

Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais Nerol e Melaleuca puros e microencapsulados**Evaluation of antimicrobial activity of Nerol and Melaleuca essential oils pure and microencapsulated**

DOI:10.34119/bjhrv3n3-097

Recebimento dos originais: 20/04/2020

Aceitação para publicação: 28/05/2020

Monique Canal Hall

Graduanda em Engenharia de Alimentos pela Universidade Comunitária da Região de Chapecó

Instituição: Universidade Comunitária da Região de Chapecó

Endereço: Servidão Anjo da Guarda, 295-D - Efapi, Chapecó - SC, Brasil

E-mail: moniquehall@unochapeco.edu.br

Elisângela Martelli

Graduanda em Engenharia de Alimentos pela Universidade Comunitária da Região de Chapecó

Instituição: Universidade Comunitária da Região de Chapecó

Endereço: Servidão Anjo da Guarda, 295-D - Efapi, Chapecó - SC, Brasil

E-mail: elisangelaa.martelli@gmail.com

Camila Meneguzzi

Graduanda em Engenharia de Alimentos pela Universidade Comunitária da Região de Chapecó

Instituição: Universidade Comunitária da Região de Chapecó

Endereço: Servidão Anjo da Guarda, 295-D - Efapi, Chapecó - SC, Brasil

E-mail: camila.meneguzzi@unochapeco.edu.br

Micheli Zanetti

Doutora em Engenharia Química pela Universidade Federal de Santa Catarina

Instituição: Universidade Comunitária da Região de Chapecó

Endereço: Servidão Anjo da Guarda, 295-D - Efapi, Chapecó - SC, Brasil

E-mail: eng.miche@unochapeco.edu.br

Luciano Luiz Silva

Doutor em Química pela Universidade Federal de Santa Catarina

Instituição: Universidade Comunitária da Região de Chapecó

Endereço: Servidão Anjo da Guarda, 295-D - Efapi, Chapecó - SC, Brasil

E-mail: lucianols@unochapeco.edu.br

Márcio Antônio Fiori

Doutor em Engenharia Química pela Universidade Federal de Santa Catarina

Instituição: Universidade Comunitária da Região de Chapecó

Endereço: Servidão Anjo da Guarda, 295-D - Efapi, Chapecó - SC, Brasil

E-mail: fiori@unochapeco.edu.br

Francisco Roberto da Silva Machado Junior

Doutor em Engenharia e Ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande

Endereço: Av. Itália, s/n - Km 8 - Carreiros, Rio Grande – RS, Brasil
E-mail: franciscojr_ea@yahoo.com.br

Josiane Maria Muneron de Mello

Doutora em Engenharia Química pela Universidade Federal de Santa Catarina
Instituição: Universidade Comunitária da Região de Chapecó
Endereço: Servidão Anjo da Guarda, 295-D - Efapi, Chapecó - SC, Brasil
E-mail: josimello@unochapeco.edu.br

Francieli Dalcanton

Doutora em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina
Instituição: Universidade Comunitária da Região de Chapecó
Endereço: Servidão Anjo da Guarda, 295-D - Efapi, Chapecó - SC, Brasil
E-mail: fdalcanton@unochapeco.edu.br

RESUMO

As indústrias alimentícias demonstram grande interesse em óleos essenciais, aplicando no desenvolvimento de novos produtos ou utilizando em produtos já existentes para conferir propriedades antimicrobianas. Esses óleos são substâncias complexas e propensas à degradação, o que dificulta a sua conservação e aplicação, sendo que uma alternativa viável é o microencapsulamento. Neste sentido, esta pesquisa teve como objetivo avaliar a capacidade antimicrobiana dos óleos essenciais nerol e melaleuca, e de microcápsulas de β -ciclodextrina contendo estes óleos. A avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais puros e microencapsulados em β -ciclodextrina foi realizada por meio da técnica de difusão em meio sólido (DMS) a partir de orifício e pela concentração inibitória mínima (CIM) frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Observou-se que tanto os óleos nerol e melaleuca puros, quanto as microcápsulas, tiveram ação antimicrobiana frente aos microrganismos estudados. O mesmo comportamento observado para os óleos puros foi constatado com as microcápsulas, sendo que para *S. aureus* o nerol foi mais efetivo e para *E. coli* o óleo melaleuca teve maior inibição.

Palavras-chave: compostos naturais, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, encapsulamento.

ABSTRACT

The food industries show great interest in essential oils, applying them in the development of new products or using existing products to confer antimicrobial properties. These oils are complex substances and prone to degradation, which hinders their conservation and application, and a viable alternative is microencapsulation. In this sense, this research aimed to evaluate the antimicrobial capacity of essential oils nerol and tea tree, and microcapsules of β -cyclodextrin containing these oils. The evaluation of the antimicrobial activity of pure and microencapsulated essential oils in β -cyclodextrin was carried out using the technique of diffusion in solid medium (DMS) from the orifice and by the minimum inhibitory concentration (MIC) against the microorganisms *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. It was observed that both pure nerol and tea tree oils, as well as microencapsules, had an antimicrobial action against the studied microorganisms. The same behavior observed for pure oils was found with microcapsules, whereas for *S. aureus* nerol was more effective and for *E. coli* the tea tree oil had greater inhibition.

Keywords: natural compounds, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, encapsulation.

1 INTRODUÇÃO

Os aditivos alimentares são muito importantes para a conservação dos alimentos, além de aumentar sua vida útil, auxiliam na garantia da segurança dos alimentos para os consumidores. Porém, atualmente há uma preocupação global e crescente quanto ao uso dos aditivos químicos nos alimentos. Muitos compostos empregados em grande volume para aditar os alimentos são tóxicos mesmo em pequenas concentrações. Por essa razão, várias pesquisas têm sido desenvolvidas com objetivo de substituir os aditivos químicos por aditivos naturais e com efeito antimicrobiano equivalente (SANTOS et al., 2011; FERNANDES, BORGES e BOTREL, 2013).

A utilização de substâncias naturais, de origem vegetal, torna o alimento mais atrativo ao consumidor por não apresentar efeitos tóxicos, mesmo quando empregadas em concentrações relativamente elevadas (BURT, 2004; PEREIRA et al., 2006). Hill, Gomes e Taylor (2013) relatam que vários óleos essenciais têm efeito antimicrobiano contra vários microrganismos patogênicos de origem alimentar.

O óleo essencial nerol é um monoterpeneo normalmente encontrado acompanhado de geraniol seu cis isômero (FAHLBUSCH et al., 2003). Jirovetz et al. (2007) investigaram a ação antimicrobiana do óleo essencial nerol, contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, o qual apresentou forte ação. Também foi testado por Wang et al. (2015), onde exibiu ação antifúngica contra *Aspergillus niger*.

Já a *Melaleuca alternifolia* é comumente conhecida como "árvore de chá", o principal produto é o óleo essencial - TTO (*tea tree oil*), de grande importância medicinal por possuir comprovada ação bactericida e antifúngica contra diversos patógenos humanos, sendo utilizado em formulações tópicas (GUSTAFSON et al., 1998; BUDHIRAJA et al., 1999; CARSON, HAMMER e RILEY, 2006; OLIVEIRA et al., 2011). Vários trabalhos da literatura mostram que o TTO possui amplo espectro de ação antibacteriana, possuindo efeito bactericida in natura e bacteriostático em baixas concentrações (WILKINSON e CAVANAGH, 2005; KWIECINSKI, EICK e WÓJCIK, 2008; VAN VUUREN, SULIMAN e VILJOEN, 2009), antifúngico (OLIVA et al., 2003) e antiviral (MINAMI et al., 2003).

Como os óleos essenciais são sensíveis quando na presença de oxigênio, luz, calor, umidade e outros agentes ambientais, podem ser oxidados e degradados facilmente, por isso, para a utilização industrial se faz necessário o desenvolvimento de técnicas que possibilitem proteger e manter as principais propriedades (NORI et al., 2011; HOSSEINI et al., 2013). Uma alternativa que demonstra ser viável é a possibilidade de aumento da estabilidade destes compostos naturais com o seu

microencapsulamento, utilizando compostos termicamente mais resistentes, e com afinidade química e física com os princípios ativos (WU, LUO e WANG, 2012).

As ciclodextrinas têm sido aplicadas como material encapsulante com grande eficácia, por serem solúveis em água, possuírem capacidade de formar complexos de inclusão reversíveis com moléculas apolares, por resistirem a temperaturas de aproximadamente 180 °C e por serem compatíveis com a polaridade da grande maioria dos óleos essenciais (AGUIAR et al., 2014). Dentre as ciclodextrinas, a β -ciclodextrina é a mais utilizada, pois sua cavidade apolar pode hospedar moléculas de massa molecular entre 100 e 400 g.mol⁻¹, além de seu custo ser razoável e atóxica (WANG et al., 2011).

Neste contexto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar microbiologicamente os óleos essenciais de nerol e melaleuca puros e microencapsulados em β -ciclodextrina frente a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DOS ÓLEOS NEROL E MELALEUCA

Os óleos essenciais utilizados nesta pesquisa foram: Nerol (marca: SIGMA ALDRICH) e Melaleuca (marca: WNF). Os microrganismos utilizados foram *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). As suspensões bacterianas foram cultivadas em caldo *Brain Heart Infusion* – BHI (marca: Merck) e armazenados em estufa bacteriológica (marca: QUIMIS, modelo: Q-316M5) durante 24 h. Após, espalhou-se alíquotas em placas de Petri, utilizando ágar *Mueller Hinton* (marca: SIGMA ALDRICH), de modo a obter o isolamento de algumas colônias. Essas placas foram levadas para a estufa bacteriológica (marca: QUIMIS, modelo: Q-316M5) a 36 ± 1 °C por 24 h.

Para obter uma concentração de 10⁸ UFC mL⁻¹ (Unidades Formadoras de Colônia por mL), retirou-se algumas colônias bacterianas que foram colocadas em água salina estéril (0,9%) (marca: Merck) e avaliadas por meio do espectrofotômetro (marca: BEL PHOTONICS, modelo: SP 1105) em comprimento de onda de 621 nm. Sendo que para obter tal concentração, a absorbância lida no equipamento deveria ser entre 0,08 e 0,1. Após isso, os inócuos estavam prontos para uso nas análises a seguir.

Inicialmente os dois óleos foram analisados por meio da técnica de Difusão em Meio Sólido (DMS), como descrito por Alves et al. (2000) com algumas modificações. Nesta análise verteu-se ágar *Mueller Hinton* nas placas e pela técnica de plaqueamento em superfície os microrganismos foram semeados em forma de estrias. Logo em seguida, foram feitos orifícios de 9 mm equidistantes,

com o auxílio de uma ponteira de 1000 μL , onde foi depositado aproximadamente 100 μL do óleo de melaleuca ou nerol. As placas foram incubadas a 36 ± 1 °C por 24 h. Após, os halos foram medidos com paquímetro e registrados através de fotos.

Posteriormente foi executada a análise de Concentração Inibitória Mínima (CIM), conforme recomendação do NCCLS/CLSI (2005 a,b). Na análise de CIM foram utilizadas microplacas de 96 poços com fundo em formato de U, com colunas enumeradas de 1 a 12 e linhas identificadas de A a H. Primeiramente adicionou-se 100 μL de BHI nos poços em análise. Em seguida, adicionou-se 200 μL da solução preparada (116,55 μL do óleo de melaleuca e 114,15 μL de óleo nerol juntamente com 1 mL de dimetilsulfóxido - DMSO (marca: Dinâmica) e 9 mL de água destilada) nos primeiros poços (linha A, coluna 1, 2 e 3). Depois de homogeneizar a amostra (linha A), foram transferidos sucessivamente para os seguintes poços alíquotas de 100 μL para obter uma concentração diferente em cada linha. Por fim, foram inseridos 5 μL do inóculo de cada bactéria.

Na coluna 9, controle positivo, foi adicionado 100 μL de BHI e 5 μL do inóculo em cada poço, para comprovar que o caldo permite o crescimento do microrganismo analisado. Na coluna 10, controle negativo, foi adicionado 100 μL de BHI, 100 μL de uma solução aquosa contendo 10% de DMSO e 5 μL do inóculo, a fim de assegurar que o diluente não inibe o crescimento do microrganismo. Na coluna 12, foi adicionado apenas BHI em cada poço para comprovar a esterilidade da placa.

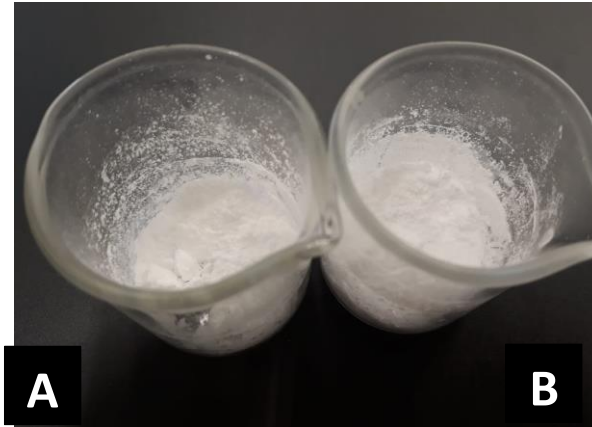
Após esse procedimento, as microplacas foram incubadas em estufa bacteriológica a 36 ± 1 °C por 24 h. Após, adicionou-se 20 μL de uma solução aquosa de 0,5% de cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólico – TTC (marca: SIGMA ALDRICH), em todos os poços em análise, agente que promove a coloração, possibilitando a visualização do crescimento bacteriano. As microplacas foram re-incubadas por mais 3 h, tempo necessário para o corante agir, sendo realizada a leitura de coloração posteriormente. O CIM foi realizado em triplicata.

2.2 OBTENÇÃO DAS MICROCÁPSULAS E ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

As microcápsulas foram obtidas, segundo Hill, Gomes e Taylor (2013) com modificações, sendo que adicionou-se: 1,0 g de β -ciclodextrina (marca: SIGMA ALDRICH), 1,8 mL do óleo de melaleuca e 30 mL de água destilada como solvente, e para as microcápsulas de nerol, adicionou-se 1 g de β -ciclodextrina, 1 mL do óleo e 50 mL de água destilada. As misturas foram preparadas, acondicionadas em erlenmeyer e mantidas sob agitação em shaker (marca: LOGEN Scientific) a 150 RPM, na temperatura de 25 °C durante 24 h. Após foram congeladas em um ultrafreezer (marca: Panasonic, modelo: MDF-U33-PA) a -80 °C por 1 h e para evaporação de todo o solvente, as mesmas

foram liofilizadas por aproximadamente 72 h, a pressão de 347 uHg e temperatura de -54 °C em liofilizador (marca: Liotop, modelo: L101). Por fim, as amostras foram secas em estufa (marca: Nova Ética) a 80 °C por 2 h, para retirada do óleo não encapsulado que poderia ter ficado na superfície externa das microcápsulas. As microcápsulas contendo os óleos essenciais nerol (a) e melaleuca (b) estão representadas na Figura 1.

Figura 1 – Microcápsulas obtidas contendo os óleos essenciais nerol (a) e melaleuca (b).



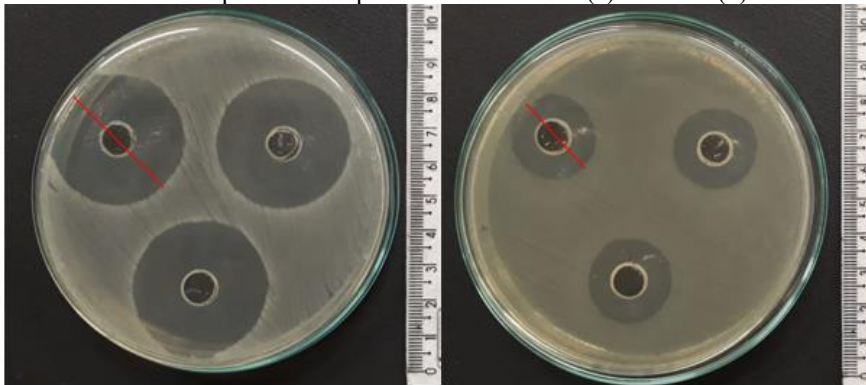
Fonte: Elaborado pelos autores.

A análise de DMS foi realizada conforme procedimento anterior, sendo que adicionou-se aproximadamente 0,06 g de microcápsulas de cada óleo nos orifícios. Este teste também foi realizado com a β -ciclodextrina pura para comprovar que a mesma não apresenta ação microbiana. Todos os testes foram realizados em triplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 2 apresenta os resultados obtidos através da análise de DMS para o óleo Nerol puro, para os microrganismos *S. aureus* (a) e *E. coli* (b).

Figura 2 – Resultados do teste de DMS para o nerol puro frente *S. aureus* (a) e *E. coli* (b).

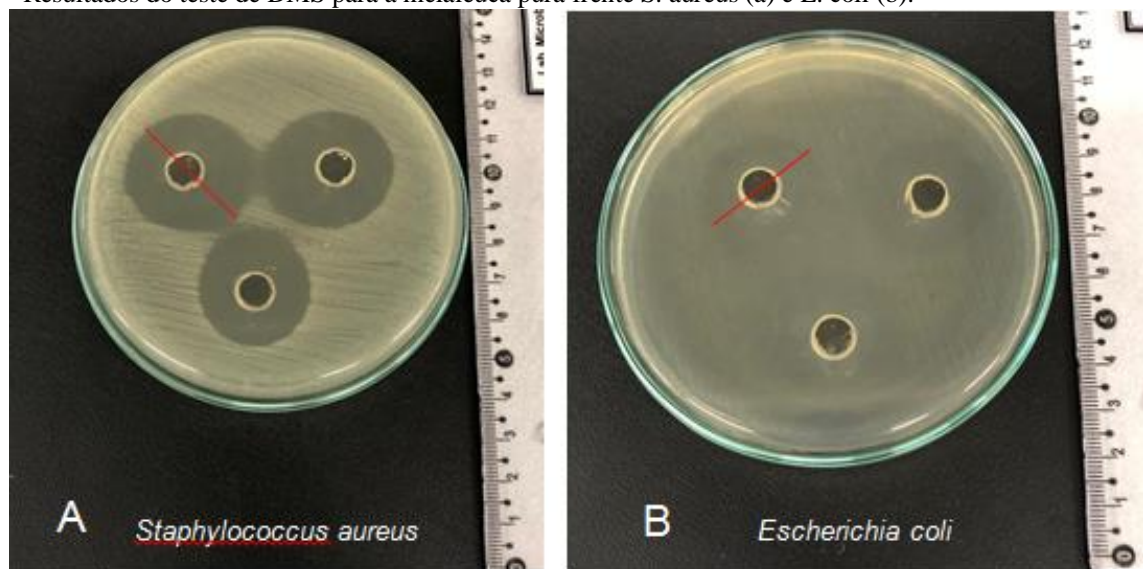


Fonte: elaborado pelos autores.

O halo médio de inibição para *S. aureus* foi de $34,00 \pm 0,67$ mm e para *E. coli* foi de $21,11 \pm 0,2$ mm. Assim, pode-se observar que o óleo essencial nerol possui poder inibitório frente aos microrganismos estudados. É importante ressaltar que a *E. coli* é uma bactéria Gram-negativa e *S. aureus* é uma bactéria Gram-positiva, por isto possuem resistências distintas em relação a diferentes agentes antimicrobianos. Segundo Bonilla e García (2012), as células bacterianas Gram-positivas possuem apenas uma camada exterior, o que facilita a interação entre agentes externos com a membrana citoplasmática e as torna mais frágeis. Já as células bacterianas Gram-negativas possuem uma membrana adicional responsável pela proteção da membrana citoplasmática interior, o que as torna mais resistentes, justificando a ocorrência de um halo menor para *E. coli*.

Na Figura 3 é apresentado as placas de DMS para o óleo essencial de melaleuca puro, também para os microrganismos *S. aureus* (a) e *E. coli* (b).

Figura 3 – Resultados do teste de DMS para a melaleuca pura frente *S. aureus* (a) e *E. coli* (b).



Fonte: elaborado pelos autores.

Conforme pode ser observado pela Figura 3, houve a formação de halo de inibição para ambos microrganismos, sendo que para a bactéria *S. aureus*, obteve-se um halo com diâmetro médio de inibição de $29,67 \pm 2,31$ mm, já *E. coli* o halo de diâmetro médio de inibição foi de $27,44 \pm 2,84$ mm. Já para o óleo melaleuca a inativação microbiana foi mais parecida frente as duas bactérias.

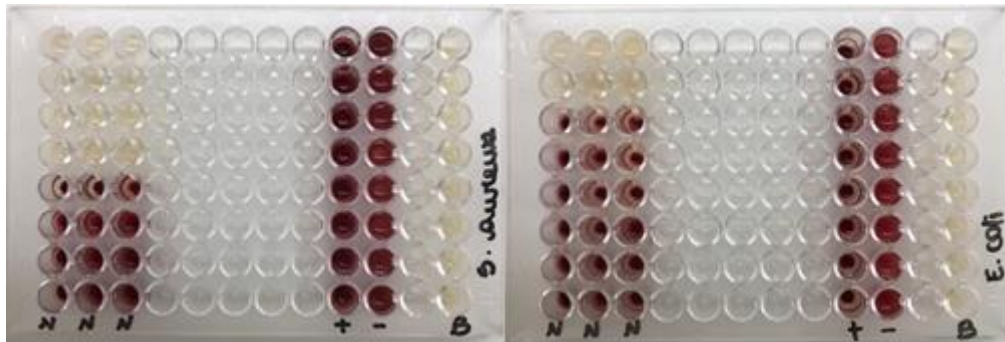
A Tabela 1 faz um comparativo entre os resultados de DMS para os dois óleos essenciais. Os mesmos foram mais efetivos para *S. aureus*, sendo que o nerol teve uma inibição um pouco maior. Já para *E. coli* o óleo de melaleuca foi mais efetivo.

Tabela 1 – Resultados de DMS para Nerol e Melaleuca frente *S. aureus* e *E. coli*.

Óleo essencial	DMS (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Nerol	34,00 ± 0,67	21,11 ± 0,20
Melaleuca	29,67 ± 2,31	27,44 ± 2,84

Fonte: elaborado pelos autores.

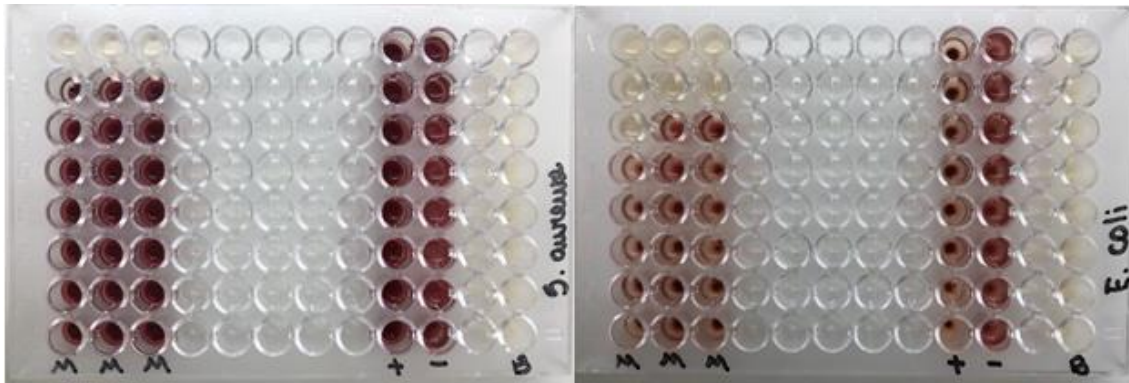
A partir da análise de CIM encontrou-se a concentração mínima destes óleos para inibir o crescimento dos microrganismos em questão. A Figura 4 apresenta os resultados alcançados para o óleo nerol frente aos microrganismos *S. aureus* e *E. coli*.

Figura 4 – Resultados do CIM para Nerol de (a) *S. aureus* e (b) *E. coli*.

Fonte: elaborado pelos autores.

Conforme a Figura 4(a) pode-se observar que o nerol na faixa de 1,427 – 0,713 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ inibiu o crescimento da bactéria *S. aureus*. Já na Figura 4(b) foi 5,708 – 2,854 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ para a inibição de *E. coli*. Estes dados estão de acordo com a DMS, mostrando que *E. coli* é mais resistente que *S. aureus*, sendo necessário uma concentração maior do óleo para inibir o crescimento desta bactéria Gram-negativa.

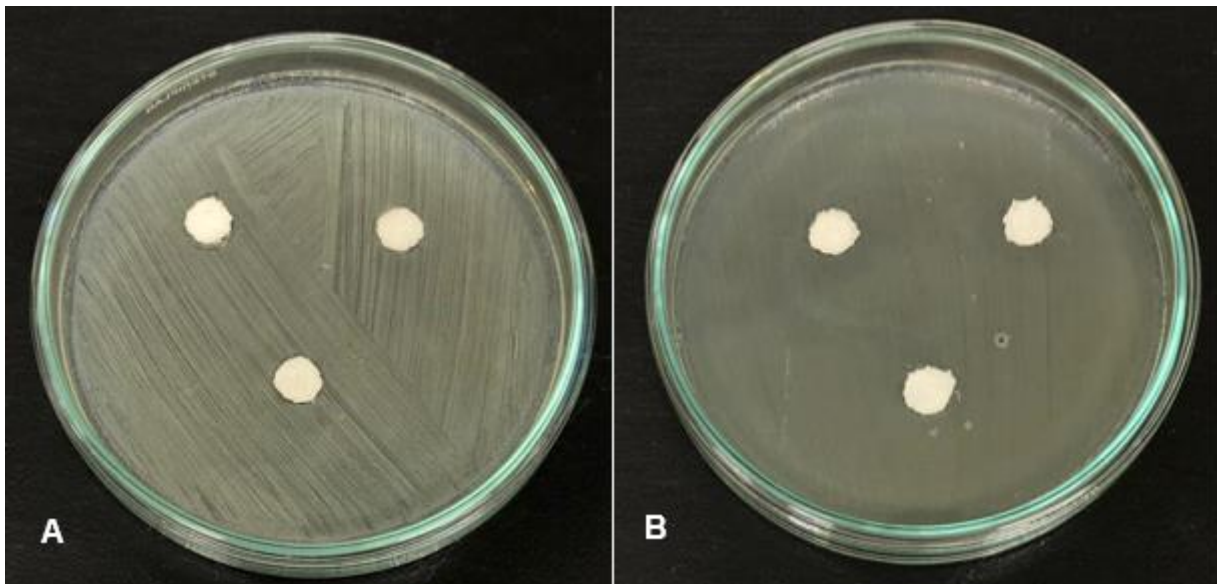
Já a Figura 5 apresenta a análise de CIM para o óleo melaleuca. A Figura 5(a) mostra que a concentração inibitória mínima ocorre entre a linha A e linha B para *S. aureus* enquanto que para *E. coli*, Figura 5(b), ocorre entre a linha B e linha C. Como não há presença da coloração vermelha nessas linhas, indica que, em tais poços, há inibição do crescimento microbiano. Logo, conclui-se que estas foram inibidas pela presença do óleo essencial melaleuca entre a concentração de 11,655 $\mu\text{L mL}^{-1}$ e 5,828 $\mu\text{L mL}^{-1}$ para a *S. aureus* e 5,828 $\mu\text{L mL}^{-1}$ e 2,914 $\mu\text{L mL}^{-1}$ para *E. coli*.

Figura 5 – Resultados de CIM para melaleuca de (a) *S. aureus* e (b) *E. coli*.

Fonte: elaborado pelos autores.

Com relação ao controle positivo, coluna 9, verifica-se que o caldo utilizado possibilita o crescimento dos microrganismos testados, devido a presença da coloração vermelha em todos os poços da coluna. Quanto ao controle negativo, coluna 10, pode-se afirmar que o solvente - DMSO, não está inibindo o crescimento microbiano. Enquanto que para o branco, coluna 12, verifica-se que o meio utilizado está estéril por não apresentar coloração. Esse comportamento é observado para ambos os óleos e as bactérias estudadas.

Em relação ao encapsulamento, a Figura 6 apresenta os resultados obtidos através de DMS para o agente encapsulante, β -ciclodextrina pura, para ambos os microrganismos.

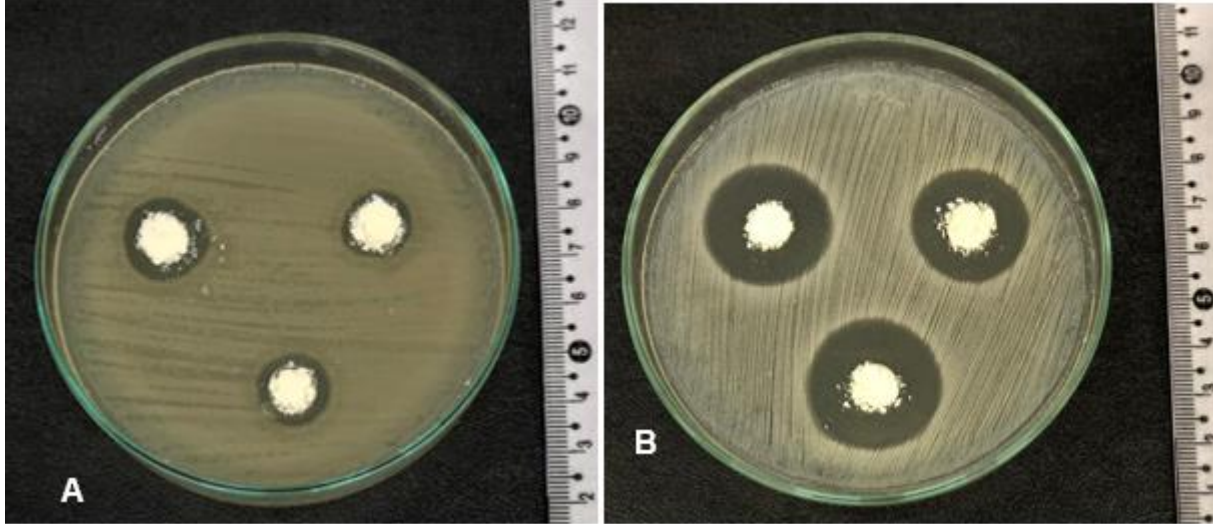
Figura 6 – Placas da análise de DMS para os microrganismos *S. aureus* (a) e *E. coli* (b).

Fonte: elaborado pelos autores.

Como observado não foi obtido halo de inibição para a β -ciclodextrina, o que já era esperado, pois a mesma não possui efeito antimicrobiano, apenas encapsulante.

Já a Figura 7 apresenta os resultados obtidos através da análise de DMS para as microcápsulas contendo óleo essencial nerol para os microrganismos *S. aureus* (a) e *E. coli* (b).

Figura 7 – Resultados do DMS para as microcápsulas contendo óleo nerol frente *S. aureus* (a) e *E. coli* (b).

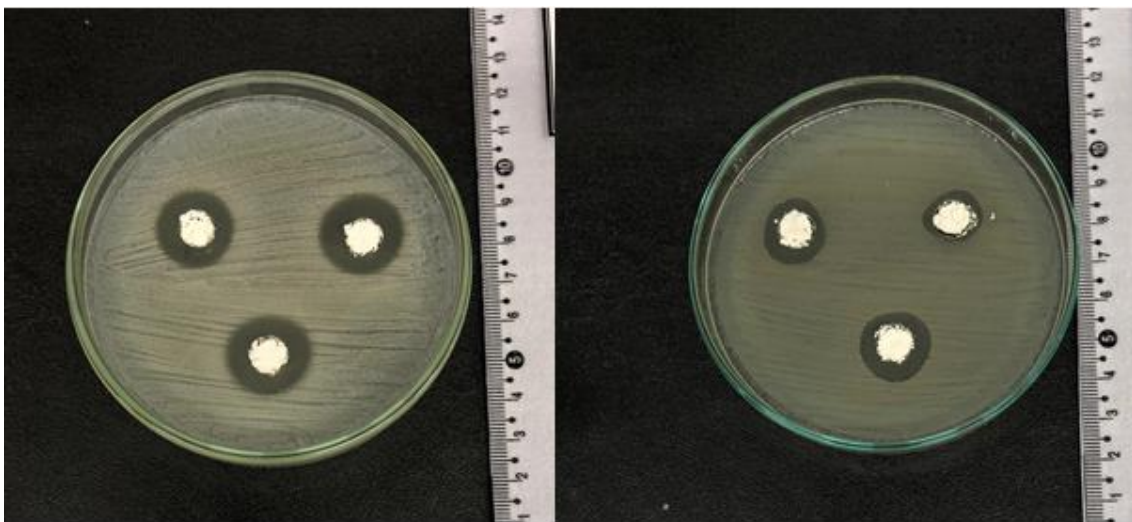


Fonte: elaborado pelos autores.

O halo de inibição para *E. coli* foi de $14,67 \pm 1,46$ mm e para *S. aureus* o halo obtido foi de $26,12 \pm 1,35$ mm, o que significa que as microcápsulas são microbiologicamente ativas frente duas bactérias.

A Figura 8 apresenta as placas de DMS contendo as microcápsulas com o óleo essencial de Melaleuca para os testes com ambas bactérias.

Figura 8 – Resultados do DMS para as microcápsulas contendo óleo essencial de melaleuca frente *S. aureus* (a) e *E. coli* (b).



Fonte: elaborado pelos autores.

Como pode ser observado houve a formação de halo de inibição para ambos microrganismos, sendo que para a bactéria *S. aureus*, obteve-se um halo de inibição de $20,11 \pm 0,96$ mm, já para a amostra com *E. coli* foi de $16,33 \pm 1,86$ mm.

A Tabela 2 traz um comparativo entre os resultados de DMS para as microcápsulas contendo os óleos essenciais.

Tabela 2 – Resultados de DMS para as microcápsulas de Nerol e Melaleuca frente *S. aureus* e *E. coli*.

Microcápsulas	DMS (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Nerol	$26,12 \pm 1,35$	$14,67 \pm 1,46$
Melaleuca	$20,11 \pm 0,96$	$16,33 \pm 1,86$

O mesmo comportamento observado para os óleos puros foi constatado com as microcápsulas, sendo que para *S. aureus*, as microcápsulas contendo nerol obteve-se uma inibição maior e em relação a *E. coli* as microcápsulas contendo melaleuca foram mais efetivas.

As microcápsulas de óleos essenciais são uma alternativa viável para a proteção dos princípios ativos antimicrobianos naturais (AGUIAR et al., 2014). Estas microcápsulas poderiam ser usadas como agentes conservantes naturais na produção de alimentos ou obtenção de embalagens ativas, tendo como consequência direta a redução de conservantes químicos na sua formulação.

4 CONCLUSÃO

Pelas pesquisas realizadas pode-se concluir que os óleos essenciais nerol e melaleuca e as microcápsulas obtidas com estes óleos são considerados compostos antimicrobianos frente as bactérias *S. aureus* e *E. coli*. O mesmo comportamento observado para os óleos puros foi constatado com as microcápsulas. Desta forma, os óleos e as microcápsulas poderiam ser potenciais conservantes naturais em alimentos, contribuindo para a prevenção da contaminação dos alimentos por microrganismos nocivos à saúde humana e pelo aumento da vida útil dos mesmos.

AGRADECIMENTOS

As bolsas de iniciação científica modalidade PIBIC/FAPE e PIBITI/CNPq.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, U.N.; LIMA, S. G.; ROCHA, M. S.; FREITAS, R. M; OLIVEIRA, T. M.; SILVA, R. M.; MOURA, L. C. B.; ALMEIDA, L. T. G. Preparação e caracterização do complexo de inclusão do óleo essencial de *Croton zehntneri* com β -Ciclodextrina. **Química Nova**, v. 37, p. 50-55, 2014.

ALVES, T. M. A.; SILVA, A. F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T. S. M.; SMÂNIA, E. F. A.; SMÂNIA JUNIOR, A.; ZANI, C. L. Biological screening of Brazilian medicinal plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, p. 367-373, 2000.

BONILLA; A. M.; GARCÍA, M. F.. Polymeric materials with antimicrobial activity. **Progress in Polymer Science**, v. 37, pp. 281– 339, 2012.

BUDHIRAJA, S.S.; CULLUM, M.E.; SIOUTIS, S.S.; EVANGELISTA, L.; HABANOVA, S.T. Biological activity of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil component, terpenin-4-ol, in human myelocytic cell line HL-60. **Journal of Manipulative and Physiological Therapeutics**, v. 22, p. 447-453. 1999.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, ago. 2004.

CARSON, C.F.; HAMMER, K.A.; RILEY, T.V. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. **Clinical Microbiology Reviews**, v.19, n.1, p.50-62, 2006.

FERNANDES, R. V. B; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A. Influence of spray drying operating conditions on microencapsulated rosemary essential oil properties. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33(Supl. 1);, p. 171-178, 2013.

FAHLBUSCH, K. G.; HAMMERSCHMIDT, F. J.; PANTEN, J.; PICKENHAGEN, W.; SCHATKOWSKI, D.; BAUER, K.; GARBE, D.; SURBURG, H. Flavors and Fragrances. **Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry**. Germany, v. 15, p. 73-198, 2003.

GUSTAFSON, J.E.; LIEW, Y.C.; CHEW, S.; MARKHAM, J.; BELL, H.C.; WYLLIE, S.G.; WARMINGTON, J.R. Effects of tea tree oil on Escherichia coli. **Letters in Applied Microbiology**, v.26, p.194-8, 1998.

HILL, L.E.; GOMES, C.; TAYLOR, T. M.; Characterization of β -cyclodextrin inclusion complexes containing essential oils (trans-cinnamaldehyde, eugenol, cinnamon bark, and clove bud extracts) for antimicrobial delivery applications. **Food Science and Technology**, v. 51, p. 86-93, 2013.

HOSSEINI, S. F.; ZANDI, M.; REZAEI, M.; FARAHMANGDGHAVI, F. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, p. 50-56, 2013.

JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G.; SCHMIDT, E.; STOYANOVA, A.S.; DENKOVA, Z.; NIKOLOVA, R.; GEISLER, M. Purity, antimicrobial activities and olfactoric evaluations of geraniol/nerol and various of their derivatives. **Journal of Essential Oil Research**, v.19, n. 3, p. 288–291, 2007.

KWIECINSKI, J.; EICK, S.; WÓJCIK, K. Effects of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil on *Staphylococcus aureus* in biofilms and stationary growth phase. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.33, n.4, p.342-7, 2008.

MINAMI, M.; KITA, M.; NAKAYA, T.; YAMAMOTO, T.; KURIYAMA, H.; IMANISHI, J. The inhibitory effect of essential oils on herpes simplex virus type-1 replication in vitro. **Microbiology and Immunology**, v.47, p.681-4, 2003.

NCCLS/CLSI, 2005/CLSI. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Information supplement 15th M100-S15. Wayne. PA. 2005a.

NCCLS/CLSI, 2005/CLSI. National Committee for Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptible test: Approved standard M2-A8. Wayne. PA: NCCLS/CLSI, 2005/CLSI. 2005b.

NORI, M. P.; FAVARO-TRINDADE, C. S.; ALENCAR, S. M.; THOMAZINI, M.; BALIEIRO, J. C. C.; CASTILLO, C. J. C. Microencapsulation of propolis extract by complex coacervation. **LWT Food Science and Tecnology**, v. 44, p. 429-435, 2011.

OLIVA, B.; PICCIRILLI, E.; CEDDIA, T.; PONTIERI, E.; AURELI, P.; FERRINI, A.M. Antimycotic activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil and its major components. **Letters in Applied Microbiology**, v.37, p.185-7, 2003.

OLIVEIRA, A.C.M.; FONTANA, A.; NEGRINI, T.C.; NOGUEIRA, M.N.M.; BEDRAN, T.B.L.; ANDRADE, C.R.; SPOLIDORIO, L.C.; SPOLIDORIO, D.M.P. Emprego do óleo de *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae) na odontologia: perspectivas quanto à utilização como antimicrobiano alternativo às doenças infecciosas de origem bucal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.4, p.492-499, 2011.

PEREIRA; M.C.; VILELA, G.R.; COSTA, L.M.A.S.; SILVA, R.F.; FERNANDES, A.F.; FONSECA, E.W.N.; PICCOLI, R.H. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 4, p. 731-738, 2006.

SANTOS, J. C.; CARVALHO FILHO, C. D.; BARROS, T. F.; GUIMARÃES, A. G. Atividade antimicrobiana in vitro dos óleos essenciais de orégano, alho, cravo e limão sobre bactérias patogênicas isoladas de vôngole. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1557-1564, 2011.

VAN VUUREN, S.F.; SULIMAN, S.; VILJOEN, A.M. The antimicrobial activity of four commercial essential oils in combination with conventional antimicrobials. **Letters in Applied Microbiology**, v.48, n.4, p.440-6, 2009.

WANG, J.; CAO, Y.; SUN, B.; WANG, C. Physicochemical and release characterization of garlic oil- β -cyclodextrin inclusion complexes. **Food Chemistry**, vol. 127, p. 1680-1685, 2011.

WANG, Y.; ZENG, X.; ZHOU, Z.; XING K.; TESSEMA, A.; ZENG, Hong; TIAN, J. Inhibitory effect of nerol against *Aspergillus niger* on grapes through a membrane lesion mechanism. **Food Control**, v. 55, p. 54-61, 2015.

WILKINSON, J.M.; CAVANAGH, H.M.A. Antibacterial activity of essential oils from Australian native plants. **Phytotherapy Research**, v.19, p.643-6, 2005.

WU, Y.; LUO, Y.; WANG, Q. Antioxidant and antimicrobial properties of essential oils encapsulated in zein nanoparticles prepared by liquid-liquid dispersion method. **Food Science and Technology**, vol. 48, p. 283-290, 2012.