



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ANANINDEUA
FACULDADE DE ENGENHARIA DE MATERIAIS

DIEMISON LIRA SANTA ROSA

**INFLUÊNCIA DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO NAS PROPRIEDADES
FÍSICO-QUÍMICAS DE NANOEMULSÕES E NANOFLUIDOS CONTENDO O
ÓLEO ESSENCIAL DO CRAVO-DA-ÍNDIA**

Ananindeua-PA
2022

DIEMISON LIRA SANTA ROSA

**INFLUÊNCIA DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO NAS PROPRIEDADES
FISICO-QUÍMICAS DE NANOEMULSÕES E NANOFLUIDOS CONTENDO O
ÓLEO ESSENCIAL DO CRAVO-DA-ÍNDIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Engenharia de Materiais, Campus de Ananindeua, da Universidade Federal do Pará, em cumprimento as exigências para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Vinicius da Silva Paula

Ananindeua - PA
2022

DIEMISON LIRA SANTA ROSA

**INFLUÊNCIA DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO NAS PROPRIEDADES
FISICO-QUÍMICAS DE NANOEMULSÕES E NANOFLUIDOS CONTENDO O
ÓLEO ESSENCIAL DO CRAVO-DA-ÍNDIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade de Engenharia de Materiais, Campus de
Ananindeua, da Universidade Federal do Pará, em
cumprimento as exigências para obtenção do grau de
Bacharel em Engenharia de Materiais.

DATA DA AVALIAÇÃO:

CONCEITO: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcos Vinicius da Silva Paula
(ORIENTADOR)

Profa. Dra. Verônica Scarpini Candido
(FEMAT – CAMPUS ANANINDEUA/UFPA)

Prof. Dr. Alisson Clay Rios da Silva
(FEMAT – CAMPUS ANANINDEUA/UFPA)

DEDICATÓRIA

A meus pais, Jânio e Vânia. Porque “Tem mais presença em mim o que me falta”
(BARROS, M.)

AGRADECIMENTOS

A meus genitores, Vânia e Jânio, e a minha vó, Waldomira, por terem me ensinado educação humilde. Por me possibilitar o acesso aos estudos, suprido com esforço máximo necessidades relacionadas a permanência nele.

A minha tia, Iracilda, e a meu irmão, Diego, por terem me “tariado” nesse tempo de ânimo alterado e de prova de resistência que é a tríade (graduação + trabalho + pesquisa).

A todos os meus professores e professoras do curso de Engenharias de Materiais, que se desdobraram nesse tempo atípico, objetivando minimizar os impactos da pandemia (Covid-19) sobre o curso.

Agradeço fortemente meu orientador, Prof. Dr. Marcos Vinicius, por me permitir iniciar na pesquisa, por ter confiado, e principalmente, desconfiado do meu trabalho, por toda paciência empenhada nos meus passos iniciais na IC para que houvesse o desfecho desse trabalho.

A um grupo de amigos, Edson Miranda, Damares Barbosa (fies escudeiros) que me inspiram a ser um profissional mais atento e mais comprometido com o conhecimento, admiradores de longe, me inspiram à beça a vislumbrar a pesquisa com paixão. A Emanuele Monteiro, pela confiança ímpar, e a Gabriela Américo, que colocou essa sementinha no meu coração. Obrigado, amigos!

Aos Laboratórios (LABPTEC Práticas tecnológicas, LABCMAT Caracterização dos Materiais LABQUIM Laboratório de Química de Química-LAQUIN) UFPA-Ananindeua. Aos Laboratórios de Reologia e de Espectroscopia da Engenharia Química (UFPA-Guamá) por cederem espaço, materiais e instrumentos para as análises e desenvolvimento dessa pesquisa. A PROPESP pelo fomento da pesquisa e a UFPA como um todo.

EPÍGRAFE

“Vou abrir os braços para não me engolir inteiro.” MEU PAI, sobre meu apetite.

RESUMO

Nos últimos anos a demanda por nanomateriais aumentou consideravelmente em decorrência do surgimento de novas problemáticas as quais os métodos tradicionais não conseguiram superar, principalmente àquelas relacionadas a degradação de alimentos e a proliferação de microrganismos resistentes, o que acaba por impactar de forma onerosa as instituições produtoras de bens de consumo, e por extensão, a sociedade. A constante busca por materiais eficientes que venham superar essas limitações, sem ocasionar danos à saúde e ao meio ambiente, tornou-se foco dos pesquisadores atuais. Neste cenário, as nanoemulsões (NEs) surgiram como uma promessa valiosa para superação dessas problemáticas. Deste modo, a proposição desse trabalho é investigar a influência do tempo de armazenamento nas propriedades físico-químicas de (NEs) obtidas pelo método da emulsificação espontânea, tendo como precursor o óleo essencial dos botões do cravo-da-índia, *Syzygium aromaticum* (OEC) a 5% (v/v), juntamente com o óleo de Canola (OCan) como inibidor do amadurecimento de Ostwald (MO), e como surfactante, o Tween®80 (T-80). Além disso, as NEs foram combinadas com Nanopartículas de Prata (Ag-NPs) para obtenção dos nanofluidos (NF), com o intuito de potencializar os efeitos antimicrobianos e antioxidantes do OEC. Para a caracterização das amostras preparadas, análises de Espectroscopia, Potencial hidrogeniônico (pH), Viscosidade (η) e Microscopia foram utilizadas. Deste modo, as leituras de Transmitância $I_{trans}(\%)$ e Absorbância (Abs) nas NEs comprovaram boa estabilidade, com índice reduzido de turbidez no armazenamento. Já as medições de pH e η revelaram oscilações marginais de acidez e viscosidade com avanço do tempo. Além disso, foi possível obter Ag-NPs de forma eficaz utilizando como redutor o citrato de sódio ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$). Consequentemente, as leituras de Abs para as Ag-NPs, revelaram picos característico de Banda Plasmônica (BPS) a 421 nm. Já os nanofluidos obtidos mostraram estabilidade a curto prazo, porém, picos (BPS) na região de 400-500 nm foram detectados. Conforme os resultados elucidados, essa tecnologia possui potencial para ser aperfeiçoada e incorporada em embalagens ativas de alimentos para estender a vida útil, ou ainda, pode vir a servir como soluções para sua incorporação em filmes alimentícios ou/e curativos.

Palavras-chave: Cravo-da-índia; Emulsificação espontânea; Ag-NPs.

ABSTRACT

In recent years, the demand for nanomaterials has increased considerably as a result of the emergence of new problems that traditional methods have not been able to overcome, mainly those related to food degradation and the proliferation of resistant microorganisms, which ends up having a costly impact on institutions producing nanomaterials. Consumer goods, and by extension, society. The constant search for efficient materials that will overcome these limitations, without causing damage to health and the environment, has become the focus of current researchers. In this scenario, nanoemulsions (NES) have emerged as a valuable promise to overcome these problems. This way, the purpose of this work is to investigate the influence of storage time on the physicochemical properties of (NES) obtained by the spontaneous emulsification method, having as a precursor the essential oil of clove buds, *Syzygium aromaticum* (OEC) at 5% (v/v), along with Canola oil (OCan) as an Ostwald ripening inhibitor (MO), and as a surfactant, Tween®80 (T-80). In addition, Es were combined with Silver Nanoparticles (Ag-NPs) to obtain nenofluids (NF), in order to enhance the antimicrobial and antioxidant effects of OEC. For the characterization of the prepared samples, Microscopy, Spectroscopy, Viscosity (η) and Hydrogen Potential (pH) analyzes were used. Thus, the Transmittance $I_{trans}(\%)$ and Absorbance (Abs) readings in the NEs proved good stability, with reduced turbidity index in storage. The measurements of pH and η revealed marginal oscillations of acidity and viscosity with time. Furthermore, it was possible to efficiently obtain Ag-NPs using sodium citrate ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$) as a reductant. Consequently, Abs readings for Ag-NPs revealed characteristic Plasmonic Band (BPS) peaks at 421 nm. The obtained nanofluids showed short-term stability, however, peaks (BPS) in the region of 400-500 nm were detected. As the results elucidated, this technology has the potential to be improved and incorporated into active food packaging to extend shelf life, or even, it may serve as solutions for its incorporation into food films or dressings.

Keywords: Clove; Spontaneous emulsification; Ag-NPs.

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 - Mapas de Ocorrência (a) e Fenologia (b).....	21
Figura 2 - Botões florais do <i>Syzygium aromaticum</i> in natura.....	22
Figura 3 - Estrutura molecular do Eugenol	23
Figura 4 - Formação de micelas nanométricas.....	31
Figura 5 - Mecanismo de interação das NEs.....	32
Figura 6 - Etapas de preparação das NEs para as amostras (8:2, 7:3 e 10:0) v/v.....	41
Figura 7 - Síntese das Ag-NPs.....	41
Figura 8 - Aspecto visual para as amostras (8:2), (7:3) e (10:0), em 0, 30 e 60 dias.....	45
Figura 9 - Aspecto visual das NEs após emulsificação.....	46
Figura 10 - Soluções contendo Ag-NPs em vários estágios de agregação.....	52
Figura 11 - Ag-NPs após a síntese (a), MET para as Ag-NPs (b), distribuição de tamanhos de NPs (c)	53
Figura 12 - Aspecto visual para os nanofluidos nos tempos 0, 30 e 60 dias	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química do óleo essencial dos botões do cravo.....	23
Tabela 2 - Classes de compostos bioativos.....	23
Tabela 3 - Atividade microbiana do OEC.....	26
Tabela 4 - Materiais utilizados.....	40
Tabela 5 - Proporções do (OEC) para (OCan) a 5% (v/v)	40
Tabela 6 - Obtenção dos nanofluidos a partir da amostra (8:2) e Ag-NPs	42
Tabela 7 - Valores máximos e mínimos de Abs para os tempos, t-0, t-30 e t-60.....	49

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Demanda para bacterioses.....	38
Gráfico 2 - Medição de turbidez a 600 nm nos tempos de armazenamento t-0, t-30 e t-60	46
Gráfico 3 - Espectros de absorvância para as amostras nos tempos (0, 30 e 60) dias.....	48
Gráfico 4 – Medições de pH para os tempos de armazenamento, t-0, t-30 e t-60.....	49
Gráfico 5 – Medições de viscosidade dinâmica nos tempos t-0, t-30 e t-60.....	50
Gráfico 6– Análise de espectroscopia para as Ag-NPs nos tempos t-0, t-30, t-60.....	54
Gráfico 7 - Espectros de Abs para os nanofluidos.....	56
Gráfico 8 – Medição de viscosidade para os nanofluidos.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

(OE) Óleo essencial	(O/A/O) Óleo em água em óleo
(NE) Nanoemulsão	(A/O/A) Água em óleo em água
(OEC) Óleo essencial do Cravo-da-índia	(R _{médio}) Raio médio
(OCan) Óleo de canola	(MO) Amadurecimento de Ostwald
(T-80) Tween®80	(PDI) Índice de polidispersividade
(NPs) Nanopartículas	(PIB) Produto Interno Bruto
(Ag-NPs) Nanopartículas de Prata	(OMS) Organização mundial da Saúde
(NF) Nanofluido	(ATP) Síntese de adenosina trifosfato
(Abs) Absorbância	(PVP) Polivinil Pirrolidona
(BPS) Banda Plasmônica de Superfície	I _{trans} (%) Percentagem de transmitância
(MET) Microscopia eletrônica de Transmissão	(BRPS) Banda de ressonância plasmônica de superfície
(UV-Vis) Espectroscopia ultravioleta-visível	(8:2) Amostra
(t-0) Tempo zero	(7:3) Amostra
(t-30) Tempo trinta	(10:0) Amostra
(t-60) Tempo sessenta	(máx) Máximo
(GBIF) Sistema Global de Informação sobre Biodiversidade	(mín) Mínimo
(Leaflet) Biblioteca JavaScript para mapas interativos	(LABPTEC) Laboratório de Práticas tecnológicas
(ABTS) 2,2-azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-ácidosulfônico	(LABCMAT) Laboratório de Caracterização dos Materiais
(DPPH) 1,1-difenil-2-picril hidroxila	(LABQUIM) Laboratório de Química
(BHT) Hidroxitolueno butilado	(UFPA) Universidade Federal do Pará
(DMPD) N, N-dimetil-p-fenilenodiamina	
(DNA) Ácido Desoxirribonucleico	
(HepG2) Células do hepatoma humano	
(Caco-20) Células do cólon humano	
(VH10) Células de fibroblasto humano	
(COVID-19) Vírus SARS-Cov-2	
(HSG) Células submandibulares humanas	
(O/A) Óleo-em-água	
(A/O) Água-em-óleo	

LISTA DE SÍMBOLOS

η	viscosidade
pH	Potencial hidrogeniônico
m	Metro
h	Horas
min	Minutos
s	Segundos
g	Massa em gramas
mg	Massa em miligramma
v/p	Volume / peso
v/v	Volume / volume
mL	Mililitro
mmol	Milimol
mg/kg	Miligramma / quilograma
mg/mL	Miligramma / mililitro
$\mu\text{mol/L}$	Micromol / Litro
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
λ	Comprimento de onda
%	Percentual
nm	Nanômetro
\leq	Menor ou igual
$\text{Pa}\cdot\text{s}^{-1}$	Pascal /segundo

LISTA DE FÓRMULAS QUÍMICAS

$C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ Citrato de Sódio

$C_{10}H_{12}O_2$ Eugenol

H_2O_2 Peróxido de hidrogénio

$(C_6H_9NO)_n$ Polivinilpirrolidona

$(^{\ominus}OH)$ hidroxila

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	JUSTIFICATIVA	19
3	OBJETIVOS	20
3.1	Objetivo geral.....	20
3.2	Objetivos específicos	20
4	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
4.1	Cravo-da-índia (<i>Syzygium aromaticum</i>)	21
4.2	Compostos químicos isolados do OEC.....	22
4.3	Atividade antioxidante do OEC	25
4.4	Atividade Antioxidante do Eugenol.....	25
4.5	Atividade antimicrobiana do OEC.....	26
4.6	Toxicidade e citotoxicidade do OEC	28
4.7	Nanoemulsão (NE)	29
4.7.2	Técnicas para a preparação de (NEs)	30
4.7.3	Ação antimicrobiana das NEs	31
4.7.4	Aplicações das NEs.....	33
4.7.5	Nanoemulsões aplicadas em embalagens alimentícias	34
4.7.6	Nanoemulsões aplicadas em filmes curativos.....	36
4.8	Nanopartículas de prata (Ag-NPs).....	37
5	MATERIAIS E PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	40
5.1	Materiais	40
5.2	Preparação das NEs.....	40
5.3	Síntese das Ag-NPs.....	41
5.4	Preparação dos nanofluidos	42
5.5	Caracterização das NEs e nanofluidos	42
5.5.1	Análise visual	42
5.5.2	Medição de turbidez	42
5.5.3	Leituras de absorvância (Abs).....	42
5.5.4	Medição de Potencial hidrogeniônico (pH)	43
5.5.5	Medições reológicas: Viscosidade dinâmica.....	43
5.6	Caracterização das Ag-NPs.....	43
5.6.1	Microscopia Eletrônica de transmissão (TEM).....	43
5.6.2	Banda de ressonância plasmônica de superfície (BRPS)	44

6	RESULTADOS E DISCUSSÕES	45
6.1	Caracterização das NEs	45
6.2	Diagnóstico visual para as NEs	45
6.2.1	Medição de turbidez	46
6.2.2	Leituras de Abs	47
6.2.3	Medição de pH	49
6.2.4	Medições reológicas para NE: Viscosidade dinâmica	50
6.3	Síntese das Ag-NPs	51
6.3.1	Caracterização das Ag-NPs	52
6.3.2	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	52
6.3.3	Banda de Ressonância Plasmônica de superfície (BRPS)	53
6.4	Caracterização dos NF	55
6.4.1	Diagnóstico visual para NF	55
6.4.2	Caracterização dos NF por BRPS e η	56
7	CONCLUSÕES	58
8	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	59

1 INTRODUÇÃO

Desde tempos pré-históricos, compostos naturais, incluindo óleos essenciais (OEs) e seus componentes, têm sido utilizados devido, principalmente, ao seu sabor e fragrância inerentes. Partindo disso, reporta-se mais de 3.000 variedades conhecidas, destas, 300 são comercialmente utilizadas nas indústrias, incluindo a alimentícia e a farmacêutica (NI *et al.*, 2021).

Diante disso, mais atenção está voltada para os compostos naturais e orgânicos como uma abordagem ecologicamente correta em comparação aos seus equivalentes sintéticos e não orgânicos, devido, atualmente, a uma crescente preocupação sobre os efeitos de vários ingredientes alimentares à saúde humana (BORA *et al.*, 2020).

Essa recente repercussão, dada aos estudos sobre OEs, é devido às suas comprovadas atividades biológicas em benefícios à saúde. Como ressaltar a isso, sua bioquímica e atributos nutricionais têm desempenhado relevância na identificação de alternativas terapêuticas naturais para estender seu potencial biotecnológico (JUGREET *et al.*, 2020).

Em vista disso, vários tipos de OEs têm ganhado mais atenção, reporta-se: Eucalipto - *Eucalyptus* (SONG *et al.*, 2022) Tomilho - *Thymus vulgaris* (ALMASI *et al.*, 2021), Pimenta-do-reino - *Piper nigrum* (ZHANG *et al.*, 2021), Cravo-da-índia - *Syzygium aromaticum* (BANERJEE *et al.*, 2020; MONDÉJAR-LÓPEZ *et al.*, 2022), Hortelã - *Mentha piperita* (NAZEM *et al.*, 2019), Rosa - *grandiflora* (YI *et al.*, 2019) Capim-limão - *Cymbopogon citratus* (BALTI *et al.*, 2018), Manjerição - *Ocimum basilicum* (SUNDARARAJAN *et al.*, 2018), outros. Dentre esses, o cravo-da-índia tem atraído a atenção devido as suas potentes propriedades antioxidantes e antimicrobianas, destacando-se entre os demais.

Embora esses materiais apresentem inúmeras vantagens, algumas desvantagens são relatadas, cita-se a volatilidade, hidrofobicidade e degradabilidade a partir 60 °C (MAHANTA *et al.*, 2021). Além disso, é altamente instável com variação de pH (DIMA & DIMA, 2015). Neste sentido, várias tentativas já foram feitas para preservar os compostos bioativos dos OEs, mas as etapas de aquecimento no processo de preparação podem levar a uma perda parcial do OE, o que é uma limitação, visto que a otimização e a proteção do conteúdo do OE são cruciais para a sua eficaz aplicação (ALEHOSSEINI & JAFARI, 2019).

Recentemente, uma solução empregada em engenharia para superar aqueles problemas citados anteriormente, são as chamadas nanoemulsões (NEs), que despontaram como uma alternativa eficiente na obtenção de sistemas nanoestruturados para entregar, de forma eficiente, partículas ativas antimicrobianas (HE *et al.*, 2021), antivirais (SAMPATH, 2020) e antifúngicas

(SATTARY *et al.*, 2020; PERUMAL *et al.*, 2021), úteis às indústrias alimentícia e farmacêutica.

Isso porque as NEs apresentam algumas vantagens em relação às emulsões tradicionais, principalmente em termos de propriedades físicas, tais como: molhabilidade elevada (pela escala nanométrica das gotículas), alta transparência e boa estabilidade física, dentre outras, o que as tornam adequadas, por exemplo, para sua aplicação em alimentos e remédios (GARAVAND *et al.*, 2019, GARAVAND *et al.*, 2022).

Assim, NEs obtidas dos OEs podem ser vantajosamente empregadas por não apresentarem efeito colateral adverso para a saúde, devido aos componentes naturais do OE. No que tange as suas aplicações, as NEs descurtinaram um novo cenário avassalador, tanto quanto necessário, frente as emergentes necessidades, cada vez mais exigentes em níveis de biosegurança e baixo custo de produção, para o enfrentamento de problemáticas atuais relacionadas à saúde humana.

Dado os indícios, essa investigação pretende avaliar a influência do tempo de armazenamento nas propriedades físico-químicas das NEs obtidas do óleo essencial dos botões do cravo-da-índia. Além disso, as NEs foram combinadas com as Ag-NPs para a obtenção dos nanofluidos (NE + Ag-NPs) com o intuito de potencializar os efeitos antimicrobianos e antioxidantes do OEC, visando uma possível aplicação, com a sua futura incorporação, em filmes curativos e/ou alimentícios.

2 JUSTIFICATIVA

Esse trabalho se justifica pelo potencial biotecnológico desencadeado por meio de um material natural em substituição aos sintéticos, utilizando como precursor uma especiaria conhecida (Cravo-da-índia) principalmente pelo seu potencial comprovadamente antioxidante e antimicrobiano, porém, tendo como diferencial uma resposta limpa, isto é, sem efeitos colaterais adversos para saúde e baixo impacto para a natureza. Para além disso, busca propor soluções para problemáticas emergentes, como a degradação de alimentos e a proliferação de microrganismos multirresistentes, o que é uma preocupação em ordem continental. Deste modo, é justificado o uso de materiais e técnicas que possam potencializar uma resposta limpa e segura, tanto pelo encapsulamento do óleo, através das NEs, como pela adição das Ag-NPs, um nanomaterial também conhecido pelas suas potentes propriedades antimicrobianas.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a influência do tempo de armazenamento nas propriedades físico-químicas das NEs, obtidas do óleo essencial dos botões do cravo-da-índia, e dos nanofluidos (NE + Ag-NPs) preparados, para possível aplicação como constituinte de filmes para revestir embalagens resistentes a degradação de alimentos e a proliferação de microrganismos.

3.2 Objetivos específicos

- Obter NEs estáveis no tempo de armazenamento;
- Caracterizar as NEs isoladamente quanto as suas propriedades físico-químicas: Turbidez (Transmitância-UV-Vis), Estabilidade física (Absorbância-UV-Vis), Viscosidade dinâmica (Viscosímetro Rotacional) e pH (pHmetro);
- Obter Ag-NPs e caracterizá-las quanto a morfologia (MET) e estimar o tamanho de partícula;
- Obter um nanofluido pela mistura das Ag-NPs às NEs (Ag-NPs + NEs);
- Monitorar a estabilidade física das NEs e dos nanofluidos pela técnica de espectroscopia durante o armazenamento, isto é, após a preparação (t-0), decorrido 30 (t-30) e 60 dias (t-60).

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

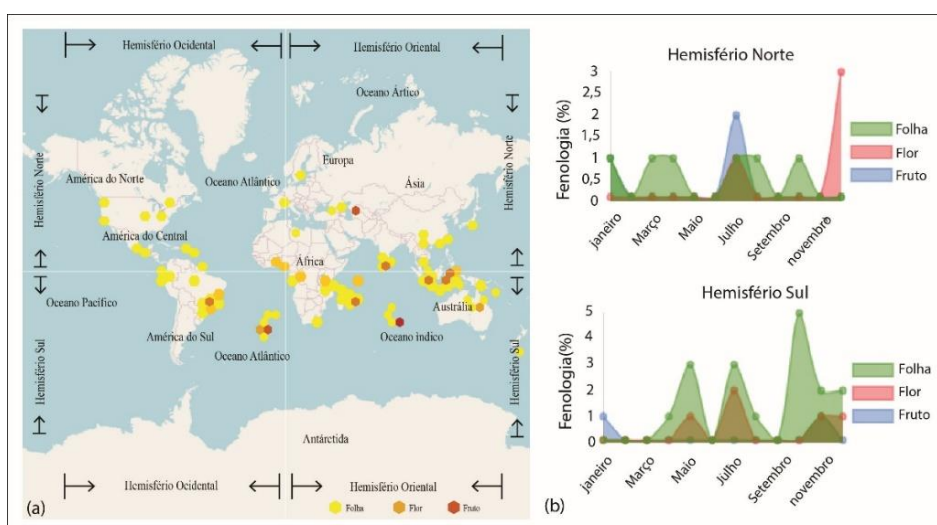
Objetivando destacar o foco atualizado sobre o conteúdo desta pesquisa, tendo como embasamento relatos anteriores, sobretudo para as aplicações das NEs, os dados foram levantados de 2004 a 2022, sendo que mais 50% das bibliografias consultadas foram publicadas nos últimos cinco anos. Plataformas de busca como Science direct, Web of Science, Science direct, Pubmed, scopus, outras, foram utilizadas para levantar os dados pela entrada de palavras-chave como: cravo-da-índia, nanoemulsões, óleo essencial do cravo, biofilmes, filmes curativos, nanopartículas de prata Ag-NPs.

4.1 Cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*)

A espécie *Syzygium aromaticum* (sinônimo: *Eugenia caryophyllata*), da família Myrtaceae, comumente conhecido como cravo-da-índia, é uma árvore de tamanho médio (8-12m) nativa das ilhas Maluku no leste da Indonésia. Durante séculos o comércio de cravo e a busca deste valioso material estimularam o desenvolvimento econômico daquela região asiática (KAMATOU *et al.*, 2016).

Atualmente, os maiores países produtores de cravo são a Indonésia, Índia, Malásia, Sri Lanka, Madagascar e Tanzânia, especialmente a ilha de Zanzibar. No Brasil, ele é cultivado principalmente no nordeste, no estado da Bahia nas regiões de Valença, Ituberuma, Taperouma e Camamu, onde aproximadamente 8.000 ha são cultivados, produzindo cerca de 2500 t/ano (OLIVEIRA *et al.*, 2007; OLIVEIRA, *et al.*, 2009). A Figura 1, exibe os mapas de ocorrência e fenologia em abrangência continental.

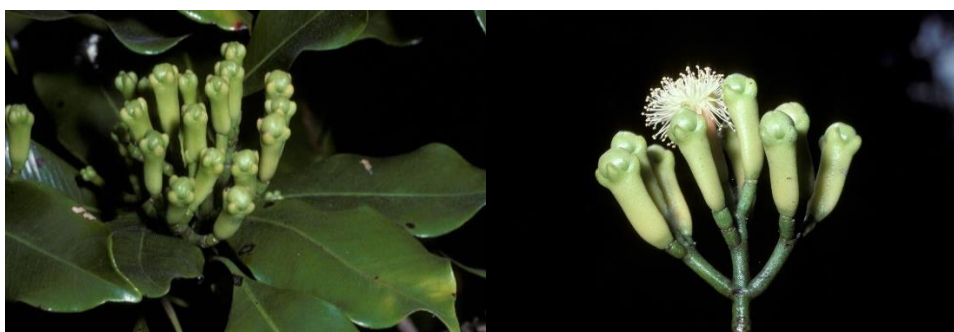
Figura 1 - Mapas de ocorrência (a) e fenologia (b)



Fonte: Adaptado de (Leaflet | GBIF, OpenStreetMap)

Dada a sua fenologia, o cravo-da-índia é frequentemente cultivado em áreas costeiras em altitudes máximas de 200 m acima do nível do mar. A produção de botões florais, que é a principal parte comercializada desta árvore, inicia após 4 anos de plantio. Os botões florais mostrado na Figura 2, são coletados na fase de maturação antes da floração. A coleta pode ser feita manualmente ou mediada quimicamente utilizando um fitohormônio natural que libera etileno no tecido vegetal, produzindo maturação precoce (FILHO, 2013).

Figura 2 - Botões florais do *Syzygium aromaticum in natura*



Fonte: Pl@ntNet gratuito, Daniel Barthelemy (1999)

4.2 Compostos químicos isolados do OEC

Embasado em relatos, Neveu *et al.* (2010), o cravo representa uma das principais fontes vegetais de compostos fenólicos como flavonóides, ácidos hidroxibenzóicos, ácidos hidroxicinâmicos e hidroxifenil propenos. Constatou-se que rendimento de até 18% do OE podem ser extraídos dos botões florais da planta. O eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$) é o principal composto bioativo identificado no OEC, em concentrações que variam de 9381.70 para 14650.00 mg por 100g de material vegetal fresco (NEVEU *et al.*, 2010). Especula-se que proximadamente 89% do óleo essencial de cravo é eugenol e 5-15% é acetato de eugenol e β -cariofileno (JIROVETZ *et al.*, 2006).

Levando em consideração os ácidos fenólicos, destaca-se que o ácido gálico é o composto encontrado em maior concentração (783,50 mg / 100 g de peso fresco) no OEC. No entanto, derivados como taninos hidrolizáveis estão presentes em maiores concentrações (2375,8 mg/100 g). Outros ácidos fenólicos encontrados são os ácidos cafeico, ferúlico, elágico e salicílico, bem como, flavonóides como kaempferol, quercetina e seus derivados (glicosilado) também foram identificados em concentrações mais baixas (SHAN *et al.*, 2005).

Além desses, outro importante composto detectado no OEC em concentrações de até 2.1% é o α -humuleno. Alguns compostos voláteis também foram relatos em concentrações mais

baixas, tais como o β -pineno, limoneno, farnesol, benzaldeído, 2-heptanona e hexanoato de etilo (CORTÉS-ROJAS *et al.* 2014).

Adicionalmente a isso, em uma investigação posterior, XU *et al.*, (2016), obtiveram OEC como um líquido amarelo transparente com rendimento de 12,8% (v/p). A composição química do OE foi analisada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS). No total, foram identificados 22 componentes, representando 95,80% da quantidade total. Como esperado, o Eugenol (76,23%) foi o principal componente detectado, seguido por β -cariofileno (11,54%), Óxido de cariofileno (4,29%) e Acetato de eugenil (1,76%), respectivamente (XU *et al.*, 2016). Assim, a Tabela 1, transmite o resultado obtidos de forma resumida.

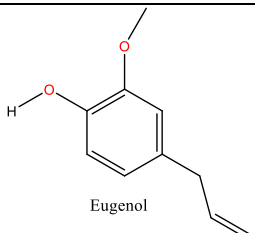
Tabela 1 - Composição química do óleo essencial dos botões do cravo.

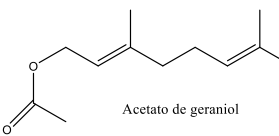
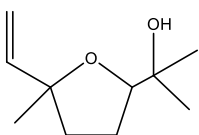
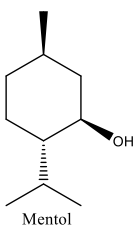
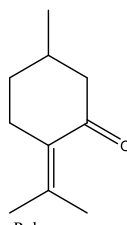
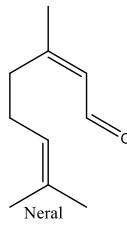
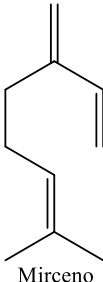
Composto	Área de pico (%)	Composto	Área de pico (%)
2-Pineno	0,02	Eugenol	76,23
α -Pineno	0,03	B-Cariofileno	11,54
Eucaliptol	0,14	ACariofileno	0,64
Salicilato de metila	0,06	(-)-b-Cadineno	0,12
Chavicol	0,09	β -Selinene	0,25
4-Alilanol	0,13	α -Selinene	0,16
Anetol	0,11	Óxido de cariofileno	4,29
α -Muurolele	0,01	Jasmone	0,07
α -Copaene	0,05	Ledol	0,03
Valencene	0,01	Globulol	0,04
Acetato de eugenil	1,76	Cedrene	0,02

Fonte: (XU *et al.*, 2016)

Para que haja uma compreensão objetiva do potencial biotecnológico do OEC, a Tabela 2 também foi construída com base em relatos de pesquisadores, desta forma, apresenta os principais compostos bioativos dos OEs, relacionando-se a estrutura química com as suas respectivas bioatividades.

Tabela 2 - Classes de compostos bioativos

Compostos	Exemplos	Estruturas químicas	Bioatividades	Referências
Fenóis	eugenol, carvacrol, chavicol, timol,		antimicrobiano, anestésico, imunostimulante	(TONYALI <i>et al.</i> , 2020) SIMIONATO <i>et al.</i> (2019)

Ésteres	acetato de linalilo, acetato de geraniol, acetato de eugenol, acetato de bornilo.	 Acetato de geraniol	anestésico, anti-inflamatório, antifúngico	(SYED <i>et al.</i> , 2020) (KHAN <i>et al.</i> , 2013)
Óxidos	óxido de bisabolona, óxido de linalol, óxido de esclareol, ascaridol.	 Óxido de linalol	anti-inflamatório, estimulante	MONZOTE <i>et al.</i> , (2018)
Álcoois	linalol, mentol, borneol, santalol, nerol, citronelol, geraniol	 Mentol	Antimicrobiano, anti-séptico, anestésico, anti-inflamatório	SATYAL e SETZER (2020) Tu <i>et al.</i> (2018) BONDA <i>et al</i> (2020)
Cetonas	carvona, mentona, pulegona, fenchone, cânfora, tujona, verbenona	 Pulegona	antiviral, neurotóxico, analgésico, digestivo, espasmolítico	ESMAEILI <i>et al.</i> (2020) DONG <i>et al.</i> , (2020) NAZEM <i>et al.</i> (2019)
Aldeídos	citral, mirtenal, cuminaldeído, citronelal, cinamaldeído, benzaldeído	 Neral	Antiviral, antimicrobiano, hipotensor, calmante, antipirético	TONYALI <i>et al.</i> , (2020) (WANG <i>et al.</i> , 2019) BORA <i>et al</i> (2020)
Hidrocarbonetos	pineno, sabineno, cimeno, mirceno, felandreno, Limoneno; mirceno	 Mirceno	antiviral, antitumoral, antibacteriano, estimulante	SATYAL e SETZER (2020) TU <i>et al.</i> (2018) SIMIONATO <i>et al.</i> (2019)

4.3 Atividade antioxidante do OEC

Segundo Pérez-jiménez *et al.*, (2010), o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, criou um banco de dados com o conteúdo de polifenóis e atividade antioxidante de diferentes tipos de alimentos. Entre as especiarias investigadas, o cravo apresentou o maior teor de polifenóis e compostos antioxidantes. Destaca-se, portanto, o enorme potencial do cravo-da-índia como eliminador de radicais e como fonte comercial de polifenóis (PÉREZ-JIMÉNEZ *et al.*, 2010).

Nesta mesma ordem, um estudo comparativo, Shan *et al.*, (2005), 26 especiarias foram investigadas e quantificadas por cromatografia líquida de alta eficiência, seguida da análise *in vitro* da atividade antioxidante total pelo método 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácidosulfônico), (ABTS). O Cravo (botões) foi a especiaria que apresentou maior atividade antioxidante e teor de polifenóis, (168,660% 0,024) e de ácido gálico (14,380% 0,006 g) (equivalentes/100g de peso seco) (SHAN *et al.*, 2005).

Seguindo nessa perspectiva, agora com foco no impacto de ingredientes alimentares à saúde, a avaliação da atividade antioxidante do cravo também foi testada por vários métodos, como o β -caroteno, tiocianato férrico, radical 1,1-difenil-2-picril hidroxila (DPPH), 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), (ABTS), outros. Concluiu-se que a atividade antioxidante do cravo é comparável ao hidroxitolueno butilado (BHT), um composto sintético comumente empregado como conservante de alimentos (BAMDAD *et al.*, 2006; GÜLÇINA *et al.*, 2004, DUDONNÉ *et al.*, 2009).

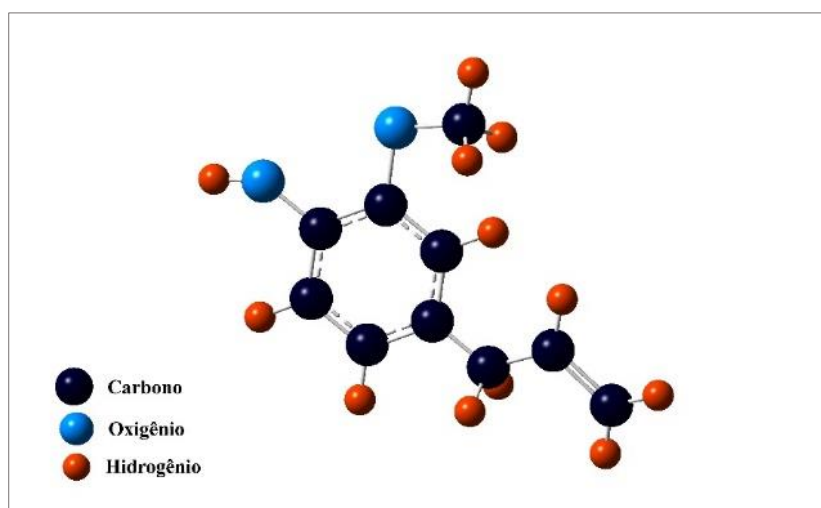
Neste sentido, a atividade antioxidante OEC em comparação com antioxidantes sintéticos, com a eliminação do radical DPPH, foi convencionalmente na seguinte ordem: (OEC > hidroxianisol butilado (BHT) > alfatocoferol > Trolox) provando o enorme potencial do OEC como conservante de alimentos (GÜLÇIN *et al.*, 2012).

4.4 Atividade Antioxidante do Eugenol

A atividade antioxidante do eugenol foi testada por vários métodos com foco na relação estrutura-atividade. Comparado ao (BHT), Trolox e α -tocoferol, o eugenol apresentou maior atividade antioxidante na maioria dos métodos testados (DPPH, ABTS, N, N-dimetil-p-fenilenodiamina (DMPD), outros. Observou-se que os polifenóis vegetais são multifuncionais no sentido de que podem atuar como agentes redutores, doadores de átomos de hidrogênio e captadores de oxigênio (GÜLÇIN, 2011).

Nesta mesma linha de raciocínio, constatou-se que o eugenol permite a doação de um átomo de hidrogênio e posterior estabilização do radical fenoxil formando compostos estáveis que não iniciam ou propagam a oxidação. De maneira mais clara, a molécula de eugenol, exibida na Figura 3, possui uma interessante conjugação da cadeia carbônica com o anel aromático que poderia participar da estabilização do radical fenoxila por ressonância. Então, foi proposta a hipótese de que o eugenol reduz dois ou mais radicais DPPH, apesar da disponibilidade de apenas um hidrogênio de um grupo hidroxila. Além disso, a formação de dímeros de eugenol (desidrodieugenol) com dois grupos hidroxila fenólicos originados de radicais intermediários de eugenil também foi proposto como mecanismo entre eugenol e radicais DPPH (CORTÉS-ROJAS *et al.* 2014).

Figura 3 – Estrutura molecular do Eugenol



Fonte: Autor, 2022

4.5 Atividade antimicrobiana do OEC

No levantamento bibliográfico realizado, a atividade antimicrobiana do cravo-da-índia foi comprovada contra várias cepas de bactérias, fungos e vírus, através do emprego de diferentes formulações. Embasado nisso, a Tabela 3 foi construída com base nos principais achados relatados.

Tabela 3 – Atividade microbiana do OEC

Formulação	Patógeno (bactéria)	Ação bactericida	Referência
Eugenol+ carvacrol	Escherichia coli (E. coli) O157:H7 e Listeria monocitogenes	inibição do crescimento em superfícies de alimentos	(BURT & REINDERS, 2003;

			PÉREZ-CONESA <i>et al.</i> , 2006).
Eugenol+ cinamaldeído 2µg/mL	31 cepas de Helicobacterpylori	inibiu o crescimento depois de 9 e 12h de incubação	(ALI <i>et al.</i> , 2005)
Extrato aquoso do OEC em 1 e 3%	(Escherichia coli, Staphylococcus aureus e Bacillus cereus	efeito bactericida completo	(SOFIA <i>et al.</i> , 2007).
OEC+ Alecrim	Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, E. coli, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa	concentrações inibitórias mínimas entre 0.062% e 0.500% (v/v)	(FU <i>et al.</i> , 2007).

Formulação	Patógeno (fungo)	Ação antifúngica	Referência
OEC (eugenol)	Mucor sp. > Microsporium gypseum > Fusarium monoliforme NCIM 1100 > Trichophytum rubrum > Aspergillus sp. > outros	lise dos esporos e micelas e ruptura de membrana e deformação de macromoléculas induzidas por eugenol	(RANA <i>et al.</i> , 2011; DEVI <i>et al.</i> , 2010)
OEC (Eugenol + Carvacrol)	Microsporium canis (KCTC 6591), Trichophyton mentagrophytes (KCTC 6077), outros Candida albicans	atividade máxima na concentração de 0.2 mg/mL com eficácia de até 60% atividade anticandida vaginal e oral	(PARK <i>et al.</i> , 2007). (CHAMI <i>et al.</i> , 2004; GARG & SINGH, 2011)
Formulação	Patógeno (Vírus)	Ação antiviral	Referência
o extrato aquoso OEC (eugeniina)	Vírus influenza A, vírus herpes simplex tipo 1, vírus da hepatite C	potencial antiviral, impacto antiviral	(OSMAN <i>et al.</i> , 2019; SAEED <i>et al.</i> , 2021).

OEC (biflorina)	SARS-COV-2	Inibição da protease principal (3CLpro) (-8,5 kcal/mol)	(REHMAN <i>et al.</i> , 2020).
OEC (Biflorina + isobiflorina)	vírus da Dengue (DENV).	inibição das proteases DENV2 (89,6 e 58,9 µM) e DENV3 (219 e 337 µM)	(SALEEM <i>et al.</i> , 2019).

Fonte: Autor, 2022

4.6 Toxicidade e citotoxicidade do OEC

Segundo evidências, o óleo essencial de cravo é geralmente reconhecido como substância segura quando consumido em concentrações inferiores a 1500 mg/kg. Por outro lado, a organização mundial da saúde (OMS) estabeleceu que a quantidade diária aceitável de cravo por dia é de 2.5 mg/kg de peso em humanos (GÜLÇİN *et al.*, 2012; BATIHA *et al.*, 2020; SAEED *et al.*, 2021).

Como reforço a isso, segundo relatos, Doleželová *et al.*, (2011), a toxicidade do óleo de cravo também foi testada em duas espécies de peixes de aquário, *Danio rerio* e *Poecilia reticulata*, as concentrações letais médias em 96 h eram (18,2 ± 5,52) mg/mL em *Danio rerio* e (21,0 ± 0,8) mg/ml em *Poecilia reticulata* (DOLEŽELOVÁ *et al.*, 2011).

Os achados de Guénette *et al.*, (2007), também provaram que o eugenol é facilmente absorvido quando administrado por via oral atingindo rapidamente o plasma e o sangue com meia-vidas médias de 14,0 e 18,3 h, respectivamente. Além disso, o efeito cumulativo foi hipotetizado e associado ao alívio da dor neuropática após administrações diárias repetidas (GUÉNETTE *et al.*, 2007).

De forma mais ampla, em um artigo denso, Slamenová *et al.*, (2009), os efeitos citotóxicos (danificar células) e genotóxicos (danificar o Ácido Desoxirribonucleico - DNA) do eugenol e do borneol foram investigados. Sobre isso, a capacidade de modular a resistência contra os efeitos nocivos do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) sobre o DNA de diferentes cepas de células humanas: células malignas do hepatoma (HepG2), células malignas do cólon humano (Caco-2) e não malignas de fibroblasto humanos (VH10). Com relação à toxicidade, o eugenol apresentou fortes efeitos genotóxicos em células VH10, efeitos genotóxicos médios em células Caco-2 e efeitos não danosos sobre as células HepG2. Constatou-se também que os efeitos citotóxicos do eugenol foram mais fortes do que os do borneol (SLAMENOVÁ *et al.*, 2009).

Porém, segundo a inscrição de Atsumi *et al.*, (2005), embora haja muitos relatos sobre a atividade antioxidante do eugenol, em alta concentração ele pode ser pró-oxidante (induzem o estresse oxidativo). Em relação a isso, a citotoxicidade do eugenol a níveis intracelulares, para uma linhagem de células submandibulares humanas (HSG) foi averiguada. Verificou-se que na presença de estresse oxidativo, o eugenol aumentou níveis de espécies redutoras de Oxigênio em baixas concentrações (5-10 $\mu\text{mol/L}$), mas diminuiu em altas concentrações (500 $\mu\text{mol/L}$) (ATSUMI *et al.*, 2005).

4.7 Nanoemulsão (NE)

4.7.1 Conceitos relacionados às nanoemulsões

Tem sido reportado frequentemente, abordagens microfluídicas de ruptura de gotículas em nanoescala para a obtenção de sistemas líquidos estruturados de não equilíbrio úteis, principalmente, às indústrias alimentícia e farmacêutica.

A partir desta perspectiva, as NEs são consideradas dispersões bifásicas de dois líquidos imiscíveis termodinamicamente instáveis, que podem ser do tipo óleo-em-água (O/A) ou água-em-óleo (A/O), estabilizados por surfactante anfifílico e emulsificantes, com partículas na faixa de 10 –200 nm (KORMA *et al.*, 2019; REHMAN, *et al.*, 2019a; LIEW *et al.*, 2020).

Estendendo esta convenção para às emulsões metaestáveis, NEs podem ser definidas como emulsões com tamanhos de gotículas na faixa (10-200 nm) (MASON *et al.*, 2006), tendo como precursores, variados métodos de preparação, destacando-se principalmente: ultra-som (YAZGAN, 2020), cisalhamento (LIU *et al.*; 2021) e homogeneização espontânea (SUGUMAR *et al.*, 2015), esta última é foco deste trabalho.

No que tange esse trabalho, convencionou-se que as NEs são sistemas líquidos polifásicos, imiscíveis (duas ou mais fases com ou sem emulsificador) contendo nanogotículas ($R_{\text{médio}} \leq 200$ nm) possuindo boa estabilidade cinética, de aparência transparente ou ligeiramente opaca (SUGUMAR *et al.*, 2014).

Neste sentido, ao focalizar o potencial biotecnológico das NEs, considera-se que a estabilidade física e a biodisponibilidade das substâncias ativas encapsuladas são altamente melhoradas, para evitar fenômenos convencionais de desestabilização, tais como: cremosidade, sedimentação, coalescência e floculação (CHOI & MCCLEMENTS, 2020). Além disso, a atuação de um surfactante (T-80) na interface água-óleo, garante a persistência das NEs a longo prazo, apesar de sua metaestabilidade, ao impedir o movimento de coalescência das gotículas (HOU *et al.*, 2021).

Em vista disso, a vantagem das NEs é o tamanho reduzido de gota (molhabilidade elevada) o que permite rápida penetração dos componentes ativos, acrescentando a isso, a possibilidade de diluí-las com água sem alterar a distribuição do tamanho das gotículas. Dentre outras vantagens reportadas, inclui-se: a capacidade de serem filtradas, viscosidade relativamente baixa e melhoria das propriedades biológicas e físico-químicas, bem como facilidade de produção e aumento de escala (GUPTA, 2019; NAJAFI-TAHER *et al.*, 2018).

Para além disso, as NEs possuem algumas propriedades físicas interessantes que as distinguem das emulsões comuns. As emulsões geralmente exibem uma forte dispersão múltipla de luz visível (efeito Tyndall) e, como resultado, apresentam uma aparência esbranquiçada (HUNTER, 1986). Por outro lado, as estruturas nas NEs são muito menores do que os comprimentos de ondas visíveis, parecendo opticamente transparentes (ZHANG *et al.*, 2015).

4.7.2 Técnicas para a preparação das NEs

Como já se sabe, a fabricação de NEs pode ser alcançada empregando dois métodos, as técnicas de cima para baixo (*top-down*) e as de baixo para cima (*bottom-up*).

As técnicas *bottom-up*, compreendem a auto-organização e auto-montagem de moléculas para materiais de construção influenciados por inúmeras características como força iônica, pH, calor e concentração. Nanoprecipitação, coacervação, encapsulamento de fluido supercrítico são alguns exemplos. Esses métodos são considerados mais superiores porque têm maior controle sobre o tamanho das partículas, bem como sobre a estrutura e consomem menos energia (RASHIDINEJAD *et al.*, 2020).

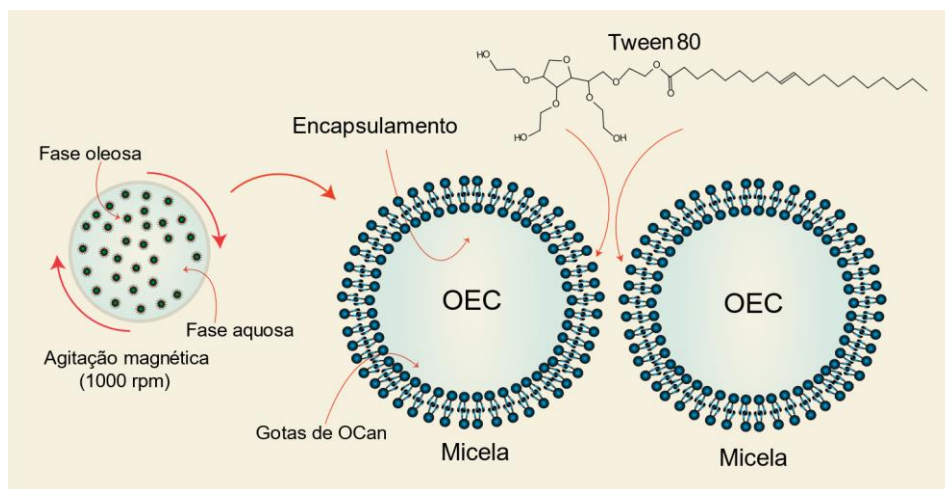
Por sua vez, as técnicas *top-down* incluem a exploração de ferramentas precisas, que permitem a modelagem estrutural e redução de tamanho para a aplicação necessária do nanomaterial. São exemplos, a extrusão, homogeneização, eletrofiação/pulverização, nano *spray dryer* e evaporação de solvente de emulsificação, (ASHRAF *et al.*, 2020; GARAVAND *et al.*, 2020).

Em relação a produção das emulsões, elas podem ser criadas de diferentes formas, tais como, emulsões simples (água em óleo (A/O), e óleo em água (O/A) e emulsões duplas (óleo em água em óleo (O/A/O) e água em óleo em água (A/O/A)). As NEs de óleo em água (O/A), foco desta investigação, é uma mistura de mais de duas fases líquidas imiscíveis em que um líquido é disperso em outro e estabilizado por um emulsificante como camada protetora (REHMAN *et al.*, 2019b; REHMAN *et al.*, 2020a).

No entanto, para tornar reproduzível uma NE estável, considera-se que um grande número de fatores deve ser controlado. Isso inclui a seleção de uma formulação adequada, controle na ordem de adição dos componentes e aplicação de cisalhamento de maneira que haja rompimento efetivo das gotículas (CHIESA *et al.*, 2008).

Para que isso ocorra adequadamente, as moléculas da fase dispersa devem ser insolúveis na fase contínua de modo que o amadurecimento de Ostwald ocorra de forma controlada. A supressão deste efeito de desestabilização pode ser alcançada por vários métodos, mas escolher um líquido muito insolúvel para a fase dispersa é a solução mais relatada (FRANZOL & REZENDE, 2015). A Figura 4 mostra a formação das micelas pela interação dos componentes da NE.

Figura 4 – Formação de micelas nanométricas



Fonte: Autor, 2022

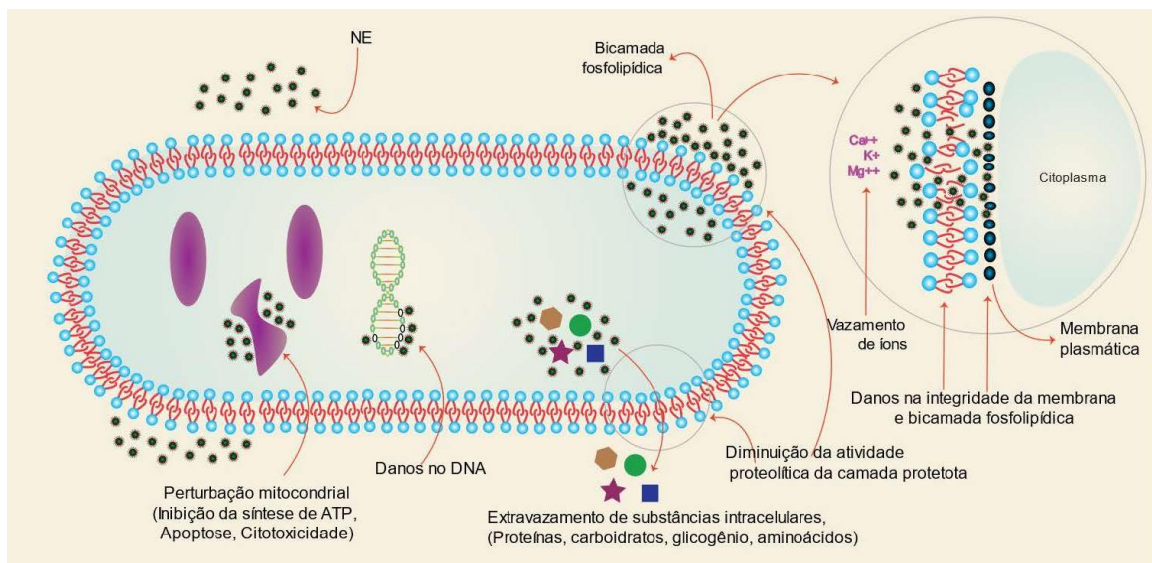
4.7.3 Ação antimicrobiana das NEs

Para melhorar a compreensão sobre o mecanismo de atuação das NEs, a seguir será apresentada uma breve abordagem. Para tanto, a Figura 5 descreve de forma resumida os possíveis formas de interação das NEs em microrganismos. Assim, propõe-se que a ação combinada dos componentes bioativos encapsulados, pode potencializar a ação antimicrobiana, podendo causar:

- danos à integridade da membrana celular bacteriana interagida, resultando em ruptura completa (extravasamento), perda irreversível de viabilidade (BORA *et al.*, 2020; (SUGUMAR *et al.*, 2014);
- aumento na permeabilidade da bicamada fosfolipídica celular devido à lipofilicidade dos OEs e aumento da molhabilidade, permitindo a transferências dos componentes

- antibactericidas dos OEs, exercendo o efeito inibitório sobre as bactérias (MOGHIMI *et al.*, 2016);
- c) solubilização parcial da membrana celular por ácidos graxos, levando à liberação de proteínas da membrana resultando no desacoplamento da fosforilação oxidativa ou inibição da absorção de enzimas e nutrientes, levando à bacteriostasia (DESBOIS & SMITH, 2010);
 - d) eliminação de radicais livres e um efeito inibitório reduzindo a síntese de ergosterol, prejudicando a formação de tubos reprodutivos (MUTHAIYAN *et al.*, 2012);
 - e) alteração no potencial de membrana e inibição da síntese da parede celular, resultando no decrescimento celular (ZHANG *et al.*, 2016);
 - f) inibição das reações intracelulares e processos de reparo e transcrição do DNA levando a oxidação das células (MITH *et al.*, 2014);
 - g) destruição da estrutura do DNA impedindo a expressão gênica levando à lise celular (MUTHAIYAN *et al.*, 2012);
 - h) diferenças potenciais entre os dois lados da célula interagida, resultando em dissolução e morte celular por perturbar os sistemas de transporte de elétrons (MUTHAIYAN *et al.*, 2012; ZHANG *et al.*, 2016);
 - i) afetação do metabolismo energético (liberação, transferência e utilização de energia-ATP), inibindo o crescimento celular (NI *et al.*, 2021);
 - j) redução de enzimas-chave pela inibição da via *embden-meyerhof-parnas* (EMP) (CUI *et al.*, 2018);
 - k) quimerismo no DNA, levando a inibição da atividade biológica (WANG *et al.*, 2019).

Figura 5 - Mecanismo de interação das NEs



Fonte: adaptado de (PERUMAL *et al* 2021)

4.7.4 Aplicações das NEs

Recentemente, algumas pesquisas foram conduzidas com sucesso através da adição das NEs em biopolímeros. Sobre isso, alguns relatos de pesquisadores serão abordados nos parágrafos seguintes.

Partindo disso, tem sido sugerido que a incorporação de bioativos lipofílicos em NE tem vários benefícios. Porém, a estabilidade dos OEs por um longo período de tempo é a principal restrição que limita seu uso mais amplo de aplicações. Assim, tornou-se emergente a incorporação dos OEs em sistemas de NEs e usados para aplicações industriais como antioxidantes naturais para reduzir à estabilidade oxidativa e aumentar a atividade antioxidante desses sistemas (RASHED *et al.*, 2021).

Com o foco na crescente preocupação com a saúde, NEs contendo OEs tem sido amplamente utilizadas nas indústrias devido a capacidade de superar os problemas citados acima. Para além disso, as NEs como sistema de entrega, pode melhorar a baixa estabilidade dos OEs, manter a atividade dos componentes bioativos e minimizar seus efeitos sensoriais (características organolépticas), devido melhor difusão das NEs, o que as tornam candidatas ideais para serem utilizadas em sistemas alimentares, como bebidas, sopas, molhos e xaropes (REHMAN, *et al.*, 2021; SALVIA-TRUJILLO *et al.*, 2014).

Além dessas observações, estruturalmente o tamanho de partícula nas NEs, faz surgir algumas características distintivas, como a maior estabilidade contra a agregação de gotículas e separação gravitacional, podendo ser utilizadas em muitas aplicações farmacêuticas para encapsulamento, proteção, ou para fornecer compostos bioativos hidrofílicos e lipofílicos de alta eficiência (MCCLEMENTS, 2015; ROOHINEJAD & GREINER, 2017).

Além das soluções mencionadas anteriormente, devido a possibilidade de biocompatibilidade com polímeros utilizados como material de parede, há a comprovada eficiência antioxidante das NEs de OEs em substituição a aditivos sintéticos. Essa descoberta está ganhando cada vez mais interesse como material de escolha em formulações para encapsulamento (ADRAR *et al.*, 2016; SAID *et al.*, 2016).

Em relação a isso, cita-se um exemplo em que NEs à base de hidroxipropilmetilcelulose foram equipados pelo método de emulsificação espontânea e ultrassonicação, resultando em menor tamanho de gota, 169 ± 23 nm, apresentando atividade antioxidante aproximadamente 46 e 69 % maior do que os tratamentos de controle (LEE *et al.*, 2014).

Nesta mesma linha, um antigo contemporâneo ao anterior, Rehman, *et al.*, (2019), revisou extensamente a formulação e fabricação de NEs à base de biopolímeros aprisionadas

de OEs, abrangendo a discussão sobre a viabilidade de carregamento de OEs em sistemas de entrega de NEs incorporadas com diversos tipos de biopolímeros, e seu potencial antioxidante como estratégia de preservação para retardar e/ou interromper o processo de oxidação em uma ampla gama de aplicações de produtos alimentícios (REHMAN *et al.*, 2021).

Adicionalmente ao que foi levantado sobre as NEs, sabe-se que elas podem ser usadas como curativos não tóxicos e não aderentes. Elas atuam como uma barreira protetora devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade, propriedades mecânicas e físico-químicas, capacidade de biorreabsorção e custo relativamente baixo. De maneira análoga, são adequadas para barreiras biológicas e biomédicas para a exploração de componentes bioativos direcionados em locais alvo no corpo (SHANMUGAPRIYA, *et al.*; 2019).

Partindo dessa perspectiva, NEs foram utilizadas para tratamentos alternativos contra feridas cutâneas diabéticas para acelerar a cicatrização e equilibrar o estresse oxidativo, além disso, introduziram alta porosidade e alta umidade nos ambientes da ferida, permitindo assim a remoção do excesso de exsudato da ferida e obtenção de isolamento térmico. Em particular, o uso de NEs para o tratamento de diabetes aumentou devido à redução transitória da glicose no sangue, diminuição da inflamação prolongada, redução de exsudatos e aumento do sistema antioxidante e ação da insulina (MOSTAFA *et al.*, 2015).

Devido as suas inúmeras vantagens, essa tecnologia pode ser especificada para sua aplicação em embalagens ativas projetadas para assegurar a vida útil dos alimentos e/ou para a sua incorporação em filmes curativos de alto desempenho, podendo ser criada pela incorporação de antimicrobianos, antioxidantes, filtros de luz, inibidores de transporte, modificadores de textura, dentre outros ingredientes funcionais (ACEVEDO-FANI *et al.*, 2015).

4.7.5 Nanoemulsões aplicadas em embalagens alimentícias

O armazenamento prolongado dos alimentos pode ter um impacto negativo na sua qualidade, o que força o uso de conservantes sintetizados quimicamente. Porém, esses aditivos sintéticos apresentam riscos potenciais à saúde humana e ao meio ambiente, portanto, o desenvolvimento de embalagens inteligentes tornou-se, atualmente, o foco de pesquisadores (SEDAGHAT DOOST, *et al.*, 2020).

Em relação a isso, as aplicações atuais das NEs em embalagens ativas de alimentos incluem sua aplicação em vários alimentos na forma de filmes e revestimentos. De tal modo, a adição de OE tem efeito sobre a microestrutura do material de embalagem final, aumentando as propriedades de tração, barreira biológica e óptica e, melhoria das propriedades antibacterianas e antioxidantes dos materiais de embalagem (SHARMA *et al.*, 2021)

Vantajosamente, as técnicas antigas estão sendo modificadas pela incorporação desses compostos ou extratos antimicrobianos naturais para a melhoria das propriedades biológicas dos materiais de embalagens. Nesse sentido, as NEs são fortes candidatas, o que permite destacar que a incorporação de compostos ativos em polímeros sintéticos e sua aplicação em formulações de revestimentos pode ser uma estratégia valiosa para melhorar a vida de prateleira de alimentos embalados (NI *et al.*, 2021).

Embora novas soluções sejam projetadas, o principal problema das embalagens ativas é controlar a rápida migração dos compostos ativos para aumentar a eficiência das embalagens durante a vida de prateleira. A migração de compostos ativos em substâncias biodegradáveis está relacionada à composição dos alimentos, o que é um complicativo. Portanto, as concentrações liberadas não devem ser muito altas ou muito baixas para evitar efeitos adversos nas propriedades sensoriais e toxicológicas, deve-se administrar a uma taxa controlada (JUGREET *et al.*, 2020).

Com o foco nisso, novas embalagens ativas foram preparadas consistindo de filmes biopoliméricos construídos para formar uma rede de gel com propilenoglicol como plastificante, contendo uma mistura de óleo essencial de tomilho, ácidos orgânicos e surfactante não iônico (Tween®80). Os resultados do estudo mostraram que foi possível obter nanogotículas com eficácia para a liberação nos filmes (ALMASI *et al.*, 2021).

Assim, biopolímeros (polissacarídeos e proteínas) de origem vegetal, animal e microbiana têm sido amplamente utilizados para fabricar materiais de embalagem comestíveis, biocompatíveis, biodegradáveis, renováveis e atóxicos para produtos alimentícios (MOHAMED *et al.*, 2020).

A esse respeito, um estudo recente, Shen *et al.*, (2021), reportou a incorporação de NEs carregadas de (OEC) e outros ingredientes, ao fluido base do filme de pululano-gelatina em três níveis (0,2%, 0,4% e 0,6%). Os tamanhos de gotículas da NE carregados com OEC foram 15,93 nm. O índice de polidispersividade (PDI) da NE estável, foi de 0,262. Os resultados mostraram a compatibilidade melhorada entre pululano-gelatina e nanocarreadores com adição de óleo essencial (SHEN *et al.*, 2021).

Nesta mesma linha, um outro relatório, GHANI, *et al.*, (2018), concluiu que a incorporação de NEs a base de OE de orégano fabricadas por ultra-som com um tamanho de gota nanométrico em filmes bioativos à base de polissacarídeos de soja solúvel, melhorou extensivamente a atividade física de barreira e antioxidante dos filmes (GHANI, *et al.*, 2018).

Reporta-se ainda, soluções nas quais nanocarreadores biodegradáveis têm sido utilizados para a incorporação de diversos OEs. Nanocarreadores biopoliméricos carregados

com OE foram utilizados como antioxidantes e antimicrobianos em embalagens ativas de alimentos (PEREZ-CÓRDOBA *et al.*, 2017). Neste sentido, Cui, *et al.*, (2018), preparou uma formulação de embalagens de frango cru com uma membrana de nanofibra de quitosana contendo lipossomas de óleo de *Tea tree*, que inibiu *Salmonella* em 99,9% após quatro dias de tratamento sem afetar a qualidade sensorial (CUI, *et al.*, 2018).

De forma análoga, foi avaliado o efeito de manutenção da frescura do isolado de proteína de soro de leite de manjerona carregado com uma nanoemulsão de deca-pageme. Os resultados mostraram forte efeito antioxidante e também a manutenção do frescor, o que mostra seu valor potencial como uma embalagem ativa (ALMASI, *et al.*, 2020).

Adicionalmente a isso, uma pesquisa comparativa, avaliou filmes de amido à base de NE preparada a partir do OE de *Zataria multiflora* e cinamaldeído que apresentou maior atividade antioxidante, em comparação com a NE convencional, em hambúrgueres de carne bovina durante o armazenamento por 20 dias. Considerando o tamanho de gota da NE empregada, constatou-se que os compostos fenólicos do OE inibiram a formação de radicais livres e aumentou a estabilidade oxidativa o que resultou na regressão da etapa inicial de oxidação e formação de peróxidos (AMIRI *et al.*, 2019; GHADETAJ *et al.*, 2018).

4.7.6 Nanoemulsões aplicadas em filmes curativos

Nos últimos anos, pesquisas relacionadas as propriedades medicinais dos OEs tornaram-se cada vez mais popular. Entre elas, o sistema de liberação de nanodrogas, fornecendo valores de referência para os OEs como medicamentos, como o controle contínuo da liberação de drogas na penetração tecidual profunda com tamanho de nanopartículas, a captação celular e a proteção da terapia medicamentosa no local a níveis extracelulares e intracelulares (MEHDIZADEH & MOGHADDAM, 2018).

Sobre isso, considera-se que a cicatrização de feridas é um processo dinâmico que possui uma resposta restauradora natural com o restabelecimento da integridade e funcionalidade do tecido lesado. Nesses casos, as NEs podem ser usadas para promover e iniciar a cicatrização de feridas dérmicas e epidérmicas com base em processos fisiológicos altamente regulados usando vários tipos de células e vias para restaurar a integridade e a homeostasia (manutenção da circulação sanguínea) do tecido (BOATENG *et al.*, 2008).

Atualmente, o encapsulamento do OE tem se mostrado um método viável e eficaz, principalmente para regular a taxa de liberação do fármaco, proteger as substâncias ativas da interação ambiental, reduzir sua volatilidade e aumentar sua atividade biológica (SEDAGHAT DOOST *et al.*, 2020, YUAN *et al.*, 2019).

Em relação a esse aspecto, muitos sistemas de entrega, incluindo NE em filmes carregados de OE com alta biodegradabilidade e biocompatibilidade foram relatados, incluindo NPs à base de polímeros e de lipídios (NI *et al.*, 2021). Por exemplo, biopolímeros como alginato, pectina, amido e quitosana são principalmente conhecidos por serem as matrizes bioadesivas potenciais. Neste sentido, as NEs carregadas de OEs fabricadas através de biopolímeros bioadesivos podem expandir o tempo de atuação, bem como a absorção dos OEs. Essas evidências sobre as propriedades físico-químicas e biológicas dos biopolímeros são altamente atraentes para que possam ser usados como biomateriais em pesquisas desse tipo (GARAVAND *et al.*, 2020).

Deste modo, a modificação de biopolímeros via processo químico ou bioquímico é facilmente possível por causa de seus grupos de superfície (hidroxila, amino e carboxila), resultando em uma ampla gama de derivados funcionais. Predominantemente, esses derivados desempenham um papel importante no estabelecimento de ligações não covalentes com tecidos biológicos compreendendo epitélios e membranas mucosas, resultando em bioadesão (LIU *et al.*, 2008).

Assim, inúmeros biopolímeros de proteínas e polissacarídeos têm sido aplicados para a fabricação de diferentes tipos de NEs, que são cargas bem organizadas para liberação controlada de OEs em locais alvo/infectados devido à sua perfeita estabilidade em diferentes condições (REHMAN *et al.*, 2021).

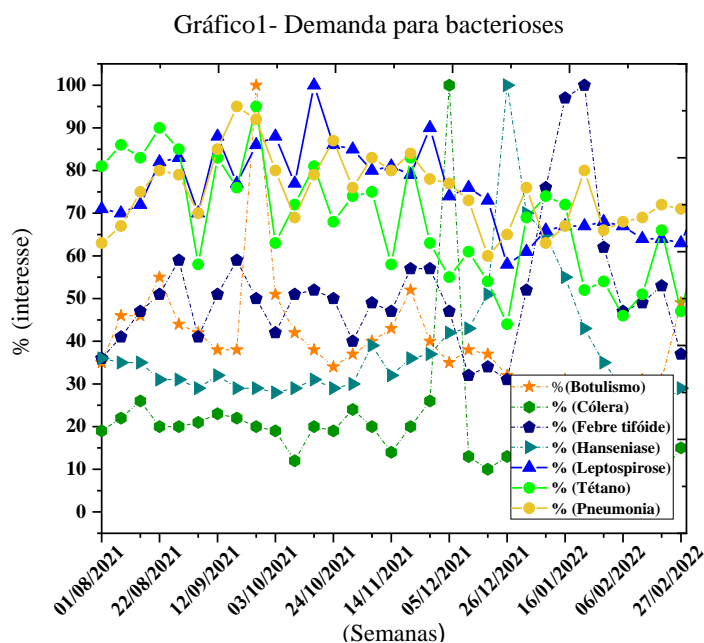
4.8 Nanopartículas de prata (Ag-NPs)

A disseminação de bactérias multirresistentes traz custos para o sistema de saúde e para o Produto Interno Bruto (PIB) devido ao alto investimento em terapias para tratamento dessas infecções. Mais recentemente, houve uma notória demanda por nanomateriais em diferentes aspectos da indústria médica, um caso específico, cita-se o novo cenário disparado pela pandemia do vírus SARS-Cov-2 (COVID-19) (ANVISA, 2021a; SUBRAMANYA *et al.*, 2021).

Partindo desse aspecto, há seis anos a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou a primeira lista de “agentes patogênicos prioritários” resistentes aos antibióticos. A lista foi elaborada em uma tentativa de orientar e promover a pesquisa e o desenvolvimento de novos antibióticos. Essa pesquisa é dividida em três categorias de acordo com a urgência da necessidade de novos fármacos: crítica, alta e média prioridade (ANVISA, 2021b; OPAS, 2017).

Levando isso em consideração, o Gráfico 1, exibe um prognóstico comparativo, em termos de Brasil, em relação a bacterioses que geralmente assolam a população. Os dados foram

coletados utilizando a ferramenta Google Trends, a resposta é dada pelo número de entrada na internet ao tema relacionado.



Conforme os dados levantados, verificou-se um notório interesse pelo assunto, destacando-se principalmente pneumonia, tétano e leptospirose, que tenderam a um aumento entre 09/2021 e 01/2022. Isso pode indicar uma demanda por tratamentos alternativos, e que eles possam ser mais baratos e seguros para atenuar os inconvenientes supracitados, porque em muitos desses casos, a automedicação é uma opção fortemente requerida, embora não recomendada.

Partindo desse aspecto, relatos anteriores consideram as Ag-PNs fortes aliados no combate a micróbios persistentes a drogas. Elucidações feitas consideram que a atividade antimicrobiana das Ag-NPs pode estar relacionada a geração de radicais livres (DURÁN *et al.*, 2016). Denotou-se ainda, que as Ag-NPs se ligam ao DNA e bloqueia a transcrição ou são adsorvidos aos componentes da superfície celular interrompendo a respiração bacteriana (síntese do trifosfato de adenosina - ATP) (ASHA RANI *et al.*, 2008; LIM *et al.*, 2015).

Nesta mesma perspectiva, aponta-se que a prata catiônica pode se ligar a componentes carregados negativamente de proteínas e ácidos nucleicos, causando mudanças estruturais e deformações nas membranas das células bacterianas e ácidos nucleicos (GITIPOUR *et al.*, 2016; ABU-YOUSSEF *et al.*, 2010; RAMSTEDT *et al.*, 2007). Além de tudo isso, os íons da prata catiônica interagem com uma série de grupos funcionais doadores de elétrons: tióis, fosfatos, hidroxilas, imidazóis, indóis e aminas (KUMAR *et al.*; 2008).

E se é assim, pode-se esperar que uma performance antimicrobiana superior pode ser induzida quando se associa nanopartículas de prata às nanoemulsões, afim de obter um efeito sinérgico combinado (Ag-NPs + NEs), advindo de forma específica, tanto pela ação dos componentes bioativos do OE, quanto pela atuação das Ag-NPs, que também possuem excelente ação antimicrobiana, isto é, nanopartículas de prata são comuns entre agentes antimicrobianos que apresentam forte citotoxicidade contra uma ampla gama de microrganismos (NAJAFI-TAHER *et al.*, 2018, MELO *et al.*, 2020; MACIEL *et al.*, 2019).

5 MATERIAIS E PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

5.1 Materiais

Os materiais listados na Tabela 4, foram utilizados sem purificação prévia neste trabalho.

Tabela 4 – Materiais utilizados

Reagentes	obtenção	Fornecedor
Óleo essencial de cravo botão (<i>Eugenia caryophyllus</i>) 10mL	destilação a vapor dos botões	Terra flor, Brasil
Tween®80 (Polissorbato) 1L, T09799RA	tensoativos hidrofílicos e lipofílicos (alto HLB)	Êxodo científica, Brasil
Óleo de Canola Purilev®. (<i>Brassica napus L.</i>) 900ml	sementes de canola	Cargill Agrícola, Brasil
Citrato de Sódio Acs 500G	Citrato de Sódio Tribásico Dihidratado ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$) solução a 5% a 25°C	ACS Científica, Brasil
Polivinilpirrolidona (PVP) K-30 250G	—	ACS Científica, Brasil
Nitrato de prata PA ACS 250G, SOL.0,028571N	—	Êxodo Científica, Brasil

Fonte: Autor, 2022

5.2 Preparação das Nanoemulsões (NEs)

As NEs do OEC e OCan foram preparadas pela mistura da fase oleosa na fase aquosa nas razões (8:2, 7:3, 10:0) v/v, respectivamente, adaptando o método *top-down* reportado por (LIEW *et al.*, 2020), ajustou-se as cargas oleosa e aquosa, conforme exibido na Tabela 5.

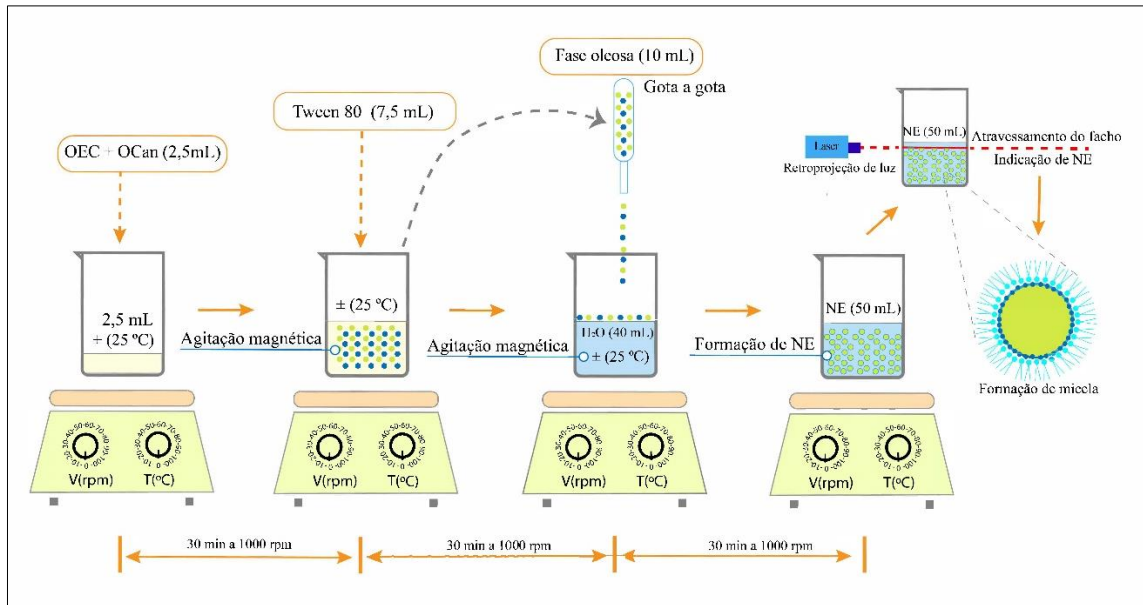
Tabela 5 - Proporções do (OEC) para (OCan) a 5% (v/v)

Amostras	OEC (mL)	OCan (mL)	Tween 80 (mL)	H ₂ O (mL)
(8:2) v/v	2,0	0,5	7,5	40
(7:3) v/v	1,75	0,75	7,5	40
(10:0) v/v	2,5	0	7,5	40
%(v/v)	5%		15%	80%

Fonte: Autor, 2022

A fase oleosa, perfiz 5% (v/v) dos óleos (OEC + OCan) e 15% (v/v) de surfactante (T-80), ao passo que a fase aquosa, integralizou 80% (v/v) de água destilada. Os volumes da fase oleosa foram adicionados em um béquer e submetidos a agitação por 1000 rpm a 25°C por 30 min (Figura 6).

Figura 6 – Etapas de preparação das NEs para as amostras (8:2, 7:3 e 10:0) v/v

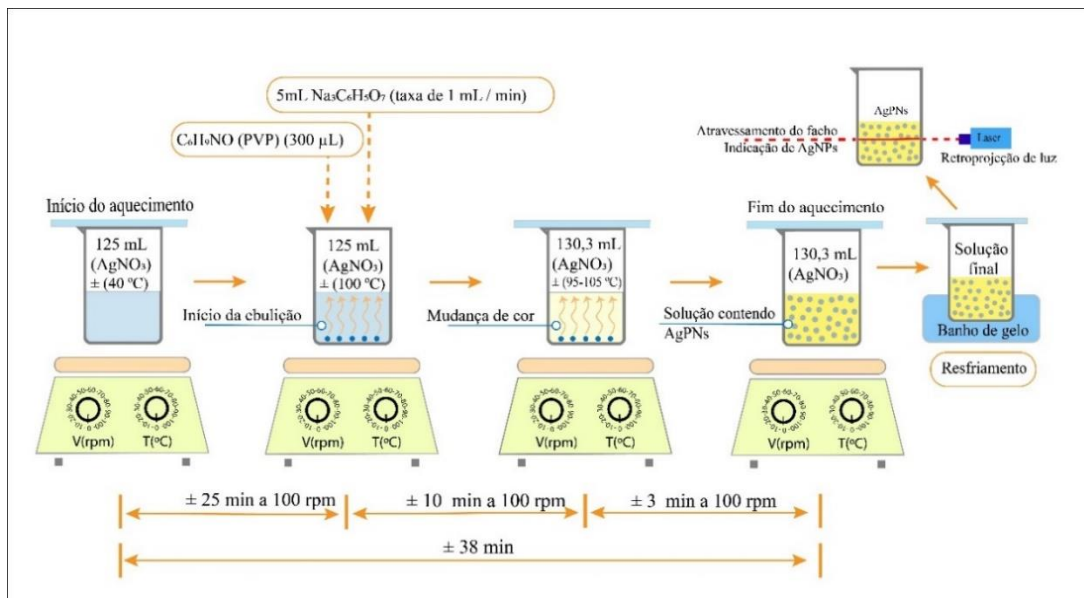


Fonte: Autor, 2022

5.3 Síntese das Ag-NPs

125 mL de uma solução aquosa de AgNO_3 (0,01M) foram aquecidos até à ebulição, sob agitação. Em seguida, foram adicionados 300 μL da solução aquosa de Polivinilpirrolidona ($\text{C}_6\text{H}_9\text{NO}$)_n a 1% (p/v). Na sequência, 5 mL de Citrato de Sódio (1% p/v) foram adicionados a uma taxa de 1 mL / min até a ebulição, formando uma coloração amarelo-pálida. Esta suspensão foi imediatamente resfriada em um banho de gelo. As etapas de preparação foram executadas conforme indicado na Figura 7.

Figura 7 – Síntese das Ag-NPs



Fonte: Autor, 2022

5.4 Preparação dos nanofluidos

As nanofluidos foram obtidos pela mistura dos componentes (NE + Ag-NPs + H₂O) v/v em balões volumétricos de 100 mL. Foram medidos volumes previamente determinados da amostra (8:2), conforme exibido na Tabela 6. Em seguida, adicionou-se volumes de (15, 20 e 30) mL das Ag-NPs para cada um deles, e finalmente, aferiu-se com água destilada os volumes restantes até completar 100 mL. Na sequência, a mistura foi agitada manualmente até a completa homogeneização.

Tabela 6 – Obtenção dos nanofluidos a partir da amostra (8:2) e Ag-NPs

Amostras	NEs (mL)	Ag-NPs (mL)	H ₂ O (mL)
NE 60 + Ag-NPs 20 +H ₂ O 20	60	20	20
NE 70 + Ag-NPs 20+H ₂ O10	70	20	10
NE 70 + Ag-NPs 30	70	30	-
NE 80 + Ag-NPs 20	80	20	-
NE 85 + Ag-NPs 15	85	15	-

Fonte: Autor, 2022

5.5 Caracterização das NEs e nanofluidos

5.5.1 Análise visual

O aspecto visual das amostras foi avaliado em três tempos específicos: imediatamente após a preparação das NEs e nanofluidos (t-0), após 30 (t-30) e decorrido 60 (t-60) dias. Foi feito o registro fotográfico para cada tempo respectivo, utilizando um Galaxy Tab S6 Lite, modelo SM-P615, China.

5.5.2 Medição de turbidez

A turbidez das NEs foram avaliadas pela intensidade de transmitância a 600 nm usando um espectrofotômetro SHIMADZU (Modelo U-1800, Tóquio, Japão) em triplicata. A quantidade de luz que atravessava as amostras foi medida e a percentagem de transmitância $I_{trans}(\%)$ para cada uma delas foi registrada e decodificada por um software (UV-probe 2.43). Água destilada foi usada como branco.

5.5.3 Leituras de absorvância (Abs)

Os espectros de Abs foram coletados através da varredura para uma faixa de 300 a 600 nm usando um espectrofotômetro SHIMADZU (Modelo U-1800, Tóquio, Japão). As

intensidades de Abs que varreram as amostras foram detectadas nos tempos t-0, t-30 e t-60, e decodificada por um software (UV-probe 2.43) integrado ao aparelho. As leituras foram feitas em uma cubeta de quartzo à temperatura ambiente ($25\pm 2^\circ\text{C}$), utilizando água como branco.

5.5.4 Medição de Potencial hidrogeniônico (pH)

O pH das NEs foi avaliado em triplicata através de medições de um PHmetro - Modelo (TOA ION meter IM-40s, Japão) submergindo o bulbo do aparelho em cada fluido, respeitando os respectivos tempos de armazenamento (t-0, t-30 e t-60). O medidor de pH foi calibrado com uma solução tampão de pH 7,0 e 4,0 antes de cada medição.

5.5.5 Medições reológicas: Viscosidade dinâmica

Para a determinação da viscosidade dinâmica utilizou-se um Viscosímetro rotacional HAAKE Viscotester, Modelo (VT 550). Foi utilizada a configuração cilindros coaxiais copo SV e cilindros SV1. As amostras foram inseridas a uma temperatura constante de 28°C a uma taxa de cisalhamento entre 0 a 600s^{-1} em tempos de 180 s. A análise e os resultados foram programados e obtidos, respectivamente, utilizando o software computacional do equipamento (Thermo Scientific™ HAAKE™ RheoWin™ Measuring and Evaluation Software).

5.6 Caracterização das Ag-NPs

5.6.1 Microscopia Eletrônica de transmissão (TEM)

As imagens de microscopia eletrônica de transmissão foram adquiridas em um microscópio eletrônico de transmissão (Jeol, model JEM-2100) com aceleração de voltagem de 200 kV.

5.6.2 Distribuição de Partículas

A distribuição aproximada de tamanhos para uma região da amostra foi estimada com o uso do Software livre Image-J. Foram extraídas distribuições de tamanhos em unidades de área (nm^2), transformando unidades de pixels para unidades de diâmetro (nm) e, em seguida, uma contagem estatística foi iniciada para estimar as áreas das NPs isoladamente. Como resultado, o histograma da distribuição foi plotado com o uso do Software Origin-2019, ordenando os dados de forma crescente e normalizando a contagem.

5.6.3 Banda de ressonância plasmônica de superfície (BRPS)

A análise de espectroscopia (UV-Vis) foi utilizada para verificar a formação e estabilidade das Ag-NPs, utilizando um espectrofotômetro SHIMADZU (Modelo U-1800, Tóquio, Japão) em modo de varredura (300 a 800 nm). As amostras foram lidas em uma cubeta de quartzo à temperatura ambiente ($25\pm 2^\circ\text{C}$), utilizando água como branco. A estabilidade das NPs foi avaliada quanto a intensidade de absorbância nos tempos (t-0), (t-30) e (t-60).

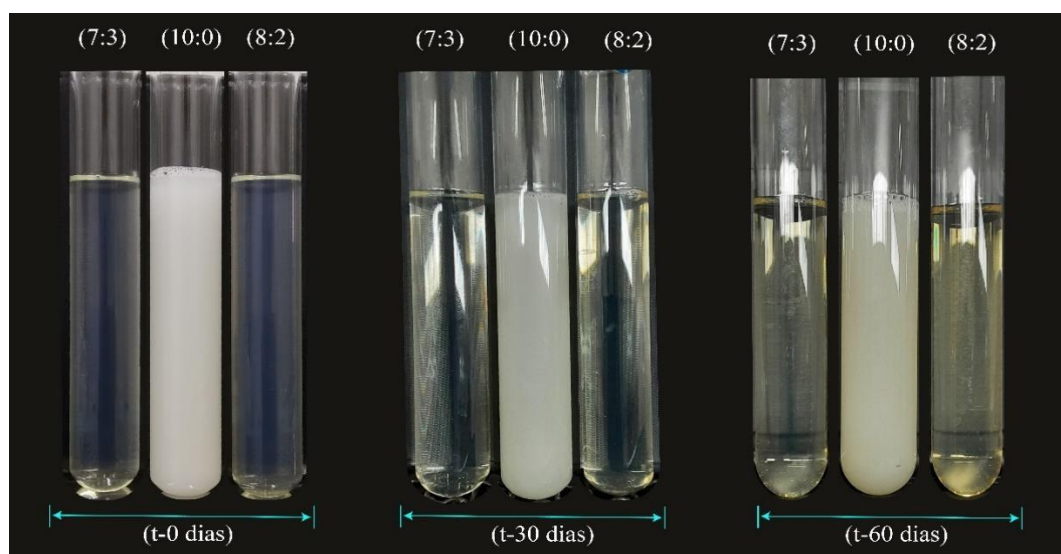
6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1 Caracterização das NEs

6.2 Diagnóstico visual para as NEs

A Figura 8 apresenta o aspecto visual para as amostras nos respectivos tempos: após a emulsificação (t-0), decorrido 30 dias (t-30) e após 60 dias de armazenamento (t-60). Após a obtenção, as NEs 8:2 e 7:3 exibiram um caráter homogêneo e transparente. Após 30 min de emulsificação, mostraram-se altamente estáveis até 60 dias, ou seja, não foi observada separação de fase ou formação de creme, o que pode ser um indicativo de que não houve alteração no diâmetro médio das gotas. Inversamente aos resultados relatados, a amostra 10:0 apresentou coloração branca leitosa após a obtenção e separação de fase completa após um dia de armazenamento.

Figura 8 – Aspecto visual para as amostras 8:2, 7:3 e 10:0, nos tempos 0, 30 e 60 dias.

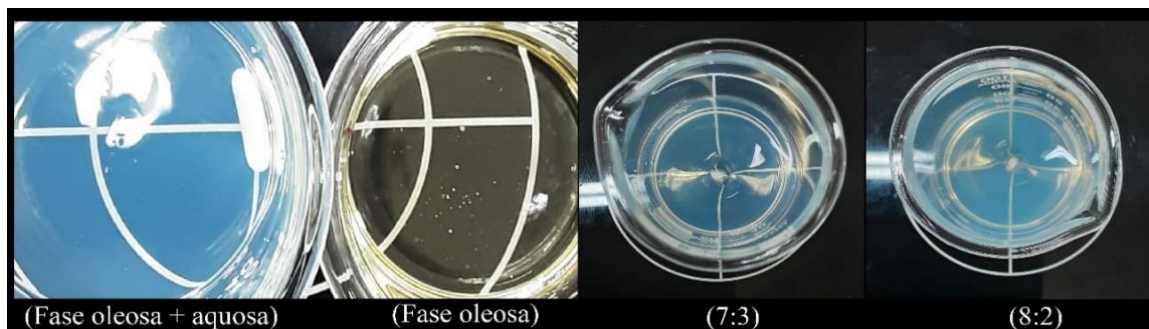


Fonte: Autor

Os resultados estão coerentes com investigações anteriores que sugerem NEs com tamanho médio de partícula inferior a 100 nm apresentam aparência transparente (CHEN & ZHONG, 2022; LIEW *et al.*, 2020; PANDEY *et al.*, 2020), essa transparência também foi observada em nossas amostras bem como sugerido na Figura 8, em t-0, t-30 e t-60 dias.

Além disso, logo após o gotejamento da fase oleosa das respectivas razões sob agitação constante, o efeito de espalhamento Rayleigh é observável nas amostras 8:2, 7:3 através da manifestação de uma coloração azulada transparente advinda, possivelmente, de gotículas nanométricas quando espalham luz, com a manutenção da coloração logo após agitação, conforme exibido na Figura 9. Não observável para a amostra 10:0.

Figura 9 – Aspecto visual das NEs após emulsificação.



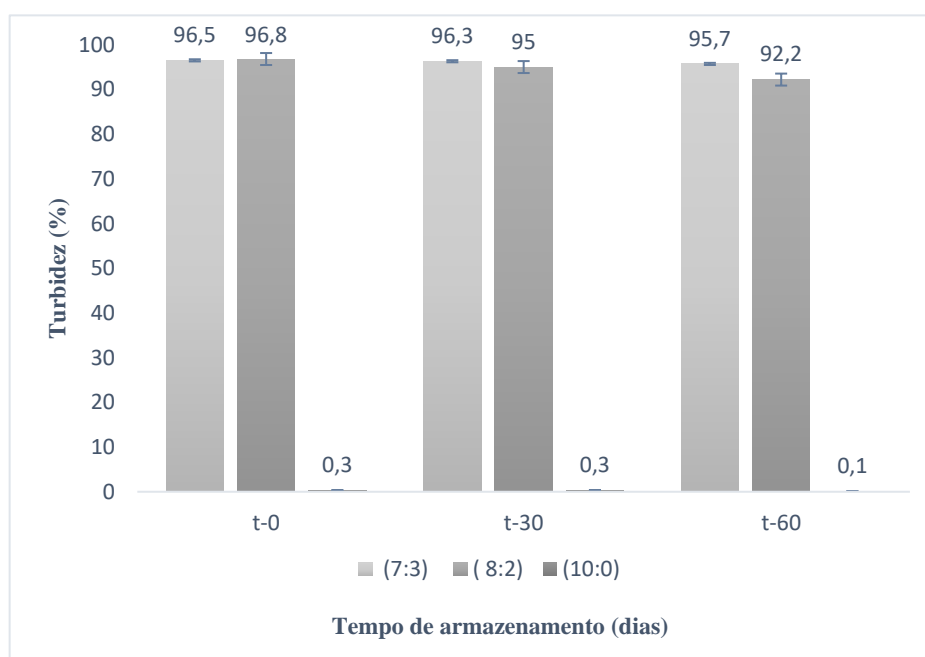
Fonte: Autor, 2022

Isso está de acordo com uma investigação reportada, Hulst, 2012, em que deduziu-se que no limite em que as nanogotículas são muito menores que o comprimento de onda da luz incidente, encontram-se no regime de 'espalhamento Rayleigh'. Isto é, NEs compostas por gotículas na faixa 400 nm parecem transparentes azuladas devido à dominância da luz de baixo comprimento de onda, pois a luz azul é preferencialmente espalhada (HULST, 2012).

6.2.1 Medição de turbidez

A turbidez foi medida e expressa em percentuais de transmitância a 600 nm para cada uma das amostras avaliadas, nos tempos t-0, t-30 e t-60, respectivamente, conforme indicado no histograma, Gráfico 2.

Gráfico 2 - Medição de turbidez a 600 nm nos tempos de armazenamento t-0, t-30 e t-60



Fonte: Autor, 2022

Os valores elevados para àquela faixa (600 nm), foram observados entre intervalos marginais próximos a 97%, localizados em 96,8% e 96,5%, sendo que os melhores valores foram expressos, respectivamente, para as amostras 7:3 e 8:2 em (t-0), alterado de forma tênue ao avançar para (t-30), e de maneira leve ao mudar para (t-60). Inversamente a isso, um declínio expressivo de transmitância foi observado para a amostra 10:0, o que pode indicar um potencial elevado de turbidez, e por extensão, tamanho de partícula e índice de polidispersidade aumentados.

Atualmente, já se sabe que a instabilidade de NEs se deve a fatores como o MO, coalescência, floculação e formação de creme. Desta forma, a restrição imposta pela ausência do OCan na amostra 10:0, pode ter contribuído para redução de turbidez, uma vez que na ausência ou na minimização da atuação desse inibidor, as gotas metaestáveis trabalham a favor do (MO), induzindo gotículas maiores da fase dispersa, crescerem à custa de gotículas menores¹, resultando em um aumento de turbidez decorrente da coalescência das gotículas pelo (MO) (KUMAR *et al.*, 2022).

Isso condiz com investigações publicadas, (LIU, *et al.*, 2021, LIEW, *et al.*, 2020), já que turbidez é uma propriedade dependente principalmente da composição do óleo e do tamanho médio de partícula, considera-se que ela tende a um aumento proporcional ao crescimento do diâmetro médio das partículas, pois à medida que o raio da gota se aproxima de 100 nm, as nanoemulsões aparecem turvas e, acima disso, na faixa de submícrons, elas aparecem brancas devido ao espalhamento múltiplo significativo (MASON *et al.* 2006).

Além disso, para as amostras 7:3 e 8:2, a transparência óptica foi mantida para os três tempos de armazenamento, de forma análoga às características observadas anteriormente (ZHANG *et al.*, 2015), o que pode fornecer um bom indicador qualitativo de polidispersidade (MASON *et al.*, 2006). Portanto, conforme sugerido, a alteração da turbidez pode ser um bom indicativo de alteração da instabilidade das NEs.

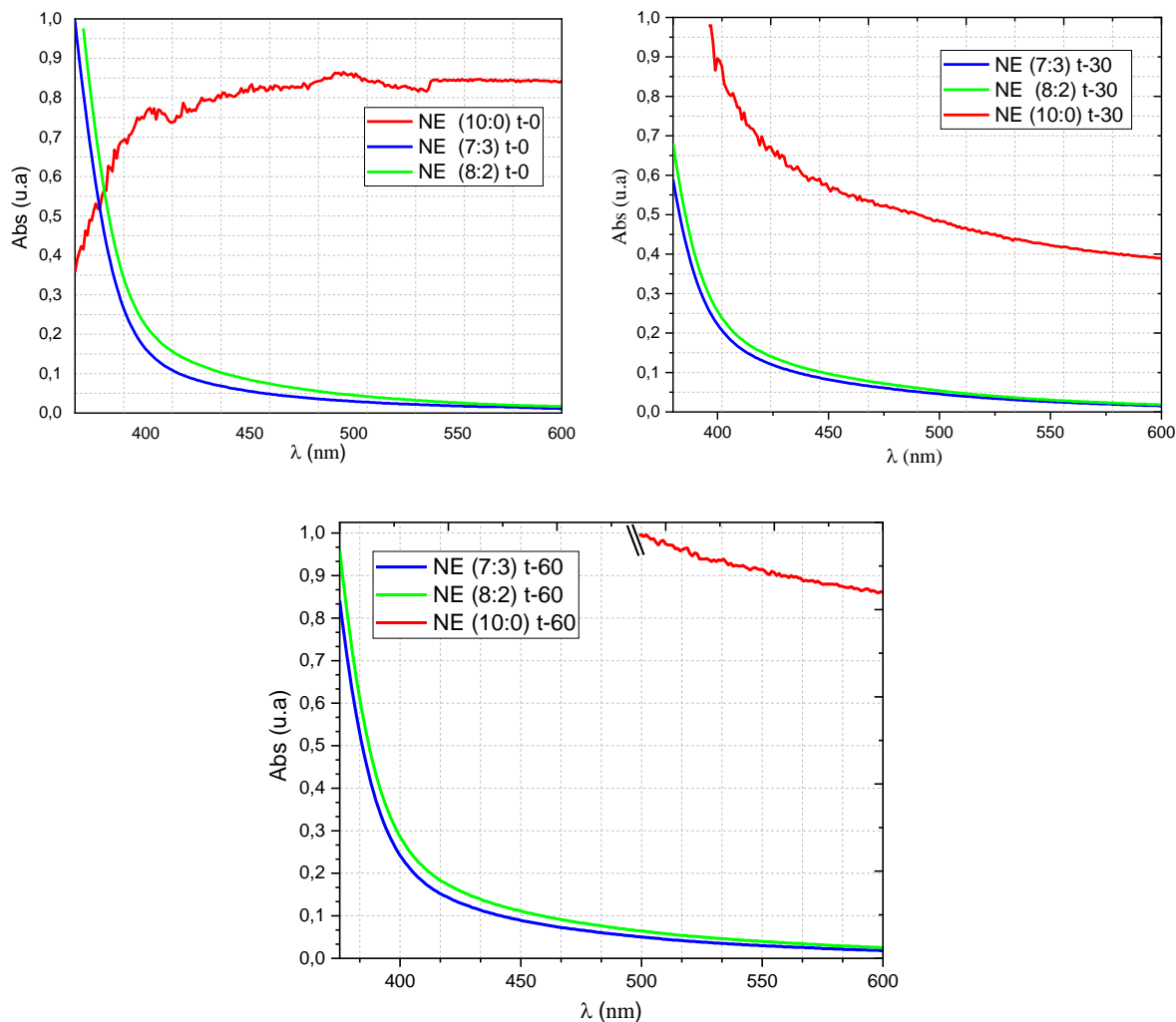
6.2.2 Leituras de absorvância (Abs)

As leituras dos espectros de absorvância para as NEs foram realizadas com o intuito de observar possíveis alterações no comportamento espectral. O Gráfico 3 apresenta os espectros referentes aos tempos de armazenamento (t-0, t-30, t-60) dias.

¹ Considera-se que as pressões extremas na interface das gotículas, reduz o tempo total de um experimento devido às taxas de engrossamento mais rápidas advindo da difusão das gotículas menores que estão sob maiores pressões de Laplace (Mason, *et al.* 2006).

Em t-0, os valores de Abs foram expressivos para região de 300 nm, alcançando um pico máximo a 366 nm com magnitude de 0,996 para a amostra 7:3, com decaimento contínuo conforme avançava para a faixa de 600nm, alcançando um valor mínimo de 0,011.

Gráfico 3 - Espectros de absorvância para as NEs nos tempos (0, 30 e 60) dias.



Fonte: Autor, 2022

Para a mesma amostra, 7:3, as intensidades máximas e mínimas em t-30, geraram valores de magnitude 0,969 contra 0,015, respectivamente. Para a leitura em t-60, os valores encontrados variaram de 0,986 a 0,018, conforme a varredura avançava para a região de 600 nm. A amostra 10:0, apresentou espectros desordenados em intervalos discrepantes de difícil previsão e altamente instáveis, possivelmente pela ausência do inibidor do MO.

Para efeito de comparação, a Tabela 7, traça as estimativas de intensidades mínimas e máximas de valores de Abs para as amostras nos tempos investigados.

Tabela 7 – Valores máximos e mínimos de Abs para os tempos, t-0, t-30 e t-60

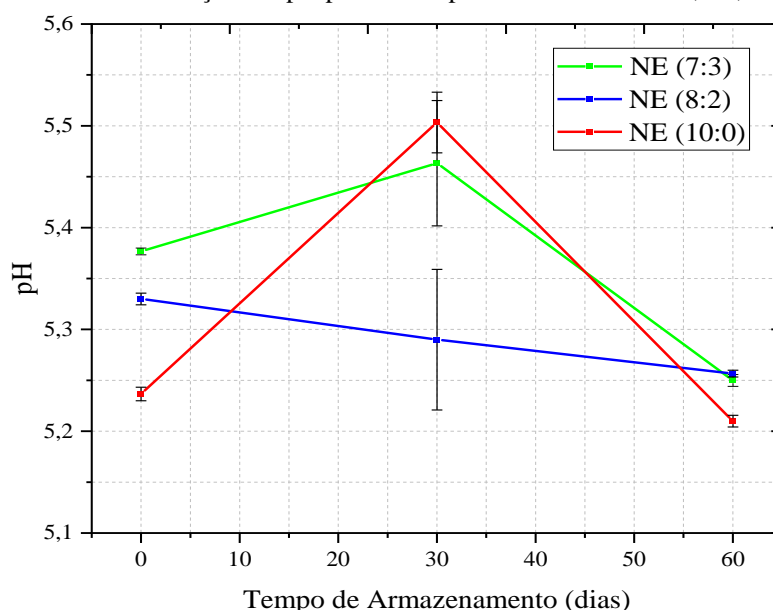
Tempo	t-0		t-30		t-60	
Amostra	Abs Máx/ λ (nm)	Abs mín./ λ (nm)	Abs máx./ λ (nm)	Abs mín./ λ (nm)	Abs máx./ λ (nm)	Abs mín./ λ (nm)
(7:3)	0,996 a 366	0,011 a 600	0,969 a 371	0,015 a 600	0,986 a 372	0,018 a 600
(8:2)	0,976 a 370	0,017 a 600	0,957 a 374	0,018 a 600	0,959 a 375	0,025 a 600
(10:0)	0,863 a 493	0,843 a 600	0,978 a 396	0,389 a 600	0,996 a 500	0,861 a 600

Fonte: Autor, 2022

6.2.3 Medição de pH

As medições do pH demonstraram que não houve alteração significativa das NEs nos tempos de armazenamento t-0, t-30, t-60. Sendo observável para a amostra 8:2, uma média do pH igual a (5,33; 5,29 e 5,25), respectivamente. Para a amostra 7:3, foi observado variações mínimas nos valores médios do pH (5,37; 5,46; 5,25) nos três tempos avaliados. Para a amostra 10:0, os valores do pH para os respectivos tempos foram, (5,23; 5,50; 5,21). O Gráfico 4 confirma os resultados relatados.

Gráfico 4 – Medições de pH para os tempos de armazenamento, t-0, t-30 e t-60.



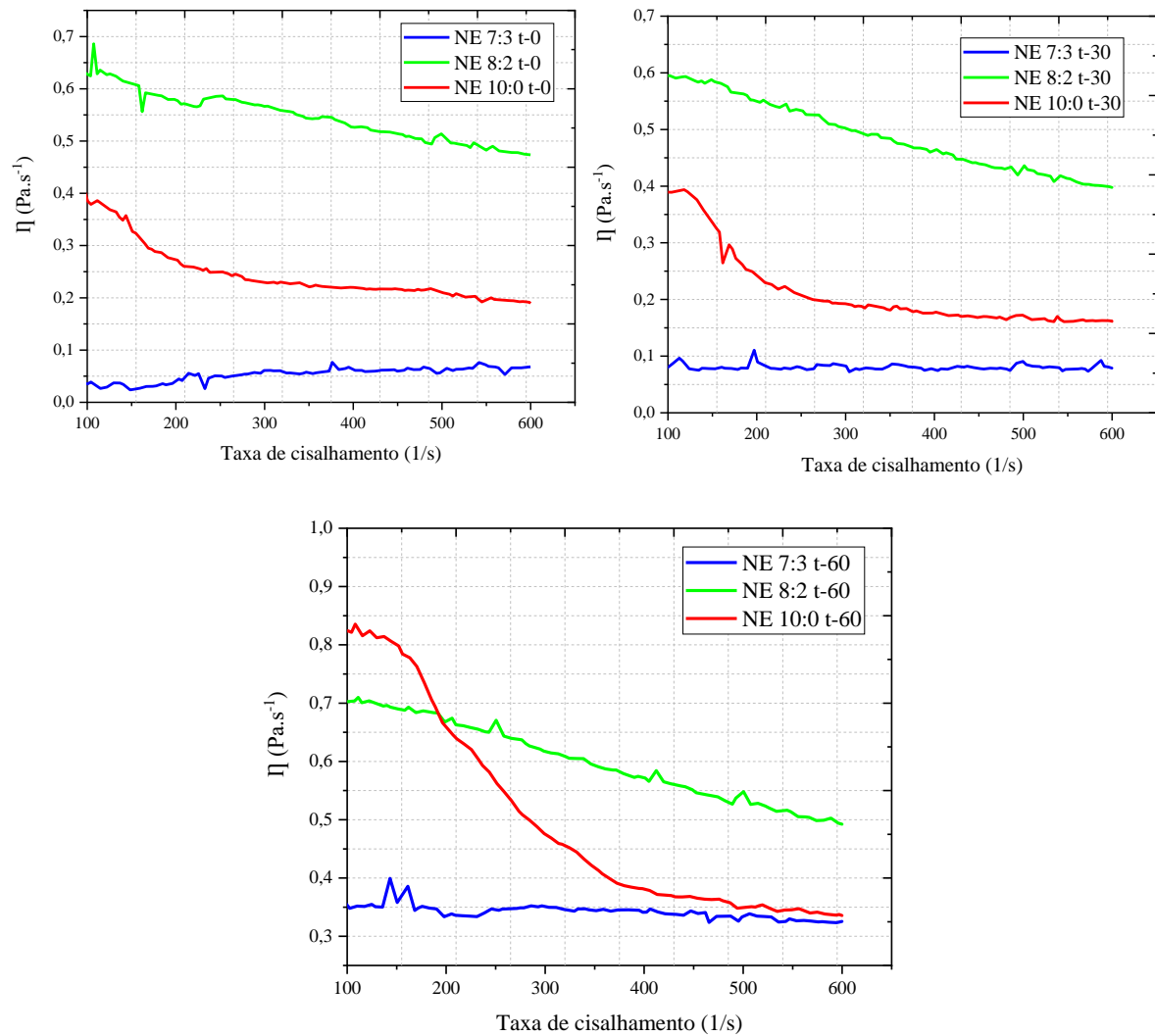
Fonte: Autor, 2022

A elevação do pH observado para as amostras 7:3 e 10:0 em t-30, pode ser atribuído à desprotonação dos grupos (^-OH), que aumenta a conjugação entre dois anéis benzênicos (KUMAR *et al.*, 2022).

6.2.4 Medições viscosidade dinâmica para NE

Os resultados obtidos para a viscosidade das NEs, coletados nos tempos de armazenamento t-0, t-30 e t-60, foram plotados e exibidos no Gráfico 5, respectivamente.

Gráfico 5 – Medições de viscosidade dinâmica nos tempos t-0, t-30 e t-60.



Fonte: Autor, 2022

No tempo t-0, à medida que a taxa de cisalhamento avançava de 100 para 600s^{-1} , é observado um decaimento de viscosidade para a amostra 8:2, variando de 0,63 a $0,47\text{ Pa}\cdot\text{s}^{-1}$, e para 10:0, decaiu de forma mais intensa de 0,38 a $0,18\text{ Pa}\cdot\text{s}^{-1}$. Para a amostra 7:3, na mesma condição cisalhante, é observado uma elevação gradual de viscosidade, quantificada em intervalos de extremidades $0,026$ a $0,076\text{ Pa}\cdot\text{s}^{-1}$.

De forma análoga ao tempo t-0, no tempo t-30, nas mesmas condições relatadas anteriormente, revelou decaimento de viscosidade para as amostras 8:2 e 10:0 quando a taxa cisalhante percorreu de 100 para 600s⁻¹, localizados em intervalos extremos de valores expressos em 0,59 a 0,39 Pa.s⁻¹ e 0,39 a 0,16 Pa.s⁻¹, respectivamente.

Os valores demonstrados para a amostra 7:3 no tempo t-30 oscilaram minimamente a partir da extremidade inferior para a superior da taxa cisalhante (100 para 600s⁻¹) alcançando valores extremos em 0,077 e 0,078 Pa.s⁻¹.

Para t-60 a amostra 7:3 apresentou viscosidade relativamente invariável, quase que constante, com oscilações mínimas localizadas nas extremidades 0,34 e 0,32 Pa.s⁻¹, à medida que avançou de 100 para 600s⁻¹. Para as amostras 8:2 e 10:0, sendo mantida a mesma condição, experimentou uma declinação mais significativa de viscosidade, observada entre 0,70 a 0,49 Pa.s⁻¹ e 0,82 a 0,33 Pa.s⁻¹, respectivamente.

Conforme os resultados elucidados, observam que em cargas oleosas mais elevadas, as amostras 8:2 e 10:0, apresentaram comportamento não newtoniano (pseudoplástico), nos tempos t-0, t-30 e t-60, isto é, a viscosidade diminui com o aumento da taxa cisalhante. Para a amostra 7:3, nas mesmas condições relatadas, os resultados foram inversos, ou seja, à medida que a taxa de cisalhamento aumentava, é observável uma elevação gradual de viscosidade.

Isso fornece a condição de que para cargas oleosas mais baixas, a viscosidade tende à uma estabilidade mais significativa. O que está de acordo com o que foi demonstrado nos estudos de reologia de NEs do tipo óleo em água reportado recentemente (AL-SAKKAF & ONAIZI, 2022).

6.3 Síntese das Ag-NPs

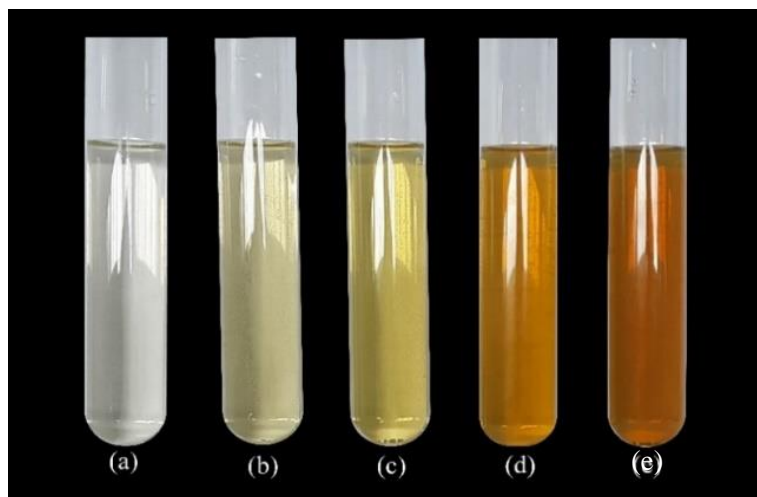
Conforme os resultados elucidados, constatou-se que para a síntese das Ag-NPs, uma condição ideal, estabelecida empiricamente, precisa ser respeitada. Isso envolve a preparação e lavagem criteriosa e esterilização da vidraria, já que qualquer impureza pode servir de sítio de agregação, até à condição ideal para o resfriamento da solução.

Desta forma, a Figura 10, é referente às Ag-NPs após as sínteses, onde é demonstrado vários estágios de agregação² para diferentes condições de preparação. Nessas condições, inclui-se o fornecimento de temperaturas (± 95 a ± 120 °C) e tempos (30 a 45 min a 100 rpm)

² As cores variando de amarelo pálido, Figura 10 (a), (b) e (c) para um tom de laranja mais intenso, (d) e (e), indicam a agregação das NPs suspensas na solução, isto é, uma cor mais intensa para o laranja, sugerem NPs agregadas com tamanhos maiores se comparadas a (a) e (b), uma vez que uma cor mais intensa tendendo para o laranja sugere tamanhos de partículas maiores suspensas na solução.

variantes, sob resfriamento ambiente ou forçado (banho de gelo). Os melhores resultados demonstrados na Figura 10 (a), (b) e (c), sugerem que o fornecimento da temperatura deve ser de até (95-105 °C, ± 2) por um tempo crítico de até (38 min, ± 2) a 100 rpm, sob resfriamento imediato.

Figura 10 – Soluções contendo Ag-NPs em vários estágios de agregação



Fonte: Autor, 2022

Isto é, constatou-se que a agregação das Ag-NPs pode ser induzida pela extrapolação de um tempo crítico (38 min) de exposição à uma temperatura superior a 105 °C na ausência do banho de gelo, mas também pela presença de impurezas, possivelmente em (d) (e). Os melhores resultados foram para aquelas condições expostas em (a) e (b), uma vez que fornece os critérios ópticos exigíveis (amarelo pálido) na identificação de formação das Ag-NPs, bem como foi convencionado em investigações anteriores (NAJAFI-TAHER *et al.*, 2018; KHAN *et al.*, 2019; LIM *et al.*, 2015).

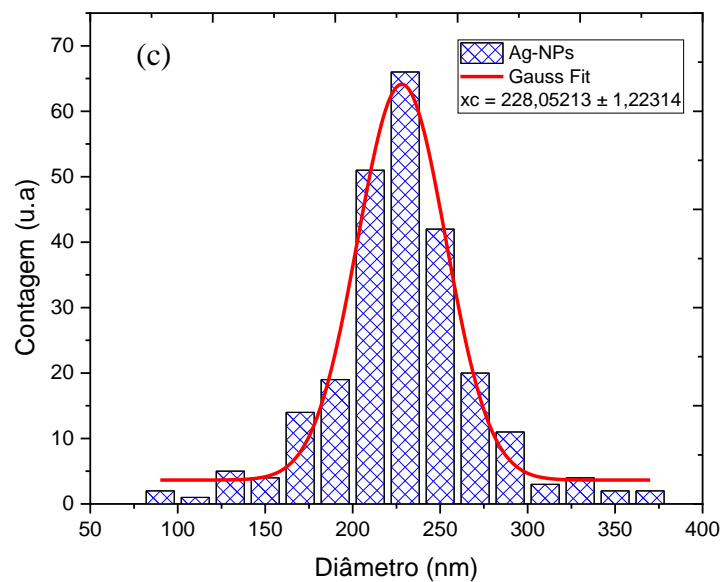
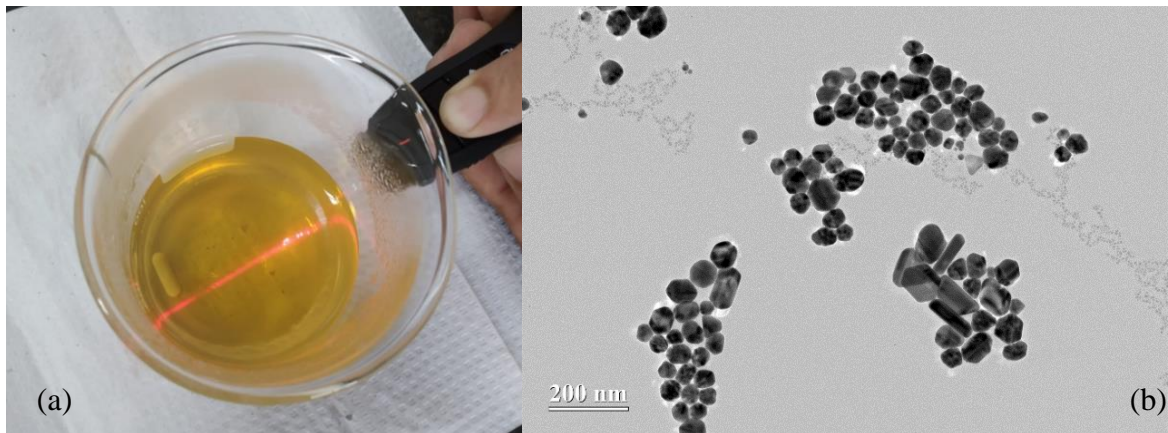
6.3.1 Caracterização das Ag-NPs

6.3.2 Microscopia eletrônica de transmissão

A morfologia das Ag-NPs foi avaliada através da aquisição de imagem de MET. A Figura 11 exibe a imagem de MET para as Ag-NPs (b), assim como a distribuição para os tamanhos de partículas (c).

A Figura 11 - (a) quando um raio de luz é retroprojetado, o efeito Tyndall é observável, isto é, o atravessamento do fecho sem desvio da luz, que é um espalhamento elástico de luz por partículas dispersas em um coloide, o que indica partículas em suspensão na solução, o que pôde ser comprovado pela imagem de MET (b).

Figura 11 - (a) Ag-NPs após a síntese, (b) MET para as Ag-NPs, (c) distribuição de tamanhos de NPs



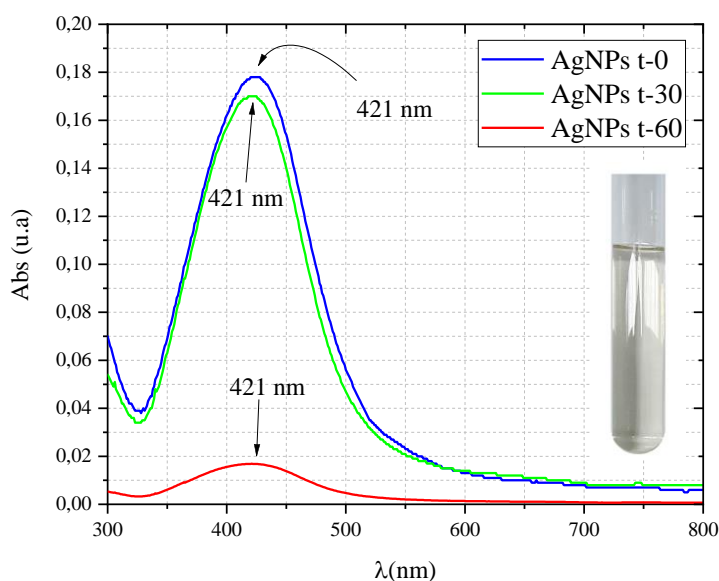
Fonte: Autor, 2022

A Figura 11-(b) confirma que as Ag-NPs estão em dimensões nanométricas e com formato predominantemente esférico, já a Figura 11 - (c) exibe a distribuição de tamanho de partículas para uma região da amostra onde o valor demonstrado para essa região foi igual a 228,05 com desvio $\pm 1,223$. Esses resultados estão de acordo com os observados anteriormente (WU *et al.*, 2018, FENG *et al.*, 2014).

6.3.3 Banda de Ressonância Plasmônica de superfície (BRPS)

O Gráfico 6 apresenta os espectros de absorvância da amostra, após 0, 30 e 60 dias. Foi observado a manutenção do pico característico da intensidade da banda plasmônica das Ag-NPs por volta 420 nm nos tempos t-0, t-30 e t-60 dias.

Gráfico 6– Análise de espectroscopia para as Ag-NPs nos tempos t-0, t-30, t-60



Fonte: Autor

Esses resultados estão em consonância com pesquisas recentes que demonstraram a formação de Ag-NPs correlacionando a banda de ressonância plasmônica (KATTA & DUBEY, 2020; VILAS *et al.*, 2014). Para além disso, NPs com abs máxima de banda ocorrendo em 450 nm para Ag-NPs foi observada em que as Ag-NPs foram sintetizadas a partir de extrato aquoso da *Syzygium aromaticum*, também foram relatados (VINICIUS *et al.*, 2020).

Além disso, ao registrar a formação de Ag-NPs na amostra, as varreduras também revelaram boa estabilidade no armazenamento ao identificar picos (BRPS) poucos espaçados, o que indica um potencial de estabilidade para um tempo de 60 dias, isso porque observa-se que a posição do pico em direção ao comprimento de onda não mudou significativamente. Como não há mudança considerável na posição do pico, o tamanho das NPs também pode ter tido uma estreita distribuição para o tamanho de partícula conforme exibido na imagem de MET anteriormente (PARAMESWARAN *et al.*, 2021).

Constatou-se também que conforme o tempo de armazenamento aumenta, o valor de Abs diminui independentemente do comprimento de onda. Foi convencionado que a agregação de NPs diminuirá a Abs na posição do pico (BRPS), se simultaneamente, o valor de absorção aumentar em outro comprimento de onda (AMENDOLA *et al.*, 2010). Também com agregação ocorrendo na amostra, espera-se que o pico (BRPS) tenha um comportamento mais alargado, isto é, mudança no tamanho dos NPs teria mudado a posição do pico (BRPS) (LEE *et al.*, 2014). Não foi observado nada condizente para as duas situações relatadas, portanto, o processo de agregação pode ser descartado como a razão para a diminuição do valor de absorção (WU *et al.*, 2018).

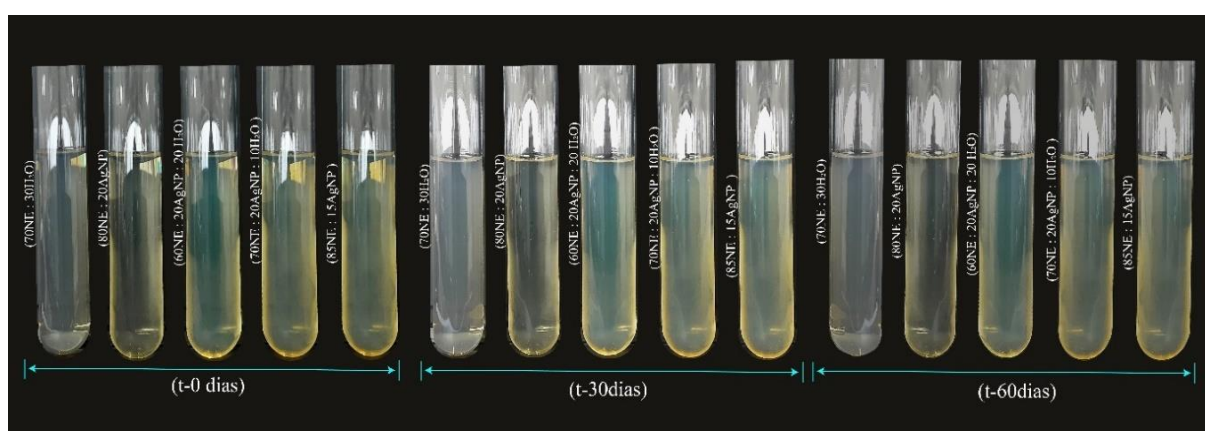
Adicionalmente, podemos ver que a posição de pico (BRPS) quase permanece na mesma posição. Assim, a mudança no tamanho das partículas para a diminuição no valor das absorções também foi descartada. A possível diminuição pode ser devido à diminuição do número de partículas em determinado volume, ou seja, pode ser devido ao assentamento das partículas. Com a diminuição da concentração das partículas, o valor da Abs diminuirá e, portanto, pode ser atribuído ao assentamento das partículas (PARAMESWARAN *et al.*, 2021).

6.4 Caracterização dos Nanofluidos (NF)

6.4.1 Diagnóstico visual para os (NF)

O aspecto visual dos (NF) estão expostos na Figura 12, (da esquerda para à direita): (NE 70 mL:H₂O 30 mL), (NE 80 mL: AGNPs 20 mL), (NE 60 mL:AGNPs 20 mL: H₂O 20 mL), (NE 70 mL: AGNPs 20 mL: H₂O 10 mL) e (NE 85 mL: AGNPs 15mL) avaliadas após a preparação (t-0), decorrido 30 (t-30) e 60 (t-60) dias de armazenamento.

Figura 12 - Aspecto visual para os nanofluidos nos tempos 0, 30 e 60 dias.



Fonte: Autor, 2022

Em vista os resultados, um fluido viscoso foi obtido pela adição das Ag-NPs às NEs com posterior diluição em água. Nota-se que não há uma alteração significativa na cor dos fluidos nos tempos de armazenamento t-0, t-30 e t-60, conforme verificado também para as NEs.

As amostras (NE 85 mL: AGNPs 15mL) e (NE 80 mL: AGNPs 20 mL) tiveram melhores desempenho no armazenamento quanto ao aspecto visual, mantendo a natureza do aspecto até 30 dias de armazenamento com ausência de sedimentação.

Porém, para algumas delas (NE 70mL:H₂O 30mL, NE 60 mL: AGNPs 20 mL: H₂O 20 mL, NE 70 mL: AGNPs 20 mL H₂O 10 mL) foi observado uma rápida sedimentação após

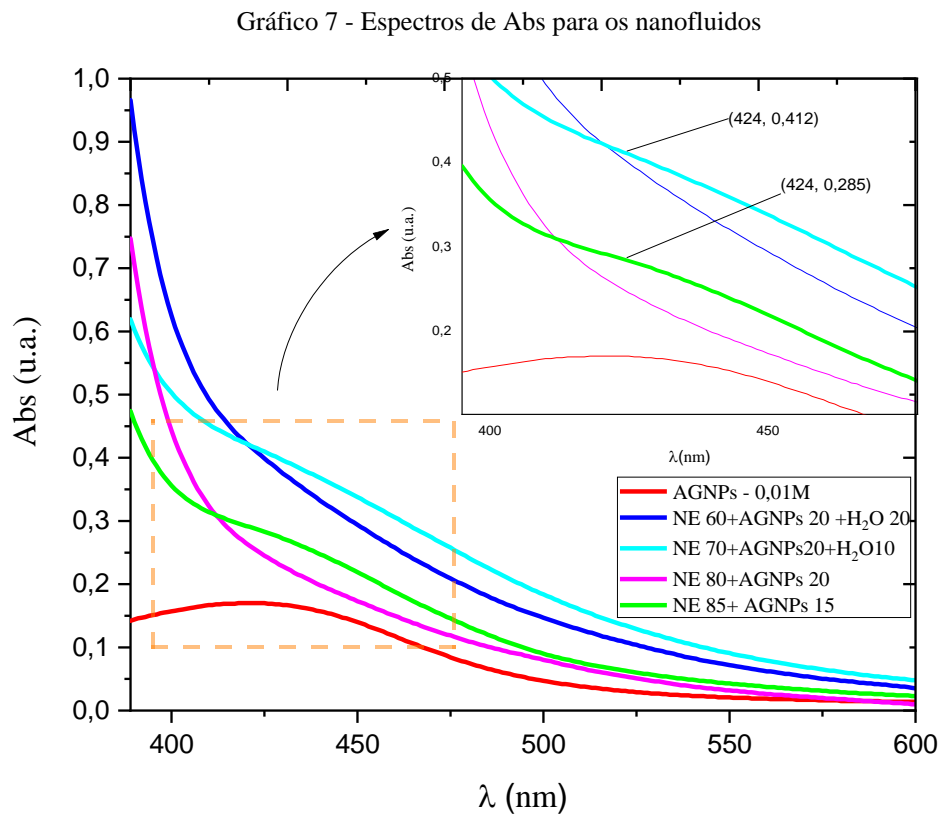
a adição das Ag-NPs às NEs em t-0, tornando-se mais intensa conforme avançou para os tempos t-30 e t-60.

Isso pode ser atribuído à diminuição das interações eletrostáticas entre as gotículas da NE (LIU *et al.*, 2020). Tem sido demonstrado que existe uma repulsão de forças eletrostáticas entre partículas revestidas acima e abaixo do ponto isoelétrico (PI), que impedem a agregação (MCCLEMENTS, 2015). No entanto, no PI, a interação eletrostática é insuficiente para superar a fraca atração de van der Waal e hidrofóbica, resultando em aglomeração de partículas (QIAN, 2012).

Em conformidade com isso, demonstrou-se que as NEs são estáveis à floculação acima e abaixo de PI devido a fortes forças repulsivas eletrostáticas dentro do sistema. Porém, no (PI) ou próximo a ele, as forças repulsivas eletrostáticas são reduzidas e forças atrativas de van der Waal fracas que desencadeiam à sedimentação (SHARMA *et al.*, 2022).

6.4.2 Caracterização dos NF por BRPS e η

O gráfico 7 exibe as leituras dos espectros de absorvância para os nanofluidos no intervalo de 300 a 600 nm para um tempo de armazenamento de 30 dias.

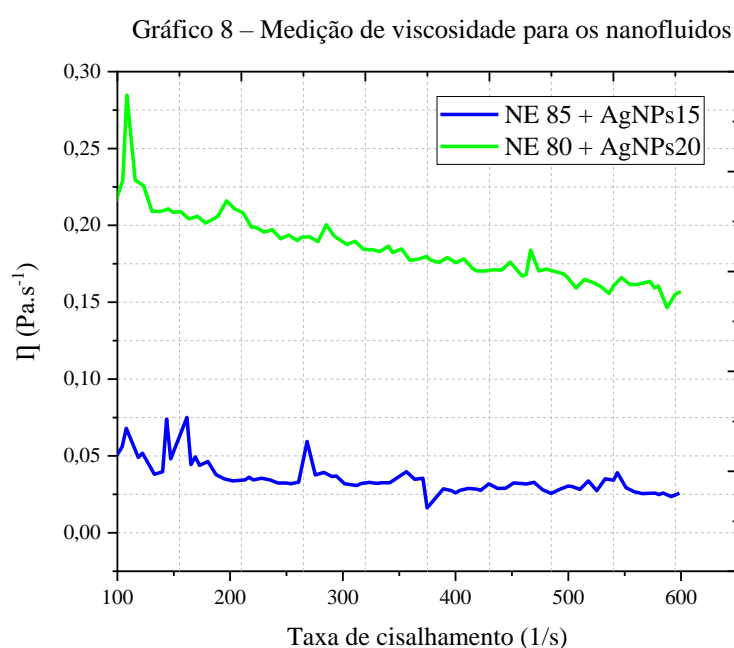


Fonte: Autor, 2022

Pode-se observar que dentre os fluidos preparados, a amostra (NE 85+ Ag-NPs 15) exibiu um pico (BRPS) sinuoso na região de 400-500nm, o que pode indicar que os íons citrato foram adsorvidos de forma eficiente na superfície das Ag-NPs para formar camadas duplas, evitando assim a agregação das Ag-NPs, comprovando a presença de NPs (WU *et al.*, 2018).

Essas descobertas convergem com resultados semelhantes observados em um relatório anterior, Melo *et al.*, (2020), que determinaram através de imagem de MET, que Ag-NPs exibiram morfologia esférica livres de agregação (MELO *et al.*, 2020).

Adicionalmente a isso, no Gráfico 8 é apresentado as leituras de viscosidade para as amostras (NE 85+ Ag-NPs15) e (NE 80+ Ag-NPs20).



Fonte: autor

Para a amostra (NE 80+ Ag-NPs 20), a viscosidade decai com o aumento da taxa de cisalhamento, apresentando um pico de viscosidade máxima em 0,28 Pa.s⁻¹. Já para a amostra (NE 85+ Ag-NPs15) a viscosidade decaiu levemente com a taxa de cisalhamento, com valores relativamente mais baixos, revelando valores variantes com uma resistência máxima a 0,075 Pa.s⁻¹. Isso indica que não houve alteração significativa na viscosidade dos nanofluidos quando comparados com as que foram relatadas para as NEs.

Em virtude disso, em baixas cargas oleosas, os nanofluidos também tendem a uma estabilidade mais significativa, o que indica que para essas nanofórmulas o encapsulamento é mais eficiente. Isso está em consonância com os estudos demonstrativos (WU *et al.*, 2018; VINICIUS *et al.*, 2020).

7 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, foi possível a obtenção de forma satisfatória das NEs do óleo essencial do Cravo-da-índia através do método da emulsificação espontânea.

A análise visual não verificou mudança significativa no aspecto visual das NEs, nos tempos 0, 30 e 60 dias. Sendo observado a manutenção do efeito Tyndall nos três tempos avaliados.

As leituras de transmitância, revelaram uma boa estabilidade das NEs nos três tempos avaliados com um índice reduzido de turbidez no armazenamento. O mesmo comportamento na estabilidade foi observado para os espectros de Absorção para a região 300 a 800 nm.

As medições de pH e viscosidade mostraram variações marginais com avanço do tempo, o que indica a estabilidade das NEs durante o período de tempo analisado.

Além disso, foi possível obter Ag-NPs de forma eficaz, usando como redutor citrato de sódio. O que foi comprovado pelas imagens de MET geradas para as Ag-NPs.

As leituras de Abs detectaram picos característico de banda plasmônica a 421 nm, confirmando a presença de partículas nanométricas. A intensidade de abs reduziu a longo prazo de forma minimizada.

Os nanofluidos obtidos através da associação NEs com as Ag-NPs exibiram estabilidade a curto prazo, porém picos na região de 400 nm foram detectados a médio prazo.

Diante disso, constatou-se que durante o armazenamento, não houve uma influência significativa nas propriedades físico-químicas das NEs e NFs quando submetidos a cargas oleosas mais baixas, o que sugere que para essa condição, a amostra 7:3 apresentou uma estabilidade mais significativa, quando comparada às 8:2 e 10:0.

Os resultados apresentados, as NEs e nanofluidos obtidos nessa pesquisa exibem o potencial de serem utilizados como constituintes de filmes para revestir embalagens resistentes à degradação de alimentos e à proliferação de microrganismos, ou seja, como aplicações antimicrobianas ou antioxidante.

8 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como sugestões futuras, essa pesquisa pretende:

- Identificar os compostos químicos do OEC por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas (CG-MS);
- Caracterizar as NEs através das técnicas experimentais: potencial zeta, Índice de polidispersividade, microscopia eletrônica de transmissão (MET) e espalhamento dinâmico da luz;
- Caracterizar os nanofluidos e as Ag-NPs através das técnicas experimentais: potencial zeta, índice de polidispersividade, microscopia eletrônica de transmissão, espalhamento dinâmico da luz);
- Verificar a ação antimicrobiana *in vitro* das NEs e dos nanofluidos.

ANEXOS 1

Publicações

Artigo publicado em Periódico

Nascimento, D. C. B., Rosa, D. L. S., Soares, E. M., Neves, A. S. S., & Paula, M. V. S. Características mineralógicas e aplicações do minério de ferro oriundo da província mineral de Carajás: uma revisão. *Research, Society and Development*, 11(7), e59811730254, 2022. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i7.30254>.

Nascimento, D. C. B., Rosa, D. L. S., Soares, E. M., & Paula, M.V.S. Chumbo: Extração e aplicações, uma revisão / Lead: Extraction and applications, a review. *Brazilian Journal of Development*, 7(11), 103824–103836, 2021. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n11-145>

Trabalho publicado em anais e eventos

Rosa, D. L. S.; Ribeiro, A. F.; Cândido, V. S.; Paula, M.V.S. **Avaliação das propriedades físicas de nanoemulsões do óleo essencial do cravo-da-índia**. p. 2936-2946. In: 75° Congresso Anual da ABM, São Paulo, 2022. ISSN: 2594-5327, DOI 10.5151/2594-5327-34836.

Dias, C.P.; Rosa, D.L.S.; Souza, G.S.; Franco, A.R.B.; Santos, I.S.; Ribeiro, A.F.; Paula, M.V.S. **Síntese de nanopartículas de prata mediada pelo óleo essencial da espécie *Piper divaricatum***. 15° Congresso Latino Americano de Química, Rio de Janeiro, 2022-AC13-962, 1–6, 2022. Disponível em: https://www.abq.org.br/claq/trabalhos_aceitos_detalhes,962.html.

Araujo, C.F.A.; Vaz Neto, J.S.V.N.; Rosa, D.L.S.R.; Paula, M.V.S.P. **Investigação das características físico-químicas de emulsão do óleo essencial da casca de canela**. 2022-AC12-814, p. 1–4. In: 15° Congresso Latino Americano de Química, Rio de Janeiro, 2022. Disponível em: https://www.abq.org.br/claq/trabalhos_aceitos_detalhes,814.html.

Trabalho apresentado em anais e eventos (Resumo)

Nascimento, G. S. Rosa, D. L. S.; Nascimento, D.C.B.; Soares, E. M; Leite, O. L. **Caracterização Física e tecnológica de Argilas do polo cerâmico de Mojú-PA. (Resumo expandido)** In: II COAMA congresso amazônico de mineração, metalurgia e materiais: ciência, tecnologia e inovação na Amazônia. 10, 11 e 12 de novembro - Marabá – PA. <https://www.eventocoama.com/>

Nascimento, D.C.B.; Rosa, D.L.S.; Ribeiro, D.F.S; Soares, E. M.; Nascimento, G.S.; Leite, O. L; Hildebrando, E. A. **Estudo preliminar do setor cerâmico do município do moju-PA** in: XIX FEICIMM - Feira de Ciências do Município de Moju-PA, ano 2022. Sustentabilidade Amazônica com Inovação Tecnológica, Científica e Cultural: 166 anos de diversidade mojuense. 26 e 27 de agosto de 2022, Moju-PA.

REFERÊNCIA DEFINITIVAS

AL-SAKKAF, M. K., & ONAIZI, S. A. Rheology, characteristics, stability, and pH-responsiveness of biosurfactant-stabilized crude oil/water nanoemulsions. *Fuel*, 307 (August 2021), 121845, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.121845>.

AMENDOLA, V. BAKR, O.M. STELLACCI, F. A study of the surface plasmon resonance of silver nanoparticles by the discrete dipole approximation method: effect of shape, size, structure, and assembly, *Plasmonics* 5 (1) 85–97, 2010.

ABU-YOUSSEF MA, SOLIMAN SM, LANGER V, GOHAR YM, HASANEN A.A., MAKHYOUN MA, et al.. Synthesis, crystal structure, quantum chemical calculations, DNA interactions, and antimicrobial activity of [Ag (2-amino-3-methylpyridine) 2] NO₃ and [Ag (pyridine-2-carboxaldoxime) NO₃]. *Inorg Chem.* ;49(21):9788–97, 2010. <https://doi.org/10.1021/ic100581k>.

ANVISA. NOTA TÉCNICA GVIMS/GGTES/ANVISA N° 05/2021 Orientações para prevenção e controle da disseminação de microrganismos multirresistentes em serviços de saúde no contexto da pandemia da COVID-19, 2021a. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/servicosdesaude/seguranca-do-paciente/covid-19>. Acesso: Março de 2022.

ANVISA. Prevenção de infecções por microrganismos multirresistentes em serviços de saúde. Série Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde, Caderno 10, 2021b. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/manual-prevencao-de-multirresistentes7.pdf>.

ASHA RANI P., LOW KAH MUN G, HANDE MP, VALIYAVEETTIL S. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *ACS Nano.*;3(2):279–90, 2008.

ALMASI, L. R. AMIRI, M. MCCLEMENTS, S. JULIAN, D. Fabrication and characterization of antimicrobial biopolymer films containing essential oil-loaded microemulsions or nanoemulsions. *Food Hydrocolloids*, [s. l.], v. 117, n. March, p. 106733, 2021. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106733>

ALMASI, H.; AZIZI, S.; AMJADI, S. Development and characterization of pectin films activated by nanoemulsion and Pickering emulsion stabilized marjoram (*Origanum majorana* L.) essential oil. *Food Hydrocolloids*, 99(), 105338, 2020. doi:10.1016/j.foodhyd.2019.105338

ACEVEDO-FANI, A. SALVIA-TRUJILLO, L. ROJAS-GRAÜ, M. A. MARTÍN-BELLOSO, O. Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties. *Food Hydrocolloids*, [s. l.], v. 47, p. 168–177, 2015. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.01.032>

ASHRAF, W.; LATIF, A.; LIANFU, Z.; JIAN, Z.; CHENQIANG, W.; REHMAN, A.; KARIM, A. Technological Advancement in the Processing of Lycopene: A Re- view. *Food Reviews International* , 1–27, 2020.

ALEHOSSEINI, E.; JAFARI, S. M. Micro/nano-encapsulated phase change materials (PCMs) as emerging materials for the food industry. *Trends in Food Science and Technology*, [s. l.], v. 91, n. July, p. 116–128, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.07.003>

ADRAR, N. , OUKIL, N. , & BEDJOU, F. Antioxidant and antibacterial activities of *Thymus numidicus* and *Salvia officinalis* essential oils alone or in combination. *Industrial Crops and Products*, 88 , 112–119, 2016.

AMIRI, E. , AMINZARE, M. , AZAR, H. H. , & MEHRASBI, M. R. Combined antioxidant and sensory effects of corn starch films with nanoemulsion of *Zataria multiflora* essential oil fortified with cinnamaldehyde on fresh ground beef patties. *Meat Science*, 2019.

ALI, S.M.; KHAN, A.A.; AHMED, I.; MUSADDIQ, M.; AHMED, K.S.; POLASA, H.; *et al.* Antimicrobial activities of eugenol and cinnamaldehyde against the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*; 4: 20, 2005.

ATSUMI, T.; FUJISAWA, S.; TONOSAKI, K. A comparative study of the antioxidant/prooxidant activities of eugenol and isoeugenol with various concentrations and oxidation conditions. *Toxicol In Vitro*; 19(8): 1025-1033, 2005.

BURT, S.A.; REINDERS, R.D. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Lett Appl Microbiol*; 36(3): 162-167, 2003.

BAMDAD, F.; KADIVAR, M.; KERAMAT, J. Evaluation of phenolic content and antioxidant activity of Iranian caraway in comparison with clove and BHT using model systems and vegetable oil. *Int J Food Sci Technol*; 41(Suppl 1): S20-S27, 2006.

BATIHA, G. E. S.; ALKAZMI, L. M.; WASEF, L. G.; BESHBIHY, A. M.; NADWA, E. H.; RASHWAN, E. K. *Syzygium aromaticum* l. (myrtaceae): Traditional uses, bioactive chemical constituents, pharmacological and toxicological activities. In *Biomolecules* (Vol. 10, Issue 2), 2020. MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/biom10020202>

BALTI, M. A.; HADRICH, B.; KRIAA, K. Lab-scale extraction of essential oils from Tunisian lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*). *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, [s. l.], v. 124, p. 164–173, 2018. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cep.2017.12.012>

BANERJEE, K., MADHYASTHA, H.; SANDUR, R. V.; MANIKANDANATH N, T.; THIAGARAJAN, N.; THIAGARAJAN, P. Anti-inflammatory and wound healing potential of a clove oil emulsion. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, [s. l.], v. 193, n., p. 111102, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111102>

BORA, H.; MADHU K. D.; KUMAR M.; PRAGYA T.; P. KUMAR. Citrus essential oils (CEOs) and their applications in food: An overview. *Plants*, [s. l.], v. 9, n. 3, p. 1–25, 2020. Available at: <https://doi.org/10.3390/plants9030357>

BOATENG, J.; VERGHESE, M.; WALKER, L.T.; OGUTU, S. Effect of processing on antioxidant contents in selected dry beans (*Phaseolus* spp. L.). , 41(9), 0–1547, 2008. doi:10.1016/j.lwt.2007.11.025

- BONDA, A. F., REGIS, L., GIOVANNELLI, L., & SEGALE, L. Alginate/maltodextrin and alginate/shellac gum core-shell capsules for the encapsulation of peppermint essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 162, 1293–1302, 2020.
- CHIESA M, GARG J, KANG YT, CHEN G. Thermal conductivity and viscosity of water-in-oil nanoemulsions. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp.*;326(1–2):67–72, 2008.
- CHAMI, F., CHAMI, N., BENNIS, S., TROUILLAS, J., REMMAL, A. Evaluation of carvacrol and eugenol as prophylaxis and treatment of vaginal candidiasis in an immunosuppressed rat model. *J Antimicrob Chemother*; 54(5): 909-914, 2004.
- CHEN, H., & ZHONG, Q. Physical and antimicrobial properties of self-emulsified nanoemulsions containing three synergistic essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 365, 109557, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109557>
- CUI, H. Y., BAI, M., SUN, Y. H., ABDEL-SAMIE, M. A. S., LIN, L. Antibacterial activity and mechanism of Chuzhou chrysanthemum essential oil. *Journal of Functional Foods*, 48, 159–166, 2018.
- CHOI, S. J.; MCCLEMENTS, D. J. Nanoemulsions as delivery systems for lipophilic nutraceuticals: strategies for improving their formulation, stability, functionality and bioavailability. *Food Science and Biotechnology*, [s. l.], v. 29, n. 2, p. 149–168, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00731-4>
- CORTÉS-ROJAS, D. F., SOUZA, C. R. F., OLIVEIRA, W. P. Clove (*Syzygium aromaticum*): A precious spice. In *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*; (Vol. 4, Issue 2, pp. 90–96, 2014. Asian Pacific Tropical Biomedicine Press. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(14\)60215-X](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60215-X)
- DONG, G. Y., BAI, X. H., AIMILA, A., AISA, H. A., & MAIWULANJIANG, M. Study on lavender essential oil chemical compositions by GC-MS and improved pGC. *Molecules*, 25(14), 3166, 2020.
- DURÁN N, DURÁN M, DE JESUS MB, SEABRA AB, FÁVARO WJ, NAKAZATO G. Silver nanoparticles: a new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity. *Nanomedicine.*;12(3):789–99, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.11.016>.
- DANIEL AN, SARTORETTO SM, SCHIMIDT G, CAPARROZ-ASSEF SM, BERSANI-AMADO CA, CUMAN RK. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of eugenol essential oil in experimental animal models. *Rev Bras Farmacogn*; 19(1B): 212-217, 2009.
- DORMAN H.J., DEANS S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol*; 88(2): 308-316, 2000.
- DOLEŽELOVÁ, P.; MÁCOVÁ, S.; PLHALOVÁ, L.; PIŠTĚKOVÁ, V.; SVOBODOVÁ, Z. The acute toxicity of clove oil to fish *Danio rerio* and *Poecilia reticulata*. *Acta Vet Brno*; 80(3): 305-308, 2011.

- DUDONNÉ, S.; VITRAC, X.; COUTIÈRE, P.; WOILLEZ, M.; MÉRILLON, J.M. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *J Agric Food Chem*; 57(5): 1768-1774, 2009.
- DEVI, K.P.; NISHA, S.A.; SAKTHIVEL, R.; PANDIAN, S.K. Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane. *J Ethnopharmacol*; 130(1): 107-115, 2010.
- DESBOIS, A. P. & SMITH, V. J. Antibacterial free fatty acids: Activities, mechanisms of action and biotechnological potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, [s. l.], v. 85, n. 6, p. 1629–1642, 2010. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2355-3>
- DURÁN, N.; DURÁN, M., DE JESUS M.B., SEABRA A.B., FÁVARO W.J., NAKAZATO G. Silver nanoparticles: a new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity. *Nanomedicine*.12 (3):789–99, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.11.016>.
- DIMA, C., DIMA, S. Essential oils in foods: extraction, stabilization, and toxicity. *Curr. Opin. Food Sci.* 5, 29–35, 2015.
- ESMAEILI, H., CHERAGHI, N., KHANJARI, A., REZAEIGOLESTANI, M., BASTI, A. A., KAMKAR, A., *et al.* Incorporation of nanoencapsulated garlic essential oil into edible films: A novel approach for extending shelf life of vacuum-packed sausages. *Meat Science*, 166, 108135, 2020.
- GARAVAND, F., CACCIOTTI, I., VAHEDIKIA, N., REHMAN, A., TARHAN, Ö., AKBARI-ALAVIJEH, S., SHADDEL, R., RASHIDINEJAD, A., NEJATIAN, M., JAFARZADEH, S., AZIZI-LALABADI, M., KHOSHNOUDI-NIA, S., JAFARI, S. M. A comprehensive review on the nanocomposites loaded with chitosan nanoparticles for food packaging. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62 (5), 1383–1416, 2022. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1843133>
- GARAVAND, F.; CACCIOTTI, I.; VAHEDIKIA, N.; SALARA, A. R.; TARHAN, Ö.; AKBARI-ALAVIJEH, S.; JAFARZADEH, S. A comprehensive review on the nanocomposites loaded with chitosan nanoparticles for food packaging. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–34, 2020.
- GARAVAND, F., RAHAEE, S., VAHEDIKIA, N., & JAFARI, S. M. Different techniques for extraction and micro/nanoencapsulation of saffron bioactive ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 89, 26–44, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.05.005>.
- GITIPOUR A, THIEL SW, SCHECKEL KG, TOLAYMAT, T. Anaerobic toxicity of cationic silver nanoparticles. *Sci Total Environ.* 557:363–8, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.02.190>.
- GHADETAJ, A.; ALMASI, H.; MEHRYAR, L. Development and characterization of whey protein isolate active films containing nanoemulsions of *Grammosciadium pro- carpum* Bioss. essential oil. *Food Packaging and Shelf Life*, 16, 31–40, 2018.
- FRANZOL A, REZENDE MC. Estabilidade de emulsões: um estudo de caso envolvendo emulsionantes aniônico, catiônico e não-iônico. *Polimeros.*; 25:1–9, 2015.

FU, Y.; ZU, Y.; CHEN, L.; SHI, X.; WANG, Z.; SUN, S., *et al.* Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. *Phytother Res*; 21(10): 989-994, 2007.

FILHO GA, CESAR JO, RAMOS JV. [Cravo from India]. Itabuna: CEPLAC; 2013. [Online] disponível em: <http://www.ceplac.gov.br/radar.htm>. Acesso: 21 de abril, 2022.

FENG, J.; SHI, Q.; LI, W.; SHU, X.; CHEN, A.; XIE, X.; HUANG, X. Antimicrobial activity of silver nanoparticles in situ growth on TEMPO-mediated oxidized bacterial cellulose, *Cellulose* 21 4557–4567, 2014.

GUPTA A. Nanoemulsions. In: Chung EJ, Leon L, Rinaldi C. *Nanoparticles for Biomedical Applications: Fundamental Concepts, Biological Interactions and Clinical Applications*. Oxford: Elsevier 1. ed. Inc.; 371–384 p, 2019.

GARG, A. & SINGH, S. Enhancement in antifungal activity of eugenol in immunosuppressed rats through lipid nanocarriers. *Colloids Surf B Biointerfaces*; 87(2): 280-288, 2011.

GÜLÇİN, İ.; ELMASTAŞ, M.; ABOUL-ENEIN, H.Y. Antioxidant activity of clove oil-A powerful antioxidant source. *Arab J Chem*; 5(4): 489-499, 2012.

GÜLÇİNA, İ.; ŞATB, İ.G; BEYDEMİRA, Ş.; ELMASTAŞ M.; KÜFREVİOĞLU, Ö.İ. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food Chem*; 8(3): 393-400, 2004.

GÜLÇİN, İ. Antioxidant activity of eugenol: a structure-activity relationship study. *J Med Food*; 14(9): 975-985, 2011.

GHOSH R, NADIMINTY N, FITZPATRICK JE, ALWORTH WL, SLAGA TJ, KUMAR AP. Eugenol causes melanoma growth suppression through inhibition of E2F1 transcriptional activity. *J Biol Chem*; 280(7): 5812-5819, 2005.

GUÉNETTE SA, ROSS A, MARIER JF, BEAUDRY F, VACHON P. Pharmacokinetics of eugenol and its effects on thermal hypersensitivity in rats. *eur j pharmacol*; 562(1-2): 60-67, 2007.

GITIPOUR A., THIEL S.W., SCHECKEL K.G., TOLAYMAT T. Anaerobic toxicity of cationic silver nanoparticles. *Sci Total Environ.*; 557:363–8, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.02.190>.

GHANI, S., BARZEGAR, H., NOSHAD, M., HOJJATI, M. The preparation, characterization and in vitro application evaluation of soluble soybean polysaccharide films incorporated with cinnamon essential oil nanoemulsions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112, 197–202, 2018 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.145>

HULST, V. V. *Light Scattering by Small Particles* ([edition missing]). Dover Publications, 2012.

HE Q.; GUO, M.; JIN, T. Z; ALI ARABI, S.; LIU, D. Ultrasound improves the decontamination effect of thyme essential oil nanoemulsions against *Escherichia coli* O157: H7 on cherry tomatoes. *International Journal of Food Microbiology*, [s. l.], v. 337, p. 108936, 2021. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108936>

- HOU, K. XU, Y. CEN, K. GAO, C. FENG, X. TANG, X.. Nanoemulsion of cinnamon essential oil Co-emulsified with hydroxypropyl- β -cyclodextrin and Tween-80: Antibacterial activity, stability and slow release performance. *Food Bioscience*, [s. l.], v. 43, n. 3, p. 101232, 2021. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101232>
- HILL, L.E.; GOMES, C.; TAYLOR, T.M. Characterization of betacyclodextrin inclusion complexes containing essential oils (trans-cinnamaldehyde, eugenol, cinnamon bark, and clove bud extracts) for antimicrobial delivery applications. *LWT-Food Sci Technol*; 51(1): 86-93, 2013.
- HUNTER, R.J. *Foundations of Colloid Science, Volume I*. Oxford, UK: Oxford University Press, 1986.
- HALDER S, MEHTA AK, KAR R, MUSTAFA M, MEDIRATTA PK, SHARMA KK. Clove oil reverses learning and memory deficits in scopolaminetreated mice. *Planta Med*; 77(8): 830-834, 2011.
- HEALTHCARE T. *PDR for herbal medicines*. 4th ed. Montvale: Thomson Healthcare; 2004
- JIROVETZ L, BUCHBAUER G, STOILOVA I, STOYANOVA A, KRASTANOV A, SCHMIDT E. Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. *J Agric Food Chem*; 54(17): 6303-6307, 2006.
- JUGREET, B. S., SUROOWAN, S., RENGASAMY, R. R. K., & MAHOMOODALLY, M. F... Chemistry, bioactivities, mode of action and industrial applications of essential oils. *Trends in Food Science and Technology*, [s. l.], v. 101, p. 89–105, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.04.025>
- KHAN, A. Q., KHAN, R., QAMAR, W., LATEEF, A., REHMAN, M. U., TAHIR, M., ALI, F., HAMIZA, O. O., HASAN, S. K., & SULTANA, S. Geraniol attenuates 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-induced oxidative stress and inflammation in mouse skin: Possible role of p38 MAP Kinase and NF- κ B. *Experimental and Molecular Pathology*, 94(3), 419–429, 2013.. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2013.01.006>
- KUMAR, A.; VEMULA, P.K.; AJAYAN, P.M.; JOHN, G. Silver-nanoparticleembedded antimicrobial paints based on vegetable oil. *Nat Mater.*;7(3):236–41, 2008. <https://doi.org/10.1038/nmat2099>.
- KORMA, S. A.; WEI, W.; ALI, A. H.; ABED, S. M.; ZHENG, L.; JIN, Q.; WANG, X.. Spray-dried novel structured lipids enriched with medium-and long-chain triacylglycerols encapsulated with different wall materials: Characterization and stability. *Food Research International*, 116 , 538–547, 2019.
- KATTA, V. K. M., DUBEY, R. S. Green synthesis of silver nanoparticles using *Tagetes erecta* plant and investigation of their structural, optical, chemical and morphological properties. *Materials Today: Proceedings*, 45, 794–798, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.02.809>.
- KUMAR A., VEMULA PK, AJAYAN PM, JOHN G. Silver-nanoparticleembedded antimicrobial paints based on vegetable oil. *Nat Mater.* 7(3):236–41, 2008. <https://doi.org/10.1038/nmat2099>.

KUMAR, R., UPPAL, S., MANSI, K., DAS, J., PANDEY, S. K., KAUR, K., & MEHTA, S. K. Ultrasonication induced synthesis of TPGS stabilized clove oil nanoemulsions and their synergistic effect against breast cancer cells and harmful bacteria. *Journal of Molecular Liquids*, 349, 118130, 2022. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2021.118130>

KUMAR, A., KANWAR, R., & MEHTA, S. K. Development of Phosphatidylcholine/Tween 80 based biocompatible clove oil-in-water nanoemulsion as a green nanocarrier for controlled herbicide delivery. *Environmental Pollution*, 293, 118558, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118558>

KAMATOU GP, VERMAAK I, VILJOEN AM. Eugenol--from the remote Maluku Islands to the international market place: a review of a remarkable and versatile molecule. *Molecules*; 17(6): 6953- 6981, 2012.

KUROKAWA M, HOZUMI T, BASNET P, NAKANO M, KADOTA S, NAMBA T, et al. Purification and characterization of eugenin as an antiherpesvirus compound from *Geum japonicum* and *Syzygium aromaticum*. *J Pharmacol Exp Ther*; 284(2): 728-735, 1998.

KUROKAWA M, NAGASAKA K, HIRABAYASHI T, UYAMA S, SATO H, KAGEYAMA T, et al. Efficacy of traditional herbal medicines in combination with acyclovir against herpes simplex virus type 1 infection in vitro and in vivo. *Antiviral Res*; 27(1-2): 19-37, 1995.

KHAN, I., SAEED, K., & KHAN, I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. In *Arabian Journal of Chemistry*. Vol. 12, Issue 7, pp. 908–931, 2019. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>

LI HY, LEE BK, KIM JS, JUNG SJ, OH SB. Eugenol inhibits ATP-induced P2X currents in trigeminal ganglion neurons. *Korean J Physiol Pharmacol*; 12(6): 315-321, 2008.

LIU, X.; CHEN, L.; KANG, Y.; HE, D.; YANG, B.; WU, K. Cinnamon essential oil nanoemulsions by high-pressure homogenization: Formulation, stability, and antimicrobial activity. *Lwt.*;147:111660, 2021.

LIEW, S. N., UTRA, U., ALIAS, A. K., TAN, T. B., TAN, C. P., & YUSSOF, N. S. Physical, morphological and antibacterial properties of lime essential oil nanoemulsions prepared via spontaneous emulsification method. *Lwt*, [s. l.], v. 128, n., 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109388>

LIU, Z., JIAO, Y., WANG, Y., ZHOU, C., & ZHANG, Z. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. *Advanced drug delivery reviews*, 60 (15), 1650–1662, 2008.

LEE, S.W.; CHANG, S.; LAI, Y.; LIN, C.; TSAI, C.; LEE, Y.; CHEN, J. HUANG, C. Effect of temperature on the growth of silver nanoparticles using plasmon-mediated method under the irradiation of green LEDs, *Materials (Basel)* 7 (12) 7781–7798, 2014.

LIM, Y.H., TIEMANN, K.M., HEO G.S., WAGERS P.O., REZENOM Y.H., ZHANG S., et al. Preparation and in vitro antimicrobial activity of silver-bearing degradable polymeric nanoparticles of polyphosphoester-block-poly (L-lactide). *ACS Nano*. 9(2):1995–2008; 2015. <https://doi.org/10.1021/nn507046h>.

LIU X, CHEN L, KANG Y, HE D, YANG B, WU K. Cinnamon essential oil nanoemulsions by high-pressure homogenization: Formulation, stability, and antimicrobial activity. *Lwt.*;147:111660; 2021.

LIU, C.; WANG, Z.; JIN, H.; WANG, X.; GAO, Y.U.; ZHAO, Q.; XU, J. Effect of enzymolysis and glycosylation on the curcumin nanoemulsions stabilized by b-conglycinin: Formation, stability and in vitro digestion, *Int. J. Biol. Macromol.* 142, 658–667, 2020.

LIM YH, TIEMANN KM, HEO GS, WAGERS PO, REZENOM YH, ZHANG S, et al. Preparation and in vitro antimicrobial activity of silver-bearing degradable polymeric nanoparticles of polyphosphoester-block-poly (L-lactide). *ACS Nano.*;9(2):1995–2008, 2015. <https://doi.org/10.1021/nn507046h>.

MARCOLINO MS, ZIEGELMANN PK, SOUZA-SILVA MVR, *et al.* Clinical characteristics and outcomes of patients hospitalized with COVID-19 in Brazil: Results from the Brazilian COVID-19 registry. *Int J Infect Dis.* 2021;107:300-310. doi:10.1016/j.ijid.2021.01.019

MELO, A. P. Z., DE OLIVEIRA BRISOLA MACIEL, M. V., SGANZERLA, W. G., DA ROSA ALMEIDA, A., DE ARMAS, R. D., MACHADO, M. H., DA ROSA, C. G., NUNES, M. R., BERTOLDI, F. C., & BARRETO, P. L. M. Antibacterial activity, morphology, and physicochemical stability of biosynthesized silver nanoparticles using thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil. *Materials Research Express*, 7(1), 2020. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/ab6c63>

MACIEL, M.V.O.B.; ALMEIDA A.R.; MACHADO, M.H., DE MELOA P Z, DA ROSA C.G; DE FREITAS, D.Z., NORONHA,C.M., TEIXEIRA, G.L., DE ARMAS, R.D.; BARRETO, P.L.M. *Syzygium aromaticum* L. (Clove) Essential Oil as a Reducing Agent for the Green Synthesis of Silver Nanoparticles *Open Journal of Applied Sciences* 9 45–54, 2019.

MUTHAIYAN, A.; MARTIN, E. M.; NATESAN, S.; CRANDALL, P. G.; WILKINSON, B. J.; RICKE, S. C. Antimicrobial effect and mode of action of terpenless cold-pressed valencia orange essential oil on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Applied Microbiology*, 112(5), 1020–1033, 2012.

MITH, H., DURÉ, R., DELCENSERIE, V., ZHIRI, A., DAUBE, G., & CLINQUART, A. Antimicrobial activities of commercial essential oils and their components against food-borne pathogens and food spoilage bacteria. *Food Science & Nutrition*, 2(4), 403–416, 2014.

MOHAMED, S. A. A.; EL-SAKHAWY, M.; EL-SAKHAWY, M. A. M. Polysaccharides, protein and lipid -based natural edible films in food packaging: A review. *Carbohydrate Polymers*, 238, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116178>

MCCLEMENTS, D. J. Nanoscale nutrient delivery systems for food applications: improving bioactive dispersibility, stability, and bioavailability. *Journal of Food Science*, 80 (7), N1602–N1611, 2015.

MONDÉJAR-LÓPEZ M.; RUBIO-MORAGA, A.; LÓPEZ-JIMENEZ, A. J.; MARTÍNEZ, J. C.; AHRAZEM, O.; GÓMEZ, L.; NIZA, E. Chitosan nanoparticles loaded with garlic essential oil: A

new alternative to tebuconazole as seed dressing agent, *Carbohydrate Polymers*, Volume 277, 118815, ISSN 0144-8617, 2022. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2021.118815>.

MAHANTA, B. P.; BORA, P. K.; KEMPRAI, P.; BORAH, G.; LAL, M. HALDAR, S. Thermolabile essential oils, aromas and flavours: Degradation pathways, effect of thermal processing and alteration of sensory quality. *Food Research International*, [s. l.], v. 145, n. January, p. 110404, 2021. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110404>.

MOGHIMI, R.; GHADERI, L.; RAFATI, H.; ALIAHMADI, A.; MCCLEMENTS, D. J. Superior antibacterial activity of nanoemulsion of *Thymus daenensis* essential oil against *E. coli*. *Food Chemistry*, [s. l.], v. 194, p. 410–415, 2016. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.139>

MEHDIZADEH, L. & MOGHADDAM, M. Essential Oils: Biological Activity and Therapeutic Potential. In *Therapeutic, Probiotic, and Unconventional Foods*. Elsevier, 2018. Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814625-5.00010-8>

MASON, T. G., WILKING, J. N., MELESON, K., CHANG, C. B., & GRAVES, S. M. Nanoemulsions: Formation, structure, and physical properties. *Journal of Physics Condensed Matter*, 18(41), 2006. <https://doi.org/10.1088/0953-8984/18/41/R01>

MCCLEMENTS, D.J. *Food emulsions: principles, practices, and Techniques*, CRC press, 2015.

MOSTAFA, D. M., Abd El-Alim, S. H.; Kassem, A. A.. Nanoemulsions: A New Approach for Enhancing Phytonutrient Efficacy. In *Nanotechnology Applications in Food: Flavor, Stability, Nutrition and Safety* (pp. 107–127), 2017. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811942-6.00006-6>

MEHTA K.D., GARG G.R., MEHTA A.K., ARORA T., SHARMA A.K., KHANNA N., et al. Reversal of propoxur-induced impairment of memory and oxidative stress by 4'-chlorodiazepam in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*; 381(1): 1-10, 2010.

MASON T.G., WILKING J.N., MELESON K., CHANG C.B., GRAVES S.M. Nanoemulsions: Formation, structure, and physical properties. *J Phys Condens Matter*.;18(41), 2006.

MONZOTE, L., GEROLDINGER, G., TONNER, M., SCULL, R., DE SARKAR, S., BERGMANN, S., BACHER, M., STANIEK, K., CHATTERJEE, M., ROSENAU, T., & GILLE, L. Interaction of ascaridole, carvacrol, and caryophyllene oxide from essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. with mitochondria in *Leishmania* and other eukaryotes. *Phytotherapy Research*, 32(9), 1729–1740, 2018. <https://doi.org/10.1002/ptr.6097>

NEVEU, V., PEREZ-JIMÉNEZ, J., VOS, F., CRESPIY, V., DU CHAFFAUT, L., MENNEN, L., KNOX, C., EISNER, R., CRUZ, J., WISHART, D., & SCALBERT, A. Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods. *Database: The Journal of Biological Databases and Curation*, 2010. <https://doi.org/10.1093/database/bap024>

NOTA TÉCNICA GVIMS/GGTES/ANVISA Nº 05/2021. Guia De Vigilância. Orientações para prevenção e controle da disseminação de microrganismos multirresistentes em serviços de saúde no contexto da pandemia da COVID-19. Ministério Da Saúde, 1–37, 2021.

NAM H., KIM M.M. Eugenol with antioxidant activity inhibits MMP-9 related to metastasis in human fibrosarcoma cells. *Food Chem Toxicol*; 55: 106-112, 2013.

NAJAFI-TAHER, R.; GHAEMI, B.; KHARAZI, S., RASOULIKOOHI, S.; AMANI, A. Promising Antibacterial Effects of Silver Nanoparticle-Loaded Tea Tree Oil Nanoemulsion: a Synergistic Combination Against Resistance Threat. *AAPS PharmSciTech*.;19(3):1133–40, 2018.

NAZEM, V., SABZALIAN, M. R., SAEIDI, G., & RAHIMMALEK, M. Essential oil yield and composition and secondary metabolites in self- and open-pollinated populations of mint (*Mentha* spp.). *Industrial Crops and Products*, [s. l.], v. 130, n. December, p. 332–340, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.018>

NI, Z. J., WANG, X., SHEN, Y., THAKUR, K., HAN, J., ZHANG, J. G., HU, F., & WEI, Z. J. Recent updates on the chemistry, bioactivities, mode of action, and industrial applications of plant essential oils. *Trends in Food Science and Technology*, [s. l.], v. 110, n. February, p. 78–89, 2021. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.070>

NOTA TÉCNICA GVIMS/GGTES/ANVISA Nº 05/2021. Guia De Vigilância. Orientações para prevenção e controle da disseminação de microrganismos multirresistentes em serviços de saúde no contexto da pandemia da COVID-19. Ministério Da Saúde, 1–37, (2021).

NAJAFI-TAHER, R., GHAEMI, B., KHARAZI, S., RASOULIKOOHI, S., & AMANI, A.. Promising Antibacterial Effects of Silver Nanoparticle-Loaded Tea Tree Oil Nanoemulsion: a Synergistic Combination Against Resistance Threat. *AAPS PharmSciTech*, 19(3), 1133–1140 (2018). <https://doi.org/10.1208/s12249-017-0922-y>.

OPAS. OMS publica lista de bactérias para as quais se necessitam novos antibióticos urgentemente - *OPAS_OMS* _ Organização Pan-Americana da Saúde. (n.d.),2017. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/27-2-2017-oms-publica-lista-bacterias-para-quais-se-necessitam-novos-antibioticos>. Acesso: 27 de Novembro, 2022.

OLIVEIRA RA, OLIVEIRA FF, SACRAMENTO CK. Essential oils: prospects for agribusiness spices in Bahia]. *Bahia Agric*; 8(1): 46-48, 2007.

OLIVEIRA RA, REIS TV, SACRAMENTO CK, DUARTE LP, OLIVEIRA FF. Volatile chemical constituents of rich spices in eugenol. *Rev Bras Farmacognosia*; 19(3): 771-775, 2009.

OHKUBO T, SHIBATA M. The selective capsaicin antagonist capsazepine abolishes the antinociceptive action of eugenol and guaiacol. *J Dent Res*; 76(4): 848-851, 1997.

OSMAN, A., MAHGOUB, S.A.M., WAHDAN, K.M.M., RAMADAN, M.F. Antimicrobial and antioxidant influence of *Syzygium aromaticum* oil supplementation on minced beef quality during cold storage. *J. Food Saf. Food Qual.* 2019; 70:31-56. doi:10.2376/0003-925X-70-40.

PÉREZ-CONESA, D.; MCLANDSBOROUGH, L.; WEISS, J. Inhibition and inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 colony biofilms by micellar-encapsulated eugenol and carvacrol. *J Food Prot*; 69(12): 2947-2954, 2006.

- PÉREZ-JIMÉNEZ J., NEVEU V., VOS F., SCALBERT A. Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols: an application of the phenol-explorer database. *Eur J Clin Nutr*; 64(Suppl 3): S112-S120, 2010.
- PARK, M.J., GWAK, K.S., YANG, I., CHOI, W.S., JO, H.J., CHANG, J.W., *et al.* Antifungal activities of the essential oils in *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et Perry and *Leptospermum petersonii* Bailey and their constituents against various dermatophytes. *J Microbiol*; 45(5): 460-465, 2007.
- PERUMAL, A. B., LI, X., SU, Z., HE, Y. Preparation and characterization of a novel green tea essential oil nanoemulsion and its antifungal mechanism of action against *Magnaporthe oryzae*. *Ultrasonics Sonochemistry*, [s. l.], v. 76, p. 105649, 2021. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105649>
- PARAMESWARAN, S., KARTHICKEYAN, D., & VENUGOPAL, T. Effect of temperature on green synthesized silver nanoparticles using water and methanol. *Materials Today: Proceedings*, 45, 5506–5510. (2021). <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.02.232>
- PANDEY, S., GIRI, V. P., TRIPATHI, A., KUMARI, M., NARAYAN, S., BHATTACHARYA, A., SRIVASTAVA, S., & MISHRA, A. Early blight disease management by herbal nanoemulsion in *Solanum lycopersicum* with bio-protective manner. *Industrial Crops and Products*, 150, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112421>
- PÉREZ-CÓRDOBA, LUIS J.; NORTON, IAN T.; BATCHELOR, HANNAH K.; GKATZIONIS, KONSTANTINOS; SPYROPOULOS, FOTIOS; SOBRAL, PAULO J.A. Physico-chemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatin-chitosan based films loaded with nanoemulsions encapsulating active compounds. *Food Hydrocolloids*, S0268005X17317228, 2017. doi:10.1016/j.foodhyd.2017.12.012
- QIAN, C. DECKER, E.A. XIAO, H., MCCLEMENTS, D.J. Physical and chemical stability of β -carotene-enriched nanoemulsions: influence of pH, ionic strength, temperature, and emulsifier type, *Food Chem.* 132, 1221–1229; (2012).
- SALVIA-TRUJILLO, L., SOLIVA-FORTUNY, R., ROJAS-GRAÜ, M. A., MCCLEMENTS, D. J., & MARTÍN-BELLOSO, O. Edible Nanoemulsions as Carriers of Active Ingredients: A Review, 2017. In *Annual Review of Food Science and Technology* (Vol. 8, pp. 439–466). Annual Reviews Inc. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030216-025908>
- SEDAGHAT DOOST, A., NIKBAKHT NASRABADI, M., KASSOZI, V., NAKISOZI, H., & VAN DER MEEREN, P. Recent advances in food colloidal delivery systems for essential oils and their main components. In *Trends in Food Science and Technology*. Vol. 99, pp. 474–486, 2020. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.037>
- SAMPATH, J. Nanoemulsions: The rising star of antiviral therapeutics and nanodelivery system—current status and prospects. [s. l.], n. (2020).
- REHMAN, A., JAFARI, S. M., TONG, Q., KARIM, A., MAHDI, A. A., IQBAL, M. W. MANZOOR, M. F. Role of peppermint oil in improving the oxidative stability and antioxidant capacity

of borage seed oil-loaded nanoemulsions fabricated by modified starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020.

REHMAN, A., QUNYI, T., SHARIF, H. R., KORMA, S. A., KARIM, A., MANZOOR, M. F., MEHMOOD, A., IQBAL, M. W., RAZA, H., ALI, A., MEHMOOD, T. Biopolymer based nanoemulsion delivery system: An effective approach to boost the antioxidant potential of essential oil in food products. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, [s. l.], v. 2, n. April, p. 100082, 2021. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2021.100082>

REHMAN, A. , AHMAD, T. , AADIL, R. M. , SPOTTI, M. J. , BAKRY, A. M. , KHAN, I. M. TONG, Q. Pectin polymers as wall materials for the nano-encapsulation of bioactive compounds. *Trends in Food Science & Technology*, 2019a.

REHMAN, A. , TONG, Q. , JAFARI, S. M. , ASSADPOUR, E. , SHEHZAD, Q. , AADIL, R. M. ASHRAF, W. Carotenoid-loaded nanocarriers: A comprehensive review. *Advances in Colloid and Interface Science* , Article 102048, 2019b.

REHMAN, A.; JAFARI, S.M.; TONG, Q.; RIAZ, T.; ASSADPOUR, E.; AADIL, R. M.; ALI, A. Drug nanodelivery systems based on natural polysaccharides against different diseases. *Advances in Colloid and Interface Science* , Article 102251, 2020a.

REHMAN M., ALAJMI M.F., HUSSAIN A. Natural compounds as inhibitors of SARS-CoV-2 main protease (3CLpro): a molecular docking and simulation approach to combat COVID-19. *Curr. Pharm. Des.*; 16:3577-3589, 2020b.

RASHIDINEJAD, A.; BAHRAMI, A.; REHMAN, A.; REZAEI, A.; BABAZADEH, A.; SINGH, H.; JAFARI, S. M. Co-encapsulation of probiotics with prebiotics and their application in functional/synbiotic dairy products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* , 1–25, 2020.

RASHED, M. M. A.; GHALEB, A. D. S.; LI, J., AL-HASHEDI, S. A.; REHMAN, A.. Functional-characteristics of *Zanthoxylum schinifolium* (Siebold & Zucc.) essential oil nanoparticles. *Industrial Crops and Products*, 161, 113192, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113192>

ROOHINEJAD, S. & GREINER, R. Nanoscience: Relevance for Agriculture and the Food Sector. *Nanotechnology in Agriculture and Food Science* , 15, 2017.

RAMSTEDT M, CHENG N, AZZARONI O, MOSSIALOS D, MATHIEU HJ, HUCK WT. Synthesis and characterization of poly (3- sulfopropylmethacrylate) brushes for potential antibacterial applications. *Langmuir*.;23(6):3314–21, 2007. <https://doi.org/10.1021/la062670+>.

RANA, I.S.; RANA, A.S.; RAJAK, R.C. Evaluation of antifungal activity in essential oil of the *Syzygium aromaticum* (L.) by extraction, purification and analysis of its main component eugenol. *Braz J Microbiol*; 42(4): 1269-1277, 2011.

SUNDARARAJAN, B.; MOOLA, A. K.; VIVEK, K.; KUMARI, B. D. R. Formulation of nanoemulsion from leaves essential oil of *Ocimum basilicum* L. and its antibacterial, antioxidant and larvicidal activities (*Culex quinquefasciatus*). [S. l.]: Elsevier Ltd, ISSN 10961208.v. 125, 2018. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.10.017>

SHANMUGAPRIYA, K.; KIM, H.; KANG, H. W. A new alternative insight of nanoemulsion conjugated with κ -carrageenan for wound healing study in diabetic mice: In vitro and in vivo

evaluation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, [s. l.], v. 133, n. March, p. 236–250, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.04.006>

SUBRAMANYA, S.H., CZYŻ, D.M., ACHARYA, K.P. *et al.* The potential impact of the COVID-19 pandemic on antimicrobial resistance and antibiotic stewardship. *VirusDis*. 2021.

SHARMA, M., MANN, B., POTHURAJU, R., SHARMA, R., & KUMAR, R. Physico-chemical characterization of ultrasound assisted clove oil-loaded nanoemulsion: As enhanced antimicrobial potential. *Biotechnology Reports*, 34-(February). 00720, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2022.e00720>

SHARMA, S., BARKAUSKAITE, S., JAISWAL, A. K., JAISWAL, S.. Essential oils as additives in active food packaging. In *Food Chemistry* (Vol. 343), 2021. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128403>

SALEEM, H.N.; BATOOL, F.; MANSOOR, H.J.; SHAHZAD-UL-HUSSAN, S.; SAEED, M. Inhibition of dengue virus protease by eugenin, isobiflorin, and biflorin isolated from the flower buds of *Syzygium aromaticum* (cloves). *ACS Omega*.; 4:1525-1533, 2019.

SAEED, M.; KHAN, M.S.; ALAGAWANY, M.; FARAG, M.R.; ALQAISS, O.; AQIB A.I., QUMAR M.; SIDDIQUE F.; RAMADAN, M.F. Clove (*Syzygium aromaticum*) and its phytochemicals in ruminant feed: an updated review. *Rend. Lincei Sci. Fis. Nat.*; 32:273-285, 2021.

SATTARY, M.; AMINI, J.; HALLAJ, R. Antifungal activity of the lemongrass and clove oil encapsulated in mesoporous silica nanoparticles against wheat's take-all disease. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, [s. l.], v. 170, n. August, p. 104696, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104696>

SONG, R.; LIN, Y.; LI, Z. Ultrasonic-assisted preparation of eucalyptus oil nanoemulsion: Process optimization, in vitro digestive stability, and anti-*Escherichia coli* activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, [s. l.], v. 82, 2022. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105904>

SUGUMAR, S.; GHOSH, V.; NIRMALA, M. J.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N. Ultrasonic emulsification of eucalyptus oil nanoemulsion: Antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and wound healing activity in Wistar rats. *Ultrasonics Sonochemistry*, [s. l.], v. 21, n. 3, p. 1044–1049, 2014. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.10.021>

SUGUMAR, S.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N.. Nanoemulsion formation and characterization by spontaneous emulsification: Investigation of its antibacterial effects on *Listeria monocytogenes*. *Asian Journal of Pharmaceutics*, 9(1), 23–28, 2015. <https://doi.org/10.4103/0973-8398.150033>

SAID, Z. B.O.S.; HADDADI-GUEMGHAR, H.; BOULEKBACHE-MAKHLOUF, L.; RIGOU, P.; REMINI, H.; ADJAOU, A.; MADANI, K. Essential oils composition, antibacterial and antioxidant activities of hydrodistilled extract of *Eucalyptus globulus* fruits. *Industrial Crops and Products*, 89, 167–175, 2016.

SHEN, Y., NI, Z. J., THAKUR, K., ZHANG, J. G., HU, F., & WEI, Z. J. Preparation and characterization of clove essential oil loaded nanoemulsion and pickering emulsion activated

pullulan-gelatin based edible film. *International Journal of Biological Macromolecules*, 181, 528–539, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.03.133>

SYED, I., BANERJEE, P., & SARKAR, P. Oil-in-water emulsions of geraniol and carvacrol improve the antibacterial activity of these compounds on raw goat meat surface during extended storage at 4 °C. *Food Control*, 107, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106757>

SIMIONATO, I., DOMINGUES, F. C., NERÍN, C., & SILVA, F. Encapsulation of cinnamon oil in cyclodextrin nanospheres and their potential use for antimicrobial food packaging. *Food and Chemical Toxicology*, 132, 110647, 2019.

SATYAL, P., & SETZER, W. N. Chemical compositions of commercial essential oils from *Coriandrum sativum* fruits and aerial parts. *Natural Product Communications*, 15 (7), 2020. <https://doi.org/10.1177/1934578X20933067>

TONYALI, B., MCDANIEL, A., AMAMCHARLA, J., TRINETTA, V., & YUCEL, U. Release kinetics of cinnamaldehyde, eugenol, and thymol from sustainable and biodegradable active packaging films. *Food Packaging and Shelf Life*, 24, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100484>

TU, X. F., HU, F., THAKUR, K., LI, X. L., ZHANG, Y. S., & WEI, Z. J. Comparison of antibacterial effects and fumigant toxicity of essential oils extracted from different plants. *Industrial Crops and Products*, 124, 192–200, 2018.

SOFIA, P.K.; PRASAD, R.; VIJAY, V.K.; SRIVASTAVA, A.K. Evaluation of antibacterial activity of Indian spices against common foodborne pathogens. *Int J Food Sci Technol*; 42(8): 910-915, 2007.

SLAMENOVÁ, D.; HORVÁTHOVÁ, E.; WSÓLOVÁ, L.; SRAMKOVÁ, M.; NAVAROVÁ, J. Investigation of anti-oxidative, cytotoxic, DNA-damaging and DNA-protective effects of plant volatiles eugenol and borneol in human-derived HepG2, Caco-2 and VH10 cell lines. *Mutat Res*; 677(1-2): 46-52, 2009.

SHAN, B.; CAI Y.Z., SUN M., CORKE H. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *J Agric Food Chem*; 53(20): 7749-7759, 2005.

VINICIUS, M., BRISOLA, D. O., ALMEIDA, R., HECK, M. *et al.* Biocatalysis and Agricultural Biotechnology Green synthesis, characteristics and antimicrobial activity of silver nanoparticles mediated by essential oils as reducing agents. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 28(July), 101746, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101746>

VILAS, V., PHILIP, D., MATHEW, J. Catalytically and biologically active silver nanoparticles synthesized using essential oil. *Spectrochim. Acta* 132, 743–750, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.05.046>

WANG, X., LIU, L., XIA, S., MUHOZA, B., CAI, J., ZHANG, X., Duhoranimana, E., & Su, J. Sodium carboxymethyl cellulose modulates the stability of cinnamaldehyde-loaded liposomes at high ionic strength. *Food Hydrocolloids*, 93, 10–18, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.02.004>

WANG, L. Q., HU, W., DENG, J., LIU, X., ZHOU, J., & LI, X. Z. Antibacterial activity of Litsea cubeba essential oil and its mechanism against Botrytis cinerea. *RSC Advances*, 9(50), 28987–28995, 2019.

WU, Y., YANG, Y., ZHANG, Z., WANG, Z., ZHAO, Y., & SUN, L. A facile method to prepare size-tunable silver nanoparticles and its antibacterial mechanism. *Advanced Powder Technology*, 29(2), 407–415, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.appt.2017.11.028>

XU, J. G., LIU, T., HU, Q. P., CAO, X. M. Chemical composition, antibacterial properties and mechanism of action of essential oil from clove buds against staphylococcus aureus. *Molecules*, 21(9), 2016. <https://doi.org/10.3390/molecules21091194>

YUAN, C., WANG, Y., LIU, Y., & CUI, B. Physicochemical characterization and antibacterial activity assessment of lavender essential oil encapsulated in hydroxypropyl- beta-cyclodextrin. *Industrial Crops and Products*, 130, 104–110, 2019.

YAZGAN H. Investigation of antimicrobial properties of sage essential oil and its nanoemulsion as antimicrobial agent. *Lwt.*;130:1–7, 2020.

YI, F., SUN, J., BAO, X., MA, B., & SUN, M. Influence of molecular distillation on antioxidant and antimicrobial activities of rose essential oils. *Lwt*, [s. l.], v. 102, p. 310–316, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.051>

ZHANG, J.; PEPPARD, T. L.; REINECCIUS, G. A. Preparation and characterization of nanoemulsions stabilized by food biopolymers using microfluidization. *Flavour and Fragrance Journal*, [s. l.], v. 30, n. 4, p. 288–294, 2015. Available at: <https://doi.org/10.1002/ffj.3244>

ZHANG, Y. B.; LIU, X. Y.; WANG, Y. F.; JIANG, P. P.; QUEK, S. Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against Escherichia coli and Staphylococcus aureus. *Food Control*, 59, 282–289, 2016.

ZHANG, C., ZHAO, J., FAMOUS, E., PAN, S., PENG, X., & TIAN, J. Antioxidant, hepatoprotective and antifungal activities of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil. *Food Chemistry*, [s. l.], v. 346, p. 128845, 2021. Available at: 128845