

Ação antimicrobiana e caracterização fitoquímica dos óleos essenciais de *Eucalyptus* e Pinho

Antimicrobial action and phytochemical characterization of *Eucalyptus* and Pine volatile oils

Acción antimicrobiana y caracterización fitoquímica de los aceites volátiles de *Eucalyptus* y pino

Recebido: 02/02/2025 | Revisado: 10/02/2025 | Aceitado: 11/02/2025 | Publicado: 15/02/2025

Fábia Luane Oliveira Santos

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-7798-4001>

Instituto Multidisciplinar em Saúde, Campus Anísio Teixeira, Universidade Federal da Bahia, Brasil

E-mail: fabialuane3@gmail.com

Paulinne Moreira Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1328-3735>

Instituto Multidisciplinar em Saúde, Campus Anísio Teixeira, Universidade Federal da Bahia, Brasil

E-mail: paulinneml@ufba.br

Jéssica Bomfim de Almeida

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8016-734X>

Instituto Multidisciplinar em Saúde, Campus Anísio Teixeira, Universidade Federal da Bahia, Brasil

E-mail: jessicaobomfim@gmail.com

Juliano Geraldo Amaral

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1823-1694>

Instituto Multidisciplinar em Saúde, Campus Anísio Teixeira, Universidade Federal da Bahia, Brasil

E-mail: amaraljg@yahoo.com.br

André Luís Morais Ruela

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1258-8705>

Escola de Farmácia, Campus Morro do Cruzeiro, Universidade Federal de Ouro Preto, Brasil

E-mail: andre.ruela@yahoo.com.br

Milena Soares dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1995-140X>

Instituto Multidisciplinar em Saúde, Campus Anísio Teixeira, Universidade Federal da Bahia, Brasil

E-mail: milenasoares.ims@gmail.com

Resumo

Apesar dos avanços da ciência, tem sido observada uma preocupação global quanto à crescente disseminação de microrganismos resistentes aos antibióticos. Objetivos: determinar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Pinus* sp. e *Eucalyptus citriodora* frente aos patógenos de importância clínica *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*. Metodologia: a análise e caracterização fitoquímica dos óleos essenciais foi realizada pelo método de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. A atividade antimicrobiana foi determinada através do método de disco-difusão conforme metodologia preconizada pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute*, a partir de microrganismos referência catalogados em coleções cedidas. Os dados obtidos foram analisados através de medidas de frequência simples e dispersão e as informações coletadas registradas, tabuladas e dispostas em tabelas e gráficos. Resultados: Os principais compostos encontrados no óleo essencial de eucalipto foram (R) citronelal (60,71%), eucaliptol (11,70%) e isopulegol (9,91%), e α -terpineol (28,78%), terpinoleno (15,57%) e limoneno (10,35%) no óleo essencial de pinho. Quanto à ação antimicrobiana, o óleo essencial de eucalipto apresentou atividade contra os patógenos *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans*, enquanto o de pinho apresentou atividade frente a todos os microrganismos estudados. Foi evidenciada ação sinérgica dos óleos essenciais contra o fungo *C. albicans*, com total inibição deste microrganismo. Conclusão: os óleos essenciais de eucalipto e pinho apresentaram atividade contra os microrganismos estudados, sugerindo-os como potencial insumo para o desenvolvimento de novos produtos, além do uso como uma alternativa antimicrobiana.

Palavras-chave: Óleo essencial; *Pinus* sp.; *Eucalyptus citriodora*; Ação antimicrobiana; *S. aureus*; *E. coli*; *P. aeruginosa*; *C. albicans*.

Abstract

Despite scientific advancements, there has been growing global concern regarding the increasing spread of microorganisms resistant to antibiotics. Objectives: to determine the antimicrobial activity of the essential oils of *Pinus* sp. and *Eucalyptus citriodora* against clinically relevant pathogens *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Candida albicans*. Methodology: The analysis and phytochemical characterization of the essential oils were performed using Gas Chromatography Mass Spectrometry. The antimicrobial activity was determined using the disk diffusion method according to the guidelines of the Clinical and Laboratory Standards

Institute, based on reference microorganisms cataloged in collections provided. The data obtained were analyzed using simple frequency measures and dispersion, and the collected information was recorded, tabulated, and presented in tables and graphs. Results: The main compounds found in the eucalyptus essential oil were (R) citronellal (60.71%), eucalyptol (11.70%), and isopulegol (9.91%), while in the pine essential oil, the main compounds were α -terpineol (28.78%), terpinolene (15.57%), and limonene (10.35%). Regarding antimicrobial activity, the eucalyptus essential oil showed activity against *S. aureus*, *E. coli*, and *C. albicans*, while the pine oil showed activity against all the microorganisms studied. Synergistic action of the essential oils was observed against the fungus *C. albicans*, with complete inhibition of this microorganism. Conclusion: The essential oils of eucalyptus and pine showed activity against the microorganisms studied, suggesting their potential as ingredients for the development of new products, as well as an alternative antimicrobial agent.

Keywords: Volatile oils; *Pinus sp.*; *Eucalyptus citriodora*; Antimicrobial action; *S. aureus*; *E. coli*; *P. aeruginosa*; *C. albicans*.

Resumen

A pesar de los avances científicos, se ha observado una creciente preocupación global por la propagación de microorganismos resistentes a los antibióticos. Objetivo: determinar la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Pinus sp.* y *Eucalyptus citriodora* frente a patógenos de importancia clínica como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*. Metodología: El análisis y la caracterización fitoquímica de los aceites esenciales se realizó mediante el método de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. La actividad antimicrobiana se determinó utilizando el método de difusión en disco según la metodología establecida por el Clinical and Laboratory Standards Institute, utilizando microorganismos de referencia catalogados en colecciones proporcionadas. Los datos obtenidos se analizaron mediante medidas de frecuencia simple y dispersión, y la información recolectada fue registrada, tabulada y presentada en tablas y gráficos. Resultados: Los principales compuestos encontrados en el aceite esencial de eucalipto fueron (R) citronelal (60,71%), eucaliptol (11,70%) e isopulegol (9,91%), mientras que en el aceite esencial de pino se encontraron los compuestos principales α -terpineol (28,78%), terpinoleno (15,57%) y limoneno (10,35%). En cuanto a la acción antimicrobiana, el aceite esencial de eucalipto mostró actividad contra *S. aureus*, *E. coli* y *C. albicans*, mientras que el de pino mostró actividad frente a todos los microorganismos estudiados. Se evidenció una acción sinérgica de los aceites esenciales contra el hongo *C. albicans*, con inhibición total de este microorganismo. Conclusión: Los aceites esenciales de eucalipto y pino mostraron actividad frente a los microorganismos estudiados, sugiriéndolos como ingredientes potenciales para el desarrollo de nuevos productos, así como una alternativa antimicrobiana.

Palabras clave: Aceites volátiles; *Pinus sp.*; *Eucalyptus citriodora*; Acción antimicrobianas; *S. aureus*; *E. coli*; *P. aeruginosa*; *C. albicans*.

1. Introdução

A resistência antimicrobiana põe em risco a eficácia da prevenção e do tratamento de um número cada vez maior de infecções causadas por vírus, bactérias, fungos e parasitas (Opas, n.d.). Mecanismos de resistência têm surgido e se disseminado pelo mundo, tornando a população cada vez mais vulnerável às infecções causadas por esses microrganismos, o que influencia a capacidade de tratar doenças infecciosas comuns, resultando em doença prolongada, incapacidade e morte. Dessa forma, o estudo e o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas, assim como o uso racional desses medicamentos, são essenciais para o enfrentamento desse problema de saúde global (Ainane *et al.*, 2021; Diallo *et al.*, 2020; Donadu *et al.*, 2020; Opas, 2022).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) aponta o uso indiscriminado de antibióticos como um dos principais fatores que impulsionam o aumento da resistência microbiana, comprometendo a eficácia dos tratamentos e a resposta terapêutica. Diante desse cenário alarmante, estima-se que, até 2050, a resistência antimicrobiana poderá resultar na perda de 10 milhões de vidas por ano mundialmente, além de gerar um prejuízo econômico de até 100 trilhões de dólares (Anvisa, 2022; Gbd, 2021).

No contexto do crescente uso de antibióticos em países de baixa e média renda, o Brasil enfrenta um cenário preocupante, onde 80% das prescrições desses medicamentos ocorrem na Atenção Primária à Saúde (APS) e 90% do consumo acontece na comunidade, um setor que carece de fiscalização específica da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) para o controle de prescrições. Essa realidade aumenta o risco do uso inadequado de antibióticos, impulsionando a resistência antimicrobiana e agravando o problema no país (Paho & Fiu, 2018).

A lista da OMS, que categoriza os patógenos de acordo com a urgência por novos antibióticos e antifúngicos, ressalta a gravidade da situação. Bactérias como *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, são considerados patógenos de prioridade crítica e *Staphylococcus aureus* como alta prioridade para o desenvolvimento de novos medicamentos. Além disso, o patógeno *Candida albicans*, se encontra no grupo de ameaça crítica, sendo um dos fungos de maior importância percebida para a saúde pública (Opas, 2017; Who, 2022).

Desde os tempos antigos, as plantas são fontes de diferentes tipos de compostos, utilizadas pelos humanos por suas inúmeras atividades biológicas e para o desenvolvimento de drogas (Garzoli *et al.*, 2021). A exemplo disso, tem os óleos essenciais, que são metabólitos secundários voláteis sintetizados nas plantas aromatizantes, caracterizados por apresentarem misturas complexas compostas principalmente de terpenos (Batish *et al.*, 2006).

A espécie *Eucalyptus citriodora* é amplamente cultivada no Brasil, devido ao seu amplo uso para diversos fins comerciais (Embrapa, 2017). Suas folhas possuem forte aroma de citronela, de onde são extraídos os óleos essenciais ricos em citronelol, citronelal, cineol e limoneno (Fan *et al.*, 2018; Imoisi *et al.*, 2021). O óleo essencial derivado das folhas de *Eucalyptus citriodora* apresenta propriedades antissépticas e desinfetantes, sendo utilizado em descongestionantes nasais, gripes, tratamentos para resfriados e infecções de pele (Egbeneje *et al.*, 2023; Imoisi & Michael, 2020).

Outras espécies com uma riqueza em sua composição química, são as da família *Pinaceae*, tendo como principais compostos dos óleos essenciais o α -pineno e β -pineno, que apresentam um amplo espectro de atividades antimicrobianas (Garzoli *et al.*, 2021). Essas espécies possuem naturalidade no hemisfério Norte e suas propriedades medicinais e aromáticas, as tornam amplamente populares em toda civilização (Embrapa, 2014; Fekih *et al.*, 2014). Na etnomedicina, as plantas da família *Pinaceae* são utilizadas como tratamentos para doenças de pele, asma, feridas, distúrbios musculares de origem infecciosa, reumática, entre outros (Kızılarlan & Sevg, 2013; Kurti *et al.*, 2019).

O uso de óleo essencial como alternativa terapêutica tem crescido, principalmente na saúde integrativa de aromaterapia, tendo sua função atribuída de acordo com fatores, como parte da planta utilizada para a extração do óleo, tipo de extração, entre outros. Esses óleos são utilizados em diversos produtos farmacêuticos e cosméticos, como pastilhas, cremes, medicamentos para tosse, usados via oral, intranasal ou tópica (Dudipala *et al.*, 2021; Nazzaro *et al.*, 2017; Plant *et al.*, 2019).

Atualmente, os estudos sobre atividade antimicrobiana de produtos naturais têm despertado grande interesse para a indústria, devido à importância de identificar e caracterizar novas moléculas bioativas para aplicações em diferentes áreas como conservação e embalagem de alimentos e fenômeno de resistência a antibióticos (Garzoli *et al.*, 2021).

A ação antimicrobiana dos óleos essenciais é possível devido à presença de álcoois, aldeídos e fenóis ou pelo sinergismo de diferentes classes de seus compostos. Assim, os óleos podem apresentar a capacidade de inibir o crescimento microbiano, através de mecanismos de ação atuantes principalmente na membrana e citoplasma dos microrganismos (Bassolé & Juliani, 2012; Henrique *et al.*, 2017).

Desta forma, o presente estudo realizou a análise fitoquímica e a avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de eucalipto e pinho, com o objetivo de identificar seus principais compostos voláteis e sua atividade como uma potencial alternativa terapêutica.

2. Metodologia

O estudo trata-se de uma pesquisa de natureza experimental, laboratorial de natureza quantitativa (Pereira *et al.*, 2018) com uso de estatística descritiva simples com médias e frequências absolutas (Shitsuka *et al.*, 2014) e que foi conduzida a partir de produtos de origem vegetal.

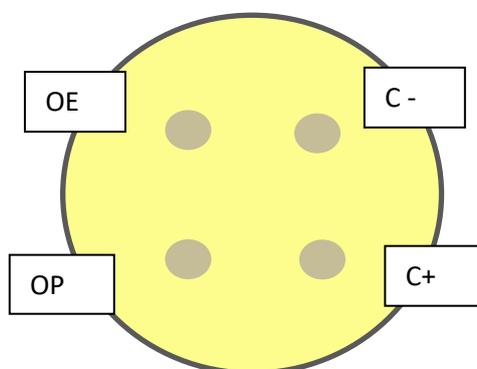
a) Obtenção dos óleos essenciais (OE): Os OE de *Eucalyptus citriodora* e de *Pinus sp.* foram adquiridos comercialmente da NC Aromas indústrias e comércio Ltda/MG.

b) Análise dos óleos essenciais por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) e caracterização fitoquímica: As determinações foram realizadas por meio de injeção de 1 µL da solução contendo as amostras de óleos, diluídas em diclorometano (1:10), em CG-EM (Shimadzu QP2010). Uma coluna capilar RTx-5MS (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm) promoveu a separação e o gás de arraste foi o hélio à 80 kPa. A temperatura de injeção decorreu a 250°C e a rampa de aquecimento seguiu o seguinte fluxo: 60-240°C incremento de 3°C/min, 240-310°C incremento de 15°C/min e 310°C por 10 min. Os espectros de massas foram obtidos através de ionização por elétrons (EI) aplicando uma energia de 70 eV (Barth *et al.*, 2015). A caracterização ocorreu por meio da investigação do resultado do cálculo dos índices de retenção linear utilizando planilha proposta por Bizzoa e colaboradores (2019) e comparação com coleção combinada de dados proveniente da biblioteca Adams (2017), os espectros de massas experimentais também foram comparados com dados das bibliotecas Wiley (McLafferty, 2015) e NIST (Nist, 2011).

c) Atividade antimicrobiana: O perfil de susceptibilidade antimicrobiana foi avaliado através do método de disco-difusão conforme metodologia preconizada pelo CLSI (2019) a partir de microrganismos referência catalogados em coleções gentilmente cedidas, conforme especificado: cepas *S.aureus* ATCC 25923, *E.coli* ATCC 25922, *P.aeruginosa* ATCC 27853 e *C.albicans* ATCC 90028. As cepas foram cultivadas em estufa bacteriológica, em aerobiose, a 35-37°C, durante 24 horas, em meio de cultura sólido composto Ágar BHI (Brain Heart Infusion®, Difco Ltda), previamente esterilizado em autoclave.

Inicialmente, em capela de fluxo laminar, foram preparadas as suspensões microbianas em tubos contendo 3mL de solução salina estéril a 0,9% e ajustadas para que sua turbidez fosse equivalente à escala padrão de McFarland 0,5. Na sequência foi realizada semeadura com o auxílio de *swab* estéril em placa contendo ágar Müller-Hinton (Difco®, Ltda) em três direções diferentes. A metodologia consiste na impregnação de 10 µL de cada extrato em discos estéreis de papel filtro de 6 mm de diâmetro sobre o meio de cultura sólido já semeado com o microrganismo que se quer testar. A disposição dos discos foi realizada de maneira aleatória, de modo que não houve sobreposição (Figura 1). Na mesma placa de Petri foram inoculados como controle negativo, água destilada e como controles positivos, discos de ciprofloxacino (5µg, Cecon®) e cefoxitina (30µg, Cecon®). As placas de Petri foram inoculadas e incubadas em estufa bacteriológica, em aerobiose, a 35-37°C. Após 24 horas, foi realizada a leitura, e os diâmetros dos halos de inibição foram medidos em milímetros com uso de régua. Os testes foram realizados em triplicata. Os valores de referência para o controle de qualidade do teste de disco-difusão foram avaliados conforme preconizado pelas normas do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (2019).

Figura 1 - Imagem esquematizando a disposição dos discos em placa de ágar Mueller Hinton.



C-: controle negativo, C+: controle positivo, OE: óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*, OP: óleo essencial de pinho.
Fonte: Autores (2025).

d) Análise dos dados:

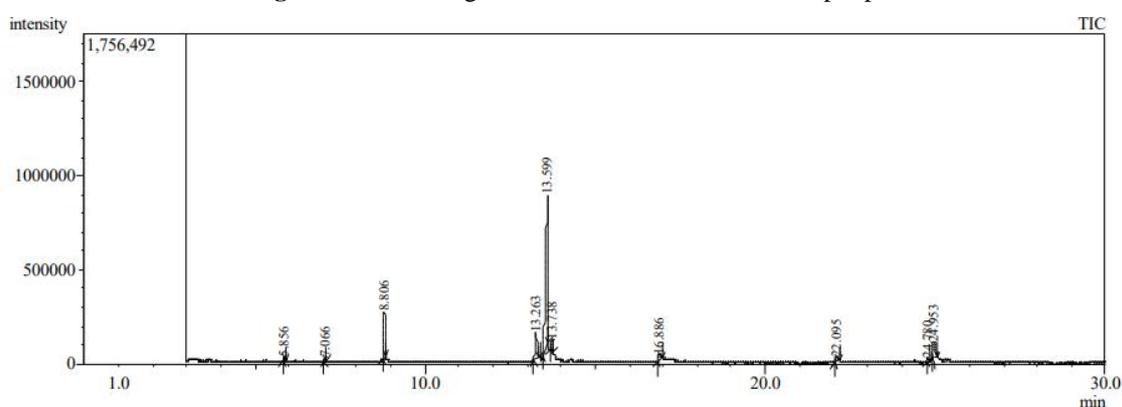
O programa Excel for Windows versão 2010 foi utilizado para a criação e análise do banco de dados. Os dados foram analisados através de medidas de frequência simples e dispersão (média e mediana). As informações coletadas foram registradas, tabuladas e dispostas em tabelas e gráficos.

3. Resultados e Discussão

3.1 Análise dos óleos essenciais por CG-EM e caracterização fitoquímica:

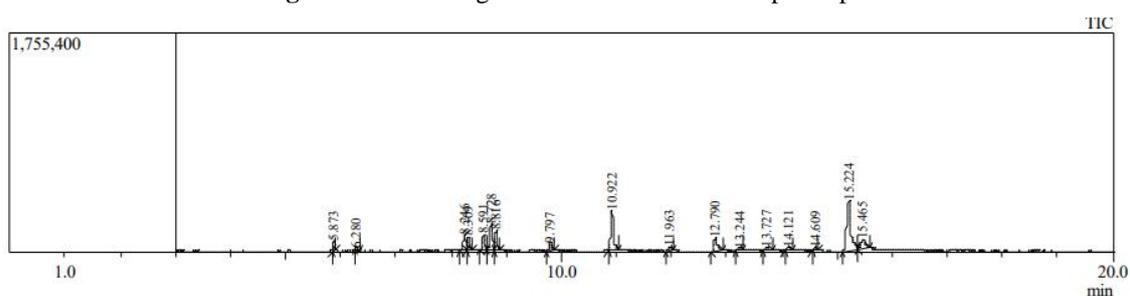
O resultado da análise e caracterização fitoquímica dos óleos essenciais, a partir dos cromatogramas, está apresentado nas Figuras 2 e 3 a seguir.

Figura 2 - Cromatograma do óleo essencial de eucalipto por CG-EM.



Fonte: Autores (2025).

Figura 3 - Cromatograma do óleo essencial de pinho por CG-EM.



Fonte: Autores (2025).

Nas Tabelas 1 e 2 a seguir, estão representados os picos observados, compostos e tempo de retenção em minutos, obtidos a partir dos cromatogramas mostrados nas Figuras 2 e 3, índice de retenção observado (**LRI_{Obs}**) e índice de retenção referencial (**LRI_{Ref}**) e a área de pico, dado em porcentagem.

Tabela 1 - Resultado da análise do óleo essencial de eucalipto por CG-EM.

Pico	Composto	Tempo de Retenção (min)	LRI _{OBS} (LRI _{REF})	Área de Pico (%)
1	α -Pineno	5.856	932 (932)	0.84
2	β -Pineno	7.066	975 (974)	0.83
3	Eucaliptol	8.806	1028 (1026)	11.70
4	Isopulegol	13.263	1142 (1145)	9.91
5	(R) Citronelal	13.599	1150 (1148)	60.71
6	Iso-Isopulegol	13.738	1153 (1155)	3.94
7	Citronelol	16.886	1226 (1223)	2.08
8	Acetato de Citronelila	22.095	1346 (1350)	1.67
9	Cariofileno	24.780	1409 (1408)	1.03

LRI_{OBS} = Índice de retenção observado; LRI_{REF} = Índice de retenção referencial.
 Fonte: Autores (2025).

O resultado da análise do óleo essencial de eucalipto, observado na Tabela 1, mostrou a presença de três principais compostos, sendo eles o (R) citronelal, eucaliptol e isopulegol, apresentando área de pico de 60,71%, 11,70% e 9,91% respectivamente. Os demais compostos encontrados, com uma área de pico de baixa intensidade, foram α -pineno, β -pineno, iso-isopulegol, citronelol, acetato de citronelila e cariofileno.

De acordo com o estudo de Salem *et al.* (2018), foi possível encontrar no óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* os compostos α -citronelal (56,0%), α -citronelol (14,7%), acetato de citronelila (12,3%) e isopulegol (7,6%), além de eucaliptol (2,0%), α -pineno (0,1%) e outros compostos em menor concentração. Em outro estudo, foi encontrado resultados semelhantes: α -citronelal (56,55%), α -citronelol (14,89%), acetato de citronelila (13,04%) e isopulegol (7,07%) como os principais compostos encontrados e α -pineno (0,43%), eucaliptol (2,18%), α -citronelol (14,89%), acetato de citronelila (13,04%) e cariofileno (0,49%) em concentrações inferiores (Mohamed *et al.*, 2019).

Tabela 2 - Resultado da análise do óleo essencial de pinho por CG-EM.

Pico	Compostos	Tempo de Retenção (min)	LRI _{OBS} (LRI _{REF})	Área de Pico (%)
1	α -Pineno	5.873	933 (932)	2.58
2	Canfeno	6.280	947 (946)	0.39
3	Isocineol	8.246	1013 (1012)	5.37
4	α -Terpineno	8.309	1015 (1014)	4.47
5	p-Cimeno	8.591	1022 (1020)	5.34
6	Limoneno	8.728	1026 (1024)	10.35
7	Eucaliptol	8.816	1028 (1026)	6.13
8	γ -Terpineno	9.797	1054 (1054)	2.83
9	Terpinoleno	10.922	1085 (1086)	15.57

10	Álcool Fenílico	11.963	1111 (1114)	1.82
11	Terpineol-1	12.790	1131 (1130)	5.99
12	β -Terpineol	13.244	1141 (1140)	0.93
13	Isoborneol	13.727	1153 (1155)	1.50
14	Borneol	14.121	1162 (1165)	1.29
15	(+)-Terpinen-4-ol	14.609	1173 (1174)	1.12
16	α -Terpineol	15.224	1188 (1186)	28.78
17	γ -Terpineol	15.465	1194 (1199)	5.55

LRI_{Obs} = Índice de retenção observado; **LRI_{Ref}** = Índice de retenção referencial.
Fonte: Autores (2025).

O resultado da análise do óleo essencial de pinho, apresentado na Tabela 2, mostrou uma maior quantidade de compostos encontrados, em comparação à análise do óleo essencial de eucalipto. Dentre eles, os principais foram o α -terpineol, terpinoleno e limoneno, mostrando uma área de pico de 28,78%, 15,57% e 10,35%, respectivamente. Os demais componentes encontrados com suas respectivas áreas de pico foram o eucaliptol (6,13%); terpineol-1 (5,99%); γ -terpineol (5,55%); isocineol (5,37%); p-cimeno (5,34%); α -terpineno (4,47%); γ -terpineno (2,83%); α -pineno (2,58%); álcool fenílico (1,82%); isoborneol (1,50%); borneol (1,29%); (+)-terpinen-4-ol (1,12%); β -terpineol (0,93%); canfeno (0,39%).

Estudos anteriores mostraram o limoneno como um dos principais compostos encontrados em proporções semelhantes, assim como o presente estudo (Elkady *et al.*, 2021; Garzoli *et al.*, 2021; Ghaffari *et al.*, 2019). De acordo com Ghaffari *et al.* (2019), além do limoneno, também foi possível encontrar no óleo essencial do pólen, o composto α -pineno (25,64%), e na casca, os compostos óxido de cariofileno (13,22%) e o drimenol (13,2%). Nos resultados do estudo de Garzoli *et al.* (2021), os principais compostos identificados nas espécies de pinho estudadas, além do limoneno, foi o α -pineno (44,0%), γ -terpineno (19,7%) e β -pineno (12,5%), e outros compostos como canfeno (1,6%), p-cimeno (0,1%), terpinoleno (0,5%) e α -terpineol (0,2%) na espécie *Pinus cembra*. Na espécie *Pinus mugo* esse estudo encontrou β -pineno (43,3%), α -pineno (31,6%), canfeno (1,6%), γ -terpineno (0,3%), p-cimeno (0,2%), terpinoleno (2,1%), α -terpineol (0,2%), entre outros. Já na espécie *Pinus abies*, alguns dos compostos encontrados foram β -pineno (44,7%), α -pineno (20,2%), canfeno (7,2%), γ -terpineno (0,3%), p-cimeno (0,2%), terpinoleno (0,6%) e α -terpineol (0,4%). O estudo de Elkady *et al.* (2021) também mostrou a presença de α -pineno (8,54%); p-cimeno (1,39); limoneno (1,49%) e γ -terpineno (3,38%) na espécie *Pinus halepensis*.

As possíveis divergências observadas entre os estudos analisados na literatura e o resultado do presente estudo, podem estar relacionadas a fatores como condições ambientais, origem geográfica, questões genéticas, técnicas de amostragem, métodos de extração dos óleos, processamento cromatográfico, entre outros, uma vez que, estes fatores são de suma importância para determinação da composição química e as propriedades dos óleos essenciais (Imoisi *et al.*, 2021; Snježana *et al.*, 2024).

3.2 Atividade antimicrobiana:

No Quadro 1 a seguir, estão representados os resultados encontrados sobre a ação dos óleos essenciais de eucalipto e pinho contra os microrganismos *S.aureus* (ATCC 25923), *E.coli* (ATCC 25922), *P.aeruginosa* (ATCC 27853) e *C.albicans* (ATCC 90028). Foram representados os achados referentes ao controle positivo (C+), controle negativo (C-), óleo essencial de

eucalipto (OE) e óleo essencial de pinho (OP), contendo os milímetros encontrados dos halos de inibição de cada disco de papel, tendo a média desses halos no fim de cada quadro.

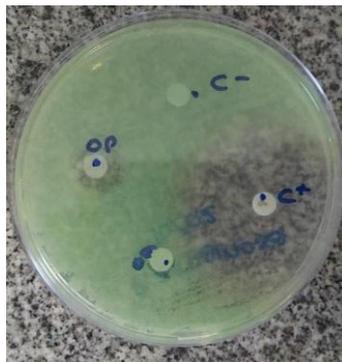
Quadro 1 - Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais frente à cepa de *P.aeruginosa*, *E.coli* e *S.aureus*.

Patógenos	C+ (mm)	C- (mm)	OE (mm)	OP (mm)
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	34	6	6	11,6
<i>E. coli</i> ATCC 25922	37,3	6	10	21,3
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	31	6	11	18

C-: controle negativo, C+: controle positivo, OE: óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*, OP: óleo essencial de pinho.
Fonte: Autores (2025).

As imagens que retratam os resultados dos testes de atividade antimicrobiana para os óleos essenciais frente às cepas ATCC estão apresentadas nas Figuras 4, 5 e 6 a seguir.

Figura 4 - Resultado do teste de atividade antimicrobiana para óleos essenciais de pinho e eucalipto frente à cepa *P.aeruginosa* ATCC 27853.



C-: controle negativo, C+: controle positivo, OE: óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*, OP: óleo essencial de pinho.
Fonte: Autores (2025).

Figura 5 - Resultado do teste de atividade antimicrobiana para óleos essenciais de pinho e eucalipto frente à cepa *E.coli* ATCC 25922.



C-: controle negativo, C+: controle positivo, OE: óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*, OP: óleo essencial de pinho.
Fonte: Autores (2025).

Figura 6 - Resultado do teste de atividade antimicrobiana para óleos essenciais de pinho e eucalipto frente à cepa *S.aureus* ATCC 25923.



C-: controle negativo, C+: controle positivo, OE: óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*, OP: óleo essencial de pinho.
Fonte: Autores (2025).

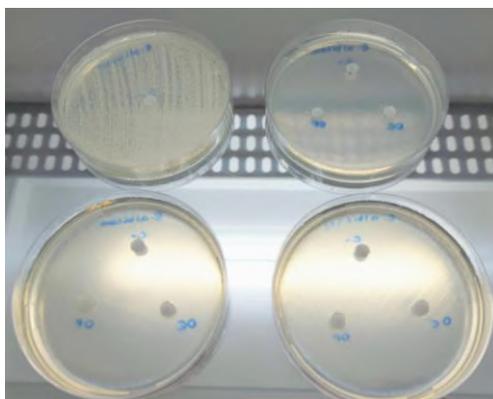
No Quadro 2 e na Figura 7 a seguir, estão apresentados a determinação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais frente à *C.albicans*.

Quadro 2 - Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais frente à cepa de *C.albicans*.

<i>C. albicans</i> ATCC 90028	C- (mm)	OE (mm)	OP (mm)
1	6	Inibição total	Inibição total
2	6	Inibição total	Inibição total
3	6	Inibição total	Inibição total
MÉDIA	6	Inibição total	Inibição total

C -: controle negativo, OE: óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*, OP: óleo essencial de pinho.
Fonte: Autores (2025).

Figura 7 - Resultado do teste de atividade antimicrobiana para óleos essenciais de pinho e eucalipto frente à cepa *C.albicans* ATCC 90028.



C-: controle negativo, OE: óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*, OP: óleo essencial de pinho.
Fonte: Autores (2025).

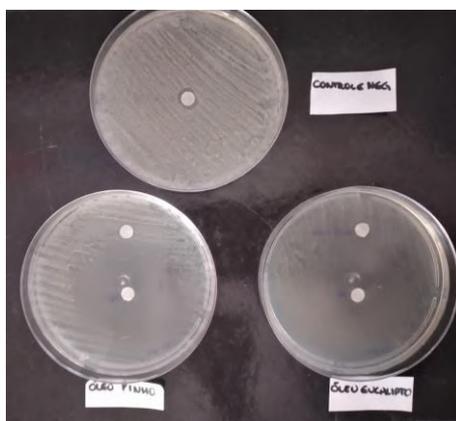
No Quadro 3 a seguir está apresentada a reavaliação da medida dos diâmetros dos halos de inibição referentes à atividade antimicrobiana frente à cepa de *C.albicans* realizada em placas de Petri separadas. Na sequência, a Figura 8 apresenta a imagem desta análise.

Quadro 3 - Reavaliação do teste de atividade antimicrobiana com a cepa *C.albicans*.

<i>C. albicans</i> ATCC 90028	C- (mm)	OE (mm)	OP (mm)
1	6	22	32

C-: controle negativo, OE: óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*, OP: óleo essencial de pinho.
Fonte: Autores (2025).

Figura 8. Resultado da repetição do teste de atividade antimicrobiana para óleos essenciais de pinho e eucalipto frente a cepa *C.albicans*.



C-: controle negativo, OE: óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*, OP: óleo essencial de pinho.
Fonte: Autores (2025).

A partir dos dados apresentados, é possível observar que o óleo essencial de pinho apresentou ação antimicrobiana contra *E.coli*, seguido por *S.aureus*, onde mostrou uma média dos halos de inibição de 21,6 e 18 milímetros, respectivamente. Já contra *P.aeruginosa*, este óleo essencial apresentou uma inibição menor, com a média dos halos de 11,6 milímetros (Quadro 1; Figuras 4 a 6).

Em estudo prévio com a espécie *Pinus mugo*, evidenciou um halo de inibição de $9,67 \pm 0,58$ mm frente a *E.coli*, com β -pineno, β -felandreno e limoneno como principais constituintes (Garzoli *et al.*, 2021). A investigação com *Pinus halepensis* revelou atividade antimicrobiana moderada contra *E.coli*, com halos de inibição variando de 10 a 18 mm, apresentando α -pineno, p-cimeno, limoneno e γ -terpineno como compostos majoritários (Elkady *et al.*, 2021). Ambos artigos obtiveram resultados inferiores aos deste estudo.

As investigações realizadas por Ghaffari *et al.* (2019) e Ruas *et al.* (2022), através do método de Concentração Inibitória Mínima (MIC), também encontraram atividade antimicrobiana utilizando espécies de pinho. No primeiro estudo, o óleo essencial de *Pinus pinaster*, contendo α -pineno (44,6%) e limoneno (3,9%) entre seus compostos, observou a ausência de atividade do óleo essencial contra *Pseudomonas aeruginosa*, e exibido maior eficácia contra *E. coli* em comparação com a cepa *S. aureus*. No mesmo estudo, a espécie *Pinus pinea* demonstrou maior atividade frente a *S. aureus* comparado à cepa de *E. coli*, e também não apresentou efeito contra *P. aeruginosa*, tendo α -pineno (7,6%) e limoneno (72,8%) como constituintes.

O segundo estudo, conduzido com o óleo essencial extraído das agulhas e da casca do pinho exibiu atividade antimicrobiana frente a *S. aureus*, enquanto o óleo essencial obtido do pólen demonstrou atividade contra *E. coli*, sendo os principais compostos identificados nestas frações o γ -terpineno, α -pineno e limoneno.

Em análise isolada de alguns compostos bioativos, realizada por Visan *et al.* (2021), identificou-se que o α -pineno e o borneol exibiram atividade frente a *S. aureus* (ATCC 25923) com Concentração Inibitória Mínima (MIC) de 25 $\mu\text{g/mL}$, enquanto limoneno e eucaliptol demonstraram uma MIC superior, neste estudo, de 12,5 $\mu\text{g/mL}$ contra a mesma cepa. Em contrapartida, contra *P. aeruginosa* (ATCC 27853), o α -pineno apresentou MIC de 25 $\mu\text{g/mL}$, e os demais compostos exibiram MIC de 50 $\mu\text{g/mL}$. A cepa *E. coli* (ATCC 25922) não foi inibida por esses compostos.

Os resultados do óleo essencial de eucalipto mostram efeito antimicrobiano contra *E. coli* e *S. aureus*, apresentando uma média do halo de inibição de 10 e 11 mm, respectivamente. Contra *P. aeruginosa*, o óleo essencial de eucalipto estudado não apresentou nenhuma ação, além de todos os resultados serem inferiores ao controle positivo.

Poucos estudos foram encontrados utilizando o óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*. Em um destes, realizado por Salem *et al.* (2018), o óleo essencial mostrou uma atividade moderada contra as cepas *E. coli* e *S. aureus* em teste de MIC, tendo seus resultados inferiores ao da estreptomicina, antibiótico usado como controle positivo. Outro estudo, feito por Elaissi *et al.* (2011), através do teste de disco difusão, mostrou valores do halo de inibição de 10,0 mm contra *E. coli* (ATCC 25922), assim como o resultado do presente estudo, e 7,7 mm contra *S. aureus* (ATCC 25932).

Já contra o patógeno *C. albicans*, foi possível observar uma inibição total desta levedura quando testados ambos os óleos na mesma placa (Quadro 2; Figura 7). Para verificar este resultado, o teste foi repetido utilizando-se cada óleo em uma placa diferente, acrescido do controle negativo. O resultado dessa segunda análise indicou halo de inibição de 22 mm para o óleo de eucalipto e 32 mm para óleo de pinho (Quadro 3; Figura 8). Dessa forma, foi possível perceber que a inibição total contra o patógeno *C. albicans* foi ampliada quando os dois óleos estudados foram testados juntos, sugerindo uma ação potencial destes dois óleos essenciais.

Estudos anteriores realizados com o óleo essencial de eucalipto, se destacou quanto a sua atividade antifúngica contra o patógeno *C. albicans* (ATCC 10231), além de apresentar maior atividade que o controle positivo (Dutta, 2023; Salem *et al.*, 2018).

Os estudos com a espécie *Pinus halepensis*, mostrou atividade antifúngica moderada contra *C. albicans*, com halo de inibição de 10 a 15 mm (α -pineno, p-cimeno, limoneno e γ -terpineno), enquanto o óleo essencial das espécies *Pinus pinaster* e *Pinus pinea* mostrou eficácia na atividade antifúngica com MIC 15,62 $\mu\text{g/mL}$ contra *C. albicans* (Elkady *et al.*, 2021; Ruas *et al.*, 2022).

Ghaffari *et al.* (2019) também relatou que os (+)-enantiômeros dos α -pineno e β -pineno apresentaram alta atividade antifúngica e que os efeitos sinérgicos desses compostos combinados com microbicidas reduziram a concentração inibitória mínima dos materiais combinados, necessitando, assim de uma menor concentração do óleo essencial para visualizar uma inibição do crescimento do microrganismo.

Quando analisado os compostos isoladamente frente a cepa *C. albicans* (ATCC 10231), α -pineno, borneol, limoneno e eucaliptol não apresentaram nenhuma atividade antifúngica (Visan *et al.*, 2021).

Apesar das divergências nos resultados, Benouaklil *et al.* (2017) relataram que a atividade antimicrobiana pode estar relacionada à presença de uma sinergia entre os principais componentes testados e outros constituintes dos óleos com vários graus de atividade antimicrobiana. Além de que, sua ação frente aos patógenos pode ser atribuída à interação dos vários compostos agindo simultaneamente em múltiplos alvos por meio de diversos mecanismos, seja em sinergia ou antagonismo (Chouhan *et al.*, 2017).

4. Conclusão

De acordo com os resultados obtidos por esse estudo, os principais compostos encontrados no óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* estudado, foram os compostos característicos da espécie. Já o óleo essencial de pinho, apresentou divergência do esperado, uma vez que, dentre α -pineno e β -pineno - os dois compostos mais encontrados na família *Pinaceae*, o óleo essencial estudado apresentou apenas α -pineno em pequena concentração e, em contrapartida, mostrou altas concentrações de α -terpineol, terpinoleno, compostos comumente encontrados em pequena quantidade nos óleos essenciais dessa família. Sobre a ação antimicrobiana, é possível concluir que o óleo essencial de pinho apresentou maior atividade contra os microrganismos estudados em comparação com o óleo essencial de eucalipto. Frente à cepa de *Candida albicans* testada, ambos os óleos mostraram inibição, além de evidenciarem um sinergismo da atividade quando testados juntos na mesma placa.

Assim, esse estudo fornece evidências experimentais do potencial destes óleos essenciais para a indústria, no desenvolvimento de cosméticos e produtos de limpeza, além de ser uma alternativa terapêutica para o enfrentamento da resistência antimicrobiana, fomentando, também, a necessidade de mais estudos na área para assegurar sua eficácia e segurança.

Referências

- Adams, R. P. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. (4th Ed). Allured Publ. https://www.researchgate.net/publication/283650275_Identification_of_Essential_Oil_Components_by_Gas_Chromatography_Quadrupole_Mass_Spectroscopy
- Ainane, A., Abdoul-Latif, M., Mohamed, Boujaber, Oumaskour, Khadija, Benaziz, Ainane, & Tarik. (2021). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of pistacia lentiscus L. *Pharmacology Online*, 2, 518–526. https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2021/vol2/PhOL_2021_2_A059_AINANE.pdf.
- Anvisa. (2022). *Resistência antimicrobiana é ameaça global, diz OMS*. <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2019/resistencia-antimicrobiana-e-ameaca-global-diz-oms>
- Barth, T., Habenschus, M. D., Lima Moreira, F., Ferreira, L. D. S., Lopes, N. P., & Moraes de Oliveira, A. R. (2015). *In vitro* metabolism of the lignan (–)-grandisin, an anticancer drug candidate, by human liver microsomes. *Drug Testing and Analysis*, 7(9), 780–786. <https://doi.org/10.1002/dta.1743>.
- Bassolé, I. H., & Juliani, H. R. (2012). Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 17(4), 3989–4006. <https://doi.org/10.3390/molecules17043989>.
- Batish, D. R., Singh, H. P., Setia, N., Kaur, S., & Kohli, R. K. (2006). Chemical Composition and Phytotoxicity of Volatile Essential Oil from Intact and Fallen Leaves of *Eucalyptus citriodora*. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 61(7-8), 465–471. <https://doi.org/10.1515/znc-2006-7-801>.
- Benouakli, F., Hamaidi-Chergui, F., Hamaidi, M. S., & Saidi, F. (2017). Chemical composition and antimicrobial properties Of Algerian Cedrus atlantica M. Essential oils. *Revue Agrobiologia*, 7(1), 355-362.
- Bizzo, H. R., Barboza, E. G., Santos, M., & Gama, P. E. (2020). Um conjunto de planilhas eletrônicas para identificação e quantificação de constituintes de óleos essenciais. *Química Nova*, 43, 98-105.
- Chouhan, S., Sharma, K., & Guleria, S. (2017). Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives. *Medicines*, 4(3), 58.
- Diallo, K., Medina, F., Belkacem, A., Jaafar, D., Badr, C., Raffetin, A., Patey, O., Matin, C., Toure, G., & Caraux-Paz, P. (2020). Impact d'une intervention par une équipe transversale d'infectiologie en chirurgie maxillo-faciale. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 50(6), S48. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2020.06.088>.
- Donadu, M. G., Trong Le, N., Viet Ho, D., Quoc Doan, T., Tuan Le, A., Raal, A., Usai, M., Marchetti, M., Sanna, G., Madeddu, S., Rappelli, P., Diaz, N., Molicotti, P., Carta, A., Piras, S., Usai, D., Thi Nguyen, H., Cappuccinelli, P., & Zanetti, S. (2020). Phytochemical Compositions and Biological Activities of Essential Oils from the Leaves, Rhizomes and Whole Plant of *Homstedtia bella* Škorničk. *Antibiotics*, 9(6), 334. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9060334>
- Dudipala, S. C., Mandapuram, P., & Ch, L. K. (2021). Eucalyptus Oil-Induced Seizures in Children: Case Reports and Review of the Literature. *Journal of neurosciences in rural practice*, 12(1), 112–115. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1721199>.
- Dutta, S. D. (2023). Determination of Antifungal Effect of Natural Oil and Synthetic Gutta Percha Solvents Against *Candida Albicans*: A Disc Diffusion Assay. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 15(Suppl 1), S235. https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs_463_22.
- Egbeneje, V. O., Okhale, S., C. Imoisi, Ogbogo, I. O., & Ojo, O. A. (2023). Evaluation of the Inhibitive Properties of Silver Nanoparticles in *Senna occidentalis* Root Extract as Corrosion Inhibitor of Mild Steel. *Tanzania Journal of Science*, 49(3), 655–663. <https://doi.org/10.4314/tjs.v49i3.9>.
- Elaissi, A., Salah, K. H., Mabrouk, S., Larbi, K. M., Chemli, R., & Harzallah-Skhiri, F. (2011). Antibacterial activity and chemical composition of 20 *Eucalyptus* species' essential oils. *Food Chemistry*, 129(4), 1427–1434. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.100>.

- Elkady, W. M., Gonaïd, M. H., Yousif, M. F., El-Sayed, M., & Omar, H. A. N. (2021). Impact of Altitudinal Variation on the Phytochemical Profile, Anthelmintic and Antimicrobial Activity of Two Pinus Species. *Molecules*, 26(11), 3170. <https://doi.org/10.3390/molecules26113170>.
- Embrapa. (2014). Cultivo de pinus. *Www.infoteca.cnptia.embrapa.br*. <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1155568>.
- Embrapa. (2017). *Folhas - Eucalipto*. Embrapa.br. <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/eucalipto/pos-producao/comercializacao/folhas>.
- Fan, S., Chang, J., Zong, Y., Hu, G., & Jia, J. (2018). GC-MS Analysis of the Composition of the Essential Oil from *Dendranthema indicum* Var. *Aromaticum* Using Three Extraction Methods and Two Columns. *Molecules*, 23(3), 576. <https://doi.org/10.3390/molecules23030576>.
- Fekih, N., Allali, H., Merghache, S., Chaïb, F., Merghache, D., El Amine, M., Djabou, N., Muselli, A., Tabti, B., & Costa, J. (2014). Chemical composition and antibacterial activity of *Pinus halepensis* Miller growing in West Northern of Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(2), 97–103. [https://doi.org/10.1016/s2222-1808\(14\)60323-6](https://doi.org/10.1016/s2222-1808(14)60323-6).
- Garzoli, S., Masci, V. L., Caradonna, V., Tiezzi, A., Giacomello, P., & Ovidi, E. (2021). Liquid and Vapor Phase of Four Conifer-Derived Essential Oils: Comparison of Chemical Compositions and Antimicrobial and Antioxidant Properties. *Pharmaceuticals*, 14(2), 134. <https://doi.org/10.3390/ph14020134>.
- Gbd 2021 Antimicrobial Resistance Collaborators (2024). Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. *Lancet (London, England)*, 404(10459), 1199–1226. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)01867-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)01867-1).
- Ghaffari, T., Kafil, H. S., Asnaashari, S., Farajnia, S., Delazar, A., Baek, S. C., Hamishehkar, H., & Kim, K. H. (2019). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils from the Aerial Parts of *Pinus eldarica* Grown in Northwestern Iran. *Molecules*, 24(17), 3203. <https://doi.org/10.3390/molecules24173203>.
- Henrique, C., Santos, S., Piccoli, R., Maximiliano, V., Tebaldi, R., & Para, E. (2017). *Atividade antimicrobiana de óleos essenciais e compostos isolados frente aos agentes patogênicos de origem clínica e alimentar*. <https://docs.bvsalud.org/biblioref/ses-sp/2017/ses-35930/ses-35930-6513.pdf>.
- Imoisi, C., & Michael, U. C. (2020). Comparative Physicochemical and Proximate Analyses of Different Extracts of *Persea americana*. *Journal of Chemical Society of Nigeria*, 45(6). <https://doi.org/10.46602/jcsn.v45i6.539>.
- Imoisi, C., Iyasele, J. U., Imhontu, E. E., Orji, U. R., & Okhale, S. A. (2021). Phytochemical and Antioxidant Capability of *Vitex doniana* (Black Plum) Fruit. *Journal of Chemical Society of Nigeria*, 46(1). <https://doi.org/10.46602/jcsn.v46i1.589>.
- Imoisi C., Iyasele J.U. & Okhale S.E. (2021). Proximate and Acute Toxicity Profile of *Vitex doniana* (Black Plum) Fruit. *Journal of Chemical Society of Nigeria*, 46(2). <https://doi.org/10.46602/jcsn.v46i2.597>.
- Kurti, F., Giorgi, A., Beretta, G., Mustafa, B., Gelmini, F., Testa, C., Angioletti, S., Giupponi, L., Zilio, E., Pentimalli, D., & Hajdari, A. (2019). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils of different *Pinus* species from Kosovo. *Journal of Essential Oil Research*, 31(4), 263–275. <https://doi.org/10.1080/10412905.2019.1584591>.
- Kızıllarslan, Ç., & Sevg, E. (2013). Ethnobotanical uses of genus *Pinus* L. (Pinaceae) in Turkey. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 12(2), 209–220. <https://nopr.niscpr.res.in/handle/123456789/16860>.
- McLafferty, F. (2016). *Wiley Registry of Mass Spectral Data*, (11th ed.). Wiley Interscience.
- Mohamed, A. A., Behiry, S. I., Younes, H. A., Ashmawy, N. A., Salem, M. Z. M., Márquez-Molina, O., & Barbabosa-Pilego, A. (2019). Antibacterial activity of three essential oils and some monoterpenes against *Ralstonia solanacearum* phylotype II isolated from potato. *Microbial Pathogenesis*, 135, 103604. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103604>.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., & Feo, V. (2017). Essential Oils and Antifungal Activity. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 10(4), 86. <https://doi.org/10.3390/ph10040086>.
- Nist Mass Spectral Library. (2011). National Institute of Standards and Technology, v. 11. Gaithersburg.
- Organização Pan-Americana de Saúde (Opas). (2017, February 27). *OMS publica lista de bactérias para as quais se necessitam novos antibióticos urgentemente - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde*. *Www.paho.org*. <https://www.paho.org/pt/noticias/27-2-2017-oms-publica-lista-bacterias-para-quais-se-necessitam-novos-antibioticos>.
- Opas. (n.d.). *Resistência antimicrobiana*. *Www.paho.org*. Retrieved November 8, 2024, <https://www.paho.org/pt/topicos/resistencia-antimicrobiana>.
- Opas. (2022). *Relatório sinaliza aumento da resistência a antibióticos em infecções bacterianas em humanos*. *Www.paho.org*. <https://www.paho.org/pt/noticias/9-12-2022-relatorio-sinaliza-aumento-da-resistencia-antibioticos-em-infecoes-bacterianas>.
- Pan American Health Organization, & Florida International University. (2018). *Recommendations for Implementing Antimicrobial Stewardship Programs in Latin America and the Caribbean: Manual for Public Health Decision-Makers*. Paho. <https://doi.org/10.37774/9789275120408>.
- Pereira A. S. et al. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [free e-book]. Editora UAB/NTE/UFMS.
- Plant, R. M., Dinh, L., Argo, S., & Shah, M. (2019). The Essentials of Essential Oils. *Advances in pediatrics*, 66, 111–122. <https://doi.org/10.1016/j.yapd.2019.03.005>.
- Ruas, A., Graça, A., Marto, J., Gonçalves, L., Oliveira, A., da Silva, A. N., Pimentel, M., Moura, A. M., Serra, A. T., Figueiredo, A. C., & Ribeiro, H. M. (2022). Chemical Characterization and Bioactivity of Commercial Essential Oils and Hydrolates Obtained from Portuguese Forest Logging and Thinning. *Molecules*, 27(11), 3572. <https://doi.org/10.3390/molecules27113572>.

Salem, M. Z. M., Elansary, H. O., Ali, H. M., El-Settawy, A. A., Elshikh, M. S., Abdel-Salam, E. M., & Skalicka-Woźniak, K. (2018). Bioactivity of essential oils extracted from *Cupressus macrocarpa* branchlets and *Corymbia citriodora* leaves grown in Egypt. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2085-0>.

Shitsuka, R. et al. (2014). *Matemática fundamental para tecnologia*. (2ed.). Editora Erica.

Snježana Mirković, Vanja Tadić, Milenković, M. T., Dušan Ušjak, Gordana Racić, Dragica Bojović, & Žugić, A. (2024). Antimicrobial Activities of Essential Oils of Different Pinus Species from Bosnia and Herzegovina. *Pharmaceutics*, 16(10), 1331–1331. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16101331>.

Visan, D.C., Oprea, E., Radulescu, V., Voiculescu, I., Biris, I.-A., Cotar, A. I., Saviuc, C., Chifiriuc, M. C., & Marinas, I. C. (2021). Original Contributions to the Chemical Composition, Microbicidal, Virulence-Arresting and Antibiotic-Enhancing Activity of Essential Oils from Four Coniferous Species. *Pharmaceutics*, 14(11), 1159. <https://doi.org/10.3390/ph14111159>.

World Health Organization (Who). (2022, October 25). WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. www.who.int. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>.