



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

MONOGRAFIA

Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de orégano (*Origanum vulgare*),
pimenta rosa (*Schinus terebinthifolia*) e melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) frente aos
patógenos de origem alimentar

ESTERFANI PEREIRA DA SILVA

RECIFE - PE
FEVEREIRO DE 2024



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

Monografia

Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de orégano (*Origanum vulgare*),
pimenta rosa (*Schinus terebinthifolia*) e melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) frente aos
patógenos de origem alimentar

ESTERFANI PEREIRA DA SILVA

Graduanda

PROF^a. DR^a. LUCIANA FELIZARDO PEREIRA SOARES

Orientadora

Recife - PE
Fevereiro de 2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S586a Silva, Esterfani
Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de orégano (*Origanum vulgare*), pimenta rosa (*Schinus terebinthifolia*) e melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) frente aos patógenos de origem alimentar / Esterfani Silva. - 2024.
24 f. : il.
- Orientadora: Luciana Felizardo Pereira .
Inclui referências e apêndice(s).
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em Zootecnia, Recife, 2024.
1. aditivo natural . 2. alimentos . 3. ação antimicrobiana. 4. microrganismos. 5. saúde . I. , Luciana Felizardo Pereira, orient. II. Título

CDD 636



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

ESTERFANI PEREIRA DA SILVA
Graduanda

Monografia submetida ao Curso de Zootecnia como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Zootecnia.

Aprovado em 21/02/2024

EXAMINADORES

Prof^a. Dr^a. Luciana Felizardo Soares

Prof^a. Dr^a. Priscila Antão dos Santos

Dr^a. Amanda Rafaela Carneiro de Mesquita

Sumário

| | |
|----------------------------------------------------------------|----|
| RESUMO | 7 |
| ABSTRACT | 8 |
| INTRODUÇÃO | 9 |
| 1. REVISÃO DE LITERATURA | 10 |
| 1.1. Bactérias patogênicas de origem alimentar | 10 |
| 1.2. Óleos essenciais na qualidade microbiológica | 12 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS | 15 |
| 2.1. Óleos essenciais | 15 |
| 2.2. Inóculos utilizados | 15 |
| 2.3. Ativação das cepas | 15 |
| 2.4. Diluição seriada | 16 |
| 2.5. Determinação da CIM e CBM | 16 |
| 2.6. Análise estatística | 16 |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 16 |
| 4. CONCLUSÃO | 19 |
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 19 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1. Concentração inibitória mínima dos óleos essenciais e as cepas bacterianas | 09 |
| Tabela 2. Concentração bactericida mínima dos óleos essenciais e as cepas bacterianas..... | 10 |

RESUMO

Nos últimos anos a utilização dos aditivos sintéticos, para prevenir a deterioração dos microrganismos nos alimentos, tem sido um fator preocupante para a indústria alimentícia, visto seus impactos negativos sobre a saúde dos consumidores. Com o intuito de superar esse impasse, os óleos essenciais surgem como alternativa, contendo compostos e princípios ativos que inibem o desenvolvimento dos microrganismos. Sendo assim, objetivou-se avaliar a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) dos óleos essenciais de Melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), Orégano (*Origanum vulgare*) e Pimenta rosa (*Schinus terebinthifolia*) obtidos comercialmente. Para o estudo, foram utilizados isolados bacterianos na concentração de $3,5 \times 10^7$ UFC/ml (0.5 na escala Mc Farland) de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), e *Escherichia coli* (ATCC 25922) obtidos comercialmente da American Type Culture Collection. As placas incubadas foram analisadas visualmente para determinação da concentração inibitória mínima (CIM), nos poços em que foram observados inibição do crescimento bacteriano, 20 µL das suspensões foram coletados e semeados em placas com ágar Mueller-Hinton em estufa a 37°C por 24 horas, para análise do crescimento bacteriano e determinação da concentração bactericida mínima (CBM). Observou-se valores médios de CIM mediante aplicação dos óleos essenciais de orégano, de pimenta rosa e de melaleuca, 2500 µg/ml, de 650 µg/ml e de 500 µg/ml para as cepas de *E. coli*, respectivamente, enquanto que a concentração inibitória mínima dos tratamentos se equivaleram em 500 µg/ml para o grupo bacteriano de *S. aureus*. No que diz respeito a CBM, obteve-se as concentrações médias para os óleos essenciais de orégano, de pimenta rosa e de melaleuca, 2500 µg/ml, 625 µg/ml e 5000 µg/ml em frente as cepas de *E. coli* e 1250 µg/ml, 2500 µg/ml e 625 µg/ml para a bactérias gram-positivas *S. aureus*, respectivamente.

Palavras-chave: aditivo natural, alimentos, ação antimicrobiana, microrganismos, saúde

ABSTRACT

In recent years, the use of synthetic additives to prevent food spoilage by microorganisms has been a worrying factor for the food industry, given their negative impact on consumer health. In order to overcome this impasse, essential oils have emerged as an alternative, containing compounds and active principles that inhibit the development of microorganisms. The aim of this study was to evaluate the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the commercially obtained essential oils of Tea tree (*Melaleuca alternifolia*), Oregano (*Origanum vulgare*) and Pink pepper (*Schinus terebinthifolia*). For the study, bacterial isolates at a concentration of 3.5×10^7 CFU/ml (0.5 on the Mc Farland scale) of *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and *Escherichia coli* (ATCC 25922) obtained commercially from the American Type Culture Collection were used. The incubated plates were visually analyzed to determine the minimum inhibitory concentration (MIC). In the wells where inhibition of bacterial growth was observed, 20 μ L of the suspensions were collected and sown on Mueller-Hinton agar plates in an oven at 37°C for 24 hours to analyze bacterial growth and determine the minimum bactericidal concentration (MBC). The mean MIC values for oregano, pink pepper and tea tree essential oils were 2500 μ g/ml, 650 μ g/ml and 500 μ g/ml for the *E. coli* strains, respectively, while the minimum inhibitory concentration of the treatments was 500 μ g/ml for the *S. aureus* bacterial group. As far as CBM is concerned, the average concentrations for the essential oils of oregano, pink pepper and tea tree were 2500 μ g/ml, 625 μ g/ml and 5000 μ g/ml for the *E. coli* strains and 1250 μ g/ml, 2500 μ g/ml and 625 μ g/ml for the gram-positive bacteria *S. aureus*, respectively.

Keywords: natural additive, food, antimicrobial action, microorganisms, health

INTRODUÇÃO

A preocupação com a saúde e a busca por melhor qualidade de vida vem crescendo substancialmente no decorrer dos anos, esta escolha está associada, na maioria das vezes, a procura por hábitos alimentares mais saudáveis e produtos que permitam melhor beneficiamento nutricional para o consumidor (Almeida *et al.*, 2020). Todavia, é comum nos alimentos vendidos comercialmente a presença de conservantes, como por exemplo, o ácido benzóico e seus sais (Na^+ e K^+), nitritos e nitratos, que são substâncias que fazem parte dos aditivos amplamente utilizados pelas indústrias alimentícias, aplicadas intencionalmente nos produtos com o propósito de aumentar o tempo de vida útil. Entretanto, seu uso vem sendo questionado pela população por trazer malefícios à saúde como angioedema, vasculite, eczema e asma (Brito; Andrade, 2022). Nesta perspectiva, o uso de conservantes naturais, ricos em bioativos tem ganhado destaque entre os consumidores por não conter na sua fórmula compostos artificiais, sendo capaz de apresentar propriedades benéficas para o corpo (Silva *et al.*, 2021).

Os óleos essenciais (OEs) são compostos de composição química de elevada complexidade que garante proteção contra microrganismos fitopatogênicos, essas substâncias bioativas são responsáveis por provocar lesões na membrana plasmática lipídica das bactérias e modificações no metabolismo energético, inibindo a síntese de ácido nucleico dos agentes patógenos de origem alimentar levando a morte (Silva *et al.*, 2020; Contrucci *et al.*, 2019). Os conservantes naturais podem ter origem microbiana, vegetal e animal, sendo compostos conhecidos por apresentarem capacidade inibitória do crescimento ou desenvolvimento microbiano, que são os principais responsáveis pela deterioração dos alimentos, reduzindo seu tempo de vida de prateleira. Desta forma, os conservantes naturais funcionam como agentes antimicrobianos nos produtos alimentícios, contribuindo para uma alimentação mais segura e de qualidade (Barros *et al.*, 2020).

Os OEs são substâncias oriundas do metabolismo secundário das plantas, que podem ser extraídas das raízes, rizomas, cascas, ramos, folhas, botões, flores, frutos e sementes. De modo geral, na sua composição há presença de substâncias, que contêm ação antimicrobiana, como é o caso dos terpenos e seus derivados que incluem o carvona, carvacrol, eugenol, linalol, timol, alicina, sabineno, mentol, camphene, mirceno e terpineno, compostos bioativos produzidos por uma estrutura especializadas denominada de células parenquimáticas

diferenciadas, células epidérmicas e canais oleíferos que se encontram uniformemente distribuídos na totalidade da planta (Barros *et al.*, 2020; Bastian, 2022).

Nessa perspectiva, hipotetizou-se que a utilização dos OEs, como a Melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), Orégano (*Origanum vulgare*) e Pimenta rosa (*Schinus terebinthifolia*) devido as suas diversas propriedades apresentadas, possui ação bactericida e antimicrobiana frente as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Sendo assim, objetivou-se determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) dos respectivos óleos e seu potencial diante das cepas bacterianas estudadas.

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Bactérias patogênicas de origem alimentar

A contaminação da água e dos alimentos por bactérias é um fator preocupante ligada à saúde humana, por outro lado, a maior parte da população não compreende os riscos que envolve a ingestão de fontes contaminadas por *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, que podem acarretar em sérias consequências para o organismo, especialmente por fazerem parte da microbiota normal dos seres humanos, facilitando o processo de contaminação. Ademais, também é possível que o aumento exponencial de vendas e consumo de alimentos contribua elevando os índices de contaminação por microrganismos, favorecendo no surgimento de casos de intoxicação, infecção e mortalidade (Silva; Mendes, 2022; Junior *et al.*, 2019).

No período de 2003 a 2018 foram identificados no Brasil cerca de 10.898 surtos de doenças transmitidas por alimentos, em 2008 os maiores casos estavam associados a bactéria *Salmonella spp.*, em 2011 houve inversão do agente causador de contaminação via alimentos, ficando a bactéria *E. coli* entre a principal responsável, onde o local de possível contaminação era a própria residência dos doentes (BRASIL, 2022). O crescente aumento envolvendo *E. Coli* é de extrema importância para saúde pública, neste caso, é possível que tal problemática esteja atrelada a precariedade higiênica no cuidado dos alimentos durante o manuseio, fabricação e transporte elevando os riscos de propagação e infecção pela bactéria chegando até o consumidor final, acarretando em casos de toxinfecções (Pandolfi *et al.*, 2020).

A respeito da *E. Coli*, é um mesófilo típico, pertence à família Enterobacteriaceae, composta por bacilos gram-negativos, não esporogênico, anaeróbico facultativo com ótimo crescimento em temperaturas de 37°C, entretanto, pode se desenvolver em temperaturas de 7°C a 46°C, (Felix, 2023). Faz parte do grupo dos coliformes termotolerantes, comumente

encontrada habitando a microbiota intestinal de diversos animais de sangue quente (Favero, 2023; Brito *et al.*, 2020). A contaminação se dá através das mãos dos manipuladores não higienizadas, utensílios não desinfetados, interação de alimentos crus e cozidos e contaminação fecal (Maestri *et al.*, 2020).

Em contrapartida, *S. aureus* é uma bactéria gram-positiva que faz parte da família *Micrococcaceae*, é um dos principais patógenos que acometem os seres humanos e está presente em diversas áreas do corpo como pele e orofaringe (Ferreira, 2022), apresentam variação de formas, que vão desde vida livre e saprofíticas a formas patogênicas e parasitárias que se agrupam de modo irregular aparentando um “cacho de uva” (Aguilar, 2022; Medeiros, 2020). Além disso, são mesófilos, anaeróbicos facultativos, se desenvolvendo em ótimas condições cuja temperatura varie de 30° a 37°C, e caso entre em contato com o hospedeiro, produz enterotoxinas, desencadeando toxinfecções alimentar (Aragão; Trajano, 2021; Pineda, 2022).

Ademais, vários alimentos são relatados como principais meios veiculantes de patógenos ou toxinas de origem alimentar, em especial o leite e seus derivados (Sá, 2022). Entre os lácteos que merecem destaque está o queijo de coalho, alimento fresco de alta umidade que, devido suas características, além presença de nutrientes como gorduras e proteínas, torna-se altamente susceptível ao desenvolvimento de microrganismos caso manipulado e armazenado de forma inadequada (Saraiva *et al.*, 2023).

Em geral, os microrganismos encontrados em queijo de coalho produzido na ausência de Boas Práticas de Fabricação (BPF), ou seja, que não cumpre os critérios higiênico-sanitários de elaboração e manipulação, são os que se enquadram no grupo de coliformes totais e termotolerantes, como a *E. coli* e *S. aureus*, responsáveis pela maior parte dos surtos de doenças transmitidas por alimentos, estando entre os principais riscos à segurança alimentar, multiplicando-se rapidamente caso o alimento não esteja em condições adequadas de conservação e armazenamento, afetando as características físico-químicas levando a perdas nutricionais, além de ser perigoso para consumo humano podendo causar infecções (Felix, 2023; Souza, *et al.*, 2021).

A contaminação da matéria prima, neste caso do leite, pelas cepas bacterianas *S. Aureus* e *E. coli* podem ocorrer por diversos motivos, dentre os quais, a maioria envolve vacas leiteiras que apresentam infecção da glândula mamária, ausência de desinfecção dos tetos antes e depois da ordenha, falta de higiene do ordenhador, equipamentos de ordenha, baldes e tambores incorretamente higienizados, más condições de higiene do local de obtenção do leite e ineficácia do refrigeração do mesmo logo após a ordenha (Texeira; Figueiredo, 2019).

Tal problemática afeta negativamente a qualidade dos derivados lácteos, visto que, para ser considerado de qualidade deve apresentar contagem bacteriana total (CBT), composição química, organoléptica, microbiológica e contagem de células somáticas (CCS) que atendam os padrões exigidos pela legislação (Müller; Rempel, 2021). Dessa forma, para padronização e controle dos produtos lácteos foi elaborado a Instrução Normativa (IN) Nº 161/2022, que estabelece os parâmetros microbiológicos dos alimentos, entre eles do leite pasteurizado e derivados, determinando a tolerância máxima e os padrões mínimos que esses alimentos devem possuir para serem seguros (BRASIL, 2022).

Neste contexto, é imprescindível a realização rotineira de fiscalizações, assim como conscientização e treinamento de todos os trabalhadores envolvidos na cadeia produtiva, além da necessidade de maiores incentivos a pesquisa com o objetivo de tornar o Brasil um país de referência, não só na comercialização de produtos lácteos, mas também na segurança de sua produção (Leira *et al.*, 2018).

1.2. Óleos essenciais na qualidade microbiológica

Os condimentos ou especiarias são produtos que há milhares de anos têm sido amplamente utilizados nos alimentos para agregar aroma e sabor. Os egípcios, por exemplo, faziam o uso de certas especiarias no processo de embalsamamento dos corpos, por outro lado, alguns países o utilizavam com propósitos medicinais e, em locais onde o clima era quente e havia escassez de refrigeração, eram usufruídos para melhorar os aspectos sensoriais das carnes que necessitasse ficar armazenadas (Veloso *et al.*, 2022; Brito; Silva, 2022; Gottardo, 2021).

Os óleos voláteis ou óleos essenciais são substâncias aromáticas proveniente das plantas que podem ser obtidos mediante a técnicas de destilação a pressão reduzida, arraste a vapor, hidrodestilação, extração por solventes orgânicos, prensagem a frio, por fluido supercrítico, destilação a vapor ou pelo método de expressão dos pericarpos de frutos cítricos, métodos que se mal executados podem interferir na atividade antimicrobiana devido a redução dos compostos bioativos (Almeida *et al.*, 2020; Junior *et al.*, 2019). São formados essencialmente por mono e sesquiterpenos, fenilpropanoides e, predominantemente por um composto bioativo que normalmente é responsável por definir as propriedades biológicas dos óleos essenciais, todavia, a depender de fatores fisiológicos, como condição genética, condições externas como solo, clima cultivo, colheita e pós-colheita a quantidade e composição de OE podem variar (Barros *et al.*, 2020).

Inúmeras plantas são utilizadas para obtenção dos óleos essenciais com potencial antimicrobiano, como é o caso do alecrim (*Rosmarinus officinalis*); citronela (*Cymbopogon*

nardus); coentro (*Coriandrum sativum*); canela (*Cinnamomum zeylanicum*); cominho (*Cuminum cyminum*); cravo (*Eugenia caryophyllata*); gengibre (*Zingiber officinale*); manjeriço (*Ocimum basilicum*); hortelã (*Mentha piperita*); tomilho (*Thymus vulgaris*); orégano (*Origanum vulgare*); etc (Reis *et al.*, 2020; Gottardo, 2021). Além disso, a combinação entre óleos essenciais é uma alternativa viável, já que, a combinação entre duas ou mais espécies, favorecem o potencial de ação dos mesmos, sendo assim, a relação de sinergismo desencadeada resulta potencializando o efeito inibitório (Barros, 2022).

Apesar de seu efeito bactericida os OEs também possuem propriedades antifúngicas, inseticidas, anti-inflamatória, antiespasmódica e analgésica, além de ação carminativa, cardiovascular, secretolítica, irritante tópica ou revulsiva, podendo também, agir estimulando secreções do aparelho digestivo (Milagres, 2021; Santos *et al.*, 2020). Desta forma, devido a tantas propriedades benéficas, cerca de 3.000 OEs são conhecidos, entretanto, apenas 300 deles são comercialmente importantes, principalmente para as indústrias de alimentos, farmacêutica, agrônômica, cosmética e de produtos sanitários (Almeida *et al.*, 2020).

Ademais, o uso dos OEs se destaca como importante alternativa antimicrobiana e conservante natural dos alimentos, uma vez que, o uso indiscriminado de antimicrobianos sintéticos tem sido o principal agente colaborador para o aumento da resistência microbiana presente nos alimentos, inclusive, tal problemática já vem sendo observada nas bactérias, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Clostridium perfringens* perante a diferentes antibióticos de uso clínico como é o caso da bacitracina, ampicilina, cefalotina e cloranfenicol (Belem *et al.*, 2021; Souza *et al.*, 2022; Contrucci *et al.*, 2019; Queiroz *et al.*, 2023).

Os OE são quimicamente divididos em compostos terpênicos e aromáticos, resultando na combinação de hidrocarbonetos (terpenos, sesqui, mono e diterpenos), ácidos, ésteres, fenólicos, álcoois, epóxidos, sulfetos, aminas e cetonas, onde apenas um óleo pode possuir de 80 a 300 hidrocarbonetos diferentes (Gottardo, 2021). Também denominados de isoprenoides, os terpenoides são um grupo heterogêneo de terpenos formados por duplas ligações e seus derivados oxigenados. Também derivados do isopreno, os terpenos do OE são orgânicos devido as cinco unidades de carbono com uma dupla ligação. Sendo assim, os componentes presentes nos OEs, como é o caso dos terpenos e compostos aromáticos se relacionam, onde dois a três compostos predominam em maiores concentrações, diferente dos outros compostos que se encontram em minoria (Almeida, 2021).

Desta forma, a ação antimicrobiana dos OEs está relacionada com sua hidrofobicidade, permitindo sua interação com os compostos lipídicos que estão presentes nos envoltórios das

células bacterianas, colaborando no aumento da permeabilidade da membrana, responsável por atuar inibindo a respiração celular, assim como provocar o extravasamento de substâncias, principalmente de proteínas funcionais que atuam transportando moléculas de íons para dentro da célula, além de inibir a enzima ATPase, divisão celular e quorum sensing (responsável pela expressão dos fatores de virulência) (Cunha, 2019).

Com relação ao *Origanum vulgare* L. é uma erva aromática do gênero *Origanum* de habito perene e porte médio amplamente utilizada, cujo óleos voláteis mono e sesquiterpenóides representam 70% da totalidade do óleo. O OE de orégano também é constituído pelo monoterpene fenólico carvacrol, fitoconstituente predominante por apresentar 91,6% dos constituintes de ação antibacteriana (Leuthier *et al.*, 2021). O OE de orégano, a depender do cultivo e região geográfica, poderá apresentar 72% de carvacrol, 2% de timol, 4,5% de γ -terpineno, 4% p-cimeno e 4% de linalol (Reis *et al.*, 2020), compostos responsáveis por atuar inibindo crescimento de bactérias gram-negativas e gram-positivas (Costa; Ferreira, 2021).

Por outro lado, o OE de Melaleuca é uma espécie arbórea de origem australiana de grande importância medicinal devido a ação antimicrobiana que seu OE exerce sobre bactérias patogênicas. Sua composição caracteriza-se pela mistura de 97 compostos, sendo os principais constituintes relacionados a atividade bactericida e inibitória pertencentes a classe de substâncias cuja fórmula química denomina de terpenos, estando entre eles, o α -terpineno, α -pineno, α -terpineol, β -pineno, γ -terpineno, terpinen-4-ol, p-cimeno, 1,8-cineol e álcoois sesquiterpênicos, representando 90% do óleo (Cardoso, 2022).

Ainda a respeito dos OE, a pimenta rosa, conhecida popularmente como aroeira, pertence à família Anacardiaceae (Santos *et al.*, 2020), na composição dos seus OEs há presença de compostos químicos, como cetonas, álcoois, ácidos, sesquiterpenos (10s, 11s-Himachala-3(12),4-dieno, himachaleno, β -guaiano, 1H-Cicloprop(e)azuleno, cariofileno, (+) – Ciclosativeno e 4,4-Dimetil,-3-(3-methylbut-3-enylidene)-2-methylenebicyclo[4.1.0.]heptano); monoterpeneos (3-careno, β -pineno, p-Mentha-1,4(8)-dieno, 4(10)-tujen-3-ol,acetato, bornilacetato e pinano) e triterpenos, propriedades estas atribuídas a sua ação antimicrobiana (Figueiredo *et al.*, 2021).

Vários são os estudos realizados nos últimos anos que comprovam a eficácia dos óleos essenciais, que podem agir como bactericidas naturais e até mesmo como fungicidas nos alimentos (Embrapa, 2021; Oliveira *et al.*, 2022). Mais precisamente Reis *et al.* (2020), avaliando o OE de orégano encontrou resultados significativos quanto a sua eficiência contra as bactérias *S. aureus*, com efeito inibitório nas concentrações de 1,3-1,4% e CBM de 1,5%, e *E. coli* nas concentrações de 1,0% a 1,1% da CIM. Em contrapartida, Gioppo; Zancanaro;

Bellaver, (2019) analisando OE de melaleuca contra as bactérias *E. coli* e *Klebsiella pneumoniae* encontrou efeito inibitório na concentração de 0,25%. No entanto, Santos *et al.*, (2020), utilizando o OE de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius Raddi*) na concentração inibitória de 5%, confirmou sua ação contra as bactérias *S. aureus*.

Sendo assim, a utilização de produtos naturais que apresentem compostos antimicrobianos em sua composição tem se tornado uma proposta interessante, já que contribui com aumento do tempo de vida útil dos alimentos dispensando o uso de conservantes químicos que podem causar reações alérgicas, tóxicas e aumentar o risco de desenvolvimento de câncer, além de contribuir no aumento da resistência dos agentes microbianos por conta do uso constante nos alimentos (Vivian *et al.*, 2020; Veloso *et al.*, 2021; Costa; Ferreira, 2021).

2. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Microbiologia e Imunologia do Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE. Os procedimentos experimentais (ativação de cepas, diluição seriada e determinação da CIM e CBM) foram realizados de acordo com a metodologia descrita por Lima Filho; Cordeiro (2013).

2.1. Óleos essenciais

Nesta pesquisa foram escolhidos os óleos essenciais de orégano (*Origanum vulgare*), pimenta rosa (*Schinus terebinthifolia*) e melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), obtidos comercialmente levando-se em consideração a escolha dessas espécies devido a presença de compostos bioativos: terpenos, monoterpenos e sesquiterpenos, como mostra a literatura, e sua ampla atividade antibacteriana capaz de inibir o crescimento de bactérias gram-negativas e gram-positivas.

2.2. Inóculos utilizados

Utilizou-se isolados bacterianos na concentração de $3,5 \times 10^7$ UFC/ml (0.5 na escala Mc Farland) de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), e *Escherichia coli* (ATCC 25922) obtidos comercialmente da American Type Culture Collection.

2.3. Ativação das cepas

As culturas bacterianas, mantidas em geladeira, foram reativadas por incubação overnight em caldo enriquecido Mueller-Hinton para uso no experimento. Em seguida, as culturas bacterianas suspensas em caldo foram centrifugadas a 4.000 rpm por 10 minutos na

temperatura de 15°C e o precipitado foi suspenso em 5 ml de PBS, previamente aquecido em banho-maria na temperatura de 37 °C. A concentração bacteriana foi ajustada para $3,5 \times 10^7$ Unidades Formadoras de Colônias/ml (UFC/ml) (0,5 na escala Mc Farland).

2.4. Diluição seriada

Os óleos essenciais foram diluídos de forma seriada em 14 concentrações diferentes (10.000, 5.000, 2.500, 1.250 e de 1.000 µg/ml para 500, 250, 125, 62,5; 31,25; 15,62; 7,81; 3,90; 1,95 µg/ml) em dimetil sulfoxido (DMSO). Em seguida foram adicionados 100 µl dessas soluções em placas de 96 poços contendo 100 µl de caldo Mueller-Hinton e 5 µl de suspensão bacteriana. Cada teste foi realizado em triplicata e as placas foram incubadas em estufa, a 37° C durante 24 horas. Como controle experimental, foram utilizados poços apenas com caldo Mueller-Hinton, poços apenas com os óleos essenciais, poços com caldo Mueller-Hinton e suspensão bacteriana e poços com a suspensão bacteriana com Gentamicina 100 µg/ml.

2.5. Determinação da CIM e CBM

Após o tempo de incubação as placas foram analisadas visualmente para determinação da concentração inibitória mínima (CIM), sendo seu valor a menor concentração do produto natural (agente antimicrobiano) que inibiu visualmente o crescimento microbiano. Nos poços onde foram observados inibição do crescimento bacteriano, ou seja, cujo meio de cultura permaneceu não turvo (ausência de unidades formadoras de colônias ou crescimento inferior a 0,1% do inóculo inicial), 20 µL das suspensões foram coletados e semeados em placas com ágar Mueller-Hinton em estufa a 37°C por 24 horas, para análise do crescimento bacteriano e determinação da concentração bactericida mínima (CBM).

2.6. Análise estatística

Foi realizada análise estatística descritiva dos dados obtidos com propósito de auxiliar na descrição do fenômeno observado.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se valores médios de CIM (Tabela 1) mediante aplicação dos óleos essenciais de orégano, de pimenta rosa e de melaleuca, 2500 µg/ml, de 650 µg/ml e de 500 µg/ml para as cepas de *E. coli*, respectivamente, enquanto que a concentração inibitória mínima dos tratamentos se equivaleram em 500 µg/ml para o grupo bacteriano de *S. aureus*.

Tabela 1. Concentração inibitória mínima *in vitro* dos óleos essenciais e as cepas de bactérias.

| Óleo essencial | Concentração inibitória mínima (CIM) ($\mu\text{g/ml}$) ¹ | |
|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|------------------|
| | <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> |
| Orégano (<i>Origanum vulgare</i>) | 2500 | 500 |
| Pimenta rosa (<i>Schinus terebinthifolia</i>) | 625 | 500 |
| Melaleuca (<i>Melaleuca alternifolia</i>) | 500 | 500 |

¹Valores médios da triplicata de amostras.

O potencial inibitório *in vitro* dos óleos essenciais utilizados no presente trabalho deve-se provavelmente a presença de compostos bioativos, como os isômeros fenólicos carvacrol e timol, os quais são predominantes no extrato de orégano (Gomes *et al.*, 2019), pois apresentam propriedades antibacterianas por algumas hipóteses em seu mecanismo de ação: de interferência no transporte ativo pela presença do grupo funcional hidroxila, pelo vazamento de conteúdo celular por causa da permeabilidade facilitada e/ou inversão do gradiente de ATP intracelular e extracelular, o que pode gerar a apoptose bacteriana (Almeida, 2015; Kachur; Suntres, 2019). E, segundo o trabalho desenvolvido por Leuthier *et al.* (2021), o qual corrobora o efeito inibitório do óleo essencial de orégano, contudo com valores superiores de CIM 5000 $\mu\text{g/ml}$ para estes grupos patogênicos, ressalta-se neste presente estudo a possibilidade de utilização de concentrações menores, 2500 $\mu\text{g/ml}$ e 500 $\mu\text{g/ml}$, deste óleo como agente antibacteriano.

Avaliando o potencial antibacteriano dos óleos essenciais de pimenta rosa e melaleuca, foi observado que a CIM para o óleo essencial de pimenta rosa foi de 625 $\mu\text{g/ml}$ contra *E. coli* e 500 $\mu\text{g/ml}$ contra *S. aureus*, enquanto estudos anteriores divergem desses resultados, reportando CIMs variando de 27000 $\mu\text{g/ml}$ a 3375 $\mu\text{g/ml}$ para *S. aureus* multirresistentes (Teixeira *et al.* 2020). Em relação ao óleo essencial de melaleuca, a CIM foi consistente para ambas as espécies bacterianas, 500 $\mu\text{g/ml}$ (Tabela 1), corroborando-se com valores semelhantes de CIM (512 $\mu\text{g/ml}$) no trabalho de Sampaio *et al.* (2023). No entanto, divergências foram observadas em comparação aos resultados deste trabalho nos quais CIMs de 6,25 $\mu\text{g/ml}$ para *E. coli* foram relatadas por Oliveira *et al.* (2021), entende-se assim que há efetividade antimicrobiana desses extratos vegetais.

Pode-se, supor então que tais diferenças podem corresponder a variações nos métodos de obtenção dos óleos essenciais, influenciando na concentração dos compostos ativos como β -pineno, α -pineno, limoneno e mirceno (Figueiredo *et al.*, 2021), e também às diferentes abordagens metodológicas na determinação das concentrações, evidenciando a necessidade de padronização e rigor na condução desses estudos.

No que diz respeito a CBM (Tabela 2), obteve-se as concentrações médias para os óleos essenciais de orégano, de pimenta rosa e de melaleuca, 2500 µg/ml, 625 µg/ml e 5000 µg/ml em frente as cepas de *E. coli* e 1250 µg/ml, 2500 µg/ml e 625 µg/ml para a bactérias gram-positivas *S. aureus*, respectivamente.

Tabela 2. Concentração bactericida mínima *in vitro* dos óleos essenciais e as cepas de bactérias.

| Óleo essencial | Concentração bactericida mínima (CBM) (µg/ml) ¹ | |
|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|------------------|
| | <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> |
| Orégano (<i>Origanum vulgare</i>) | 2500 | 1250 |
| Pimenta rosa (<i>Schinus terebinthifolia</i>) | 625 | 2500 |
| Melaleuca (<i>Melaleuca alternifolia</i>) | 5000 | 625 |

¹Valores médios da triplicata de amostras.

Em relação a eficiência bactericida do óleo essencial de orégano foi maior sobre as cepas de *S. aureus*, provavelmente por sua composição estrutural de parede celular com a camada espessa de peptídeoglicano e membrana plasmática em contraste a *E. coli* por possuir uma bicamada lipídica externa além da mureína e da plaslema (De Andrade; Da Costa Darini, 2020; Filipa, 2022), sendo favorecido a atuação dos compostos fenólicos presentes no óleo que causam a ruptura e extravasamento do meio intracelular (Santos *et al.*, 2020) ocasionando a letalidade da célula bacteriana. Singularmente, um estudo de Vivian *et al.* (2020) observou que concentrações de 125 µg/ml e 62,5 µg/ml de óleo essencial de orégano demonstraram atividade bactericida contra estas cepas respectivamente.

Os resultados referentes à CBM do óleo essencial de pimenta rosa indicaram valores de 625 µg/ml para *E. coli* e 2500 µg/ml para *S. aureus* (Tabela 2). Em contraste, Teixeira *et al.* (2020) reportaram uma ampla variação de 27000 µg/ml a 3375 µg/ml para alcançar a CBM em *S. aureus* multirresistentes. Essa disparidade pode ser atribuída à diferença nas cepas bacterianas utilizadas, uma vez que Teixeira *et al.* (2020) empregaram cepas resistentes a vários antibióticos, obtidas em laboratório, enquanto neste estudo foram utilizadas cepas padrão da espécie.

Quanto ao óleo essencial de melaleuca, foram obtidos valores de CBM de 5000 µg/ml para *E. coli* e 625 µg/ml para *S. aureus*. Curiosamente, o maior valor médio encontrado nesse trabalho para o efeito bactericida mínimo foi do óleo essencial de melaleuca frente a bactéria gram-negativa *E. coli* (5000 µg/ml), cerca de 8x menos efetivo em relação a *S. aureus* quando comparado aos achados na literatura (Hall *et al.* 2020; Oliva *et al.*, 2018; Oliveira, 2021),

embora o efeito bactericida seja existente tanto para as gram-positivas e negativas (Favero, 2023).

Diante do comportamento supracitado de dosagens maiores para o CBM (Tabela 2), pode-se justificar a necessidade de uma maior CBM para *E. coli* (bactéria gram-negativa) em relação a *S. aureus* (bactéria gram-positiva) devido a diferenças celulares estruturais entre os dois grupos de bactérias, onde as gram-positivas possuem uma parede celular com um arranjo molecular que permite que moléculas hidrofóbicas ultrapassem sua membrana, agindo tanto na parede quanto no citoplasma celular, de modo que os compostos fenólicos, comumente encontrados nos óleos essenciais, exerçam sua função bactericida (Vaz, 2021).

Portanto, as discrepâncias entre os resultados deste estudo e os da literatura podem ser atribuídas a uma série de fatores, como variações no tipo de solo, clima, práticas de manejo, irrigação e outras técnicas agrícolas, que podem influenciar na composição química dos óleos essenciais e, conseqüentemente, na eficácia de sua ação bactericida (Gomes et al., 2019). Apesar dessas nuances, o trabalho demonstrou efetividade bacteriostática e bactericida *in vitro* frente aos grupos bacterianos oportunizando o uso de conservantes na indústria alimentícia.

4. CONCLUSÃO

Os compostos bioativos presente nos óleos essências de Melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), Orégano (*Origanum vulgare*) e Pimenta rosa (*Schinus terebinthifolia*) apresentaram efeito inibitório e bactericida contra as bactérias *E. coli* e *S. aureus*, sendo uma alternativa viável em substituição dos aditivos químicos/sintéticos tradicionalmente utilizados na alimentação humana.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, F. **Presença De Staphylococcus Aureus Resistentes À Meticilina (MRSA) Em Queijos De Coalho Produzidos No Estado Do Ceará E Seu Perfil De Resistência E Genes De Virulência.** Universidade Federal do Ceará: [s.n.], 2022. Disponível em: <<https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/65022>>. Acesso em: 6 fev. 2024.

ALMEIDA, R. R. **Mecanismos de ação dos monoterpenos aromáticos: timol e carvacrol.** Trabalho de Conclusão de Curso—UFSJ: Minas Gerais, 2015.

ALMEIDA, J. **Estudo Da Ação Antimicrobiana De Óleos Essenciais Livres E Encapsulados Frente a Cepas Bacterianas Contaminantes De Alimentos.** Universidade Estadual de Campinas: [s.n.], 2021. Disponível em:

<https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UNICAMP-30_76a1d3a30732e4dcd1f0c78c25f8724b>.
Acesso em: 7 fev. 2024.

ALMEIDA, J *et al.* Potencial Antimicrobiano De Óleos Essenciais: Uma Revisão De Literatura De 2005 a 2018 – Nutritime. **Nutritime.com.br**, 2020. p. 11. Disponível em: <<https://www.nutritime.com.br/artigos/artigo-506-potencial-antimicrobiano-de-oleos-essenciais-uma-revisao-de-literatura-de-2005-a-2018/>>. Acesso em: 5 ago. 2023.

ANDRADE; DARINE. **Mecanismos de resistência bacteriana aos antibióticos**. 2020.

ARAGÃO, B.; TRAJANO. S. Staphylococcus aureus, um perigo oculto em queijo de coalho caprino: uma revisão [S.l.]: Editora Científica Digital eBooks, 2021, p. 399–414.

BARROS, A. L. **Efeito Sinérgico Do Óleo De Copaifera Langsdorfii Com Óleos Essenciais Para Atividade anti-inflamatória**. Universidade Federal do Maranhão: UFMA, 2022. Disponível em: <<https://monografias.ufma.br/jspui/handle/123456789/6294>>. Acesso em: 18 jan. 2024.

BARROS, D. *et al.* Potencial Utilização De Sistemas Antimicrobianos Naturais Como Conservantes Alimentares. **Brazilian Journal of Development**, 1 jan. 2020. v. 6, n. 6, p. 40476–40491. Disponível em: <<https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/12158>>. Acesso em: 6 fev. 2024.

BASTIAN, L. **Óleos Essenciais Como Conservante De alimentos: Uma Breve Revisão Bibliográfica**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2022. Disponível em: <<http://repositorio.utfpr.edu.br:8080/jspui/handle/1/30403>>. Acesso em: 6 fev. 2024.

BELÉM, G. *et al.* Plantas Do Cerrado Com Atividade antimicrobiana: Uma Revisão Sistemática Da Literatura. **Research, Society and Development**, 4 dez. 2021. v. 10, n. 16, p. e07101622753-e07101622753. Disponível em: <<https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/52125>>. Acesso em: 6 fev. 2024.

BRASIL, Ministério Da Saúde, Secretaria De Vigilância Em Saúde. Doenças Transmitidas Por Alimentos. **www.gov.br**, 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/m/meningite/publicacoes/boletim-epidemiologico-numero-especial.pdf/view>>. Acesso em: 16 jul. 2023.

BRASIL. **Ministério Da Saúde -MS Agência Nacional De Vigilância Sanitária -ANVISA**. Disponível em: <https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/IN_161_2022_.pdf/b08d70cb-add6-47e3-a5d3-fa317c2d54b2>.

BRITO, A.; SILVA, C. Atividade Antimicrobiana De Extratos Vegetais De Especiarias Do Norte Do Brasil. **Research, Society and Development**, 4 fev. 2022. v. 11, n. 2, p. e52011226047-e52011226047. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/26047>>. Acesso em: 7 fev. 2024.

BRITO, L. *et al.* Atividade Antagonista in Vitro De Bactérias Ácido Láticas Isoladas De Queijo De Coalho Artesanal Do Sertão Paraibano Frente a Microrganismos Indicadores. **Semina: Ciências Biológicas E Da Saúde**, 21 nov. 2020. v. 41, n. 2Supl, p. 275–282. Disponível em:

<<https://ojs.uel.br/revistas/uel/index.php/seminabio/article/view/37212>>. Acesso em: 6 fev. 2024.

CUNHA, K. F. Potencial antibacteriano do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel e desenvolvimento de filmes ativos para aplicação em alimentos. **Ufpel.edu.br**, 2019. Disponível em: <<https://guaiaca.ufpel.edu.br/handle/prefix/4744>>. Acesso em: 14 fev. 2024.

CARDOSO, L. A. Revisão bibliográfica sobre a atividade antimicrobiana in vitro e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) do extrato de *Melaleuca alternifolia* e de *Zingiber officinale* frente as cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*. **Repositorio.ufu.br**, 2022. Disponível em: <<https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/36099>>. Acesso em: 23 jan. 2024.

CONTRUCCI, B. *et al.* Efeito De Óleos Essenciais Sobre Bactérias Gram-Negativas Isoladas De Alimentos. **Ensaio E Ciência**, 18 dez. 2019. v. 23, n. 3, p. 180–180. Disponível em: <<https://ensaioseciencia.pgsscogna.com.br/ensaioeciencia/article/view/7050>>. Acesso em: 25 jan. 2024.

COSTA, A.; FERREIRA, L. Potencial Antimicrobiano Do Óleo Essencial De Orégano (*Origanum Vulgare* L.) E Sua Aplicação Em Alimentos. **Sp.gov.br**, 2021. Disponível em: <<https://ric.cps.sp.gov.br/handle/123456789/7502>>. Acesso em: 7 fev. 2024.

FILHO, J.; CORDEIRO, R. In Vitro and in Vivo Antibacterial and Antifungal Screening of Natural Plant Products: Prospective Standardization of Basic Methods. **Methods and Techniques in Ethnobiology and Ethnoecology**. [S.l.]: Springer Protocols, 2013, p. 275–291.

FERREIRA, W. **Atividade Do Óleo Essencial Das Folhas De *Syzygium Cumini* (L.) Skeels Frente Bactérias Multirresistentes**. UFPE: [s.n.], 2022. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/50424#:~:text=O%20C3%B3leo%20essenci%20de%20Syzygium,coli.>>. Acesso em: 14 fev. 2024.

FELIX, M. **Ocorrência De *Escherichia Coli* Em Queijo Coalho Obtido Por Processo Industrial**. UFPB: Universidade Federal da Paraíba, 2023. Disponível em: <<https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/28231>>. Acesso em: 18 jan. 2024.

FAVERO, A. **Avaliação do potencial antibacteriano do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* e associação sinérgica ciprofloxacino**. Dissertação (Programa de pós-graduação em saúde, bem-estar e produção animal sustentável na fronteira sul) – UFFS: Realeza/PR, 2023.

FILIPA, G. Noções básicas de bacteriologia. *In: Manual da associação portuguesa de farmacêuticos hospitalares sobre antimicrobianos*. Coimbra: APFH, 2022.

FIGUEIREDO, Y. *et al.* Análise Comparativa Do Perfil De Compostos Orgânicos Voláteis De Pimenta Rosa E De Aroeira Do Sertão. **CIS - Conjecturas Inter Studies**, 1 jan. 2021. v. 20, n. 1. Disponível em: <<https://conjecturas.org/index.php/edicoes/article/view/61>>. Acesso em: 7 fev. 2024.

FAVERO, A. Avaliação do potencial antibacteriano do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* e associação sinérgica ciprofloxacino. **Uffs.edu.br**, 17 abr. 2023. Disponível em: <<https://rd.uffs.edu.br/handle/prefix/6624>>. Acesso em: 14 fev. 2024.

GIOPPO, A. *et al.* Atividade Antibacteriana Do Óleo Essencial De Melaleuca Alternifolia Frente a Isolados Multirresistentes Produtores De ESBL E KPC Causadores De Infecções Hospitalares. **Biotemas**, jun. 26DC. v. 32, n. 3, p. 35–42. Disponível em: <<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7125306>>. Acesso em: 14 nov. 2023.

GOMES, R. *et al.* Estudo Da Composição Química E Aplicação Do Óleo Essencial Origanum Vulgare L Como Agente Antibacteriano Em Sururu (Mytella charruana) in Natura. **Revista Virtual De Química**, 2019. v. 11, n. 6. Disponível em: <<https://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/view/3136>>. Acesso em: 23 jan. 2024.

GOTTARDO, F. Microencapsulação De Óleos Essenciais De Orégano E Canela Combinados Com Açã Sobre Listeria Monocytogenes Em Produto Carne. **Tede.upf.br**, 2021a. Disponível em: <<http://tede.upf.br/jspui/handle/tede/2060#preview-link0>>. Acesso em: 7 fev. 2024.

HALL, M. C. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais Nerol e Melaleuca puros e microencapsulados. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 3, p. 5331–5345, 2020.

JUNIOR, F. *et al.* Fatores Que Propiciam O Desenvolvimento De Staphylococcus Aureus Em Alimentos E Riscos Atrelados a contaminação: Uma Breve Revisão. **Revista De Ciências Médicas E Biológicas**, 3 jul. 2019. v. 18, n. 1, p. 89–89. Disponível em: <<https://periodicos.ufba.br/index.php/cmbio/article/view/25215>>. Acesso em: 6 fev. 2024.

KACHUR, K.; SUNTRES, Z. The antibacterial properties of phenolic isomers, carvacrol and thymol. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 18, p. 1–12, 16 out. 2019.

L, P. A. *et al.* Avaliação in vitro de atividade antimicrobiana de óleos essenciais contra Salmonella typhimurium e Staphylococcus aureus. **Embrapa.br**, 2021. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1137345>>. Acesso em: 30 jul. 2023.

LEIRA, M. *et al.* Fatores que alteram a produção e a qualidade do leite: Revisão. **Pubvet**, [S. l.], v. 12, n. 05, 2018. DOI: 10.22256/pubvet. V. 12n5a85.1-13. Disponível em: <http://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/1124>. Acesso em: 22 fev. 2024.

LEUTHIER, L. *et al.* Efeito Do Óleo Essencial De Origanum Vulgare L. E Do Carvacrol No Crescimento De Bactérias Patogênicas Da Orofaringe. **Research, Society and Development**, 23 jan. 2021. v. 10, n. 1, p. e45210111754-e45210111754. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/11754>>. Acesso em: 25 jan. 2024.

MAESTRI, G. *et al.* Quantificação De Staphylococcus aureus, Escherichia Coli E Mecanismos De Resistência Nas Mãos De Manipuladores De Alimentos Em UANS Hospitalares Em SC. **Disciplinarum Scientia | Saúde**, 2020. v. 21, n. 1, p. 91–105. Disponível em: <<https://periodicos.ufn.edu.br/index.php/disciplinarumS/article/view/3062>>. Acesso em: 6 fev. 2024.

MEDEIROS, J. **Incidência Do Staphylococcus Aureus Na Produção Do Queijo De Coalho Artesanal E Qualidade De Novas Formulações**. Universidade Federal Rural do Semi-árido: Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2020. Disponível em: <<https://repositorio.ufersa.edu.br/items/92f02ea4-0c3b-4d25-aba2-6a970de3d17f>>. Acesso em: 6 fev. 2024.

MILAGRES, J. Estudo da ação antimicrobiana de óleos essenciais livres e encapsulados frente a cepas bacterianas contaminantes de alimentos. **Unicamp.br**, 2021. Disponível em: <<https://www.repositorio.unicamp.br/acervo/detalhe/1267466>>. Acesso em: 7 fev. 2024.

MÜLLER, T.; REMPEL, C. Qualidade Do Leite Bovino Produzido No Brasil – Parâmetros físico-químicos E microbiológicos: Uma Revisão Integrativa. **DOAJ (DOAJ: Directory of Open Access Journals)**, 31 ago. 2021. v. 9, n. 3, p. 122–129. Disponível em: <<https://visaemdebate.incqs.fiocruz.br/index.php/visaemdebate/article/view/1738>>. Acesso em: 6 fev. 2024.

OLIVA, A. *et al.* High Potency of *Melaleuca alternifolia* Essential Oil against Multi-Drug Resistant Gram-Negative Bacteria and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Molecules**, v. 23, n. 10, p. 2584, 2018.

OLIVEIRA, A. *et al.* Atividade Antimicrobiana De Óleos Essenciais Frente a Bactérias Patogênicas De Importância Clínica. **Research, Society and Development**, 12 out. 2022. v. 11, n. 13, p. e448111335639-e448111335639. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/35639>>. Acesso em: 10 jul. 2023.

OLIVEIRA, B. **Uso Intramamário De Óleo Essencial De Melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) Em Vacas Bovinas E Bubalinas Leiteiras**. Pontifícia universidade catolica do Paraná: [s.n.], 2021. Disponível em: <https://sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/trabalhoConclusao/viewTrabalhoConclusao.jsf?popup=true&id_trabalho=11354989>. Acesso em: 23 jan. 2024.

PANDOLFI, A. *et al.* Segurança Alimentar E Serviços De alimentação-revisão De Literatura. **Brazilian Journal of Development**, 1 jan. 2020. v. 6, n. 7, p. 42237–42246. Disponível em: <<https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/12477>>. Acesso em: 6 fev. 2024.

PINEDA, A. **Caracterização Molecular De Staphylococcus Aureus Isolados De Queijos Artesanais Da Serra Da Canastra**. Universidade de São Paulo: [s.n.], 2022. Disponível em: <<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9131/tde-13102022-150737/pt-br.php>>. Acesso em: 6 fev. 2024.

QUEIROZ, L. *et al.* Ação Antibacteriana Do Óleo Essencial De Origanum vulgare: Uma Revisão De Literatura. **Research, Society and Development**, 21 jan. 2023. v. 12, n. 2, p. e9612239745-e9612239745. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/39745>>. Acesso em: 7 fev. 2024.

REIS, J. *et al.* Avaliação Da Atividade Antimicrobiana Dos Óleos Essenciais Contra Patógenos Alimentares. **Brazilian Journal of Health Review**, 2020. v. 3, n. 1, p. 342–363. Disponível em: <<https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/6223>>. Acesso em: 27 fev. 2023.

SÁ. **Avaliação Microbiológica De Queijos Frescos Não Inspeccionados Produzidos E Comercializados Informalmente Em Botucatu E Pardinho, Estado De São Paulo**. UNESP: Universidade Estadual Paulista (Unesp), 2022. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/items/81858892-4116-406e-93f3-9900db90d29b/full>>. Acesso em: 14 nov. 2023.

SAMPAIO, L. *et al.* Avaliação Da Atividade Antimicrobiana E Antiaderente Do Óleo Essencial De Melaleuca Alternifolia Contra Cepa De Staphylococcus Saprophyticus. **Revista Colombiana De Ciências Químico-Farmacéuticas**, 2023. v. 52, n. 2. Disponível em: <<https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/100718>>. Acesso em: 23 jan. 2024.

SANTOS, J. *et al.* Avaliação Da Atividade Bactericida E Antioxidante Do Óleo Essencial E Do Extrato Hidroalcoólico De Orégano (Origanum vulgare). **Research, Society and Development**, 18 out. 2020. v. 9, n. 10, p. e7829108410-e7829108410. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/8410>>. Acesso em: 7 fev. 2024.

SARAIVA. *et al.* O Controle De Qualidade Na Produção De Queijo De Coalho No Brasil: Uma Revisão. **Research, Society and Development**, 2 mar. 2023. v. 12, n. 3, p. e13412340534-e13412340534. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/40534>>. Acesso em: 6 fev. 2024.

SILVA, G.; MENDES, P. Características E Prevenção Da Contaminação Escherichia Coli. **Revista Científica e-Locução**, 19 dez. 2022. v. 1, n. 22, p. 17–17. Disponível em: <<https://periodicos.faex.edu.br/index.php/e-Locucaao/article/view/503>>. Acesso em: 6 fev. 2024.

SILVA, L. *et al.* Análise in Vitro Da Atividade Antimicrobiana Do Extrato De Vaccinium macrocarpon(Cranberry) E Óleo Essencial De Origanum Vulgare (Orégano) Frente À Cepa De Escherichia Coli. **Brazilian Journal of Development**, 1 jan. 2020. v. 6, n. 9, p. 70057–70069. Disponível em: <<https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/16893>>. Acesso em: 25 jan. 2024.

SILVA. *et al.* Uso De Conservantes Naturais Em Alimentos: Um Referencial Teórico. **Ciência E Tecnologia Dos Alimentos: Pesquisa E Práticas Contemporâneas**. Guarujá (SP): Editora Científica Digital, 2021, p. 775–786.

SOUZA, J. *et al.* Resistência Bacteriana Aos Antibióticos. **Revista JRG De Estudos Acadêmicos**, 2022. v. 5, n. 10, p. 281–293. Disponível em: <<https://revistajrg.com/index.php/jrg/article/view/364>>. Acesso em: 6 fev. 2024.

SOUZA, K. *et al.* Qualidade higiênico-sanitária De Alimentos Consumidos Em Embarcações Fluviais No Amazonas. **Research, Society and Development**, 4 ago. 2021. v. 10, n. 10, p. e18101016569-e18101016569. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/16569>>. Acesso em: 6 fev. 2024.

TEIXEIRA, J. *et al.* Análise Antimicrobiana Dos Óleos Essenciais De Palmarosa (Cymbopogon Martini (Roxb.) J.F.Watson) E Pimenta Rosa (Schinus Terebenthifolius Raddi) Frente À Staphylococcus S Aureus Multirresistentes. **Brazilian Journal of Development**, 1 jan. 2020. v. 6, n. 6, p. 34935–34953. Disponível em: <<https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/11224>>. Acesso em: 22 jan. 2024.

TEIXEIRA, C.; FIGUEIREDO, M. QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE BOVINO NO BRASIL ASSOCIADA a Staphylococcus aureus. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, 31 dez. 2018. v. 6, n. 1, p. 196–196. Disponível em:

<<https://periodicos.uem.br/ojs/index.php/RevCiVet/article/view/41172>>. Acesso em: 18 jan. 2024.

VAZ, M. **Fibras Ultrafinas Produzidas a Partir De Poli (ácido láctico), Lignina E Óleo Essencial De Pimenta Rosa (Schinus Terebinthifolius Raddi) Sobrepostas Em Filmes De Amido Para Aplicação Em Embalagens De Alimentos**. Universidade Federal de Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2021. Disponível em: <<https://guaiaca.ufpel.edu.br/handle/prefix/8000>>. Acesso em: 8 fev. 2024.

VELOSO, R. *et al.* Aspectos Microbiológicos Das Especiarias Comercializadas Na Região Metropolitana Do Recife/PE. **Conjeturas**, 11 maio. 2022. v. 22, n. 5, p. 397–410. Disponível em: <<https://www.conjeturas.org/index.php/edicoes/article/view/967>>. Acesso em: 7 fev. 2024.

VIVIAN, P. *et al.* Atividade Antibacteriana De Óleos Essenciais De Origanum Vulgare (orégano)eOcimum basilicum(manjericão) E Sua Aplicação Em Massa Para Embutido Carne. **Brazilian Journal of Development**, 1 jan. 2020. v. 6, n. 8, p. 62143–62156. Disponível em: <<https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/15612>>. Acesso em: 22 jan. 2024.