de redução do radical DPPH pelo óleo essencial de alecrim e do fluido hidratante, a concentração de antioxidante necessária para

que haja 50% de DPPH remanescente no sistema ( $IC_{50}$ ) e concentração eficiente ( $EC_{50}$ ) do óleo essencial de alecrim e também do fluído hidratante com 0,5 % de óleo essencial de alecrim, objetivando apontar o potencial antioxidante e comparações com estudos já realizados por outros autores.

**Tabela 7** – Atividade antioxidante do óleo essencial de alecrim e do fluído hidratante pelo método DPPH.

<b>Amostra</b>	<b>% redução de DPPH</b>	<b><math>IC_{50}</math> (<math>\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}</math>)</b>	<b><math>EC_{50}</math> <math>\mu\text{g} / \mu\text{g DPPH}</math></b>
Óleo de alecrim	63,5	340	0,57
Fluído Hidratante 0,5 % óleo essencial alecrim	36	50	1,07

Fonte: Os autores (2023).

A capacidade percentual do óleo essencial sobre o radical DPPH foi de 63,5% e do fluído hidratante com óleo essencial de alecrim 0,5% foi de 36%. Os resultados foram semelhantes a Yang et al. (2010), que conduziram um estudo comparativo da composição química e atividade antioxidante do óleo essencial do alecrim e demonstraram atividade de eliminação de DPPH de  $34,1 \pm 4,53\%$ . Bozin et al., (2007) obtiveram um percentual de inibição moderado na faixa de 17,65 a 32,35% para o método DPPH e  $69,5 \pm 2,82\%$  para o método ABTS. Já Oliveira et al., (2021) demonstraram atividade antioxidante total calculada pela porcentagem de redução de DPPH para o óleo essencial do alecrim de  $87,213 \pm 0,25$  no tempo de 30 minutos considerados satisfatórios (OLIVEIRA et al., 2021).

Outros antioxidantes amplamente empregados como conservantes em cosméticos auxiliam na prevenção da rancidez de substâncias lipídicas, como o BHT (di-terc-butil-hidroxitolueno) por exemplo, com uma concentração usual de 0,02% a 0,05% demonstrando um percentual de redução superior de  $89 \pm 4$  e coeficiente de variação de 7% (MAGALHÃES et al., 2018) e, para o fluído hidratante com óleo essencial de alecrim, 0,5% ( $37,3 \pm 8,21$ ). Neste estudo, a substituição do BHT pelo óleo essencial de alecrim na concentração de 0,5% apresentou uma atividade antioxidante reduzida. Conforme recomendam Souza Et al., (2021) um aumento da concentração do óleo essencial de alecrim de 0,5 para 1 % pode obter melhores resultados.

Formulações tópicas foram comparadas por Souza et al., (2021). Em seu trabalho, os autores incluíram em uma formulação apenas vaselina e lanolina, e compararam com uma formulação enriquecidas com óleo essencial do alecrim 1%, silicone, polawax, álcool cetosteárico, estearato de octila, nipazol, BHT, metilparabeno, propilenoglicol,

EDTA dissódico e água purificada. Ambas as formulações demonstraram níveis satisfatórios para estabilidade (SOUZA et al., 2021).

Outras formulações, incluindo produtos cosméticos e dermatológicos para cabelos com incorporação do óleo essencial do alecrim também foram propostas na literatura (ABELAN et al., 2022). Para as formulações de tônicos capilares e shampoos, são relatadas concentrações muito próximas às usadas em nosso estudo (entre 0,5 e 1% de óleo essencial), sem qualquer risco de toxicidade (ABELAN et al., 2022).

Vale ressaltar ainda, que os resultados obtidos da capacidade antioxidante pelo método DPPH são frequentemente apresentados em valores de  $CE_{50}$  e unidades de medida distintas, tornando difícil a comparação com a literatura existente (DENG et al., 2011). Os valores de  $CE_{50}$  podem ser interpretados como sendo a quantidade de antioxidante necessário para diminuir ou reduzir a concentração inicial do radical DPPH em 50% (OLIVEIRA, 2015), sendo calculados a partir da representação gráfica da inibição percentual do radical DPPH em função da concentração do antioxidante (BRAND-WILLIAMS et al., 1995). Neste sentido, são inversamente proporcionais à capacidade antioxidante de um composto, ou seja, quanto menor for o valor do  $EC_{50}$ , menor a concentração necessária para que se tenha 50 % da atividade antioxidante (MORES, 2018).

Ou seja, os valores de  $EC_{50}$  permitem que os compostos sejam classificados de acordo com sua capacidade antioxidante. Essa classificação considera atividade muito ativa ( $EC_{50}$  inferiores a 50  $\mu\text{g/mL}$ ), moderadamente ativa ( $EC_{50}$  entre 50 e 100  $\mu\text{g/mL}$ ), levemente ativa ( $EC_{50}$  entre 100 e 200  $\mu\text{g/mL}$ ) e inativa ( $EC_{50}$  maiores que 200  $\mu\text{g/mL}$ ) (REYNERTSON et al., 2005). Neste contexto, nota-se que os valores de  $EC_{50}$  realizados neste estudo como o óleo essencial de alecrim e o fluido hidratante 0,5% mostraram atividade antioxidante muito ativa, respectivamente 0,57 e 1,07  $EC_{50} \mu\text{g} / \mu\text{g DPPH}$ .

No entanto, vale destacar que embora o  $EC_{50}$  seja possível de ser calculado e facilmente interpretado, alguns estudos demonstraram uma relação não linear entre a concentração do antioxidante e a atividade sequestradora do radical DPPH e, por isso, a interpretação dos resultados antioxidante pelo valor da  $CE_{50}$  pode não ser adequado (EKLUND et al., 2005 e VILLANO et al., 2005).

Considerando valores para  $EC_{50}$ , os estudos disponíveis têm demonstrado atividade antioxidante bastante ativa dos extratos de *Rosmarinus officinalis* através das análises pelo método DPPH. Para exemplo, Mores (2018) demonstrou valores para  $EC_{50}$

de  $16,0 \pm 0,7$  e  $12,9 \pm 1,1$   $\mu\text{g/mL}$ . Esses valores são bastante semelhantes aos obtidos por Genena et al., (2008) que obtiveram um valor de  $15,73$   $\mu\text{g/mL}$ , e Mata et al., (2007) que obtiveram valores de  $36,0 \pm 0,1$   $\mu\text{g/mL}$  para extrato etanólico e  $37,3 \pm 0,7$   $\mu\text{g/mL}$  para o extrato aquoso. Valores para  $\text{CE}_{50}$  de  $35,05$   $\mu\text{g/mL}$ , considerado muito ativo, também foi demonstrado por Wanderley (2016).

De forma geral, a presença do  $\alpha$ -pineno, 1,8-cineol, cânfora e verbenona, que são frequentemente descritos como sendo os constituintes majoritários dos óleos essenciais do alecrim (BOIX et al., 2010; PRINS, KAATZ e GIBBONS 2006; RIBEIRO et al., 2012; CHÁVEZ-GONZÁLEZ et al., 2016). De fato, identificamos na literatura estudos que atribuem os efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes a presença de 1,8-cineol (BAJALAN et al., 2017); cânfora (BAJALAN et al., 2017; BORGES et al., 2018) e  $\alpha$ -pineno (NAM et al., 2014; LIN et al., 2016; MEKONNEN et al., 2016). Sendo que o  $\alpha$ -pineno também foi relacionado a atividades antifúngicas (BAE et al., 2012) e antibacterianas (TAKAYAMA et al., 2016).

Por fim, inúmeros estudos atribuem as atividades antibacterianas, antioxidantes e anti-inflamatórias à composição química dos óleos essenciais (OJEDA-SANA et al., 2013), o que infere a importância desse trabalho e a possibilidade de desenvolvimento de novos produtos de origem renovável e sem adição de antioxidantes sintéticos.

## CONCLUSÃO

Compostos antioxidantes naturais são desejáveis e valiosos aditivos empregados em vários setores como indústria de cosméticos, farmacêutica, alimentos e combustíveis para a redução e prevenção da oxidação dos materiais. Ultimamente a atenção tem sido voltada ao uso de antioxidantes naturais, principalmente com o objetivo empregar substâncias naturais, não tóxicas e renováveis. O método proposto neste trabalho indica que a extração do óleo essencial com extrator Clevenger, por um período de duas horas, apresenta um bom rendimento de  $0,92 \pm 0,106$  %. Há atividade antioxidante no óleo extraído, uma vez que os valores de porcentagem de redução do radical DPPH para o óleo essencial de alecrim foi de 63,5 % e do Fluido Hidratante, que foi igual a 37%, valores semelhantes a outros estudos citados neste artigo.

Estudos posteriores avaliarão a concentração ideal do óleo essencial de alecrim em fluidos hidratantes corporais para atividade antioxidante, bem como avaliação do

tempo de conservação, estabilidade do creme, além de estudos voltados para ação conservante.

## REFERÊNCIAS

- ABELAN, U. S.; DE OLIVEIRA, A. C.; CACOCI, É. S. P.; MARTINS, T. E. A.; GIACON, V. M.; VELASCO, M. V. R.; LIMA, C. R. R. C. Potential use of essential oils in cosmetic and dermatological hair products: A review. **Journal Cosmet Dermatol**, v. 21, n. 4, p. 1407-1418, 2022.
- AEBISHER, D.; CICHONSKI, J.; SZPYRKA, E.; MASJONIS, S.; CHRZANOWSKI, G. Essential Oils of Seven Lamiaceae Plants and Their Antioxidant Capacity. **Molecules**, v. 26, n. 13, p. 37-93, 2021.
- ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M.; Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, p. 10-12, 2010.
- ANDRADE, J. M.; FAUSTINO, C.; LADEIRAS, D.; REIS, C. P.; RIJO, P. *Rosmarinus officinalis* L.: an update review of its phytochemistry and biological activity. **Future Science AO**, v. 4, n. 4, 2018.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**. 6. ed. Brasília: ANVISA, v. 1, P. 901, 2019.
- AZMIR, J.; ZAIDUL, ISM.; RAHMAN, MM.; SHARIF, KM.; MOHAMED, A.; SAHENA, F.; OMAR, AKM.; Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426-436, 2013.
- BAE, G.; PARK, K. C.; CHOI, S. B.; JO, I. J.; CHOI, M. O.; HONG, S.; PARK, S. J.; Protective effects of alpha-pinene in mice with cerulein-induced acute pancreatitis. **Life Sciences**, v. 91, n. 17/18, p. 866-871, 2012.
- BAJALAN, I.; ROUZBAHANI, R.; PIRBALOUTI, A. G.; MAGGI, F. Antioxidant and antibacterial activities of the essential oils obtained from seven Iranian populations of *Rosmarinus officinalis*. **Industrial Crops and Products**, v. 107, p. 305-311, 2017.
- BARBIERI, C.; BORSOTTO, P. Essential oils: market and legislation. **Potential of Essential Oils**, p. 107-127, 2018.
- BEGUM, A.; SANDHYA, S.; SHAFFATH ALI, S.; VINOD, KR.; REDDY, S. D. An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**, v. 12, n. 1, p. 61-73, 2013.
- BERETTA, G.; ARTALI, R.; FACINO, RM., GELMINI, F. An analytical and theoretical approach for the profiling of the antioxidant activity of essential oils: The case of *Rosmarinus officinalis* L. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, n. 5, p. 1255-1264, 2011.
- BIZZO, R.; REZENDE, M. C.; HOVELL, C. M. A. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.
- BOIX, Y. F.; VICTÓRIO, C. P.; LAGE, C. L. S.; KUSTER, R. M. Volatile compounds from *Rosmarinus officinalis* L. and *Baccharis dracunculifolia* DC. Growing in southeast coast of Brazil. **Química Nova**, v. 33, n. 2, p. 255-257, 2010.
- BORGES, R. S.; KEITA, H.; ORTIZ, B. L. S.; DOS SANTOS SAMPAIO, T. I. M.; LIMA, E. S.; CARVALHO, J. C. T. Anti-inflammatory activity of nanoemulsions of essential oil from *Rosmarinus officinalis* L.: in vitro and in zebrafish studies. **Inflammopharmacology**, v. 26, n. 4, p. 1057-1080, 2018.

BOUABID, K.; LAMCHOURI, F.; TOUFIK, M. E. A. Phytochemical investigation, in vitro and in vivo antioxidant properties of aqueous and organic extracts of toxic plant: *Atractylis gummifera* L. **Journal Ethnopharmacol**, v. 253, p. 112640, 2020.

BOZIN, B.; MIMICA-DUKIC, N.; SAMOJLIK, I.; JOVIN, E. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 55, n. 19, p. 7879-7885, 2007.

CHÁVEZ-GONZÁLEZ, M. L.; RODRÍGUEZ-HERRERA, R.; AGUILAR, C. N. Essential oils: A natural alternative to combat antibiotics resistance. Antibiotic Resistance. **Mechanisms and New Antimicrobial Approaches**, p. 227-237, 2016.

CUTRIM, E. S. M. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Rosmarinus officinalis* (Alecrim). **Revista Virtual de Química**. v. 11, n. 1, p. 60-81, 2019.

DENKOVA-KOSTOVA, R. TENEVA, D.; TOMOVA, T.; GORANOV, B.; DENKOVA, Z.; SHOPSKA, V.; SLAVCHEV, A.; HRISTOVA-IVANOVA, Y. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from tangerine (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.), lemon (*Citrus lemon* L.) and cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume). **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 76, n. 5-6, p. 175-185, 2020.

DORMAN, H. J. D.; PELTOKETO, A.; HILTUNEN, R. TIKKANEN, M. J. Caracterização das propriedades antioxidantes de extratos aquosos desodorizados de ervas Lamiaceae selecionadas. **Química Alimentar**. v. 83, p. 255-262, 2003.

EKLUND, P. C.; LANGVIK, O.; K.; WARNÅ, J. P.; SALMI, T. O.; WILFOR, S. M.; SJOHOLM, R. E. Chemical studies on antioxidant mechanisms and free radical scavenging properties of lignans. **Organic & Biomolecular Chemistry**. v. 3, n. 18, p. 3336-3347, 2005.

ELYEMNI, M.; LOUASTE, B.; NECHAD, I.; ELKAMLI, T.; BOUIA, A.; TALEB, M.; CHAUCH, M.; ELOUTASSI, N.; Extraction of Essential Oils of *Rosmarinus officinalis* L. by Two Different Methods: Hydrodistillation and Microwave Assisted Hydrodistillation. **Scientific World Journal**. 2019.

FERNANDO, D. M.; WIJESUNDERA, R. L.; SOYSA, P.; DE SILVA, D.; NANAYAKKARA, C. M. Antioxidant potential, in vitro cytotoxicity and apoptotic effect induced by crude organic extract of *Anthracyllum lateritium* against RD sarcoma cells. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, p. 398, 2015.

FREIRES, IA.; DENNY, C.; BENSO, B.; DE ALENCAR, SM.; ROSALEN, PL. Antibacterial Activity of Essential Oils and Their Isolated Constituents against Cariogenic Bacteria: A Systematic Review. **Molecules**. v. 20, n. 4, p. 7329-7358, 2015.

GENENA, A.; HENSE, H.; SMÂNIA, JR. A.; SOUZA, S. M. D. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*): a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 2, p. 463-469, 2008.

GONÇALVES, G. G. MANCINELLI, C. R.; MORAES, S. A. L. Influência do horário de corte no rendimento de óleo essencial de alfavaquinha e alecrim. **Embrapa, hortaliças brasileiras**. v. 27, n. 2, 2009.

GUPTA, A. NARANIWAL, M.; KOTHARI, V. Modern extraction methods for preparation of bioactive plant extracts. **International Journal of Applied and Natural Sciences**, v. 1, n. 1, p. 8-26, 2012.

HIRODART, M.; ROMBAUT, N.; FABIANO-TIXIER, AS.; BILY, A.; CHEMAT, F. Comparison between Pressurized Liquid Extraction and Conventional Soxhlet Extraction for Rosemary Antioxidants, Yield, Composition, and Environmental Footprint. **Foods**, v. 9, n. 5, p. 584-590, 2020.

- KADRI, A.; ZARAI, Z.; BEN CHONNA, I.; BÉKIR, A.; GHARSALLAH, N.; DAMAR.; GDOURA, R. Chemical constituents and antioxidant properties of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil cultivated from south-western Tunisia. **Journal of Medical Plants Research**, v. 5, n. 25, p. 5999–6004, 2011.
- KARAKAYA, S.; EL SN, KARAGOZLU, N.; SAHIN, S.; SAMNU, G.; BAYRAMOGLU, B. Microwave-assisted hydrodistillation of essential oil from rosemary. **Journal of Food and Sciences Technology**, v. 51, n. 6, p. 1056-65, 2014.
- LI, Y.; LIU, S.; ZHAO, C.; ZHANG, Z.; NIE, D.; TANG, W.; LI, Y. The Chemical Composition and Antibacterial and Antioxidant Activities of Five Citrus Essential Oils. **Molecules**, v. 27, n. 20, 2022.
- LIN, P. C.; LEE, J. J. CHANG, I. J. Essential oils from Taiwan: Chemical composition and antibacterial activity against *Escherichia coli*. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 24, n. 3, p. 464-470, 2016.
- LU, Y.; GUO, S.; ZHANG, F.; YAN, H.; QIAN, DW.; WANG, HQ.; JIN, L.; DUAN, JA.; Comparison of Functional Components and Antioxidant Activity of *Lycium barbarum* L. Fruits from Different Regions in China. **Molecules**, v. 24, n. 12, p. 22-28, 2019.
- MAGALHÃES, W. L. E.; MATOS, M.; LOURENÇON, T. V.; Metodologia científica: determinação da capacidade antioxidante de lignina pela captura do radical livre DPPH. Comunicado Técnico, 417. **Embrapa**. 2018.
- MARINHO, T. A.; OLIVEIRA, M. G.; MENEZES-FILHO, A. C. P.; CASTRO, C. F. S.; OLIVEIRA, I. M. M.; BORGES, L. L.; MELO-REIS, P. R.; SILVA-JR., N. J. Phytochemical characterization, and antioxidant and antibacterial activities of the hydroethanolic extract of *Anadenanthera peregrina* stem bark. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, 2021.
- MATA, A. T.; PROENÇA, C.; FERREIRA, A. R.; SERRALHEIRO, J. M. F.; ARAUJO, M. E. M. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. **Food Chemistry Lisbon**. v. 103, n. 3, p. 778-786, 2007.
- MEKONNEN, A.; YITAYEW, B.; TESEMA, A.; TADDESE, S.; In vitro antimicrobial activity of essential oil of *Thymus schimperi*, *Matricaria chamomilla*, *Eucalyptus globulus*, and *Rosmarinus officinalis*. **International Journal of Microbiology**. 2016.
- MELO, P. T. M.; RIBEIRO, J. M.; MEIRA, M. R.; FIGUEIREDO, L. S.; MARTINS, E. R.; Teor de óleo essencial de alecrim-pimenta em função do horário de colheita. **Ciencia Rural**, v. 41, n. 7, p. 1166-1169, 2011.
- MEZZA, G. N.; BORGARELLO, A. V.; GROSSO, N. R.; FERNANDEZ, H.; PRAMPARO, M. F.; Antioxidant activity of rosemary essential oil fractions obtained by molecular distillation and their effect on oxidative stability of sunflower oil. **Food Chemistry**, v. 242, p. 9-15, 2018.
- MUNTEANU, I. G.; APETREI, C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, p. 33-80, 2021.
- MWITHIGA, G.; MAINA, S.; GITARI, J.; MUTURI, P. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) growth rate, oil yield and oil quality under differing soil amendments. **Heliyon**. v. 8, n. 4, 2022.
- NAM, S. Y.; CHUNG, C. K.; SEO, J. H.; RAH, S. Y, KIM, H. M, JEONG, H. J. The therapeutic efficacy of  $\alpha$ -pinene in an experimental mouse model of allergic rhinitis. **International Immunopharmacol**, v. 23, n. 1, p. 273-82, 2014.
- NIETO, G.; R. O. S. G.; CASTILHO, J. Antioxidant and Antimicrobial Properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.): A Review. **Medicines (Basel)**. v. 5, n. 3, p. 98, 2018.
- OJEDA-SANA, A. M.; VAN BAREN, C. M.; ELECHOSA, M. A.; JUÁREZ, M. A, MORENO, S.; New insights into antibacterial and antioxidant activities of rosemary essential oils and their main components. **Food Control**. v. 31, n. 1, p. 189-195, 2013.

OKOH, O.; SADIMENKO, A. P.; AFOLAYAN, A. J. Comparative evaluation of the antibacterial activities of essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. **Food Chemistry**. v. 120, n. 308, 2010.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: estudo de revisão. **Revista brasileira de plantas medicinais**. v. 17, n. 1, p. 36-44, 2015.

OLIVEIRA, JR.; CAMARGO, S. E. A.; DE OLIVEIRA, L. D. *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. **Journal of Biomedical Science**, v. 26, n. 1, p. 5, 2019

PARCHETA, M.; SWISLOCKA, R.; ORZECZOWSKA, S.; AKIMOWICZ, M.; CHOINKA, R.; LEWANDOWSKI, W. Recent Developments in Effective Antioxidants: The Structure and Antioxidant Properties. **Materials (Basel)**, v. 14, n. 8, p. 19-84, 2021.

PINTORE, G.; MARCHETTI, M.; CHESSA, M.; SECHI, B.; SCANU, N.; MANGANO, G.; TIRILLINI, B. *Rosmarinus officinalis* L.: chemical modifications of the essential oil and evaluation of antioxidant and antimicrobial activity. **Nat Prod Commun**. v. 4, n. 12, p. 1685-1690, 2009.

PRINS, C. L.; LEMOS, C. S. L.; FREITAS, S. P. Efeito do tempo de extração sobre a composição e o rendimento do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 8, n. 4, p. 92-95, 2006

PROBST, I. S.; **Atividade antibacteriana de óleos essenciais e avaliação de potencial sinérgico**. Dissertação de Mestrado (Biologia Geral e Aplicada), Universidade Estadual Paulista, Brasil, 2012.

RADIVOJAC, A.; BERA, O.; ZEKOVIC, Z.; TESLIC, N.; MRKONJIC, Z.; BURSAC KOVACEVIC, D.; PUTNIK, P.; PAVLIC, B. Extraction of Peppermint Essential Oils and Lipophilic Compounds: Assessment of Process Kinetics and Environmental Impacts with Multiple Techniques. **Molecules**. v. 26, n. 10, p. 2879, 2021.

RADUNZ, M.; DA TRINDADE, M. L. M.; CAMARGO, T. M.; RADUNZ, A. L.; BORGES, C. D.; GANDRA, E. A.; HELBIG, E. Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (*Syzygium aromaticum*, L.) essential oil. **Food Chemistry**, v. 276, p. 180-186, 2019.

RAFIE, H.; SOHEILA, H.; GRANT, E.; *Rosmarinus officinalis* (rosemary): a novel therapeutic agent for antioxidant, antimicrobial, anticancer, antidiabetic, antidepressant, neuroprotective, anti-inflammatory and anti-obesity treatment. **Journal of Herbal Medicine**. v.3, n.2, 2017.

RAHBARDAR, G. M.; HOSSEINZADEH, H. Therapeutic effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its active constituents on nervous system disorders. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 23, n. 9, p. 1100-1112, 2020.

RASKOVIC, A.; MILANOVIC, I.; PAVLOVIC, N.; CEBOVIC, T.; VUKMIROVIC, S.; MIKOV, M. Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential. **BMC Complement Altern Med**. v.14, p.225, 2014.

RIBEIRO, S. M.; BONILLA, O. H.; LUCENA, E. M. P. Influência da sazonalidade e do ciclo circadiano no rendimento e composição química dos óleos essenciais de *Croton* spp. da Caatinga. **Iheringia, Série Botânica**. v. 73, n. 1, p. 31-38, 2018.

RIBEIRO, S. D.; MELO, D. B.; GUIMARÃES, A. G.; VELOZO, E. S. Avaliação do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) como modulador da resistência bacteriana. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 2, p. 687-695, 2012.

RODRIGUEZ-SOLANA, R.; SALGADO, J. DOMINGUEZ, J.; CORTÉS-DIÉGUES, S. Characterization of fennel extracts and quantification of estragole: Optimization and comparison of accelerated solvent extraction and Soxhlet techniques. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 528–536, 2014.

SACCHETTI, G.; MAIETTI, S.; MUZZOLI, M.; SCAGLIANTI, M.; MANDREDINI, S.; RADICE, M.; BRUNI, R. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. **Food Chemistry**, v. 91, n. 4, p. 621-632, 2005.

SANTOS, A. R.; INECCO, R. Efeitos de horários de colheita no teor e na composição do óleo essencial de erva-cidreira brasileira. *Boletim de pesquisa e desenvolvimento*. **Embrapa**. 2005.

SILVEIRA, A. C.; KASSUIA, Y. S.; DOMAHOVSKI, R. C.; LAZZAROTTO, M. Método de DPPH adaptado: uma ferramenta para analisar atividade antioxidante de polpa de frutos da erva-mate de forma rápida e reprodutível. Comunicado técnico 421. **EMBRAPA**. 2018.

SOUZA, A. L. C.; NASCIMENTO, C. M.; SANTOS, T. A.; SILVA, T. P. Produção de creme hidratante enriquecido com óleo essencial de alecrim obtido via extração enzimática fúngica. **Research, Society and Development**. v. 10, n. 16, 2021.

SOUZA, V. V. A. Extração do óleo essencial de alecrim-do-mato (*Lippia grata* Schauer – Verbenaceae). **Embrapa**. 2021.

SHARIFI-RAD, J.; SUREDA, A.; TENORE, G. C.; DAGLIA, M.; SHARIFI-RAD, M.; VALUSSI, M.; TUNDIS, R.; LOIZZO, M. R.; ADEMILUYI, A. O.; SHARIFI-RAD, R.; AYATOLLAHI, S. A.; IRITI, M. Biological Activities of Essential Oils: From Plant Chemoecology to Traditional Healing Systems. **Molecules**, v. 22, n. 1, p. 70-76, 2017.

SHARMEEN, J. B.; MAHOMOODALLY, F. M.; ZENGİN, G.; MAGGI, F. Essential Oils as Natural Sources of Fragrance Compounds for Cosmetics and Cosmeceuticals. **Molecules**, v. 26, n. 3, p. 666, 2021.

SILVEIRA, J. C.; BUSATO, N. V.; DA COSTA, A. O. S.; DA COSTA, E. J. F. Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 15, 2012.

SIRIVIBULKOVIT, K.; NOUANTHAVONG, S.; SAMEENOI, Y. Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis. **Analytical Sciences**, v. 34, n. 7, p. 795-800, 2018.

TAKAYAMA, C.; DE-FARIA, F.M.; DE ALMEIDA, A. C. A.; DUNDER, R. J.; MANZO, L. P.; SOCCA, E. A. R.; FERREIRA, L.A. A. 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**, v. 6, n. 8, p. 677-681, 2016.

VALKOVÁ, V.; DURANOVÁ, H.; GALOVICOVÁ, L.; VUKIC, M.; KACÁNIOVÁ, M. In Vitro Antimicrobial Activity of Lavender, Mint, and Rosemary Essential Oils and the Effect of Their Vapours on Growth of *Penillium* spp. in a Bread Model System. **Molecules**, v. 26, n. 13, p. 3859, 2021.

UMARU, IJ.; BADRUDDIN, FA.; UMARU, HA. Phytochemical Screening of Essential Oils and Antibacterial Activity and Antioxidant Properties of *Barringtonia asiatica* (L). **Leaf Extract**. 2019.

YANG, A. S.; JEON, S. K.; LEE, E. J.; SHIM, C. H.; LEE, I. S. Comparative study of the chemical composition and antioxidant activity of six essential oils and their components. **Natural Product Research**, v. 24, n. 2, p. 140-51, 2010.