



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

WESLEI DA SILVA OLIVEIRA

**POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIOXIDANTE DE ÓLEOS
ESSENCIAIS OBTIDOS DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE *Lippia*
gracilis Schauer**

WESLEI DA SILVA OLIVEIRA

**POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIOXIDANTE DE
ÓLEOS ESSENCIAIS OBTIDOS DE DIFERENTES
GENÓTIPOS DE *Lippia gracilis* Schauer**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia.

Orientador : Prof. Dra. Luciana Cristina Lins de Aquino Santana

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da UFS

OLIVEIRA, Weslei (pós-graduando)

POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE ÓLEOS ESSENCIAIS OBTIDOS A
PARTIR DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE LIPPIA GRACILIS

(65 páginas)

Nome do Orientador: Luciana Cristina Lins de Aquino Santana

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de
Sergipe, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, Programa de Pós-
Graduação em Biotecnologia (PROBIO).

1. *Lippia gracilis* 2. Modelagem preditiva 3. antimicrobiano

CDU xxxxxxxxxxxxxxxx (fornecido pela biblioteca)

WESLEI DA SILVA OLIVEIRA

**POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIOXIDANTE DE
ÓLEOS ESSENCIAIS OBTIDOS DE DIFERENTES
GENÓTIPOS DE *Lippia gracilis* Schauer**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia.

**Orientador: Prof. Dr. Luciana Cristina Lins de Aquino
Santana**

**1º Examinador: Profª Drª Evaleide Diniz de Oliveira
(PROBIO/UFS)**

Agradecimentos

À Deus, por ter colaborado com todas as possibilidades possíveis para o desenvolvimento deste trabalho, sinônimo de luta, suor e dedicação.

Aos meus pais, por me dar a maior herança de todas: a possibilidade de estudar e graças ao estudo, poder desenvolver a curiosidade de transformar ideias em projetos e depois desenvolvê-los.

Ao meu irmão, Welton e minha noiva, Iana, por me apoiar e servir como confidentes nos momentos de dificuldades na graduação e no caminho trilhado na pós-graduação.

À minha orientadora, Dra Luciana, por ter cedido a estrutura do laboratório para o desenvolvimento da pesquisa, pelos conselhos que vão além das questões acadêmicas, pela paciência e cuidado que teve comigo e com todos os outros orientandos que cruzaram meu caminho durante esse período.

Ao grupo LMAB como um todo, em especial, Patrícia (tia Paty), Jeaninne, Beatriz e Fhanuel, com ressalvas para os agregados, Aline e Tuânia, que tornaram o caminho muito mais leve com as conversas mais descontraídas possíveis. Seria muito mais difícil sem vocês. Vou sentir muita saudade.

À CAPES, pela concessão da Bolsa

À Todos os amigos e familiares que de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização do trabalho.

Muito obrigado!

Weslei da Silva Oliveira, Luciana Cristina Lins de Aquino Santana, Potencial antimicrobiano e antioxidante de óleos essenciais obtidos de diferentes genótipos de *Lippia gracilis* Schauer, Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PROBIO), 2025

Resumo:

Devido ao avanço na demanda por novos compostos com aplicabilidade na medicina, indústria alimentícia, farmacológica e terapêutica, a utilização de óleos essenciais vem ganhando visibilidade nos últimos tempos. Estes, por sua vez, têm propriedades químicas que permitem com que sejam aplicados nos mais diferentes ramos da biotecnologia. Baseado nisto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana e antioxidante de óleos essenciais de diferentes genótipos da planta *Lippia gracilis* Schauer, bem como utilizar um modelo preditivo para analisar a cinética de crescimento microbiano de cepas patogênicas expostas a diferentes condições de pH (5,0, 6,0 e 9,0); concentrações do óleo essencial (1,32, 2,64 e 5,29 mg/mL) e combinação pH + óleo essencial. A atividade antimicrobiana foi avaliada pelo método de difusão em disco, Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida mínima (CBM). A maioria das cepas foram de muito sensíveis a extremamente sensíveis aos óleos. A *P. aeruginosa* foi a única bactéria não sensível aos óleos. Os valores de CIM e CBM variaram entre 1,32 e 42,37 mg/mL. A atividade antioxidante foi determinada pelos variou entre 656,2 e 1.185,0 $\mu\text{mol Trolox/L}$ (pelo método ABTS); entre 1.296,8 e 2.656,2 $\mu\text{mol Trolox/L}$ (pelo método FRAP) e entre 314,6 e 446,6 $\mu\text{mol Trolox/L}$ (pelo método DPPH). Para os experimentos preditivos foi utilizado o óleo essencial que demonstrou os menores valores de CIM e CBM para a maioria das bactérias. Nos tratamentos variando-se apenas as concentrações de óleo não houve crescimento para a maioria das cepas e a combinação pH + óleo essencial foi eficaz para inibir ou reduzir a taxa de crescimento das bactérias e aumentar o tempo da fase de latência. Os óleos de *L. gracilis* demonstraram excelente potencial para serem usados como antioxidantes ou antimicrobianos naturais.

Palavras-chave: *Lippia gracilis*; Óleo essencial; Modelagem preditiva; Atividade antimicrobiana; Atividade antioxidante.

Weslei da Silva Oliveira, Luciana Cristina Lins de Aquino Santana, Potencial antimicrobiano e antioxidante de óleos essenciais obtidos a partir de diferentes genótipos de *Lippia gracilis* Schauer , Graduate Program in Biotechnology (PROBIO), 2025

ABSTRACT:

Due to the increasing demand for new compounds with applicability in medicine, the food industry, pharmacology, and therapeutics, the use of essential oils has gained prominence in recent years. These compounds possess chemical properties that allow their application in different areas of biotechnology. Based on this, the aim of the present study was to evaluate the antimicrobial and antioxidant activities of essential oils from different genotypes of *Lippia gracilis* Schauer, as well as to apply a predictive model to analyze the microbial growth kinetics of pathogenic strains exposed to different pH conditions (5.0, 6.0, and 9.0), essential oil concentrations (1.32, 2.64, and 5.29 mg/mL), and pH + essential oil combinations. Antimicrobial activity was assessed using the disk diffusion method, Minimum Inhibitory Concentration (MIC), and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). Most strains showed high to extremely high sensitivity to the oils. *Pseudomonas aeruginosa* was the only bacterium not sensitive. MIC and MBC values ranged from 1.32 to 42.37 mg/mL. Antioxidant activity was determined using the ABTS method (656.2–1,185.0 $\mu\text{mol Trolox/L}$), FRAP method (1,296.8–2,656.2 $\mu\text{mol Trolox/L}$), and DPPH method (314.6–446.6 $\mu\text{mol Trolox/L}$). In the predictive experiments, the essential oil that showed the lowest MIC and MBC values against most bacteria was used. In treatments varying only oil concentrations, no growth was observed for most strains. Furthermore, the combination of pH + essential oil was effective in inhibiting or reducing bacterial growth rate and prolonging the lag phase duration. Overall, *L. gracilis* essential oils demonstrated excellent potential for application as natural antioxidants and antimicrobial agents.

▲
Keywords: *Lippia gracilis*; Essential oil; Predictive modeling; Antimicrobial activity; Antioxidant activity

**POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIOXIDANTE DE ÓLEOS ESSENCIAIS
OBTIDOS A PARTIR DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE *Lippia gracillis* Schauer**

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....1

2. REVISÃO DE LITERATURA3

 2.1. *Lippia gracilis* Schauer3

 2.2. Óleos essenciais de *Lippia* sp4

2. OBJETIVOS.....16

 3.1. Objetivo geral16

 3.2. Objetivos Específicos16

3. MATERIAIS E MÉTODOS17

 4.1 Materiais.....17

 4.2 Coleta da planta.....17

 4.3. Hidrodestilação.....18

 4.4. Cepas bacterianas19

 4.5. Determinação da atividade antibacteriana pela técnica de difusão em discos.....20

 4.6. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos óleos essenciais.....20

 4.6.1 Preparo das concentrações dos óleos essenciais.....20

 4.6.2 Preparação das suspensões microbianas.....20

 4.6.3. Determinação da CIM dos óleos essenciais21

 4.6.4 Determinação da CBM dos óleos essenciais21

 4.7. Determinação da atividade antioxidante dos óleos essenciais.....21

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO23

 5.3 Atividade antioxidante (AA) dos OEs.....32

4. CONCLUSÕES PARCIAIS.....44

5. PRÓXIMA ETAPA DA PESQUISA..... Erro! Indicador não definido.

6. REFERÊNCIAS45

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. *Lippia gracillis* Schauer 4

Figura 2. Estrutura química de compostos antimicrobianos 5

Figura 3. Modo de ação antimicrobiana de óleos essenciais..... 6

Figura 4. Óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer..... 7

Figura 5. Síntese da oxidação lipídica..... 12

Figura 6. Aparelho de Clevenger..... 19

Figura 7. Procedimento para determinação da CIM na microplaca 21

Figura 8. Estruturas químicas do timol e carvacrol..... Erro! Indicador não definido.

Figura 9. Biossíntese do timol e carvacrol Erro! Indicador não definido.

Figura 10. Cinética de crescimento da *B. subtilis*.....32

Figura 11. Cinética de crescimento da *B. cereus*.....33

Figura 12. Cinética de crescimento da *E. coli*.....34

Figura 13. Cinética de crescimento da *E. faecalis*.....35

Figura 14. Cinética de crescimento da *S. aureus*.....36

Figura 15. Cinética de crescimento da *S. typhimurium*.....37

Figura 16. Cinética de crescimento da *S. marcescens*.....38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Reagentes e meios de cultura utilizado nas análises 17

Tabela 2. Identificação e origem geográfica dos genótipos de *L. gracilis* Schauer ativas no banco de germoplasma da UFS 18

Tabela 3. Tratamentos da cinética de crescimento microbiano 22

Tabela 4. Compostos majoritários dos OEs de *L. gracilis* 19

Tabela 5. Medidas dos halos de inibição contra todas as cepas testadas (mm) 25

Tabela 5. Halos de inibição através do método de difusão em disco 28

Tabela 6. Valores de CIM e CBM (mg/mL) dos óleos essenciais frente a bactérias patogênicas 30

Tabela 7. Atividade antioxidante dos óleos essenciais Erro! Indicador não definido.

ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Atividade antioxidante
ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
LGRA	Lippia gracilis
NaCl	Cloreto de Sódio
OE	Óleo essencial
TPTZ	2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina
UFC	Unidade Formadora de Colônia

1. INTRODUÇÃO

Levando em consideração o avanço tecnológico, bem como o crescimento acelerado da população ao redor do mundo, cada vez mais precisamos buscar estratégias sustentáveis tanto para nossa saúde, quanto para a homeostase do planeta (Unsal., 2024). Dessa maneira, entrelaçar a vida humana ao meio ambiente de forma a equilibrar a coexistência entre indivíduos, fauna e flora, atualmente, é um enorme desafio para todos.

Na medida em que problemas relacionados à saúde surgem, a indústria farmacêutica tem a necessidade de buscar soluções em tempo hábil para que o mínimo de impacto aconteça na população, e dentre essas soluções, surge a possibilidade do uso de compostos naturais, produzido quimicamente por plantas aromáticas, como óleos essenciais (Pinto et al., 2021). Os óleos essenciais são compostos naturais voláteis com aromas característicos, derivados de seus componentes, principalmente, os terpenos (Wang et al., 2025). Esses compostos podem ser influenciados pela sazonalidade da planta (Nunes et al., 2025), já que são sintetizados a partir de um conjunto de reações químicas ocorrentes no metabolismo secundário dos vegetais (Johnson; Allemann, 2025). A presença deles, além de garantir aroma as plantas, conferem algumas aplicabilidades de interesse biotecnológico nas áreas da agricultura, farmácia, medicina, indústria alimentícia e cosmética (Amorati et al., 2013; Males et al., 2022; Liu et al., 2024; Heng et al., 2024; Reddy et al., 2025; Subudhi et al., 2025).

Por apresentar características odoríferas, a aplicabilidade de óleos essenciais na indústria cosmética é bastante explorada (Vora et al., 2024). Sua capacidade antimicrobiana chama atenção para a aplicação com finalidades terapêuticas (Shiekh et al., 2024), graças aos compostos químicos presentes em sua composição (Khwaza et al., 2025). Óleos essenciais extraídos de plantas do gênero *Lippia*, como *L. alba*, *L. sidoides*, *L. origanoides* e *L. gracilis* Schauer vêm sendo explorados ao longo dos anos devido a presença de compostos como timol, carvacrol, p-cimeno, linalol, geraniol, geranial, limoneno, dentre outros, sendo responsáveis por importantes propriedades bioativas, tais como antimicrobiana, antioxidante, antiinflamatória e anticâncer (Nonato et al., 2022; Esquissato et al., 2024; Ivanova et al., 2025).

Particularmente o óleo essencial de *L. gracilis* Schauer têm demonstrado atividades antimicrobiana, leishmanicida, inseticida, acaricida, anti-inflamatória, antinociceptiva e citotóxica, principalmente devido à presença majoritária dos monoterpenos carvacrol e timol (Guillon et al., 2011; Santos et al., 2016; Bulhões et al., 2022). Azevedo et al. (2014) otimizaram, através de

quitosana e amido de mandioca enriquecidos com misturas dos genótipos de *L. gracilis Schauer* na vida útil de goiabas durante o armazenamento em temperatura ambiente. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial antimicrobiano e antioxidante de óleos essenciais extraídos das folhas de sete genótipos de *L. gracilis Schauer*, de diferentes municípios do estado de Sergipe e avaliar a capacidade antioxidante e antimicrobiana. Além disto, a partir do óleo com maior potencial antimicrobiano está sendo realizada uma modelagem preditiva *in vitro* dos efeitos do pH e concentração de óleo no crescimento de bactérias patogênicas.

A utilização da modelagem preditiva é uma ferramenta que pode ser usada para quantificar o risco microbiano, bem como prever a sobrevivência do microrganismo frente a alguns parâmetros estabelecidos, como temperatura, pH, concentração de nutrientes e agentes antimicrobianos (Razmi et al., 2023; Silva et al., 2024). Esta ferramenta pode auxiliar setores industriais que tenham interesse em elaborar produtos contendo concentrações adequadas do óleo essencial visando sua aplicação como antimicrobiano. Este estudo ainda não tem sido relatado na literatura consultada com o óleo essencial de *L. gracilis*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Lippia gracilis* Schauer

O gênero *Lippia* sp. pertence à família Verbenaceae e engloba mais de 200 espécies que variam de forma de vida arbustiva, herbáceas e subarbustivas, com caule lenhoso e de pequeno porte, não ultrapassando os 6m de altura. As plantas pertencentes a esse gênero chamam atenção pela aplicabilidade em áreas diversas e podem ser encontradas na América do Sul, América central e África (Camilo et al., 2022). No Brasil, podem ser encontrados 88 espécies deste gênero, sendo 68 espécies endêmicas encontradas no cerrado e campos rupestres (Nonato et al., 2022).

Estudos filogenéticos confirmam a proximidade da família verbenaceae com a lamiaceae, sendo estas conhecidas popularmente por seu uso medicinal. As espécies de *Lippia* têm demonstrado propriedades analgésicas, anti-inflamatórias, antipiréticas, anti-hipertensivas e antimicrobianas, como também tem sido amplamente utilizadas no tratamento de infecções parasitárias, asma, dor de estômago, distúrbios menstruais, dor de garganta, reumatismo, gastrite, congestões nasais, bronquites e dores de cabeça (Guilhon et al., 2011; Bitu et al. 2015; Nonato et al., 2022).

Alguns pesquisadores como Michetti et al. (2019) relataram o uso de *L. integrifolia* para o tratamento de problemas digestivos; Ritter et al (2012) descreveram o uso do chá de raízes e folhas de *L. alba* como anti-helmíntico e para o tratamento de diarreias, enquanto Biesk et al (2015) confirmaram o uso de partes da planta como antidepressivo e controle do estresse; Mavundza et al (2011) relataram a utilização das folhas de *L. javanica* como repelente contra insetos; Lingaraju et al (2013) relatam o uso das folhas de *L. nodiflora* através de decocção para tratar diabetes e ainda utilizam uma pasta feita com caule, raízes e folhas da planta como antisséptico e para o tratamento de feridas

Dentre as espécies deste gênero, a *L. gracilis* Schauer é conhecida popularmente como alecrim da chapada ou alecrim de tabuleiro (Figura 1) é uma *verbenaceae* distribuída geograficamente na África e no Norte e Nordeste do Brasil. Em Sergipe o cultivo desta planta tem sido encontrado no município de Tomar do Geru, assim como também no município de Rio Real na Bahia (Santos et al., 2016). Possui folhas e flores simples e serradas, dispostas em caule lenhoso, com poucas ramificações (Gomes et al., 2010). A planta dificilmente ultrapassa 2 metros de altura, mas é capaz de produzir um óleo essencial poderoso e rico em terpenos como carvacrol, timol e a-pineno, relacionados ao controle de bioativos (Monteiro et al., 2020). Estas plantas também contêm

Figura 1. *Lippia gracillis* Schauer



Fonte: Autor (2025)

2.2 Óleos essenciais de *Lippia* sp.

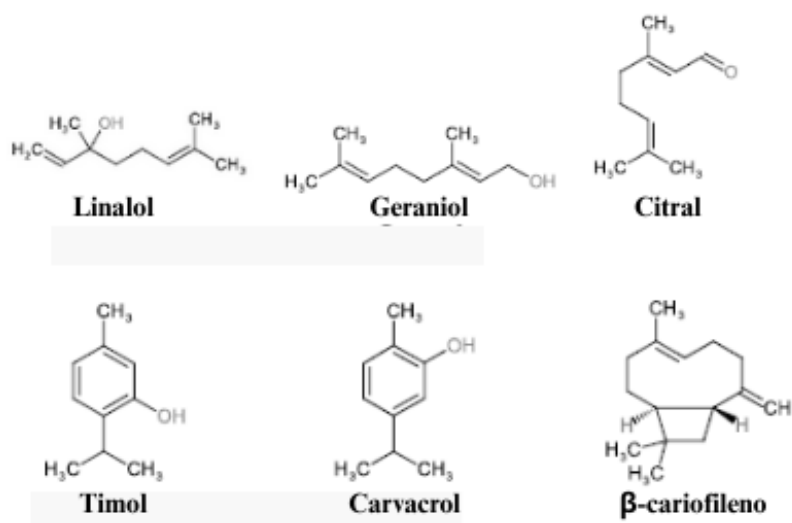
Óleos essenciais (OEs) são substâncias produzidas pelo metabolismo secundário de plantas aromáticas. Em sua composição, podem apresentar limoneno, linalol, eucaliptol e carvacrol, compostos aromáticos que lhes conferem odores característicos, e por esse motivo, são bastante usados na aromaterapia (Mansouri et al., 2023). Pesquisadores como Riella et al (2012) isolaram o timol, um monoterpene presente no OE de *L. gracilis* e aplicaram para avaliar a atividade anti-inflamatória contra peritonite induzida em camundongos, confirmando a ação do composto tanto isolado quanto incorporado em curativos à base de colágeno.

A quantidade e composição dos OEs são bastante influenciados pelas condições de cultivo da planta, como o tipo de substrato, pH do solo, clima disponibilidade de água, índice pluviométrico, altitude e a presença de parasitas ou herbívoros (Azarkish et al., 2021). Dessa maneira, a produção e a qualidade do óleo essencial são diretamente relacionadas aos fatores ambientais (Salimi et al., 2022). Por este motivo existe uma dificuldade em padronizar a qualidade dos óleos essenciais e aumentar a sua produtividade para aplicações industriais (Nonato et al., 2022). Santos et al (2019) têm utilizado reguladores de crescimento para avaliar a proliferação de brotos, o crescimento e se a composição química do OE de *L. gracilis* seria influenciada. Em seus resultados, a combinação dos reguladores induziu um crescimento mais rápido da planta, além de aumentar a proliferação de brotos da planta *in vitro*, porém, o uso dos reguladores diminuiu drasticamente o teor do timol e carvacrol

(12,38%) e p-cimeno (12,25%), enquanto a *L. sidoides* apresentou 29,92% e 44,83%, para timol e p-cimeno, respectivamente. *L. alba* apresentou como principais compostos o neral (30,17%) e geranial (43,25%). No estudo, foi demonstrado que nas concentrações de 0,1, 0,25 e 0,5 mg/mL, o OE de *L. gracilis* teve o maior poder redutor do Fe^{3+} , fato atribuído às características químicas do timol, mais precisamente aos seus grupos hidroxilas.

A atividade antimicrobiana dos OEs depende dos compostos presentes e pode variar de acordo com a espécie de planta estudada (Majdizadeh et al., 2025). Compostos como timol, carvacrol, geraniol, β -cariofileno, citral e linalol (Figura 2) são compostos de atividade antimicrobiana e antioxidante potentes e geralmente são encontrados na maioria das plantas aromáticas (Jamir et al., 2025; Albino et al., 2025; Nieto et al., 2025).

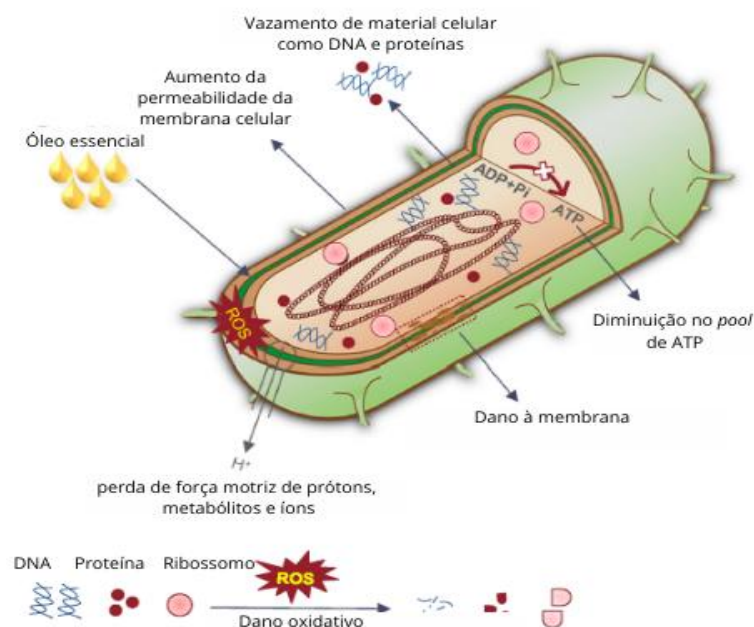
Figura 2. Estrutura química de compostos antimicrobianos



Fonte: Adaptado de Angane et al (2022).

OEs no geral podem afetar a célula do microrganismo de várias maneiras diferentes, desde a redução da força motriz relacionada ao transporte de prótons, até prejuízos relacionados à produção de ATP, alterando a morfologia da parede celular, causando vazamentos de proteínas inerentes à funcionalidade do microrganismo e quebra de lipídios na membrana celular (Bhayaniramy et al., 2019; Hou et al., 2022). A Figura 3 resume o modo de ação de OEs em microrganismos em geral

Figura 3. Modo de ação antimicrobiana de óleos essenciais



Fonte: Adaptado de Angane et al 2022.

De acordo com Nonato et al. (2023), Extratos etanólicos das espécies de *L. gracilis*, *L. sidoides* e *L. alba* apresentam compostos flavonoides como quercetina e naringenina, os quais demonstram capacidade de ligar-se a receptores de serotonina e dopamina, sugerindo uma participação benéfica na neurotransmissão de hormônios anti-ansiolíticos e antidepressivos. Esses autores avaliaram a atividade antimicrobiana de extratos etanólicos e de OEs das plantas, obtendo CIMs que variam de 53,3 $\mu\text{g/mL}$ para o OE de *L. sidoides* contra *Staphylococcus aureus* a concentrações acima de 1mg/mL para cepas de *L. monocytogenes*. Para o OE de *L. gracilis*, o menor valor de CIM foi de 426,6 $\mu\text{g/mL}$ contra a cepa de *E. coli*, enquanto seu extrato etanólico obteve CIM 256 $\mu\text{g/mL}$ para o mesmo microrganismo.

O OE de *L. gracilis* possui cor amarelada, insolubilidade em água, odor forte, cítrico e com grande viscosidade (Figura 4). Ao longo dos anos, vários pesquisadores têm estudado diversas aplicações do óleo essencial de *Lippia gracilis*. Melo et al (2013) avaliaram a atividade antidermatofítica e leishmanicida do OE de *L. gracilis*, notando que em concentrações de 80 $\mu\text{g/mL}$, o OE foi eficaz contra os promastigotas e que ainda tinha ação antifúngica contra o dermatófito *T. rubrum*. Santos et al (2016) relataram a atividade amebicida dos OEs de *Lippia sidoides*, *L. gracilis*, *L. alba* e *L. pedunculosa* contra trofozoítos de *Acanthamoeba polyphaga*, patógeno oportunista que pode causar a ceratite e encefalite amebiana. Após 24h de exposição a concentração de 40 $\mu\text{g/mL}$

e sem apresentar toxicidade para animais não alvos. Monteiro et al (2020) avaliaram o efeito inseticida do OE de *L. gracilis* contra larvas *Spodoptera frugiperda*, demonstrando que os componentes α -pineno, 1,8-cineol, β -pineno e limoneno demonstraram efeito tóxico significativo contra as larvas. Penha et al. (2021) compararam OEs de *L. gracilis* com OEs de *L. sidoides*, timol e carvacrol no combate a carrapatos bovinos. Os autores observaram que a ação dos OEs foi mais eficaz que a ação dos terpenos isolados, provocando irregularidades histológicas e afetando o desenvolvimento embrionário do *Rhipicephalus microplus*. Gomes et al. (2022) avaliaram a atividade esquistossomocida de *L. gracilis* e *L. alba* e concluíram que os monoterpenos presentes nos OEs foram responsáveis por diminuir a oviposição de ovos e reduzir a atividade motora, causando a morte dos vermes equistosomídeos e *S. mansoni*.

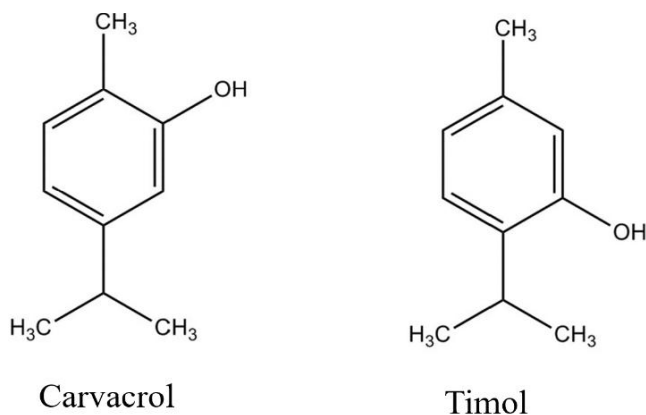
Figura 4. Óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer



Fonte: Autor (2025)

Os compostos majoritários das plantas são timol e carvacrol, com suas estruturas abordadas na figura 08 a seguir. *L. gracilis* tem como composto majoritário o carvacrol para todos os acessos, com exceção do LGRA106, sendo para este, o timol constituindo 60% da planta.

Figura 5. Estruturas químicas do timol e carvacrol



Mendes et al (2010) utilizaram OE de *L. gracilis* para avaliar seu efeito antinoceptivo e antiinflamatório *in vivo* contra a formação de edema induzido por carragenina. No estudo, 200 mg/kg do OE conseguiu diminuir a migração de leucócitos para a região da lesão, demonstrando assim que o composto majoritário do OE tinha um efeito benéfico para evitar a inflamação programada. Posteriormente, notaram ainda que as concentrações de 10, 30 e 100 mg/Kg conseguiu também demonstrar efeito cicatrizante quando as feridas foram tratadas com o timol sendo acrescentado em curativos a base de colágeno.

A atividade antiinflamatória do timol foi avaliada por Erzurumlu et al (2022) quando os autores descreveram seu potencial protetor contra o estresse lisosomal induzido por LPS (lipopolissacarídeos), administrado em células que foram expostas por 24h. Quando o timol foi utilizado, os autores perceberam que as concentrações de 25, 50 e 100 μ M eram responsáveis por diminuir o número de proteínas relacionadas à inflamação.

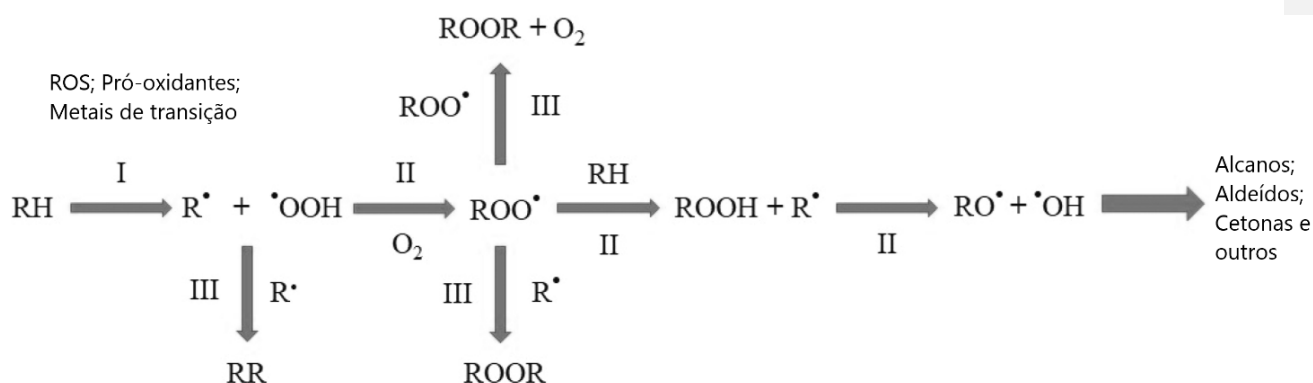
O monoterpeno consegue inibir a síntese de citocinas, suprimir a fosforilação de NF- κ B p65, IKK e I κ B α , proteínas relacionadas aos fatores de transcrição que orquestram o desencadeamento da reação inflamatória (Yao et al., 2018).

Por ser isômero do timol, o carvacrol também tem propriedades químicas semelhantes, já que são derivados do cimenó (Zamuner et al., 2023). Também existem relatos de sua ação antimicrobiana, antioxidante, anticâncer (Taibi et al., 2024; Nonato et al., 2023; Hajibonabi et al., 2023).

A ação antioxidante, por sua vez, depende de compostos que tenham como característica a prevenção, atraso ou bloqueio total da peroxidação lipídica em sistemas biológicos, podendo ser divididos em preventivos e quebradores de cadeia (Valgimigli et al., 2023). Os antioxidantes preventivos tendem a impedir a formação do radical alquila inicial, e dessa forma, o ciclo de propagação da cadeia não é iniciado. Já os antioxidantes quebradores de cadeia conseguem aprisionar os radicais alquilas. É indispensável que essa reação seja mais veloz que a taxa com que os radicais instáveis consomem os lipídios do meio (Valgimigli et al., 2023).

De acordo com Valgimigli et al (2023), a peroxidação lipídica ocorre obedecendo três fases: a iniciação, a propagação e a terminação. Na fase inicial, um composto estável pode ser atacado por um radical alquila ($R\bullet$), geralmente hidroperoxila ($HOO\bullet$) ou o radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$). Essa interação é responsável pela formação de radicais peroxilas ($ROO\bullet$) ou hidroperoxídeos lipídicos ($ROOH$), os quais podem atacar membranas celulares de modo a desfavorecer a homeostase e gerar uma reação oxidativa em cadeia (Lobo et al., 2010). A fase de propagação pode ser catalisada por

Figura 6. Síntese da oxidação lipídica



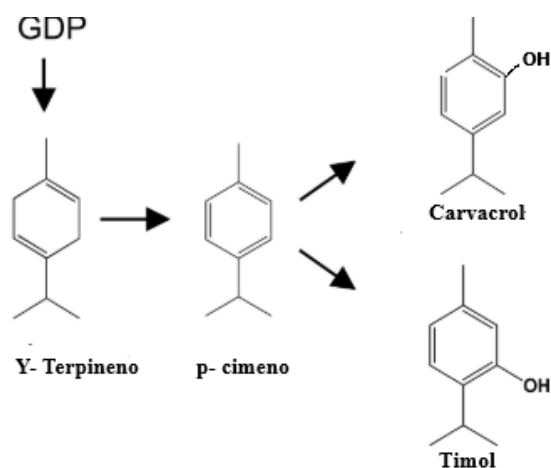
Fonte: Adaptado de Hadidi et al (2022)

Os antioxidantes, por sua vez, impedem parcialmente ou totalmente o acontecimento dessas reações de duas maneiras: podem transferir elétrons ou átomos de hidrogênio para os radicais iniciadores da reação ou aos radicais intermediários, na fase de propagação da oxidação (Siddeeg et al., 2021). O carvacrol, por exemplo, doa elétrons para estabilizar radicais alquilas e dessa forma, impedem a propagação da oxidação (Guo et al., 2021), enquanto o timol, por sua vez, pode gerar hidroxilas que se ligam com os radicais alquilas e a reação seja diminuída ou totalmente inibida (Zhang et al., 2024).

A biossíntese dos dois monoterpenos pode ser realizada pela via do ácido mevalônico, que sofre uma aromatização e na sequência, forma o p-cimeno, o qual passa por um processo de hidroxilação e pode gerar como composto o carvacrol ou o timol (Imran et al., 2022), porém, existem autores que listam o [γ-Terpineno](#) como precursor do p-cimeno, e atribuem a este, uma estrutura intermediária entre os monoterpenos timol e carvacrol, contudo, esse ciclo não parece ser desenvolvido na via do mevalonato (Krause et al., 2021).

De acordo com Krause et al (2021), o difosfato de geranila (GDP) é o substrato utilizado para a biossíntese de muitas enzimas conhecidas como terpenos sintases, passíveis de sofrer ionização e gerarem estruturas intermediárias aos isômeros timol e carvacrol. O [γ-Terpineno](#) é um hidrocarboneto cíclico precursor do p-cimeno, um hidrocarboneto que passa por aromatização. Curiosamente, alguns autores relatam a alta presença de [γ-Terpineno](#) em OEs que apresentam o timol ou carvacrol como componentes majoritários (Melo et al., 2019), o que pode corroborar com os relatos apresentados por Krause et al (2021). A figura 09 a seguir demonstra os processos químicos que regem a formação dos monoterpenos timol e carvacrol.

Figura 7. Biossíntese do timol e carvacrol



Fonte: Adaptado de Krause et al., 2021

Conforme abordado na imagem, p-cimeno é isômero do [γ-Terpineno](#) e isso pode justificar algumas propriedades semelhantes, sendo destacadas as atividades inseticida, antimicrobiana, antioxidante, antiinflamatória, fungicida e antitumoral (Marchese et al., 2017; Fialova et al., 2021; Shareef et al., 2022).

Santos et al. (2016) avaliaram o efeito da época de colheita e da origem geográfica no óleo essencial de acessos de *L. gracilis*. Na pesquisa, os autores coletaram as folhas de plantas após 1 e 4 anos de idade e extraíram o óleo essencial. A quantidade de OE extraída da planta com 4 anos quase dobrou em relação à planta com 1 ano, sugerindo uma maturidade da planta na segunda colheita. As porcentagens dos compostos majoritários timol e carvacrol para as plantas com 1 e 4 anos de idade para os diferentes genótipos foram: 59,26% e 55,19% para LGRA106; 43,24% e 38,02% para LGRA107; 47,1% e 39,73% para LGRA 108; 48,99% e 40,36% para LGRA109; 48,91% e 43,30% para LGRA110; 35,28% a 28,18% para LGRA201 e 47,29% a 34,29% para LGRA202, respectivamente.

Em relação a atividade antimicrobiana do OE de *L. gracilis* alguns pesquisadores como Oliveira et al. (2020) tem demonstrado o potencial antifúngico deste óleo frente a cepas de *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Colletotrichum lindemuthianum*. Azevedo et al. (2014) usaram a metodologia de superfície de resposta através da modelagem preditiva contra *S. aureus* ($R^2=0,84$), *B. subtilis* ($R^2=0,94$), *S. marcescens* ($R^2=0,92$) e *S. Enteritidis* ($R^2=0,88$). Na pesquisa, utilizaram formulações a base de quitosana e amido de mandioca enriquecida com óleo essencial de *L. gracilis*, obtendo diâmetros da zona de inibição com forte

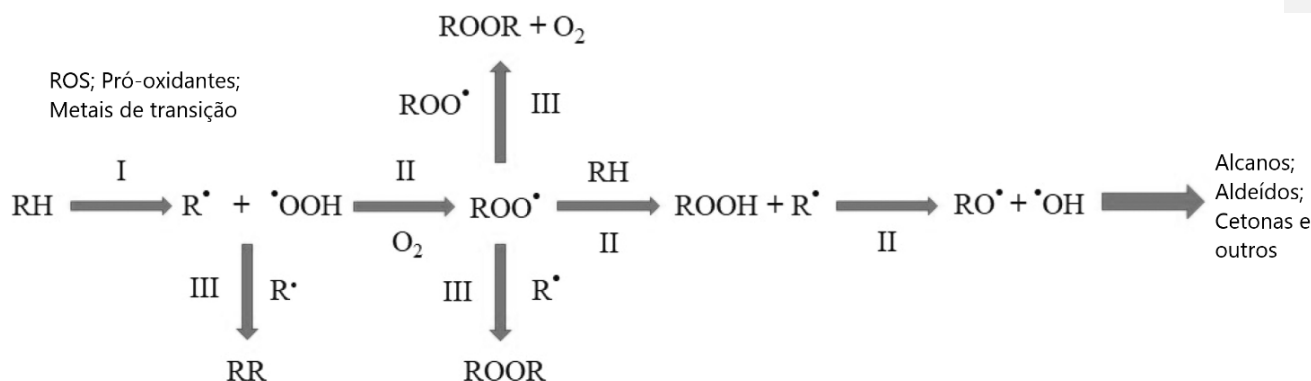
OEs inibiram as cepas de *L. monocytogenes*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. Enteritidis*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus* e *S. marcescens*. Posteriormente, aplicaram as formulações 14, 15 e 16 (2,0% de amido de mandioca, 2,0% de quitosana e 1,0%, 2% e 3% de OE, respectivamente) na vida útil de goiabas, observando que as frutas que foram revestidas com as formulações apresentaram uma menor contagem de bolores e leveduras, o desenvolvimento da cor do fruto foi inibido e o escurecimento do fruto e seu amadurecimento foram retardados.

A problemática da resistência microbiana aos antibióticos é frequentemente abordada em estudos avançados que buscam vias alternativas no combate a microrganismos resistentes a medicamentos convencionais, como ampicilina, cloranfenicol e cefalexina (Zhao et al., 2021). Por isso, o uso de óleos essenciais é uma prática que pode ser utilizada como opção para o combate de infecções, fornecendo resultados promissores, causando pouco ou nenhum efeito colateral histológico, morfológico ou fisiológico em animais submetidos a testes com diferentes concentrações do e OE (Bulhões et al., 2022; Santos et al., 2023). Uma ferramenta bastante útil para otimizar a aplicação de agentes antimicrobianos é a microbiologia preditiva.

Compostos antioxidantes têm como característica a prevenção, atraso ou bloqueio total da peroxidação lipídica em sistemas biológicos, podendo ser divididos em preventivos e quebradores de cadeia (Valgimigli et al., 2023). Os antioxidantes preventivos tendem a impedir a formação do radical alquila inicial, e dessa forma, o ciclo de propagação da cadeia não é iniciado. Já os antioxidantes quebradores de cadeia conseguem aprisionar os radicais alquilas. É indispensável que essa reação seja mais veloz que a taxa com que os radicais instáveis consomem os lipídios do meio (Valgimigli et al., 2023).

De acordo com Valgimigli et al (2023), a peroxidação lipídica ocorre obedecendo três fases: a iniciação, a propagação e a terminação. Na fase inicial, um composto estável pode ser atacado por um radical alquila ($R\bullet$), geralmente hidroperoxila ($HOO\bullet$) ou o radical superóxido (O_2^-). Essa interação é responsável pela formação de radicais peroxilas ($ROO\bullet$) ou hidroperóxidos lipídicos ($ROOH$), os quais podem atacar membranas celulares de modo a desfavorecer a homeostase e gerar uma reação oxidativa em cadeia (Lobo et al., 2010). A fase de propagação pode ser catalisada por íons metálicos presentes no meio, ocorrendo uma desidroxilação da hidroperoxila, gerando $OH\bullet$, radicais alcóxila ($RO\bullet$) ou peróxido de oxigênio (H_2O_2), os quais podem se ligar entre si e gerar novos radicais que vão repetir o ciclo novamente, até que formem uma molécula estável como alcanos, aldeídos ou cetonas, que não são mais passíveis de sofrer oxidação, finalizando o ciclo

Figura 8. Síntese da oxidação lipídica



Fonte: Adaptado de Hadidi et al (2022)

Os antioxidantes, por sua vez, impedem parcialmente ou totalmente o acontecimento dessas reações de duas maneiras: podem transferir elétrons ou átomos de hidrogênio para os radicais iniciadores da reação ou aos radicais intermediários, na fase de propagação da oxidação (Siddeeg et al., 2021). O carvacrol, por exemplo, doa elétrons para estabilizar radicais alquilas e dessa forma, impedem a propagação da oxidação (Guo et al., 2021), enquanto o timol, por sua vez, pode gerar hidroxilas que se ligam com os radicais alquilas e a reação seja diminuída ou totalmente inibida (Zhang et al., 2024).

2.3 Modelagem preditiva

A microbiologia preditiva é utilizada para prever o comportamento de um microrganismo frente às condições pré-estabelecidas de parâmetros tais como temperatura, concentração de nutrientes, pH, presença ou não de agentes antimicrobianos, oxigênio, dentre outros, utilizando modelagem matemática (Martinez et al., 2023). Esta ferramenta poderosa tem sido amplamente usada, por exemplo, para garantir a segurança e a qualidade dos alimentos de forma econômica e rápida (Baranyi et al., 2024). Tais previsões são resultantes de observações atuais, e a forma de gerá-las é a modelagem matemática (Baranyi et al., 2024).

Os modelos preditivos podem ser divididos em modelos primários, secundários e terciários. O modelo primário leva em consideração as respostas bacterianas de crescimento e sobrevivência em função do tempo, em um ambiente constante. A variável resposta "ideal" é a concentração bacteriana, determinada por técnicas de plaqueamento em meio ágar, ou seja, expressa em Unidades Formadoras de Colônias. Pode também ser determinada indiretamente por densidade óptica ou técnicas de qPCR (Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa), entretanto tais metodologias

como a mudança instantânea de um sistema no instante t depende do estado do sistema naquele instante (Baranyi et al., 2024).

O modelo primário de Baranyi e Roberts (1994) é usado para descrever as variações na concentração do microrganismo em função do tempo e pode ser descrito pelas equações a seguir:

$$y(t) = y_0 + \mu_{\max} A(t) - \ln\left\{1 + \frac{e[\mu_{\max} A(t)] - 1}{e(y_{\max} - y_0)}\right\}$$

$$A(t) = t + \frac{1}{v} \cdot \ln\left(1 + \frac{\exp(-vt) + q_0}{1 + q_0}\right)$$

$$\text{Onde } v = \mu_{\max} \text{ e } q_0 = \frac{p_0}{Kp} = \frac{1}{\exp(h_0) - 1}$$

$$\text{Lag} = \lambda = \frac{h_0}{\mu_{\max}}$$

$$\text{Onde } h_0 = \ln\left(1 + \frac{1}{q_0}\right)$$

Onde : $y(t)$: população microbiana no tempo t [$\log(\text{UFC.mL}^{-1})$];

y_0 : população microbiana inicial no tempo t_0 [$\log(\text{UFC.mL}^{-1})$];

$\mu_{\max}$: taxa de crescimento máxima [$\log(\text{UFC.mL}^{-1} \cdot \text{h}^{-1})$];

m : parâmetro relacionado à curvatura depois da fase exponencial;

$y_{\max}$: população microbiana máxima [$\log(\text{UFC.mL}^{-1})$].

O modelo de Gompertz é um dos primeiros modelos estudados e aplicados. O modelo de Gompertz modificado é extremamente eficaz na descrição de microrganismos e é um dos modelos mais amplamente utilizados (Máximo, k. 2023) Cui et al., 2023). É definido pela seguinte equação:

$$L(C) = L(C_0) - [L(C_{\max}) - L(C_0)] \{e^{-\mu_G(t-M)}\}$$

Onde L é o operador logarítmico,;

C_0 : Concentração celular inicial ($\log(\text{UFC.mL}^{-1})$);

$C_{\max}$: Concentração celular final ($\log(\text{UFC.mL}^{-1})$);

μ_G : Taxa de crescimento relativa em $t=M$, que é o ponto de corte da curva

Os modelos secundários avaliam a taxa de crescimento frente à mudança de um, dois ou mais

onde K: Taxa de crescimento [$\log (\text{UFC.mL}^{-1})$];

T: Temperatura (K);

C_0, C_1 e C_2 são coeficientes de regressão.

Os modelos terciários descrevem como os parâmetros de um modelo secundário dependem de variáveis explicativas diferentes daquelas que caracterizam o ambiente; por exemplo, categorias como espécie/cepa ou alimento (Baranyi et al., 2024). Para aplicar o modelo terciário em larga escala, após a validação matemática pode ser feita uma previsão da resposta através de testes robustos em pequena escala. Esses testes somente servirão como base quando existir uma aplicabilidade em um modelo exemplar diferente do qual ele foi criado (Stavropoulou; Bezirtzoglou, 2019), como o modelo descrito por Rosso et al (1993), abordado pela equação:

$$\mu_{\text{máx}} = \frac{\mu_{\text{ot}}(T - T_{\text{max}})(T - T_{\text{min}})^2}{(T_{\text{ot}} - T_{\text{min}})[(T_{\text{ot}} - T_{\text{min}})(T - T_{\text{ot}}) - (T_{\text{ot}} - T_{\text{max}})(T_{\text{ot}} + T_{\text{max}} - 2T)]}$$

onde $\mu_{\text{máx}}$ e μ_{ot} : Taxa de crescimento máximo e taxa de crescimento ótimo, respectivamente;

T: temperatura;

T_{min} e T_{max} : Temperatura mínima e máxima requerida pelo microrganismo, respectivamente

Alguns pesquisadores como Abdollahzadeh et al (2017) desenvolveram um sistema de inferência neurofuzzy adaptativo (ANFIS) para prever a população de *Listeria monocytogenes* em função de concentrações de óleo essencial de canela e nanopartículas de zinco. Os autores conseguiram melhor precisão de previsão com o modelo ANFIS em comparação com outros modelos. Além disso, os autores também obtiveram diminuição de contagens bacterianas em caldo legumes com o aumento das concentrações de óleo de canela e partículas de zinco. Azevedo et al (2014) usaram a metodologia de superfície de resposta como ferramenta de modelagem preditiva para avaliar o efeito de concentrações variadas de quitosana, fécula de mandioca e óleo essencial de *L. gracilis* na inibição de bactérias patogênicas. Modelos matemáticos de halos de inibição em função das concentrações dos componentes das formulações foram obtidos para as bactérias *S. aureus* ($R^2=0,84$), *B. subtilis* ($R^2=0,94$), *S. marcescens* ($R^2=0,92$) e *S. Enteritidis* ($R^2=0,88$). Taghizadeh também utilizaram a metodologia de superfície de resposta para prever a influência das variáveis temperatura, concentração de Cloreto de Sódio (NaCl), concentrações de OE de *Zataria multiflora* e tempo de exposição em hambúrgueres contaminados por *E. coli*, *S. aureus* e *L. monocytogenes*.

communis e *H. italicum* seria mais eficaz contra a *E. coli* e *S. aureus* (R^2 0,999), enquanto o MDM foi menos preciso para *E. coli* (R^2 =0,981) e *S. aureus* (R^2 = 0,950).

Konuchova et al (2024) usaram a modelagem para prever o crescimento de *Mucor circinelloides*, um fungo contaminante do queijo. Os modelos de Baranyi e Huang foram empregados e obtiveram resultados similares para as taxas de crescimento ótimo do fungo em bases de queijo, observando uma taxa de crescimento de 6,8 mm e 6,5mm, temperaturas máximas de 37,2°C e 37,3°C para os modelos de Baranyi e Huang, respectivamente, no entanto, o modelo de Baranyi revelou um maior tempo na fase lag em comparação com o modelo de Huang.

Markowska-Szczupak et al (2024) usaram OE extraídos de *Thymus vulgaris* L. e *Rosmarinus officinalis* expostos a campos magnéticos rotativos contra cepas de *E. coli*. Através da metodologia de superfície de resposta, observaram que após 40min de contato do OE de *Thymus vulgaris* sob exposição aos campos magnéticos, houve a remoção bacteriana total das cepas em 50mL de água. O OE de *Rosmarinus officinalis* teve uma atividade mais branda, necessitando de cerca de 180min para a remoção das cepas.

A aplicação da microbiologia preditiva, dessa maneira, torna-se uma alternativa útil para a indústria alimentícia pela sua gama de aplicações, seja na avaliação de risco microbiano, estimativa de validade, controle de qualidade e a previsão do comportamento microbiano, se consolidando como uma ferramenta plausível para a tomada de decisões do produtor (Tarlak, 2023).

2. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar o potencial antimicrobiano e antioxidante de óleos essenciais de diferentes genótipos de *Lippia gracilis* Schauer

3.2. Objetivos Específicos

- Coletar as folhas da planta *L. gracilis* e extrair os óleos essenciais;
- Avaliar a atividade antioxidante dos óleos essenciais;
- Determinar a atividade antibacteriana dos óleos pela técnica de difusão em discos;
- Determinar as concentrações inibitória mínima e bactericida mínima dos óleos essenciais frente a diferentes cepas bacterianas.
- Selecionar o óleo mais eficiente para a inibição/eliminação bacteriana e obter modelos preditivos do crescimento bacteriano em função da variação de condições de pH, concentrações de óleo essencial e combinações pH + óleo essencial.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Os reagentes e meios de cultivo utilizados nas análises foram agrupados e serão apresentados na tabela 01.

Tabela 1. Reagentes e meios de cultura utilizado nas análises

Reagentes/Meios de cultura	Fabricante	Cidade	País
Caldo Muller Hinton	IonCult	-	Índia
Ágar Muller Hinton	HIMEDIA	Maharashtra	Índia
Caldo BHI	IonCult	-	Índia
Ágar BHI	HIMEDIA	Maharashtra	Índia
Cloreto de Sódio (NaCl)	ACS	Sumaré	Brasil
Ácido clorídrico (HCl)	ALPHATEC	-	Brasil
Hidróxido de Sódio (NaOH)	Dinâmica	Sumaré	Brasil
Persulfato de Potássio (k ₂ S ₂ O ₈)	ACS	Sumaré	
Cloreto de Ferro (FeCl ₃ 6H ₂ O)	ACS	Sumaré	Brasil
Dimetilsulfóxido (DMSO)	ACS científica	Sumaré	Brasil
DPPH	SIGMA	-	Alemanha
ABTS	SIGMA	-	China
TROLOX	SIGMA	-	Suíça
TPTZ	CHEM-IMPEX	-	
Metanol	ACS	Sumaré	Brasil
Etanol	ACS	Sumaré	Brasil

foram obtidos conforme demonstrado na Tabela 2, sendo total de 07 genótipos: LGRA106, LGRA 107, LGRA108, LGRA109, LGRA110, LGRA201 e LGRA202. Após a coleta, as folhas foram retiradas, pesadas e secas em estufa a 40°C por 05 dias. Posteriormente, foi realizada a hidrodestilação para a obtenção dos óleos essenciais (OEs).

Tabela 2. Identificação e origem geográfica dos genótipos de *L. gracilis* Schauer ativas no banco de germoplasma da UFS

Genótipos	Origem	Código do herbário	Dados geográficos
LGRA 106	Tomar do Geru, Sergipe	14733	11 19' 16,7" S; 3755'09,2" W
LGRA 107	Tomar do Geru, Sergipe	14737	11°19'20.1"S; 37°55'13.5"W
LGRA 108	Tomar do Geru, Sergipe	14734	11°19'22.4"S; 37°55'12.6"W
LGRA 109	Tomar do Geru, Sergipe	14735	11°19'20.7"S; 37°55'16.9"W
LGRA 110	Tomar do Geru, Sergipe	14732	11°19'21.1"S; 37°55'14.9"W
LGRA 201	Rio Real, Bahia	14736	11°23'38.7"S; 38°00'54.1"W
LGRA 202	Rio Real, Bahia	14731	11°23'45.3"S; 38°00'51.3"W

Fonte: Santos et al. (2016)

4.3. Hidrodestilação

Os OEs foram obtidos através de hidrodestilação seguindo método utilizado por Guilhon et al. (2011) no Laboratório do Departamento de Agronomia. Foi utilizado o aparelho de Clevenger (Figura 05), composto por uma manta aquecedora, um balão com volume de 3L, uma proveta graduada de 7mL e um condensador. No balão volumétrico foram adicionados 1,5L de água destilada juntamente com lotes separados de 100g de folhas secas da planta. O conjunto foi aquecido até o ponto de ebulição da água e o óleo essencial foi coletado na proveta graduada, sendo posteriormente separado de forma manual após 2h procedimento. As amostras foram conservadas a 4°C em um refrigerador até o momento de sua utilização.

Figura 9. Aparelho de Clevenger



Fonte: Autor, 2025

Os compostos majoritários dos óleos destas plantas têm sido previamente identificados por Santos et al., (2016) através de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas e detecção de ionização de chama (QP2010 Ultra, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) conforme Tabela 03.

Tabela 3. Compostos majoritários dos OEs de *L. gracilis*

Compostos Majoritários	LGRA 106	LGRA 107	LGRA 108	LGRA 109	LGRA 110	LGRA 201	LGRA 202
p-Cimeno	5,84%	11,87%	12,65%	14,79%	12,69%	12,91%	15,65%
γ-Terpineno	4,02%	16,12%	11,00%	10,36%	13,08%	21,81%	12,26%
Metil-timol	7,82%	4,39%	6,02%	5,04%	4,65%	0,21%	4,67%
Timol	55,19%	3,52%	3,03%	2,46%	2,93%	4,45%	2,54%
Carvacrol	2,76%	38,02%	39,73%	40,36%	43,30%	28,18%	34,29%
β-caryofileno	9,93%	6,08%	4,03%	7,92%	4,66%	7,44%	5,10%

Fonte: Santos et al. (2016)

4.4. Cepas bacterianas

Nesse estudo foram utilizadas bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo: *Bacillus cereus* (CBAM 0353), *Bacillus subtilis* (CBAMdf 0441), *Escherichia coli* (CBAM 0002), *Pseudomonas aeruginosa* (CBAM 0679, *Staphylococcus aureus* (CBAM 0629), *Serratia marcescens* CBAM 0519) e *Salmonella* Typhimurim (CBAM 0018) foram adquiridos da Fundação Oswaldo Cruz Instituto Leônidas e Maria Deane. Coleção de bactérias da Amazônia (CBAM)

e a análise microscópica para confirmação da pureza. Estoques de culturas puras dos isolados foram mantidos a -80°C em meio Muller-Hinton contendo glicerol.

4.5. Determinação da atividade antibacteriana pela técnica de difusão em discos

A determinação da atividade antimicrobiana foi realizada através da técnica de difusão em discos segundo protocolo descrito pelo *Committee for Clinical Laboratory Standards* (CLSI, 2012). Cada cepa foi semeada em ágar Muller-Hinton por um período de 24 h. Posteriormente, as colônias foram coletadas e adicionadas em solução salina 0,85% até obter a turvação 0,5 da escala de Macfarland, correspondendo a $1-2 \times 10^8$ UFC/mL e no leitor de microplacas *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) a 630 nm correspondendo a absorvância de 0,08 a 0,1.

As cepas foram semeadas nas placas contendo ágar Muller Hinton com auxílio de swab e adicionou-se discos de papel de 6mm contendo 15µL de cada OE puro. Os antibióticos cloranfenicol e enrofloxacin(30µg) foram utilizados como controle positivo. Em seguida, as placas foram incubadas a 35°C por 18 horas. Após este tempo, os halos de inibição foram medidos com paquímetro. Os experimentos foram realizados em triplicata. A sensibilidade das bactérias aos óleos foi classificada conforme proposto por Ponce et al. (2003) como: não sensível (diâmetros < 8 mm); sensível (diâmetros entre 9-14 mm); muito sensível (diâmetros entre 15-19 mm) e extremamente sensível (diâmetros > 20 mm).

4.6. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos óleos essenciais

4.6.1 Preparo das concentrações dos óleos essenciais

A massa correspondente a 300 µL de OE foi pesada e adicionada à 1 mL de solução a 1% de DMSO estéril e a concentração inicial (solução-mãe) de 339 µg/mL foi obtida. A partir desta, foram realizadas as diluições na microplaca, adicionando 200 µL da solução mãe no primeiro poço, retirando 100 µL deste e distribuindo no segundo poço, adicionando neste, 100 µL de DMSO. Esse procedimento foi realizado até o poço 10.

4.6.2 Preparação das suspensões microbianas

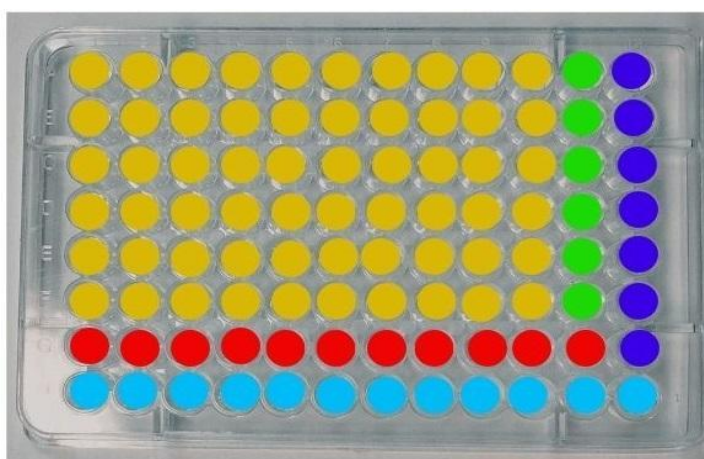
As suspensões bacterianas foram preparadas em solução salina 0,85% estéril na escala 0.5 Macfarland, que corresponde 1×10^8 UFC/mL. Em seguida, foi adicionado 100 µL desse inóculo em

4.6.3. Determinação da CIM dos óleos essenciais

Para a determinação da CIM dos óleos essenciais foram utilizadas placas de microtitulação estéreis contendo 96 poços dispostos em 08 linhas, distribuídas em ordem alfabética, da letra A até a J, e com 12 colunas enumeradas de 01 a 12, com fundo em formato U (Figura 6). Após as diluições dos óleos nos poços, foi adicionado 100 μ L da suspensão bacteriana (cor amarela). Na linha H, nas colunas de 1 a 12 (azul ciano), foram adicionados 200 μ L do meio de cultura Caldo Muller-Hilton para controle negativo. Na coluna 11 da linha de A até a linha G, foram colocados 100 μ L da suspensão de cada cepa microbiana diluída e 100 μ L do caldo Muller-Hilton para o controle positivo (verde). Na linha H, de 1 a 11 (vermelho), adicionou-se 100 μ L do óleo essencial nas diferentes concentrações para controle de esterilidade. Na coluna 12, da linha A a H (azul escuro), foi adicionado apenas o DMSO.

A absorbância de cada poço à 630 nm foi obtida no Elisa, e posteriormente, as placas foram tampadas e incubadas a 37°C por 24 horas. Os experimentos foram realizados em triplicatas. A CIM foi considerada a menor concentração a partir da qual não foi visualizado crescimento microbiano.

Figura 10. Procedimento para determinação da CIM na microplaca



Fonte: Autor (2025)

4.6.4 Determinação da CBM dos óleos essenciais

Dos poços onde não ocorreu crescimento microbiano visível foram retirados 100 μ L de amostras e semeados em placas de Petri contendo Ágar Muller-Hinton espalhadas com alças de Drigalsky. As placas foram incubadas a temperatura de 37°C por 24 horas.

4.7. Determinação da atividade antioxidante dos óleos essenciais

FRAP e posto para reagir no escuro por 30 min a 37°C. A leitura da absorbância foi feita a 593nm e os resultados foram expressos em µmol de Trolox/L. A concentração de trolox usada variou de 02 a 800 µmol/L para a obtenção da equação $y=0,0016x + 0,004$ ($R^2 = 0,9962$).

Para o preparo do DPPH, a solução foi homogeneizada em metanol. Posteriormente, 0,1 mL do extrato do OE foi adicionado a 3,9 mL do reagente, homogeneizada em agitador tipo vórtex e armazenada por 30 minutos no escuro. Em seguida, a absorbância foi determinada a 515nm e os resultados foram expressos em µmol de Trolox/L. A concentração de trolox usada variou de 60 a 900 µmol/L para a obtenção da equação $y=-0,0005x + 0,7003$ ($R^2 = 0,9943$)

Para o ABTS, a solução de persulfato de potássio foi adicionada à solução ABTS. Posteriormente, 30 µL do extrato foi adicionada a 2,970 mL da solução do cátion radicalar ABTS e mantida por 06 min no escuro. A absorbância foi determinada a 734nm e os resultados foram expressos em µmol de Trolox/L. A concentração de trolox usada variou de 30 a 2000 µmol/L para a obtenção da equação $y=-0,0004x + 0,663$ ($R^2=0,9994$)

4.8. Influência do pH e do óleo essencial na cinética de crescimento bacteriano

A construção de um modelo avaliador da cinética do crescimento microbiano *in vitro* foi proposta selecionando o óleo essencial que tivesse a melhor atividade antimicrobiana, com os menores valores de CIM e CBM. As três menores concentrações com ação bactericida do mesmo óleo foram selecionadas para avaliação de sua atividade individual e combinada com as variações de pH de 5,0, 6,0 e 9,0. O crescimento de cada cepa bacteriana foi avaliado conforme condições estabelecidas na Tabela 4 Os óleos foram diluídos em tween 80 e adicionados a tubos de ensaio contendo 10 mL caldo BHI e cepas bacterianas na escala 0,5 de MacFarland, com concentração inicial de 10⁸ UFC/mL. Para os experimentos com variação de pH, o meio BHI foi ajustado para o pH 5,0 e 6,0 com solução de ácido clorídrico 1M, e para pH 9,0 com solução de hidróxido de sódio 1M. Os tubos foram deixados sob agitação a 130 rpm durante 8h e conservados a 37°C. A cada hora, uma amostra era retirada para verificação de absorbância em aparelho de ELISA, com leituras realizadas a 630nm. Os experimentos foram realizados em triplicata.

Tabela 4. Tratamentos da cinética de crescimento microbiano

Tratamentos	Variação do pH	Concentração de OE (mg/mL)
01	5,0	-
02	6,0	-
03	9,0	-
04	-	1,32
05	-	2,64
06	-	5,28

13	9,0	1,32
14	9,0	2,64
15	9,0	5,29

4.8.1 Cinética de crescimento

As condições de crescimento foram realizadas com base na tabela 04 e ajustados à equação do modelo de crescimento microbiano utilizada por Baranyi e Roberts (1994), definido pela equação 1 a seguir.

Equação 1.

$$y(t) = y_0 + \mu_{\max} A(t) - \ln\left\{1 + \frac{e[\mu_{\max} A(t)] - 1}{e(y_{\max} - y_0)}\right\}$$

Na qual:

y(t): população microbiana no tempo t [log (UFC.mL⁻¹)];

y0: população microbiana inicial no tempo t0[log (UFC.mL⁻¹)];

µmáx: taxa de crescimento máxima [log (UFC.mL⁻¹.h⁻¹)];

m: parâmetro relacionado à curvatura depois da fase exponencial;

ymáx: população microbiana máxima [log (UFC.mL⁻¹)].

O outro modelo utilizando no presente estudo também foi desenvolvido seguindo Baranyi e Roberts (1994), sem levar em consideração a fase lag, seguindo a equação 2 abaixo.

Equação 2.

$$y(t) = y_0 + \mu_{\max} - \ln\left\{1 + \frac{e[\mu_{\max} A(t)] - 1}{e(y_{\max} - y_0)}\right\}$$

4.9 Análise estatística

Os resultados foram analisados utilizando o software Sisvar (1996), versão 2.0. Todas as análises realizadas foram feitas em triplicata e seus resultados foram expressos como média e desvio padrão. As médias foram comparadas através da análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

diâmetros menores que 8mm; sensível para diâmetros entre 9,0 mm e 14,0 mm; muito sensível para diâmetros de 15,0 mm a 19,0 mm e extremamente sensível para diâmetros superiores a 20 mm (Ponce et al., 2003).

Tabela 3. Medidas dos halos de inibição (mm)

Bactérias								
OE	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E.coli</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
LGRA106	35,5± 0,7 ^f	39,0± 1,4 ^a	38,0±0,0 ^b	48,0 ^c ±7,0 ^c	42,5 ^a ±0,7 ^a	12,0±0,0 ^d	35,0±0,0 ^a	6,0±0,0 ^b
LGRA107	73,1±0,7 ^b	22,0±2,8 ⁱ	34,0 ^c ±1,4 ^c	37,5±3,5 ^d	38,5±0,7 ^b	11,0±0,0 ^e	28,5±0,7 ^d	6,0±0,0 ^b
LGRA108	71,0± 4,9 ^c	27,5±3,5 ^f	31,0±1,0 ^e	35,0±0,0 ^f	35,0 ^c ±4,2 ^c	11,0±0,0 ^e	19,5 ⁱ ±0,7	6,0±0,0 ^b
LGRA109	80,2±0,0 ^a	26± 1,4 ^h	31,0±1,0 ^e	31,5±2,1 ^g	30,0±0,0 ^d	10,5±0,7 ^f	29,0 ^c ±1,4 ^c	6,0±0,0 ^b
LGRA110	34,0±0,0 ^g	37,0±0,0 ^b	33,5±0,7 ^d	36,0±1,4 ^e	6,0±0,0 ^g	12,0±0,0 ^d	28,0±2,8 ^e	6,0±0,0 ^b
LGRA201	36,0±0,7 ^c	28,5±2,1 ^c	29,5±0,7 ^f	51,0±1,4 ^b	6,0±0,0 ^g	12,5 ^c ±0,7 ^c	27,0±1,4 ^f	6,0±0,0 ^b
LGRA202	41,4±2,1 ^d	35,0±0,0 ^c	39,0±1,0 ^a	61,0±1,4 ^a	6,0±0,0 ^g	12,0±0,0 ^d	32,0±1,4 ^b	6,0±0,0 ^b
Cloranfenicol	21,0±0,7 ⁱ	25,0 ^g ±0,7 ^g	38,0±0,0 ^b	20,0±0,7 ⁱ	25,0±0,7 ^f	28,0±0,0 ^b	25,0±0,7 ^h	28,0±1 ^a
Enrofloxacina	27,0±0,7 ^h	30,0±0,7 ^d	38,0±1,0 ^b	25,0±0,0 ^h	26,0±1,0 ^e	32,0±0,0 ^a	26,0±1,0 ^g	28,0±0,7 ^a

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam que houve diferença significativa entre as amostras ($p \leq 0,05$) pelo Teste de Tukey.

Fonte: Autor (2025)

As cepas *B. cereus*, *B. subtilis*, *E. coli* e *E. faecalis* foram extremamente sensíveis a todos os OEs (halos de inibição >20,0mm). Por outro lado, *S. Typhimurium* foi extremamente sensível apenas aos óleos LGRA106, LGRA107, LGRA108 e LGRA109 (halos de 30mm a 42,5mm), e não sensível aos óleos LGRA110, LGRA201 e LGRA202 (halos<8,0mm). A *S. marcescens* demonstrou menor sensibilidade a todos os OEs, com halos variando de 11,0 mm a 12,5 mm. A cepa mais sensível aos OEs foi a *B. cereus*, com halos entre 34,0mm e 80,2 mm (tabela 5).

O LGRA202 foi o óleo mais efetivo contra *B. cereus* (80,2mm $\pm$ 2,1), *E. coli* (39mm $\pm$ 1,0) e *E. faecalis* (31mm $\pm$ 1,4) diferindo significativamente dos demais óleos ($p\leq 0,05$). Para as cepas de *B. subtilis*, *S. Typhimurium* e *S. aureus* o OE LGRA106 foi o mais eficaz ($p\leq 0,05$), com halos de 39,0mm ($\pm$ 1,4), 42,5mm ($\pm$ 0,7) e 35mm($\pm$ 0,0), respectivamente. O antibiótico enrofloxacin foi mais eficaz contra a cepa de *S. marcescens* (32mm $\pm$ 0,0), diferindo significativa dos OEs ($p\leq 0,05$). A cepa de *P. areuginosa* (28mm $\pm$ 0,0) só foi sensível aos antibióticos testados, não sendo observada diferença significativa entre eles ($p>0,05$). Os óleos LGRA202 e LGRA106 inibiram o maior número de cepas do que os demais, provavelmente isto ocorreu devido a maior porcentagem dos compostos timol (LGRA106) e carvacrol (LGRA202), ou mesmo graças a maior concentração de compostos secundários, como o metil-timol (7,82%) para LGRA106 e γ -Terpineno (12,26%) para o OE LGRA202. Todos os outros OEs também possuem um certo balanceamento na distribuição dos compostos secundários.

Com exceção do LGRA108, todos os OEs foram superiores ao cloranfenicol e a enrofloxacin para a cepa de *S. aureus*. Para a cepa de *B. cereus*, os OEs LGRA106 (35mm $\pm$ 0,7), LGRA 107 (73,1mm $\pm$ 0,7), LGRA109 (80,2mm $\pm$ 0,0) e LGRA202 (41,4mm $\pm$ 2,1) foram superiores ao cloranfenicol (21mm $\pm$ 0,0), e os demais, superiores a enrofloxacin (27mm $\pm$ 0,0). Para a cepa de *B. subtilis*, os OEs LGRA106 (39mm $\pm$ 1,4), LGRA110 (37mm $\pm$ 0,0) e LGRA202 (35mm $\pm$ 0,0) foram superiores a enrofloxacin (30mm $\pm$ 0,0), porém, os outros acessos dos OEs foram inferiores. Para a cepa de *E. faecalis*, todos os OEs obtiveram halos superiores a 25mm, sendo significativamente diferente dos dois antibióticos ($p\leq 0,05$). Contudo, para a *E. coli*, apenas o OE LGRA202 (39mm $\pm$ 1,0) foi mais eficaz, enquanto os antibióticos obtiveram maiores halos que todos os OEs (38mm $\pm$ 0,0). Para *S. Typhimurium*, os OEs LGRA106 (42,5mm $\pm$ 0,7), LGRA 107 (38,5mm $\pm$ 0,7), LGRA108 (35mm $\pm$ 4,2) e LGRA109 (30mm $\pm$ 0,0) foram superiores aos antibióticos.

A hidroxila livre e o anel fenólico contribuem para a atividade antimicrobiana dos óleos de *L*

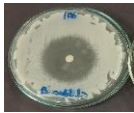
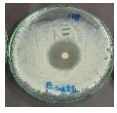
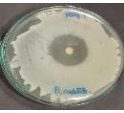
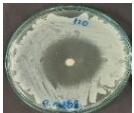
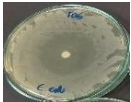
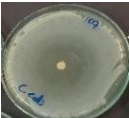
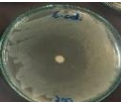
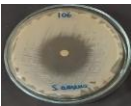
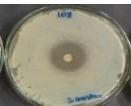
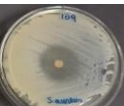
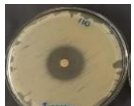
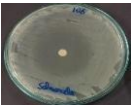
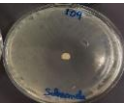
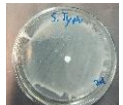
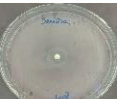
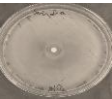
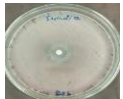
antimicrobiana, pois a interação entre todos os constituintes possui igual importância. No presente estudo, Dahham et al (2015) confirmaram a eficácia antibacteriana do β -cariofileno, relatando sua atividade antitumoral, sua capacidade de induzir a apoptose em células cancerígenas, através da condensação do núcleo, perda do potencial de membrana, danos na integridade e por consequência, a morte celular.

A resistência de bactérias gram-negativas a antimicrobianos é comumente associada a presença de uma membrana externa de lipopolissacarídeos (LPS), o que dificulta o contato de compostos hidrofóbicos de OEs com a bactéria, tornando-a mais impermeável, e pode contribuir para uma menor atividade de compostos antimicrobianos (Tavares et al., 2020). Dentre as cepas gram-negativas, a *E. coli* demonstrou a extrema sensibilidade a todos OEs. Este resultado pode sugerir uma conformação diferente entre os genótipos dos OE testados, seja uma formação de cadeia lateral que permite uma maior atividade antimicrobiana, ou mesmo a presença de um constituinte que permite uma maior facilidade de penetração na membrana do microrganismo (Basavegowda; Baek, 2021). Por outro lado, a *P. aeruginosa*, também gram-negativa, não foi sensível a nenhum óleo essencial, o que pode ser justificado pela possível formação de metalo- β -lactamase, uma enzima capaz de hidrolisar agentes antimicrobianos carbapenêmicos (Othain et al., 2024), ou pela presença de bombas de efluxo, proteínas transmembranares com função de secretar compostos intracelulares para o meio extracelular (Sinha et al., 2024). Essas características conferem ao microrganismo uma maior patogenicidade, visto que, genes que codificam essas ações são característicos da susceptibilidade bacteriana (Fortunato et al., 2023; Feng et al., 2024).

OEs possuem características hidrofóbicas e se relacionam com as bactérias através da membrana celular, principalmente de cepas gram-positivo, conseguindo dessa maneira, romper ou causar deformações, sendo dessa maneira, diretamente responsável pelo efluxo de íons, favorecendo a morte celular (Bhayaniramya et al., 2019).

Villagómez-Guzmán et al. (2025) obtiveram halos de inibição de 17,0, 11,0 e 24,0 mm para *E. faecalis*, *E. coli* e *S. aureus* respectivamente com OE de *Lippia callicarpifolia* Kunth, valores bem inferiores aos obtidos no presente estudo com os genótipos de *L. gracilis*. Já Samba et al (2020) avaliaram a atividade antibacteriana do OE de *Lippia multiflora* contra as cepas de *S. aureus* e *E. coli*, obtendo halos de inibição 29 mm e 25,67mm, respectivamente. Aqui, com exceção do LGRA108, todos os resultados para *S. aureus* foram acima de 25mm, e para a *E. coli*, o menor foi 31,5mm, conforme abordado na tabela 06.

Tabela 4. Halos de inibição através do método de difusão em disco

Microrganismos	LGRA106	LGRA107	LGRA108	LGRA109	LGRA110	LGRA201	LGRA202
<i>B. cereus</i>							
<i>B. subtilis</i>							
<i>E. coli</i>							
<i>E. faecalis</i>							
<i>S. aureus</i>							
<i>S. Typhimurium</i>							
<i>S. marcescens</i>							

5.2. Concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima dos OEs

Para testes antimicrobianos, é possível que a presença de um bioativo tenha o poder de não só inibir, mas também matar o microrganismo estudado. Por esse motivo, é necessário verificar ainda a ação bactericida do agente antimicrobiano (Pedreira et al., 2024). Os valores de CIM e CBM variaram entre 1,32mg/mL e 42,37 mg/mL (Tabela 6).

Dentre os OEs, destacou-se o LGRA109, com os menores valores de CIM (1,32mg/mL $\pm$ 0,0) para as cepas de *E. coli*, *E. faecalis*, *B. subtilis*, *S. marcescens* e *S. aureus* e CBM (1,32mg/mL $\pm$ 0,0) para a *S. marcescens*, sendo estatisticamente diferente das concentrações obtidas pelos demais óleos ($p \leq 0,05$). O OE apresentou a maior porcentagem do composto carvacrol (40,36%) e obteve percentual considerável para os compostos p-cimeno (14,79%) e γ -terpineno (10,36%). Contudo, o OE LGRA107 e LGRA202 apresentaram porcentagem semelhantes ao LGRA109 em todos os compostos, o que pode justificar também a atividade antimicrobiana similar, sendo o último, apresentando halos de inibição com diferença significativa em relação aos demais.

Tabela 5.Valores de CIM e CBM (mg/mL) dos OEs de *L. gracilis* frente a bactérias patogênicas

GENÓTIPOS	<i>B. cereus</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>E. coli</i>		<i>E. faecalis</i>		<i>S. Typhimurium</i>		<i>S. marcenscens</i>		<i>S. aureus</i>	
	CIM	CBM	CIM	CMB	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
LGRA106	21,18±0,0 ^d	42,37±0,0 ^c	42,37±0,0 ^d	42,37±0,0 ^d	1,32±0,0 ^a	1,32±0,0 ^a	42,37±0,0 ^d	42,37±0,0 ^c	2,64±0,0 ^a	5,29±0,0 ^b	21,18±0,0 ^d	21,18±0,0 ^d	21,18±0,0 ^c	21,18±0,0 ^c
LGRA107	21,18±0,0 ^d	42,37±0,0 ^c	21,18±0,0 ^c	42,37±0,0 ^d	2,64±0,0 ^b	5,29±0,0 ^c	5,29±0,0 ^c	42,37±0,0 ^c	21,18±0,0 ^c	21,18±0,0 ^d	10,59±0,0 ^c	10,59±0,0 ^c	5,29±0,0 ^b	5,29±0,0 ^b
LGRA108	2,64±0,0 ^a	2,64±0,0 ^a	21,18±0,0 ^c	21,18±0,0 ^c	21,18±0,0 ^d	42,37±0,0 ^d	42,37±0,0 ^d	42,37±0,0 ^c	10,59±0,0 ^b	10,59±0,0 ^c	21,18±0,0 ^d	21,18±0,0 ^d	21,18±0,0 ^c	42,37±0,0 ^d
LGRA109	5,29±0,0 ^b	5,29±0,0 ^b	1,32±0,0 ^a	2,64±0,0 ^a	1,32±0,0 ^a	2,64±0,0 ^b	1,32±0,0 ^a	21,18±0,0 ^b	2,64±0,0 ^a	2,64±0,0 ^a	1,32±0,0 ^a	1,32±0,0 ^a	1,32±0,0 ^a	5,29±0,0 ^b
LGRA110	42,37±0,0 ^c	42,37±0,0 ^e	42,37±0,0 ^d	42,37±0,0 ^d	42,37±0,0 ^e	42,37±0,0 ^d	42,37±0,0 ^d	42,37±0,0 ^c	>339±0,0 ^d	>339±0,0 ^e	42,37±0,0 ^e	42,37±0,0 ^e	42,37±0,0 ^d	42,37±0,0 ^d
LGRA201	21,18±0,0 ^d	21,18±0,0 ^d	21,18±0,0 ^c	21,18±0,0 ^c	5,29±0,0 ^c	5,29±0,0 ^c	5,29±0,0 ^c	2,64±0,0 ^a	>339±0,0 ^d	339±0,0 ^e	2,64±0,0 ^b	2,64±0,0 ^b	5,29±0,0 ^b	5,29±0,0 ^b
LGRA202	10,59±0,0 ^c	10,59±0,0 ^c	5,29±0,0 ^b	5,29±0,0 ^b	5,29±0,0 ^c	5,29±0,0 ^c	2,64±0,0 ^b	2,64±0,0 ^a	>339±0,0 ^d	339±0,0 ^e	1,32±0,0 ^a	1,32±0,0 ^a	1,32±0,0 ^a	1,32±0,0 ^a

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam que houve diferença significativa entre as amostras (p ≤ 0, 05) pelo Teste de Tukey. Fonte: Autor (2025)

Os OEs que demonstraram maior efeito bactericida, ou seja, eliminaram cepas com menores valores de CBM ($1,32 \text{ mg/mL} \pm 0,0$), foram LGRA106, LGRA109 e contra *E. coli*, *S. marcescens* e *S. aureus*, fato que pode ser relacionado a porcentagem dos componentes majoritários, como carvacrol (40,36%) (LGRA109) e timol 55,19% (LGRA106). A anfipaticidade dos compostos timol e carvacrol explica suas interações com biomembranas e, portanto, a atividade antimicrobiana. A porção hidrofílica da molécula interage com a parte polar da membrana celular, enquanto o anel benzênico hidrofóbico e as cadeias laterais alifáticas se depositam na parte interna hidrofóbica da membrana bacteriana. O grupo hidroxila dos compostos atuam na formação de ligações de hidrogênio e a acidez também podem influenciar no efeito antimicrobiano (Cristani et al., 2007).

Por outro lado, o LGRA110 apesar de conter 48,7% de carvacrol foi o óleo com maior valor de CBM (de $42,37 \text{ mg/mL}$ a $>339 \text{ mg/mL}$) para todas as cepas testadas. O OE LGRA110 e LGRA202 foram as amostras que apresentaram maior porcentagem do composto p-cimeno (16,69% e 15,65%, respectivamente). Segundo Cristani et al (2007) o p-cimeno possui menor atividade antimicrobiana que o timol e o carvacrol. O p-cimeno é mais lipofílico e solúvel em água do que timol e carvacrol. É hipotetizado que a atividade antibacteriana dos terpenos seja também parcialmente associada a absorção dos mesmos pelas membranas lipídicas da célula de modo que não são liberados e transferidos para outras bicamadas. Isto significa que a citotoxicidade dos monoterpenos contra bactérias gram-negativas parece estar relacionada à sua capacidade de interagir profundamente e afetar a estrutura molecular das bicamadas lipídicas (Cristani et al., 2007).

Kacionova et al (2024) avaliaram o OE de limão citrus e obtiveram CIMs de $22,61 \text{ mg/mL}$ contra a cepa *E. coli*, enquanto no presente estudo, todos os óleos exceto o LGRA110, inibiram esta cepa com valores menores de CIM ($1,32 \text{ mg/mL}$ a $21,18 \text{ mg/mL}$). Nunes et al. (2024) eliminaram cepas de *S. aureus* isoladas de casos relacionados à mastite bovina, com CBM de $2,80 \text{ mg/mL}$ e $4,39 \text{ mg/mL}$ dos OEs manjerição e bergamota, respectivamente. LI et al. (2024) avaliaram a ação sinérgica e individual dos compostos timol, cinamaldeído e eugenol contra algumas cepas patogênicas, e obtiveram CBM de 500 mg/mL utilizando os compostos juntos contra cepas de *E. coli* e *S. aureus*. No presente estudo, o *S. aureus* e a *E. coli* foram eliminadas com valores de CBM dos óleos entre $1,32 \text{ mg/mL}$ e $42,37 \text{ mg/mL}$, valores bem menores do que o relatado na literatura com compostos isolados.

Com exceção dos OEs LGRA108 e LGRA110, os resultados da CBM do presente estudo foram

et al. (2024) inibiram cepas de *S. aureus* com CIMs de 2,5 mg/mL OE de *Lippia grata* e não obtiveram efeito bactericida.

5.3 Atividade antioxidante (AA) dos OEs

Os OEs podem contribuir para a atividade antioxidante doando elétrons para inibir os radicais livres ou doando hidrogênios para o meio (Mohammed et al., 2024). Os grupos hidroxilas quando estão presentes em um composto, podem elevar a atividade antioxidante (Yan et al., 2024).

Todos os OEs foram analisados quanto ao potencial antioxidante *in vitro* pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP. O LGRA110 foi o óleo com maior AA por ABTS ($1.185,0 \pm 5,3 \mu\text{mol TE/L}$) e para o DPPH ($446,6 \pm 2,8 \mu\text{mol TE/L}$), diferindo estatisticamente dos demais óleos ($p \leq 0,05$). Este resultado pode estar atribuído ao carvacrol, composto majoritário da amostra. Em contrapartida, o LGRA202 demonstrou o menor potencial antioxidante para o método ABTS ($656,2 \pm 5,3 \mu\text{mol TE/L}$), enquanto para o método DPPH, a amostra LGRA107 deteve a menos AA ($314,6 \pm 5,8 \mu\text{mol TE/L}$) ($p \leq 0,05$).

A maior atividade antioxidante de todos os óleos foi pelo método FRAP, os resultados variaram de $2656,2 \mu\text{mol TE/L}$ (LGRA106 $\pm 8,83$) a $1293,7 \mu\text{mol TE/L}$ (LGRA109 $\pm 8,83$). A amostra LGRA106 foi a que mais apresentou a capacidade redutora do Ferro férrico (Fe^{3+}), sendo estatisticamente diferente das demais ($p \leq 0,05$), este resultado pode ser devido a presença de maior concentração de timol, monoterpene conhecido pela sua atividade antioxidante e antimicrobiana (Nonato et al., 2023). O timol pode se ligar a ferritina, proteína que tem facilidade no armazenamento de ferro e dessa maneira, induzir a reação de Fenton, gerando radicais hidroxilas e potencializando a oxidação em cepas bacterianas (Zhang et al., 2024). Nonato et al. (2022) também obtiveram elevada atividade antioxidante pelo método FRAP no óleo essencial de *L. gracilis*.

Tabela 6. Atividade antioxidante dos óleos essenciais

Óleos essenciais	$\mu\text{mol TE/L}$		
	ABTS	FRAP	DPPH
LGRA 106	$820,0 \pm 7,07^d$	$2656,2 \pm 8,83^a$	$391,2 \pm 2,3^c$
LGRA 107	$713,75 \pm 5,3^f$	$2100,0 \pm 8,83^c$	$314,6 \pm 5,8^g$
LGRA 108	$1075,0 \pm 3,53^b$	$1343,75 \pm 10,8^e$	$371,6 \pm 1,4^e$
LGRA 109	$765,0 \pm 10,6^e$	$1293,7 \pm 8,83^g$	$382,6 \pm 2,8^d$
LGRA 110	$1.185,0 \pm 5,3^a$	$2396,8 \pm 4,4^b$	$446,6 \pm 2,8^a$

A elevada atividade antioxidante dos demais óleos pode ser atribuída aos teores significativos de carvacrol e p-cimeno. Pinto et al., (2024) demonstraram que o carvacrol exerce uma atividade antioxidante mais eficaz que o timol quando utilizado em baixas concentrações. O anel fenólico presente nos compostos timol e carvacrol garante uma atividade antioxidante eficaz para OEs que não tenham constituintes antagonistas em sua estrutura. (Hajibonabi et al 2023). Embora esses compostos sejam isômeros, as interações das ligações de hidrogênio das moléculas são ligeiramente diferentes. A posição da hidroxila na posição orto do carvacrol também pode sugerir uma atividade antioxidante e antimicrobiana mais elevada que o timol, já que a energia de dimerização pode ser diferente e facilitar a liberação de hidroxilas, ou seja, o carvacrol tem um pouco mais de facilidade para se ligar a um radical livre (Mangiacapre et al 2024). Provavelmente, isso justifica a melhor eficácia do carvacrol em combater com mais eficiência uma oxidação de algum composto se comparado ao timol (Taibi et al., 2024). Dessa maneira, as análises pelos métodos DPPH e ABTS, podem sugerir uma melhor AA de amostras que apresentem o carvacrol como composto majoritário.

Considerando que os óleos LGRA110 e LGRA-201 foram os que mais se destacaram nos métodos ABTS e DPPH, isso pode estar ligado ao fato de os seus compostos secundários atuarem com sinergismo nas reações que envolvem o sequestro de elétrons livres ou a captura de radicais. Também estes compostos possuem maior teor de p-cimeno.

O γ -Terpineno é precursor do p-cimeno, que por sua vez, sofre uma hidroxilação e pode gerar o timol ou o carvacrol (Krause et al., 2021). Por esse motivo, tendem a estar presente em abundância em OEs em que apresentem timol ou carvacrol como compostos majoritários, sendo essa presença associada a potencializações da atividade antimicrobiana e antioxidante (Guo et al., 2021).

Oliveira et al (2015) confirmaram uma boa atividade antioxidante do p-cimeno quando utilizado *in vivo*. A presença do composto sugeriu um aumento na atividade enzimática CAT e SOD, diminuindo o estresse oxidativo em modelos murinos. Pesquisas também tem demonstrado a atividade antioxidante e antimicrobiana de β -cariofileno (Dahham et al., 2015; Lopez et al., 2023). O γ -Terpineno (13,08% da amostra LGRA110 e 21,81% da amostra LGRA201 libera o radical hidroperoxila quando compostos fenólicos estão presentes, e isso pode elevar a AA em métodos em que a presença de grupos hidroxilas são avaliadas (Guo et al., 2021). Esses grupos garantem aos compostos fenólicos, como timol e carvacrol, uma propriedade antioxidante intrínseca, bloqueando a formação de radicais livres através da doação de elétrons, de modo a evitar a peroxidação lipídica, característica de alimentos perecíveis (Mohammed et al.; Ojeda-Piedra et al., 2024).

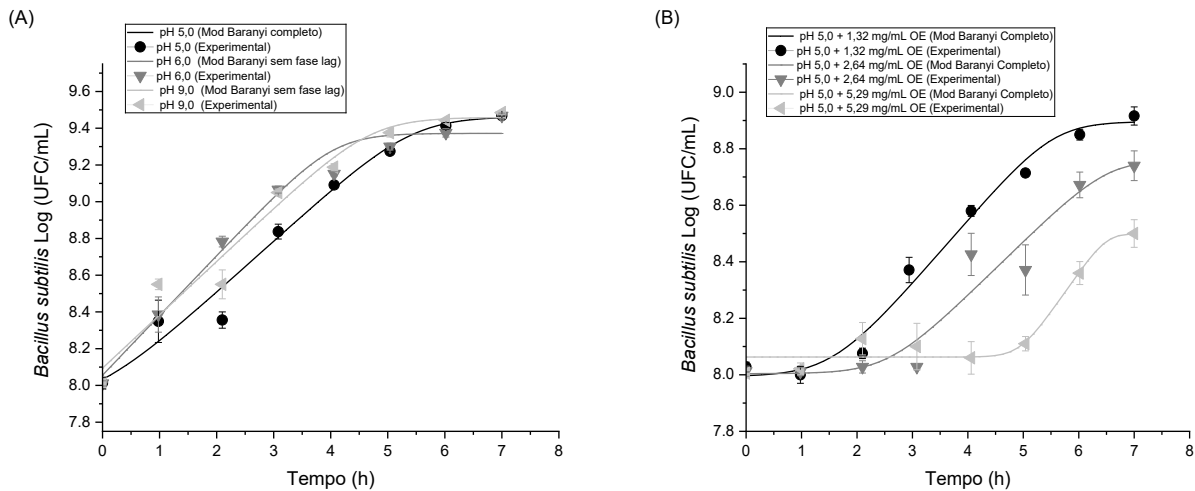
Devido a característica antimicrobiana do OE LGRA109, se caracterizando como a amostra que demonstrou a menor CIM, um modelo avaliador da cinética de crescimento *in vitro* foi desenvolvido para observar e descrever o comportamento dos microrganismos sensíveis ao OE quando submetidos a diferentes pHs, conforme abordado na sequência.

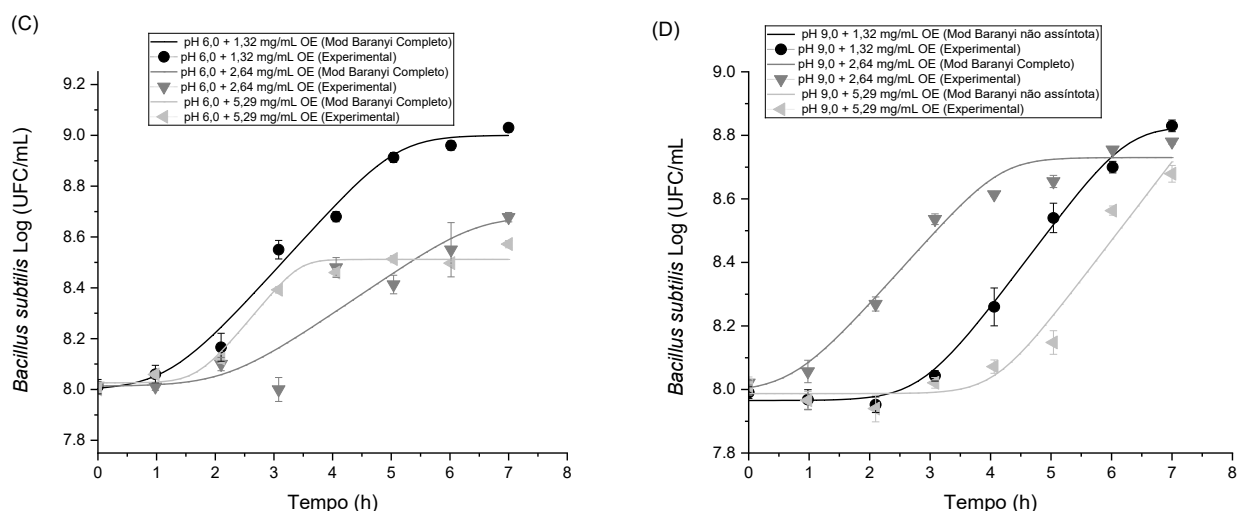
5.4 Efeito do pH e do óleo essencial no crescimento bacteriano

O crescimento das bactérias foi avaliado em diferentes condições de pHs (5,0, 6,0 e 9,0) com e sem a presença de OE LGRA 109 nas concentrações de 1.32, 2.64 e 5.29 mg/mL (menores valores de MIC ou MBC). Os dados foram bem ajustados ao modelo de Baranyi e Roberts desde que os coeficientes de correlação (R^2) variaram de 0.83 a 0.99 e os parâmetros tempo da fase lag (λ) e concentração máxima de crescimento bacteriano ($\mu_{\max}$) foram determinados (Tabela 09 e 10).

Para *B. subtilis* os valores de $\mu_{\max}$ variaram entre 0,28 e 0.33/h nos diferentes pHs, onde o menor crescimento foi observado no pH 5.0, tendo-se 0,3 h (18 min) de fase lag (Fig 10). Gauvry et al (2021) também observaram que o pH 5.0 e 9.0 são desfavoráveis ao crescimento desta bactéria, sendo o pH ótimo em torno entre 6.0 e 7.0. Por outro lado, no pH constante (7,0) variando-se as concentrações de OE (condições 4, 5 e 6) não se obteve crescimento desta cepa. Na simulação de diferentes condições de pHs de alimentos (5,0, 6,0 e 9,0) em combinação com o OE os valores de $\mu_{\max}$ variaram de 0.13 a 0.28/h e obteve-se maior tempo de fase lag no pH 5.0 ou 9.0 + 5.29 mg/mL de OE (4.9 e 4.0 h, respectivamente) (Fig 10B e 10D).

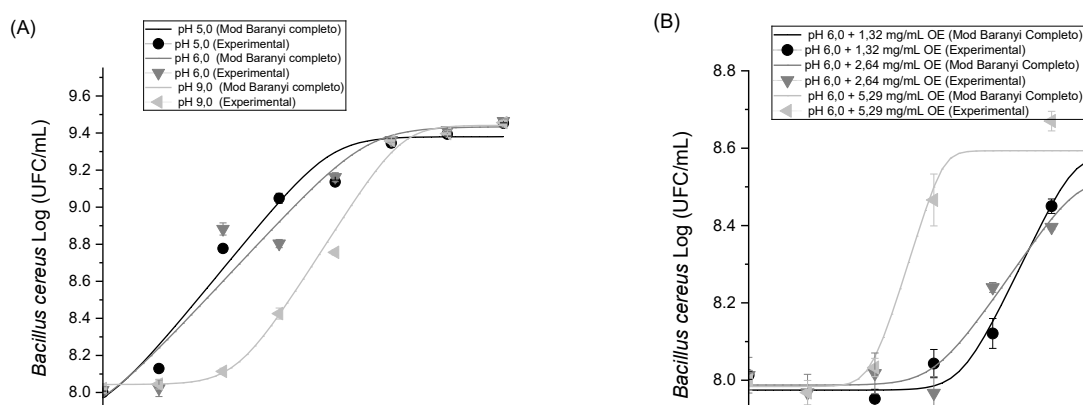
Figura 10. Cinética de crescimento da *B. subtilis*

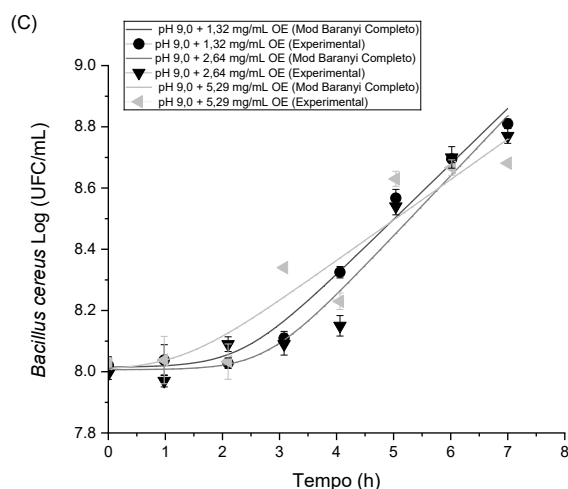




A eficiência do EO na inibição completa do crescimento de *B. subtilis* durante o tempo de incubação foi apenas verificada quando utilizado apenas diferentes concentrações de EO no meio de cultura. Já o *B. cereus* demonstrou taxas de crescimento similares nos pHs 5,0, 6,0 e 9,0, porém no pH 9,0 houve maior tempo de fase lag (2,3 h) (Tabela 08, Fig. 11A). Marc et al (2021) tem avaliado o efeito do pH (entre 4,5 e 8,0) no crescimento de diferentes linhagens de *B. cereus* e observaram que a velocidade máxima de crescimento das cepas aumentou com o aumento do pH, mantendo-se constante entre os pHs 5,5 e 8,0, mesmo comportamento observado no presente estudo. Esta bactéria não teve crescimento quando usado meio de cultura contendo diferentes concentrações de OE e no pH 5,0 em todas as concentrações do OE. A combinação pH 6,0 + 1,32 ou 2,64 mg/mL de OE proporcionou maiores tempos de fase lag (3,5 e 3,0, respectivamente) (Tabela 09, Fig 11B e 11C) entretanto, menores valores de μ_{max} para esta cepa (entre 0,13 e 0,2/h) foram obtidos no pH 9,0 + OE.

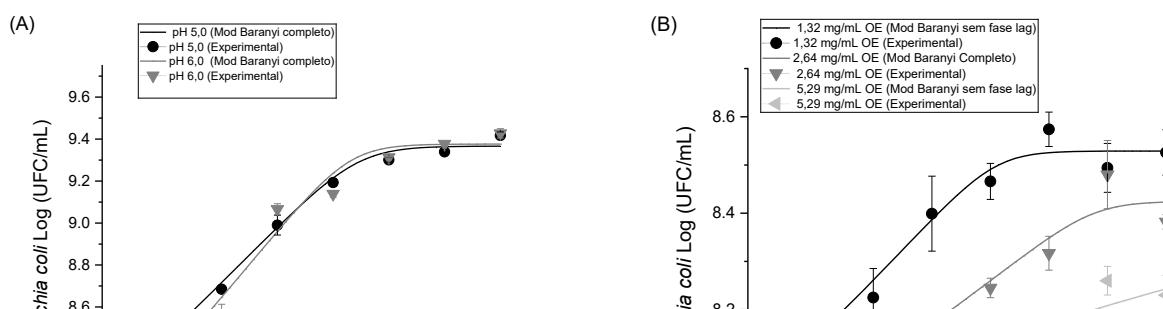
Figura 11. Cinética de crescimento da *B. cereus*.





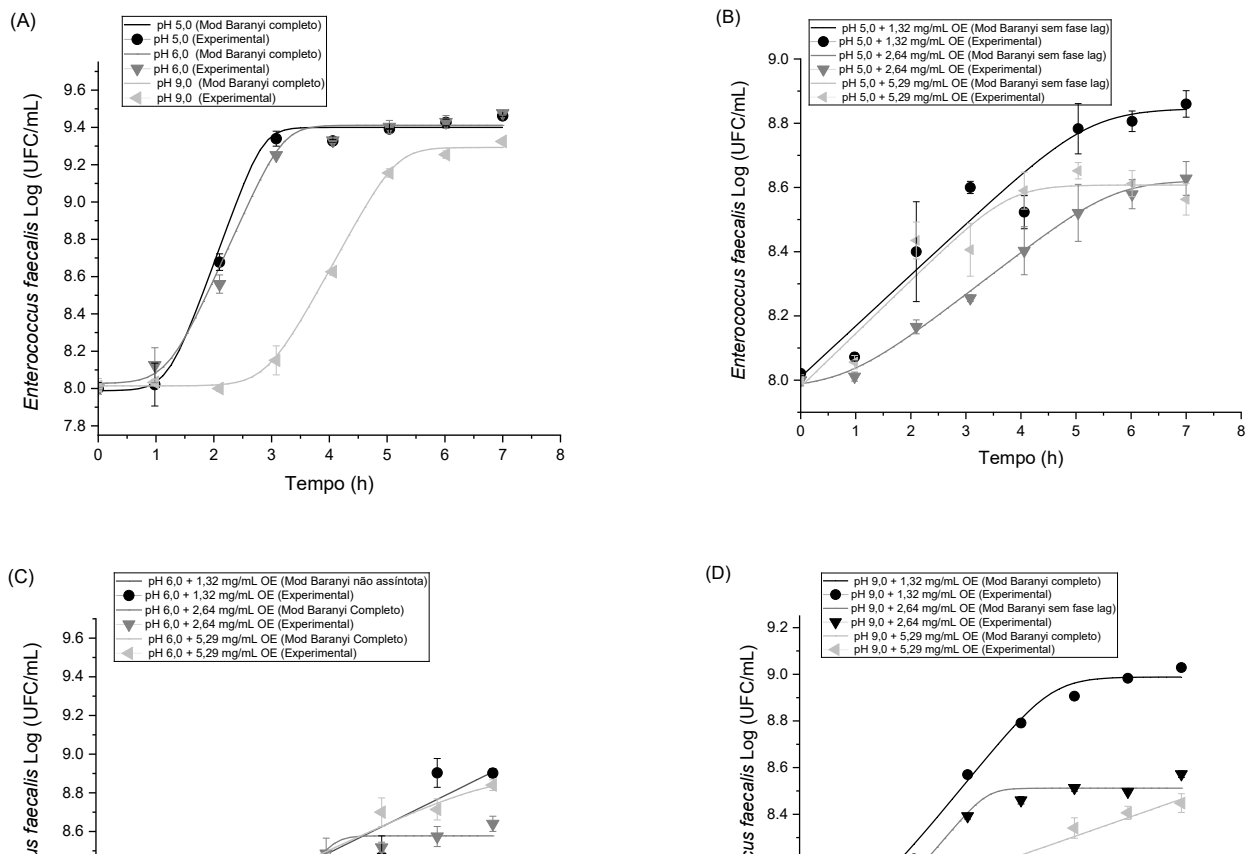
A *E. coli* teve crescimento similar nos pHs 5.0 e 6.0 (Fig 12A), porém nenhum crescimento foi obtido no pH 9.0 e em nenhuma das combinações de pH + OE. Razmi et al (2021) também verificaram que o pH 9.0 inibe o crescimento desta bactéria. No meio de cultura variando-se apenas as concentrações de OE houve crescimento de *E. coli*, diminuindo com aumento da concentração do óleo (Fig 12B) e os valores de $\mu_{\max}$ foram muito baixos (entre 0.04 e 0.13/h) (Tabela 09). No caso desta cepa a combinação pH + OE foi mais efetiva para a inibição do crescimento, do que estes parâmetros individualmente. O pH exerce significância influência no crescimento de *E. coli*, conforme estudo realizado por Kincses et al (2021) os quais avaliaram a influência de diferentes pHs (entre 5.0 e 8.0) associado ao antibiótico gentamicina na cinética de crescimento da *E. coli*. Os autores observaram que a variação do pH pode favorecer a expressão de genes relacionados a resistência bacteriana, alguns antibióticos foram mais potentes em pHs alcalinos, outros em pHs neutros ou ácidos. Diante disto, no presente estudo a eficiente inibição do crescimento quando usado a combinação EO + pH 5.0, 6.0 ou 9.0 sugere que o EO foi o principal agente responsável pela inibição do crescimento da *E. coli*.

Figura 12. Cinética de crescimento da *E. coli*.



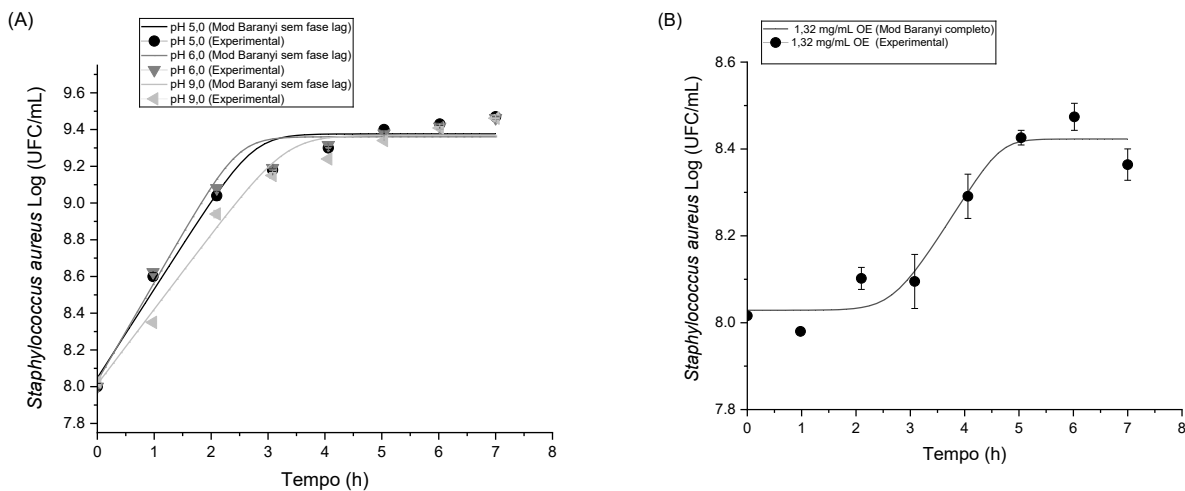
Nos pHs entre 5.0 e 9.0 a *E. faecalis* teve valores de $\mu_{\max}$ entre 0.57 e 0.86/h e λ entre 1.20 e 2.90 h, onde o menor crescimento foi obtido no pH 9.0 (Fig 13A). É de conhecimento que bactérias do gênero *Enterococcus* possui habilidade de sobreviver em pHs extremos entre 5.0 e 9.0, devido a atividade de enzimas como proton F_0F_1 , ATPase, sódio $Na^+ V_0V_1$, type ATPase e potassium ATPase que movimentam próton (H^+), sódio (Na^+), e potássio (K^+), íons em condições ácidas ou básicas (Acciarri et al., 2023). Quando utilizado meio de cultura contendo somente diferentes concentrações do OE não houve crescimento desta bactéria. Nas combinações pH + EO, foi observado baixas velocidades de crescimento na combinação pH 5.0 + OE (0.13 a 0.17/h), entretanto o menor valor (0.08/h) foi obtido no pH 9.0 + 5.29 mg/mL e maior tempo de fase lag (2.7 h) foi no pH 6.0 + 2.64 mg/mL OE (Tabela 09, Fig. 13C). Pesquisadores como Salem et al (2022) estudaram a influência de pHs alcalinos (entre 8.0 e 11.0) no crescimento de *E. faecalis* utilizando meio contendo glicose e glicerol. Os autores verificaram que quanto maior a alcalinidade, maior o tempo da fase da latência e maior o atraso no crescimento do microrganismo, conforme também observado no presente estudo nas combinações pH + EO.

Figura 13. Cinética de crescimento da *E. faecalis*.



O *S. aureus* teve crescimentos similares sem fase lag nos diferentes pHs (Fig 14A) com velocidades de crescimento entre 0.41 e 0.53/h. Já no meio de cultura contendo 1.32 mg/mL de OE, esta bactéria teve 2.7 h de fase lag e $\mu_{\max}$ de 0.2/h (Tab 10, Fig. 14B). Nas demais condições não houve crescimento desta bactéria, demonstrando a eficiência antimicrobiana das combinações pH e EO. Buldain et al (2021) utilizaram o modelo de Gompertz para avaliar o comportamento de *S. aureus* na presença do óleo essencial de *Melaleuca armillaris* nos pHs 5.0, 6.5 e 7.4. Os autores também verificaram que combinações pH + EO são efetivas para a diminuição do crescimento bacteriano visto que menores valores de pH tendem a aumentar a hidrofobicidade de EOs potencializando o efeito antimicrobiano.

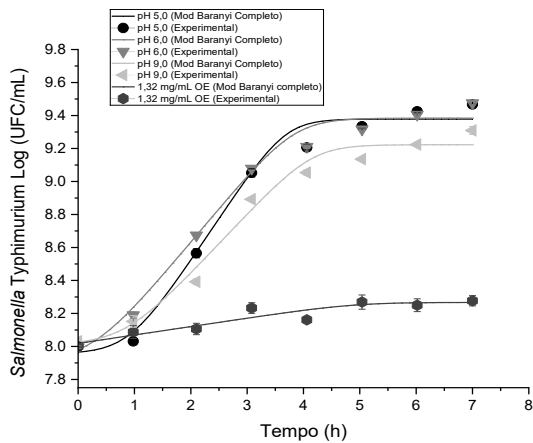
Figura 14. Cinética de crescimento da *S. aureus*.



A *S. Typhimurium* teve crescimento significativo nos diferentes pHs, onde menor taxa de crescimento foi no pH 9.0 ($\mu_{\max}$ = 0.36/h), no entanto quando utilizado somente 1.32 mg/mL de OE (pH 7.0) obteve-se menor crescimento com $\mu_{\max}$ de 0.05/h (Fig. 15). Nas demais concentrações de OE e combinações pH + OE não houve crescimento desta bactéria. Badie et al. (2021) tem demonstrado que *S. Typhimurium* possui habilidade de se adaptar em condições extremas de pH.

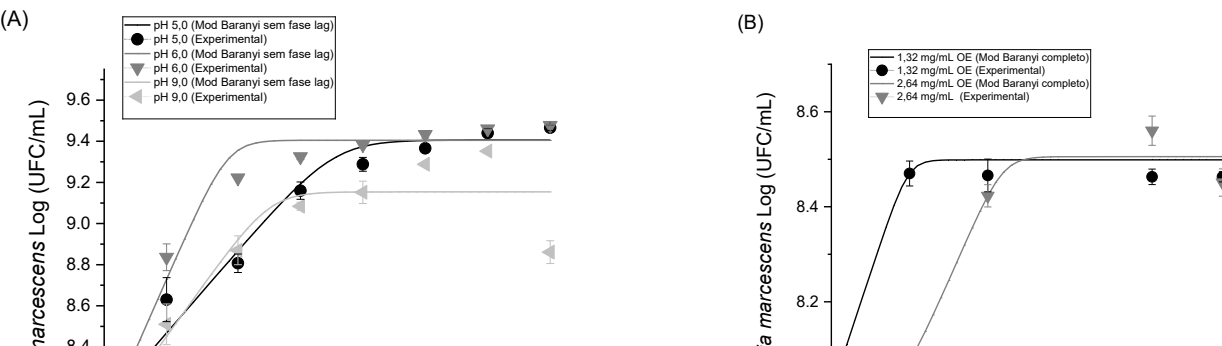
rompimento da membrana, desbalanceamento da homeostase e consequentemente a morte celular (Ortega et al., 2023).

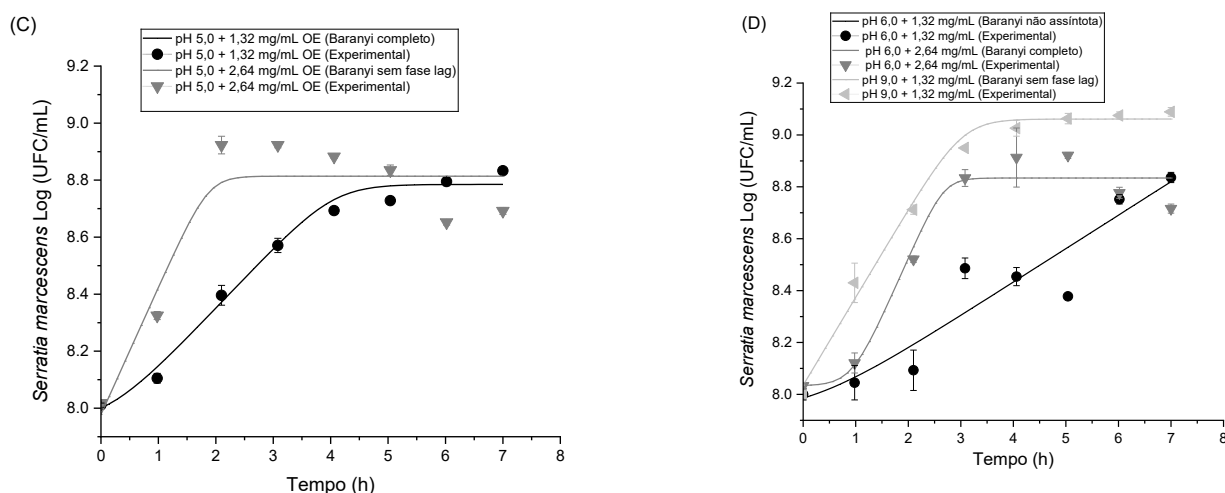
Figura 15. Cinética de crescimento da *S. typhimurium*.



A *S. marcescens* não teve fase lag em nenhum dos pHs e demonstrou maior taxa de crescimento no pH 6.0 (Fig 15A) com $\mu_{\text{máx}}$ de 0.70/h. Quando usado somente meio de cultura contendo EO ou a combinação pH + OE houve crescimento da cepa apenas nas concentrações de 1.32 e 2.64 mg/mL e no pH 9.0 + 1.32 mg/mL de OE (Fig. 16C-D). A menor taxa de crescimento (0.13/h) e maior tempo de fase lag (0.94/h) foram obtidos nas combinações pH 6.0 + 1.32 mg/mL EO e pH 6.0 + 2.64 mg/mL de EO, respectivamente (Tabela 10). Nas demais condições não houve crescimento desta bactéria. Pesquisadores tem relatado que os ácidos graxos presentes em óleos podem ser usados por esta bactéria como fonte de carbono e promover o aumento da densidade celular com consequente aumento da produção do seu pigmento prodigiosina (Giri et al., 2004), o que pode explicar o fato de ter ocorrido crescimento na presença das menores concentrações de EO.

Figura 16. Cinética de crescimento da *S. marcescens*.





Para os parâmetros utilizando apenas pH houveram bons ajustes para todas as cepas, conforme apresentado a seguir nas tabelas 09 e 10. O modelo completo foi ajustado para o pH 5,0 da cepa de *B. subtilis*, obtendo $R^2=0,968$. As condições de pH 6,0 e pH 9,0 obtiveram $R^2=0,972$ e $0,957$, respectivamente, ajustadas para o modelo sem fase lag. Para a cepa de *B. cereus*, o modelo ajustado foi o Baranyi completo e os coeficientes de determinação variaram de 0,906 (pH 6,0) a 0,988 (pH 9,0). Para o microrganismo *E. faecalis* e *S. typhimurium*, apenas o modelo completo foi ajustado para as condições de pH, com coeficientes que variaram de 0,991 (pH 6,0) a 0,998 (pH 9,0) para *E. faecalis* e 0,973 e 0,976 (pH 06 e 09, respectivamente) para *S. typhimurium*. O modelo sem fase lag foi ajustado para as condições de pH de *S. marcescens* e *S. aureus*. O R^2 variou de 0,853 (pH 9,0) a 0,971 (pH 6,0) para *S. marcescens*, enquanto para *S. aureus* os valores obtidos foram 0,962 e 0,966 para as condições de pH 5,0 e 6,0, respectivamente. Para o microrganismo *E. coli*, os dois modelos foram ajustados para as três condições de pH. O modelo sem fase lag ajustado na condição do pH 9,0 obteve o menor coeficiente de determinação (0,885), enquanto o modelo completo foi utilizado para as condições pH 5,0 e 6,0 e os coeficientes foram 0,993 e 0,968, respectivamente.

Todas as cepas quando expostas ao OE em todas as concentrações tiveram seu crescimento inibido durante as 8h de incubação, fato atribuído ao composto majoritário carvacrol e aos compostos secundários β -cariofileno, γ -Terpineno e p-cimeno, que podem atuar em sinergismo na atividade antimicrobiana, danificando a membrana celular morfológicamente, inibindo a produção de ATP, aumentando sua permeabilidade e causando efluxo de proteínas essenciais para o bom funcionamento

Tabela 7. Velocidade máxima de crescimento microbiano ($\mu_{\max}$) e tempo da fase lag (λ) de cepas bacterianas em diferentes condições de pH e concentração OE LGRA109

Exp	Parâmetros		<i>B. subtilis</i>			<i>B. cereus</i>			<i>E. coli</i>			<i>E. faecalis</i>		
	pH	OE (mg/mL)	λ (h)	$\mu_{\max}$ (h ⁻¹)	R ²	λ (h)	$\mu_{\max}$ (h ⁻¹)	R ²	λ (h)	$\mu_{\max}$ (h ⁻¹)	R ²	λ (h)	$\mu_{\max}$ (h ⁻¹)	R ²
1	5,0	0	0,313	0,28	0.968	0,257	0,378	0.944	0,311	0,272	0.993	1,207	0,858	0.993
2	6,0	0	0	0,325	0.972	0,216	0,331	0.906	0,654	0,326	0.968	1,204	0,695	0.991
3	9,0	0	0	0,29	0.957	2,334	0,484	0.988	NG	NG	-	2,91	0,567	0.998
4	-	1.32	NG	NG	-	NG	NG	-	0,659	0,131	0.964	NG	NG	-
5	-	2.64	NG	NG	-	NG	NG	-	1,984	0,0956	0.909	NG	NG	-
6	-	5.29	NG	NG	-	NG	NG	-	0	0,0387	0.874	NG	NG	-
7	5,0	1,32	1,569	0,226	0,983	NG	NG	-	NG	NG	-	0	0,159	0.92
8	5,0	2,64	2,566	0,192	0,899	NG	NG	-	NG	NG	-	0,902	0,132	0.992
9	5,0	5,29	4,94	0,282	0.914	NG	NG	-	NG	NG	-	0	0,165	0.884
10	6,0	1,32	1,217	0,256	0.98	3,535	0,323	0.965	NG	NG	-	0,917	0,145	0.902
11	6,0	2,64	2,319	0,133	0,949	3,085	0,224	0.936	NG	NG	-	2,703	0,39	0.97
12	6,0	5,29	2,813	0,142	0.978	2,021	0,501	0.946	NG	NG	-	0,423	0,137	0.935
13	9,0	1,32	2,553	0,209	0.981	2,341	0,181	0.98	NG	NG	-	1,176	0,288	0.988
14	9,0	2,64	0,77	0,213	0.961	2,773	0,196	0.936	NG	NG	-	1,691	0,278	0.962
15	9,0	5,29	4,059	0,248	0.946	1,335	0,132	0.86	NG	NG	-	1,285	0,081	0.95

Fonte: Autor, 2025

Tabela 8. Velocidade máxima de crescimento microbiano ($\mu_{\max}$) e tempo da fase lag (λ) de cepas bacterianas em diferentes condições de pH e concentrações de OE LGRA109

	Parâmetros		<i>S. aureus</i>			<i>S. Typhimurium</i>			<i>S. marcesces</i>		
	pH	OE (mg/mL)	λ (h)	$\mu_{\max}$	R^2	λ (h)	$\mu_{\max}$	R^2	λ (h)	$\mu_{\max}$	R^2
1	5,0	0	0.000	0,483	0.962	0,918	0,512	0.974	0	0,358	0.963
2	6,0	0	0.000	0,535	0.966	0,408	0,41	0.976	0	0,705	0.971
3	9,0	0	0.000	0,408	0.969	0,863	0,364	0.973	0	0,434	0.853
4	-	1.32	2,686	0,199	0.909	0.000	0,051	0.831	0	0,499	0.927
5	-	2.64	NG	NG	-	NG	NG	-	0,857	0,38	0.903
6	-	5.29	NG	NG	-	NG	NG	-	NG	NG	-
7	5,0	1,32	NG	NG	-	NG	NG	-	0	0,189	0.977
8	5,0	2,64	NG	NG	-	NG	NG	-	0	0,446	0.83
9	5,0	5,29	NG	NG	-	NG	NG	-	NG	NG	-
10	6,0	1,32	NG	NG	-	NG	NG	-	0,537	0,129	0.842
11	6,0	2,64	NG	NG	-	NG	NG	-	0,936	0,461	0.936
12	6,0	5,29	NG	NG	-	NG	NG	-	NG	NG	-
13	9,0	1,32	NG	NG	-	NG	NG	-	0	0,339	0.99
14	9,0	2,64	NG	NG	-	NG	NG	-	NG	NG	-
15	9,0	5,29	NG	NG	-	NG	NG	-	NG	NG	-

Fonte: Autor, 2025

Conforme abordado acima, sempre que houve a adição do OE sem variação do pH no caldo BHI, todos os microrganismos tiveram redução na sua taxa de crescimento, com exceção da *S. marcescens*, apresentando 0,358h quando exposta ao pH 5,0, enquanto demonstrou 0,38 h quando o OE na concentração de 2,64 mg/mL foi administrado sozinho, porém, a concentração de 5,29mg/mL (exp 6) conseguiu inibir seu crescimento durante todo o período de incubação. Essas características são atribuídas ao composto majoritário carvacrol e aos compostos secundários β -cariofileno, γ -Terpineno e p-cimeno, que podem atuar em sinergismo na atividade antimicrobiana, danificando a membrana celular morfollogicamente, inibindo a produção de ATP, aumentando sua permeabilidade e causando efluxo de proteínas essenciais para o bom funcionamento da membrana, o que como consequência pode retardar o desenvolvimento do microrganismo, prolongando sua fase lag (Cristani et al., 2007; Hou et al., 2022; Jiang et al., 2025).

Jiang et al (2025) relataram que o carvacrol isolado de OEs na concentração de 310 μ g/mL foi responsável por erradicar *Mycobacterium intracellulare* na fase estacionária, inibindo seu crescimento através de ações na membrana celular, principalmente aumentando sua permeabilidade, suprimindo enzimas vitais e por último, causando a morte celular. Isso demonstra que quando parâmetros experimentais não são favoráveis, o desenvolvimento de um microrganismo pode ser retardado ou inexistente.

Wang et al (2022) também fizeram um estudo para avaliar a atividade antimicrobiana, utilizando OE de *Litsea cubeba* contra *Cronobacter sakazakii*. Avaliaram a permeabilidade da membrana e sua morfologia, bem como sua integridade e a síntese de ATP celular. Notaram que quando utilizavam pouco mais que o dobro da sua CIM, havia redução de 1,9 log, demonstrando que o OE era eficiente em um curto período de tempo. Em concentrações de 10 a 20 maiores que sua CIM, havia a inativação completa do microrganismo em até 4h.

No estudo, a presença do OE aumentou a produção de oxigênio reativo intracelular, favorecendo o desequilíbrio no metabolismo bacteriano, o que posteriormente sugeriu uma despolarização da membrana, fato que pode ser observado quando o pH do meio extracelular é alterado de alguma maneira (Wang et al., 2022).

Com o desequilíbrio do pH, a bomba de sódio e potássio pode sofrer danos irreversíveis. O fluxo destes eletrólitos pode ser alterado de tal forma que a quantidade K^+ no meio intracelular seja maior que o normal, e que a presença de Na^+ no meio extracelular seja insuficiente, gerando um desbalanceamento diretamente relacionado à síntese de ATP, ocasionando a perda de funcionalidade

3. CONCLUSÕES

Óleos essenciais de diferentes genótipos de *L. gracilis* Schauer foram avaliados quanto ao seu potencial antimicrobiano e antioxidante. Todos os OEs demonstraram potencial antimicrobiano eficaz, tendo capacidade bacteriostática e bactericida. Para as cepas gram-negativas, os óleos mais eficientes foram LGRA106 e LGRA109, com CBM de 1,32 mg/mL para *S. marcescens* e *E. coli*. Para cepas gram-positivas, o destaque foi o LGRA 108 para *B. cereus* e LGRA109 para *S. aureus*, com valores de CBM de 2,64 e 1,32 mg/mL, respectivamente.

Os óleos demonstraram maior AA pelo método FRAP, com destaque para o LGRA106 e o LGRA110 pelos métodos ABTS e DPPH. O forte potencial antioxidante e antimicrobiano destes óleos sugere aplicações promissoras nas áreas farmacêutica, alimentícia e cosmética.

O OE LGRA109 destacou-se na atividade antimicrobiana com os menores valores de CIM e CBM para a maioria das bactérias, sendo então selecionado para a realização do estudo preditivo.

Os resultados foram bem ajustados ao modelo primário de Baranyi e Roberts (1994). Foi observado que quando os microrganismos foram expostos às condições que envolviam apenas as variações de pH, houve crescimento intenso das cepas e diminuição da fase de latência de para *B. subtilis*, *B. cereus* nos pHs ácidos. O aumento da fase lag foi observado para *E. coli*, *B. cereus*, *S. typhimurium* e *E. faecalis* no pH alcalino. Nas condições de diferentes concentrações de óleo essencial (sem variação de pH) houve inibição do crescimento para *B. subtilis*, *B. cereus* e *E. faecalis*. A combinação pH + óleo essencial foi eficiente para inibir totalmente o crescimento de *E. coli*, *S. marcescens* e *S. Typhimurium*.

No presente estudo, foi demonstrando que os óleos essenciais dos diferentes genótipos de *L. gracilis* possuem excelente potencial antioxidante e antimicrobiano frente a bactérias patogênicas, abrindo possibilidades para estudos posteriores sobre a aplicação destes óleos nos mais diferentes âmbitos da biotecnologia. O estudo preditivo permitiu avaliar o comportamento das cepas em condições experimentais, que servem como base para estudos futuros de aplicações *in vivo*.

4. REFERÊNCIAS

Abdollahzadeh, E., Ojagh, S. M., Hosseini, H., Irajian, G., & Ghaemi, E. A. (2017). Predictive modeling of survival/death of *Listeria monocytogenes* in liquid media: Bacterial responses to cinnamon essential oil, ZnO nanoparticles, and strain. **Food Control**, 73, 954–965.

Acciarri, G., Gizzi, F. O., Torres Manno, M. A., Stülke, J., Espariz, M., Blancato, V. S., & Magni, C. (2023). Redundant potassium transporter systems guarantee the survival of *Enterococcus faecalis* under stress conditions. *Frontiers in Microbiology*, 14.

Achagar, R., Ait-Touchente, Z., el Ati, R., Boujdi, K., Thoume, A., Abdou, A., & Touzani, R. (2024). A Comprehensive Review of Essential Oil–Nanotechnology Synergy for Advanced Dermocosmetic Delivery. In *Cosmetics* (Vol. 11, Issue 2). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).

Afrazeh, Z., & Sendi, J. J. (2025). Eco-friendly control of *Helicoverpa armigera* using synergistic mixtures of thymol and eucalyptol. *Scientific Reports*, 15(1).

Albino, R., Toledo e Silva, M. V., Ferreira, V. P., Pierucci, A. P. T. R., Bizzo, H. R., Gama, P. E., da Silva, N. C. B., de Paula Freitas, M. C., Leitão, S. G., & de Oliveira, D. R. (2025). Qualitative chemical characterization of salva-de-marajó (*Lippia organoides*, Verbenaceae) preparations. **Fitoterapia**, 180.

Amorati, R., Foti, M. C., & Valgimigli, L. (2013). Antioxidant activity of essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** (Vol. 61, Issue 46, pp. 10835–10847).

Angane, M., Swift, S., Huang, K., Butts, C. A., & Quek, S. Y. (2022a). Essential Oils and Their Major Components: An Updated Review on Antimicrobial Activities, Mechanism of Action and Their Potential Application in the Food Industry. **Foods** (Vol. 11, Issue 3)

Aquino, A. B., Blank, A. F., & de Aquino Santana, L. C. L. (2015). Impact of edible chitosan-cassava starch coatings enriched with *Lippia gracilis* Schauer genotype mixtures on the shelf life of guavas (*Psidium guajava* L.) during storage at room temperature. **Food Chemistry**, 171, 108–116.

Azarkish, P., Moghaddam, M., Ghasemi Pirbalouti, A., & Khakdan, F. (2021). Variability in the essential oil of different wild populations of *Prangos platychlaena* collected from Southwestern Iran. *Plant Biosystems*, 155(6), 1100–1110.

Azevedo, A. N., Buarque, P. R., Cruz, E. M. O., Blank, A. F., Alves, P. B., Nunes, M. L., & Santana, L. C. L. de A. (2014). Response surface methodology for optimisation of edible chitosan coating formulations incorporating essential oil against several foodborne pathogenic bacteria. **Food Control**, 43, 1–9.

Badie, F., Saffari, M., Moniri, R., Alani, B., Atoof, F., Khorshidi, A., & Shayestehpour, M. (2021). The combined effect of stressful factors (temperature and pH) on the expression of biofilm, stress, and virulence genes in *Salmonella enterica* ser. Enteritidis and Typhimurium. *Archives of Microbiology*, 203(7), 4475–4484.

Basavegowda, N., & Baek, K. H. (2021a). Synergistic antioxidant and antibacterial advantages of essential oils for food packaging applications. **Biomolecules** (Vol. 11, Issue 9). MDPI AG.

Beserra-Filho, J. I. A., Maria-Macêdo, A., Silva-Martins, S., Custódio-Silva, A. C., Soares-Silva, B., Silva, S. P., Lambertucci, R. H., de Souza Araújo, A. A., Lucchese, A. M., Quintans-Júnior, L. J., Santos, J. R., Silva, R. H., & Ribeiro, A. M. (2022). Lippia grata essential oil complexed with β -cyclodextrin ameliorates biochemical and behavioral deficits in an animal model of progressive parkinsonism. **Metabolic Brain Disease**, 37(7), 2331–2347.

Bhavaniramya, S., Vishnupriya, S., Al-Aboody, M. S., Vijayakumar, R., & Baskaran, D. (2019). Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. *Grain & Oil Science and Technology*, 2(2), 49–55.

Bieski, I. G. C., Leonti, M., Arnason, J. T., Ferrier, J., Rapinski, M., Violante, I. M. P., Balogun, S. O., Pereira, J. F. C. A., Figueiredo, R. D. C. F., Lopes, C. R. A. S., da Silva, Pacini, A., Albuquerque, U. P., & de Oliveira Martins, D. T. (2015a). Ethnobotanical study of medicinal plants by population of Valley of Juruena Region, Legal Amazon, Mato Grosso, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, 173, 383–423.

Bitu, V., de Carvalho Nilo Bitu, V., Matias, E. F. F., de Lima, W. P., da Costa Portelo, A., Coutinho, H. D. M., & de Menezes, I. R. A. (2015a). Ethnopharmacological study of plants sold for therapeutic purposes in public markets in Northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, 172, 265–272.

Botelho, M. A., Nogueira, N. A. P., Bastos, G. M., Fonseca, S. G. C., Lemos, T. L. G., Matos, F. J. A., Montenegro, D., Heukelbach, J., Rao, V. S., & Brito, G. A. C. (2007). Antimicrobial activity of the essential oil from Lippia sidoides, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** (Vol. 40, Issue 3).

Buldain, D., Castillo, L. G., Marchetti, M. L., Lozano, K. J., Bandoni, A., & Mestorino, N. (2021). Modeling the growth and death of staphylococcus aureus against melaleuca armillaris essential oil at different ph conditions. *Antibiotics*, 10(2), 1–14.

Bulhões, A. A. V. de C., Estevão, L. R. de M., Florencio-Silva, R., Simoes, R. S., Leite, A. G. B., Cunha, D. M. S. da S., Ramos, C. S., Soares, É. B. de A., D'emery, M. B., da Câmara, C. A. G., & Evêncio-Neto, J. (2022). Effects of the healing activity of rosemary-of-Chapada (Lippia gracilis Schauer) on cutaneous lesions in rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, 37(1).

Camilo, C. J., Duarte Leite, D. O., de Fatima Alves Nonato, C., Gomes de Carvalho, N. K., Ribeiro, D. A., & Martins da Costa, J. G. (2022). Traditional use of the genus Lippia sp. and pesticidal potential: A review. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology** (Vol. 40). Elsevier Ltd.

Cardoso-Júnior, G. S., Rocha, G. F., Souza, D. M., Lopes, C. C., Pereira, H. B. J., Blank, A. F., Barbosa, F. H. F., Silva, C. M., Rodrigues, P. G., & Oliveira-Júnior, G. M. (2021). Inhibitory action of lippia gracilis schauer essential oil on pathogenic bacteria and its effects as a growth promoter on quail. **Spanish Journal of Agricultural Research**, 19(1).

Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk

Cui, F., Zheng, S., Wang, D., Tan, X., Li, Q., Li, J., & Li, T. (2023). Recent advances in shelf life prediction models for monitoring food quality. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 22(2), 1257–1284.

Dahham, S. S., Tabana, Y. M., Iqbal, M. A., Ahamed, M. B. K., Ezzat, M. O., Majid, A. S. A., & Majid, A. M. S. A. (2015). The anticancer, antioxidant and antimicrobial properties of the sesquiterpene β -caryophyllene from the essential oil of *Aquilaria crassna*. **Molecules**, 20(7), 11808–11829.

Erzurumlu, Y., Dogan, H. K., Catakli, D. (2023). Thymol reduces the lipopolysaccharide-induced acute kidney inflammation by modulating lysosomal stress. **Journal of Research in Pharmacy**, 27(2)(27(2)), 722–732. <https://doi.org/10.29228/jrp.355>

Esquissato, G. N. M., Pereira, T. S., Pereira, S. L. da S., Costa, F. N. da, Garcia, F. P., Nakamura, C. V., Rodrigues, J. H. da S., & Castro-Prado, M. A. A. de. (2023). In vitro anticancer and antifungal properties of the essential oil from the leaves of *Lippia origanoides kunth*. **Natural Product Research**.

Fedorova, E. E., Coba De La Peña, T., Lara-Dampier, V., Trifonova, N. A., Kulikova, O., Pueyo, J. J., & Lucas, M. M. (2021). Potassium content diminishes in infected cells of *Medicago truncatula* nodules due to the mislocation of channels MtAKT1 and MtSKOR/GORK. **Journal of Experimental Botany**.

Felix, S. F., Rodrigues, A. M., Rodrigues, A. L. M., de Freitas, J. C. C., Alves, D. R., da Silva, A. A., dos Santos, D. L., de Oliveira, K. R. L., Montes, R. A., da Silva, M. V. F., Lopes, F. F. da S., & de Moraes, S. M. (2021). Chemical composition, larvicidal activity, and enzyme inhibition of the essential oil of *lippia grata schauer* from the caatinga biome against dengue vectors. **Pharmaceuticals**, 14(3).

Feng, L., Chen, H., Qian, C., Zhao, Y., Wang, W., Liu, Y., Xu, M., Cao, J., Zhou, T., & Wu, Q. (2024). Resistance, mechanism, and fitness cost of specific bacteriophages for *Pseudomonas aeruginosa*. **MSphere**, 9(2).

Fernández, L., Gutiérrez, D., García, P., & Rodríguez, A. (2021). Environmental pH is a key modulator of *Staphylococcus aureus* biofilm development under predation by the virulent phage phiIPLA-RODI. **ISME Journal**, 15(1), 245–259.

Fialová, S. B., Rendecková, K., Mučaji, P., Nagy, M., & Slobodníková, L. (2021). Antibacterial activity of medicinal plants and their constituents in the context of skin and wound infections, considering European legislation and folk medicine—A review. **International Journal of Molecular Sciences** (Vol. 22, Issue 19).

Fitzgerald, B. A., Wadud, A., Slimak, Z., & Slonczewski, J. L. (2023). *Enterococcus faecalis* OG1RF Evolution at Low pH Selects Fusidate-Sensitive Mutants in Elongation Factor G and at High pH Selects Defects in Phosphate Transport. **Applied and Environmental Microbiology**, 89(6).

Fortunato, G., Vaz-Moreira, I., Gajic, I., & Manaia, C. M. (2023). Insight into phylogenomic bias of blaVIM-2 or blaNDM-1 dissemination amongst carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 61(5).

Galvão, J. G., Cerpe, P., Santos, D. A., Gonsalves, J. K. M. C., Santos, A. J., Nunes, R. K. V., Lira, A. A. M., Alves, P. B., la Corte, R., Blank, A. F., Silva, G. F., Cavalcanti, S. C. H., & Nunes, R. S. (2019). Lippia gracilis essential oil in β -cyclodextrin inclusion complexes: an environmentally safe formulation to control Aedes aegypti larvae. *Pest Management Science*, 75(2), 452–459.

Gan, C., Langa, E., Valenzuela, A., Ballesteros, D., & Pino-Otín, M. R. (2023). Synergistic Activity of Thymol with Commercial Antibiotics against Critical and High WHO Priority Pathogenic Bacteria. *Plants*, 12(9).

Gandhi, G. R., Hariharan, G., Amalraj, S., Hillary, V. E., Araujo, H. C. S., Montalvão, M. M., Borges, L. P., & Gurgel, R. Q. (2025). Neuropharmacological mechanisms and psychotherapeutic effects of essential oils: A systematic review. In *South African Journal of Botany* (Vol. 181, pp. 90–104). Elsevier B.V.

Gauvry, E., Mathot, A. G., Couvert, O., Leguérinel, I., & Coroller, L. (2021). Effects of temperature, pH and water activity on the growth and the sporulation abilities of Bacillus subtilis BSB1. *International Journal of Food Microbiology*, 337.

Gomes, D. S., Negrão-Corrêa, D. A., Miranda, G. S., Rodrigues, J. G. M., Guedes, T. J. F. L., de Lucca Junior, W., Sá Filho, J. C. F. de, Nizio, D. A. de C., Blank, A. F., Feitosa, V. L. C., & Dolabella, S. S. (2022). Lippia alba and Lippia gracilis essential oils affect the viability and oviposition of Schistosoma mansoni. *Acta Tropica*, 231.

Guilhon, C. C., Raymundo, L. J. R. P., Alviano, D. S., Blank, A. F., Arrigoni-Blank, M. F., Matheus, M. E., Cavalcanti, S. C. H., Alviano, C. S., & Fernandes, P. D. (2011). Characterisation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities and the mechanism of the action of Lippia gracilis essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*, 135(2), 406–413.

Guillín, Y., Cáceres, M., Torres, R., Stashenko, E., & Ortiz, C. (2021). Effect of essential oils on the inhibition of biofilm and quorum sensing in salmonella enteritidis 13076 and salmonella typhimurium 14028. *Antibiotics*, 10(10).

Guo, Y., Baschieri, A., Amorati, R., & Valgimigli, L. (2021). Synergic antioxidant activity of γ -terpinene with phenols and polyphenols enabled by hydroperoxyl radicals. *Food Chemistry*, 345.

Hajibonabi, A., Yekani, M., Sharifi, S., Nahad, J. S., Dizaj, S. M., & Memar, M. Y. (2023). Antimicrobial activity of nanoformulations of carvacrol and thymol: New trend and applications. *OpenNano* (Vol. 13). Elsevier Inc.

Hadidi, M., Orellana-Palacios, J. C., Aghababaei, F., Gonzalez-Serrano, D. J., Moreno, A., & Lorenzo, J. M. (2022). Plant by-product antioxidants: Control of protein-lipid oxidation in meat and meat products. *LWT*. (Vol. 169).

Ivanova, S., Gvozdeva, Y., Staynova, R., Grekova-Kafalova, D., Nalbantova, V., Benbassat, N., Koleva, N., & Ivanov, K. (2025a). Essential oils – a review of the natural evolution of applications and some future perspectives. **Pharmacia**, 72.

Jamir, Y., Kumari, S. R., Das, S., Bhushan, M., P, M. A. A., Ghatak, S., Puro, A. K., Sen, A., & Singh, L. R. (2025). Enhanced Synergistic Antioxidant and Antibacterial Effects of Stable Nanoemulsions Prepared from Blends of Thyme, Black Pepper, Cinnamon, and Garlic Essential Oils. **BioNanoScience**, 15(1).

Ji, J., Shankar, S., Fernandez, J., Juillet, E., Salmieri, S., & Lacroix, M. (2021). A rapid way of formulation development revealing potential synergic effects on numerous antimicrobial combinations against foodborne pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 158.

Jia, X., Liu, C., Wang, Y., Qi, G., Li, Z., Gao, S., Zhou, J., Zhang, F., & Song, X. (2025). Construction and evaluation of a slow-release system of oregano essential oil for beef preservation. **Food Packaging and Shelf Life**, 50.

Jiang, X., Cao, D., Xu, B., Yuan, X., Xiang, Y., Wu, T., & Zhang, Y. (2025). Essential Oils and their Active Constituents Effective against Non-growing Mycobacterium intracellulare. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, 25(1).

Johnson, L. A., & Allemann, R. K. (2024). Engineering terpene synthases and their substrates for the biocatalytic production of terpene natural products and analogues. **Chemical Communications**.

Kachur, K.; Suntres, Z. (2020a). The antibacterial properties of phenolic isomers, carvacrol and thymol. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** (Vol. 60, Issue 18, pp. 3042–3053). Bellwether Publishing, Ltd.

Kacianova, M., Cmikova, N., Vukovic, N. L., Veresova, A., Bianchi, A., Garzoli, S., ben Saad, R., ben Hsouna, A., Ban, Z., & Vukic, M. D. (2024). Citrus limon Essential Oil: Chemical Composition and Selected Biological Properties Focusing on the Antimicrobial (In Vitro, In Situ), Antibiofilm, Insecticidal Activity and Preservative Effect against Salmonella enterica Inoculated in Carrot. **Plants**, 13(4).

Khwaza, V., & Aderibigbe, B. A. (2025). Antibacterial Activity of Selected Essential Oil Components and Their Derivatives: A Review. **Antibiotics** (Vol. 14, Issue 1). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).

Kianersi, F., Pour-Aboughadareh, A., Majdi, M., & Poczai, P. (2021). Effect of methyl jasmonate on thymol, carvacrol, phytochemical accumulation, and expression of key genes involved in thymol/carvacrol biosynthetic pathway in some iranian thyme species. **International Journal of Molecular Sciences**, 22(20).

Kincses, A., Rácz, B., Baaity, Z., Vászárhelyi, O., Kristóf, E., Somogyvári, F., & Spengler, G. (2021). The Relationship between Antibiotic Susceptibility and pH in the Case of Uropathogenic Bacteria. *Antibiotics*, 10(12).

extracts of Greek oregano (*O. vulgare* L. subsp. *hirtum* (link) ietswaart) and common oregano (*O. vulgare* L. subsp. *vulgare*). **Molecules**, 26(4).

Krause, S. T., Liao, P., Crocoll, C., It Boachon, B., F€ Orster, C., Leidecker, F., Wiese, N., Zhao, D., Wood, J. C., Buell, C. R., Gershenzon, J., Dudareva, N., & Org Degenhardt, J. (2021). The biosynthesis of thymol, carvacrol, and thymohydroquinone in Lamiaceae proceeds via cytochrome P450s and a short-chain dehydrogenase.

Laranjo, M., Fernández-León, A. M., Aguilheiro-Santos, A. C., Potes, M. E., & Elias, M. (2022). Essential oils of aromatic and medicinal plants play a role in food safety. **Journal of Food Processing and Preservation**, 46(8).

Lebrazi, S., Fikri-Benbrahim, K., el fadili, M., Jeddi, M., Aboulghazi, A., Ouaritini, Z. B., Moufakkir, C., Kharbach, Y., Harhar, H., Bouyahya, A., Najjari, C., & Fadil, M. (2025). Investigating the synergistic action of three essential oils for antibacterial and antioxidant applications: A comprehensive framework using mixture design, artificial neural networks, and in silico methods. **Food Bioscience**, 67.

Lertsatitthanakorn, P., Taweechaisupapong, S., Aromdee, C., & Khunkitti, W. (2006a). In vitro bioactivities of essential oils used for acne control. **International Journal of Aromatherapy**, 16(1), 43–49.

Li, H., Xie, G., & Edmondson, A. S. (2008). Review of secondary mathematical models of predictive microbiology. In *Journal of Food Products Marketing* (Vol. 14, Issue 2, pp. 57–74).

Li, Z., Li, Y., & Cheng, W. (2024). Determination of cinnamaldehyde, thymol and eugenol in essential oils by LC–MS/MS and antibacterial activity of them against bacteria. **Scientific Reports**, 14(1).

Lingaraju, D. P., Sudarshana, M. S., & Rajashekar, N. (2013). Ethnopharmacological survey of traditional medicinal plants in tribal areas of Kodagu district, Karnataka, India. **Journal of Pharmacy Research**, 6(2), 284–297.

Liu, S., Lan, W., & Xie, J. (2024). Natural preservative *Litsea cubeba* essential oil: With emphasis on its biological activities, encapsulation methods and application in food preservation. **Food Bioscience** (Vol. 62). Elsevier Ltd.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy Reviews** (Vol. 4, Issue 8, pp. 118–126).

Lopes, A. P. R., Andrade, A. L., Pinheiro, A. de A., de Sousa, L. S., Malveira, E. A., Oliveira, F. F. M., de Albuquerque, C. C., Teixeira, E. H., & de Vasconcelos, M. A. (2024a). *Lippia grata* Essential Oil Acts Synergistically with Ampicillin Against *Staphylococcus aureus* and its Biofilm. **Current Microbiology**, 81(7).

López, P. L., Guerberoﬀ, G. K., Grosso, N. R., & Olmedo, R. H. (2023). Antioxidant-eﬃcient indicator determinate by the relationship between β -myrcene/caryophyllene (α : β) on Hop (*Humulus*

Males, I., Pedisic, S., Zoric, Z., Elez-Garofulic, I., Repajic, M., You, L., Vladimir-Knežević, S., Butorac, D., & Dragović-Uzelac, V. (2022). The medicinal and aromatic plants as ingredients in functional beverage production. **In Journal of Functional Foods** (Vol. 96). Elsevier Ltd.

Mangiacapre, E., Triolo, A., Ramondo, F., lo Celso, F., & Russina, O. (2024). Unveiling the structural organisation of carvacrol through X-ray scattering and molecular Dynamics: A comparative study with liquid thymol. **Journal of Molecular Liquids**, 394.

Mansouri, D., Landreau, A., Michel, T., de Saint Jores, C., Razafimandimby, B., Kempf, M., Azoulay, S., Papaiconomou, N., & Fernandez, X. (2023a). Commiphora wildii Merxm. Essential Oil: Natural Heptane Source and Co-Product Valorization. **Molecules**, 28(2).

Mansouri, D., Landreau, A., Michel, T., de Saint Jores, C., Razafimandimby, B., Kempf, M., Azoulay, S., Papaiconomou, N., & Fernandez, X. (2023a). Commiphora wildii Merxm. Essential Oil: Natural Heptane Source and Co-Product Valorization. **Molecules**, 28(2).

Marchese, A., Arciola, C. R., Barbieri, R., Silva, A. S., Nabavi, S. F., Sokeng, A. J. T., Izadi, M., Jafari, N. J., Suntar, I., Daglia, M., & Nabavi, S. M. (2017). Update on monoterpenes as antimicrobial agents: A particular focus on p-cymene. **Materials** (Vol. 10, Issue 8).

Markowska-Szczupak, A., Paszkiewicz, O., Wesołowska, A., Kordas, M., & Rakoczy, R. (2024). Optimization of antimicrobial properties of essential oils under rotating magnetic field. **Chemical Engineering and Processing - Process Intensification**, 205.

Martínez, E., Cortés, A. G., de la Cruz Quiroz, R., Alejandro, J. G. R., Fagotti, F., & Torres, J. A. (2024). Microbial Preservation Performance of Cold Storage Units Assessed by Modeling of Time–Temperature Data. **Food and Bioprocess Technology**.

Martinez-Rios, V., Gkogka, E., & Dalgaard, P. (2019). New term to quantify the effect of temperature on phmin-values used in cardinal parameter growth models for listeria monocytogenes. **Frontiers in Microbiology**, 10(JULY).

Mavundza, E. J., Maharaj, R., Finnie, J. F., Kabera, G., & van Staden, J. (2011a). An ethnobotanical survey of mosquito repellent plants in uMkhanyakude district, KwaZulu-Natal province, South Africa. **Journal of Ethnopharmacology**, 137(3), 1516–1520.

Máximo, K. A. M. (2023). COMPREENDENDO O MODELO DE GOMPERTZ E SUAS APLICAÇÕES. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, 9(3), 2134–2141.

Melo, J. O., Bitencourt, T. A., Fachin, A. L., Cruz, E. M. O., de Jesus, H. C. R., Alves, P. B., de Fátima Arrigoni-Blank, M., de Castro Franca, S., Beleboni, R. O., Fernandes, R. P. M., Blank, A. F., & Scher, R. (2013). Antidermatophytic and antileishmanial activities of essential oils from Lippia gracilis Schauer genotypes. **Acta Tropica**, 128(1), 110–115.

Michetti, K. M., Pérez Cuadra, V., & Cambi, V. N. (2019a). Botanical quality control of digestive tisanes commercialized in an urban area (Bahía Blanca, Argentina). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 29(2), 137–146.

essential oil chemotype, pinene-cineole-limonene, on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae).

Moo-Huchin, V.M., Moo-Huchin, M.I., Estrada-Léon, R.J., Cuevas-Glory, L., Estrada-Mota, L.A., Ortiz-Vasquez, E. Sauri-Duchi (2015). Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in oel from trhee tropical fruits from Yucatan, Mexico. **Food chemistry**. 166, 17-22.

Nieddu, M., Rassu, G., Boatto, G., Bosi, P., Trevisi, P., Giunchedi, P., Carta, A., & Gavini, E. (2014). Improvement of thymol properties by complexation with cyclodextrins: In vitro and in vivo studies. **Carbohydrate Polymers**, 102(1), 393–399.

▲ Nieto Marín, V., Buccini, D. F., Gomes da Silva, V., Fernandez Soliz, I. A., & Franco, O. L. (2025). Nanoformulations of bioactive compounds derived from essential oils with antimicrobial activity. **Nano Trends** (Vol. 9). Elsevier B.V.

Nonato, C. de F. A., de Melo, E. V. S., Camilo, C. J., Ferreira, M. K. A., de Menezes, J. E. A., da Silva, A. W., Santos, H. S. dos, Ribeiro-Filho, J., Paolla Raimundo e Silva, J., Tavares, J. F., Menezes, I. R. A. de, Coutinho, H. D. M., Kowalska, G., Baj, T., Kowalski, R., & da Costa, J. G. M. (2023a). Antibacterial Activity and Anxiolytic Effect in Adult Zebrafish of Genus *Lippia* L. Species. **Plants**, 12(8).

Nonato, C., Camilo, C. J., Duarte Leite, D. O., Lúcio Albuquerque da Nobrega, M. G., Ribeiro-Filho, J., Alencar de Menezes, I. R., Tavares, J. F., & Martins da Costa, J. G. (2022). Comparative analysis of chemical profiles and antioxidant activities of essential oils obtained from species of *Lippia* L. by chemometrics. **Food Chemistry**, 384.

Nunes, J. de A., Teixeira, L. L., Nascimento, W. M. O., Lopes, D. C. F., da Silva, J. K. R., Pinto, L. C., Santos, P. V. L., & Figueiredo, P. L. B. (2025). Seasonal variation on chemical composition and in vitro cytotoxic and anti-inflammatory activities of *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh essential oil from Amazon. **Biochemical Systematics and Ecology**, 121.

Nunes, M. R., de Souza Maguerroski Castilho, M., de Lima Veeck, A. P., da Rosa, C. G., Noronha, C. M., Maciel, M. V. O. B., & Barreto, P. M. (2018). Antioxidant and antimicrobial methylcellulose films containing *Lippia alba* extract and silver nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, 192, 37–43.

Ojeda-Piedra, S. A., Quintanar-Guerrero, D., Cornejo-Villegas, M. A., & Zambrano-Zaragoza, M. L. (2024a). A Green Method for Nanoencapsulation of Thymol in Chitosan–Gelatin with Antioxidant Capacity. **Food and Bioprocess Technology**, 17(7), 1985–1996.

Oliveira, CMS Silva-Filho, EA Malveira, TKB Aguiar, HS Santos, CC Albuquerque, MB Morais, EH Teixeira, MA Vasconcelos (2021). Atividades antifúngicas e antibiofilmes do óleo essencial de folhas de *Lippia gracilis* Schauer contra fungos fitopatogênicos, *Journal of Applied Microbiology*, Volume 130, Edição 4, Páginas 1117–1129

Oliveira, T. M., de Carvalho, R. B. F., da Costa, I. H. F., de Oliveira, G. A. L., de Souza, A. A., de Lima, S. G., & de Freitas, R. M. (2015). Evaluation of p-cymene, a natural antioxidant. **Pharmaceutical Biology**, 53(3), 423–428.

structures. In **Advanced Industrial and Engineering Polymer Research** (Vol. 7, Issue 2, pp. 182–200).

Parcheta, M., Świsłocka, R., Orzechowska, S., Akimowicz, M., Choińska, R., & Lewandowski, W. (2021). Recent developments in effective antioxidants: The structure and antioxidant properties. In **Materials** (Vol. 14, Issue 8). MDPI AG.

Patel, J., Sharma, K., Chaudhari, R., Kumar, A., & Sengupta, S. (2025). Antileishmanial activity of Fenugreek, Thyme, and Rosemary essential oil nanoemulsions - a comprehensive study with mechanistic insights. **Journal of Molecular Liquids**, 434.

Pedreira, A., Fernandes, S., Simões, M., García, M. R., & Vázquez, J. A. (2024). Synergistic Bactericidal Effects of Quaternary Ammonium Compounds with Essential Oil Constituents. **Foods**, 13(12).

Penha, T., Costa, A. C. C., Lima, A. da S., Camargo-Mathias, M. I., Blank, A. F., Abreu-Silva, A. L., & Costa-Júnior, L. M. (2021). Effects of acaricidal essential oils from *Lippia sidoides* and *Lippia gracilis* and their main components on vitellogenesis in *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, 299.

Pinto, L., Baruzzi, F., Terzano, R., Busto, F., Marzulli, A., Magno, C., Cometa, S., & de Giglio, E. (2024). Analytical and Antimicrobial Characterization of Zn-Modified Clays Embedding Thymol or Carvacrol. **Molecules**, 29(15).

Pinto, T., Aires, A., Cosme, F., Bacelar, E., Morais, M. C., Oliveira, I., Ferreira-Cardoso, J., Anjos, R., Vilela, A., & Gonçalves, B. (2021). Bioactive (Poly)phenols, volatile compounds from vegetables, medicinal and aromatic plants. **Foods** (Vol. 10, Issue 1).

Ponce, A. G., Fritz, R., del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT*, 36(7), 679–684.

Razmi, N., Lazouskaya, M., Pajcin, I., Petrovic, B., Grahovac, J., Simic, M., Willander, M., Nur, O., & Stojanovic, G. M. (2023). Monitoring the effect of pH on the growth of pathogenic bacteria using electrical impedance spectroscopy. *Results in Engineering*, 20.

Recio-Cázares, S. L., Jiménez-González, O., López-Malo, A., Palou, E., & Ramírez-Corona, N. (2024). Enhancing the extraction of essential oil from Mexican lippia (*Aloysia citriodora*) leaves obtained by hydro-distillation aided by natural deep eutectic solvents (NADES). **Chemical Engineering and Processing - Process Intensification**, 195.

Reddy, B. H. V., Hussain, S. M. S., Hussain, M. S., Kumar, R. N., & Gupta, J. (2025). Essential oils in cosmetics: Antioxidant properties and advancements through nanoformulations. *Pharmacological Research - Natural Products*, 6, 100192.

Riella, K. R., Marinho, R. R., Santos, J. S., Pereira-Filho, R. N., Cardoso, J. C., Albuquerque-Junior, R. L. C., & Thomazzi, S. M. (2012). Anti-inflammatory and cicatrizing activities of thymol, a monoterpene of the essential oil from *Lippia gracilis*, in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*.

ROSSO, Laurent; LOBRY, Jean R.; FLANDROIS, Jean-Pierre. Uma correlação inesperada entre temperaturas cardinais de crescimento microbiano destacada por um novo modelo. **Journal of theoretical biology** , v. 162, n. 4, p. 447-463, 1993.

Salem, A. S., Tompkins, G. R., & Cathro, P. R. (2022). Alkaline Tolerance and Biofilm Formation of Root Canal Isolates of *Enterococcus faecalis*: An In Vitro Study. **Journal of Endodontics**, 48(4), 542-547.e4.

Salimi, F., Fattahi, M., & Hamzei, J. (2022a). Phenolic contents, composition and antioxidant activity of essential oils obtained from Iranian populations of *Apium graveolens*, and their canonical correlation with environmental factors. **Biochemical Systematics and Ecology**, 101.

Samba, N., Aitfella-Lahlou, R., Nelo, M., Silva, L., Coca, R., Rocha, P., & López Rodilla, J. M. (2021). Chemical composition and antibacterial activity of lippia multiflora moldenke essential oil from different regions of angola. **Molecules**, 26(1).

Santos Lazzarini, L. E., Vilela Bertolucci, S. K., de Carvalho, A. A., Santiago, A. C., Pacheco, F. V., Ferreira Célio, M. M., & Pereira Pinto, J. E. B. (2019). Growth regulators affect the dry weight production, carvacrol and thymol content of *Lippia gracilis* Schauer. **Industrial Crops and Products**, 129, 35–44.

Santos, C. P. dos, Pinto, J. A. O., Santos, C. A. dos, Cruz, E. M. O., Arrigoni-Blank, M. de F., Andrade, T. M., Santos, D. de A., Alves, P. B., & Blank, A. F. (2016). Harvest time and geographical origin affect the essential oil of *Lippia gracilis* Schauer. **Industrial Crops and Products**, 79, 205–210.

Santos, I. G. de A., Scher, R., Rott, M. B., Menezes, L. R., Costa, E. V., Cavalcanti, S. C. de H., Blank, A. F., Aguiar, J. dos S., da Silva, T. G., & Dolabella, S. S. (2016a). Amebicidal activity of the essential oils of *Lippia* spp. (Verbenaceae) against *Acanthamoeba polyphaga* trophozoites. **Parasitology Research**, 115(2), 535–540.

Santos, P. R., de Andrade Porto, S. M., Brandão, F. R., de Melo Souza, D. C., Rocha, M. J. S., de Alexandre Sebastião, F., Oliveira, M. R., Chaves, F. C. M., & Chagas, E. C. (2023). Efficacy of the essential oils of *Aloysia triphylla*, *Lippia gracilis* and *Piper aduncum* in the control of *Piscinoodinium pillulare* (Shaperclaus, 1954) in *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). **Aquaculture**, 565.

Santos, Paula Ribeiro, SM, Brandão, FR, de Melo Souza, DC, Rocha, MJS, de Alexandre Sebastião, F., & Chagas, EC (2023). Eficácia dos óleos essenciais de *Aloysia triphylla*, *Lippia gracilis* e *Piper aduncum* no controle de *Piscinoodinium pillulare* (Shaperclaus, 1954) em *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). **Aquicultura** , v. 565, p. 739127, 2023.

Semiz, G., Mutlu, D., Günal, B., Semiz, A., & Arslan, Ş. (2023). The anticancer effect of *Salvia pisidica* essential oil through promotion intrinsic and extrinsic apoptosis pathways in human cancer cell lines. **Journal of Herbal Medicine**, 39.

Shareef, S. H., Al-Medhtiy, M. H., Ibrahim, I. A. A., Alzahrani, A. R., Jabbar, A. A., Galali, Y., Agha N E S., Aziz, P. Y., Thebit, M. A., Agha D N E., Salehen, N. A., Ameen, Z. M., & Abdulla

Siddeeg, A., AlKehayez, N. M., Abu-Hiamed, H. A., Al-Sanea, E. A., & AL-Farga, A. M. (2021). Mode of action and determination of antioxidant activity in the dietary sources: An overview. **Saudi Journal of Biological Sciences** (Vol. 28, Issue 3, pp. 1633–1644).

Silva, A. T., Cândido, A. E. C. M., Júnior, E. do C. M., do É, G. N., Moura, M. P. S., Souza, R. de F. S., Guimarães, M. L., Peixoto, R. de M., de Oliveira, H. P., & da Costa, M. M. (2024). Bactericidal and Synergistic Effects of *Lippia origanoides* Essential Oil and Its Main Constituents against Multidrug-Resistant Strains of *Acinetobacter baumannii*. **ACS. Omega**.

Sinha, S., Aggarwal, S., & Singh, D. V. (2024). Efflux pumps: gatekeepers of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* biofilms. In *Microbial Cell* (Vol. 11, Issue 1, pp. 368–377). Shared Science Publishers OG.

Stavropoulou, E., & Bezirtzoglou, E. (2019). Predictive modeling of microbial behavior in food. In **Foods** (Vol. 8, Issue 12). MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

Subudhi, L., Thatoi, H., & Banerjee, A. (2025). Anti-inflammatory activity of essential oil from medicinal plants: An insight into molecular mechanism, in-silico studies and signaling pathways. **Phytomedicine**, 138.

Sui, X., Wang, J., Zhao, Z., Liu, B., Liu, M., Liu, M., Shi, C., Feng, X., Fu, Y., Shi, D., Li, S., Qi, Q., Xian, M., & Zhao, G. (2024). Phenolic compounds induce ferroptosis-like death by promoting hydroxyl radical generation in the Fenton reaction. **Communications Biology**, 7(1).

Taghizadeh, M., Nezhad Fard, R. M., Aman Mohammadi, M., Abbasi, A., Ntsomboh-Ntsefong, G., Darani, K. K., Mohammadi, M., Khosroshahi, N. K., & Hosseini, H. (2025). Enhancing hamburger shelf life with nanoparticles, pickering nanoemulsion, and nanophytosomes of *Zataria multiflora* essential oil: A comparative and predictive study. **LWT**, 225.

Taibi, M., Elbouzidi, A., Haddou, M., Baraich, A., Ou-Yahia, D., Bellaouchi, R., Mothana, R. A., Al-Yousef, H. M., Asehrouj, A., Addi, M., Guerrouj, B. el, & Chaabane, K. (2024a). Evaluation of the Interaction between Carvacrol and Thymol, Major Compounds of *Ptychotis verticillata* Essential Oil: Antioxidant, Anti-Inflammatory and Anticancer Activities against Breast Cancer Lines. **Life**, 14(8).

Tango, C. N., Akkermans, S., Hussain, M. S., Khan, I., van Impe, J., Jin, Y. G., & Oh, D. H. (2018). Modeling the effect of pH, water activity, and ethanol concentration on biofilm formation of *Staphylococcus aureus*. **Food Microbiology**, 76, 287–295.

Tarlak, F. (2023a). The Use of Predictive Microbiology for the Prediction of the Shelf Life of Food Products. In *Foods* (Vol. 12, Issue 24). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).

Tavares, T. D., Antunes, J. C., Padrão, J., Ribeiro, A. I., Zille, A., Amorim, M. T. P., Ferreira, F., & Felgueiras, H. P. (2020). Activity of specialized biomolecules against gram-positive and gram-negative bacteria. **Antibiotics**, 9(6), 1–16.

Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H. (2006). Comparison

truncatula: Two Ugly Items That Hinder Coping with Salt Stress Effects. **International Journal of Molecular Sciences**, 23(18).

Trevisan, M. T. S., Marques, R. A., Silva, M. G. v, Scherer, D., Haubner, R., Ulrich, C. M., & Owen, R. W. (2016). Composition of Essential Oils and Ethanol Extracts of the Leaves of Lippia Species: Identification, Quantitation and Antioxidant Capacity. In **Nat. Prod** (Vol. 10).

Ünsal, Y. (2024a). Economic complexity and environmental sustainability: sectoral perspectives from OECD countries. **Journal of Environmental Studies and Sciences**.

Valgimigli, L. (2023). Lipid Peroxidation and Antioxidant Protection. **Biomolecules** (Vol. 13, Issue 9). Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

Villagómez-Guzmán, A. K., García-Bores, A. M., López-Perez, M. A., Estrella-Parra, E. A., Avila-Acevedo, J. G., Cansino, R. G., Camilo, P. B., & Hernández-Delgado, C. T. (2023). Antifungal and antibacterial activities of Lippia callicarpifolia Kunth essential oils and influence of phenological stage on chemical composition.

Vora, L. K., Gholap, A. D., Hatvate, N. T., Naren, P., Khan, S., Chavda, V. P., Balar, P. C., Gandhi, J., & Khatri, D. K. (2024). Essential oils for clinical aromatherapy: A comprehensive review. **Journal of Ethnopharmacology** (Vol. 330). Elsevier Ireland Ltd.

Wang, W., Zhang, W., Li, L., Deng, W., Liu, M., & Hu, J. (2023). Biodegradable starch-based packaging films incorporated with polyurethane-encapsulated essential-oil microcapsules for sustained food preservation. **International Journal of Biological Macromolecules**, 235.

Wang, X., Li, J., Hu, X., Chen, Y., Li, C., & Cui, Z. (2025). A comparative life cycle assessment of novel technologies: Extraction of essential oils from rosemary leaves. **Sustainable Production and Consumption**, 56, 328–342.

Yan, M., Zhao, Y., Feng, S., Zheng, J., Diao, M., & Zhang, T. (2024). Hydroxyl group-induced enhancement of antioxidant activity of resveratrol over pterostilbene by binding to lactoferrin. **Food Chemistry**, 441

Yang, X. N., Khan, I., & Kang, S. C. (2015). Chemical composition, mechanism of antibacterial action and antioxidant activity of leaf essential oil of Forsythia koreana deciduous shrub. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, 8(9), 694–700.

Yao, L., Hou, G., Wang, L., Zuo, X. shu, & Liu, Z. (2018). Protective effects of thymol on LPS-induced acute lung injury in mice. **Microbial Pathogenesis**, 116, 8–12.

Yin, X. J., Lin, G. P., Wu, X. Y., Huang, R., Xu, C. J., & Yao, M. Y. (2024). Effects of lavender essential oil inhalation aromatherapy on depression and sleep quality in stroke patients: A single-blind randomized controlled trial. **Complementary Therapies in Clinical Practice**, 55.

Zhi, Z., Zhou, P., He, T., Chen, S., Qian, X., Ye, Y., Wong, W. L., Li, S., Sun, N., & Yuan, W. (2025). Study of the antimicrobial activity of caryacrol and its mechanism of action against drug

Zanotto, A. W., Kanemaru, M. Y. S., de Souza, F. G., Duarte, M. C. T., de Andrade, C. J., & Pastore, G. M. (2023). Enhanced antimicrobial and antioxidant capacity of Thymus vulgaris, Lippia sidoides, and Cymbopogon citratus emulsions when combined with mannosylerythritol a lipid biosurfactant. **Food Research International**, 163.

Zhang, J. Y., Meng, X., Zhu, X. L., Peng, S. R., Li, H. B., Mo, H. Z., & Hu, L. bin. (2024). Thymol Induces Fenton-Reaction-Dependent Ferroptosis in Vibrio parahemolyticus. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 72(25), 14337–14348.

Zhang, Y., Shen, Y., Zhu, Y., & Xu, Z. (2015). Assessment of the correlations between reducing power, scavenging DPPH activity and anti-lipid-oxidation capability of phenolic antioxidants. **LWT**, 63(1), 569–574.

Zhao, R., Feng, J., Huang, J., Li, X., & Li, B. (2021). Responses of microbial community and antibiotic resistance genes to the selection pressures of ampicillin, cephalexin and chloramphenicol in activated sludge reactors. **Science of the Total Environment**, 755.

Zuvalova, I., Vyhlídalová, B., Ondrová, K., Nádvorník, P., Hrubý, J., Illés, P., Sural, M., Šebela, M., Šindlerová, L., Kubala, L., Mani, S., & Dvořák, Z. (2025a). Decoding structural determinants of aryl hydrocarbon receptor antagonism by monoterpenoids. **Bioorganic Chemistry**, 157.