

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *ANIBA DUCKEI*EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF *ANIBA DUCKEI* ESSENTIAL OIL

GOMES, Paulo Roberto Barros^{1*}; SOUZA, Rômicy Dermondes²; LOUZEIRO, Hilton Costa³; MARINHO, Silvio Carvalho⁴; MOUCHREK FILHO, Victor Elias⁴.

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará. Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão. Brasil

² Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Brasil

³ Universidade Federal do Maranhão. Departamento de Farmácia. Brasil

⁴ Universidade Federal do Maranhão, Departamento de Tecnologia Química. Brasil

*Autor correspondente

e-mail: prbgomes@yahoo.com.br

Received 12 May 2022; received in revised form 29 June 2022; accepted 05 July 2022

RESUMO

Introdução: Os medicamentos normalmente utilizados no combate de bactérias patogênicas alimentares apresentam algumas limitações, como acúmulos de resíduos no meio ambiente e resistência bacteriana. Visto este problema, tratamentos alternativos, como efeitos colaterais na saúde humana, uso de óleos essenciais, vem sendo investigado. Óleos essenciais contendo linalol geralmente apresentam alta atividade biológica, apesar disso, poucas investigações foram dedicadas à atividade biológica do óleo essencial de *Aniba duckei*, que tem como componente majoritário o linalol. **Objetivo:** Neste trabalho, investigou-se a composição química e a atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *Aniba duckei* obtido por hidrodestilação. **Métodos:** As folhas e galhos da espécie *Aniba duckei* foram coletadas no cidade de Manaus, no estado de Amazonas, Brasil, no período da manhã. O óleo essencial foi obtido pelo método de hidrodestilação e a caracterização foi realizada por cromatografia gasosa CG/EM para identificação dos componentes majoritário presente. Após a extração e identificação, o do óleo essencial foi testado quanto a atividade biológica utilizado o método de Bauer Kirby. As cepas testadas foram *Aeromonas caviae*, *Aeromonas hydrophila*, *Enterococcus faecalis* e *Klebsiella pneumoniae*. **Resultados e Discussão:** Os achados mostram que o componente majoritário do óleo essencial de *Aniba duckei* é o linalol. Os componentes secundários de maior relevância são o α -terpineol, α -copaeno e α -guaieano. Quanto a sua atividade biológica, observou-se que o óleo apresentou halos de inibição variando de 10-22 mm, indicando atividade forte contra os microorganismos testados. **Conclusão:** O óleo essencial de *Aniba duckei* apresenta potencial para aplicação como agente antimicrobiano.

Palavras-chave: Linalol, Hidrodestilação, Compostos Voláteis, *Aniba duckei*, Bactérias.

ABSTRACT

Background: The drugs normally used to combat food pathogens have some limitations, such as waste accumulation in the environment and bacterial resistance. Given this problem, alternative treatments, such as the use of essential oils, have been investigated. Essential oils containing linalool usually have high biological activity, despite this, few investigations have been dedicated to the biological activity of the essential oil of *Aniba duckei*, which has as major component linalool. **Aim:** In this work, we investigate the chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of the leaves of *Aniba duckei* obtained by hydrodistillation. **Methods:** The leaves and branches of the species *Aniba duckei* were collected in the state of Amazonas, Brazil, in the morning. The essential oil was obtained by the hydrodistillation method and characterized by GC/MS gas chromatography to identify the major components present in the oil. Soon after, the biological activity of the essential oil was tested using the Bauer Kirby method. The strains tested were *Aeromonas caviae*, *Aeromonas hydrophila*, *Enterococcus faecalis* and *Klebsiella pneumoniae*. **Results and Discussion:** The findings show that the major component of the oil is linalool. The most relevant secondary components are α -terpineol, α -copaene and α -guaieano. As for biological activity, it was observed that the oil showed inhibition halos ranging from 10-22 mm, indicating strong activity against the microorganisms tested. **Conclusions:** The essential oil of *Aniba duckei* has potential for application as an antimicrobial agent.

1. INTRODUÇÃO:

Doenças transmitidas por bactérias de origem alimentar são um risco para a saúde humana. A Organização Mundial da Saúde (World Health Organization [WHO], 2020) estima que 420.000 pessoas morrem a cada ano ao consumirem alimentos contaminados por agente patógenos, tal como bactérias. Para contornar o problema, o setor alimentício emprega compostos antimicrobianos que ajudam a controlar o desenvolvimento microbiano, tornando o alimento seguro para consumo (Carocho *et al.*, 2014). Apesar de sua importância, estes compostos antimicrobianos, de maioria sintética, possuem algumas desvantagens em seu uso, como efeitos colaterais na saúde humana, acúmulos de resíduos no meio ambiente e resistência bacteriana (Verraes *et al.*, 2013; Greco *et al.*, 2020). Devido a estes problemas, métodos alternativos no controle microbiano vêm sendo investigado, tal como o emprego dos óleos essenciais.

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais extraídos de várias espécies vegetais tem sido intensivamente estudada (Aleksic Sabo *et al.*, 2019; Man *et al.*, 2019; Ogunmola, O. O. 2015; Everton, G. O. *et al.*, 2018). A literatura demonstra que os óleos essenciais apresentam uma série de vantagens frente aos antimicrobianos sintéticos, como a sustentabilidade, baixa toxicidade e a possibilidade de atuar também como antioxidante (Zanetti *et al.*, 2018). Dentre as espécies vegetais de interesse para extração de óleo essencial está a *Aniba (A.) duckei*, que apresenta como composto majoritário o linalol (Teles *et al.*, 2018). Segunda a literatura (Herman *et al.*, 2016), óleos essenciais contendo linalol geralmente apresentam alta atividade biológica, uma vez que o linalol pode agir sinergicamente com outros componentes do óleo essenciais.

Apesar das boas propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais contendo linalol, poucas investigações foram dedicadas à atividade biológica do óleo essencial de *A. duckei*. Devido a esta condição, neste estudo foi investigado a atividade antibacteriana do óleo essencial de *A. duckei* em quatro diferentes cepas bacterianas de interesse alimentar, sendo elas

Aeromonas caviae, *Aeromonas hydrophila*, *Enterococcus faecalis* e *Klebsiella pneumoniae*.

2. MATERIAL E MÉTODOS:

2.1. Obtenção e extração do óleo essencial

Foram coletadas as folhas e galhos da espécie *Aniba duckei* de três árvores cultivadas na Reserva Florestal Ducke, Rodovia AM-010, km 26, Manaus-AM, em setembro de 2003 às 09 da manhã, em temperatura de 27 ± 3 °C. Após a coleta, estes foram secos sob ventilação natural, triturados no moinho elétrico (Tecnal, modelo TE-340) e armazenados em recipientes de polietileno para posterior utilização (Barros Gomes *et al.*, 2020). A extração do óleo foi por hidrodestilação e para isso, foi pesado 50 gramas das amostras e misturados em 300 mL de água destilada. Em seguida, a mistura foi colocada em um frasco de fundo redondo de 1000 mL e acoplado ao extrator de Clevenger sob aquecimento à 100 °C em uma manta elétrica por 3,5 horas. Após esse tempo, o óleo extraído foi coletado e seco por percolação em solução anidra de sulfato de sódio. As amostras foram armazenadas em ampolas de vidro âmbar sob refrigeração para evitar possíveis perdas de constituintes voláteis.

2.2. Análise cromatográfica CG/EM

A análise cromatográfica CG/EM foi baseado em Teles *et al.* (2018), com algumas modificações. Os componentes do óleo essencial foram identificados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) em um cromatógrafo a gás HP 5890, acoplado a um detector seletivo de massa HP 5970 de impacto eletrônico, utilizando hélio como gás de arraste com fluxo na coluna de $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; com uma energia de 70 eV, temperatura de 300 °C. Para as análises, injetou-se $1 \mu\text{L}$ da amostra diluída em clorofórmio. As análises cromatográficas foram realizadas nas seguintes condições: temperatura inicial: 60 °C, final: 300 °C; tempo inicial: 2 min., final: 15 min.; rampa: $2 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$. Os componentes do óleo foram

identificados a partir da comparação destes com os dados obtidos de substâncias autênticas na base de dados NBS_Reve (40.000 registros) e literatura (Adams, 2017).

2.3. Isolamento de bactérias e Testes da atividade antibacteriana

As cepas bacterianas *Aeromonas caviae* (Gram negativa) e *Aeromonas hydrophila* (Gram negativa) foram obtidas a partir da filtração da água em membranas de éster de celulose (Melo Silva *et al.*, 2014). As colônias foram isoladas em tubo de Ágar Tripteicase Soja (Ágar TSA) inclinados e incubados a 28 °C por 24 horas. Após esse período, estas foram submetidas às provas bioquímicas, nos quais foram: oxidase, catalase, coloração de Gram, produção de gás a partir da glicose, produção de indol; resistência ao agente vibriostático O/129, descarboxilação de aminoácidos (lisina, arginina e ornitina); teste em Ágar Tríplice Açúcar e Ferro (Ágar TSI), motilidade, redução de nitrato, hidrólise da esculina; teste de Voges-Proskauer, fermentação de carboidratos e crescimento em 3 e 6% de NaCl para identificação das espécies (Martins *et al.*, 2009). Este procedimento foi realizado conforme o descrito no *Compendium of methods for the microbiological examination of foods* (Palumbo *et al.*, 2001). O isolamento e a identificação do *Enterococcus faecalis* (Gram positiva) em vegetais foi de acordo com a metodologia descrita por Gomes e colaboradores (2008). Já a *Klebsiella pneumoniae* (Gram negativa) seguiu o método descrito por Puspanadan e colaboradores (2012).

O método utilizado para o teste de resistência ao óleo essencial foi método de Bauer-Kirby (Jones *et al.*, 2001). As cepas testes foram crescidas em Caldo BHI (Brain Heart Infusion) e o inóculo de cada bactéria (0,25mL) foi semeado, com auxílio de alça de Drigalski, sobre a superfície das placas de Agar contagem padrão (PCA-Merck) e sobre estes foram aderidos discos de papel de filtro de 6mm, impregnados com 75µL do óleo essencial, com o auxílio de uma pinça previamente flambada. Os discos foram levemente pressionados contra a superfície do meio. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas. A leitura dos halos de inibição foi realizada com uma régua milimetrada. O mesmo procedimento foi realizado para a testagem do padrão linalol e da ácido pipemídico, o antibiótico de referência.

A sensibilidade dos microorganismos ao

tratamentos com o antibiótico ampicilina, o óleo essencial e o padrão linalol foram classificada de acordo com o diâmetro dos halos de inibição da seguinte forma: (-) não sensível quando este era menor que 8 mm; (+) sensível para diâmetro 9-14 mm; (++) muito sensível para diâmetro 15 a 19; (+++) extremamente sensível para diâmetro superior a 20 mm (Ponce *et al.*, 2003).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO:

3.1. Resultados

A determinação da composição do óleo essencial destilado a partir dos galhos e folhas do *A. duckei*, foi comparada com os cromatogramas obtidos do banco de dados do espectrômetro de massa com o descrito na literatura (Adams, 2017). Desta análise, conforme a figura 1, os picos cromatográficos referentes aos números 1, 3, 4, 5 e 6, referem-se, respectivamente aos compostos éteres alifáticos, linalol, α -terpineol, α -copaeno e α -guaieno.

O pico número 3 com tempo de retenção 14,9 min, corresponde ao componente majoritário do óleo, o linalol. Para confirmação de que este pico é referente ao linalol, o mesmo pico foi comparado à uma solução padrão deste composto, o que pode ser observado nas Figura 2(A) e 2(B), respectivamente.

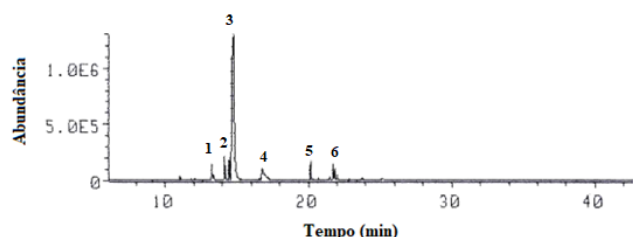


Figura 1. Cromatograma do óleo essencial extraído de folhas e galhos da espécie *Aniba duckei* Kostermans. Condições fixadas: coluna capilar HP-1 de metil silicone entrecruzada (25 m x 0,22 mm i.d.; 0,3 µm de espessura de filme), acoplado a um detector seletivo de massas HP 5970 de impacto eletrônico, com uma energia de 70 eV, temperatura de transferência de 300°C.

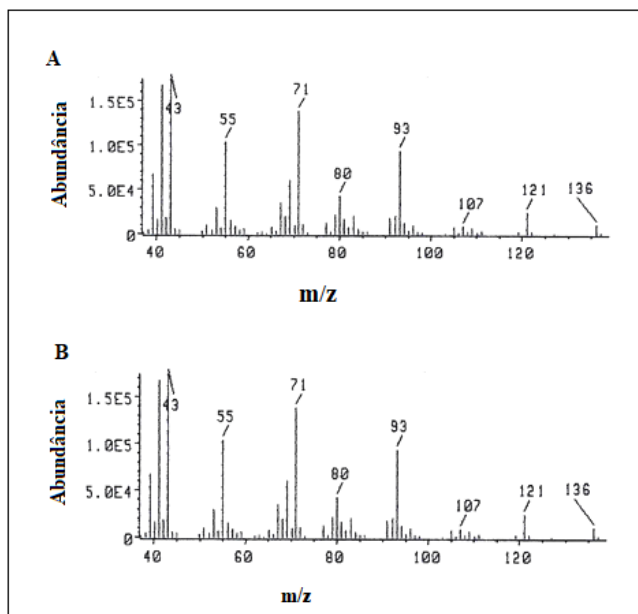


Figura 2. Espectros de massas: (A) Composto do pico 3 do cromatograma da Figura 1; (B) Padrão de linalol.

Na figura 3, o pico cromatográfico 1 do composto é um íon-molecular [M] que está situado no ponto em que a relação $m/z = 154$, de fórmula $C_{10}H_{18}O$, que caracterizaria o composto linalol (Adams, 2017). Mas este pico é pouco intenso e tem mais característica de éteres alifáticos (Sydow, 1963). Isso é confirmado a partir da observação dos picos no qual a relação $m/z = 139$ [M-15] e 111 [M-43] são característicos da perda dos grupos metila e propila, respectivamente, ao tempo que o pico $m/z = 108$ [M-18-28] caracteriza perda de água seguida de etileno.

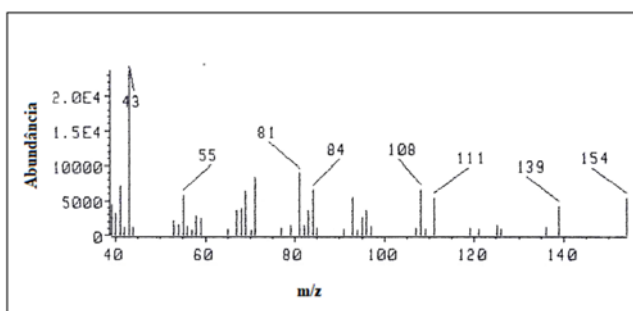


Figura 3. Espectros de massas de composto do pico 1 do cromatograma da Figura 1.

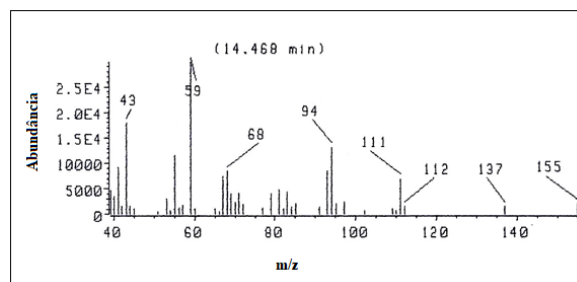


Figura 4. Espectros de massas referente ao pico 2 do cromatograma da Figura 1.

Na figura 5, o pico cromatográfico 4 é um composto íon-molecular [M] que está situado no ponto em que a relação $m/z = 154$, de fórmula $C_{10}H_{18}O$, caracteriza o álcool terciário conhecido como α -terpineol (ADAMS, 2017). A confirmação deste pico ocorre através da observação do pico $m/z = 136$ [M-18], no qual é característico a decomposição térmica de álcoois superiores nas paredes quentes da câmara de injeção devido à perda de água (Silverstein *et al.*, 2019). Além disso, foi observado que o pico $m/z = 121$ [M - 8 - 15] é resultante da perda de água e de grupo metila, sendo esta característica de álcoois terpênicos (Adams, 2017).

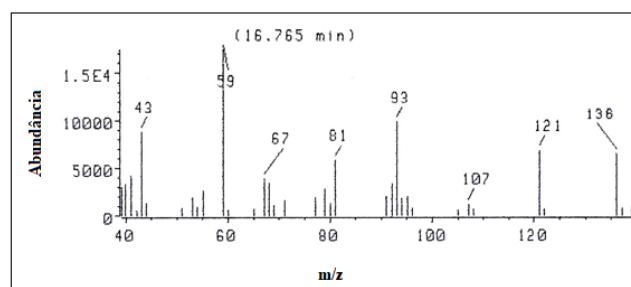


Figura 5. Espectros de massas referente ao pico 4 do cromatograma da Figura 1.

A figura 6 mostra o pico 5 da figura 1 que representa o hidrocarboneto terpênico α -copaeno, de fórmula molecular $C_{15}H_{24}$ e massa molecular 204. Nela, o íon-molecular [M] é o de massa 204. O pico $m/z = 161$ [M-43] representa a perda do propil, além disso, a diferença constante de valores para a relação m/z de 14 unidades e aglomerados de picos mais intensos da série C_nH_{2n-1} é característica de hidrocarbonetos (Silverstein *et al.*, 2019).

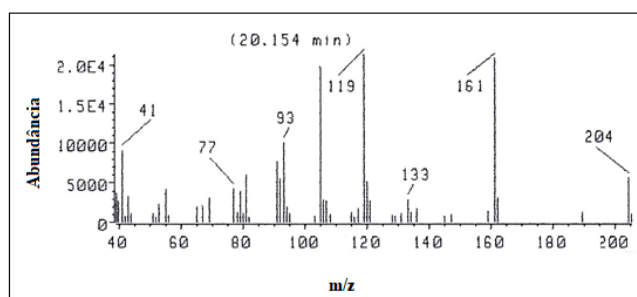


Figura 6. Espectros de massas referentes ao pico 5 do cromatograma da Figura 1.

O α -guaieno, o componente do óleo essencial da espécie *Aniba duckei* K. que aparece no pico 6 do cromatograma da Figura 1, assim como o α -copaeno, é um hidrocarboneto de fórmula molecular $C_{15}H_{24}$. Juntamente com sua fórmula estrutural plana, seu espectro de massas está representado na Figura 7, onde se percebe o íon molecular no pico $m/z = 204$.

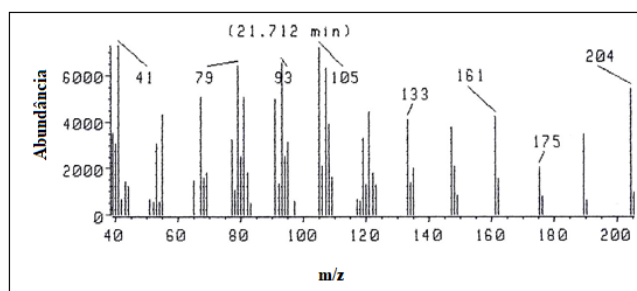


Figura 7. Espectros de massas referentes ao pico 6 do cromatograma da Figura 1.

Para avaliar a susceptibilidade microbiana ao óleo destilado das folhas e galhos do *A. duckei* e o padrão linalol, foi medido os diâmetros dos halos de inibição de quatro bactérias Gram negativas (*Aeromonas caviae*, *Aeromonas hydrophila*, *Klebsiella pneumoniae*), uma Gram Positiva (*Enterococcus faecalis*), sendo classificados de acordo com o critério estabelecido por Ponce e colaboradores (Ponce *et al.*, 2003). O resultado deste estudo mostrou que as bactérias *K. pneumoniae* e *A. hydrophila* foram sensíveis (halos de inibição de 10 e 11 mm, respectivamente), enquanto a *E. faecalis* e *A. caviae* foram extremamente sensíveis (halos superiores a 20 mm) ao óleo. Seguindo o mesmo critério para o padrão linalol, foi observado a ausência de sensibilidade para a bactéria *A. caviae* (halo de 7 mm) e sensibilidade para as demais bactérias (halos de 11 a 13 mm). Assim, concluí-se que o óleo tem potencial ação

antibacteriana maior quando comparado com o padrão linalol.

Tabela 1. Sensibilidade das bactérias *Aeromonas caviae*, *Aeromonas hydrophila*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* ao óleo essencial das folhas e galhos do *A. duckei* e o padrão linalol, utilizando-se o método de difusão em disco.

Bactérias	Ácido pipemídico	Halos de inibição (mm)	
		Óleo essencial <i>A. duckei</i>	Padrão Linalol
<i>Aeromonas caviae</i>	22 (+++)	22 (+++)*	7 (-)
<i>Aeromonas hydrophila</i>	22 (+++)	11 (+)	11 (+)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	22 (+++)	10 (+)	12 (+)
<i>Enterococcus faecalis</i>	19 (++)	21 (+++)	13 (+)

*Sensibilidade dos microorganismos segundo Ponce *et al.* (2003).

3.2. Discussão

Os antibióticos são compostos que demonstram bons resultados contra bactérias patogênicas. No entanto a utilização contínua, indiscriminada e a falta de novos antibióticos introduzidos no mercado provocou a resistência das mesmas (Bajer *et al.*, 2017), o que levou a comunidade científica buscar estratégias alternativas para lidar com bactérias resistentes a este tipo de tratamento (Bush *et al.*, 2014). Diante desta necessidade, a busca por óleos essenciais destilados de plantas que apresentam atividade antibacteriana com resultados similares ou superiores aos antibióticos convencionais surge como uma alternativa viável (Chouhan *et al.*, 2017). Assim, neste estudo é descrito a composição química e avaliado se o óleo essencial destilado dos galhos e folhas *Aniba duckei* Kostermans possui atividade biológica contra quatro espécies bactérias patogênicas. Deste estudo, é mostrado que o óleo é constituído em sua maior parte por linalol e possui atividade biológica contra as bactérias *Aeromonas caviae*,

Aeromonas hydrophila, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterococcus faecalis* maior que o padrão do linalol.

O resultado da análise cromatográfica indicou que o óleo destilado dos galhos e folhas do *Aniba duckei* Kostermans é constituído majoritariamente por linalol. Os componentes secundários de maior relevância são o α -terpineol, α -copaeno e α -guaieno. A identificação dos compostos foi realizada a partir da comparação dos cromatogramas obtidos pela análise CG/EM do banco de dados NBS_Reve com a literatura. Esse achado está concordante com estudos anteriores (Barros Gomes *et al.*, 2019; Teles *et al.*, 2017) no qual relataram que o principal componente do óleo essencial do *A. duckei* é o linalol, embora o resultado do presente estudo não apresentou o percentual deste composto. Apesar desta ausência, os autores tem ciências de que a composição do componente principal deste óleo varia para diferentes partes da mesma planta. Esta diferença é explicada a partir das variações que acontecem por fatores externos, tal como período da colheita e sazonalidade, e internos a planta, como inibidores e promotores da germinação (Gobbo-Neto *et al.*, 2007).

No segundo achado, confirma-se a atividade antibacteriana do óleo essencial de *A. duckei* contra todas as bactérias testadas a partir do diâmetro dos halos de inibição. Este resultado está relacionado à presença majoritária de linalol e sua atividade antimicrobiana (Herman *et al.*, 2016). Além disso, foi observada a maior atividade antimicrobiana no óleo essencial de *A. duckei* em comparação ao padrão de linalol quando aplicados a *Aeromonas caviae* e *Enterococcus faecalis*, sugerindo que os demais componentes do óleo essencial de *A. duckei* atuam em sinergia com o linalol. Este achado está concordante com trabalho de Teles *et al.* (2018), que investigaram a aplicação do *A. duckei* em *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Serratia* sp. e *Vibrio alginolyticus*. O efeito sinérgico presente no óleo essencial de *A. duckei* ocorreu devido aos diferentes mecanismos apresentados pelos componentes do óleo, que se complementam e potencializam o efeito antimicrobiano (Ponce *et al.*, 2003). Nota-se também que o óleo essencial apresenta uma atividade biológica menor quando comparado ao antibiótico de referência, o ácido pipemídico, visto os menores halos de inibição. Apesar disso, segundo a classificação de atividade biológica descrita por Ponce *et al.* (2003), o óleo apresenta atividade biológica para todos os microorganismos testados, o que demonstra que o óleo tem potencial para

aplicação com antimicrobiano.

4. CONCLUSÕES:

A análise cromatográfica do óleo essencial das folhas e galhos do *Aniba duckei* mostrou que este é constituído principalmente por linalol, α -terpineol, α -copaeno e α -guaieno. Quanto a atividade biológica, conclui-se que o óleo possui atividade biológica frente as bactérias *Aeromonas caviae*, *Aeromonas hydrophila*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterococcus faecalis*.

5. DECLARAÇÕES

5.1. Limitações do estudo

O estudo é limitado as amostras analisadas e aos ensaios realizados.

5.2. Agradecimentos

Os autores agradecem a Bolsa de Pesquisa concedida pela Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão – FAPEMA

5.3. Fontes de financiamento

Esta pesquisa foi financiada pela FAPEMA e CNPq.

5.4. Competing Interests

There is no conflict of interest to declare.

5.5. Open Access

This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 (CC BY 4.0) International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution, and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third-party material in this article are included

in the article's Creative Commons license unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

6. REFERÊNCIAS:

1. ADAMS, R.P. (2017). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*, 4th ed. Illinois. Allured Publishing Corporation.
2. Aleksic Sabo, V., and Knezevic, P. (2019). Antimicrobial activity of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. plant extracts and essential oils: A review. *Industrial Crops and Products*, 132(March), p.413–429.
3. Bajer, T.; Šilha, D.; Ventura, K., and Bajerová, P. (2017). Composition and antimicrobial activity of the essential oil, distilled aromatic water and herbal infusion from *Epilobium parviflorum* Schreb. *Industrial Crops and Products*, 100, p.95–105.
4. Barros Gomes, P. R.; Cunha, M. J. O. ; Sousa, D. A. de ; Reis, J. B. ; Melo, A. V. ; Freitas, A. C. de ; Hunaldo, V. K. L. ; Fontenele, M. A. ; Paula, M. do L. de ; Louzeiro, H. C. ; Rodrigues, J. R. P. ; Souza Serra, I. M. R. de and Mouchrek Filho, V. E. (2019). Chemical Study and Antifungal Activity of the Essential Oil of the Branches of *Aniba duckei* Kostermans. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 22(6), p.1554–1561.
5. Barros Gomes, P. R.; Ribeiro, J. D.; Guimarães da Costa, M. C.; da Silva Castro, M. W.; Buzar Neto, N.; Melo, A. V.; Everton, G. O.; Louzeiro, H.C.; Fontenele, M. A.; Lima, H. S.; Silva, E. F.; De Paula, M. L.; Mouchrek Filho, V. E., and Nascimento Mouchrek, A. (2020). Composição química e atividade antibacteriana do óleo essencial dos frutos da Pimenta dioica. *Rev. colomb. ciencias quim. farm*, 49(3), p.656–674.
6. Bush, K.; Courvalin, P., Dantas, G., Davies, J., Eisenstein, B., Huovinen, P.; Jacoby, G. A.; Kishony, R.; Kreiswirth, B. N.; Kutter, E.; Lerner, S. A.; Levy, S.; Lewis, K.; Lomovskaya, O.; Miller, J. H.; Mobashery, S.; Piddock, L. J. V.; Projan, S.; Thomas, C. M.; Tomasz, A.; Tulkens, P. M.; Walsh, T. R.; Watson, J. D.; Witkowski, J.; Witte, W.; Wright, G.; Yeh, P., and Zgurskaya, H. I. (2014). Tackling antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 9(12), p.894–896.
7. Carocho, M.; Barreiro, M. F.; Morales, P., and Ferreira, I. C. F. R. (2014). Adding molecules to food, pros and cons: A review on synthetic and natural food additives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4), p.377–399.
8. Chouhan, S.; Sharma, K., and Guleria, S. (2017). Antimicrobial Activity of Some Essential Oils—Present Status and Future Perspectives. *Medicines*, 4(3), p.58.
9. Everton, G. O., Teles, A. M., Mouchrek, A. N., And Mouchrek Filho, V. E. (2018). Extraction, chemical characterization and antimicrobial potency of essential oil of tahiti lemon (*Citrus latifolia* Tanaka). *Periódico Tchê Química*, 15(30), 428–437. DOI: https://doi.org/10.52571/ptq.v15.n30.2018.431_periodico30_pgs_428_437.pdf
10. Gobbo-Neto, L., and Lopes, N.P. (2007). Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*, 30(2), p.374–381.
11. Gomes, B. C.; Esteves, C. T.; Palazzo, I. C.; Darini, A. L. C.; Felis, G. E.; Sechi, L. A.; Franco, D. B. G. M., and De Martinis, E. C. (2008). Prevalence and characterization of *Enterococcus* spp. isolated from Brazilian foods. *Food Microbiology*, 25(5), p.668–675.
12. Greco, I.; Molchanova, N., Holmedal, E., Jenssen, H., Hummel, B. D., Watts, J. L.; Hakansson, J.; Hansen, P. R., and Svenson, J. (2020). Correlation between hemolytic activity, cytotoxicity and systemic in vivo toxicity of synthetic antimicrobial peptides. *Scientific Reports*, 10(1), p.1–13.
13. Herman, Anna; Tambor, K., and Herman, Andrzej. (2016). Linalool Affects the Antimicrobial Efficacy of Essential Oils.

- Current Microbiology*, 72(2), p.165–172.
14. Jones, R. N.; Ballow, C. H., and Biedenbach, D. J. (2001). Multi-laboratory assessment of the linezolid spectrum of activity using the Kirby-Bauer disk diffusion method: Report of the Zyvox® Antimicrobial Potency Study (ZAPS) in the United States. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 40(1–2), p.59–66.
 15. Man, A.; Santacroce, L.; Jacob, R.; Mare, A., and Man, L. (2019). Antimicrobial activity of six essential oils against a group of human pathogens: A comparative study. *Pathogens*, 8(1), p.1–11.
 16. Martins, A. G. L. A.; Nascimento, A.R.; Vieira, R. H. S. F.; Serra, J.L.; & Rocha, M. M. R. M. (2009). Quantificação e identificação de *Aeromonas* spp. em águas de superfície do estuário do rio Bacanga em São Luís/MA (Brasil). , p.107–118.
 17. Melo Silva, A. C. M. De; Do Nascimento, D. L.; Machado, R. Z., and Costa, F. N. (2014). Caracterização de *Aeromonas* spp isoladas de amostras de ostras e água por método microbiológico e molecular. *Ciencia Animal Brasileira*, 15(3), p.362–368.
 18. Ogunmola, O. O. (2015). Chemical compositions and antimicrobial activity of the leaf essential oil of *Gossypium hirsutum*. *Southern Brazilian Journal Of Chemistry*, 23(23), 91–100. DOI: https://doi.org/10.48141/sbjchem.v23.n23.2015.91_revista2015.pdf
 19. Ponce, A. G.; Fritz, R.; Del Valle, C., and Roura, S.I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food Science and Technology*, 36(7), p.679–684.
 20. Palumbo, S.; Abeyta, C.; Stelma, G.; Wesley, I. W.; Wei, C.; Koberger, J. A.; Franklin, S. K.; Tucker, L. S.; Murano, E. A. *Aeromonas*, *Arcobacter* and *Plesiomonas*. In: *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 3rd ed. Washington: APHA, 2001. 30, p. 283–290.
 21. Puspanadan, S.; Afsah-Hejri, L., Loo, Y. Y., Nillian, E., Kuan, C. H., Goh, S. G.; Chang, W.S.; Lye, Y.L.; John, Y.H.T.; Rukayadi, Y.; Yoshitsugu, N.; Nishibuchi, M. and Son, R. (2012). Detection of *Klebsiella pneumoniae* in raw vegetables using Most Probable Number-Polymerase Chain Reaction (MPN-PCR). *International Food Research Journal*, 19(4), p.1757–1762.
 22. Silverstein, R.; Webster, F.; Kiemle, D., and Bryce, D. (2019). *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos* 8ª edição. LTC (ed).
 23. Sydow, E. von. (1963). Mass Spectrometry of Terpenes. II. Monoterpene Alcohols. *Acta Chemica Scandinavica*, 17, p.2504–2512.
 24. Teles, R.D.M.; Filho, V. E. M., and Nascimento, A. (2018). Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oil of *Aniba duckei* Kosterman. *International Journal of Life-Sciences Scientific Research*, 4(2), p.1657–1662.
 25. Teles, R. D. M.; Filho, V. E. M., and Souza, A. G. De. (2017). Chemical Characterization and Larvicidal Activity of Essential Oil from *Aniba duckei* Kostermans against *Aedes aegypti*. *International Journal of Life-Sciences Scientific Research*, 3(6), p.1495–1499.
 26. Verraes, C.; Van Boxtael, S., Van Meervenne, E., Van Coillie, E., Butaye, P., Catry, B.; De Schaezen, M. A.; Huffel, X. V.; Imberechts, H.; Dierick, K.; Daube, G.; Saegerman, C.; De Block, J.; Dewulf, J., and Herman, L. (2013). Antimicrobial resistance in the food chain: A review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10(7), p.2643–2669.
 27. World Health Organization [WHO]. (2020). Global health observatory data repository- Road traffic deaths data by country.
 28. Zanetti, M.; Carniel, T. K.; Dalcanton, F.; dos Anjos, R. S.; Riella, H. G.; de Araújo, P. H.; Oliveira, D., and Fiori, M. A. (2018). Use of encapsulated natural compounds as antimicrobial additives in food packaging: A brief review. *Trends in Food*

