

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NANOCIÊNCIA E MATERIAIS
AVANÇADOS

Alana Gabrieli de Souza

Pickering emulsions: um novo conceito de soluções antimicrobianas

Santo André - SP

2022

Alana Gabrieli de Souza

Pickering emulsions: um novo conceito de soluções antimicrobianas

Pickering emulsions: a new concept in antimicrobial solutions

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nanociências e Materiais Avançados da Universidade Federal do ABC como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Nanociências e Materiais Avançados.

Orientador: Prof. Dr. Derval dos Santos Rosa

Santo André – SP

2022

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do ABC
Elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFABC
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Souza, Alana Gabrieli

Pickering emulsions : um novo conceito de soluções antimicrobianas
/ Alana Gabrieli Souza. — 2022.

207 fls. : il.

Orientador: Derval dos Santos Rosa

Tese (Doutorado) — Universidade Federal do ABC, Programa de
Pós-Graduação em Nanociências e Materiais Avançados, Santo
André, 2022.

1. Óleos essenciais. 2. Estabilização. 3. Nanocelulose. 4.
Atividade antimicrobiana. 5. Biopolímero. I. Rosa, Derval dos Santos.
II. Programa de Pós-Graduação em Nanociências e Materiais
Avançados, 2022. III. Título.

Este exemplar foi revisado e alterado em relação à versão original, de acordo com as observações levantadas pela banca examinadora no dia da defesa, sob responsabilidade única do(a) autor(a) e com a anuência do(a) (co)orientador(a).

Santo André , 01 de outubro de 2022 .

Alana J. de Souza

Nome completo e Assinatura do(a) autor(a)

Documento assinado digitalmente



DERVAL DOS SANTOS ROSA

Data: 05/10/2022 21:32:49-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>

Nome completo e Assinatura do(a) (co)orientador(a)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Fundação Universidade Federal do ABC
Avenida dos Estados, 5001 – Bairro Santa Terezinha – Santo André – SP
CEP 09210-580 · Fone: (11) 4996-0017

FOLHA DE ASSINATURAS

Assinaturas dos membros da Banca Examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado da candidata, ALANA GABRIELI DE SOUZA realizada em 11 de Agosto de 2022:

Documento assinado digitalmente
gov.br DENISE FREITAS SIQUEIRA PETRI
Data: 12/08/2022 18:01:09-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof.(a) DENISE FREITAS SIQUEIRA PETRI
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Documento assinado digitalmente
gov.br JEVERSON TEODORO ARANTES JUNIOR
Data: 12/08/2022 09:26:44-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof.(a) JEVERSON TEODORO ARANTES JUNIOR
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC

Documento assinado digitalmente
gov.br LUIZ FERNANDO GRESPAN SETZ
Data: 12/08/2022 14:22:20-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof.(a) LUIZ FERNANDO GRESPAN SETZ
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC

Documento assinado digitalmente
gov.br SIMONE DE FÁTIMA MEDEIROS SAMPAIO
Data: 11/08/2022 20:49:06-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof.(a) SIMONE DE FÁTIMA MEDEIROS SAMPAIO
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Prof.(a) DANIELLA REGINA MULINARI
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO DE JANEIRO

Prof.(a) HELIO WIEBECK
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Prof.(a) MARCIA APARECIDA DA SILVA SPINACE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC

Documento assinado digitalmente
gov.br DERVAL DOS SANTOS ROSA
Data: 11/08/2022 17:32:34-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof.(a) DERVAL DOS SANTOS ROSA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC - Presidente

* Por ausência do membro titular, foi substituído pelo membro suplente descrito acima: nome completo, instituição e assinatura

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Dedicatória

*Dedico essa tese aos meus pais,
Dalci e Alcioni, fonte de eterna
inspiração, coragem e amor.*

Agradecimentos

Agradeço aos meus pais, Alcioni e Dalci, por acreditarem em mim. Ao iniciar a jornada científica, vocês sempre me incentivaram, mesmo nos momentos mais difíceis e sem saída. Foram pais incríveis, que me guiaram com sabedoria, paciência e amor. Me ensinaram sobre respeito, humildade, e a importância do conhecimento na minha vida. Obrigada por me amarem, me derem colo, luz, e sempre me colocarem no caminho certo.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Derval dos Santos Rosa, que trilhou um caminho de mais de sete anos, me ensinando, direcionando, acalentando, acalmando e sendo muito mais do que um professor. Obrigada por me ajudar a construir minha vida profissional e pessoal, por me guiar pelo caminho certo e do bem. Obrigada por confiar em mim, me incentivar, ser meu amigo e meu guia. Pela sinceridade, pela confiança e por criarmos um laço profundo e eterno de respeito e carinho.

À minha família, pelo incentivo, carinho e por sempre entender que mesmo longe, meu coração esteve sempre com vocês.

Ao meu namorado, Thiago, por ter sido meu companheiro, independente do humor e da situação. Obrigada pela paciência, bom humor, amor, e por me incentivar a sempre dar o meu melhor. Por fazer questão de ler meus trabalhos, sempre vibrando com cada conquista. E aos meus sogros, por me aceitarem na família de uma forma tão doce.

A alguns amigos, que tiveram uma paciência e um amor excepcional nessa trajetória, sempre me amparando nos momentos mais difíceis e comemorando as vitórias. Fabiany, você sempre me fez acreditar que tudo ia acabar bem, e sua amizade sempre estará comigo. Rennan e Rafaela, obrigada pelo suporte, pelos abraços e por todo o companheirismo, e por secarem todas as lágrimas dessa trajetória. À Greici e ao Paulo, que o laboratório me apresentou, mas a vida nos transformou em amigos e companheiros. Bianka e Felipe, obrigada por acreditarem tanto em mim, e me incentivarem a ser sempre melhor; a vida sem vocês não teria tanta cor. Ao Eder, Emília, Leonardo, Eliana, Noelle, Lucas, Danrlei, e outros colegas de laboratório por serem tão especiais.

Ao Maurício, Clariza, Perroni, Felipe, Deborah e outros colegas de AkzoNobel, bem como minhas gestoras. Vocês me receberam de braços abertos nessa nova jornada que se iniciou, que sem dúvida tem sido uma experiência incrível ao lado de pessoas que têm me ensinado diariamente.

Agradeço também a todos os professores que participaram dessa jornada. Foram inúmeros aprendizados, amizades, companheirismo, ensinamentos. Hoje, levo vocês em meu coração, e sempre serei grata por ter sido abençoada com pessoas tão boas e dispostas e me ensinar.

Por fim, quero agradecer a todos os familiares, amigos, colegas, técnicos de laboratórios e funcionários da UFABC, que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

A todos, o meu muito obrigada!

“Gente que não tem dúvida não é capaz de inovar, não é capaz de reinventar, não é capaz de fazer de outro modo.

Gente que não tem dúvida só é capaz de repetir.”

Mario Sergio Cortella.

Resumo

Óleos essenciais são compostos naturais que têm atraído grande atenção devido à sua excelente capacidade antibacteriana, antiviral e antioxidante. No entanto, para obter sua máxima eficiência biocida, é necessária sua estabilização, evitando sua volatilização, oxidação ou degradação. Este trabalho teve como objetivo desenvolver emulsões Pickering a partir de três diferentes óleos essenciais (Ho wood – linalol, cardamomo e canela), estabilizados com nanocelulose. As emulsões foram primeiramente preparadas variando parâmetros de processo (*screening*) para verificar as condições que induzem maior estabilidade ao sistema. A partir do *screening*, foram selecionadas as amostras mais estáveis para avaliação das interações e influências das nanoceluloses com os óleos essenciais, considerando suas propriedades individuais, como estrutura química e polaridade, propriedades físico-químicas, antimicrobianas e antivirais contra o vírus SARS-CoV-2. Cada óleo essencial possui um fator de processamento de maior impacto em relação à estabilidade, verificado pelo *Design* de Experimentos. Os resultados indicaram que o linalol é mais influenciado em termos de índice de creme pela velocidade de homogeneização, enquanto para o cardamomo e a canela destacam-se a concentração e a morfologia da nanocelulose, respectivamente. Isso mostra que a morfologia da nanocelulose determina a estabilização da emulsão; nanocristais de celulose (CNCs) formam emulsões líquidas estabilizadas por interações eletrostáticas e nanofibras de celulose (CNFs) formam uma estrutura tridimensional (gel) por estabilização estérica. As estruturas químicas dos OEs podem influenciar na estabilidade do sistema e na tensão superficial por meio de ligações ou interações químicas, sendo que o linalol apresentou ligações de hidrogênio entre suas hidroxilas e a da celulose, enquanto o cardamomo demonstrou forte ligações da celulose com o acetato de α -terpineol e a canela não apresentou interações químicas entre os componentes, porém apresentou estabilidade devido a sua estrutura que contém um anel benzênico. A análise reológica demonstrou que as emulsões estabilizadas com CNC possuem fluxo newtoniano, e as com CNF, pseudoplástico resultante da rede tridimensional formada pelas nanofibras de celulose. Os ensaios antimicrobianos indicaram que a influência na atividade biocida das emulsões dependem das estruturas químicas dos óleos essenciais e da sua interação química com a celulose, sendo que maiores interações diminuem a atividade bactericida. O linalol apresentou redução significativa da atividade antimicrobiana após a emulsificação, sendo que, o óleo puro inibiu *E. coli*, *S. aureus*, *Pseudomonas* e *Salmonella*, enquanto as emulsões estabilizadas com CNC somente inibiram *S. aureus* e as estabilizadas com CNF inibiram *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella*. Possivelmente o tipo de estabilização e as interações químicas entre os componentes influenciaram na volatilidade do componente ativo do óleo, alterando sua ação antimicrobiana. O cardamomo diminuiu sua eficiência antimicrobiana após a emulsificação com CNF, refletindo na ausência de inibição de *Pseudomonas* e diminuição do halo de inibição da *S. aureus*. As emulsões de canela apresentaram atividade antimicrobiana similar ao óleo essencial puro, indicando que a emulsificação não alterou a difusividade do óleo essencial ou seu poder bacteriostático e antiviral. Os óleos essenciais puros foram testados contra o vírus SARS-CoV-2, sendo que o óleo de canela demorou apenas 5 minutos para inativar o vírus, enquanto o óleo de cardamomo demorou 30 minutos e o óleo de linalol não apresentou resultados considerando o teste empregado. As emulsões apresentaram tendência similar ao observado para as bactérias, exigindo maiores tempos para ação antiviral. Os resultados indicam que as emulsões e seus óleos são potenciais agentes ativos naturais contra bactérias e vírus para serem aplicados em desinfetantes para limpeza de superfícies altamente contaminadas, como hospitais, farmácias ou transporte público.

Palavras-chave: Óleos essenciais, Nanocelulose, Biopolímeros, Estabilização, Atividade antimicrobiana.

Abstract

Essential oils are natural compounds that have attracted significant attention due to their excellent antibacterial, antiviral and antioxidant capacity. However, to obtain its maximum biocidal efficiency, it is necessary to stabilize it, avoiding its volatilization, oxidation, or degradation. This work aimed to develop Pickering emulsions from three essential oils (Ho wood – linalool, cardamom and cinnamon), which are stabilized with nanocellulose. The emulsions were first prepared by varying the process parameters (screening) to verify the conditions that induce greater stability in the system. From the screening, the most stable samples were selected to evaluate the interactions and influences of the nanoparticles with the essential oils, considering their individual properties, such as chemical structure and polarity, physicochemical, antimicrobial, and antiviral properties against the SARS-CoV-virus. Each essential oil has a processing factor of more significant impact concerning stability, verified by the Design of Experiments. The results indicated that linalool is more influenced by a cream index by homogenization speed, while for cardamom and cinnamon, the concentration and morphology of nanocellulose stand out, respectively. This shows that the morphology of the nanocellulose determines the stabilization of the emulsion; Cellulose nanocrystals (CNCs) form liquid emulsions stabilized by electrostatic interactions, and cellulose nanofibers (CNFs) form a three-dimensional structure (gel) by steric stabilization. The chemical structures of the EOs can influence the stability of the system and the surface tension through bonds or chemical interactions, and linalool showed hydrogen bonds between its hydroxyls and that of cellulose. Cardamom showed strong bonds between cellulose and α -terpineol acetate, and cinnamon did not show chemical interactions between the components but showed stability due to its benzene ring structure. The rheological analysis showed that the emulsions stabilized with CNC have Newtonian flow, and those with CNF, a pseudoplastic resulting from the three-dimensional network formed by the cellulose nanofibers. Antimicrobial assays indicated that the influence on the biocidal activity of emulsions depends on the chemical structures of essential oils and their chemical interaction with cellulose, with interactions decreasing the bactericidal activity. Linalool showed a significant reduction in antimicrobial activity after emulsification, and the pure oil inhibited *E. coli*, *S. aureus*, *Pseudomonas*, and *Salmonella*, while CNC-stabilized emulsions only inhibited *S. aureus* and CNF-stabilized emulsions inhibited *E. coli*, *S. aureus*, and *Salmonella*. Possibly the type of stabilization and the chemical interactions between the components influenced the volatility of the oil's active component, altering its antimicrobial action. Cardamom decreased its antimicrobial efficiency after emulsification with CNF, reflecting the absence of *Pseudomonas* and decreased *S. aureus* inhibition halo. The cinnamon emulsions showed similar antimicrobial activity to the pure essential oil, indicating that the emulsification did not change the diffusivity of the essential oil or its bacteriostatic and antiviral power. Tests of pure essential oils against the SARS-CoV-2 virus were carried out, with cinnamon oil taking only 5 minutes to inactivate the virus, cardamom oil taking 30 minutes, and linalool oil did not show results considering the test employed. The emulsions showed a similar tendency to that observed for bacteria, requiring longer times for antiviral action. The results indicate that the emulsions and their oils are potential natural active agents against bacteria and viruses to be applied in disinfectants for cleaning highly contaminated surfaces, such as hospitals, pharmacies, or public transport.

Keywords: Essential oils, Nanocellulose, Biopolymers, Stabilization, Antimicrobial activity.

Sumário

1. Introdução	19
2. Revisão bibliográfica	21
2.1 Emulsões	21
2.1.1 Formação de emulsões	22
2.1.2 Forças de interação	23
2.1.3 Emulsificação	24
2.1.1 Fenômenos de instabilidade	25
2.2 Pickering emulsions	31
2.2.2 Comportamento de nanocelulose em interfaces líquido-líquido	38
2.2.3 Nanocristais de celulose em Pickering emulsions	40
2.2.4 Nanofibras de celulose em Pickering emulsions	43
2.3 Óleos essenciais	50
2.3.1 Composto ativo: linalol	52
2.3.2 Composto ativo: cardamomo	53
2.3.3 Composto ativo: cinamaldeído	55
2.4 Estabilização de óleos essenciais para aplicação final	56
3. Objetivos	58
3.1 Objetivos específicos	58
4. Materiais e métodos	59
4.1 Materiais	59
4.2 Preparação dos nanocristais de celulose (CNC)	60
4.3 Preparação das nanofibras de celulose (CNF)	61
4.4 Preparação das Pickering emulsions	62
4.3.1 Design de experimentos	63
4.5 Caracterizações	67
4.5.1 Microscopia ótica	67
4.5.2 Estabilidade ao longo do tempo de armazenamento	67
4.5.3 Estabilidade sob centrifugação	67
4.5.4 Potencial Zeta	68
4.5.5. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	68
4.5.6. Espectroscopia de Transformada de Fourier Raman (FT-Raman)	68
4.5.7. Ressonância magnética nuclear (RMN)	68
4.5.8. Tensão superficial	69

5.5.9. Reologia.....	69
5.5.10. Microscopia eletrônica de transmissão	Error! Bookmark not defined.
5.5.11. Ensaios antibacterianos	69
5.5.12. Ensaios antivirais: SARS-CoV-2.....	70
5. Resultados e Discussão – Parte 1 (Screening).....	72
5.1. Emulsões obtidas.....	72
5.2 Tamanho de gotas	75
5.3 Morfologia das gotas.....	80
5.4 Estabilidade ao longo do tempo de armazenamento.....	89
5.5 Design de experimentos	101
5.6 Compilado de resultados	113
5.7 Considerações parciais – Etapa 1.....	116
6. Resultados e Discussão – Parte 2.....	121
6.1 Estabilidade sob centrifugação.....	122
6.2 Potencial Zeta	123
6.3 FTIR	127
6.4 FT-Raman	136
6.5 Ressonância magnética nuclear.....	145
6.6 Tensão superficial.....	155
6.7 Reologia.....	158
6.8 Ensaios antibacterianos	165
5.5.9 Ensaios antivirais: SARS-CoV-2.....	173
6. Conclusões	180
8. Referências bibliográficas	184
ANEXO I - Teste Tukey para as misturas óleo/água.....	201
ANEXO II - Teste Tukey para emulsões estabilizadas com CNCs	202
ANEXO III - Teste Tukey para emulsões estabilizadas com CNFs	203
APENDICE I - Artigos publicados durante o período do doutorado	204

Lista de Figuras

Figura 1. Representação ilustrativa da variação na energia livre do sistema de acordo com a presença de emulsificantes.....	23
Figura 2. Tipos de instabilidades que podem ocorrer em sistemas de emulsões.	26
Figura 3. Representação da mudança interfacial causada pela adição de uma fase sólida ao sistema.	32
Figura 4. Representação esquemática do processo de obtenção de celulose a partir de fontes vegetais, desde os tratamentos químicos para remoção de componentes não celulósicos, até a morfologia final (nanocristais ou nanofibras).	37
Figura 5. Emulsões do tipo <i>Pickering</i> estabilizadas com nanocristais de celulose.....	41
Figura 6. Emulsões do tipo <i>Pickering</i> estabilizadas com nanofibras de celulose.	44
Figura 7. Esquema representativo dos três possíveis estados durante a formação de emulsões do tipo <i>Pickering</i>	46
Figura 8. Ilustração do mecanismo de ação antimicrobiana de óleos essenciais.	52
Figura 9. Ilustração da estrutura química do composto ativo linalol e sua representação 3D.	53
Figura 10. Ilustração da estrutura química dos compostos ativos do cardamomo e sua representação 3D.	54
Figura 11. Ilustração de estrutura química do cinamaldeído e sua representação 3D.	56
Figura 12. Fotomicroscopia eletrônica de transmissão representativa dos nanocristais e nanofibras de celulose utilizados no presente trabalho.	61
Figura 13. Ilustração esquemática da metodologia adotada no projeto.	66
Figura 14. Representação da amostra biológica humana positiva para SARS-CoV-2 testada no Teste de Antígeno Rápido (painel superior) e preparação de SARS-CoV-2/óleo essencial para Teste de Antígeno Rápido para confirmar a integridade da proteína viral (painel inferior).	71
Figura 15. Fotografias digitais obtidas para as misturas de óleo essencial e água, nos diferentes parâmetros de processo, sem o uso de estabilizante.	73
Figura 16. Fotografias digitais obtidas para as emulsões <i>Pickering</i> estabilizadas por CNC.	74
Figura 17. Fotografias digitais obtidas para as emulsões <i>Pickering</i> estabilizadas por CNF.	75
Figura 18. Diâmetro médio de gota das misturas de óleo essencial e água a) linalol, b) cardamomo, e c) canela.	76
Figura 19. Diâmetro médio de gota emulsões de óleo essencial estabilizado com CNCs a) linalol, b) cardamomo, e c) canela.	78
Figura 20. Diâmetro médio de gota emulsões de óleo essencial estabilizado com CNFs a) linalol, b) cardamomo, e c) canela.	79
Figura 21. Fotomicrografias representativas obtidas por microscopia ótica para as misturas de linalol e água.	81
Figura 22. Fotomicrografias representativas obtidas por microscopia ótica para as misturas de cardamomo e água, sem o uso de estabilizante.	82
Figura 23. Fotomicrografias representativas obtidas por microscopia ótica para as misturas de óleo essencial de canela e água.	82
Figura 24. Fotomicrografias representativas obtidas por microscopia ótica das emulsões estabilizadas com CNC.	83
Figura 25. Fotomicrografias representativas obtidas por microscopia ótica das emulsões de cardamomo e água, estabilizadas com CNC.	85
Figura 26. Fotomicrografias representativas obtidas por microscopia ótica das emulsões de canela e água, estabilizadas com CNC.	86
Figura 27. Fotomicrografias representativas obtidas por microscopia ótica das emulsões de linalol estabilizadas com CNF.	87

Figura 28. Fotomicrografias representativas obtidas por microscopia ótica das emulsões de cardamomo estabilizadas com CNF.	88
Figura 29. Fotomicrografias representativas obtidas por microscopia ótica das emulsões de canela e água, estabilizadas com CNF.	89
Figura 30. Fotografias digitais obtidas a partir da estabilidade ao longo do tempo, nos dias 0 e 30, para as misturas de OE de linalol e água.	90
Figura 31. Fotografias digitais obtidas a partir da estabilidade ao longo do tempo, nos dias 0 e 30, para as misturas de OE de cardamomo e água, sem o uso de estabilizante.	91
Figura 32. Fotografias digitais obtidas a partir da estabilidade ao longo do tempo, nos dias 0 e 30, para as misturas de OE de canela e água, sem o uso de estabilizante.	92
Figura 33. Fotografias digitais obtidas a partir da estabilidade ao longo do tempo, nos dias 0 e 30, para as emulsões de linalol com CNC.	93
Figura 34. Fotografias digitais obtidas a partir da estabilidade ao longo do tempo, nos dias 0 e 30, para as emulsões de OE de cardamomo e água, utilizando CNC como estabilizante.	95
Figura 35. Fotografias digitais obtidas a partir da estabilidade ao longo do tempo, nos dias 0 e 30, para as emulsões de OE de canela e água, utilizando CNC como estabilizante.	96
Figura 36. Fotografias digitais obtidas a partir da estabilidade ao longo do tempo, nos dias 0 e 30, para as emulsões Pickering de linalol estabilizadas com CNF.	97
Figura 37. Fotografias digitais obtidas a partir da estabilidade ao longo do tempo, nos dias 0 e 30, para as emulsões de OE de cardamomo/ CNF.	99
Figura 38. Fotografias digitais obtidas a partir da estabilidade ao longo do tempo, nos dias 0 e 30, para as emulsões de OE de canela e água, utilizando CNF como estabilizante.	100
Figura 39. Efeitos das variáveis de preparo no tamanho de gotas das emulsões de linalol estabilizadas por CNC, analisado por superfície de resposta.	102
Figura 40. Efeitos das variáveis de preparo no índice de cremeação das emulsões estabilizadas por CNC, analisado por superfície de resposta.	103
Figura 41. Efeitos das variáveis de preparo no tamanho de gota das emulsões de linalol estabilizadas por CNF, analisado por superfície de resposta.	104
Figura 42. Efeitos das variáveis de preparo no índice de cremeação das emulsões linalol/CNF, analisado por superfície de resposta.	105
Figura 43. Efeitos das variáveis de processo no tamanho de gota das emulsões de cardamomo estabilizadas com CNC.	107
Figura 44. Efeitos das variáveis de processo no índice de creme das emulsões de cardamomo estabilizadas com CNC.	108
Figura 45. Efeitos das variáveis de processo no tamanho de gota das emulsões de cardamomo estabilizadas com CNF.	109
Figura 46. Efeitos das variáveis concentração das emulsões CNC/Canela sobre o índice de creme.	110
Figura 47. Efeitos das variáveis de processo das emulsões CNC/canela no tamanho de gotas.	111
Figura 48. Efeitos das variáveis de processo das emulsões CNF/canela no tamanho de gotas.	112
Figura 49. Ilustração esquemática dos principais resultados encontrados para as emulsões de óleo essencial de linalol e água, estabilizados com CNC e CNF.	114
Figura 50. Ilustração esquemática dos principais resultados encontrados para as emulsões de óleo essencial de cardamomo e água, estabilizados com CNC e CNF.	115
Figura 51. Ilustração esquemática dos principais resultados encontrados para as emulsões de óleo essencial de canela e água, estabilizados com CNC e CNF.	116
Figura 52. Figura ilustrativa dos principais resultados obtidos para as emulsões estabilizadas com CNC durante a primeira etapa do trabalho.	118

Figura 53. Figura ilustrativa dos principais resultados obtidos para as emulsões estabilizadas com CNC durante a primeira etapa do trabalho.	120
Figura 54. Emulsões após a centrifugação, para avaliação da estabilidade sob centrifugação.	122
Figura 55. Espectros de FTIR do óleo essencial de linalol, mistura OE/água, CNCs em solução, e suas emulsões estabilizadas com CNC a) espectro completo, e ampliação das regiões b) 1400-1250 cm^{-1} , c) 1145-970 cm^{-1} , d) 970-875 cm^{-1} , and e) 856-800 cm^{-1} . <i>Curve Fitting</i> dos picos 904, 920 e 940 cm^{-1} para as amostras f) PEL-CNC1 e g) PEL-CNC2.	128
Figura 56. Espectros de FTIR do óleo essencial de linalol e suas emulsões estabilizadas com CNC a) espectro completo, e ampliação das regiões b) 1750-1550 cm^{-1} , e c) 1500-920 cm^{-1}	130
Figura 57. Espectros de FTIR do óleo essencial de cardamomo e suas emulsões estabilizadas com CNC a) espectro completo, e ampliação da região b) 1800-1425 cm^{-1}	132
Figura 58. Espectros de FTIR do óleo essencial de cardamomo e suas emulsões estabilizadas com CNC a) espectro completo, e ampliação da região b) 1800-1500 cm^{-1} , c) 1400-1275 cm^{-1} , d) 1120-1000 cm^{-1} , e e) 950-750 cm^{-1}	133
Figura 59. Espectros de FTIR do óleo essencial de canela e suas emulsões estabilizadas com CNC a) espectro completo, e ampliação das regiões b) 1750-1555 cm^{-1} , c) 1350-1150 cm^{-1} , e d) 1150-1020 cm^{-1}	134
Figura 60. Espectros de FTIR do óleo essencial de canela e suas emulsões estabilizadas com CNC a) espectro completo, e ampliação da região b) 1778-643 cm^{-1}	136
Figura 61. Espectro de FT-Raman do óleo essencial de Ho wood (Linalol) e suas emulsões estabilizadas com CNC a) espectro completo, e ampliação das regiões b) 1215-1800 cm^{-1} e c) 2700-3100 cm^{-1}	137
Figura 62. <i>Fitting curve</i> utilizando o modelo de Gauss dos gráficos de FT-Raman na região 1320-1480 cm^{-1} para análise dos picos 1374 cm^{-1} (celulose), 1380, 1413, e 1450 cm^{-1} (linalol) da amostra a) PEL-CNC1 e b)	138
Figura 63. Espectro de FT-Raman do óleo essencial de Ho wood (Linalol) e suas emulsões estabilizadas com CNC a) espectro completo, e ampliação das regiões b) 1200-1900 cm^{-1} e c) 2700-3100 cm^{-1}	139
Figura 64. <i>Fitting curve</i> utilizando o modelo de Gauss dos gráficos de FT-Raman na região 1320-1480 cm^{-1} para análise dos picos 1338 cm^{-1} (celulose), 1380, 1413, e 1450 cm^{-1} (linalol) da amostra a) PEL-CNF1 e b) PEL-CNF2.	140
Figura 65. Espectro de FT-Raman do óleo essencial de Cardamomo e suas emulsões estabilizadas com CNC a) espectro completo, e ampliação das regiões b) 1000-1900 cm^{-1} e c) 2700-3100 cm^{-1}	141
Figura 66. Espectro de FT-Raman do óleo essencial de cardamomo e suas emulsões estabilizadas com CNC a) espectro completo, e ampliação das regiões b) 1230-1800 cm^{-1} e c) 2800-3200 cm^{-1}	143
Figura 67. Espectro de FT-Raman do óleo essencial de canela e suas emulsões estabilizadas com CNC a) espectro completo, e ampliação das regiões b) 820-1515 cm^{-1} e c) 1560-1700 cm^{-1}	144
Figura 68. Espectro de FT-Raman do óleo essencial de canela e suas emulsões estabilizadas com CNC a) espectro completo, e b) ampliação da região 825-1075 cm^{-1}	145
Figura 69. Espectros de ^1H and ^{13}C do óleo essencial de Ho wood (<i>Cinnamomum camphora</i> var. <i>linalooliferum</i> , CAS Number 92201-50-8) diluído com CDCl_3 e D_2O	146
Figura 70. Sobreposição de espectros HSQC e HMBC 2D ^1H - ^{13}C do óleo essencial de Ho wood (<i>Cinnamomum camphora</i> var. <i>Linalooliferum</i> , Número CAS 92201-50-8), diluído com D_2O . .	147
Figura 71. Sobreposição de espectros HSQC e HMBC 2D ^1H - ^{13}C do óleo essencial de Ho wood e suas emulsões estabilizadas com CNCs, diluídos com D_2O	148
Figura 79. Sobreposição de espectros HSQC e HMBC 2D ^1H - ^{13}C do óleo essencial de Ho wood e suas emulsões estabilizadas com CNFs, diluídos com D_2O	149

Figura 73. Sobreposição de espectros HSQC 2D ^1H - ^{13}C das emulsões PEL-CNF1 (em azul e verde) e PEL-CNF1 (em vermelho e rosa) diluídas com D_2O .	150
Figura 74. Espectros de ^{13}C do óleo essencial de cardamomo (<i>Elettaria cardamomum</i> , CAS Number 8000-66-6) diluído com CDCl_3 e D_2O .	150
Figura 75. Espectros de ^{13}C do óleo essencial de cardamomo (<i>Elettaria cardamomum</i> , CAS Number 8000-66-6) e das emulsões estabilizadas com CNC diluídas com D_2O .	151
Figura 76. Espectros de ^{13}C do óleo essencial de cardamomo (<i>Elettaria cardamomum</i> , CAS Number 8000-66-6) e das emulsões estabilizadas com CNF diluídas com D_2O .	152
Figura 77. Espectros de ^{13}C do óleo essencial de canela diluídas com CDCl_3 e D_2O .	153
Figura 78. Espectros de ^{13}C do óleo essencial de canela e suas emulsões estabilizadas com CNC, diluídas com CDCl_3 e D_2O .	154
Figura 79. Espectros de ^{13}C do óleo essencial de canela e emulsões estabilizadas com CNF, diluídas com CDCl_3 e D_2O .	154
Figura 80. Dados de tensão superficial das <i>Pickering emulsions</i> de óleo essencial de Ho wood (linalol) estabilizadas com CNC e CNF a) medições de tensão superficial ao longo do tempo e b) seus respectivos valores médios.	156
Figura 81. Dados de tensão superficial das <i>Pickering emulsions</i> de óleo essencial de cardamomo estabilizadas com CNC e CNF a) medições de tensão superficial ao longo do tempo e b) seus respectivos valores médios.	157
Figura 82. Dados de tensão superficial das <i>Pickering emulsions</i> de óleo essencial de canela estabilizadas com CNC e CNF a) medições de tensão superficial ao longo do tempo e b) seus respectivos valores médios.	158
Figura 83. Curvas de viscosidade versus taxa de cisalhamento do óleo essencial de linalol e suas emulsões Pickering.	159
Figura 84. Curvas de viscosidade versus taxa de cisalhamento do óleo essencial de cardamomo e suas emulsões Pickering a) gráficos completos e b) ampliação das amostras em baixa viscosidade (óleo essencial de cardamomo, PECar-CNC1 e PECar-CNC2).	162
Figura 85. Curvas de viscosidade versus taxa de cisalhamento do óleo essencial de canela e suas emulsões Pickering.	164
Figura 86. Resultados dos ensaios antimicrobianos obtidos para padronização dos microrganismos estudados utilizando hipoclorito e Lysoform [®] , e atividade antimicrobiana dos nanocristais e nanofibras de celulose.	166
Figura 87. Resultados dos ensaios antimicrobianos utilizando óleo essencial de ho wood (linalol) e suas emulsões.	167
Figura 88. Resultados dos ensaios antimicrobianos utilizando óleo essencial de cardamomo e suas emulsões.	169
Figura 89. Resultados dos ensaios antimicrobianos utilizando óleo essencial de canela e suas emulsões.	172
Figura 90. Resultados obtidos para cada óleo essencial (canela, cardamomo e linalol) contra o SARS-CoV-2, testado pelo Teste Rápido de Antígeno em momentos diferentes.	174
Figura 91. Esquema representativo dos resultados relativos a cada óleo essencial e os efeitos esperados no SARS-CoV-2.	176
Figura 92. Resultados obtidos para óleo essencial de cardamomo e suas emulsões contra SARS-CoV-2, testados pelo Teste Rápido de Antígenos em diferentes momentos.	177
Figura 93. Principais conclusões sobre os testes antimicrobianos obtidos para amostras PECar-CNC e PECar-CNF.	178
Figura 94. Resultados obtidos para óleo essencial de canela e suas emulsões contra SARS-CoV-2, testados pelo Teste Rápido de Antígenos em diferentes momentos.	179

Lista de Tabelas

Tabela 1. Principais características dos óleos essenciais utilizados.....	59
Tabela 2. Parâmetros variados na primeira etapa do processo para identificação dos principais influenciadores da estabilidade das emulsões.....	62
Tabela 3. Apresentação de artigos da literatura que investigaram a preparação de emulsões Pickering e seus diferentes parâmetros de processo.	62
Tabela 4. Nomenclatura das amostras adotadas durante a primeira fase de testes, com as amostras selecionadas pelo teste fatorial, em que as legendas em vermelho são associadas as emulsões estabilizadas com CNCs, e em azul, com CNFs.....	64
Tabela 5. Valores do índice de creme e razão de sedimentação das <i>Pickering emulsions</i> estabilizadas com CNC.....	94
Tabela 6. Valores do índice de cremeação e razão de sedimentação das <i>Pickering emulsions</i> estabilizadas com CNF.	98
Tabela 7. Nomenclaturas antigas e sua atualização para a continuação do trabalho, em que PE indica <i>Pickering emulsion</i> , L representa Linalol, Car representa Cardamomo, e Can representa Canela.	121
Tabela 8. Principais resultados de tamanho de partícula e estabilidade (dia 30) obtidos para as amostras selecionadas.	121
Tabela 9. Resultados de potencial Zeta (ζ) obtidos para as emulsões estudadas.	125
Tabela 10. Parâmetros dos modelos reológicos de Herschel-Bulkley, Ostwald-de-Waele e Carreau-Yasuda para amostras PEL-CNF.	160
Tabela 11. Parâmetros dos modelos reológicos de Herschel-Bulkley e Ostwald-de-Waele para amostras PECar-CNF.....	163
Tabela 12. Parâmetros dos modelos reológicos de Herschel-Bulkley e Ostwald-de-Waele para amostras PECan-CNF.	165

1. Introdução

Recentemente, tem havido uma demanda crescente para a aplicação de emulsões Pickering em diversas indústrias devido à sua vantagem combinada em termos de custo, qualidade e sustentabilidade. Emulsões Pickering (PEs) são misturas óleo/água estabilizadas por partículas sólidas em vez de surfactantes convencionais, e se destacam devido a sua resistência à deformação consideravelmente maior em comparação com as emulsões convencionais devido à adsorção irreversível das partículas sólidas, nas interfaces, de dois líquidos imiscíveis (Low *et al.*, 2020). Além das suas excelentes vantagens em termos de estabilidade ao longo do tempo, a demanda por novas partículas sólidas atóxicas e ambientalmente amigáveis tem emergido como uma solução inovadora para gerar emulsões Pickering em diversos campos, como no setor de alimentos, embalagens, cosméticos, recuperação de óleo, entrega de medicamentos e outros (Costa *et al.*, 2019; Feng *et al.*, 2020; Li, Z. *et al.*, 2018; Saffarionpour, 2020; Souza *et al.*, 2021; Zou, Sipponen e Österberg, 2019).

Várias partículas sólidas podem ser usadas em emulsões Pickering e as emulsões resultantes apresentam alguns benefícios excelentes, como bons atributos mecânicos, alta estabilidade, menos toxicidade, diminuição dos problemas de formação de espuma. Dentre as partículas que podem ser utilizadas, destacam-se partículas com caráter ambientalmente amigáveis, principalmente polissacarídeos, como amido, quitina e nanocelulose (Cheikh, Ben *et al.*, 2021; Feng *et al.*, 2020; Yan *et al.*, 2020). As razões por trás do crescente interesse por emulsões estabilizadas por partículas à base de celulose não são apenas pelas características naturais de baixo custo, facilmente disponíveis, seguras e sustentáveis, mas também prontamente acessíveis às modificações físicas ou químicas e baixo risco de toxicidade.

A nanocelulose é um material versátil com alta área superficial e proporções variadas, dependendo de sua morfologia. Esses nanomateriais multifuncionais são encontrados principalmente como nanocristais (CNC) ou nanofibras (CNF), e a morfologia impacta diretamente o tipo de estabilização da emulsão. O processo de adsorção da nanocelulose na interface do óleo e da água está relacionado à difusão de partículas pelo líquido e seu posicionamento espontâneo das interfaces dos líquidos imiscíveis, que dependem de parâmetros químicos e cargas superficiais. Seu uso tem sido amplamente reportado principalmente para estabilizar óleos essenciais, substâncias de origem vegetal, com elevados teores de terpenóides, terpenos, monoterpenos, fenóis, anéis aromáticos,

compostos cíclicos e acíclicos em diferentes concentrações, sendo estes componentes responsáveis pelas atividades bactericidas (Nakatsu *et al.*, 2000; Ribeiro-Santos *et al.*, 2018; Ribeiro, Simões e Simões, 2019).

Há uma ampla disponibilidade de óleos essenciais no mercado, como oriundos de orégano (*Oreganum vulgare*), cominho (*Cuminum cyminum*), canela (*Cinammomum cassia*), capim-limão (*Cymbopogon citratus*), melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), buriti (*Mauritia flexuosa* L.), entre outros (Ahmad *et al.*, 2012; Batista *et al.*, 2012; Becerril, Nerín e Silva, 2020; Ribeiro-Santos *et al.*, 2018; Siddique *et al.*, 2020). A propriedade obtida a partir de cada óleo depende dos agentes ativos presentes na sua composição, sendo que dentre alguns óleos com características interessantes, destacam-se o linalol, a canela e o cardamomo, que possuem como principal agente ativo o linalol, o cinamaldeído e o α -terpineol. Porém, estes óleos são compostos bioativos altamente voláteis, sensíveis à luz, calor e ao oxigênio, dificultando seu uso direto, e por isso exigindo medidas de estabilização, como as emulsões *Pickering*.

Em sua forma estabilizada, os óleos essenciais são uma excelente opção para uso em produtos que exigem propriedades antimicrobianas, podendo ser aplicados em medicamentos, produtos de higiene pessoal, alimentos, sanitizantes, agentes desinfetantes de ambientes fechados, entre outras aplicações. Assim, tendo em vista a crescente necessidade por produtos *biobased*, ambientalmente amigáveis e biocompatíveis, este trabalho teve como objetivos: i) preparar emulsões do tipo *Pickering* utilizando três tipos de óleos essenciais (linalol, canela e cardamomo) e investigar a influência de diferentes parâmetros de processo na estabilidade das emulsões; ii) selecionar as emulsões mais estáveis e investigar suas propriedades físico-químicas e o mecanismo de estabilização envolvido; e iii) avaliar as propriedades antibacterianas e antivirais das emulsões contra duas bactérias gram-positivas, duas gram-negativas, e contra o vírus SARS-CoV-2.

2. Revisão bibliográfica

Uma dispersão é um sistema que consiste em uma fase fragmentada (dispersa) e uma fase contínua. Quando essa dispersão possui como fase contínua um líquido, esta pode possuir três classificações, dependendo da fase dispersa, sendo elas i) espuma – um gás é a fase dispersa, e bolhas são o componente de interesse, ii) emulsão – um outro líquido imiscível é a fase dispersa, na forma de gotas, ou iii) suspensão – partículas sólidas são dispersas na fase líquida. Assim, uma emulsão pode ser definida como um sistema bifásico formado por dois líquidos imiscíveis, uma fase dispersa distribuída na forma de gotas na fase contínua. Em geral, a fase dispersa é ainda estabilizada pela ação de um emulsionante, visando aumentar a estabilidade do sistema, ou seja, o tempo necessário para que haja separação visual entre as fases.

As emulsões são amplamente utilizadas em nossa vida diária, como o leite, loções e cremes, sendo de grande interesse em áreas de estudo como química, biologia, física e engenharia (Abdul-razzaq, Jaafar e Bandyopadhyay, 2020; Haque *et al.*, 2017; Prado, Gonzales e Spinacé, 2019; Zou, Sipponen e Österberg, 2019). Além disso, são de grande interesse para indústrias farmacêutica, de cosmetologia, alimentícia, tintas à base água, entre outros. Isso porque, na forma emulsionada, agentes ativos podem ser diluídos a um nível apropriado e serem mais facilmente aplicados. No entanto, para garantir a aplicabilidade adequada, é necessário um controle rígido de processo, características e propriedades finais da emulsão.

2.1 Emulsões

Emulsões são, portanto, uma classe de sistemas dispersos formados por duas fases líquidas imiscíveis, e podem ser divididas de acordo com a fase dispersa e contínua, como emulsão óleo em água (O/A), água em óleo (A/O), óleo em óleo (O/O), ou ainda emulsões múltiplas, como óleo/água/óleo (Keivani Nahr, Ghanbarzadeh, Samadi Kafil, *et al.*, 2019; Mendes *et al.*, 2020; Rosen e Kunjappu, 2012; Scharamm, 2015; Zhang *et al.*, 2017). Para que uma emulsão se forme e seja estável, é necessário adicionar um terceiro componente ao sistema: um emulsificante. Muitos aspectos do campo da ciência e da tecnologia são combinados para estudar os princípios e comportamentos fundamentais de emulsões em relação à ciência dos polímeros, química interfacial, ciência dos coloides e mecânica dos fluidos (Albert *et al.*, 2019; McClements, 2015).

Quando duas fases líquidas imiscíveis entram em contato, uma nova região interfacial é criada, sendo essa de espessura δ , que resulta em uma mudança concomitante na energia

interna das fases líquidas. Essa região interfacial possui características únicas, sendo chamada de camada de transição, e a energia necessária para que a interface formada se rompa é chamada de tensão interfacial (γ). O modelo de Gibbs-Deuhem propôs uma definição matemática da tensão interfacial, de acordo com a Equação 1, em que dG^σ é a energia livre do sistema, formada por um termo de entropia ($S^\sigma dT$), um termo de energia interfacial ($A d\gamma$) e um termo composicional ($\sum n_i d\mu_i$, em que n_i é o número de mols do componente i e μ_i é o potencial químico da espécie) (Tadros, 2013).

$$dG^\sigma = -S \cdot dT + A \cdot d\gamma + \sum n_i \cdot d\mu_i \quad (1)$$

A temperatura e composição constantes, tem-se as Equações 2 e 3:

$$dG^\sigma = A \cdot d\gamma \quad (2)$$

$$\gamma = \left(\frac{\partial G^\sigma}{\partial A} \right)_{T, n_i} \quad (3)$$

Para uma interface estável, a área interfacial aumenta conforme a energia livre do sistema aumenta. Para uma interface curva, como no caso de gotas, é necessário considerar o efeito do raio de curvatura, uma vez que interfaces curvas afetam as propriedades físicas da emulsão. A pressão de Laplace (Δp) é determinada pelo raio de curvatura das gotas, em que r_1 e r_2 são os dois principais raios de curvatura do sistema (Equação 4). Essa pressão também é chamada de pressão capilar e representa a diferença de pressão entre as duas fases imiscíveis.

$$\Delta p = \gamma \left(\frac{1}{r_1} + \frac{1}{r_2} \right) \quad (4)$$

No caso de gotas perfeitamente esféricas, $r_1 = r_2 = r$, resultando na Equação 5.

$$\Delta p = \frac{2\gamma}{r} \quad (5)$$

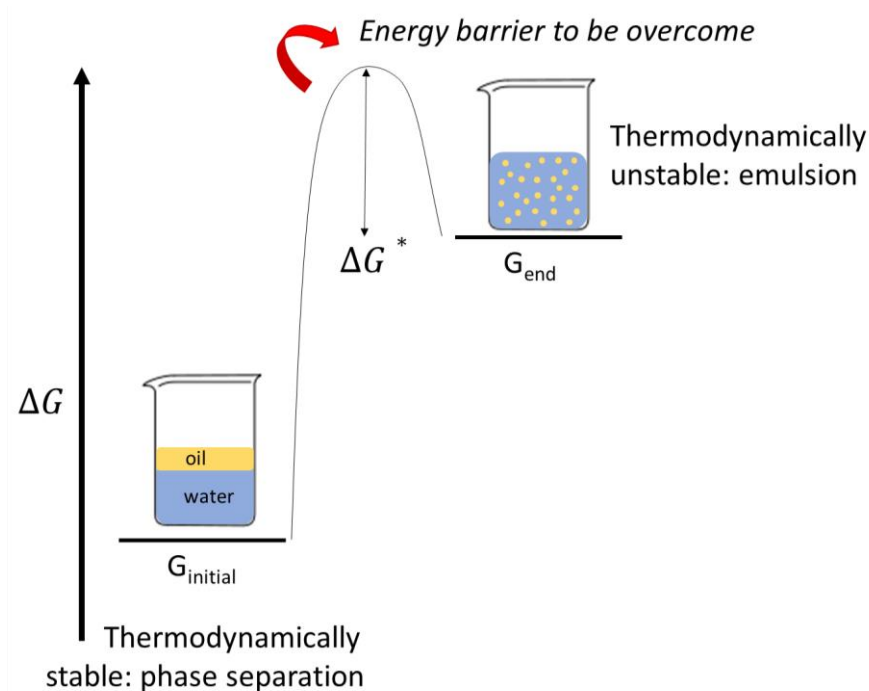
2.1.1 Formação de emulsões

Ao considerar um sistema formado por dois líquidos imiscíveis, para que forme uma emulsão é necessário que haja uma variação na energia livre e na entropia do sistema, conforme a Equação 6.

$$\Delta G^{\text{formação}} = \Delta A \gamma_{12} - T \Delta S^{\text{configuração}} \quad (6)$$

Na maioria dos casos, $\Delta A \gamma_{12} > T\Delta S^{config}$, resultando em ΔG^{form} positivo, ou seja, a formação de emulsões não é espontânea e o sistema é instável. Nesse caso, na ausência de emulsificantes, a emulsão se rompe e sofre fenômenos de instabilidade. Já na presença desses aditivos, uma barreira energética é criada, evitando que o sistema volte ao seu estado original e se mantenha estável, conforme representado na Figura 1.

Figura 1. Representação ilustrativa da variação na energia livre do sistema de acordo com a presença de emulsificantes.



Fonte: Autoria Própria.

2.1.2 Forças de interação

Três principais tipos de forças de interação atuam em uma emulsão: atração, repulsão eletrostática e repulsão estérica, além de uma combinação destas. As forças atrativas são resultado de interações de curto alcance, e são resultantes de átomos ou conjuntos moleculares que formam as gotículas das emulsões. Na ausência de um mecanismo repulsivo, as gotas formam agregados devido a atração muito forte a curtas distâncias, resultando em separação de fases devido à minimização da área superficial de forma espontânea. Assim, é necessário induzir ou criar forças repulsivas para estabilizar a emulsão. São duas as principais forças repulsivas: eletrostática e estérica (Tadros, 2013).

As forças de repulsão eletrostáticas são resultantes da adição de um surfactante ou molécula iônicas, resultando na geração de uma dupla camada elétrica formada por cargas superficiais balanceadas pela presença de íons e contra íons (Helmholtz, 1879). A extensão

da dupla camada depende da concentração de eletrólitos e valência dos contra íons (Grahame, 1947), sendo que sua extensão aumenta conforme a concentração de eletrólitos diminui, sendo que esses fenômenos estão associados à parte não difusa da dupla camada específica para íons adsorvidos. Esses conceitos são importantes pois, quando duas gotas carregadas se aproximam até que suas duplas camadas se sobreponham, a repulsão ocorre.

Por outro lado, as forças de repulsão estérica são resultantes de polímeros, surfactantes ou moléculas não iônicas adicionados ao sistema. Ao se aproximar duas gotas similares estabilizadas por uma cadeia polimérica não iônica de espessura δ_h , a aproximação das gotas irá resultar em uma distância entre gotículas menor do que $2\delta_h$ devido a interação entre as cadeias do polimérico, que podem gerar fenômenos de interpenetração e compressão. Essa aproximação irá gerar uma forte repulsão estérica resultante de um aumento na pressão osmótica na região do *overlap* devido a mistura das cadeias, gerando a chamada “energia livre de interação G_{mix} , e devido a uma redução na entropia configuracional das cadeias na zona de interação, que resulta em uma interação por restrição de volume chamada “interação entrópica ou elástica G_{el} ”. Portanto, a energia livre de interação estérica G_s é um resultado da soma de G_{mix} e G_{el} (Napper, 1983).

2.1.3 Emulsificação

O processo de emulsificação é aquele que concede a um sistema óleo/água energia necessária para expandir a interface $\Delta A\gamma$, em que ΔA é o aumento na área interfacial quando a fase oleosa de área A_1 gera um grande número de gotas menores de área A_2 . Como γ (tensão interfacial) é positivo, a energia para expandir a interface é grande e positiva. A formação de gotas micrométricas é economicamente mais viável e depende de agitadores de alta energia, como Ultraturrax ou Silverson Mixer. Já no caso da formação de gotas nanométricas, quantidades significativamente maiores de surfactante/energia são necessárias, o que pode ser entendido ao se analisar a pressão de Laplace Δp (Equações 4 e 5). Para a quebra de uma gota em gotículas menores, é necessário que haja uma forte deformação, e essa deformação aumenta Δp , podendo inclusive transformar uma gota perfeitamente esférica em um prolato elipsoide (Clausse *et al.*, 1983).

Emulsificantes possuem um papel importante na formação de emulsões diminuindo a tensão interfacial e, conseqüentemente, a energia necessária para a quebra da gota em gotículas menores. De acordo com Walstra (1993), três processos sempre ocorrem durante a emulsificação: 1) as gotículas de óleo se deformam e quebram, 2) os emulsificantes são transportados e adsorvidos pela gotícula de óleo junto com a formação das gotículas de

óleo revestidas com emulsificante, e 3) as gotículas de emulsão colidem e se fundem (Walstra, 1993).

Diversos processos podem ser utilizados para a preparação de uma emulsão, como equipamentos com baixa energia de agitação, misturadores estáticos (como Ultraturrax e misturadores Silverson), agitadores de baixa a média energia, moinhos coloidais, homogeneizadores de alta pressão, geradores de ultrassom, ou emulsificação de membrana. Os métodos podem ser contínuos ou descontínuos. Dentre os métodos disponíveis, o ultraturrax é interessante pois é uma tecnologia disponível em larga escala, amplamente utilizado na fabricação de sorvetes, molhos alimentícios, produtos cosméticos e de higiene pessoal, entre outros. Estes equipamentos são empregados para preparar emulsões com gotas acima de 1 μm (Kumar *et al.*, 2019). A escolha adequada do equipamento é conhecida como fatores mecânicos e de fluxo, que envolvem o tipo de equipamento, a intensidade de agitação e o procedimento adotado (Daltin, 2011).

Outras variáveis também devem ser consideradas ao avaliar a preparação de uma emulsão, como variáveis de formulação, que englobam o agente emulsionante e as fases contínua e dispersa, levando em conta características como HLB (para surfactantes), tipo de estabilizante, solubilidade, ponto de inversão de fase, compatibilidade, entre outros, e variáveis de composição, que são as proporções relativas de água e óleo e a concentração do emulsificante.

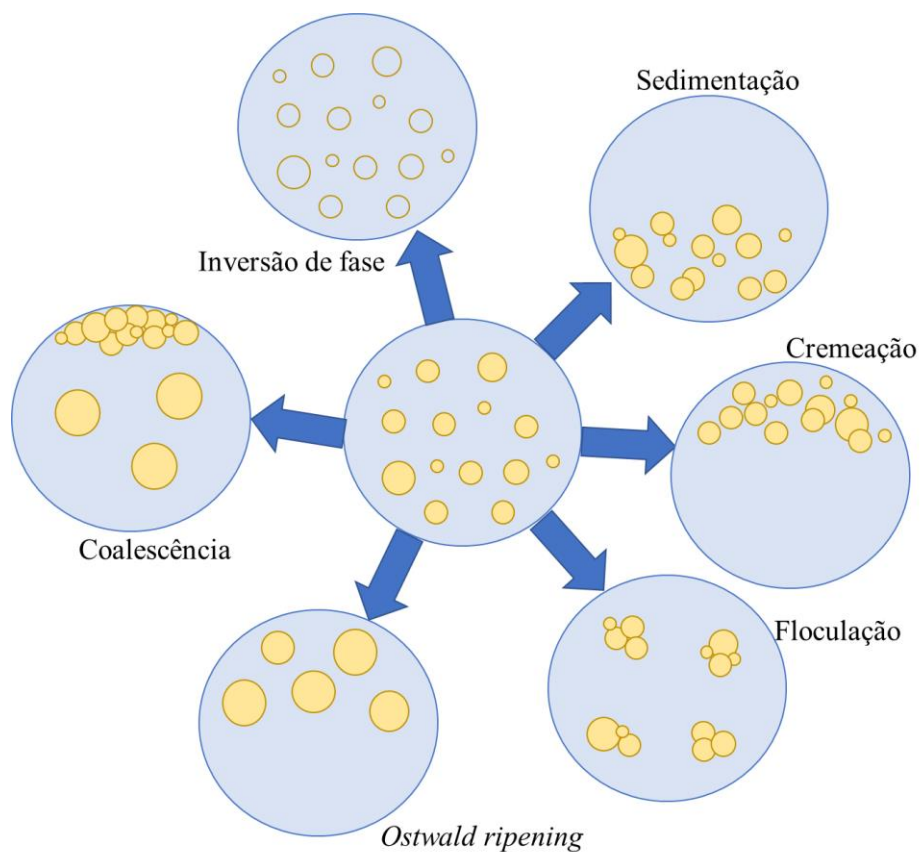
A estabilidade física de uma emulsão é uma das maiores dificuldades observadas durante a formulação de um sistema emulsificado, uma vez que as emulsões convencionais são sistemas termodinamicamente instáveis e, portanto, tendem a quebrar durante o armazenamento por meio de uma variedade de mecanismos de instabilidade.

2.1.1 Fenômenos de instabilidade

As variáveis de composição e formulação são responsáveis por evitar que as gotículas de uma emulsão se agrupem novamente, provocando a coalescência. Conforme descrito anteriormente, o uso de surfactantes é a solução mais comum empregada para garantir a estabilidade desses sistemas (Albert *et al.*, 2019), em que moléculas são adsorvidas na superfície das gotículas e reduzem a tensão interfacial entre as fases, diminuindo a força motriz para a coalescência e alterando as propriedades viscoelásticas do sistema. Os fenômenos de instabilidade são vários, como a cremação (ou formação de creme), sedimentação, floculação, inversão de fase, coalescência, e *Ostwald ripening* (ou

amadurecimento de Ostwald) (Almasi, Azizi e Amjadi, 2020; McClements, 2015; Schramm, 2015), conforme ilustrado na Figura 2.

Figura 2. Tipos de instabilidades que podem ocorrer em sistemas de emulsões.



Fonte: Autoria Própria.

A cremeação e a sedimentação são processos gravitacionais que ocorrem pela diferença de densidade das fases. Se a densidade da fase dispersa é menor do que a do meio, ocorre cremeação; do contrário, ocorrerá sedimentação. A cremeação é um fenômeno facilmente reversível após a aplicação de agitação moderada. No entanto, uma cremeação severa pode resultar em coalescência, que é uma desestabilização irreversível (Daltin, 2011). Em emulsões comuns, que possuem tamanhos de gota polidispersos, gotas de maiores diâmetros ascendem antes, e de menores diâmetros após maiores tempos, resultando em camadas com diferentes características devido às diferentes taxas de cremeação (ou sedimentação, pois o mesmo princípio se aplica).

Os fenômenos de sedimentação ou cremeação são regidos pela Lei de Stokes (Stokes, 1851), referente a um sistema sólido-líquido, que faz um balanço entre a força hidrodinâmica do sistema (Equação 7) e a força gravitacional (Equação 8), em que η_0 é a

viscosidade do meio, v_0 é a velocidade de Stokes, R é o raio hidrodinâmico da gota, $\Delta\rho$ é a diferença de densidade entre as duas fases, e g é a gravidade (Taherian *et al.*, 2008).

$$\text{Força hidrodinâmica} = 6\pi\eta_0 R v_0 \quad (7)$$

$$\text{Força gravitacional} = \frac{4}{3}\pi R^3 \Delta\rho g \quad (8)$$

Logo, a velocidade de Stokes para sistemas muito diluídos, em que a concentração da fase dispersa é menor do que 0,01%, é definida pela Equação 9.

$$v_0 = \frac{2}{9} \frac{(\Delta\rho g R^2)}{\eta_0} \quad (9)$$

Posteriormente, Hadamard e Rybczynski propuseram, em 1911, uma correção à lei de Stokes, para um sistema líquido-líquido, considerando então a sedimentação de uma gota em um líquido, em que a velocidade terminal (V_{HR}) é dada pela Equação 10, onde k é a razão da viscosidade da fase contínua pela viscosidade da fase dispersa (Frising, Noik e Dalmazzone, 2006; Hadamard S, 1911).

$$V_{HR} = \frac{(d^2(\rho_d - \rho_c)g)}{18\mu_c} \frac{1+k}{1+\frac{2}{3}k} \quad (10)$$

A camada de creme formada durante o fenômeno de cremeação representa um equilíbrio de volume, em que a distância entre as gotas é determinada pelo balanço entre forças do campo gravitacional e forças entre gotas (estéricas ou eletrostáticas). Dentre as possíveis abordagens utilizadas para evitar a cremeação ou a sedimentação, destaca-se a redução de tamanho de gotas (abaixo de um determinado diâmetro, a difusão Browniana pode exceder a gravidade, prevenindo a instabilidade), uso de espessantes (irão resultar na formação de um gel de maior viscosidade formados pela sobreposição de cadeias), uso de cristais líquidos, entre outros (Clausse *et al.*, 1983; Tadros, 2013).

A floculação é o processo no qual as gotas de uma emulsão se agregam sem que haja a ruptura da camada estabilizadora na interface, se a energia livre de interação do par se tornar sensivelmente negativa em uma certa separação. Esta interação negativa é o resultado da atração de van der Waals (Friberg, Larsson e Joblom, 2004; McClements, 2015). Esse fenômeno de instabilidade pode ser reversível ou irreversível, dependendo da força de atração entre as gotas. A floculação geralmente leva a uma maior formação de creme, porque os flocos sobem mais rápido do que as gotas individuais, devido ao seu

maior raio efetivo. Além disso, a camada de creme é considerada como um “flocos concentrado”. Exceções ocorrem em emulsões concentradas, onde a formação de estrutura de rede tipo gel pode ter uma influência estabilizadora.

O fenômeno de *Ostwald ripening* (ou amadurecimento de Ostwald) ocorre porque pequenas gotículas, que apresentam grande área superficial e alta pressão interna por causa da acentuada curvatura de superfície vão diminuindo com o tempo até desaparecerem (Liu *et al.*, 2019; Ryu *et al.*, 2018, 2019; Zhao *et al.*, 2020). A força motriz para esse fenômeno é a diferença de solubilidade entre gotas menores e maiores (Taylor, 1998; Weers, 2007). Gotas pequenas com um raio r_1 possuem maior solubilidade do que gotas maiores com raio r_2 , o que é representado pela equação de Kelvin (Equação 11), que relaciona a solubilidade de uma gota ou partícula $S(r)$ com a de uma gota com um raio infinito $S(\infty)$, em que γ é a tensão interfacial líquido/líquido ou sólido/líquido, V_m é o volume molar da fase dispersa, R é a constante dos gases e T a temperatura absoluta.

$$S(r) = S(\infty) \cdot \exp\left(\frac{2\gamma V_m}{rRT}\right) \quad (11)$$

Com o tempo, a difusão molecular ocorre entre as gotículas menores e maiores, resultando no desaparecimento final da maioria das gotículas pequenas e resultando em uma mudança na distribuição do tamanho das gotículas para valores maiores durante o armazenamento de uma emulsão. Essa instabilidade pode causar problemas graves, como formação de creme ou sedimentação, floculação e até coalescência da emulsão (Clausse *et al.*, 1983; Tadros, 2013). Para duas gotas com raios r_1 e r_2 , ($r_1 < r_2$), tem-se a chamada Equação de Ostwald (Equação 12), que demonstra que quanto maior a diferença entre r_1 e r_2 , maior a taxa de amadurecimento de Ostwald.

$$\frac{RT}{V_m} \ln \left[\frac{S(r_1)}{S(r_2)} \right] = 2\gamma \left[\frac{1}{r_1} - \frac{1}{r_2} \right] \quad (12)$$

A redução do efeito do amadurecimento de Ostwald, de acordo com Huguchi e Misra (1962), pode ser pela adição de uma pequena proporção de um óleo altamente insolúvel. Nesse caso, os autores previram que haveria um alto particionamento das gotas, e os componentes com menor solubilidade formariam as menores gotas (Higuchi e Misra, 1962). Essa alteração foi sugerida com base no equilíbrio que ocorre durante o amadurecimento, em que a diferença de potencial químico entre gotas de diferentes tamanhos, resultante de efeitos de curvatura, é balanceado pela diferença de potencial químico resultante do particionamento dos componentes da emulsão. Outra possibilidade

é a modificação da camada interfacial para a redução da instabilidade, como o uso de surfactantes fortemente adsorvidos na interface, que não sofram dessorção durante o armazenamento (Clausse *et al.*, 1983).

Para que a coalescência ocorra, duas gotas de uma emulsão devem estar em próximas ou em contato, seja em flocos, creme, ou pelo movimento Browniano, formando uma fina camada na forma de um filme entre as gotas. A coalescência é o resultado da ruptura desse filme interfacial, resultando na fusão, adesão ou *engulfment* (“engolimento”) das gotas. Esse fenômeno possui dois principais aspectos, a natureza das forças atuando através do filme interfacial, e os aspectos cinéticos associados com as flutuações locais na espessura do filme. Em relação as forças através do filme, duas regiões são de interesse, sendo a primeira associada a forças de longo alcance de van der Waals e da dupla camada elétrica, descritas por interações eletrostáticas e pela teoria DLVO (Deyaguin-Landau-Verwey-Overbeek), e o sendo com as interações estéricas, em que tais interações precisam ser rompidas para que haja a ruptura do filme. Van den Tempel derivou uma expressão para a taxa de coalescência de gotas de emulsão assumindo que a taxa é proporcional ao número de pontos de contato entre as gotas em um agregado (Tempel, van den, 1953). O número médio de gotas n_a em um agregado em um tempo t é dado pela teoria de Smoluchowski. O número de gotas n que ainda não foram combinadas em agregados em um tempo t é dado pela Equação 13, em que n_0 é o número inicial de gotas.

$$n = \frac{n_0}{(1+kn_0t)^2} \quad (13)$$

O número de agregados n_v é dado pela Equação 14, e o número total de gotas n_a é representado pela Equação 15 e 16, que representam a taxa de floculação.

$$n_v = \frac{kn_0^2t}{(1+kn_0t)^2} \quad (14)$$

$$n_0 - n_t = n_0 \left[1 - \frac{1}{(1+kn_0t)^2} \right] \quad (15)$$

$$n_a = \frac{n_0 - n_t}{n_0} = 2 + an_0t \quad (16)$$

Se m é o número de gotas separadas em um agregado, então $m < n_a$ caso alguma coalescência tenha ocorrido; m é ligeiramente menor do que n_a se a coalescência for lenta, enquanto $m \rightarrow 1$ se for rápida. Logo, a taxa de coalescência é proporcional a $m-1$. Em emulsões suficientemente diluídas, os pequenos agregados geralmente contêm uma gota grande junto com uma ou duas pequenas e são formados linearmente. Assim, n_v diminui

em proporção direta a $m - 1$, enquanto m aumenta ao mesmo tempo por adesão a outras gotículas. A taxa de aumento causada pela floculação é dada pela Equação 17, que integrada em condições de contorno ($m=2$ e $t=0$) resulta na Equação 18.

$$\frac{dm}{dt} = an_0 - K(m - 1) \quad (17)$$

$$m - 1 = \frac{an_0}{K} + \left(1 + \frac{an_0}{K}\right) \exp(-KT) \quad (18)$$

O número total de gotículas, floculadas ou não, em uma emulsão coagulante no tempo t é obtido pela adição do número de gotículas primárias que não reagiram ao número de gotículas nos agregados, conforme Equação 19, que representa que a mudança no número de gotículas com o tempo depende do número inicial de gotículas n_0 .

$$n = n_t + n_v m = \frac{n_v}{1 + kn_0 t} + \frac{kn_0^2 t}{(1 + kn_0 t)^2} \left[\frac{kn_0}{K} + \left(1 - \frac{kn_0}{K}\right) \exp(-Kt) \right] \quad (19)$$

Van den Tempel simplificou a Equação 19 por meio de três aproximações: i) em emulsões concentradas, $kn_0 \gg K$ e em sistemas reais, $kn_0 \geq 1$, resultando na Equação 20; ii) em emulsões muito diluídas, kn_0/K é muito pequeno se a coalescência for rápida, resultando na equação de Smoluchowski; iii) se o grau de coalescência é baixo, o termo exponencial da Equação 19 pode ser expandido em uma série de potência, resultando na Equação 21 (Tempel, van den, 1953).

$$n = \frac{n_0}{Kt} [1 - \exp(-kt)] \quad (20)$$

$$n = n_0 \left[1 - \frac{Kt}{(1 + kn_0 t)} + \frac{Kt}{(1 + kn_0 t)^2} \right] \quad (21)$$

Posteriormente, Davies e Rideal (Davies e Rideal, 1962) propuseram a Equação 22 para descrever a coalescência, levando em consideração um novo termo de barreira energética associado a presença de um estabilizante, em que V é o volume das gotas de emulsão, φ é a fração volumétrica da fase dispersa, D é o coeficiente de difusão das gotas e R é o raio de colisão.

$$V = \frac{\varphi}{n_0} + 4\pi DR\varphi t \quad (22)$$

Combinando com a Equação de Stokes-Einstein, que define o coeficiente de difusão D (Equação 23) e adicionando um termo de barreira energética (ΔG), após a derivada em

relação a t , a taxa de coalescência de uma emulsão óleo/água é dada pela Equação 24, em que η_w é a viscosidade da água e C_1 é o fator de colisão.

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta R} \quad (23)$$

$$\frac{dV}{dt} = \frac{4\phi kT}{3\eta_w} \exp\left(-\frac{\Delta G}{kT}\right) = C_1 \cdot \exp\left(-\frac{\Delta G}{kT}\right) \quad (24)$$

Como solução para redução da coalescência, é proposto o uso de surfactantes mistos, alteração da viscosidade interfacial, formação de fases líquidas cristalinas e uso de polímeros como surfactantes (Mwangi *et al.*, 2020).

Os surfactantes, conforme descrito anteriormente, são moléculas tensoativas que possuem um domínio hidrofílico e um hidrofóbico em sua estrutura molecular, que permitem interações com as fases aquosa e oleosa (Pavoni *et al.*, 2020). Entre os principais tipos de surfactantes utilizados, existem: tween 20[®], span 85[®], brij 97[®], polisorbato 80, lecitina de soja, polissacarídeo solúvel de soja, caseinato de sódio, proteínas de soro de leite, entre outros (Barbon *et al.*, 2020; Donsì e Ferrari, 2016; Li, Z. *et al.*, 2018). O tipo de surfactante e suas propriedades físico-químicas, como concentração micelar crítica e balanço hidrofílico-lipofílico, desempenham um papel muito importante na estabilização da emulsão (Tehrani-Bagha, 2016). No entanto, de acordo com legislações ambientais e preocupações com a saúde, o uso de surfactantes tem sido limitado devido ao seu caráter não renovável e não biodegradável. Além disso, os surfactantes usualmente mantem a emulsão estável durante curtos períodos de armazenamento. Assim, como alternativa para essas limitações, verifica-se um crescente interesse no uso de partículas sólidas para a estabilização de emulsões, as chamadas *Pickering emulsions*.

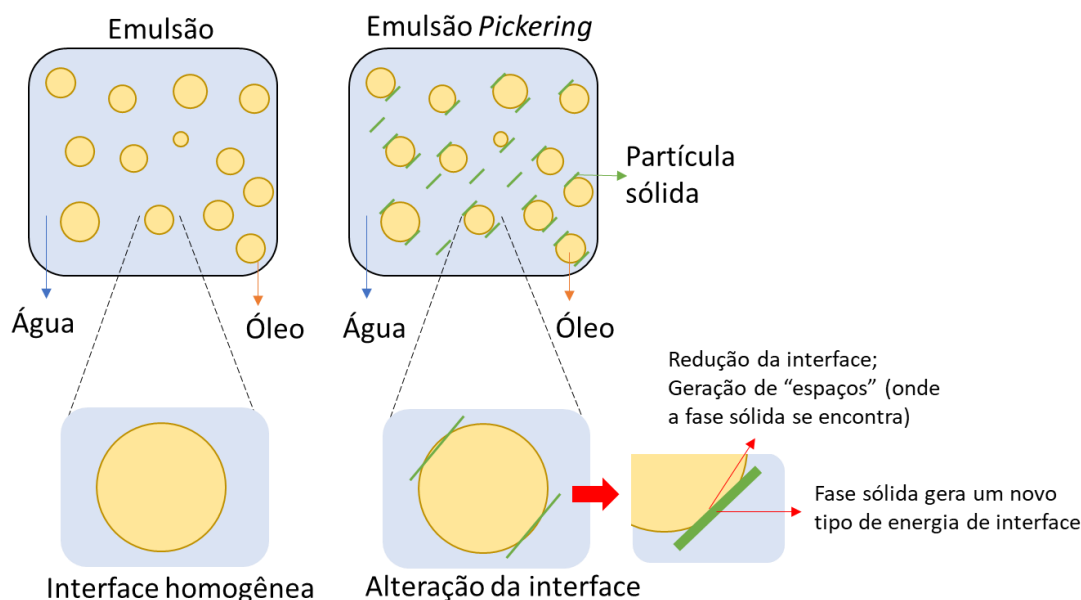
2.2 *Pickering emulsions*

Emulsões *Pickering* foram descritas por um pesquisador com este nome, e por isso a nomenclatura, (Pickering, 1906), após as primeiras observações realizadas por Ramsden (Ramsden, 1903). Ramsden, em seu trabalho, utilizou matéria altamente viscosa para recobrir a superfície de soluções de duas fases, examinando a capacidade do material sólido de reduzir a tensão superficial do sistema (Ramsden, 1903). Esse tipo de emulsão tem como característica a substituição dos surfactantes usualmente utilizados como emulsificantes por partículas sólidas, naturais ou sintéticas, para estabilização da interface óleo:água (Albert *et al.*, 2019). Essas emulsões se destacam pela sua resistência à deformação

consideravelmente maior em comparação com as emulsões estabilizadas com tensoativos convencionais devido à adsorção irreversível de partículas sólidas nas interfaces de dois líquidos imiscíveis

De acordo com Botto e colaboradores, as partículas sólidas são interessantes de serem utilizadas pois, ao serem adsorvidas em uma superfície entre dois líquidos imiscíveis, alteram a energia livre do sistema e o equilíbrio das energias de superfície (Botto *et al.*, 2012). Isso porque a adsorção da partícula reduz a interface líquido-líquido por meio da substituição dos “espaços”, e a fase sólida passa a resultar em uma nova contribuição de energia interfacial, conforme representado esquematicamente na Figura 3.

Figura 3. Representação da mudança interfacial causada pela adição de uma fase sólida ao sistema.



Fonte: Autoria Própria.

Inicialmente, as emulsões eram estabilizadas com partículas perfeitamente esféricas devido a sua regularidade e homogeneidade, e com base nessas partículas, as teorias de energia de adsorção foram formuladas (Binks e Lumsdon, 2000, 2001; Tambe e Sharma, 1993). Nesse tipo de emulsão, considera-se que essa adsorção ocorre por meio de uma ancoragem irreversível das partículas na interface e pela formação de uma rede 3-D como resultado de interações interparticular específicas. Essa interface impede a coalescência de duas gotas após a colisão durante o processamento e armazenamento (Mwangi *et al.*, 2020).

Um dos fenômenos importantes para que o desenvolvimento de emulsões Pickering sejam bem-sucedidas envolve as características de molhabilidade do sistema. Uma superfície muito hidrofílica das partículas sólidas seria totalmente molhada pela água, de

modo que as partículas sólidas não adsorveriam porque permaneceriam dispersas na fase aquosa da emulsão. Na mesma base, partículas também hidrofóbicas são totalmente molhadas pelo óleo. Sob condições de molhamento parcial, os ângulos de contato na água, θ_A , e no óleo, θ_O , são dados pela lei de Young ($\theta_O = \pi - \theta_A$) (Equação 25).

$$\cos(\theta_A) = \frac{(\gamma_{s-o} - \gamma_{s-a})}{\gamma_{A-o}} \cos(\theta_O) = \frac{(\gamma_{s-a} - \gamma_{s-o})}{\gamma_{A-o}} \quad (25)$$

Assim, a energia necessária para que uma partícula sólida seja adsorvida e desorvida das interfaces (energia de desprendimento, ΔE) pode ser expressa pela Equação 26, em que γ_{OA} é a tensão interfacial entre o óleo e a água, R_{esfera} é o raio de uma partícula esférica qualquer, e θ é o ângulo de contato entre as fases. O ângulo de contato é a região de interseção entre a fase dispersa, a fase contínua e as partículas sólidas.

$$\Delta E = \gamma_{OA} \cdot \pi \cdot R_{esfera}^2 \cdot (1 - |\cos\theta|)^2 \quad (26)$$

A morfologia esférica foi a primeira adotada para a estabilização de emulsões, sendo que os materiais mais utilizados foram a sílica, o dióxido de titânio e poliestireno (Nallamilli *et al.*, 2015; Otero, Meeker e Clegg, 2018; Zhao *et al.*, 2010). O interessante das partículas utilizadas pelos autores citados é que, devido as suas matérias primas, foi possível obter esferas de tamanhos nanométricos com estabilidade de até 1,5 anos. Além disso, verificou-se que partículas inorgânicas podem formar pontes auto-montadas entre si, gerando uma rede tridimensional altamente estável (Gonzalez Ortiz *et al.*, 2020).

Dentre as inúmeras outras partículas inorgânicas e esféricas utilizadas, destacam-se nanopartículas magnéticas, nanoargilas, carbonato de cálcio, *quantum dots*, nanotubos de carbono e óxido de grafeno (Briggs *et al.*, 2018, 2015; Komatsu *et al.*, 2018; Zhai, Xiangang *et al.*, 2018). No entanto, devido aos avanços contínuos nesse tipo de estabilização, outras teorias que levassem em consideração partículas de outras formas e anisotrópicas passaram a ser desenvolvidas. Vis e colaboradores descreveram que o R_{esfera} também pode ser o raio de uma partícula “tipo disco”, pois estas possuem uma área superficial adequada para a estabilidade de emulsões (Vis *et al.*, 2015). Posteriormente, Peddireddy e colaboradores deduziram uma fórmula para partículas com formato de haste (*rod-like particles*), apresentada na Equação 27, em que l e q são o comprimento e a espessura das partículas em forma de bastão (Peddireddy *et al.*, 2016).

$$\Delta E = \gamma_{OA} \cdot l \cdot q \cdot (1 - |\cos\theta|) \quad (27)$$

Pela equação deduzida, os autores afirmam que é necessária mais energia para dessorver partículas do tipo haste ou disco do que esféricas, e consequentemente, partículas não esféricas são potencialmente melhores estabilizadores do que as esféricas. Isso porque essas partículas são capazes de formar redes de enchimento de volume em concentrações inferiores a partículas esféricas de volume hidrodinâmico semelhante, criando uma emulsão mais estável (Katepalli *et al.*, 2017).

Para uma partícula ser um bom estabilizante, também é necessário que a carga superficial das partículas não seja muito alta para repelir uma à outra ao invés de adsorver firmemente nas interfaces entre os dois líquidos imiscíveis, e o tamanho das partículas deve ser muito menor do que o tamanho das gotículas de emulsão desejado (Low *et al.*, 2020). Além disso, de acordo com Ortiz e colaboradores, o tipo e composição química da fase sólida irão atuar diretamente na estabilidade (Gonzalez Ortiz *et al.*, 2020). Outros fatores que atuam na estabilidade das emulsões envolvem a estrutura química e a polaridade do óleo, volume de óleo utilizado, estrutura e densidade da interface.

Enquanto partículas inorgânicas são rígidas e difíceis de serem deformadas, partículas poliméricas são macias e facilmente deformáveis, como o poliestireno e microgéis coloidais (Jiang, Sheng e Ngai, 2020). Nos estudos iniciais, realizados em 2010-2012, a literatura reporta principalmente o uso de esferas e microgéis esféricos como estabilizantes, enquanto trabalhos publicados recentemente têm indicado uma tendência do uso de partículas poliméricas e anisotrópicas advindas de materiais naturais, como celulose, quitina e quitosana, que além de serem bons estabilizantes, também são sustentáveis, biocompatíveis e biodegradáveis (Calabrese *et al.*, 2018; Han *et al.*, 2020; Klemm *et al.*, 2011).

Dentre os biopolímeros citados, a celulose é o mais abundante, sendo que anualmente são produzidos aproximadamente $1,5 \times 10^{12}$ toneladas (Dai *et al.*, 2020; Lei *et al.*, 2018). A celulose é considerada uma macromolécula linear constituída de unidades de repetição β -1,4-D-glucopirranose, agregadas por fortes ligações de hidrogênio, que resulta na formação de microfibras, que na natureza, são encontradas recobertas por hemicelulose e lignina. Após tratamentos químicos para a remoção dos componentes não celulósicos, é possível obter microfibras celulósicas que, ao tratadas por tratamentos mecânicos, químicos ou biológicos, são convertidas para a nanoescala (nanocelulose) (Ferreira *et al.*, 2019; Jonoobi *et al.*, 2015; Kano, Souza e Rosa, 2019; Souza *et al.*, 2019).

As nanoceluloses (NCs) podem ser obtidas a partir de diferentes matérias primas (como madeira, algodão, algas, animais marinhos e bactérias), possuir vários graus de

agregação, e inúmeras morfologias, como esférica, poligonal, cristais, fibras, bastões (*rod-like*), entre outras. A fonte de celulose, o método de extração, a morfologia e o tamanho de partícula são fatores que podem modular as propriedades da nanocelulose obtida e influenciar a orientação e empacotamento da interface entre óleo e água (Huang, S. *et al.*, 2020). As nanoceluloses, como partículas anisotrópicas, tem como característica, conforme descrito anteriormente, uma relação entre a sua molhabilidade e a estabilidade da emulsão, sendo esta propriedade avaliada pelo ângulo de contato. Quando as partículas estão fortemente aderidas à interface, a alta energia de dessorção (ΔE) garante essa estabilidade, sendo que, no caso das NCs, essa energia pode ser expressa pela Equação 28, com $0 \leq \theta \leq 90^\circ$, em que γ_{OA} é a tensão interfacial, e a e b são dimensões dos semieixos das nanopartículas.

$$\Delta E = \gamma_{OA} \cdot \pi \cdot b^2 \cdot (1 - |\cos\theta|)^2 \cdot \left[1 + \frac{4(\frac{a}{b}-1)(\sin\theta - \theta\cos\theta)}{\pi(1-\cos\theta)^2} \right] \quad (28)$$

Essa equação corrobora com o apresentado por diversos autores, que reportam que para partículas maiores de 10 nm, é necessária uma energia muito alta para dessorver a nanocelulose da superfície dos óleos, considerando, então, este fenômeno como adsorção irreversível (Hu *et al.*, 2015; Whitby e Wanless, 2016).

Além disso, essa equação é válida para a orientação planar, ou seja, paralela à interface (formação de uma monocamada). Isso porque essa orientação é o estado mais energeticamente favorável para partículas anisotrópicas, sendo que nessa direção há uma maior área superficial em contato com a interface (Botto *et al.*, 2012). No trabalho realizado por Cherhal e colaboradores, verificou-se que a nanocelulose normalmente encontra-se paralelamente à superfície da gota, sendo que os grupos C-H da celulose interagiram com cadeias do óleo (Cherhal, Cousin e Capron, 2016). De acordo com Kalashnikova *et al.* (2012), a face hidrofílica [(010) β /(110) α , (1 $\bar{1}$ 0) β /(100) α] e o plano de aresta hidrofóbico [(200) β /(220) α] de faces cristalinas de celulose dotam suas nanopartículas com um característica anfifílica, que é benéfica para estabilizar emulsões (Kalashnikova *et al.*, 2012).

2.2.1 Nanocelulose como fase sólida

Uma vez que a morfologia (tamanho e forma) e carga superficial das partículas dominam a estabilidade das emulsões *Pickering*, o formato da nanocelulose e suas cargas possuem alta influência na formação da interface, uma vez que estas características alteram

a reologia da emulsão, forças capilares, razão de aspecto e efeitos de ordenação das partículas ao redor das gotas (configuração da interface) (Saffarionpour, 2020).

As nanoceluloses possuem duas principais formas quando preparadas por metodologias top down (da macro para a nanoescala): nanocristais (CNC) e nanofibras (CNF). Os CNCs são normalmente produzidos pela remoção da região amorfa por hidrólise ácida ou oxidação e retendo a região cristalina, possuindo morfologia semelhantes a hastes ou cristais (Angkuratipakorn et al., 2017; Buffa et al., 2018; Mondal, 2017). Em geral, os diâmetros variam entre 10 e 100 nm, e comprimentos entre 50 e 300 nm. Já as CNFs são normalmente preparadas por métodos mecânicos, como moagem, microfluidização ou homogeneização, que resultam na desfibrilação ou desintegração de fibras em partículas menores, com elevados comprimentos e pequenos diâmetros, com menor densidade de cargas e defeitos superficiais, porém com elevada flexibilidade (Carvalho et al., 2019; Piras, Fernández-Prieto e Borggraeve, 2019). A nanocelulose apresenta as vantagens de baixa densidade, alta resistência mecânica, alta área de superfície específica e boa biocompatibilidade.

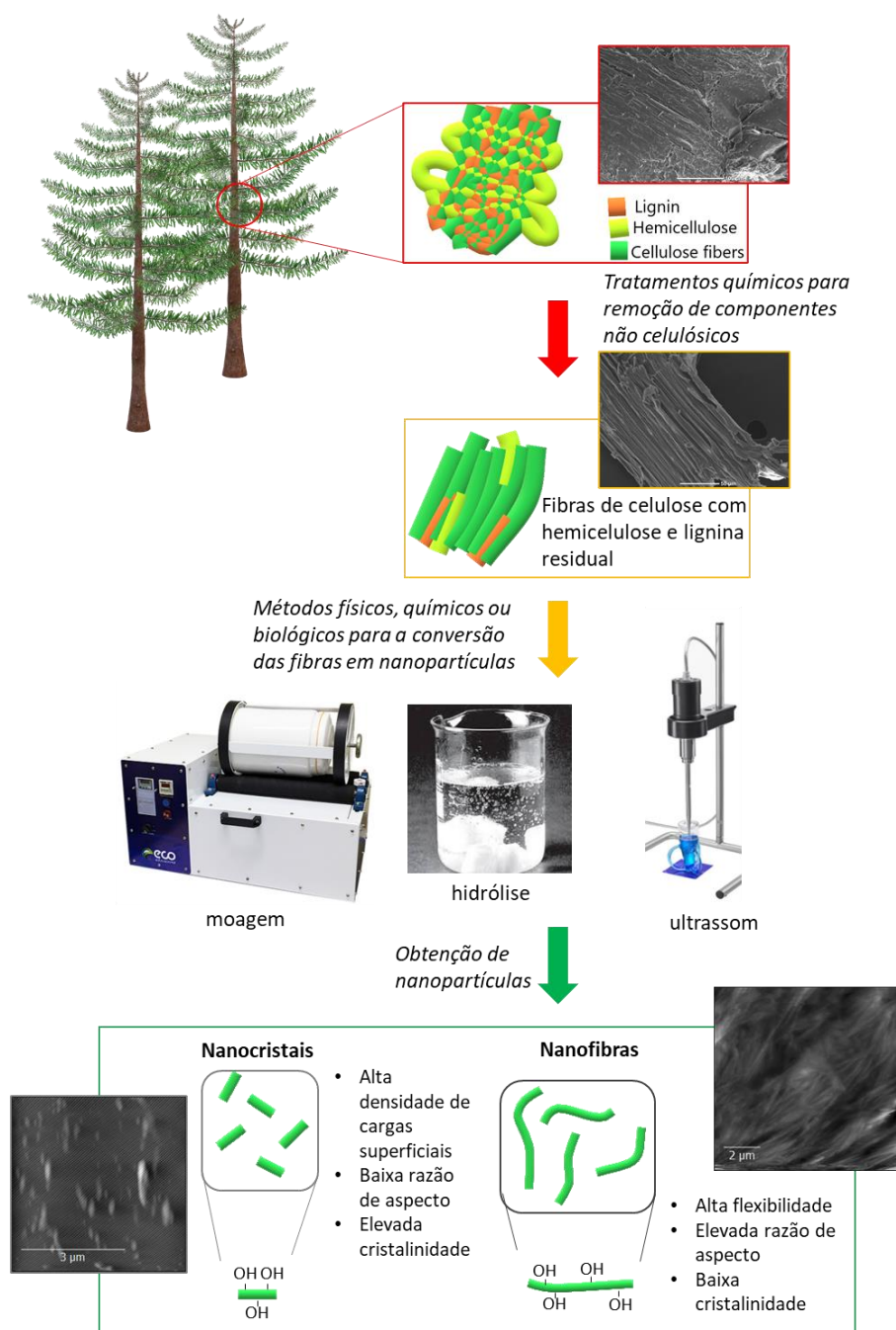
A Figura 4 ilustra resumidamente o processo de obtenção de nanocelulose a partir de fontes vegetais, desde os tratamentos químicos utilizados para a remoção dos componentes não celulósicos, até as etapas de isolamento e as morfologias comumente encontradas, com suas principais características.

Apesar das diferenças de características e propriedades intrínsecas, ambas as morfologias possuem hidroxilas superficiais, sendo boas opções para estabilizar interfaces entre líquidos, uma vez que possuem uma natureza anfifílica e são anisotrópicas, requerendo baixos teores de sólidos para percolação, resultando em géis e estruturas auto-montadas de alta viscosidade (Silva *et al.*, 2020). Além da influência morfológica, Bertsch e colaboradores reportaram que a estrutura química e polaridade do óleo essencial influenciam na forma como as nanopartículas serão posicionadas ao redor das gotas e o mecanismo de estabilidade que irá prevalecer (Bertsch e Fischer, 2020). No entanto, poucos trabalhos fazem uma investigação aprofundada dessa abordagem em estudos de adsorção e emulsificação.

Outro ponto de destaque é que a nanocelulose é capaz de se dispersar em alguns solventes polares fortes (especialmente água) devido à forte interação entre as hidroxilas da superfície e as moléculas do solvente. No entanto, as ligações de hidrogênio entre as NCs podem levar a agregação em nível micro, o que tem resultado em trabalhos que

investiguem uma modificação superficial adequada com base nas propriedades desejadas, visando alterar a hidrofiliicidade da superfície (Chu *et al.*, 2020; Thomas *et al.*, 2018).

Figura 4. Representação esquemática do processo de obtenção de celulose a partir de fontes vegetais, desde os tratamentos químicos para remoção de componentes não celulósicos, até a morfologia final (nanocristais ou nanofibras).



Fonte: Autoria Própria.

2.2.2 Comportamento de nanocelulose em interfaces líquido-líquido

Os primeiros estudos sobre emulsificação com materiais celulósicos envolveram celulose microfibrilada (MFC). A hidrofilicidade de fibrilas de celulose, por exemplo, em nanofibras de celulose com diâmetro abaixo de 100 nm favorece a formação de emulsões óleo-em-água (O/W) sem a necessidade de uma redução significativa na tensão interfacial (Oza e Frank, 1986). Nesse primeiro estudo, as emulsões estabilizadas com NC foram bastante insensíveis a mudanças na força iônica, pH e temperatura, ao contrário dos emulsificantes convencionais. A molhabilidade parcial das NCs por fluídos é um fator crítico para a sua migração, adsorção e estabilização nas interfaces. Além disso, fatores como morfologia, tensão interfacial e forças intermoleculares também são importantes para determinar a capacidade das nanoceluloses de estabilizar as interfaces líquido-líquido.

As nanoceluloses, CNF ou CNC, contendo uma grande quantidade de grupos hidroxila, são frequentemente consideradas como fibras hidrofílicas, sendo que os planos cristalinos são conhecidos por serem mais hidrofóbicos e menos propensos a fixação ou modificação do que as outras superfícies, em que podem ocorrer ligações de hidrogênio (Mazeau, 2011). Isso está de acordo com a hipótese de Lindman segundo a qual a baixa solubilidade da celulose em água se deve às interações van der Waals entre as cadeias celulósicas. De acordo com Capron et al. (2017), nanoceluloses podem ser adsorvidas em interfaces óleo/água enquanto induzem pequenas alterações na interface, ou seja, as propriedades de molhabilidade tendem a deformar a NC para acomodar as nanopartículas à curvatura da gota (Capron, Rojas e Bordes, 2017). A adsorção das NCs na superfície das gotas e sua acomodação resultam em uma cobertura superficial das gotas por nanoceluloses (Hua, Frechette e Bevan, 2018; Wang *et al.*, 2007).

Bertsh e colaboradores (2018) investigaram a cinética de adsorção de NCs em uma interface de fluido. Em seu estudo, foram tratadas isotermas de adsorção obtidas pela pressão de superfície em função do tempo, variando-se a concentração de CNC, sendo que os resultados indicaram uma cobertura de superfície crescente em função da concentração em massa de CNC com uma saturação de monocamada a 0,5% em massa (Bertsch *et al.*, 2018). Para que as isotermas fossem obtidas, utilizou-se a abordagem proposta por Du e colaboradores (2010), que relacionou a pressão de superfície (Π) medida com a energia de uma partícula adsorvida ΔE , fração de área de superfície coberta η , e área coberta por uma única partícula (A), de acordo com a Equação 29. Essa proposta negligencia a interação entre as partículas (Du *et al.*, 2010).

$$\Pi = - \frac{\Delta E \eta}{A} \quad (29)$$

Outros autores também investigaram o processo de adsorção utilizando medidas de pressão de superfície para analisar a influência da carga superficial das partículas na estabilização das emulsões. Estudos indicam que a presença de cargas pode induzir a repulsão eletrostática e impedir a adsorção de partículas carregadas na interface (Leunissen *et al.*, 2007), sendo possível inferir que NCs não conseguem estabilizar emulsões além de uma densidade de carga crítica (Pandey *et al.*, 2018). Ao contrário das cargas superficiais, o tamanho das NCs não demonstrou efeito significativo na pressão de superfície (Botto *et al.*, 2012). Isso porque, uma vez que as partículas são anisotrópicas, estas se distorcem para se adequar ao efeito de adsorção (Jiang e Hsieh, 2015).

O acúmulo de partículas na interface óleo-água é um parâmetro chave para evitar a coalescência das gotículas por volume de exclusão e impedimento estérico. A rede de partículas impede que as interfaces óleo-água entrem em contato, sendo que a cobertura superficial pode ser calculada a partir do número de partículas na interface em comparação com a área da superfície da gota. Uma vez que as partículas são irreversivelmente adsorvidas, o processo de coalescência ocorre enquanto a interface óleo-água estiver insuficientemente coberta (Arditty *et al.*, 2004). As emulsões estabilizadas por partículas sólidas exibem, então, um diâmetro de gota que é controlado pela massa das partículas e pelo seu empacotamento na interface. Em concentrações mais altas em que ocorre excesso de partículas, a proporcionalidade não se sustenta mais; o diâmetro da gota não diminui mais com o aumento da concentração das NCs. Neste ponto, a introdução de mais partículas na interface induz a densificação da camada sólida devido à orientação das NCs.

Múltiplos fatores estão envolvidos na estabilização de Pickering da interface líquido-líquido por nanoceluloses não modificadas. As propriedades reológicas interfaciais aprimoradas caracterizam melhoria nas propriedades viscoelásticas da interface. No entanto, a adsorção e a molhabilidade, governadas pelas interações interfaciais e intermoleculares entre as nanoceluloses e a interface, são críticas para determinar se uma interface líquido-líquido pode ser estabilizada por nanoceluloses não modificadas ou não. Além disso, a concentração de NCs também afeta sua capacidade de estabilizar a interface junto com a carga superficial das partículas. As forças intermoleculares e interações de superfície que regem a estabilização da interface líquido-líquido variam com os componentes e condições do sistema, no entanto, pode-se concluir que a repulsão eletrostática de dupla camada entre partículas carregadas, ligação H entre nanoceluloses,

força de van der Waals e forças de atração são os principais aspectos que devem ser considerados (Parajuli *et al.*, 2019).

Nos últimos anos, a literatura tem focado na investigação de nanoceluloses modificadas para garantir uma boa emulsificação das emulsões. No entanto, ainda existem questões acerca do uso de NCs não modificadas, como mudanças na tensão interfacial, como as NCs se comportam em interfaces fluídas devido aos seus planos hidrofílicos e hidrofóbicos, a dependência da polaridade do óleo e o efeito da química de superfície no comportamento de adsorção (Bertsch e Fischer, 2020).

Sabendo-se que as características de partículas como tamanho, forma, natureza da superfície e interações entre partículas, além de informações sobre a interface e molhabilidade, podem afetar as propriedades das emulsões de *Pickering*, verifica-se diferentes frentes de pesquisa abordadas, desde a extração da nanocelulose, sua modificação, propriedades e aplicações, até o estudo das emulsões e seus diferentes usos (Abdul Khalil *et al.*, 2014; Dai *et al.*, 2020; Gestranus *et al.*, 2017; Li e Chen, 2020; Prathapan *et al.*, 2016). Devido a ampla gama de informações divergentes que são apresentadas na literatura, o uso de nanocelulose como estabilizante de *Pickering emulsions* tem se mostrado uma área com bastante *gap* de informações, desde os mecanismos de estabilização até a interface gerada. O que se sabe, até o momento, é que camadas de nanocelulose adsorvidas podem estabilizar interfaces fluídas por uma diminuição na tensão interfacial, repulsão eletrostática e/ou estérica, e formação de camadas interfaciais viscoelásticas (Bergfreund *et al.*, 2019; Bertsch *et al.*, 2019).

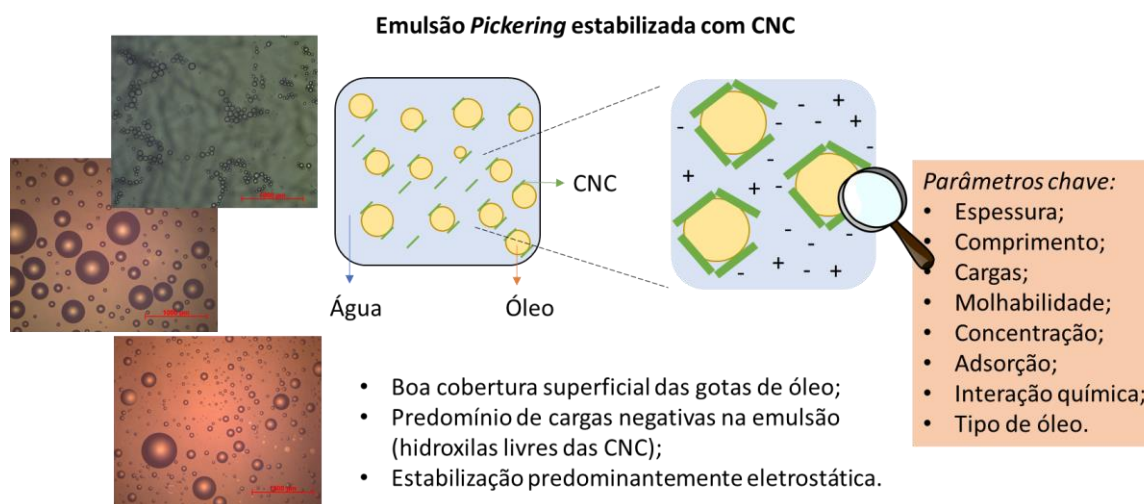
2.2.3 Nanocristais de celulose em *Pickering emulsions*

Conforme descrito anteriormente, os CNCs possuem elevada cristalinidade e diâmetros e comprimentos de poucos nanômetros. Além de seus benefícios associados a tamanhos e anisotropia, CNCs possuem regiões funcionais abundantes como resultado das unidades de glicose anidra, sendo considerados como nanocristais de celulose funcionais com características especiais para diversas aplicações (Eichhorn, 2011). Devido a sua morfologia similar a uma haste, CNCs podem resultar na formação de uma monocamada, gerando maior estabilidade e aplicação em emulsões. De acordo com Sarkar e colaboradores, o uso de CNCs em emulsões *Pickering* é favorável devido a sua tendência de ordenação heterogênea, que forma uma barreira estérica melhorada e resistência mecânica com cargas de partículas mais baixas em comparação com partículas esféricas (Sarkar *et al.*, 2019). Kalashnikova *et al.* (2013), em seu trabalho, verificaram que a razão

de aspecto do CNC pode influenciar a cobertura superficial das gotas de emulsão, mostrando uma organização densa com alta cobertura superficial (84%) para CNC de baixa proporção (L/D=13) enquanto uma rede de gotículas interconectadas com baixa cobertura superficial (44%) para CNC de alta proporção (L/D=160), mas levando a uma estabilidade semelhante das emulsões (Kalashnikova *et al.*, 2013). Isso porque, enquanto menores comprimentos estabilizam por cargas eletrostáticas (hidroxilas), maiores comprimentos resultam em impedimento estérico na região adjacente as gotículas adsorvidas, resultando em uma estrutura de rede estável.

De acordo com Capron *et al.* (2017), em emulsões estabilizadas com CNCs, verifica-se que as nanopartículas se organizam nas interfaces e são confinados em uma camada. Quando a repulsão efetiva entre CNC-CNC é atenuada pela presença de um sal ou pela ausência de éteres de sulfato (pode ocorrer devido a hidrólise ácida), os CNCs tendem a se organizar primeiro em uma configuração 2D, como consequência do confinamento interfacial e então se reorganizam de maneira diferente das associações originais em massa. No entanto, apesar de um encurtamento do alcance das interações repulsivas, os CNCs permanecem no plano interfacial (Capron, Rojas e Bordes, 2017). A Figura 5 apresenta uma representação esquemática da estabilização de emulsões com nanocristais de celulose.

Figura 5. Emulsões do tipo *Pickering* estabilizadas com nanocristais de celulose.



Fonte: Autoria Própria.

A literatura reporta amplamente o estudo de CNC como estabilizante, por considerar que nanocristais possuem morfologia, dimensões e propriedades de superfície bem estabelecidas e controladas, o que reflete um amplo número de publicações (Angkuratipakorn *et al.*, 2017; Kasiri e Fathi, 2018; Pandey *et al.*, 2018; Saidane *et al.*, 2016; Shin *et al.*, 2019; Varanasi *et al.*, 2018). Em uma busca realizada na base de dados

Web of Science, em 09/02/2022, foram associadas as palavras-chave “*Pickering emulsion*” e “*cellulose nanocrystals*”, resultando em 394 publicações, com tendência de aumento de nos últimos 5 anos, sendo, do total, 64 em 2018, 80 em 2020 e 87 em 2021. Ao combinar os termos “*emulsion*” e “*cellulose nanocrystals*”, foram obtidos 559 resultados, sendo, do total, 88 em 2018, 102 em 2020 e 121 em 2021.

Qi e colaboradores (2021) prepararam emulsões oleogel/água estabilizadas por CNCs, sendo a fase oleosa constituída de óleo de soja e cera de abelha. Os autores reportaram que aumentar a concentração de cera de abelha de 2 para 15% m/v, e a fração oleosa de 0,1 a 0,4 resultou em um aumento no tamanho de gota, viscosidade e resistência do gel. Além disso, aumentar a concentração de CNCs resultou em uma diminuição do tamanho das gotas e aumento de viscosidade, indicando que as emulsões desenvolvidas podem ser empregadas em aplicações alimentícias (Qi, W. *et al.*, 2021). Bai e colaboradores (2019) prepararam emulsões Pickering estabilizadas com CNC, utilizando metodologia de fluidização, visando obter uma emulsão de baixa viscosidade (Bai *et al.*, 2019). Os autores apresentam como inovação do trabalho a metodologia de processo com base em diferentes óleos (milho, peixe, girassol e laranja). Verificou-se que a estabilidade variou diretamente com a concentração de CNC e o aumento na viscosidade. Apesar da grande variação de óleos, os autores não correlacionaram os óleos com sua influência no processo de preparação e mecanismos de estabilidade.

Wen e colaboradores (2014) prepararam emulsões de óleo essencial D-limoneno estabilizadas com CNC (Wen *et al.*, 2014). As nanocelulose foram obtidas via hidrólise com persulfato de amônio, e não foram modificadas após a obtenção. Os autores reportaram que elevada potência de sonicação e tempos contendo 0,2% em massa de CNC resultou em estabilidade satisfatória. Apesar da investigação sobre o efeito de diversos parâmetros que alteram o equilíbrio da emulsão, não houve uma investigação aprofundada sobre o mecanismo de estabilização. Shin e colaboradores (2019) prepararam emulsões de óleo essencial de timol estabilizadas com CNC, e observaram que a concentração de CNC afeta a distribuição de tamanho das gotas emulsionadas (Shin *et al.*, 2019). Além disso, as emulsões demonstraram excelentes propriedades antimicrobianas contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, bem como efeito larvicida.

Meirelles *et al.* (2020) prepararam nanocristais de celulose a partir de celulose microcristalina e as empregaram em emulsões O/A (óleo de linhaça) com aspecto opaco, sendo estas homogêneas e cineticamente estáveis durante poucos dias. Os autores verificaram que pequenas gotículas geradas durante o processo poderiam ser cobertas por

nanopartículas de celulose que atuaram como uma barreira mecânica efetiva contra a coalescência de gotículas em um mecanismo de Pickering. Ao comparar as concentrações de 0,5 e 1% em massa de CNCs, a menor concentração apresentou melhor estabilidade cinética (Meirelles, Costa e Cunha, 2020). Ma e colaboradores (2022) prepararam emulsões com alto teor de óleo (acima de 74%) estabilizadas com CNCs. Foi reportado que utilizando 80% de óleo, a concentração de 0,5% em massa de nanocristais (em relação ao óleo) resultou em emulsões estáveis ao longo de 22 dias, comportamento pseudoplástico e alta viscosidade. Os autores avaliaram as emulsões desenvolvidas para impressão 3D, resultando em formas 3D de alta resolução e fidelidade de forma, possíveis de aplicação em fabricação de alimentos, sistemas de entrega de nutrição e engenharia de tecidos biomédicos (Ma *et al.*, 2022).

Autores também reportam a influência da modificação superficial da nanocelulose para a estabilização das emulsões, utilizando abordagens como acetilação, adição de grupos carboxilas, além de surfactantes e inúmeros outros reagentes químicos com grupos reativos. Tang e colaboradores prepararam emulsões Pickering com CNC anfífilos, em emulsões de tolueno e hexadecano, sendo que o isolamento dos nanocristais foi via hidrólise ácida, seguido por uma modificação pela introdução de cadeias hidrofóbicas (poliestireno) (Tang *et al.*, 2018). Os autores investigaram propriedades como concentração de partículas, eletrólitos e polaridade do solvente, e observaram que os sistemas alcançaram boa estabilidade, além de serem ambientalmente atrativos como uma ampla variedade de aplicações. Costa *et al.* (2022) prepararam emulsões O/A estabilizadas por CNCs e proteínas de girassol e verificaram que a mistura destes resultou em emulsões estáveis e sem a formação de creme devido a inicial adsorção e ancoragem das proteínas, seguida pela adsorção dos CNCs nos espaços livres da interface, e finalmente pela interação das CNCs não adsorvidas no processo com as adsorvidas, resultando em um aumento de viscosidade do sistema (Costa *et al.*, 2022).

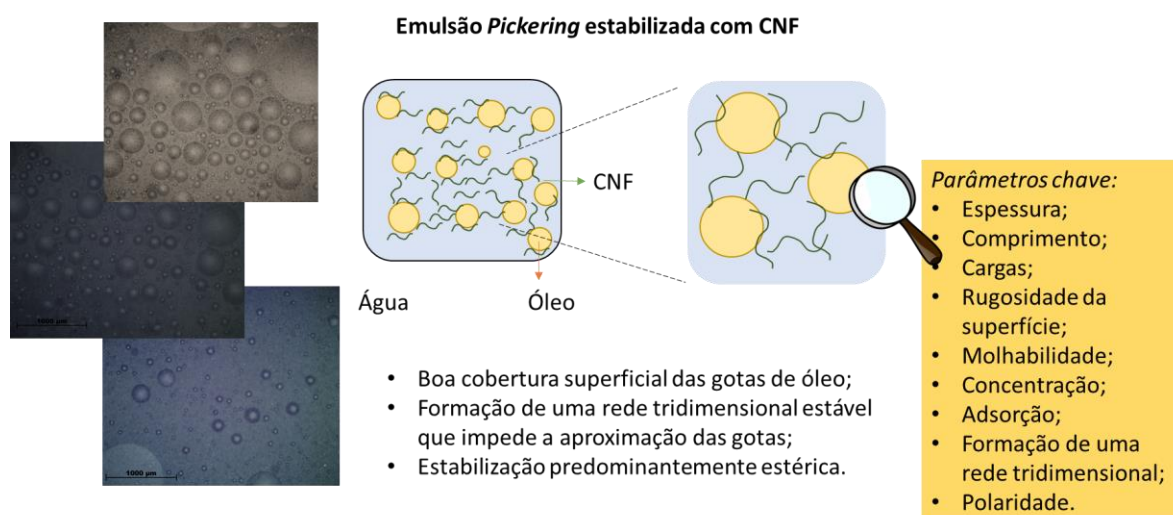
No entanto, apesar de haver uma grande variedade de trabalhos publicados, verifica-se que os mecanismos de estabilização e a investigação da influência das substâncias químicas não são estudadas no fundo, resultando em uma lacuna de informações que são essenciais na preparação de *Pickering emulsions* estabilizadas com CNC.

2.2.4 Nanofibras de celulose em Pickering emulsions

As nanofibras de celulose, conforme citado anteriormente, apresentam similaridade química com as CNC devido a sua estrutura química celulósica. No entanto, estes materiais

possuem elevados comprimentos, na ordem micrométrica, e diâmetros de até 100 nm, alta razão de aspecto, boa flexibilidade e alta viscosidade quando dispersas em solução. Em emulsões Pickering, CNFs com alto L/D podem induzir uma rede emaranhada na fase aquosa que fornece uma barreira e uma camada de proteção ao redor das gotículas de óleo, inibindo assim a coalescência das gotículas (Li *et al.*, 2021). Isso porque as fibras flexíveis são capazes de adsorver em gotículas vizinhas simultaneamente se forem longas o suficiente e também podem fornecer emulsões estabilizadoras de impedimento estérico mais fortes (Lu *et al.*, 2019). CNFs não modificados demonstraram capacidade de estabilizar frações de volume de emulsão mais altas do que CNCs, devido à formação de uma rede de gotículas interconectada. Este comportamento diverge dos CNCs, que produzem gotas bem individualizadas (Xhanari *et al.*, 2011). A Figura 6 apresenta uma representação esquemática da estabilização de emulsões com nanofibras de celulose.

Figura 6. Emulsões do tipo *Pickering* estabilizadas com nanofibras de celulose.



Fonte: Autoria Própria.

Verificou-se que o uso de CNFs como estabilizantes em emulsões possui menor número de trabalhos publicados, havendo pouca informação disponível quando comparadas a emulsões contendo CNCs. Em uma busca realizada na base de dados *Web of Science*, em 09/02/2022, foram associadas as palavras-chave “*Pickering emulsion*” e “*cellulose nanofibrils*”, resultando em 102 publicações, sendo, do total, 8 em 2018, 28 em 2020 e 34 em 2021. Ao combinar os termos “*emulsion*” e “*cellulose nanofibrils*”, foram obtidos 159 resultados, sendo, do total, 14 em 2018, 35 em 2020 e 44 em 2021. No caso de o termo “*cellulose nanofibrils*” ser substituído por “*cellulose nanofibers*”, os resultados

foram 78 e 182 publicações para as associações com os termos “*Pickering emulsion*” e “*emulsion*”, respectivamente.

Enquanto os CNC atuam na estabilização de emulsões por meio de estabilização eletrostática, Andresen e Stenius propuseram que CNF formam uma forte rede ao redor das gotas de óleo, prevenindo a coalescência e garantindo a estabilidade da emulsão (Andresen e Stenius, 2007; Xhanari *et al.*, 2011). De acordo com Saelices e Capron (2018), a estabilização de emulsões utilizando CNFs resulta em grandes gotículas que são levemente cobertas, mas conectadas por uma forte rede interconectada. Essa rede é altamente resistente à deformação, porém acima de uma deformação crítica (geralmente cisalhamento), estas podem não retornar ao seu equilíbrio inicial. Nesse caso, é possível que as CNFs sejam rompidas por forças de tração entre gotas ou, como as gotas estão girando, elas podem escorregar na superfície e desorver parcialmente de uma interface para envolver outra e individualizá-la (Jiménez Saelices e Capron, 2018).

Outra influência importante de nanofibras de celulose é que estas formam camadas interfaciais viscoelásticas, com contribuições elásticas dominantes, o que é oposto do observado para nanocristais de celulose, que formam camadas interfaciais viscosas, em que a elasticidade é dependente da blindagem por cargas eletroestáticas. Considerando-se as CNF, as camadas viscoelásticas estão associadas com os elevados comprimentos das fibrilas, que geram dobras e emaranhados que facilitam a formação de uma rede tridimensional, o que resulta em um comportamento não linear a elevadas deformações, e essa rede caracteriza o mecanismo de estabilização estérico (Gestranius *et al.*, 2017; Kalashnikova *et al.*, 2013). Este mecanismo de estabilização depende de serem uma concentração suficientemente alta de partículas não adsorvidas na fase contínua, bem como de uma força de atração apropriadamente atuando entre elas (Jiménez Saelices e Capron, 2018). No caso das CNFs, pode ocorrer a formação de emulsão-gel, o que é conhecida pela estabilidade a longo prazo (Yan *et al.*, 2020).

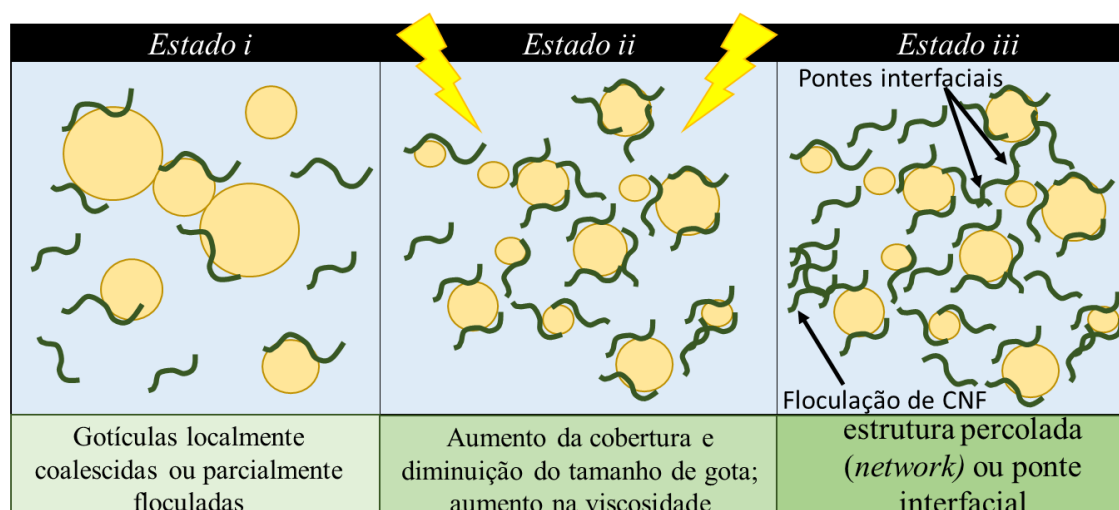
Huan *et al.* (2021) preparou emulsões Pickering contendo CNFs e nanoquitina como estabilizantes, com o objetivo de explorar a complexação de dois nanopolissacarídeos de cargas opostas e sua influência na estabilidade do sistema. Verificou-se que as nanopartículas foram adsorvidas na superfície das gotículas, resultando em uma estabilidade a longo prazo com tolerância a mudanças no pH (por exemplo, 3–11) e força iônica (por exemplo, 100–500 mM) (Huan *et al.*, 2021). Martins, Santos e Spinacé prepararam nanofibras de celulose a partir de eucalipto e as empregaram em emulsões óleo/água, variando as concentrações de CNF de 0,25 a 1% em massa. As emulsões

apresentaram potencial zeta entre -40 e -70 mV, característico de uma barreira elétrica que evitou a coalescência das gotas. Além disso, as concentrações máximas foram entre 0,5 e 0,75% (m/m) de partículas, e acima desse valor, havia separação de fases.

A concentração de partículas, no caso de emulsões estabilizadas com CNF, é um fator essencial pois, se for muito alto, o sistema pode se tornar muito viscoso e difícil de homogeneizar, no caso das CNFs. Já para as CNCs, as interações entre partículas exercem um papel importante, sendo que se as forças de atração forem fortes, as amostras tendem a agregar, sendo incapazes de formar uma emulsão.

De acordo com Lu e colaboradores, o processo de emulsificação e estabilização ocorre em três etapas, conforme Figura 7.

Figura 7. Esquema representativo dos três possíveis estados durante a formação de emulsões do tipo Pickering.



Fonte: Autoria Própria.

As etapas são descritas a seguir: i) com a adição de CNF e energia cinética, ocorre a emulsificação e a formação de interfaces, promovendo a migração das CNFs para a interfaces da emulsão (Lu *et al.*, 2018, 2019) ii) a cobertura da superfície das gotículas cresce gradualmente, acompanhada por uma redução nos diâmetros médios, até um estado de saturação interfacial. Este estado (ii) acontece de acordo com o volume de óleo utilizado e de CNF, e há um aumento na viscoelasticidade do sistema; iii) após a saturação interfacial, as nanopartículas não migram mais para a interface, localizando-se apenas na fase contínua, formando uma estrutura percolada (*network*), por meio da floculação partícula-partícula, ou por uma ponte interfacial (Wu *et al.*, 2011).

Li e colaboradores (2019) prepararam CNF a partir de *Miscanthus floridulus straw*, utilizando diferentes tempos de preparo e nanofibras como emulsificantes de emulsões

O/A. Para avaliar a eficiência das CNFs nas emulsões, os autores investigaram o tamanho de gota por meio de histogramas de distribuição de tamanhos, e a partir dos tamanhos médios obtidos, a área total superficial da gota foi calculada (S_d), de acordo com a Equação 30, em que V_{oleo} é o volume de óleo utilizado, e R é o raio da gota (Li, Xie, *et al.*, 2019).

$$S_d = 4\pi R^2 \times \frac{3V_{oleo}}{4\pi R^3} = \frac{3V_{oleo}}{R} \quad (30)$$

Além disso, é possível calcular a superfície máxima teórica (S_p), de acordo com a Equação 31, em que N_p é a quantidade de CNF, L e I representam o comprimento e a largura das nanopartículas, M_p é a massa das nanopartículas adicionadas na emulsão (g), h é a espessura, ρ é a nanocelulose ($1,6 \text{ g.cm}^{-3}$).

$$S_p = N_p LI = \frac{M_p}{h\rho} \quad (31)$$

Assim, é possível calcular a relação de cobertura superficial (C), de acordo com a Equação 32 (Li, Wang, *et al.*, 2019). Os autores reportaram uma cobertura teórica de 128%, sendo que esse valor representa grandes quantidades de CNFs livres dispersas na fase aquosa, o que pode induzir a coalescência e maiores tamanhos de gotas.

$$C(\%) = \frac{S_p}{S_d} = \frac{M_p R}{3h\rho V_{oleo}} \times 100\% \quad (32)$$

Em seu trabalho, além dos valores teóricos de $C(\%)$, os autores avaliaram o índice de cremação (IC), visando avaliar a estabilidade da emulsão, de acordo com a Equação 33, em que H_s é a altura da camada aquosa e H_t é a altura total da emulsão.

$$CI(\%) = \frac{H_s}{H_t} \cdot 100\% \quad (33)$$

Feng e colaboradores (2020) descreveram, em seu trabalho, a preparação e caracterização de emulsões *Pickering* estabilizadas com gelatina alimentícia na forma de nanopartículas, com posterior caracterização quanto a tamanho de gota, medições reológicas, resistência a centrifugação, tensão interfacial dinâmica e medidas de pressão de superfície (Feng *et al.*, 2020). De acordo com os autores, os diâmetros mais comuns utilizados em emulsões do tipo *Pickering* são $D_{3,2}$ (*Sauter Mean Diameter*) e $D_{4,3}$ (*De Brouckere Mean Diameter*). O parâmetro $D_{3,2}$ é associado ao diâmetro médio superficial (Equação 34), e o $D_{4,3}$ (Equação 35) ao diâmetro médio volumétrico, em que n_i é o número de partículas com diâmetro d_i .

$$D_{3,2} = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2} \quad (34)$$

$$D_{4,3} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \quad (35)$$

De acordo com Bai e colaboradores (2019), o uso do $D_{3,2}$ é comum para emulsões pois se refere à área de superfície específica das gotas de óleo, que determina a quantidade de CNC necessária para cobrir as superfícies das gotas (Bai *et al.*, 2019). Isso porque, a partir desses valores, é possível adequar a Equação 32 e obter o valor “real” de porcentagem de superfície coberta, de acordo com a Equação 36.

$$C(\%) = \frac{M_p D_{3,2}}{3h\rho V_{oleo}} \times 100\% \quad (36)$$

Em seu trabalho, Kalashnikova e colaboradores descrevem que, a partir da morfologia, além da variação na estabilização, também se verificam mudanças na flexibilidade do sistema multifásico, sendo que esta pode ser avaliada utilizando um parâmetro de rigidez eficaz (S^{eff}), proposto por Switzer e Klingenberg, conforme apresentado na Equação 37 (Kalashnikova *et al.*, 2013; Switzer e Klingenberg, 2003).

$$S^{eff} = \frac{E\pi}{64\sigma A_r^4} \quad (37)$$

em que E e A_r são os módulo e razão de aspecto das partículas anisotrópicas, e σ é a tensão de cisalhamento determinada pela viscosidade da matriz (η_m) e taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$). Da equação, tem-se que o S^{eff} é inversamente proporcional a razão de aspecto da nanocelulose, sendo que CNF podem se comportar como fios flexíveis em emulsões (Lu *et al.*, 2019).

Embora a formação e caracterização de emulsões estabilizadas por nanoceluloses estejam bem estabelecidas, os aspectos fundamentais da adsorção e estrutura de NC em interfaces fluidas ainda apresentam aspectos que necessitam que abordagens mais profundas. Os novos insights sobre a adsorção de NC em interfaces de fluidos já ajudaram a responder algumas questões fundamentais no campo, sendo a tensão superficial um aspecto de grande interesse científico (Bertsch e Fischer, 2020). Outro aspecto que tem chamado atenção de pesquisadores é que a estrutura química do óleo utilizado nas emulsões altera o comportamento de adsorção de NCs, bem como o tamanho das gotas e a estabilidade do sistema. A aplicação de emulsões estabilizadas com nanocelulose cobre inúmeras áreas, como a preparação de nanocompósitos poliméricos, a fabricação de

materiais estruturados ou hidrogéis utilizando emulsões como *template*, encapsulamento de compostos bioativos, desenvolvimento de desinfetantes, medicamentos antivirais para a pele, uso em novos compostos visando aumentar o tempo de vida de alimentos, entre outros (Lu *et al.*, 2021). Kumar e colaboradores prepararam *Pickering emulsions* utilizando óleo mineral, carboximetil celulose e nanopartículas de sílica para aplicações em recuperação de petróleo (Kumar, Gaur e Mandal, 2017). Ye e colaboradores prepararam emulsões de padrão alimentício a partir de triglicerídeos de cadeia média utilizando nanopartículas de fitoglicogênio octenil succinato como estabilizante, obtendo uma fase do tipo gel com potencial para aplicação em alimentos (Ye *et al.*, 2018).

Dentre as potenciais aplicações e seus óleos específicos, os óleos essenciais têm recebido elevada atenção devido às suas características físico-químicas e propriedades antibacterianas e antioxidante, que permitem sua aplicação em inúmeros produtos de grau alimentício, limpeza e produtos biomédicos. Isso porque, ao se utilizar nanoceluloses em óleos com atividades antimicrobianas, é possível que as emulsões auxiliem na aderência das gotas à membrana bacteriana devido a alterações morfológicas causadas pelo tipo de nanocelulose. De acordo com Yu e colaboradores (2021), uma superfície rugosa ao redor das gotas pode facilitar o ancoramento das gotas ao redor da bactéria e, conseqüentemente, seu efeito biocida (Yu *et al.*, 2021). Leclercq *et al.* (2021) prepararam emulsões antimicrobianas de base biológica visando a erradicação de *E. coli* e *S. aureus*. Os autores se basearam na automontagem de β -ciclodextrina e óleos fitoantimicrobianos (terpinen-4-ol ou carvacrol), e utilizaram ácido undecilênico (AU), derivado do óleo de mamona, como fármaco de base biológica para tratar infecções fúngicas. Os autores reportaram que a emulsão de carvacrol carregada com AU é +390% e +165% mais potente contra *S. aureus* resistente à metilicina (MRSA), em comparação com formulações comerciais à base de AU e azólicos. Além disso, houve a erradicação de biofilmes de *E. coli* e MRSA (Leclercq *et al.*, 2021). Já Wang e colaboradores (2021) desenvolveram emulsões ativas contendo borneol e citral (BC-Cap) estabilizados com partículas de sílica funcionalizadas. A emulsão apresentou estabilidade durante o armazenamento a 40 °C por 365 dias, e o efeito antibacteriano do BC-Cap aumentou de duas a quatro vezes em comparação com o citral ou o borneol sozinhos. Em termos de aplicações, as emulsões desenvolvidas foram classificadas como potenciais agentes bacteriostáticos em materiais de embalagem e desinfetante geral de superfícies.

2.3 Óleos essenciais

Os óleos essenciais (OE) são uma classe popular e amplamente utilizada de substâncias antimicrobianas, antifúngicas e antioxidantes amplamente utilizados em diversas aplicações. Os OEs possuem um histórico de uso que data nos primórdios da humanidade, possuindo papel relevante na medicina popular, além de usos higiênicos e terapêuticos. De acordo com a ISO DIS9235.2 (Organização Internacional de Padronização), um OE é "um produto preparado por destilação com água ou vapor ou por processamento mecânico de cascas de citros ou por destilação a seco de materiais naturais" (Becerril, Nerín e Silva, 2020).

Estes compostos naturais podem ser encontrados em uma ampla variedade de plantas e microrganismos, com monoterpenos (limoneno, sabineno, P-cimeno), monoterpenóides (timol, carvacrol, citronela e borneol) e fenilpropanóides (cinamaldeído, vanilina, eugenol e safrol) (Bahrami *et al.*, 2020). A proporção de componentes varia de acordo com o material de origem e suas características, como origem geográfica, estágio de desenvolvimento, estação do ano, idade da planta, entre outros. Essa classe de materiais é considerada segura para a saúde humana, de acordo com o FDA dos EUA (Ashokkumar, Murugan, Dhanya, M. K., *et al.*, 2020; Krepker *et al.*, 2017; Rudra e Gundewadi, 2020). A maioria dos OEs possui atividade bactericida, fungicida, virucida, anticancerígena, antiparasitária, sedativa, anti-inflamatória e analgésica (Kumar, Singh e Gupta, 2020; Ribeiro-Santos, Andrade, Melo, *et al.*, 2017).

Atualmente, devido as preocupações associadas à doenças que se manifestam pela falta de higiene em ambientes contaminados com microrganismos, uma série de novas medidas tem sido adotadas para prevenir a disseminação dessas doenças. Essas preocupações se agravaram com o surgimento do coronavírus SARS-CoV-2 no final de 2019, declarado como pandemia em 11 de março de 2020 e que perdura até o momento atual. Devido a essa situação, houve o desencadeamento de prática de ações preventivas que incluem o uso de vários desinfetantes para higienizar o ambiente e reduzir a propagação de infecções. Os desinfetantes são moléculas pequenas e moderadamente lipofílicas (peso molecular <500 Da e log P ~1 a 4), que podem penetrar na pele para induzir uma reação cutânea direta. As reações da pele a vários desinfetantes podem ser amplas, variando de inflamação, descoloração e até necrose. Os desinfetantes são germicidas por definição e podem reagir com filamentos de queratina e lipídios epidérmicos, semelhantes às reações criadas por muitos antimicrobianos na membrana lipídica e na estrutura proteica dos microrganismos.

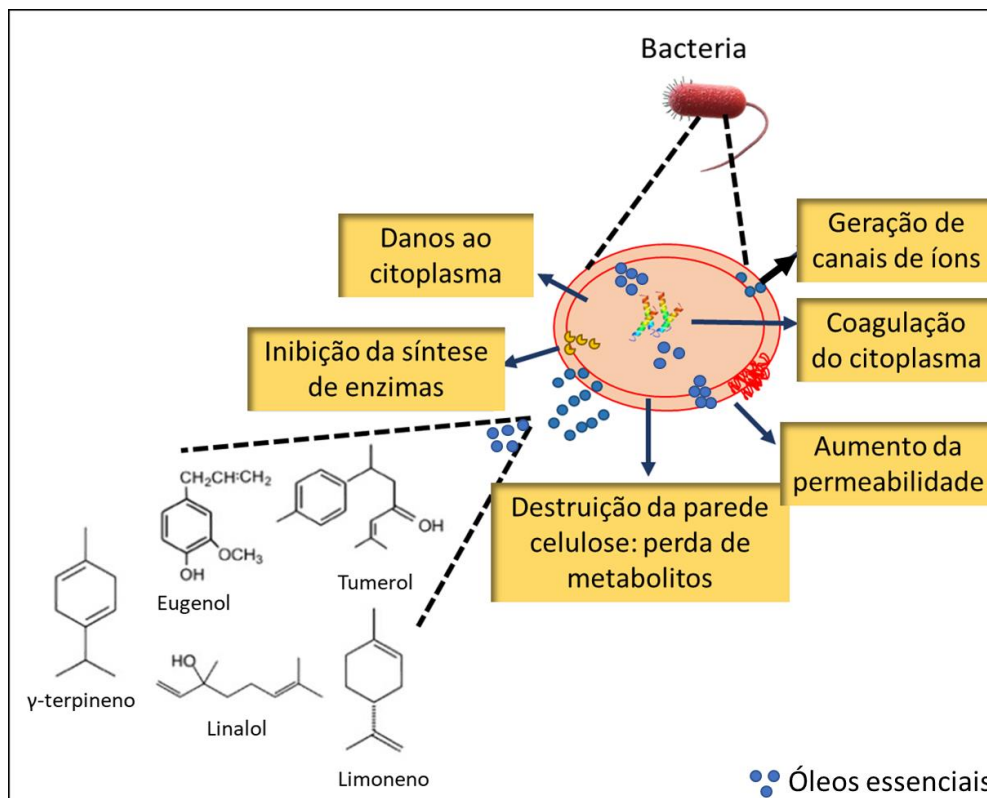
Essas ações podem facilitar a penetração de produtos químicos na pele nas camadas mais profundas da pele para agravar quaisquer reações adversas (Goh, Ming e Wong, 2021).

A maioria dos desinfetantes podem ser considerados como potenciais irritantes e/ou sensibilizadores da pele (alérgenos), incluindo aqueles indicados para a higiene humana, como álcoois e compostos de peroxigênio (Lachapelle, 2014). Os pesticidas antimicrobianos comprovadamente eficazes na inativação do SARS-CoV-2 estão resumidos na Lista N da Agência de Proteção Ambiental dos EUA: Desinfetantes para Coronavírus. Os ingredientes ativos mais amplamente utilizados entre os produtos desinfetantes incluídos na Lista N podem ser classificados como (1) sais de amônio quaternário, por exemplo, cloretos de benzalcônio; (2) oxidantes, por exemplo, hipoclorito de sódio e peróxido de hidrogênio; e (3) álcoois, por exemplo, etanol e álcool isopropílico (Fiorillo *et al.*, 2020; Magurano *et al.*, 2021; Zhou *et al.*, 2020). Nesse contexto, há uma busca por novos desinfetantes ambientalmente amigáveis como alternativas naturais aos tradicionais (Jiang *et al.*, 2021). Uma vez que os óleos essenciais de plantas têm amplas atividades biológicas contra patógenos, incluindo atividades antibacterianas, antifúngicas e antivirais, estes possuem potencial aplicação como desinfetantes naturais.

Os benefícios do uso de óleos essenciais como desinfetantes alternativos incluem seu potencial de aplicação em superfícies porosas que podem não ser efetivamente alcançadas por desinfetantes químicos tradicionais, bem como a capacidade de combinar óleos essenciais em misturas que afetam micróbios em diferentes estágios do ciclo de vida (Bailey *et al.*, 2021). Atualmente, muitos óleos essenciais (OEs) são investigados *in vitro* e *in vivo* devido às suas propriedades antivirais. A maioria deles foi testada contra vírus de RNA e DNA envelopados, como: vírus herpes simplex tipo 1 e tipo 2 (vírus de DNA), vírus influenza A subtipo H1N1 (vírus de RNA), SARS-CoV-1 e SARS-CoV-2 associados coronavírus (vírus de RNA, respectivamente) (Yan, Chang e Wang, 2020).

Kulkarni e colaboradores (2020) descobriram que, *in vitro*, alguns monoterpenos, terpenóides fenólicos e fenilpropanóides como cinamaldeído, carvacrol, geraniol, acetato de cinamil e timol isolados de óleos essenciais são antivirais e têm potencial para inibir a proteína spike viral (Kulkarni *et al.*, 2020). Já no caso do mecanismo antimicrobiano, espera-se que as bactérias sejam inibidas devido à partição na camada lipídica das membranas celulares, aumentando sua permeabilidade, levando ao vazamento de íons e moléculas pequenas e a morte celular, conforme ilustrado na Figura 8.

Figura 8. Ilustração do mecanismo de ação antimicrobiana de óleos essenciais.



Fonte: Autoria Própria.

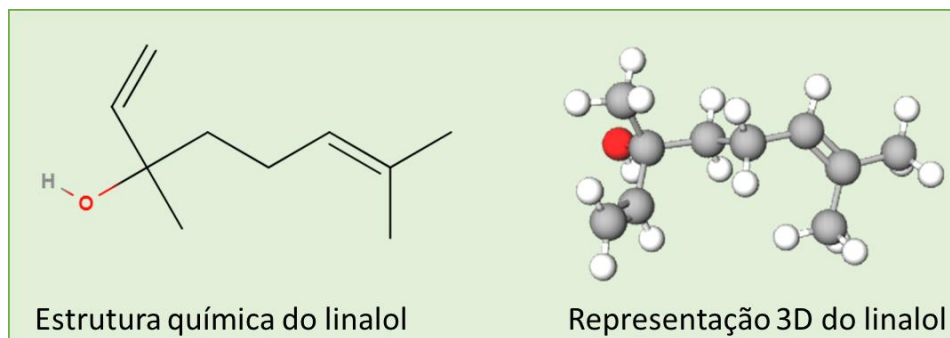
Dentre os componentes com atividade comprovada, tem-se terpineol, eugenol, tumerol, linalol e limoneno, entre outros inúmeros que estão em processo de investigação.

2.3.1 Composto ativo: linalol

O linalol ($C_{10}H_{18}O$) é um dos compostos ativos principais de óleos essenciais, sendo um álcool terciário monoterpeneo acíclico (monoterpenol) com atividades antimicrobianas, antifúngicas, anti-inflamatórias e antioxidantes (Herman, Tambor e Herman, 2016). É encontrado em uma ampla variedade de produtos, cosméticos e óleos essenciais naturais. Considerando-se as espécies vegetais, mais de 200 plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas contém esse tipo de substância. À temperatura ambiente, o linalol é um composto aromático líquido incolor ou levemente amarelado (Ilc *et al.*, 2016). Este monoterpeneo acíclico tem um aroma forte, semelhante ao óleo de bergamota ou lavanda francesa, que é descrito como uma mistura de aromas amadeirados e florais com um toque de especiarias (Pereira *et al.*, 2018). Dentre suas principais características, tem-se massa molar de 154,25 g.mol, densidade de 0,87 g.mL⁻¹ e viscosidade de 0,004465 Pa.s⁻¹ (Ilc *et al.*, 2016).

Esse composto ativo é uma molécula com baixa massa molar funcionalizado com um grupo hidroxila, o qual confere polaridade ao composto, tornando-o quimicamente reativo, e essa reatividade é positiva visando sua estabilidade (Ilc *et al.*, 2016; Raguso, 2016). O linalol é propenso a modificações químicas (oxidação, glicosilação, esterificação e metilação), devido às ligações duplas e ao grupo hidroxila encontrado em sua estrutura, conforme apresentado na Figura 9.

Figura 9. Ilustração da estrutura química do composto ativo linalol e sua representação 3D.



Fonte: Autoria Própria.

O linalol exibe propriedades quirais devido ao grupo hidroxila no terceiro carbono (C3) (Aprotosoiaie e Costache, 2014). Este composto é considerado seguro à saúde, uma vez que não é alérgico e não causa sensibilização na pele. No entanto, este composto é altamente volátil e oxidável por luz e calor. O processo de autoxidação do linalol é afetado por sua pureza e também pela temperatura de armazenamento (Mamadalieva *et al.*, 2019).

Considerando-se as propriedades antimicrobianas, tem-se que o linalol é eficaz contra bactérias e fungos. Herman e colaboradores relataram que o linalol tem o potencial de aumentar significativamente a eficácia antimicrobiana dos óleos essenciais, permitindo a redução da concentração de OE nos produtos finais (Herman, Tambor e Herman, 2016). Balta e colaboradores testaram nanoemulsões de linalol contra *Escherichia coli*, *Listeria innocua* e *Pseudomonas lundensis* e verificaram que o óleo essencial foi um biocida, e pode atuar como um promissor agente antimicrobiano para aumentar a preservação de alimentos e segurança alimentar (Balta *et al.*, 2017).

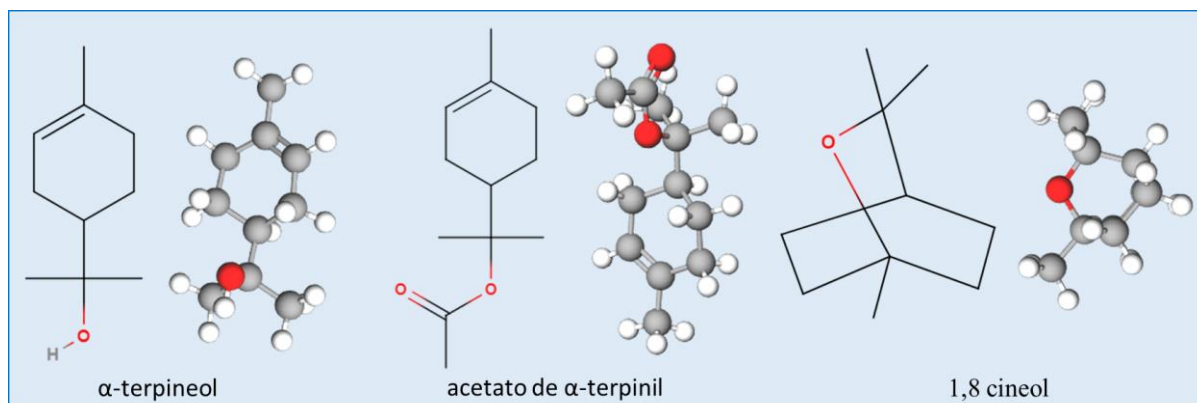
2.3.2 Composto ativo: cardamomo

O cardamomo é um arbusto perene com raízes laterais grossas e carnudas que podem crescer até uma altura de 2,5 metros. É uma das especiarias mais utilizadas no mundo, sendo que como tempero de cozinha, as sementes mais escuras são removidas da vagem e moídas em pó. O cardamomo é cultivado principalmente no sul da Índia, Sri Lanka,

Tanzânia e Guatemala. A semente e o óleo essencial são usados como um componente aromatizante em uma variedade de alimentos, incluindo bebidas, sobremesas congeladas, doces, assados, molhos, carne e produtos à base de carne. Esse uso amplo diretamente em alimentos reforça que o mesmo é seguro para a saúde (Malti, El, Mountassif e Amarouch, 2007). Apesar de ser um tipo de OE de propriedades interessantes e altamente aplicável, a literatura acerca desse uso como composto ativo é escassa.

A composição do óleo essencial de cardamomo possui majoritariamente os componentes 1,8 cineol (20-60%) e acetato de α -terpinil (20-55%) (Anwar *et al.*, 2016). No entanto, verifica-se que esse óleo varia consideravelmente sua composição química a partir da localidade, época do ano, entre outros. Savan e Kuçukbay analisaram amostras de óleo essencial de cardamomo da Índia, e verificaram que os principais constituintes eram, respectivamente: acetato de α -terpinil (57%), 1,8-cineol (15%), α -terpineol (5%) e limoneno (4%) (Savan e Kuçukbay, 2013). Já Sharma e colaboradores reportaram que OE, também da Índia, continham, respectivamente: acetato de α -terpinil (61-68%), 1,8-cineol (7-11%) e α -terpineol (3-6%) (Sharma, Sharma e Kaur, 2011). A Figura 10 apresenta as principais estruturas químicas encontradas no óleo essencial de cardamomo.

Figura 10. Ilustração da estrutura química dos compostos ativos do cardamomo e sua representação 3D.



Fonte: Autoria Própria.

Agnihotri e Wadoke avaliaram a atividade antimicrobiana do óleo essencial e outros extratos de frutas de cardamomo (Agnihotri e Wakode, 2010). Os autores observaram que os extratos possuem excelente atividade antimicrobiana contra as bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, e *Saccharomyces cerevisiae*. Asshokumar e colaboradores reportaram a atividade antimicrobiana do cardamomo contra *S. aureus*, *S. typhi*, *Streptococcus mutans*, *C.*

albicans, *Bacillus pulmilus*, and *Listeria monocytogenes* (Ashokkumar, Murugan, Dhanya, M K, *et al.*, 2020)

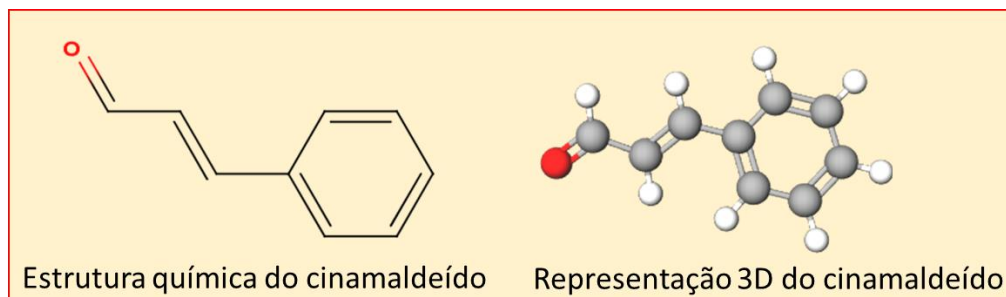
2.3.3 Composto ativo: cinamaldeído

A canela é uma especiaria tropical asiática nativa do Sri Lanka obtida da casca interna de várias árvores do gênero *Cinnamomum* (Figueiredo *et al.*, 2018). Muito utilizada na China e no norte da Índia, onde quase toda sua produção é absorvida, seja como condimento ou medicamento (Jardim *et al.*, 2018), também sendo utilizada como aditivo alimentar e aromatizante. É uma planta com folhas persistentes, atinge cerca de 3 metros de altura, seu tronco exterior é rugoso e castanho-acizentado e a casca interna é mais lisa e castanho-avermelhada (Firmino *et al.*, 2018).

Como os outros óleos essenciais, a canela possui uma variedade de metabólitos secundários que resultam em propriedades antimicrobianas. Esses metabólitos são considerados não-essenciais para a sobrevivência das plantas, e atuam como defensores contra espécies competidoras e microrganismos patógenos. A literatura reporta que, a partir desse óleo essencial, mais de 160 componentes já foram separados e identificados, sendo o principal alguns terpenoides e fenilpropanoides, sendo o cinamaldeído considerado como um componente representativo (Figueiredo *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2019). Além do cinamaldeído, pode-se destacar o ácido cinâmico e outros compostos em menores concentrações, como trans-cinamaldeído, acetato de cinamila, eugenol, L-borneol, cânfora, óxido de cariofileno, b-cariofileno, acetato de L-bornila, E-nerolidol, α -cubebeno, α -terpineol, terpinoleno e α -tujeno (Tung *et al.*, 2010; Vasconcelos, Croda e Simionatto, 2018). A quantidade e a presença de cada composto variam dependendo da parte da planta.

O cinamaldeído (aldeído cinâmico ou 3-fenil-2-propenal) é um álcool terpeno cíclico, sendo o principal ativo do óleo essencial de canela (60-75%), e sua estrutura química é apresentada na Figura 11. Os inúmeros outros componentes desse óleo essencial são descritos detalhadamente por Zhang e colaboradores (Zhang *et al.*, 2019). É aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) como seguro para a saúde humana (GRAS) 21 e-CFR (Código eletrônico de Regulamentação Federal) parte 182.20, e tem sido amplamente utilizado em goma, sorvete, doces, bebidas e cosméticos (Firmino *et al.*, 2018). No entanto, a aplicação do cinamaldeído na conservação de alimentos é limitada pelo seu sabor particular, volatilidade e natureza lipofílica.

Figura 11. Ilustração de estrutura química do cinamaldeído e sua representação 3D.



Fonte: Autoria Própria.

Considerando-se sua atividade antimicrobiana, alguns estudos reportam seu efeito contra inúmeros microrganismos. Le e colaboradores extraíram óleo essencial da casca e folhas de *Cinnamomum cassia* e observaram que 90% dos compostos eram compostos aromáticos como (E)-cinamaldeído e acetato de cinamil (Le *et al.*, 2020). O extrato demonstrou excelente efeito inibitório contra *S. aureus* e *S. cerevisiae*. Lee e colaboradores investigaram o modo de ação antibacteriana de cinamaldeído contra *Agrobacterium tumefaciens* (Lee *et al.*, 2020). Para determinar o modo de ação, os autores investigaram a geração de espécies reativas intercelulares de oxigênio (ERO) e a integridade da membrana celular por microscopia confocal de varredura a laser. Com base nos resultados da geração de EROs e teste de integridade da membrana celular, verificou-se que o modo de ação antibacteriano é pela reação de fentonite causada pela regulação própria de um regulador relacionado à glândula tireoide, homeostase de elétrons e um mecanismo de defesa ROS corrompido. A alta concentração de ERO danificou a membrana celular, causando morte celular das bactérias.

Alguns estudos demonstraram a instabilidade do cinamaldeído quando exposto ao ar, uma vez que o aldeído insaturado reativo é facilmente oxidado em ácido cinâmico, o que causa volatilidade e instabilidade. Além disso, a decomposição também pode ocorrer antes que o óleo essencial seja capaz de executar a atividade bactericida (Tung *et al.*, 2010; Vasconcelos, Croda e Simionatto, 2018), sendo necessária a sua estabilização em condições adequadas. Os outros óleos essenciais apresentam instabilidades similares.

2.4 Estabilização de óleos essenciais para aplicação final

Como apresentado por diferentes autores e discutido na seção anterior, os óleos essenciais têm excelentes propriedades antibacterianas (Becerril, Nerín e Silva, 2020; Krepker *et al.*, 2017; Llana-Ruíz-Cabello *et al.*, 2019; Rudra e Gundewadi, 2020). No entanto, os OEs apresentam alta volatilidade, aroma intenso, foto sensibilidade, baixa

solubilidade e possível irritação de mucosas e pele, limitando sua aplicação (Hernández-Sánchez *et al.*, 2017). Nesse sentido, há uma busca contínua por processos de estabilização efetivos que garantam sua aplicação e desempenho (Kumar, Singh e Gupta, 2020; Ribeiro-Santos, Andrade, Melo, de, *et al.*, 2017). Dentre as principais abordagens utilizadas pela literatura para obter óleos essenciais estáveis, destacam-se o encapsulamento (micro- e nano), a preparação de nanoemulsões, e ainda a abordagem de *Pickering emulsion*, descrita anteriormente.

As *Pickering emulsions* têm sido apresentadas como uma nova linha de pesquisa para a estabilização de óleos essenciais, e essa inovação reflete no baixo número de artigos publicados, sendo 127 no total (busca realizada na base de dados *Web of Science*, no dia 11/02/2022, combinando as palavras *essential oil* e *Pickering emulsion*). Por essa razão, ainda são pouco entendidos esses sistemas de estabilização, que possuem diversas variáveis e características próprias, resultando em um grande número de sistemas que podem ser explorados, visando enriquecer os conhecimentos envolvidos em emulsões *Pickering*.

Liu *et al.* (2022) desenvolveu filmes ativos de konjac contendo óleo essencial de tomilho estabilizado por quatro diferentes abordagens: i) óleo essencial puro; ii) óleo essencial + surfactante; iii) óleo essencial + CNF + proteína de soja isolada; iv) emulsões *Pickering*. Os autores reportaram que a abordagem iv foi a mais eficiente, com maior teor de fenol total e capacidade antioxidante, bem como liberação mais lenta do óleo essencial, sendo a mais adequada para o desenvolvimento de embalagens alimentícias ativas (Liu *et al.*, 2022). Alehosseini *et al.* (2021) desenvolveram emulsões *Pickering* carregadas de d - limoneno estabilizadas por nanopartículas de quitosana e verificaram que o material desenvolvido pode ser usado como um transportador de entrega de grau alimentício para os compostos bioativos (Alehosseini, Jafari e Shahiri Tabarestani, 2021).

3. Objetivos

O objetivo geral deste trabalho foi desenvolver *Pickering emulsions* a partir de três diferentes óleos essenciais (Linalol, Cardamomo e Canela), utilizando nanocristais ou nanofibras de celulose como estabilizantes de emulsão, e a partir das emulsões mais estáveis, avaliar seu uso enquanto materiais antimicrobianos.

3.1 Objetivos específicos

- Avaliar a influência dos parâmetros de processo (velocidade de homogeneização, tempo de preparo, volume de óleo essencial, concentração e/ou morfologia de nanocelulose – nanocristais ou nanofibras) na preparação de *Pickering emulsions*;
- Determinar padrões dos parâmetros de processo comuns para todos os óleos essenciais, ou individuais para cada óleo, e selecionar as amostras mais estáveis;
- Avaliar a interação e influência das nanoceluloses com os óleos essenciais, considerando suas propriedades individuais, como estrutura química e polaridade;
- Investigar de forma aprofundada as características físico-químicas das emulsões mais estáveis;
- Analisar as propriedades antibacterianas e antivirais das emulsões contra diversas bactérias e contra o vírus SARS-CoV-2.

4. Materiais e métodos

4.1 Materiais

Resíduos de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*), na forma de serragem, obtidos da casca e corte da madeira, foram obtidos após a colheita e corte no Mato Grosso (Brasil). A celulose microfibrilar, na concentração de 3% (m/v) foi gentilmente doada pela empresa Suzano Papel e Celulose S.A (São Paulo, Brasil), sendo um resíduo da produção de papel a partir da madeira de eucalipto.

Os demais reagentes utilizados foram: clorito de sódio (NaClO_2 , 99% de pureza, Sigma-Aldrich), hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, e etanol (pureza 95 – 98%, Labsynth produtos para laboratórios Ltda – São Paulo, Brasil). Os óleos essenciais de linalol (Ho wood – *Cinnamomum camphora* var. *linalooliferum*, CAS Number 92201-50-8), canela cassia (*Cinnamomum cassia*, CAS Number 84961-46-6) e cardamomo (*Elettaria cardamomum*, CAS number 8000-66-6) foram comprados da Ferquima Industria e Comércio Ltda. (São Paulo, Brasil). A Tabela 1 apresenta as principais características dos óleos essenciais estudados.

Tabela 1. Principais características dos óleos essenciais utilizados.

Linalol (<i>Cinnamomum camphora</i> var. <i>linalooliferum</i>)	
CAS Number	92201-50-8
Principal componente	Linalol (98%)
Densidade (g L^{-1})	0.850-0.870
INCI	Cinnamomum camphora Linalooliferum Wood Oil
Obtenção	Destilação a vapor de madeira
Origem	China
Cinnamon Cassia (<i>Cinnamomum cassia</i>)	
CAS Number	84961-46-6
Principal componente	Aldeído cinâmico = 80%; Cumarina = 2%; Benzaldeído = 2%; Álcool cinâmico = 2%; Estireno = 2%
Densidade (g L^{-1})	1.045 – 1.065
INCI	Cinnamomum cassia Oil
Obtenção	Destilação a vapor de folhas, cascas e caules
Origem	China
Cardamom (<i>Elettaria cardamomum</i>)	
CAS Number	8000-66-6
Principal componente	Acetato de terpenilo = 39%; Acetato de linalilo = 5%; Sabinene = 4%; Linalool = 4%; Limoneno = 3%; Cineol = 32%; Mircene = 2%; Alfa terpineol = 2%
Densidade (g L^{-1})	0.920 – 0.940
INCI	Elettaria cardamomum Seed Oil

Obtenção	Destilação a vapor de sementes
Origem	Guatemala

Para os testes antivirais, o *kit* Rapid Antigen Test (RAT), chamado de teste rápido Panbio™ COVID-19 Ag, foi fornecido pela Abbott Laboratórios do Brasil (São Paulo, SP). O dispositivo é um imunoensaio de fluxo lateral para a detecção rápida e qualitativa da presença do vírus SARS-CoV-2 na amostra devido à interação com anticorpos presentes no dispositivo (imunocromatografia) (Gremmels *et al.*, 2021; Matsuda *et al.*, 2021). O Teste de Antígeno Rápido detecta proteínas do vírus para determinar se uma pessoa está infectada e se o vírus está ativo, uma vez que a proteína deve estar intacta para ser detectada por este teste (Gremmels *et al.*, 2021).

4.2 Preparação dos nanocristais de celulose (CNC)

Os CNCs foram preparados utilizando metodologia previamente investigada e publicada pelo grupo – moagem mecânica em moinho de bolas. Para isso, previamente foram realizadas duas etapas de tratamento químico, visando a remoção de lignina e hemicelulose, sendo o procedimento descrito a seguir. A completa caracterização das NCs é apresentada nos trabalhos publicados (Ferreira *et al.*, 2019; Lima, Souza e Rosa, 2018; Souza, Lima e Rosa, 2019).

4.2.1 Tratamento – Etapa 1

Os resíduos de Eucalipto foram secos em estufa com circulação de ar, a 60 °C, por 24 horas, para eliminação da umidade (~10%). Em seguida, as amostras foram submetidas à solução de 3,2% (m/v) de clorito de sódio (NaClO₂), utilizando a proporção de fibras para a solução de 1:20 (m/v), sendo mantidas sob agitação magnética constante a 70 °C por 2 h. O material obtido foi lavado com água destilada até pH neutro e secas em estufa a 60 °C por 12 h.

4.2.2 Tratamento – Etapa 2

Em sequência a Etapa 1, o material foi submetido à uma solução aquosa de 10% (m/v) de hidróxido de sódio (NaOH) e 10% (m/v) de hidróxido de potássio (KOH), na proporção de fibras para a solução de 1:20 (m/v), sendo mantidas sob agitação constante a temperatura ambiente por 2 h. O material obtido foi lavado com água destilada até pH neutro e secas em estufa a 60 °C por 12 h.

4.2.3 Isolamento mecânico dos nanocristais de celulose

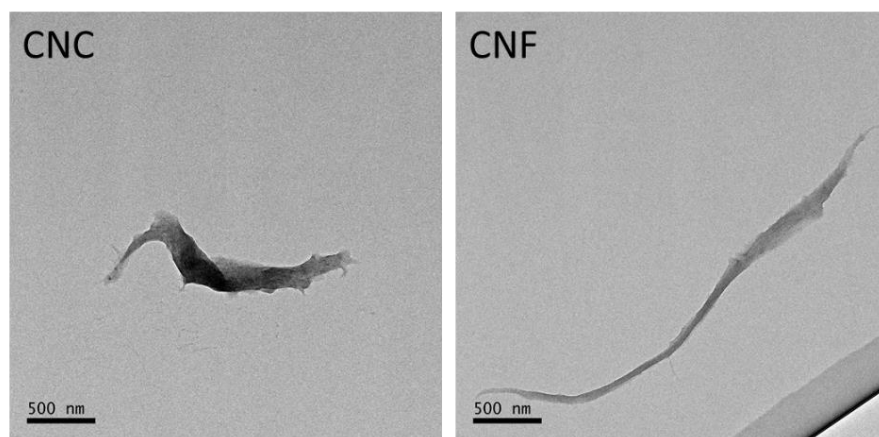
Após a realização do tratamento (itens 4.2.1 e 4.2.2), a amostra foi submetida à metodologia de isolamento para obtenção dos CNC. Utilizou-se o moinho de bolas da marca Marconi, modelo MA500. Foi utilizado uma razão de massa bola/amostra de 70:1, com dois tamanhos distintos de bolas. Estas bolas são de alumina, e apresentam diâmetro de 21,0 mm e 11,5 mm para bola grande e para bola pequena, respectivamente. Foram adicionados no jarro cerca de 5,0 g de amostra tratada umedecidas com etanol 80% (v/v), na proporção 1:1 (gramas de amostra e mililitro de etanol), 305 g de bolas grandes e 44 g de bolas pequenas. Após adicionar a amostra e as bolas no jarro, foi realizada a moagem, com duração de 6 horas. Os CNCs, após retirados do jarro, foram secas em estufa, durante 2 h a 60 °C, para remoção do etanol.

4.3 Preparação das nanofibras de celulose (CNF)

As microfibras de celulose foram previamente dispersas em água, na concentração de 1% (m/v), e foram submetidas a ultrassom de alta intensidade (Sonics Vibra Cell, potência de 400 W e 24 kHz), durante 10 minutos em banho de gelo, em processo contínuo.

Resumidamente, as CNFs apresentaram um diâmetro de $66,3 \pm 20,5$ nm e comprimento de $4,0 \pm 1,0$ μ m, com razão de aspecto (L/D) de 60, e potencial zeta de $-33,2 \pm 3,2$ mV (Souza *et al.*, 2020). Já os nanocristais apresentaram comprimento médio de $2,0 \pm 0,8$ μ m e diâmetro médio de $131,1 \pm 29,6$ nm, com razão de aspecto (L/D) de 15, e potencial zeta de $-33,0 \pm 1,0$ mV (Lima *et al.*, 2019). As cargas superficiais das nanoceluloses são atribuídas a hemicelulose residual nas suspensões. A Figura 12 apresenta uma imagem representativa de microscopia eletrônica de transmissão dos nanocristais e nanofibras de celulose utilizados no presente trabalho.

Figura 12. Fotomicroscopia eletrônica de transmissão representativa dos nanocristais e nanofibras de celulose utilizados no presente trabalho.



Fonte: Autoria própria.

Ambos os tipos de nanocelulose apresentaram picos cristalográficos, verificados por difração de raios X, característicos dos planos (200), em $2\theta=22^\circ$, e (110), em $2\theta=16^\circ$ (celulose tipo I). De acordo com Kalashnikova *et al.* (2012), o plano (200) é hidrofóbico, com porções CH expostas, enquanto o plano (110) é hidrofílico, com hidroxilas expostas, conferindo à celulose característica anfifílica e justificando os valores de potencial Zeta encontrados (Kalashnikova *et al.*, 2012).

4.4 Preparação das *Pickering emulsions*

A primeira etapa do presente trabalho consistiu em um *screening* de emulsões, variando parâmetros de processo, para seleção das condições mais estáveis e avaliação da influência dos parâmetros selecionados em termos de estabilidade e tamanho de partícula, sendo estes a variação entre três óleos essenciais com estruturas químicas distintas, concentração de nanoceluloses, morfologia da nanocelulose, velocidade de rotação durante o processo de homogeneização, concentração de óleo essencial e tempo de preparação, conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros variados na primeira etapa do processo para identificação dos principais influenciadores da estabilidade das emulsões.

<i>Óleos essenciais</i>	<i>[] Nano</i>	<i>Morfologia da nanocelulose</i>	<i>Velocidade</i>	<i>[] Óleo essencial</i>	<i>Tempo</i>
Cardamomo	0,5%	CNC	10.000 rpm	20%	3 min
Linalol	1%	CNF	12.000 rpm	30%	7 min
Canela					

Os parâmetros adotados para investigação se basearam em uma extensiva busca da literatura, visando estabelecer valores máximos e mínimos apropriados para uma estabilidade adequada de emulsões. A Tabela 3 apresenta alguns artigos selecionados e estudados para a seleção dos parâmetros estudados.

Tabela 3. Apresentação de artigos da literatura que investigaram a preparação de emulsões Pickering e seus diferentes parâmetros de processo.

Referência	Óleo	Velocidade	Razão O/A	Tempo	Morfologia da celulose	Concentração de celulose (em massa)	Estabilidade
(Yu <i>et al.</i> , 2021)	Cravo	22.000 rpm	10/90	1 min	CNC	0,1, 0,25, e 0,5%	“boa”
(Li, Xie, <i>et al.</i> , 2019)	Dodecano	11.000 rpm	10/90	4 min	CNF	0,05, 0,1, 0,15 e 0,2%	“alta”

(Wang <i>et al.</i> , 2018)	Palma	10.000 rpm	50/50	3 min	CNF	1%	“alta”
(Ma <i>et al.</i> , 2021)	Milho, Silicone, e Limoneno	15.000 rpm	25/75	3 min	Oligomeros de celulose cristalina	0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1,0, e 1,2%	Entre 40 e 100%
(Li, Wang, <i>et al.</i> , 2019)	Dodecano	10.000 rpm	De 10/90 a 50/50	2 min	CNF	0,1–0,5%	Entre 60 e 100%
(Gestrani <i>et al.</i> , 2017)	Dodecano	24.000 rpm	20/80 e 35/65	2 min	CNF	0,1, 0,5, 1,0, e 1,5%	Baixa concentração de óleo -> baixa estabilidade
(Ahsan <i>et al.</i> , 2019)	Dodecano	12.000 rpm	10/90	3 min	Microcristalina	0,5–2%	“alta”
(Silva <i>et al.</i> , 2020)	Amendoa	20.000 rpm	30/70	5 min	CNF cationica	0,5 e 1%	99%
(Soo <i>et al.</i> , 2021)	Palma	10.000 rpm	20/80	5 min	CNC	0,15 e 0,3%	100%
(Luo <i>et al.</i> , 2021)	Oliva	12.000 rpm	10/90, 30/70, e 50/50	2 min	CNF	0.05, 0.1, 0.2, and 0.25 wt%	Between 60 and 100%

Para a preparação das emulsões, o óleo essencial foi misturado com uma suspensão de CNC ou CNF previamente dispersas, e a mistura foi submetida a homogeneização em um Ultra-Turrax Blender, modelo IKA T25 (IKA Werke, Staufen, Alemanha). As emulsões foram nomeadas por números para o *screening* inicial.

4.3.1 Design de experimentos

Utilizando ferramentas estatísticas é possível correlacionar fatores chaves existentes que possam influenciar o resultado final do estudo, sendo que técnicas de planejamento de experimentos (DoE) são as mais comuns. O DoE é uma sequência de testes para definir condição e quantidade de dados que devem ser realizados para determinado experimento, visando obter uma acurácia estatística adequada e baixo custo, minimizando o número de testes necessários para se obter os resultados desejáveis. Os métodos do DoE são escolhidos considerando fatores como número de variáveis, interações possíveis e linearidade, sendo que o planejamento fracionado é empregado quando há vários fatores de controle e não é viável a realização de todas as combinações, gerando um fatorial fracionário utilizado para rastrear fatores. No presente trabalho, caso fosse realizado um fatorial completo, seriam preparadas 96 amostras ($N=2^5$ para cada óleo essencial).

Box e colaboradores definem que os planejamentos fatoriais completos exigem poucas provas por fator estudado, e uso de aritmética elementar e abundância de recursos gráficos. De acordo com os autores, condições com cinco ou mais variáveis não são viáveis para a

preparação de um fatorial completo, exigindo tempo de execução e elevado custo e limitando as discussões de possíveis interações. Nesse caso, a opção é o uso de projetos fatoriais fracionados, que permitem examinar um grande número de fatores para que resultados de baixa influência possam ser descartados (BOX, HUNTER e HUNTER, 2005).

Visando otimizar os ensaios para verificação de quais dos parâmetros selecionados possuem maior influência na estabilidade da emulsão e tamanho de gotas, realizou-se o teste *Regular two-level factorial design*, com a configuração 2^{5-1} , utilizando o software Design-Expert® (Trial version 12.0.0, StatEase, Inc., USA). As amostras foram previamente nomeadas com números, visando facilitar a identificação para posterior seleção dos melhores parâmetros, conforme apresentado na Tabela 4, sendo que não há uma ordem seguida pois, de acordo com o princípio do design de experimentos, ensaios realizados de forma aleatória diminuem erros operacionais e ambientais associados.

Tabela 4. Nomenclatura das amostras adotadas durante a primeira fase de testes, com as amostras selecionadas pelo teste fatorial, em que as legendas em vermelho são associadas as emulsões estabilizadas com CNCs, e em azul, com CNFs.

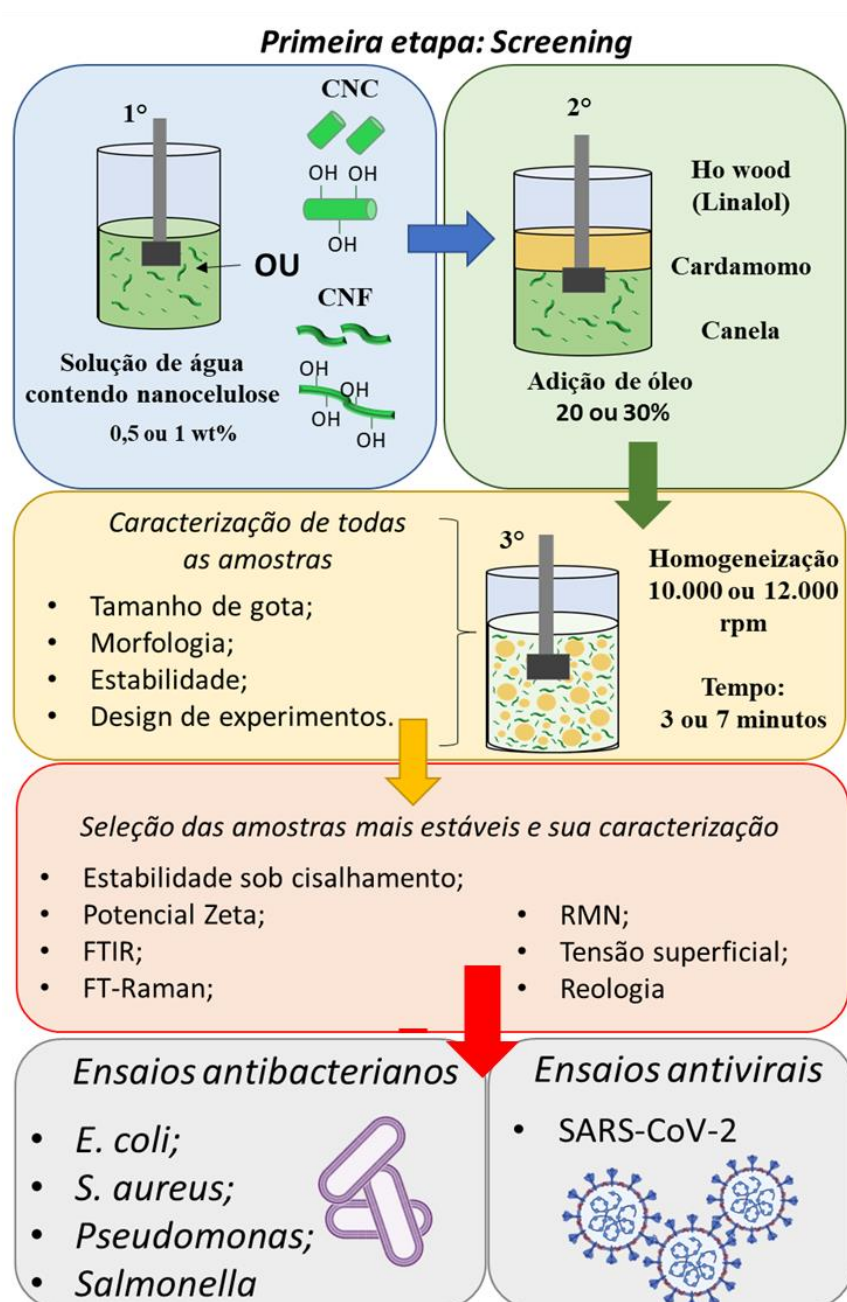
Número	Características
1	Linalol – 12.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos
2	Linalol – 10.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos
3	Linalol – 10.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos
4	Linalol – 10.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos
5	Linalol – 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos
6	Linalol – 12.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos
7	Linalol – 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
8	Linalol – 10.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
9	Linalol – 1% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos
10	Linalol – 0,5% CNC, 10.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos
11	Linalol – 1% CNC, 10.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos
12	Linalol – 0,5% CNC, 12.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos
13	Linalol – 1% CNC, 10.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
14	Linalol – 0,5% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
15	Linalol – 0,5% CNC, 10.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos
16	Linalol – 1% CNC, 12.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos
17	Linalol – 0,5% CNF, 10.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos
18	Linalol – 0,5% CNF, 10.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
19	Linalol – 1% CNF, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
20	Linalol – 0,5% CNF, 12.000 rpm, 30 % óleo, 3 minutos
21	Linalol – 1% CNF, 10.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos
22	Linalol – 0,5% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos
23	Linalol – 1% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos
24	Linalol – 1% CNF, 10.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos

25	Cardamomo – 10.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos
26	Cardamomo -10.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos
27	Cardamomo - 10.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos
28	Cardamomo -10.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
29	Cardamomo -12.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos
30	Cardamomo -12.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos
31	Cardamomo - 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos
32	Cardamomo -12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
33	Cardamomo - 1% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos
34	Cardamomo - 0,5% CNC, 10.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos
35	Cardamomo - 1% CNC, 10.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos
36	Cardamomo - 0,5% CNC, 12.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos
37	Cardamomo - 1% CNC, 10.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
38	Cardamomo – 0,5% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
39	Cardamomo – 1% CNC, 12.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos
40	Cardamomo – 0,5% CNC, 10.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos
41	Cardamomo - 1% CNF, 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos
42	Cardamomo - 0,5% CNF, 10.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos
43	Cardamomo - 1% CNF, 10.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos
44	Cardamomo - 0,5% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos
45	Cardamomo - 1% CNF, 10.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
46	Cardamomo – 0,5% CNF, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
47	Cardamomo – 1% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos
48	Cardamomo – 0,5% CNF, 10.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos
49	Canela – 10.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos
50	Canela -10.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos
51	Canela - 10.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos
52	Canela -10.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
53	Canela -12.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos
54	Canela -12.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos
55	Canela - 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos
56	Canela -12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
57	Canela - 1% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos
58	Canela - 0,5% CNC, 10.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos
59	Canela - 1% CNC, 10.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos
60	Canela - 0,5% CNC, 12.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos
61	Canela - 1% CNC, 10.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
62	Canela – 0,5% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
63	Canela – 1% CNC, 12.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos
64	Canela – 0,5% CNC, 10.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos
65	Canela - 1% CNF, 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos
66	Canela - 0,5% CNF, 10.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos
67	Canela - 1% CNF, 10.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos
68	Canela - 0,5% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos
69	Canela - 1% CNF, 10.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
70	Canela – 0,5% CNF, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos

71	Canela – 1% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos
72	Canela – 0,5% CNF, 10.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos

A Figura 13 apresenta uma ilustração esquemática da metodologia adotada considerando a etapa inicial e suas caracterizações, e posteriormente as caracterizações empregadas nas etapas adicionais, em que foi realizada uma caracterização aprofundada das emulsões selecionadas, finalizando com os ensaios antimicrobianos.

Figura 13. Ilustração esquemática da metodologia adotada no projeto.



Fonte: Autoria própria.

4.5 Caracterizações

4.5.1 Microscopia ótica

As emulsões foram analisadas em um microscópio ótico Leica DM KM (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Alemanha). Aproximadamente 4 mL de emulsão foram adicionados em uma lâmina de vidro e imagens representativas foram obtidas. Com tais imagens, foi preparado também um histograma de distribuição de tamanhos com auxílio do software ImageJ, utilizando o diâmetro de, no mínimo, 120 gotas.

4.5.2 Estabilidade ao longo do tempo de armazenamento

Amostras frescas foram adicionadas a tubos vidro e armazenadas em temperatura ambiente. A estabilidade das emulsões foi avaliada por meio do fenômeno de cremeação, avaliada em duplicatas nos dias 0, 10, 15, 21 e 30. O índice de cremeação (CI) foi calculado utilizando a Equação 38, em que H_{total} representa a altura total da emulsão e H_{creme} a altura da camada de creme.

$$CI = \frac{H_{creme}}{H_{total}} * 100 \quad (38)$$

Além disso, também foi medida a razão de sedimentação (Sr) da suspensão de celulose, de acordo com a Equação 39, em que h_1 é a altura de sedimentação (observada ao fundo dos tipos de ensaio) e H é a altura da suspensão total.

$$Sr = \frac{h_1}{H} * 100 \quad (39)$$

4.5.3 Estabilidade sob centrifugação

Para avaliar a estabilidade sob centrifugação, as emulsões frescas, após cerca de 2 h de preparo, foram centrifugadas (Thermo Scientific 75,002,426 – Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) durante 1 minuto a 12.000 rpm, seguindo a metodologia proposta por Gestranus e colaboradores (Gestranus *et al.*, 2017). As emulsões centrifugadas foram avaliadas visualmente, e a estabilidade foi calculada de acordo com a Equação 40 (Tiong *et al.*, 2020), em que EE é a eficiência de emulsificação, H_E é a altura da fase emulsionada, e H_T é a altura total da amostra.

$$EE = \frac{H_E}{H_T} * 100 \quad (40)$$

4.5.4 Potencial Zeta

O potencial zeta (ζ) das nanoceluloses ou emulsões foi determinado por meio das medidas de mobilidade eletroforética e da conversão dos valores utilizando-se a equação de Helmholtz-Smoluchowski (Equação 41), em que ζ é o potencial zeta, η é a viscosidade do meio de dispersão, v_e é a mobilidade eletroforética, ϵ_r é a constante dielétrica do meio e ϵ_0 é a permissividade elétrica do ar ($8,854 \times 10^{-12} \text{ C}^2 \text{ J}^{-1} \text{ m}^{-1}$) (Daltin, 2011).

$$\zeta = \frac{4\pi\eta v_e}{\epsilon_r \epsilon_0} \quad (41)$$

Foi utilizado o equipamento Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Malvern, Reino Unido). As emulsões foram diluídas a uma concentração de 0,05% (v/v).

4.5.5. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

As medidas de FTIR foram realizadas em um equipamento Frontier 94942 (PerkinElmer, EUA), utilizando refletância total atenuada. Os espectros foram registrados na faixa de $550\text{--}4000 \text{ cm}^{-1}$, resolução de 4 cm^{-1} e 64 scans. As emulsões preparadas foram medidas diretamente, sem diluições adicionais. Os dados foram tratados com o software Origin 8.

4.5.6. Espectroscopia de Transformada de Fourier Raman (FT-Raman)

As medidas de FT-Raman foram realizadas em equipamento MultiRaman, Bruker Optics (Massachusetts, EUA), equipado com comprimento de onda de 1064 nm e laser de 150 W. A aquisição de dados foi realizada em uma faixa de $600\text{--}4000 \text{ cm}^{-1}$, e 128 varreduras foram acumuladas em cada amostra com resolução espectral de 4 cm^{-1} . As emulsões preparadas foram medidas diretamente, sem diluições adicionais.

4.5.7. Ressonância magnética nuclear (RMN)

Experimentos 1D (núcleos ^1H e ^{13}C) e 2D (HSQC - *Heteronuclear Single Quantum Coherence* e HMBC - *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*) foram realizados para obter espectros de ressonância magnética nuclear na fase líquida usando um espectrômetro de 400 MHz AVANCE III HD (Bruker, Alemanha) equipado com uma sonda de banda larga de 5 mm e um trocador automático de 24 amostras. Tanto os óleos essenciais quanto as emulsões foram diluídas a 10% (v/v) com D_2O e CDCl_3 para aquisição em ambos os solventes deuterados. Apesar de ser possível a realização da emulsificação com D_2O , não

foi realizado devido ao elevado custo deste reagente. Do ponto de vista analítico, fazer a emulsificação com D₂O resultaria em espectros sem o pico principal da água, podendo gerar mais informações sobre os picos que ficaram sobrepostos. No entanto, nesta análise, foi considerado que existem efeitos do pico da água, visando não aumentar o custo da análise. Os espectros foram processados e analisados no software TopSpin™ 3.6.3 (Academia License - Bruker, Alemanha).

4.5.8. Tensão superficial

A tensão superficial foi medida por meio de um tensiômetro óptico (método da gota pendente), equipamento Theta Lite (dpUnion, Brasil). Uma gota de amostra (8 mL) permaneceu suspensa na ponta de uma agulha de plástico de calibre 14. A tensão superficial em relação ao ar foi medida por 30 segundos e então calculada. Os experimentos foram repetidos cinco vezes, sempre mantendo o mesmo volume de gota para garantir a precisão.

5.5.9. Reologia

As medidas reológicas foram realizadas em reômetro rotacional, modelo Viscotester IQ - Thermo HAAKE (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EUA), equipado com rotor de duplo cone e placa estacionária, circundado por parede cilíndrica. As curvas foram obtidas no modo Taxa Controlada (CR) aumentando a taxa de cisalhamento de 0 para 1000 s⁻¹ em 600 s, mantendo a 1000 s⁻¹ por 60 s e retornando a 0 s⁻¹ em 600 s. Todos os parâmetros reológicos foram obtidos a partir das curvas de fluxo executadas no modo Taxa Controlada (CR) pelo software HAAKE RheoWin 4.63.0003.

5.5.10. Ensaios antibacterianos

Os isolados bacterianos foram obtidos no Centro de Procedimentos Interdisciplinares de Coleta de Microrganismos do Instituto Adolfo Lutz (Brasil). Afiliado às Coleções de Cultura da Federação Mundial (WFCC) # 282, Coleção Depositária - # 017/09-SECEX/ CGEN/MMA: *Salmonella enterica* (ATCC nº 10708); *Staphylococcus aureus* (ATCC nº 6538); *Pseudomonas aeruginosas* (ATCC nº 10145); e *Escherichia coli* (ATCC nº 11229). Os microrganismos foram recebidos da ATCC e reconstituídos de acordo com as instruções. As culturas de estoque foram cultivadas em caldo Mueller-Hinton com glicerol 15% e armazenadas a -70°C. As culturas-estoque foram cultivadas em ágar Mueller-Hinton (Oxoid) e inoculadas a 37°C por 24 h. A cultura inoculada (por 24 h com turbidez equivalente a 0,5 Mc Farland, concentração equivalente a 1,5x10⁸ CFU.mL⁻¹

¹⁾ preparou as suspensões isoladas e de cepas bacterianas padrão (Barbosa *et al.*, 2021; Mai-Prochnow *et al.*, 2016).

Em seguida, para a realização dos ensaios, 30 mL de ágar foram fundidos e resfriados a 48 ± 1 °C. Então, 500 µL do microrganismos a 1.5×10^8 CFU.mL⁻¹ foram adicionados e essa mistura foi transferida a uma placa de petri. Após a solidificação, um orifício de 0,9 cm de diâmetro foi feito no meio das placas, e foi transferido de 0,2 a 0,5 mL do produto a ser analisado nesse orifício. A incubação foi realizada por 36 ± 1 °C por 24 h (ANVISA, 2007; Feldsine, Abeyta e Andrews, 2002; FIOCRUZ, 2010).

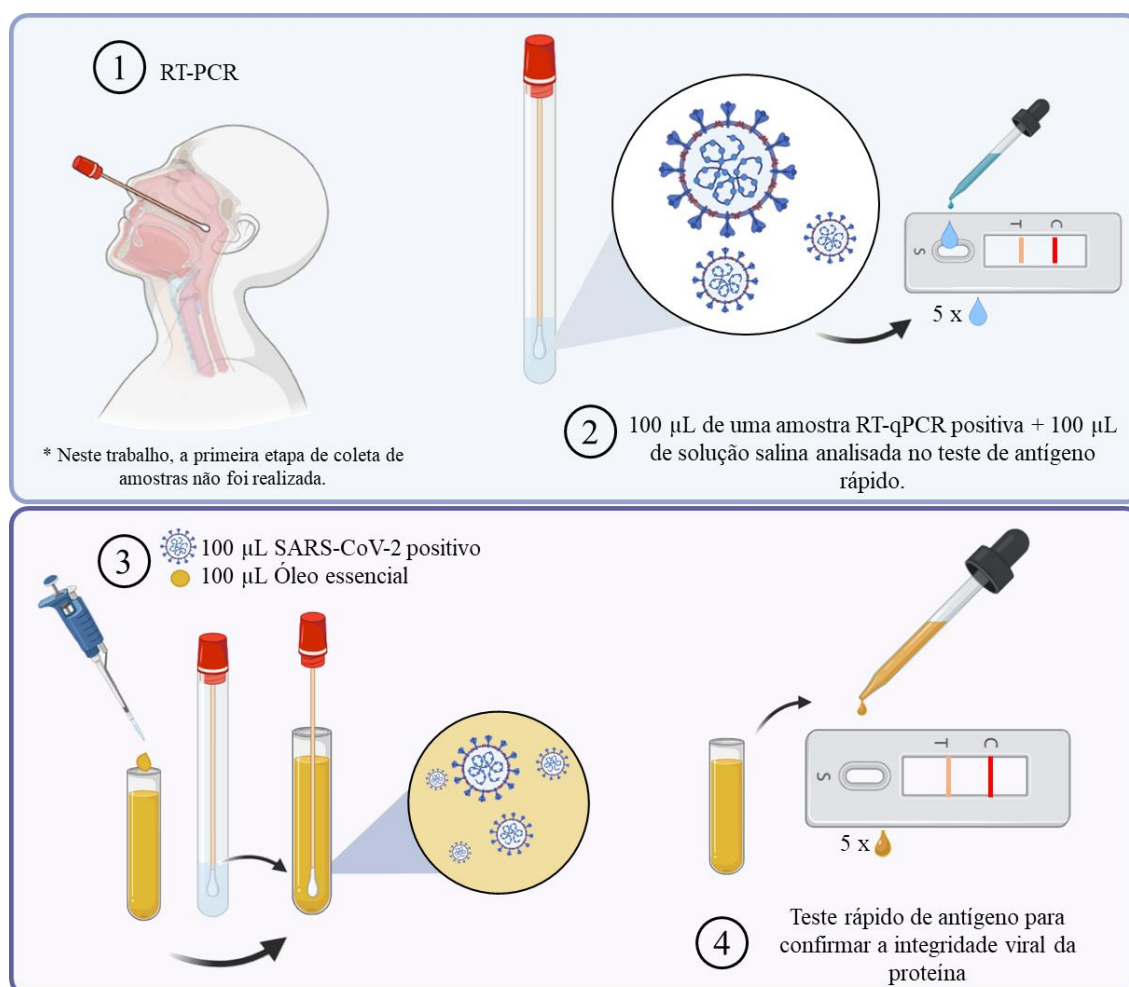
Foram avaliados o aparecimento de halos de inibição em volta do orifício com o produto a ser avaliado. Esses halos foram medidos, o aparecimento de zona de inibição, de qualquer dimensão, indica que o produto em análise possui propriedades bacteriostáticas. O tamanho da zona de inibição depende da difusão do agente biocida para o ágar. Como controle utilizamos saneantes amplamente utilizados como hipoclorito e Lysoform®.

5.5.11. Ensaios antivirais: SARS-CoV-2

Primeiramente, amostras nasofaríngeas coletadas dos pacientes e ressuspensas em soro fisiológico foram testadas para SARS-CoV-2 no diagnóstico de rotina do laboratório, pelo método RT-qPCR (transcrição reversa em tempo real - reação em cadeia da polimerase) e armazenadas no biorrepositório do Adolfo Instituto Lutz - Centro Laboratorial Regional de Santo André, que foram utilizados neste estudo. Para isso, 100 µL de uma amostra positiva foram diluídos em 100 µL de soro fisiológico e analisados pelo Antígeno Rápido. Teste utilizando um swab para emergir nesta diluição que foi transferido para o tubo do *kit* contendo 300 µL do tampão e cinco gotas foram adicionadas no dispositivo, de acordo com as instruções do fabricante, para confirmar a integridade da proteína viral na amostra. Após a obtenção do resultado positivo, foi preparada uma mistura de 100 µL da mesma amostra positiva para SARS-CoV-2 e 100 µL de um óleo essencial ou de emulsões, e as amostras foram testadas em diferentes tempos de contato. O tempo de teste inicial foi de 20 minutos. Se o resultado fosse negativo, os novos tempos de contato eram menores (15, 10, e 5 min, dependendo do óleo). Se o óleo resultar em um teste positivo, os novos tempos de contato foram maiores (30, 40, 50 e 60 min), dependendo do óleo. Os testes foram realizados em duplicata. A Figura 14 apresenta um esquema representativo da metodologia adotada para realizar os testes.

Os testes foram realizados seguindo a normativa padrão aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do ABC e Instituto Adolfo Lutz CAAE: 49573421.2.3001.0059, e pelo Conselho Técnico-Científico do Instituto Adolfo Lutz, CTC 18-N/2021. Todos os procedimentos foram realizados seguindo as normas de biossegurança do Instituto Adolfo Lutz do Núcleo Regional de Laboratórios de Santo André.

Figura 14. Representação da amostra biológica humana positiva para SARS-CoV-2 testada no Teste de Antígeno Rápido (painel superior) e preparação de SARS-CoV-2/óleo essencial para Teste de Antígeno Rápido para confirmar a integridade da proteína viral (painel inferior).



Fonte: autoria própria.

5. Resultados e Discussão – Parte 1 (Screening)

O estudo da estabilidade das emulsões foi inicialmente conduzido por meio de uma etapa inicial, nomeada *Screening*, em que foi avaliada os efeitos de alguns parâmetros (concentração de óleo essencial, velocidade e tempo de homogeneização, morfologia e concentração de nanocelulose) no processo de emulsificação (*Pickering emulsion*) dos três óleos essenciais usados nesta tese. Para tal, foram investigados dados de estabilidade ao longo do tempo, morfologia e tamanho das gotas. Para o entendimento dos efeitos de cada um dos parâmetros foi utilizado um Design de Experimentos.






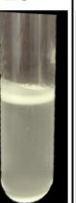










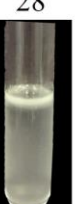



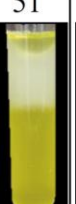

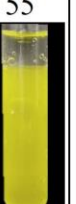
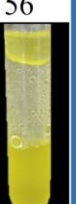
5.1. Emulsões obtidas

A estabilização das partículas e influência dos parâmetros de preparação foi feita por meio da variação e combinação dos parâmetros selecionados com base na literatura. As variações levaram em consideração duas velocidades de homogeneização (10.000 e 12.000 rpm), tempo de emulsificação (3 e 7 minutos), concentração de óleo essencial (20 e 30%), tipos de nanocelulose (NC) (CNC ou CNF) e concentração de nanocelulose (0,5 e 1% em massa em relação ao volume total de emulsão preparada). Além disso, misturas óleo/água foram preparadas para comparação com as emulsões. As misturas de óleo essencial e água, sem agente estabilizante, logo após a sua preparação (ou seja, no primeiro dia), são apresentadas na Figura 15, com sua respectiva nomenclatura numeral.

As amostras de OE de linalol e cardamomo apresentam uma cor levemente turba, porém com transparência visível, sendo este um indício de uma baixa capacidade de emulsificação, característica usualmente reportada para misturas de líquidos imiscíveis e de polaridades distintas em que não há sinal de emulsificação (Shin et al., 2019). As fases oleosa e aquosa não são claramente identificáveis devido a coloração dos óleos essenciais, que são transparentes, e, portanto, indistinguível da água.

Já no caso das misturas de óleo essencial de canela e água possuem características visuais distintas. Devido a coloração amarelada do óleo essencial de canela, é facilmente identificável as duas fases e seus fenômenos de instabilidade. As amostras 51, 55 e 56, que possuem em comum 30% de óleo essencial, apresentaram a separação de fase esperada para esse tipo de misturas. No entanto, as demais amostras apresentaram uma possível reação com as moléculas de água, gerando emulsificação parcial, caracterizada por uma coloração esbranquiçada. No entanto, essas emulsões apresentam uma separação de fase com uma ampla camada de óleo no fundo do tubo de vidro, indicativo de baixa estabilidade e tendência de rápida reversão.

Figura 15. Fotografias digitais obtidas para as misturas de óleo essencial e água, nos diferentes parâmetros de processo, sem o uso de estabilizante.

Linalol					Cardamomo				Canela			
[] óleo	Velocidade (rpm)				Velocidade				Velocidade			
	10.000		12.000		10.000		12.000		10.000		12.000	
20%	2	3	1	6	26	25	29	30	50	49	53	54
												
30%	4	8	5	7	28	27	31	32	51	52	55	56
												
	3 min	7 min	3 min	7 min	3 min	7 min	3 min	7 min	3 min	7 min	3 min	7 min
	Tempo				Tempo				Tempo			

























Fonte: Autoria Própria.

Visando obter emulsões estáveis, fez-se a preparação de *Pickering emulsions* com CNC ou CNF, nas concentrações de 0,5 e 1%. As emulsões de óleo essencial e água, estabilizadas por CNC ou CNF, são apresentadas na Figura 16. Todas as emulsões apresentaram a turbidez características de amostras emulsionadas, indicando que a metodologia de emulsificação adotada foi adequada, variando a sua eficiência de acordo com o parâmetro de processo, uma vez que algumas amostras apresentam separação de fase. No caso das emulsões estabilizadas com CNC, todas as emulsões apresentaram estabilidade contra a coalescência no dia 0, o que é consistente com o reportado na literatura para o uso de nanocristais de celulose em emulsões Pickering (Shin *et al.*, 2019; Tang *et al.*, 2018).

Nessas emulsões, não houve separação de fase imediata para nenhuma amostra, indicando que a após o preparo há uma estabilidade resultante de uma adsorção eficiente das nanopartículas ao redor das gotas de óleo, sendo atribuída a uma forte barreira física criada pelos CNCs adsorvidos na superfície das gotas de óleo. De acordo com Saidane *et al.* (2016) e Varanasi *et al.* (2018), os nanocristais de celulose possuem cargas eletrostáticas suficientes para induzir uma estabilidade estérica ao redor das gotas de óleo e manter a emulsão em equilíbrio (Saidane *et al.*, 2016; Varanasi *et al.*, 2018). Estudos indicam que

CNCs sem modificações superficiais são descritas como capazes de estabilizar diretamente emulsões óleo/água devido ao seu balanço hidrofílico/hidrofóbico intrínseco (Cunha *et al.*, 2014).

Figura 16. Fotografias digitais obtidas para as emulsões Pickering estabilizadas por CNC.

Linalol					Cardamomo				Canela			
[] óleo	Velocidade (rpm)				Velocidade				Velocidade			
	10.000		12.000		10.000		12.000		10.000		12.000	
20%	11	15	12	16	35	40	36	39	59	64	60	63
												
30%	10	13	9	14	34	37	33	38	58	61	57	62
												
	3 min	7min	3 min	7 min	3 min	7 min	3 min	7 min	3 min	7 min	3 min	7 min
	Tempo				Tempo				Tempo			

























Vermelho escuro – 0,5% Vermelho claro- 1%

Fonte: Autoria Própria.

As emulsões estabilizadas por CNF, por sua vez, apresentaram comportamento distinto para cada óleo essencial, porém com indícios de uma emulsificação bem-sucedida, conforme apresentado na Figura 17. No caso do óleo essencial de linalol, as amostras 3 (0,5% CNF, 10.000 rpm, 20% óleo, 3 min), 4 (0,5% CNF, 10.000 rpm, 30% óleo, 7 min) e 13 (1% CNF, 10.000 rpm, 30% óleo, 3 min) apresentaram separação de fase já no primeiro dia, ou seja, uma fração de óleo e água não foram adequadamente misturados.

As emulsões de cardamomo com CNF, por sua vez, possuem um aspecto visual com aparência de gel, atribuído à formação da rede tridimensional pelas nanofibras de celulose. As amostras 42 (0,5% CNF, 10.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos), 43 (1% CNF, 10.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos), 45 (1% CNF, 10.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos) e 47 (1% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos) apresentaram uma fina camada de óleo na parte superior dos tubos de ensaio, indicando uma separação de fase, possivelmente proveniente de uma emulsificação incompleta.

Figura 17. Fotografias digitais obtidas para as emulsões Pickering estabilizadas por CNF.

Linalol					Cardamomo				Canela			
[] óleo	Velocidade (rpm)				Velocidade				Velocidade			
	10.000		12.000		10.000		12.000		10.000		12.000	
20%	23	24	17	22	43	48	44	47	67	72	68	71
												
30%	21	18	20	19	42	45	41	46	66	69	65	70
												
	3 min	7min	3 min	7 min	3 min	7 min	3 min	7 min	3 min	7 min	3 min	7 min
	Tempo				Tempo				Tempo			

Azul escuro – 0,5% Azul claro – 1%

Fonte: Autoria Própria.

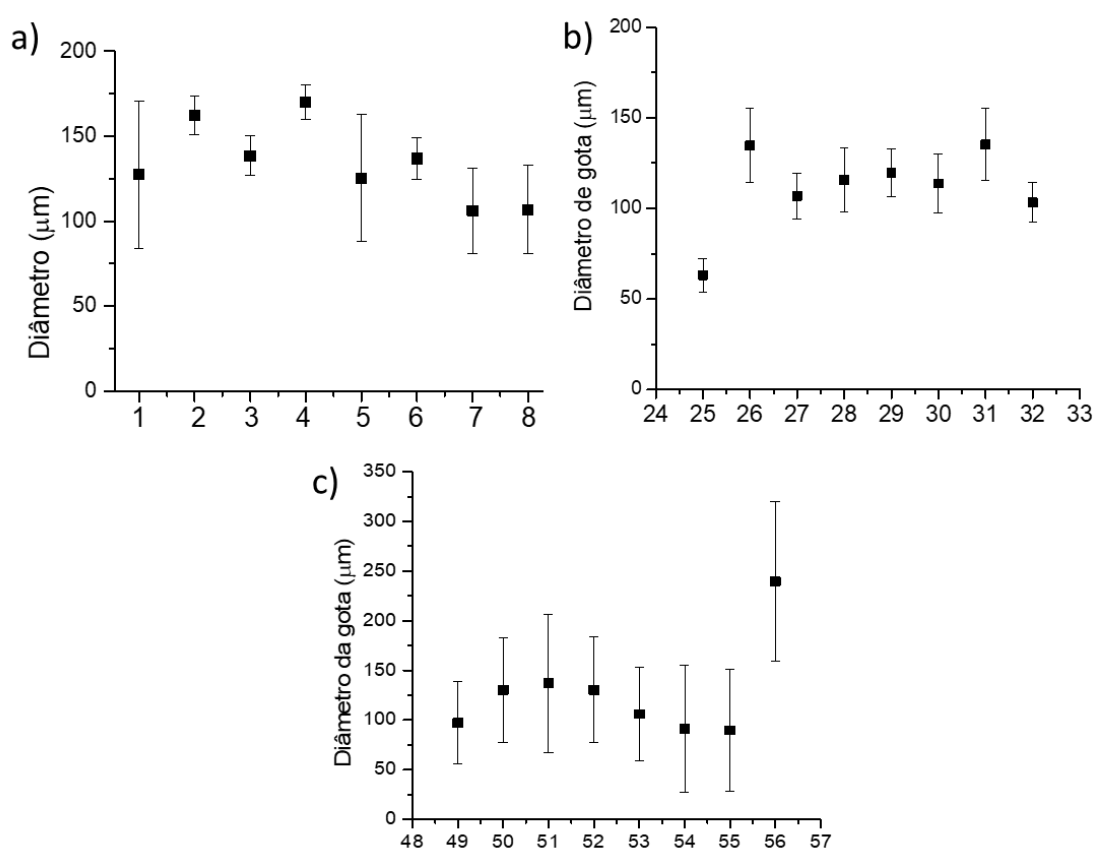
Já as amostras de óleo essencial de canela contendo CNF apresentaram uma coloração esbranquiçada, porém algumas amostras possuem camadas oleosas entre a estrutura visivelmente gelificada, indicando que houve um excesso de óleo essencial não emulsionado. São estas: 65 (1% CNF, 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos), 67 (1% CNF, 10.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos) e 69 (1% CNF, 10.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos), e as três possuem em comum 1% em massa de nanofibras de celulose. Lu e colaboradores observaram o efeito contrário, sendo que a capacidade de emulsificação aumentou com o aumento no teor de nanofibras de celulose na emulsificação de óleo de oliva (Lu *et al.*, 2021). Os demais parâmetros são necessários para uma avaliação completa e seleção das amostras mais estáveis.

5.2 Tamanho de gotas

Visando compreender a estabilidade das emulsões associado com os tamanhos de gota, as amostras, após a emulsificação, foram analisadas por microscopia ótica, que emprega lentes de aumento e incidência de luz para visualizar a microestrutura da emulsão. Os resultados de diâmetros médios das amostras óleo/água são apresentados na Figura 18. As amostras de linalol/água, cardamomo/água e canela/água apresentaram diâmetros variando entre 100 e 200 μm , com elevado desvio padrão, com algumas exceções com valores

maiores ou menores, como 250 μm na mistura de canela (amostra 56 - 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos) e 50 μm na de cardamomo (amostra 25 - 10.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos). Os elevados tamanhos de gota são indicadores da ausência do processo de emulsificação, que resulta em uma mistura entre óleo e água que é rapidamente desfeita e gera a separação de fases. Nesse caso, espera-se que tenha ocorrido uma formação momentânea de partículas de tamanhos aleatórios com rápida coalescência, tendendo a formar separação de fase imediata.

Figura 18. Diâmetro médio de gota das misturas de óleo essencial e água a) linalol, b) cardamomo, e c) canela.



Fonte: Autoria Própria.

No Anexo 1, Tabela I, são apresentados os resultados em termos de variação estatística após a realização do teste Tukey, comparando pares de amostras óleo de ho wood/água, sem o uso de nanocelulose, em que as células coloridas representam amostras estatisticamente diferentes entre si. Todas as amostras são diferentes entre si, indicando que não há similaridade ou padronização entre estas devido aos parâmetros de processo, conforme esperado devido à baixa estabilidade do sistema.

De forma similar ao ocorrido para o OE de linalol, as misturas de OE de cardamomo e água apresentaram similaridade estatística de tamanhos (Tabela II, Anexo I), ou seja, não houve um padrão de tamanhos de acordo com os parâmetros de processo, corroborando a heterogeneidade da mistura.

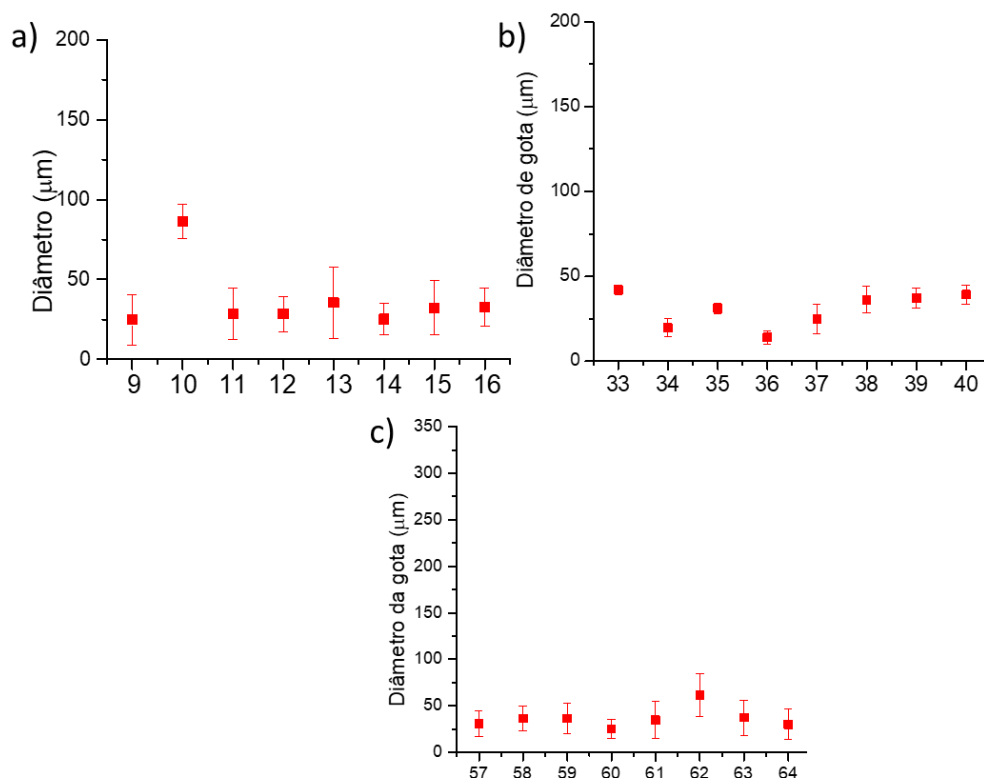
Para o OE de canela, conforme reportado anteriormente, a amostra 56 apresentou tamanhos de gota significativamente maiores do que as demais (Tabela III, Anexo I), resultando em uma mistura estatisticamente diferente das demais, o que pode ser resultante de uma taxa de coalescência acelerada. As amostras 49 a 55 apresentaram diâmetros que, quando comparados simultaneamente, são similares. No entanto, ao analisar o tamanho de gota e a aparência visual, verifica-se que os fenômenos de instabilidade induzem a separação de fase instantes após a preparação das amostras. Esse comportamento, verificado para todos os óleos essenciais, destaca a importância do uso de um agente emulsificante.

Após a emulsificação com CNC, os três óleos essenciais apresentaram gotículas com diâmetros similares, entre 20 e 50 μm (Figura 19), significativamente menores do que as misturas de óleo e água. Isso porque, após a adição de um agente estabilizante, como as CNCs, há condições favoráveis para a formação de uma emulsão com gotículas menores e mais estáveis.

As emulsões de Linalol/CNC (Figura 19a) apresentaram diâmetros similares em praticamente todas as condições de processamento, com exceção à amostra 10 (0,5% CNC, 10.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos), que apresentou tamanhos de partícula estatisticamente superiores aos demais (Tabela I, Anexo II), possivelmente porque 10.000 rpm e 3 minutos foram condições insuficientes para que houvesse a quebra da fase oleosa em pequenas gotículas de óleo. A amostra 13 (1% CNC, 10.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos) também apresentou diferença estatística em relação as demais, possivelmente devido ao elevado desvio padrão, indicando possível heterogeneidade no sistema.

A Figura 19b apresenta os tamanhos médios de gota das emulsões de cardamomo contendo CNC, em que os diâmetros obtidos foram entre 10 e 50 μm . Todas as amostras apresentaram tamanhos de gotas estatisticamente diferentes entre si (Tabela II, Anexo I). Os resultados encontrados para os óleos de linalol e cardamomo são bastante similares, sendo que os diâmetros de gota inferiores aos encontrados para as misturas OE/água caracterizam um processo de emulsificação eficiente, indicando que os CNCs foram adsorvidos na interface óleo/água, resultando em uma cobertura da superfície da gota.

Figura 19. Diâmetro médio de gota emulsões de óleo essencial estabilizado com CNCs a) linalol, b) cardamomo, e c) canela.



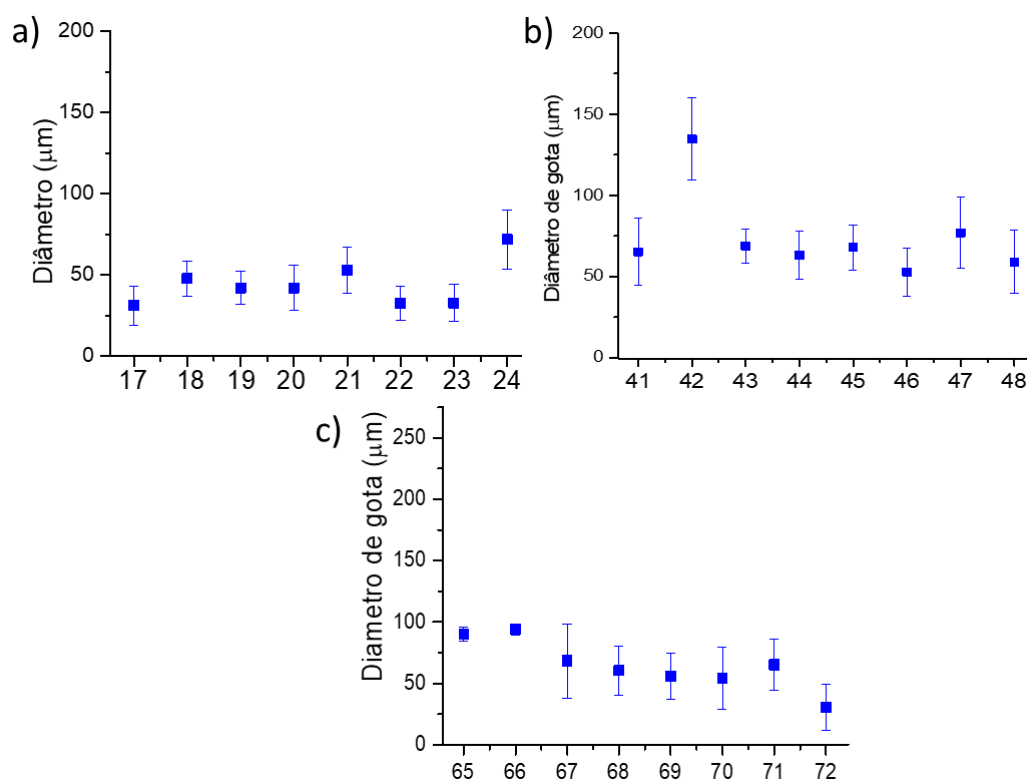
Fonte: Autoria Própria.

A Figura 19c apresenta os tamanhos médios de gota obtidos para as emulsões de canela estabilizadas com CNCs, com diâmetros variando entre 25 e 50 μm , significativamente menores do que os das misturas OE/água. A amostra 62 (0,5% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos) apresentou os maiores diâmetros de gota, com valores estatisticamente diferente das demais (Tabela III, Anexo II), indicando que seus parâmetros de processo afetaram a formação das gotículas durante a emulsificação das amostras. A amostra 60 (0,5% CNC, 12.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos) também apresentou diferenças estatísticas. Ambas as amostras possuem em comum uma menor concentração de CNC e elevada velocidade de homogeneização, indicando que a concentração de CNC pode ser um fator de grande influência para a estabilização das emulsões. Li e colaboradores observaram uma redução no diâmetro de emulsões estabilizadas comparados as misturas sem estabilizante, e também uma dependência deste parâmetro com a concentração de nanopartículas, provavelmente porque a adição de CNCs aumentou a área interfacial de O/W (Li, X. *et al.*, 2018).

A Figura 20c apresenta os diâmetros médios de gota para as emulsões estabilizadas por CNFs, sendo que estas possuem tamanhos médios de diâmetro ligeiramente superiores

às emulsões estabilizadas com CNCs devido à cobertura de superfície eficiente das CNF ao redor das gotas de óleo. Além disso, emulsões estabilizadas com CNF usualmente levam a formação de uma rede tridimensional, induzindo um aspecto semelhante a gel. De acordo com Huang *et al.* (2020), a estrutura tridimensional formada pode aumentar os tamanhos das gotículas e resultar em alta polidispersidade (Huang, Y. *et al.*, 2020) pois as gotas presas dentro do emaranhado formado pelas nanofibras gera uma aproximação das gotas que ocupam o mesmo espaço, e pode resultar na sua coalescência (Gestranius *et al.*, 2017; Souza *et al.*, 2020). Gotas em espaços diferentes, por sua vez, não são capazes de se aproximar devido ao impedimento estérico resultante das fibras celulósicas, refletindo em emulsões estáveis.

Figura 20. Diâmetro médio de gota emulsões de óleo essencial estabilizado com CNFs a) linalol, b) cardamomo, e c) canela.



Fonte: Autoria Própria.

As amostras 17 (0,5% CNF, 10.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos), 22 (0,5% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos) e 23 (1% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 3 min) apresentaram os menores tamanhos de gota e, em comum, menor concentração de óleo essencial. No caso do OE de linalol, que possui abundância de grupos OH, é possível que as maiores concentrações de óleo induzam a aproximação das gotículas entre si por forças atrativas (Lu *et al.*, 2019; Ostertag, Weiss e McClements, 2012). Nesse caso, menores concentrações

podem facilitar a quebra da fase oleosa e sua retenção dentro da estrutura tridimensional formada pelas CNFs. A amostra 24 (1% CNF, 10.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos) apresentou tamanhos de gota estatisticamente superiores às demais emulsões (Tabela I, Anexo III) e maior polidispersividade, ou seja, não houve uma quebra eficiente das gotas nestas condições de processo.

No caso das amostras de cardamomo, apenas a 42 (0,5% CNF, 10.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos) é estatisticamente diferente, com tamanhos de gota significativamente maiores (Tabela II, Anexo III). As demais amostras apresentaram variações entre si associadas ao processo de emulsificação.

As emulsões de canela apresentam diâmetros médios de gota das emulsões estabilizadas com CNFs variando entre 30 e 100 μm . As amostras 65 (1% CNF, 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos) e 66 (0,5% CNF, 10.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos) apresentaram os maiores valores, estatisticamente diferente das demais (Tabela III, Anexo III). Nestas amostras, o único fator comum identificado foi a concentração de óleo essencial (30%), similar as emulsões de linalol, indicando que em emulsões estabilizadas com CNF, há um limite de OE capaz de ser efetivamente estabilizado, sem que haja excesso ou tendência a coalescência no interior da estrutura tridimensional formada.

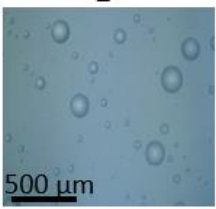
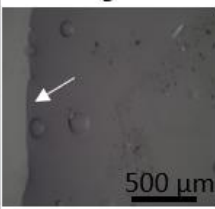
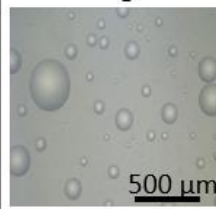
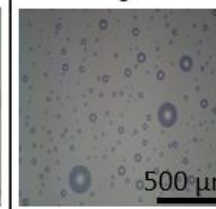
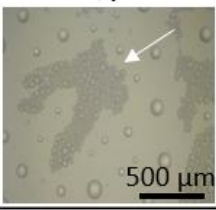
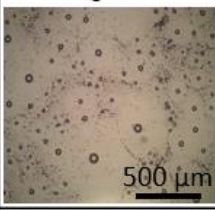
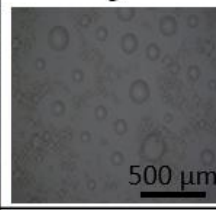
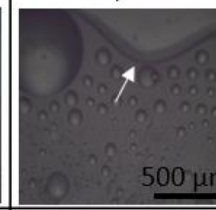
Zhai e colaboradores (2018) testaram diferentes concentrações de óleo de amendoim estabilizados por nanofibras de celulose bacteriana, e observaram ~25% é a concentração de óleo ideal. Os autores relataram que as partículas podem ser diretamente ligadas à interface óleo-água, gerando uma camada de superfície carregada de partículas que atua na proteção das gotas contra eventos de instabilidade, como coalescência (Zhai, Xichuan *et al.*, 2018). A amostra 72 (0,5% CNF, 10.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos) apresentou diferenças estatísticas associadas a menores tamanhos de partícula.

5.3 Morfologia das gotas

A microscopia ótica foi utilizada para uma análise visual do formato das gotas. A mistura entre óleo e água resulta em duas fases distintas e facilmente identificáveis, sendo este um padrão para todos os óleos e corroborando os resultados da análise visual. Após a mistura, ocorre uma formação momentânea de gotas oleosas, que devido à instabilidade termodinâmica, tendem a rapidamente retornar ao seu estado original. A Figura 21 e a Figura 22 apresentam as morfologias das misturas OE linalol/água e OE cardamomo/água, respectivamente. Devido à instabilidade do sistema, durante a análise foi observada uma tendência de coalescência; as setas brancas indicam as fases distintas e a tendência de

separação de fases rápida. Apesar de algumas gotas apresentarem-se bem definidas, esta propriedade é característica da fase oleosa, e não indica uma mistura estável. De acordo com Lu e colaboradores, sistemas de O/A apresentam separação de fase visível a olho nu como um resultado de coalescência dos domínios de óleo e a quebra contínua das partículas menores e sua fusão em partículas maiores (Lu *et al.*, 2021).

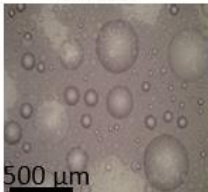

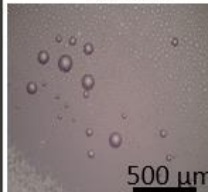

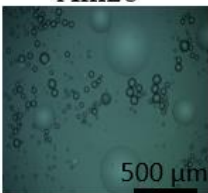
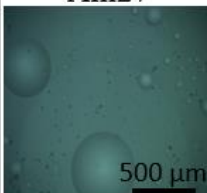
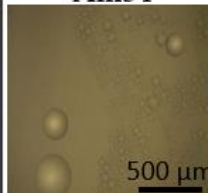

Figura 21. Fotomicrografias representativas obtidas por microscopia ótica para as misturas de linalol e água.

Concentração de OE	Velocidade (rpm)			
	10.000		12.000	
20%	2	3	1	6
				
30%	4	8	5	7
				
	3 min	7 min	3 min	7 min
	Tempo			

Fonte: Autoria Própria.

A mistura possui separação de fase visível a olho nu, conforme apresentado anteriormente, e as microestruturas confirmam a não formação de uma emulsão devido à ausência de um agente estabilizante. Outro aspecto importante é que enquanto algumas gotas apresentam formatos esféricos, outras são assimétricas, na forma de elipsoides prolatos axialmente alongados. Os formatos elipsoides podem ser associados a deformação das gotículas de óleo causada pela instabilidade no sistema. Nesse caso, as gotas grandes apresentaram as morfologias assimétricas pois não houve energia o suficiente para reduzir a tensão interfacial, diminuir a pressão interna e rompê-las em gotículas menores (Lawrence e Rees, 2012). De acordo com Silva (2011), tensoativos ou emulsificantes possuem um papel importante pois diminuem a tensão interfacial, reduzindo a tensão necessária para a formação de gotas menores, bem como evitando a coalescência (Silva, 2011).

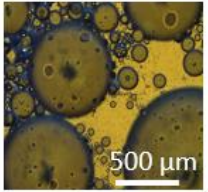
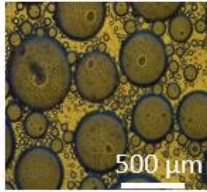
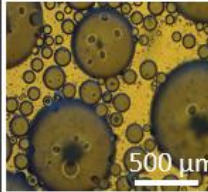
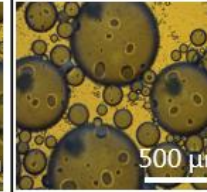
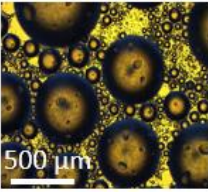
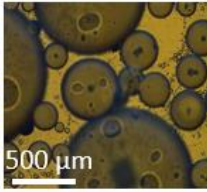
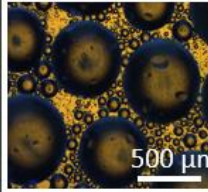
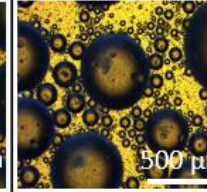
Figura 22. Fotomicrografias representativas obtidas por microscopia ótica para as misturas de cardamomo e água, sem o uso de estabilizante.

Concentração de OE	Velocidade (rpm)			
	10.000		12.000	
20%	Am26 	Am25 	Am29 	Am30 
	500 μ m	500 μ m	500 μ m	500 μ m
30%	Am28 	Am27 	Am31 	Am32 
	500 μ m	500 μ m	500 μ m	500 μ m
	3 min	7 min	3 min	7 min
	Tempo			

Fonte: Autoria Própria.

De forma similar, as misturas OE canela/água (Figura 23) apresentaram formatos assimétricos de gotas, com gotas de dimensões elevadas.

Figura 23. Fotomicrografias representativas obtidas por microscopia ótica para as misturas de óleo essencial de canela e água.

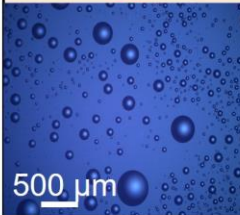
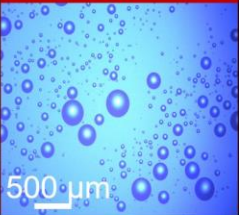
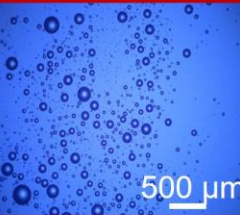
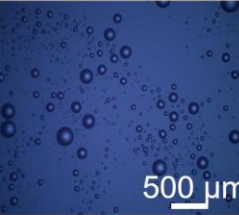

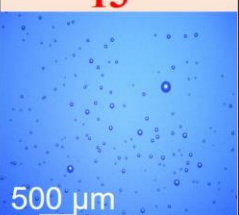
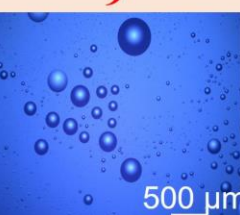
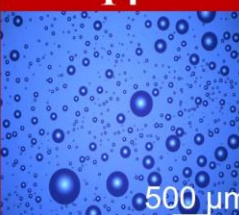
Concentração de OE	Velocidade (rpm)			
	10.000		12.000	
20%	Am50 	Am49 	Am53 	Am54 
	500 μ m	500 μ m	500 μ m	500 μ m
30%	Am51 	Am52 	Am55 	Am56 
	500 μ m	500 μ m	500 μ m	500 μ m
	3 min	7 min	3 min	7 min
	Tempo			

Fonte: Autoria Própria.

Os óleos de linalol e cardamomo, apesar da instabilidade e separação de fase, apresentaram um número expressivo de partículas menores, possivelmente devido a agitação prévia realizada antes do ensaio. A mistura de óleo essencial de canela e água apresentou, para todas as condições de preparo, majoritariamente, gotas de tamanhos expressivos, abrangendo vários micrometros de diâmetro, estando essa morfologia associada aos fenômenos de instabilidade, conforme discutido anteriormente. Ademais, durante o ensaio de microscopia ótica, foi possível identificar gotículas menores coalescendo e se integrando às maiores, característica da separação de fases identificada na Figura 17.

As emulsões estabilizadas com CNCs apresentaram variações na morfologia e tamanho de gota quando comparadas as misturas OE/água. A Figura 24 apresenta fotomicrografias representativas para as emulsões OE linalol, em que, diferente do observado anteriormente, são identificáveis gotas similares a pequenos “pontos”, associadas a tamanhos micrométricos.

Figura 24. Fotomicrografias representativas obtidas por microscopia ótica das emulsões estabilizadas com CNC.

[] OE	Velocidade (rpm)			
	10.000		12.000	
20%	11 	15 	12 	16 
30%	10 	13 	9 	14 
	3 min	7 min	3 min	7 min
	Tempo			

Vermelho escuro – 0,5% Vermelho claro- 1%

Fonte: Autoria Própria.

Não é possível observar indícios da presença das nanoceluloses devido às limitações de equipamento, uma vez que o microscópio ótico não tem resolução para a visualização de partículas na escala nanométrica. Verifica-se que as gotas maiores, que aparecem em menor frequência quando comparadas as da Figura 24, também possuem formas assimétricas de um elipsoide prolato, sendo esse comportamento verificado principalmente para as amostras 9 (1% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos), 11 (1% CNC, 10.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos) e 15 (0,5% CNC, 10.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos), indicando uma má emulsificação.

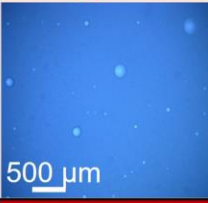
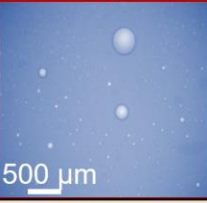


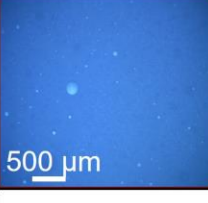
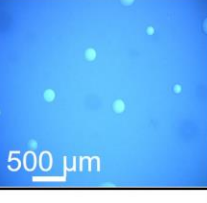
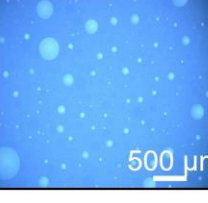

A presença de gotas maiores pode ser justificada por dois pontos: o excesso de CNCs pode resultar em sua aproximação umas das outras devido a ligações de hidrogênio, induzindo a agregação e sedimentação das partículas e, conseqüentemente, deixando mais superfície de óleo disponível para a coalescência e formação de gotas maiores, ou ainda ao baixo recobrimento da superfície das gotas (interface), que permite a aproximação das gotas entre si, resultando no aumento dos tamanhos de gota e no fenômeno de envelhecimento de *Ostwald* (Jutakradsada *et al.*, 2020). Este comportamento também foi observado para algumas emulsões de cardamomo (Figura 25), como para 33 (1% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos), 37 (1% CNC, 10.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos) e 40 (0,5% CNC, 10.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos).

As gotas mais esféricas e de tamanhos menores estão associadas à eficiência do uso de CNCs como emulsificante, e nesse caso espera-se que as nanoceluloses tenham diminuído a tensão interfacial, permitindo que as gotas maiores fossem fracionadas, e as gotas menores tenham sido estabilizadas por meio da adsorção da fase sólida na interface O/A. Em relação a concentração de CNC, verificou-se que a adição de 0,5% gerou uma "nuvem" com uma grande quantidade de gotículas, enquanto 1% de CNC não apresentou um padrão, sendo o aspecto da dispersão dependente das condições de processo (Yuan, T. *et al.*, 2021).

A Figura 25 apresenta as imagens de microscopia ótica obtidas para as emulsões de cardamomo estabilizadas com CNC, que apresentou gotículas significativamente menores às da emulsão de linalol. Levando em consideração as fotomicrografias, as amostras 34 (0,5% CNC, 10.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos), 35 (1% CNC, 10.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos), 36 (0,5% CNC, 12.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos), 38 (0,5% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos) e 39 (1% CNC, 12.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos) apresentam gotículas de tamanhos reduzidos, o que se evidencia ao comparar as emulsões de linalol/CNC e cardamomo/CNC e sem a presença de gotas assimétricas. É possível que,

nesse caso, interações químicas distintas tenham ocorrido, alterando o mecanismo de estabilização presente.

Figura 25. Fotomicrografias representativas obtidas por microscopia ótica das emulsões de cardamomo e água, estabilizadas com CNC.

[] OE	Velocidade (rpm)			
	10.000		12.000	
20%	35	40	36	39
				
30%	34	37	33	38
				
	3 min	7 min	3 min	7 min
	Tempo			

Vermelho escuro – 0,5% Vermelho claro- 1%

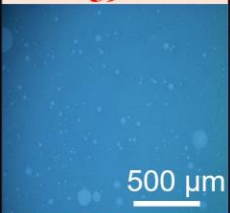
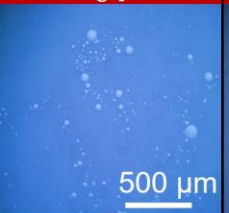
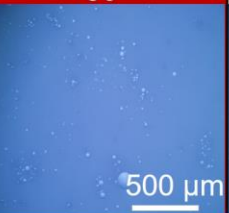
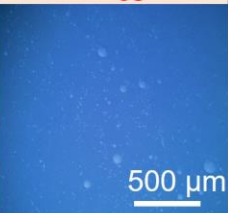
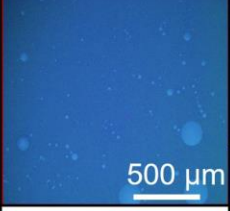
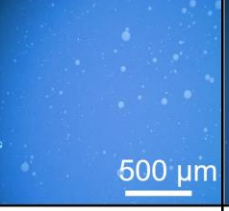
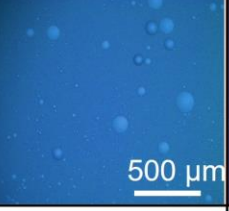
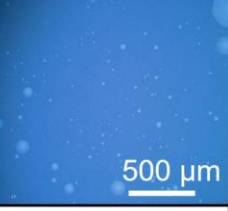
Fonte: Autoria Própria.

Dentre essas, as amostras visualmente menores foram 34 e 38, possuindo como fator comum a menor concentração de CNCs, sendo um possível indicativo de que a concentração destas pode ser um fator crítico para a estabilidade de uma emulsão de cardamomo/CNC.

A Figura 26 apresenta as microscopias óticas obtidas para as emulsões de canela estabilizadas com CNC, em que a morfologia foi completamente distinta das amostras não estabilizadas, com gotas esféricas e de tamanhos reduzidos. Nesse caso, as gotas em maiores tamanhos foram identificadas em um estado separado das demais, o que, de acordo com Chen e colaboradores, não é uma tendência de floculação e representa que, mesmo com tamanhos de gota maiores, a emulsão é estável, e os diâmetros são associados a energia insuficiente para realizar a quebra de todas as gotas em gotículas menores (Chen, Liu e Tang, 2019).

A estabilidade é resultado de forças eletrostáticas provenientes do recobrimento das gotas de óleo pelos nanocristais de celulose, que causam uma repulsão das gotículas entre si devido as cargas negativas presentes na suspensão (Ni, Li e Fan, 2020).

Figura 26. Fotomicrografias representativas obtidas por microscopia ótica das emulsões de canela e água, estabilizadas com CNC.

[] OE	Velocidade (rpm)			
	10.000		12.000	
20%	59	64	60	63
				
30%	58	61	57	62
				
	3 min	7 min	3 min	7 min
	Tempo			

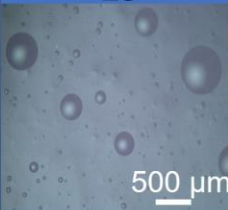
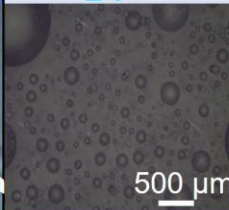
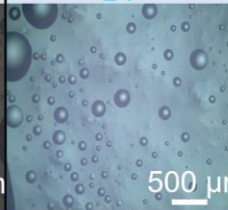
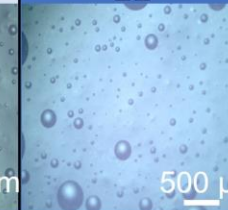
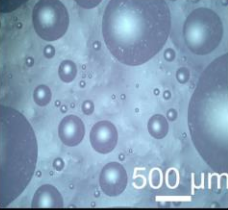
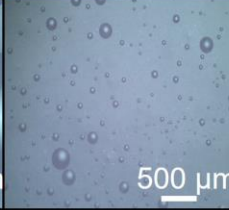

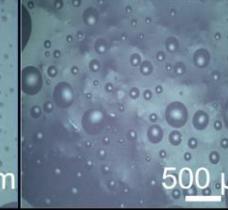
Vermelho escuro – 0,5% Vermelho claro- 1%

Fonte: Autoria Própria.

A Figura 27 apresenta a morfologia das emulsões de linalol estabilizadas com nanofibras de celulose. Diferente do observado para as emulsões com CNC, que apresentaram o fundo límpido, estas apresentam um fundo turvo e com indícios de uma heterogeneidade nas amostras. A fase aquosa de fundo turva indica que houve uma alteração na sua composição, sendo essa agora composta de CNFs distribuídas homogeneamente, que, de acordo com Dai *et al.* (2021), formam uma rede tridimensional devido a capacidade de auto-organização de estruturas celulósicas (Dai *et al.*, 2021). Comparando as amostras de emulsões estabilizadas com CNC e CNF, verificou-se que a morfologia das partículas é um fator essencial para a estabilidade dos sistemas óleo essencial de linalol/água devido a mecanismos de estabilidade eletroestática, resultante das cargas intrínsecas oriundas das hidroxilas da celulose, flexibilidade das partículas e migração delas para a interface óleo/água. Neste caso, as nanofibras de celulose podem ter apresentado maiores tamanhos de gota devido as suas interações hidrodinâmicas, como as

forças de atração de longo alcance induzidas pela deformação das interfaces fluido-fluido, que dominam a migração das CNFs na interface e resultam no confinamento das gotas dentro da rede formada, sendo essa estabilização chamada de “estérica” (Kalashnikova *et al.*, 2013).

Figura 27. Fotomicrografias representativas obtidas por microscopia ótica das emulsões de linalol estabilizadas com CNF.

[] OE	Velocidade (rpm)			
	10.000		12.000	
20%	23 	24 	17 	22 
	500 μ m	500 μ m	500 μ m	500 μ m
30%	21 	18 	20 	19 
	500 μ m	500 μ m	500 μ m	500 μ m
	3 min	7 min	3 min	7 min
	Tempo			

Azul claro– 1% Azul escuro– 0.5%

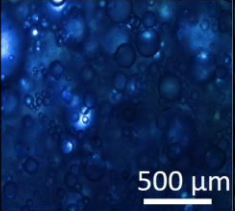
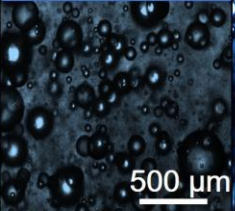
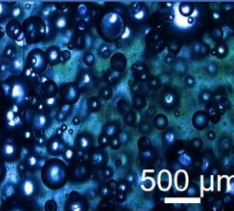
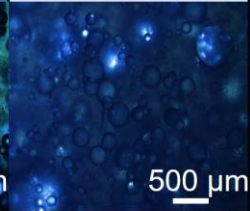
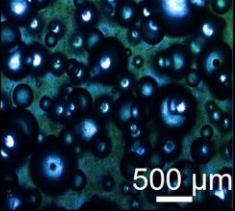
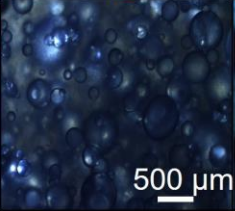
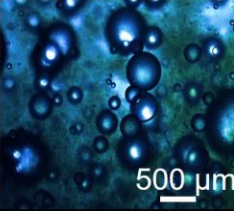
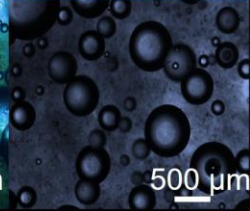
Fonte: Autoria Própria.

Durante o processo de emulsificação, as nanofibras são auto-organizadas e formam uma estrutura tridimensional gelificada contendo gotículas de óleo entre os emaranhados fibrilares. Caso não haja uma dispersão eficiente, as gotas se aproximam dentro da estrutura emaranhada e coalescem, como o observado na amostra 21 (1% CNF, 10.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos). Ademais, as emulsões de linalol estabilizadas por CNF, preparadas a 12.000 rpm, apresentaram gotas menores, indicando que em sistemas contendo nanofibras e óleo essencial de Ho wood, é necessária alta energia para quebrar eficientemente a fase oleosa em gotículas menores e organizar as CNFs, independentemente da concentração de óleo.

A Figura 28 apresenta a morfologia das emulsões de óleo essencial de cardamomo estabilizadas com nanofibras de celulose. Similar ao observado para as emulsões de linalol/CNF, estas também apresentaram tamanhos de gota superiores aos das emulsões

estabilizadas com CNCs, além da presença de gotas sobrepostas e em maior quantidade (*clusters* de gotículas) (Qian *et al.*, 2020). As diferentes “camadas” de emulsão identificáveis são resultado das finas camadas flexíveis formadas pelas CNFs e seu estado de dispersão concentrado, e os *clusters* de gotas de óleo são formados por gotículas aleatoriamente empacotadas.

Figura 28. Fotomicrografias representativas obtidas por microscopia ótica das emulsões de cardamomo estabilizadas com CNF.

[] OE	Velocidade (rpm)			
	10.000		12.000	
20%	43 	48 	44 	47 
30%	42 	45 	41 	46 
	3 min	7 min	3 min	7 min
	Tempo			

Azul claro– 1% Azul escuro– 0.5%

Fonte: Autoria Própria.

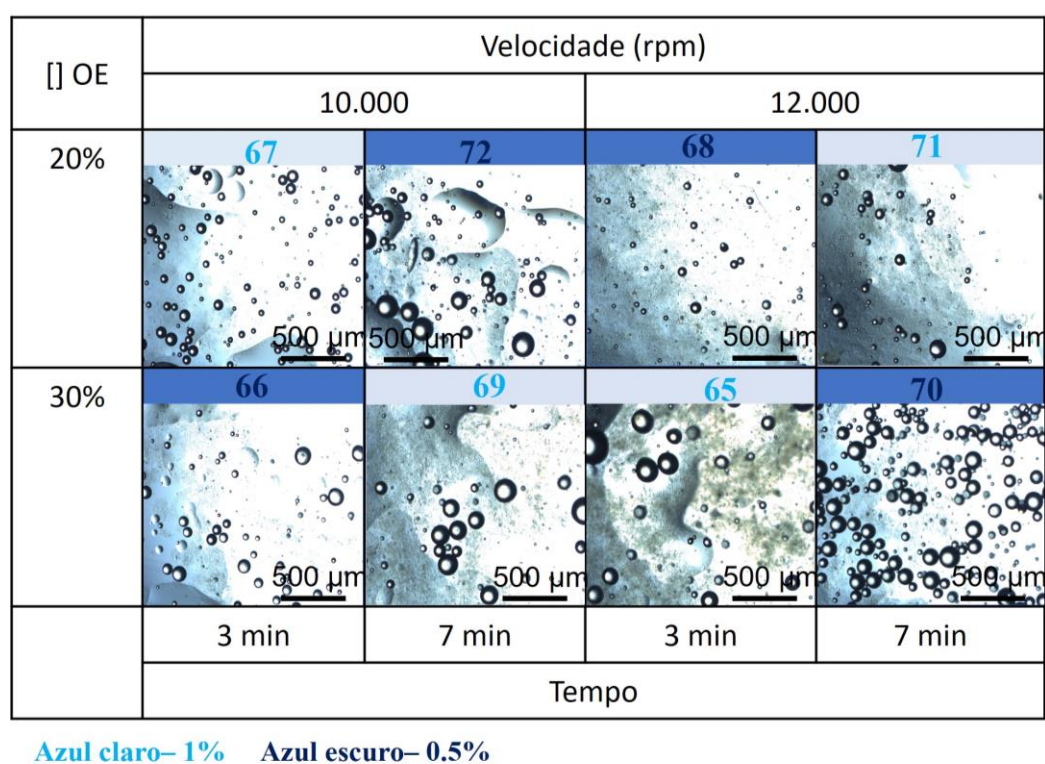
A estrutura aglomerada de gotículas tem sido amplamente relatada em emulsões Pickering estabilizadas com nanotubos fibrilares ou partículas anisotrópicas (Avendano *et al.*, 2016; Lu *et al.*, 2021; Peng *et al.*, 2016), que também é descrito como 'organização em rede' ou rede tridimensional.

A Figura 29 apresenta as microscopias óticas obtidas para as emulsões de canela estabilizadas com CNF. Diferente do observado para os outros óleos, nesse caso houve a formação de uma camada opaca e irregular abaixo das gotas, o que pode ser resultado de um diferente processo de emulsificação.

As amostras 65 (1% CNF, 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos), 69 (1% CNF, 10.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos) e 72 (0,5% CNF, 10.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos) possuem

gotas maiores, empacotadas e próximas umas das outras e empacotadas, o que pode ser um indicativo de uma possível coalescência (Paximada et al., 2016). No entanto, de acordo com Lu e colaboradores, esse comportamento é observado em emulsões estabilizadas com partículas anisotrópicas, e está relacionado a “organização da rede”, em que as gotas buscam seu estado termodinamicamente favorável de organização (Lu et al., 2021). Considerando a segunda hipótese, tem-se que as gotas mais próximas apresentaram, portanto, forças atrativas, porém a nanocelulose em sua interface impediu sua coalescência em gotas maiores.

Figura 29. Fotomicrografias representativas obtidas por microscopia ótica das emulsões de canela e água, estabilizadas com CNF.



Fonte: Autoria Própria.

















Neste trabalho, foram obtidas gotículas separadas e bem distintas, o que reflete a estabilidade física gerada pelas CNFs. Yuan e colaboradores usaram fibras de celulose em diferentes dimensões para estabilizar emulsões e obtiveram grandes aglomerados de gotas (Yuan, T. et al., 2021).

5.4 Estabilidade ao longo do tempo de armazenamento

A estabilidade de emulsões é um dos maiores desafios encontrados, sendo usualmente acompanhada por meio de mudanças físicas ao longo do tempo. Esta característica é

essencial para a aplicação, transporte e comercialização dessa classe de materiais. A estabilidade é associada ao tamanho das gotas, mecanismo (estérica ou eletroestática), tipo de estabilizante (surfactante, partícula sólida orgânica ou inorgânica, proteínas), entre outros. Na Figura 30 são apresentadas as misturas obtidas durante a primeira fase do trabalho com o óleo essencial de linalol e água no intervalo de 30 dias.

Figura 30. Fotografias digitais obtidas a partir da estabilidade ao longo do tempo, nos dias 0 e 30, para as misturas de OE de linalol e água.


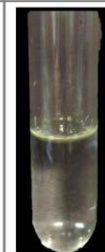
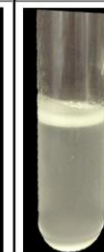


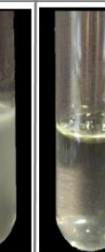
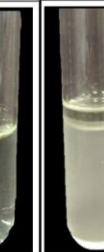
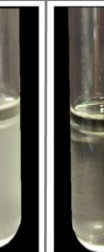

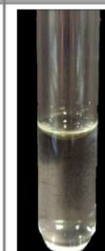



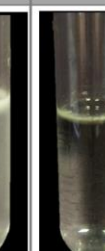


Concentração de OE	Velocidade (rpm)							
	10.000				12.000			
20%	2		3		1		6	
	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30
								
30%	4		8		5		7	
	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30
								
	3 min		7 min		3 min		7 min	
	Tempo							

Fonte: Autoria Própria.

O acompanhamento visual é importante pois normalmente a dispersão de luz de emulsões estabilizadas é alta e a taxa de transmissão é muito baixa em todas as regiões da solução, ou seja, não há regiões transparentes. No entanto, essa inversão de comportamento ocorre quando a emulsão é destruída e as fases são separadas e facilmente distinguíveis (Shin *et al.*, 2019). As amostras de óleo/água sem agente estabilizante foram realizadas para comparação com as estabilizadas, sendo possível observar que desde o momento de preparo houve completa separação de fase, ou seja, as amostras são completamente instáveis e imiscíveis devido à diferença de polaridade. O mesmo comportamento ocorreu

para as misturas com óleo essencial de cardamomo (Figura 31), reforçando a necessidade da adição de um agente emulsificante na mistura, uma vez que o OE livre facilita sua evaporação e oxidação, resultando em perda de eficácia e controle de propriedades (Ashokkumar, Murugan, Dhanya, M. K., et al., 2020).






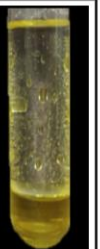

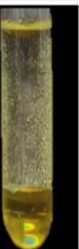



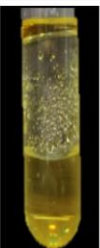

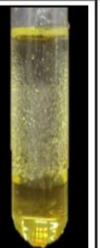
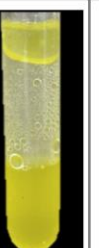

Figura 31. Fotografias digitais obtidas a partir da estabilidade ao longo do tempo, nos dias 0 e 30, para as misturas de OE de cardamomo e água, sem o uso de estabilizante.

[] OE	Velocidade (rpm)							
	10.000				12.000			
20%	26		25		29		30	
	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30
								
30%	28		27		31		32	
	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30
								
	3 min		7 min		3 min		7 min	
	Tempo							

Fonte: Autoria Própria.

O OE de canela (Figura 32), diferente do ho wood e cardamomo, possui uma coloração amarela característica, resultante da casca da canela. Novamente não foi observada emulsificação, uma vez que a energia fornecida para que as gotas de óleo fossem dispersas no sistema aquoso foi rapidamente perdida, e o sistema retornou ao estado estável de óleo separado de água em um tempo curto (alguns minutos após a preparação), mantendo-se assim ao longo do período do teste. Todas as misturas de óleo e água demonstraram-se completamente instáveis, e, portanto, inadequadas para aplicações a prazos médios e longos.

Figura 32. Fotografias digitais obtidas a partir da estabilidade ao longo do tempo, nos dias 0 e 30, para as misturas de OE de canela e água, sem o uso de estabilizante.

















[] OE	Velocidade (rpm)							
	10.000				12.000			
20%	50		49		53		54	
	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30
								
30%	51		52		55		56	
	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30
								
	3 min		7 min		3 min		7 min	
	Tempo							

Fonte: Autoria Própria.

A Figura 33 apresenta as fotografias digitais obtidas para as emulsões linalol/CNC nos dias 0 e 30. A incorporação de CNCs no sistema óleo/água promoveu a formação de emulsões pela adsorção irreversível das partículas sólidas na interface óleo/água, gerando uma forte barreira interfacial que evitou a coalescência das gotas (Guo *et al.*, 2021).

No primeiro dia, todas as emulsões frescas estavam completamente estáveis, sem separação de fases, e após 30 dias de acompanhamento, todas as amostras apresentaram fenômenos de instabilidade, como sedimentação e cremação. Lu e colaboradores, em seu trabalho, observaram comportamento similar para as emulsões desenvolvidas, com uma fração sedimentada de CNCs não adsorvidas na superfície das gotas de óleo, uma fase estável, e a fase cremosa (instável) na parte superior (Lu *et al.*, 2021). A fração sedimentada, de acordo com os autores, é resultado da atração das nanoceluloses entre si, sendo que as forças atrativas são fortes o suficiente para evitar sua deposição na interface óleo/água, formando clusters de CNCs que posteriormente são floculados e se encontram no fundo do tubo. Esse comportamento é chamado *entropy-driven* (Lu *et al.*, 2021).

Figura 33. Fotografias digitais obtidas a partir da estabilidade ao longo do tempo, nos dias 0 e 30, para as emulsões de linalol com CNC.

[] OE	Velocidade (rpm)							
	10.000				12.000			
20%	11		15		12		16	
	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30
								
30%	10		13		9		14	
	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30
								
	3 min		7 min		3 min		7 min	
	Tempo							

Vermelho claro– 1% CNC Vermelho escuro – 0.5% CNC

Fonte: Autoria Própria.

A Tabela 5 apresenta o índice de creme (IC) e a razão sedimentada das emulsões estabilizadas com CNC. As amostras que apresentaram maior IC, e consequentemente, maior instabilidade, foram a 10 (0,5% CNC, 10.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos), 11 (1% CNC, 10.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos) e 15 (0,5% CNC, 10.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos). Essas amostras possuem em comum a rotação de 10.000 rpm, sendo um indicativo de que baixas rotações podem ser insuficientes para gerar uma cobertura eficiente de CNCs na interface O/A.

Já as emulsões com maior razão sedimentada foram 11 (1% CNC, 10.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos) e 12 (0,5% CNC, 12.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos), com valores de 8,3 e 10,4, respectivamente. Estas emulsões possuem em comum 20% em volume de óleo essencial e 3 minutos de homogeneização, indicando que essas condições de processo, quando combinadas, resultam em uma capacidade emulsificante insuficiente para que as CNCs fossem adsorvidas na superfície das gotículas de óleo essencial. As amostras que

apresentaram menor IC foram 12 (0,5% CNC, 12.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos), 13 (1% CNC, 10.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos) e 14 (0,5% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos), e as de menor razão de sedimentação, dentre estas três, foram a 13 e a 14.

















Tabela 5. Valores do índice de creme e razão de sedimentação das *Pickering emulsions* estabilizadas com CNC.

Linalol				
Amostra	Índice de creme (%)		Razão de sedimentação (%)	
	Dia 0	Dia 30	Dia 0	Dia 30
9	0	10,9 ± 2,1	0	5,7 ± 0
10	0	42,1 ± 5,6	0	5,0 ± 0,6
11	0	31,1 ± 4,8	0	8,3 ± 1,2
12	0	6,7 ± 1,3	0	10,4 ± 1,0
13	0	7,8 ± 1,0	0	3,3 ± 0,2
14	0	4,9 ± 0,8	0	7,8 ± 0,5
15	0	35,7 ± 3,6	0	0
16	0	9,6 ± 2,0	0	7,4 ± 1,5
Cardamomo				
Amostra	Índice de creme (%)		Razão de sedimentação (%)	
	Dia 0	Dia 30	Dia 0	Dia 30
33	0	46,8 ± 5,3	0	6,4 ± 1,1
34	0	34,2 ± 3,9	0	0
35	0	37,7 ± 4,0	0	13,4 ± 1,3
36	0	43,1 ± 3,7	0	0
37	0	56,2 ± 2,9	0	0
38	0	34,2 ± 3,2	0	0
39	0	41,8 ± 4,1	0	6,5 ± 0,5
40	0	45,1 ± 4,5	0	7,3 ± 0,8
Canela				
Amostra	Índice de creme (%)		Razão de sedimentação (%)	
	Dia 30	Dia 0	Dia 0	Dia 30
57	0	34,4 ± 5,2	0	0
58	0	49,2 ± 4,9	0	0
59	0	52,3 ± 6,1	0	0
60	0	59,5 ± 5,5	0	0
61	0	45,3 ± 4,2	0	0
62	0	42,8 ± 4,7	0	0
63	0	52,3 ± 5,3	0	0
64	0	55,6 ± 4,8	0	0

A Figura 34 apresenta as fotografias digitais obtidas para as emulsões de cardamomo estabilizadas com CNC nos dias 0 e 30. Estas amostras apresentam uma coloração branca, confirmando a emulsificação. Após trinta dias de armazenamento, verificou-se que todas as emulsões apresentaram separação de fase, com uma camada de creme (coloração branca) e uma camada transparente (emulsificada). Além disso, na parte inferior de alguns tubos,

como para as amostras 33 e 35, verificou-se uma fração sedimentada, possivelmente associada a presença de nanocelulose não adsorvida na interface das gotas.

Figura 34. Fotografias digitais obtidas a partir da estabilidade ao longo do tempo, nos dias 0 e 30, para as emulsões de OE de cardamomo e água, utilizando CNC como estabilizante.

[] OE	Velocidade (rpm)							
	10.000				12.000			
20%	35		40		36		39	
	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30
								
30%	34		37		33		38	
	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30
								
	3 min		7 min		3 min		7 min	
	Tempo							

Vermelho claro– 1% CNC Vermelho escuro – 0.5% CNC

Fonte: Autoria Própria.

















A separação de fase pode ser atribuída à característica hidrofílica da nanocelulose, que, principalmente em altas concentrações (1%) podem induzir a interações entre as nanopartículas, sem que haja uma auto-organização dos planos cristalinos hidrofóbicos ao redor das gotas de óleo. Assim, ao invés de os CNCs serem adsorvidos nas interfaces, formaram flocos que tenderam a sedimentar devido à gravidade. Essa baixa cobertura superficial resulta em menor estabilidade ao longo do tempo, facilitando coalescência e separação de fase.

Considerando os valores de IC e da razão de sedimentação (Tabela 5), verificou-se que após 30 dias de armazenamento, as amostras estabilizadas com 1% CNC apresentaram os maiores valores de CI, indicando que maiores teores de fase sólida podem acelerar a coalescência das gotículas. Essas amostras também apresentaram uma fração CNC sedimentada, confirmando a quebra da emulsão. Além disso, comparando amostras

estabilizadas com 0,5% CNC, maiores teores de óleo resultaram em menor IC, ou seja, maior estabilidade. De acordo com os resultados apresentados, as amostras que apresentam maior estabilidade são a 34 (0,5% CNC, 10.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos) e 38 (0,5% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos), que possuem em comum a menor concentração de nanocristais de celulose.

A Figura 35 apresenta as fotografias digitais obtidas para as emulsões de canela estabilizadas com CNC, nos dias 0 e 30.

Figura 35. Fotografias digitais obtidas a partir da estabilidade ao longo do tempo, nos dias 0 e 30, para as emulsões de OE de canela e água, utilizando CNC como estabilizante.

[] OE	Velocidade (rpm)							
	10.000				12.000			
20%	59		64		60		63	
	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30
								
30%	58		61		57		62	
	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30
								
	3 min		7 min		3 min		7 min	
	Tempo							

Vermelho claro– 1% CNC Vermelho escuro – 0.5% CNC

















Fonte: Autoria Própria.

Similar ao observado para os outros OE, houve a formação da camada de creme. Não foi verificada uma fase oleosa, indicativo de que não houve excesso de óleo essencial para as composições estabilizadas com nanocristais de celulose. Diferente do observado para as emulsões de cardamomo e linalol, nenhuma amostra apresentou CNC sedimentada no fundo dos tubos de ensaio, o que pode ser um indicativo de que toda a massa de nanocristais adicionada foi adsorvida ao redor das gotas de óleo.

Levando em consideração as fotografias digitais e os valores de IC (Tabela 5), as amostras que apresentaram as menores estabilidades físicas foram 59 (1% CNC, 10.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos), 60 (0,5% CNC, 12.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos) e 64 (0,5% CNC, 10.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos). Os resultados indicam que a concentração de óleo essencial é um fator chave para o OE de canela, e, de acordo com a tendência dos resultados, maiores concentrações deste óleo aumentariam os valores de estabilidade. Esse fato é confirmado pelas amostras mais estáveis, 57 (1% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos) e a 62 (0,5% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos). Ambas possuem em comum o teor de óleo essencial e a velocidade de homogeneização, ou seja, além da concentração de OE, a quantidade de energia cedida ao sistema para superar a barreira termodinâmica da estabilidade de separação de fases também é um fator essencial na estabilidade das emulsões.

A Figura 36 apresenta as fotografias digitais obtidas para as emulsões de OE de linalol estabilizadas com CNF nos dias 0 e 30.

Figura 36. Fotografias digitais obtidas a partir da estabilidade ao longo do tempo, nos dias 0 e 30, para as emulsões Pickering de linalol estabilizadas com CNF.

[] OE	Velocidade (rpm)							
	10.000				12.000			
20%	23		24		17		22	
	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30
								
30%	21		18		20		19	
	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30
								
	3 min		7 min		3 min		7 min	
	Tempo							

Azul escuro – 0,5% Azul claro – 1%

Fonte: Autoria Própria.

Conforme discutido anteriormente, o uso de nanofibras de celulose para estabilizar óleos essenciais gera a tendência de sobreposição das fibras e formação de redes emaranhadas e géis macroscópicos, em que o óleo fica preso no interior da rede formada. As amostras 17 (0,5% CNF, 10.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos), 18 (0,5% CNF, 10.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos), 20 (0,5% CNF, 12.000 rpm, 30 % óleo, 3 minutos) e 22 (0,5% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos) apresentaram alto índice de creme, com valores superiores a 25%, conforme apresentado na Tabela 6. Todas as amostras foram preparadas com 0,5% de CNF, indicando que, para morfologia nanofibrilar, baixas concentrações induzem má emulsificação, com alta tendência de coalescência (Lu *et al.*, 2021).

As emulsões com maiores teores de CNF apresentaram menores valores de CI após 30 dias de armazenamento, o que pode ser atribuído à estrutura inerente emaranhada formada por meio de ligações de hidrogênio e estabilizada por interações coloidais (Li, Wang, *et al.*, 2019).
















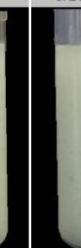
Tabela 6. Valores do índice de cremação e razão de sedimentação das *Pickering emulsions* estabilizadas com CNF.

Amostra CNF	Linalol			
	Índice de cremação (%)		Razão de sedimentação (%)	
	Dia 0	Dia 30	Dia 0	Dia 30
17	24,4 ± 2,2	28,0 ± 3,0	0	0
18	17,7 ± 1,8	28,8 ± 2,4	0	0
19	0	5,7 ± 0,8	0	0
20	0	45,8 ± 4,1	0	0
21	12,2 ± 1,6	15,2 ± 2,0	0	0
22	0	27,1 ± 2,1	0	0
23	0	0	0	0
24	0	19,0 ± 1,7	0	0

Baseado nos resultados encontrados, verificou-se que, para o OE de linalol, a concentração de óleo e o tempo são fatores que não influenciam na estabilidade, enquanto os demais são uma combinação relevante para a estabilização. Resultados similares acerca da concentração de CNFs foram reportados por Paximada e colaboradores (2016), que investigaram o uso de celulose bacteriana como estabilizante de emulsões óleo/água (Paximada *et al.*, 2016). Além disso, enquanto as emulsões linalol-CNC apresentaram um comportamento emulsionado de aspecto mais líquido, as emulsões linalol-CNF apresentaram um comportamento do tipo gel.

A Figura 37 apresenta as fotografias digitais obtidas para as emulsões nos dias 0 e 30 para avaliação da estabilidade das amostras OE Cardamomo/CNF, que apresenta estabilidade significativamente superior às emulsões de linalol/CNF. Diferente do observado para as emulsões estabilizadas com CNC, não houve a formação de uma fase creme após o armazenamento, mas sim uma diminuição do volume da fase de emulsão.

Figura 37. Fotografias digitais obtidas a partir da estabilidade ao longo do tempo, nos dias 0 e 30, para as emulsões de OE de cardamomo/ CNF.

[] OE	Velocidade (rpm)							
	10.000				12.000			
20%	43		48		44		47	
	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30
								
30%	42		45		41		46	
	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30
								
	3 min		7 min		3 min		7 min	
	Tempo							

Azul escuro – 0,5% Azul claro – 1%

















Fonte: Autoria Própria.

As amostras que apresentaram maior instabilidade foram 42 (0,5% CNF, 10.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos), 44 (0,5% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos) e 48 (0,5% CNF, 10.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos), que possuem em comum a concentração de 0,5% de CNF. Esses resultados indicam que, tanto para OE de linalol quanto cardamomo requerem maior concentração de nanofibras para emulsificar adequadamente a mistura O/A. Já as amostras mais estáveis foram 41 (1% CNF, 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos) 46 e 47 (1% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos), que possuem como fator comum 1% CNF e elevada velocidade de emulsificação, indicando que um elevado nível de energia deve ser

concedido ao sistema para que ele supere a barreira energética e atinja a estabilidade da emulsão.

A Figura 38 apresenta as fotografias digitais obtidas para as emulsões de canela estabilizadas com CNF, que apresentaram aparência similar às de cardamomo/CNF.

Figura 38. Fotografias digitais obtidas a partir da estabilidade ao longo do tempo, nos dias 0 e 30, para as emulsões de OE de canela e água, utilizando CNF como estabilizante.

[] OE	Velocidade (rpm)							
	10.000				12.000			
20%	67		72		68		71	
	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30
								
30%	66		69		65		70	
	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30	dia 0	dia 30
								
	3 min		7 min		3 min		7 min	
	Tempo							

Azul escuro – 0,5% Azul claro – 1%

Fonte: Autoria Própria.

Apesar de todas as amostras apresentarem alta estabilidade, as amostras 65 (1% CNF, 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos), 67 (1% CNF, 10.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos) e 69 (1% CNF, 10.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos) apresentaram espaços contendo óleo livre visualmente perceptíveis no interior do tubo de ensaio, indicando que essas amostras não foram homogeneamente emulsificadas. Além disso, as amostras 66 (0,5% CNF, 10.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos), 69 e 70 (0,5% CNF, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos) apresentaram uma fina camada superficial de óleo na parte superior, indicando que durante os trinta dias de armazenamento, uma parte do óleo se desprende e coalesceu, gerando uma separação de fase praticamente imperceptível. As amostras mais estáveis, com base

nos resultados apresentados, foram 68 (0,5% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos) e 71 (1% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos), possuindo em comum o menor teor de óleo essencial (oposto do observado para os nanocristais de celulose) e maior rotação.

Sulbarán-Rangel e colaboradores prepararam emulsões estabilizadas por nanofibras de celulose parcialmente acetiladas e analisaram a estabilidade das emulsões ao longo de 43 dias. Os autores verificaram que as amostras mais estáveis apresentaram IC de ~34% (Sulbarán-Rangel *et al.*, 2020). Os autores reportaram que a forma anisotrópica das partículas influencia na cobertura de uma fração maior da área interfacial, produzindo um empacotamento interfacial maior e módulos viscoelásticos. A forma anisotrópica das partículas também promove a formação de uma estrutura em rede na superfície da gota da emulsão. Assim, de acordo com os autores, esses resultados foram considerados excelentes. Comparado com esses resultados, as emulsões desenvolvidas apresentaram excelente estabilidade.

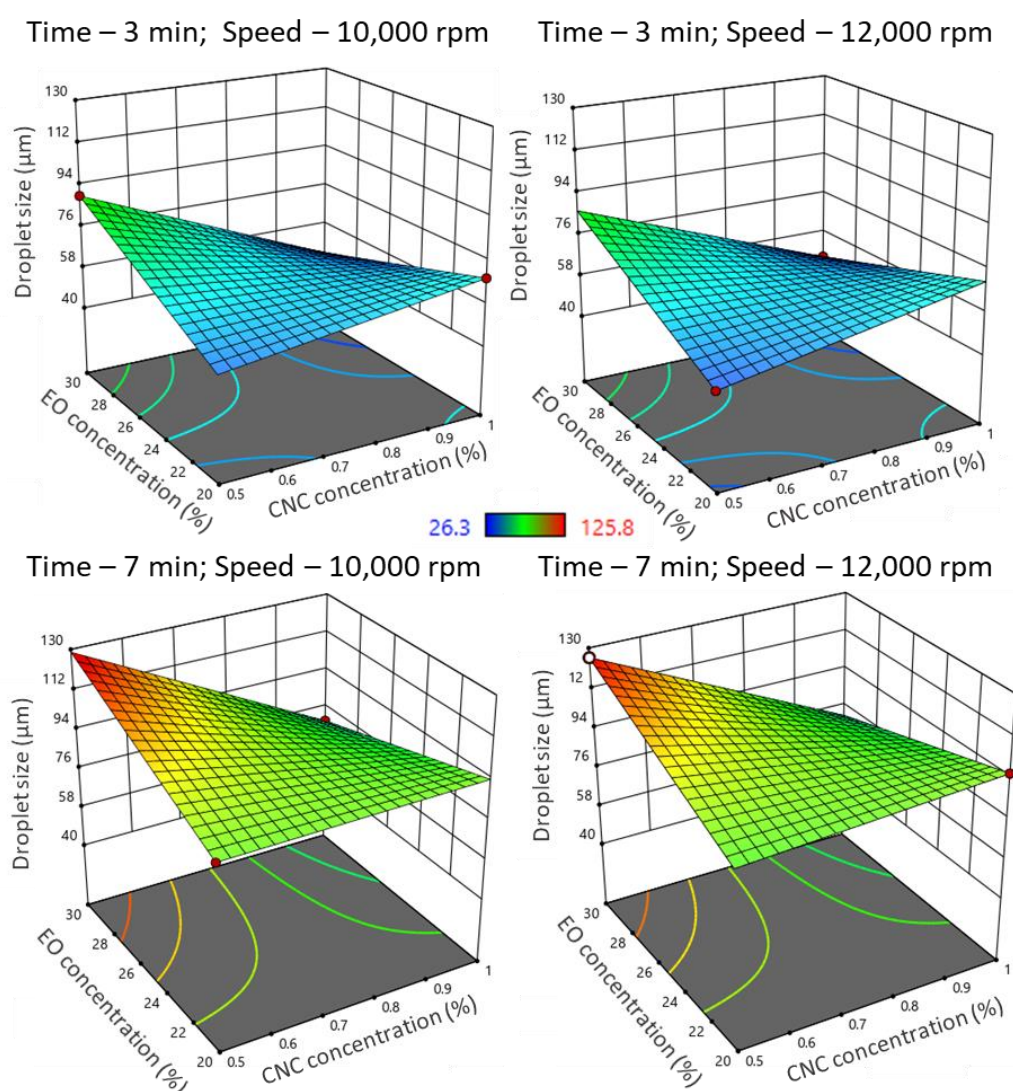
5.5 Design de experimentos

O design de experimentos foi realizado de forma simplificada, utilizando valores mínimos e máximos de cada parâmetro para a preparação das emulsões, sendo considerado como um projeto experimental de triagem, utilizado para minimizar o número de experimentos necessários para identificar os fatores mais críticos que afetam o tamanho de gotículas e a estabilidade das emulsões. Os resultados utilizados para essa análise foram os valores de IC no dia 30 e os tamanhos de gotícula, obtidos por microscopia ótica, também para o dia 30. Os valores no dia 30 foram selecionados para considerar a emulsão em seu “estado final de estabilidade”. Os resultados das misturas de óleo/água não foram considerados pois este sistema é completamente instável. Uma vez que já foram discutidos os resultados separadamente, o design de experimentos foi utilizado para analisar o conjunto de amostras e verificar, de forma simplificada, os parâmetros que influenciam significativamente na formação e estabilidade de uma emulsão.

Os dados obtidos pelo delineamento experimental foram analisados com o Software Design-Expert®, para o modelo 2FI Reduzido, e uma análise estatística ANOVA também foi realizada. Quando o valor de p encontrado foi igual ou superior a 0,05, foi assumido que nenhum efeito significativo estava presente. Os valores de R^2 foram entre 0,85 e 0,99 para todas as amostras, dos três óleos essenciais estudados, indicando uma boa correlação para todas as variáveis no estudo.

A Figura 39 apresenta os gráficos de superfície de resposta obtidos para o tamanho de partícula das emulsões de linalol estabilizadas com CNC. Verificou-se que não há um padrão nos parâmetros de processo que determinasse o estabelecimento dos menores tamanhos de partícula, estando estes associados a no mínimo dois parâmetros, na maior parte das vezes. Por exemplo, a concentração de 30% de óleo essencial apresentou menores tamanhos de partícula somente na presença de 1% de CNC, sendo este efeito mais pronunciado para maiores velocidades de preparo.

Figura 39. Efeitos das variáveis de preparo no tamanho de gotas das emulsões de linalol estabilizadas por CNC, analisado por superfície de resposta.

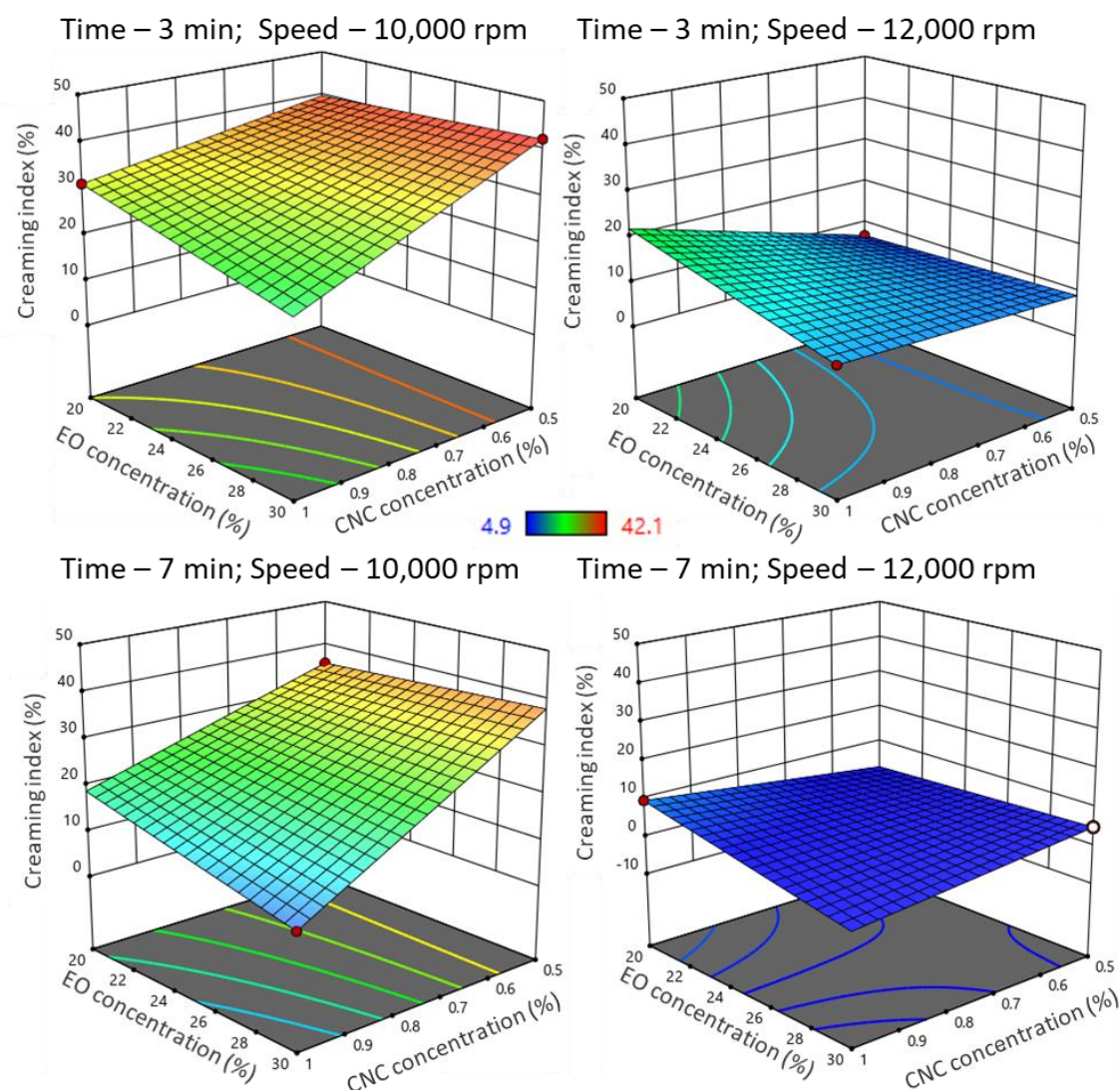


Fonte: Autoria Própria.

A Figura 40 apresenta os gráficos de superfície de resposta obtidos para o índice de cremação. Em todos os gráficos, a concentração de 20% de óleo 0,5% CNC torna-se mais

clara, indicando um aumento no índice de cremação, ou seja, menor estabilidade. Além disso, o gráfico de 7 minutos e 12.000 rpm apresentou uma coloração completamente azul, ou seja, menores valores de IC, enquanto os outros apresentaram outras cores combinadas, indicando que o índice de cremação foi mais variante.

Figura 40. Efeitos das variáveis de preparo no índice de cremação das emulsões estabilizadas por CNC, analisado por superfície de resposta.

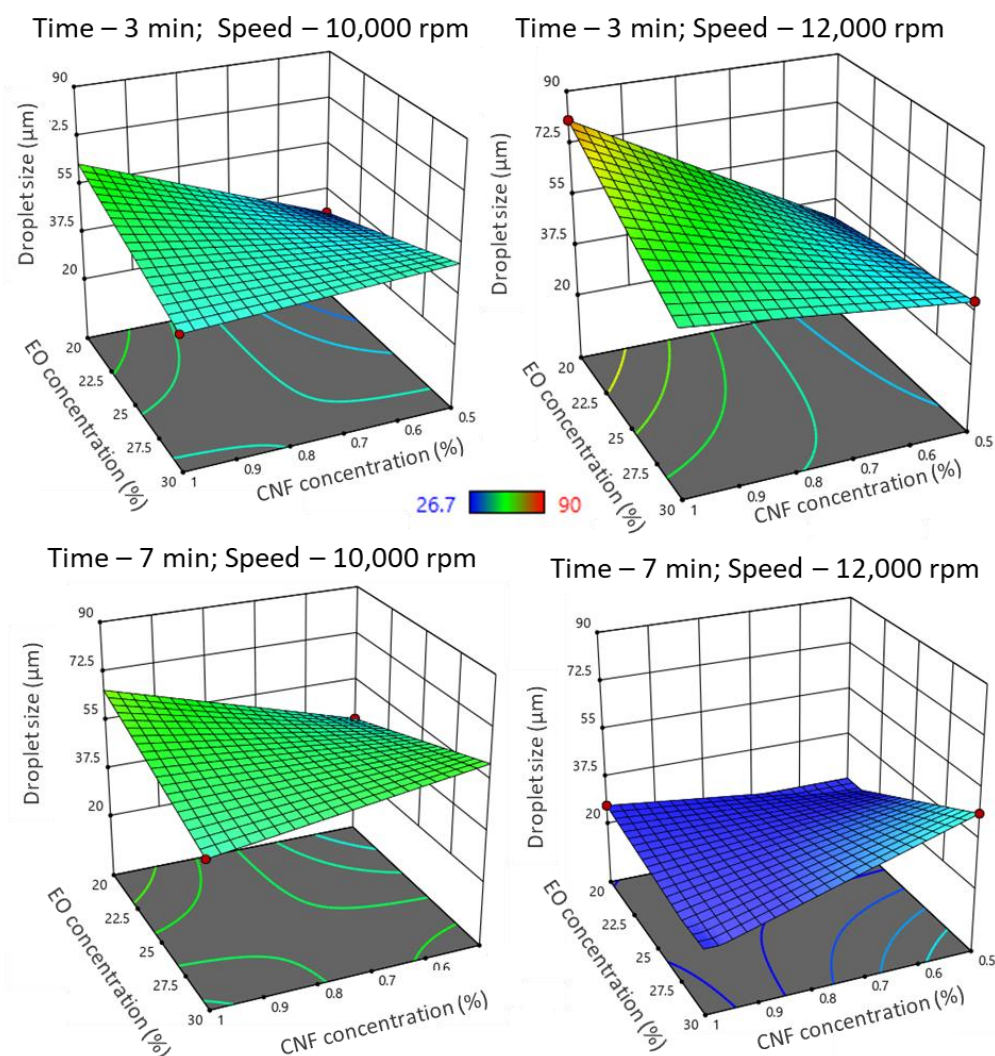


Fonte: Autoria Própria.

Os resultados indicam que as amostras com maior potencial de estabilização em termos de parâmetros de processos foram 9 (1% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos), 13 (1% CNC, 10.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos), 14 (0,5% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos) e 16 (1% CNC, 12.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos). Além disso, a concentração de CNC não se demonstrou como um parâmetro de influência significativa, ou seja, a concentração adequada exigiu uma análise da combinação com os demais fatores.

A Figura 41 apresenta os gráficos de superfície de resposta obtidos para o tamanho de gota das emulsões de linalol estabilizadas com CNF após um mês de armazenamento. Para essas amostras, conforme discutido anteriormente, o tamanho de partícula não é um parâmetro determinante na decisão das amostras mais estáveis, sendo necessária a análise conjunta com os gráficos de superfície de resposta para o índice de cremeação.

Figura 41. Efeitos das variáveis de preparo no tamanho de gota das emulsões de linalol estabilizadas por CNF, analisado por superfície de resposta.

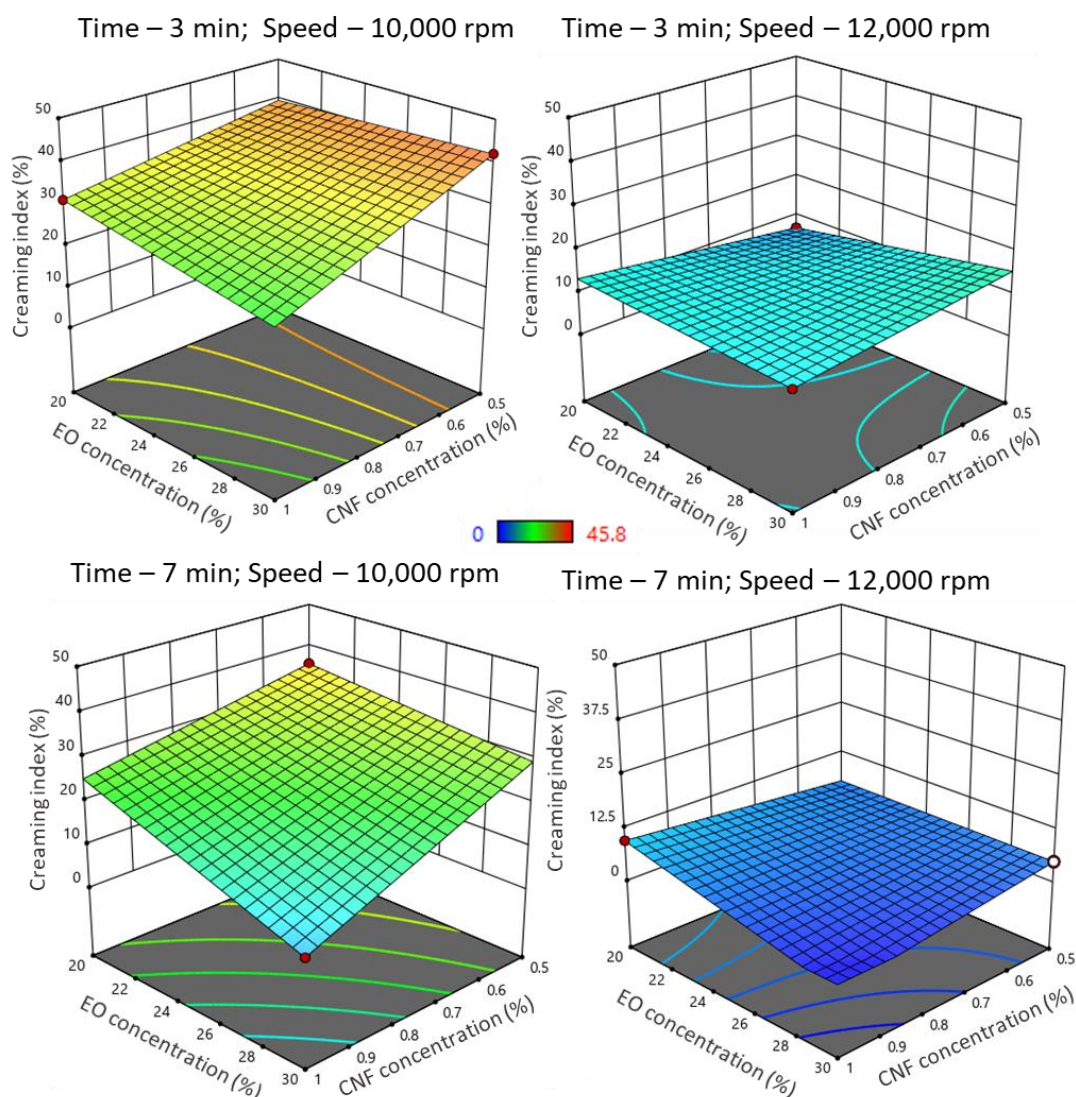


Fonte: Autoria Própria.

A Figura 42 apresenta os gráficos de superfície de resposta obtidos para o IC das emulsões estabilizadas com CNF após um mês de armazenamento. Os menores valores de IC, ou seja, as emulsões mais estáveis, foram observadas para as emulsões preparadas a 12.000 rpm durante 3 ou 7 minutos, podendo ser identificadas pela coloração azul dos gráficos. Esse resultado indica que baixas velocidades de preparação não fornecem energia

suficiente para que haja uma homogeneização eficiente e formação da estrutura tridimensional formada pelas nanofibras de celulose. Além disso, verifica-se uma tendência a menores valores de índice de cremação para 1% de CNF, possivelmente porque mais nanofibras estavam disponíveis para estabilizarem o óleo essencial (Franco *et al.*, 2019).

Figura 42. Efeitos das variáveis de preparo no índice de cremação das emulsões linalol/CNF, analisado por superfície de resposta.



Fonte: Autoria Própria.

A partir dos resultados da ANOVA, foram obtidas as equações finais para o IC (Equação 42) e o tamanho da gota (Equação 43) em relação aos fatores codificados: A: concentração de fase sólida, B: concentração de óleo, C: velocidade, D: tempo, e E: morfologia de nanocelulose (CNC ou CNF).

$$IC = 19.9 - 4.81 \cdot A + \mathbf{2.93 \cdot B} - 5.18 \cdot C - 5.44 \cdot D + \mathbf{1.3 \cdot E} - 2.76 \cdot AB + \mathbf{3.76 \cdot AC} - 0.5 \cdot AD - 1.06 \cdot AE + \mathbf{1.55 \cdot BC} - 2.21 \cdot BD + \mathbf{5.1 \cdot BE} + 0.56 \cdot CD + \mathbf{5.4 \cdot CE} - 2.34 \cdot DE \quad (42)$$

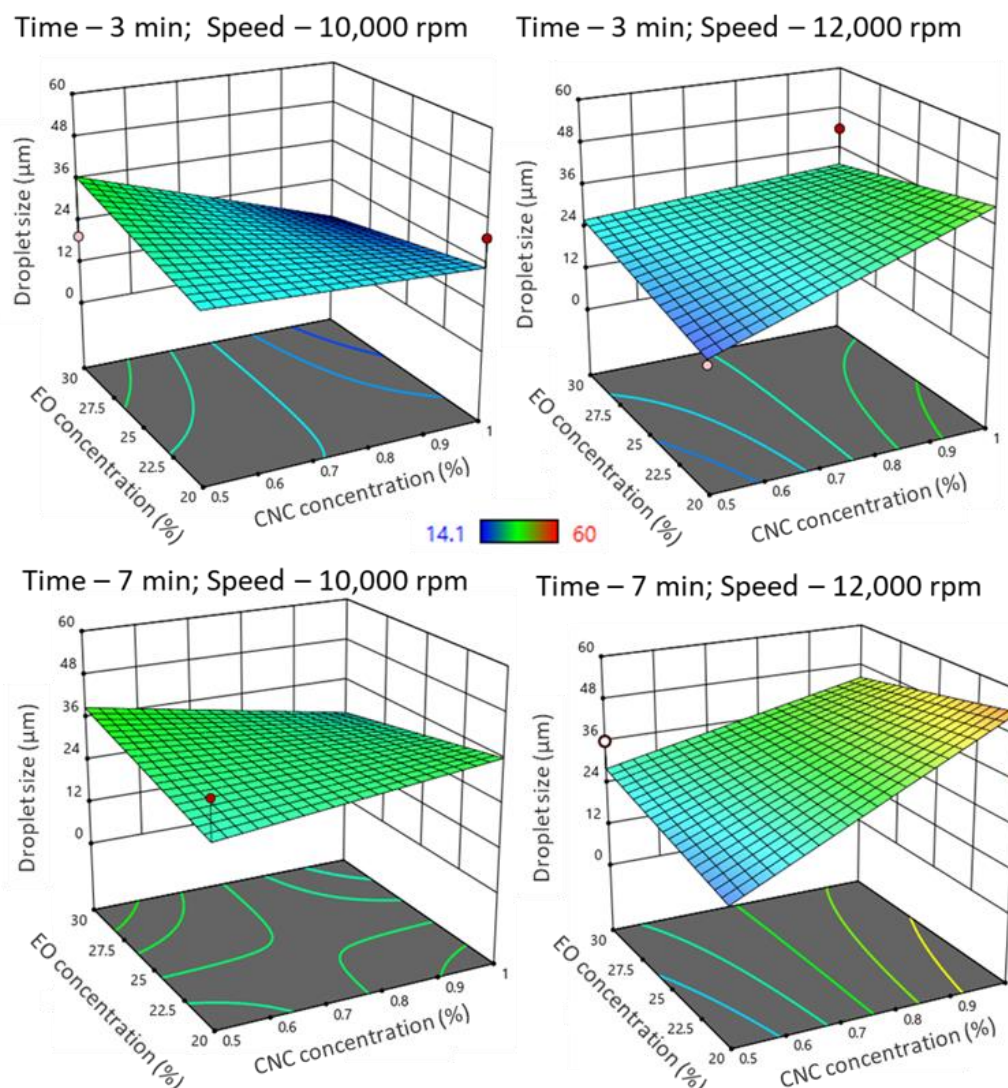
$$\text{Tamanho de gota} = + 62.2 - 2.3 \cdot A + \mathbf{1.5 \cdot B} + \mathbf{3.9 \cdot C} + \mathbf{6.1 \cdot D} - 17.7 \cdot E - 9.7 \cdot AB + \mathbf{3.8 \cdot AC} - 5.9 \cdot AD + \mathbf{7.6 \cdot AE} - 2.5 \cdot BC + \mathbf{2.6 \cdot BD} - 1.1 \cdot BE + \mathbf{5.4 \cdot CD} + \mathbf{4.1 \cdot CE} - 10.1 \cdot DE \quad (43)$$

Os parâmetros individuais que influenciaram a **cremeação**, e conseqüentemente sua instabilidade, foram a concentração de óleo e a morfologia da nanocelulose, enquanto o **tamanho das gotas** foi afetado pela concentração de óleo, velocidade e tempo. A concentração de óleo foi um parâmetro em comum para as emulsões estabilizadas com CNC ou CNF, enquanto o tempo foi um fator em comum para as emulsões estabilizadas com CNC. Paralelamente, nas interações de parâmetros em pares, considerando o índice de cremeação, a concentração de partículas só foi impactada pela velocidade, enquanto a concentração de óleo foi afetada pela velocidade e morfologia da fase sólida. Já o tamanho de gota é mais sensível a variação concomitante da morfologia de nanocelulose e sua concentração ou velocidade de homogeneização, e o tempo pela velocidade ou concentração de óleo.

Ao ignorar a morfologia da nanocelulose, uma vez que ambas as morfologias foram investigadas neste trabalho, verificou-se que para a emulsificação do óleo essencial de Ho wood, utilizando nanocelulose como fase sólida, a concentração de fase sólida (nanocelulose) foi o fator de menor impacto na emulsificação deste OE.

A Figura 43 apresenta os gráficos de superfície de resposta obtidos para o tamanho de partícula das emulsões de cardamomo estabilizadas com CNC. Os resultados indicam que, com o uso de nanocristais de celulose como fase sólida, a velocidade de 10.000 rpm, 7 minutos e 1% de CNC resultam em gotas de tamanhos maiores, independente dos outros parâmetros, identificado pela coloração verde do gráfico. Maiores concentrações de óleo essencial mostram uma tendência de menores gotículas, o que pode estar associado a maior disponibilidade de fase oleosa a ser recoberta por nanoceluloses.

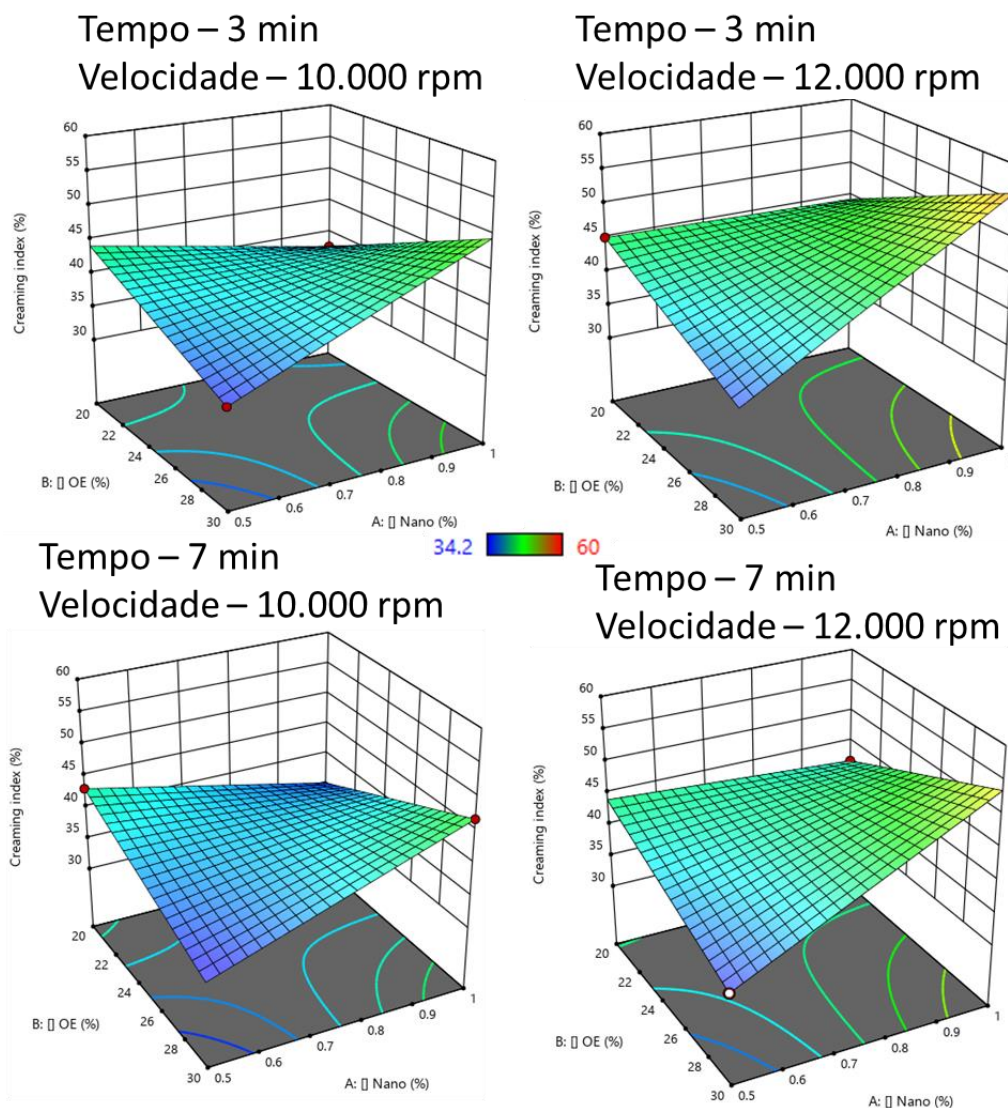
Figura 43. Efeitos das variáveis de processo no tamanho de gota das emulsões de cardamomo estabilizadas com CNC.



Fonte: Autoria Própria.

A Figura 44 apresenta os gráficos de superfície de resposta obtidos para o índice de creme das emulsões de cardamomo estabilizadas com CNC. Os resultados indicam que a combinação de 0,5% CNC e 30% de óleo essencial, independente das demais condições de preparo, resultam em menores índices de creme, ou seja, houve uma emulsificação mais eficiente, menos suscetível a fenômenos de instabilidade durante o armazenamento.

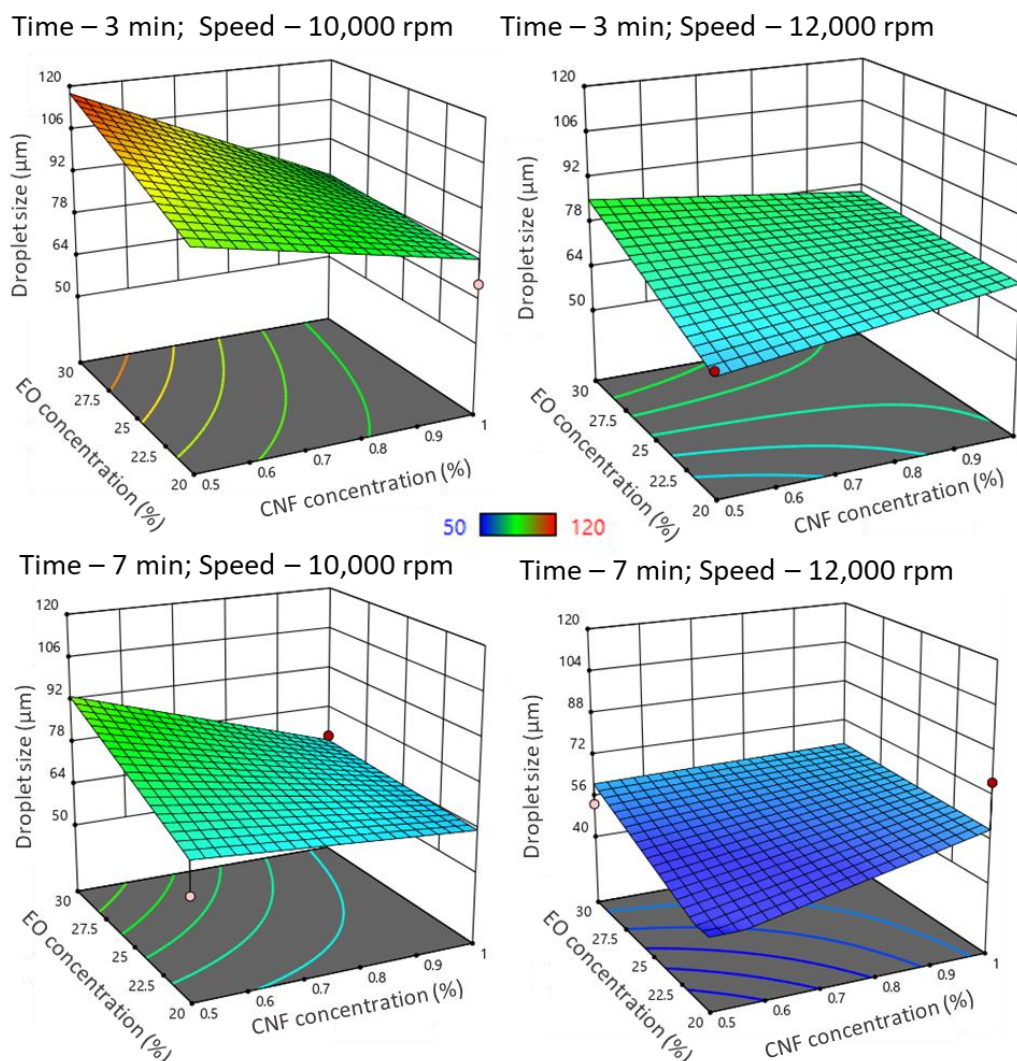
Figura 44. Efeitos das variáveis de processo no índice de creme das emulsões de cardamomo estabilizadas com CNC.



Fonte: Autoria Própria.

A mesma análise foi realizada para as emulsões estabilizadas com CNF, e os gráficos de tamanho de gota são apresentados na Figura 45. Para as emulsões estabilizadas com CNF, verifica-se uma tendência de menores tamanhos de gota para concentrações de 1% nanofibras, sendo que os gráficos com predominância de coloração azul, ou seja, menores valores, foram verificados em altas velocidades. Claramente, 10.000 rpm foram insuficientes para garantir uma boa estabilidade do sistema, possivelmente sem garantir que as CNFs formassem a estrutura tridimensional do tipo gel adequadamente. Diferente do observado para as CNCs, a concentração de óleo não foi um fator dominante na estabilidade das emulsões contendo CNF, uma vez que os resultados são variáveis para esse parâmetro.

Figura 45. Efeitos das variáveis de processo no tamanho de gota das emulsões de cardamomo estabilizadas com CNF.



Fonte: Autoria Própria.

A partir dos resultados da ANOVA, foram obtidas as equações finais para o índice de creme (Equação 44) e o tamanho da gota (Equação 45) em relação aos fatores codificados (A: concentração de partículas, B: concentração de óleo, C: velocidade, D: tempo, e E: morfologia de nanocelulose).

$$IC = 42.39 + 3.2 \cdot A + 0.46 \cdot B - 0.91 \cdot C + 1.9 \cdot D + 5.4 \cdot AB - 0.41 \cdot AC + 1.4 \cdot AD \quad (44)$$

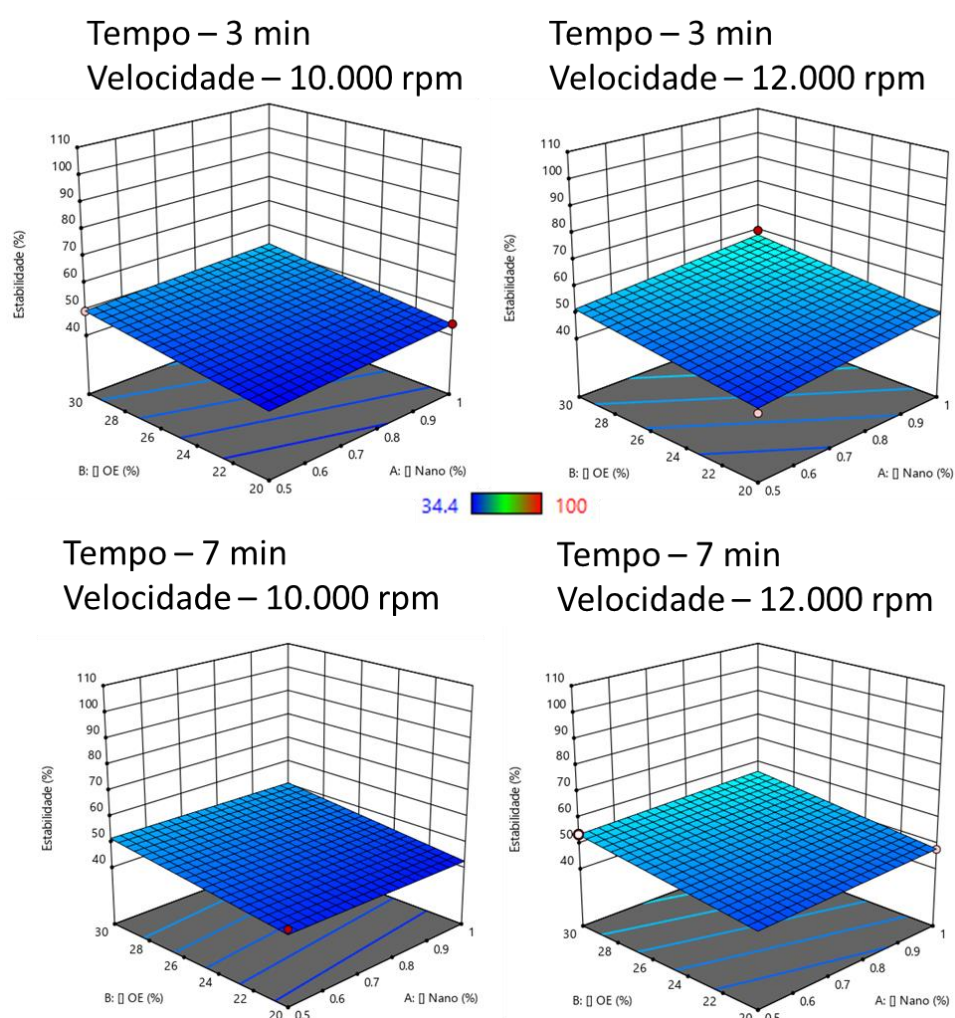
$$\text{Tamanho de gota} = + 52.1 - 0.31 \cdot A + 3.4 \cdot B - 3.6 \cdot C - 2.8 \cdot D + 21.6 \cdot E - 5.1 \cdot AB + 7.2 \cdot AC + 2.7 \cdot AD - 3.6 \cdot AE + 3.2 \cdot BE - 5.4 \cdot CE - 6.6 \cdot DE \quad (45)$$

Os parâmetros individuais que influenciaram a **cremeação** foram a concentração de partículas, concentração de óleo e tempo, enquanto o **tamanho das gotas** foi afetado pela concentração de óleo e morfologia da nanocelulose. Paralelamente, nas interações de

parâmetros em pares, considerando o índice de cremação, a concentração de partículas foi impactada pela concentração de óleo e tempo de preparo. Já para o tamanho de gota, a concentração de partículas foi impactada pela velocidade e tempo, e a concentração de óleo pela morfologia da celulose. Ao ignorar a morfologia da nanocelulose, uma vez que ambas as morfologias foram investigadas neste trabalho, verificou-se que a emulsificação do óleo essencial de cardamomo é mais dependente dos parâmetros A, B e D.

A Figura 46 apresenta os gráficos de superfície de resposta obtidos para o índice de cremação das emulsões de canela estabilizadas com CNC.

Figura 46. Efeitos das variáveis concentração das emulsões CNC/Canela sobre o índice de creme.



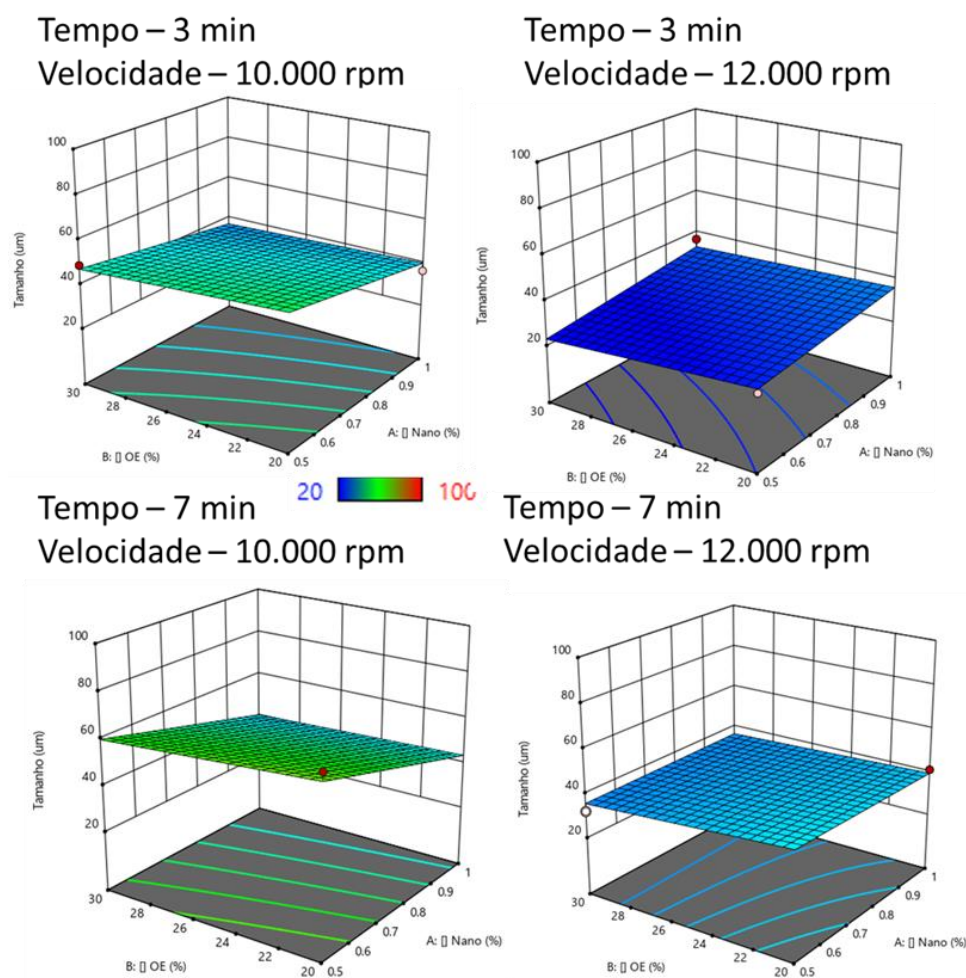
Fonte: Autoria Própria.

A análise dos gráficos indica que os valores de IC não variam significativamente entre as amostras, sendo predominantemente azul escuro, representante de alta estabilidade. No entanto, uma análise cuidadosa permite a identificação de que a concentração de 30% de óleo, em todos os gráficos, apresenta uma coloração azul clara, ou seja, a estabilidade das

emulsões tende a aumentar em maiores concentrações de óleo essencial. Verifica-se também que a presença da coloração azul claro é predominante nos gráficos que utilizaram velocidade de homogeneização de 12.000 rpm.

De forma complementar, os gráficos de superfície de resposta obtidos para o tamanho de gota foram preparados, e são apresentados na Figura 47.

Figura 47. Efeitos das variáveis de processo das emulsões CNC/canela no tamanho de gotas.



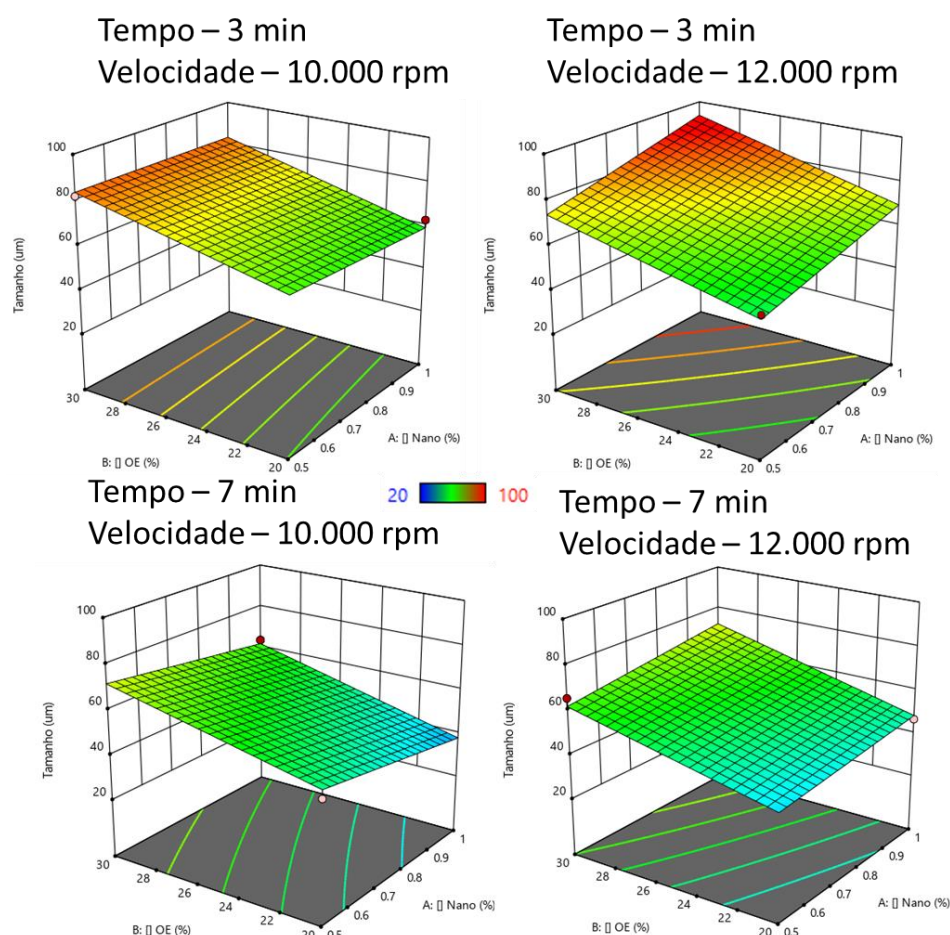
Fonte: Autoria Própria.

Analisando os dados apresentados, tem-se que as amostras mais promissoras em termos de estabilidade e tamanho de partícula foram a 57 (1% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos) e 62 (0,5% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos). Essas amostras possivelmente apresentaram melhor recobrimento interfacial pelas nanoceluloses rígidas. A menor concentração de CNC exigiu maior tempo de preparo, e a maior concentração, menor tempo. No caso das maiores concentrações de CNCs, pode-se considerar que as emulsões atingiram um tempo de equilíbrio em 3 minutos, e tempos adicionais não alteram

o estado de dispersão, uma vez que a entrada de energia é muito baixa para promover mais deformação e quebra de gotículas. Já no caso de menores concentrações, foi necessário mais tempo para atingir esse estado de equilíbrio (Kempin, Kraume e Drews, 2020).

A Figura 48 apresenta os gráficos de superfície de resposta obtidos para o tamanho de gotas para as emulsões de canela estabilizadas por CNF.

Figura 48. Efeitos das variáveis de processo das emulsões CNF/canela no tamanho de gotas.



Fonte: Autoria Própria.

Os gráficos indicaram que menores concentrações de óleos essenciais resultaram em partículas com menores diâmetros. Kempin e colaboradores reportaram que anteriormente não havia sido observado uma influência do volume da emulsão e suas fases na distribuição de tamanho de gota, o que indica que esse comportamento é uma descoberta inovadora para o óleo essencial de canela, o que não foi observado para os outros óleos essenciais estudados (Kempin, Kraume e Drews, 2020). Outro parâmetro que apresentou tendência a menores tamanhos de partículas foi maior rotação, similar ao observado para as emulsões estabilizadas por CNCs, indicando que o óleo essencial de canela exige maiores

velocidades de rotações para que haja uma dispersão eficiente das gotas, e consequentemente, quebra da fase oleosa em gotículas menores.

Não houve uma correlação direta entre o tamanho de partícula e a concentração de CNF ou o tempo de processo. A partir dos resultados da ANOVA, foram obtidas as equações finais para o índice de creme (Equação 46) e o tamanho da gota (Equação 47) em relação aos fatores codificados (A: concentração de partículas, B: concentração de óleo, C: velocidade, D: tempo, e E: morfologia de nanocelulose).

$$IC = 74.4 - 1.42 \cdot A - 3 \cdot B - 0.83 \cdot C + \mathbf{0.03 \cdot D} + \mathbf{25.5 \cdot E} - 0.11 \cdot AB - 0.52 \cdot AC + \mathbf{1.33 \cdot AD} + \mathbf{1.43 \cdot AE} + \mathbf{3.0 \cdot BE} + \mathbf{0.84 \cdot CE} - 0.03 \cdot DE \quad (46)$$

$$\text{Tamanho de gota} = +52.8 - 0.86 \cdot A + \mathbf{4.3 \cdot B} - 3.5 \cdot C - 2.1 \cdot D + \mathbf{11.3 \cdot E} + \mathbf{0.84 \cdot AB} + \mathbf{5.08 \cdot AC} - 2.33 \cdot AD + \mathbf{2.46 \cdot AE} + \mathbf{6.78 \cdot BE} + \mathbf{3.64 \cdot CE} - 6.19 \cdot DE \quad (47)$$

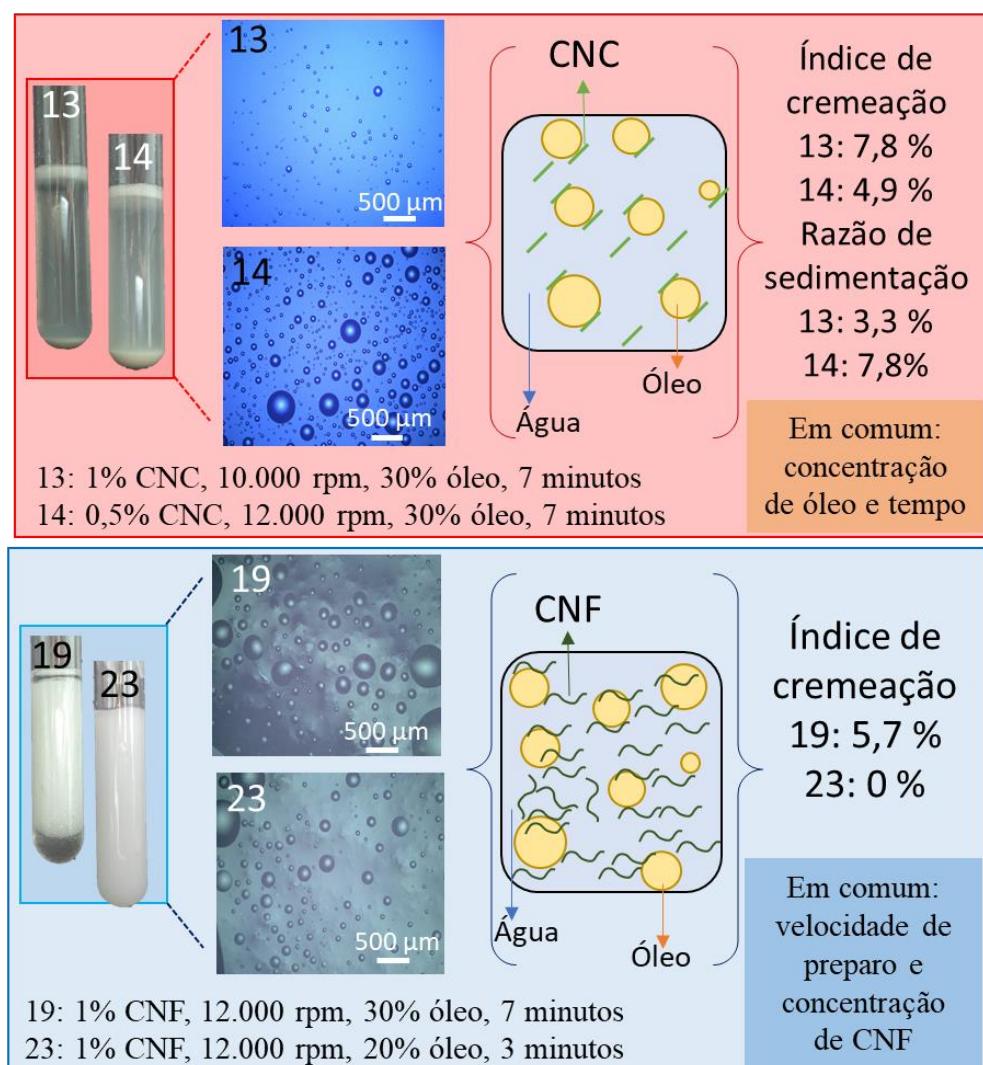
Os parâmetros individuais que influenciaram a **cremeação** foram o tempo e a morfologia da nanocelulose, enquanto o **tamanho das gotas** foi afetado pela concentração de óleo, que foi uma constante nas emulsões selecionadas. Paralelamente, nas interações de parâmetros em pares, a concentração de partículas e a morfologia foram altamente afetadas por todas as outras, ou seja, a característica de fase sólida é essencial na obtenção de uma emulsão estável sem separação de fase. Ao ignorar a morfologia da nanocelulose, uma vez que ambas as morfologias foram investigadas neste trabalho, a concentração de fase sólida mostrou alta dependência dos outros fatores para todas as emulsões.

5.6 Compilado de resultados

Compilando todos os resultados encontrados pelo DoE (*Design of Experiments*) e pelos dados experimentais, a Figura 49 apresenta um compilado das principais informações e resultados das emulsões de óleo essencial de linalol selecionadas para as próximas etapas do presente trabalho. Os resultados indicam que para CNCs, que são partículas rígidas com baixo L/D, não houve concentração de fase sólida padrão para a obtenção de emulsões estáveis. As condições ideais para uma boa emulsificação e estabilização foram 30% de óleo essencial e 7 minutos de homogeneização. A maior concentração de óleo essencial indica que foi necessária maior fase oleosa para diminuir a razão de sedimentação e camada cremosa, garantindo a formação de uma camada de cobertura na emulsão, entre as gotas de óleo e água. Além disso, as emulsões Pickering são mais estáveis com 7 minutos de homogeneização, possivelmente porque há mais tempo para a quebra das gotas em

gotículas menores, aproximação e adsorção dos CNCs nas interfaces e formação de uma barreira física estável contra a coalescência.

Figura 49. Ilustração esquemática dos principais resultados encontrados para as emulsões de óleo essencial de linalol e água, estabilizados com CNC e CNF.



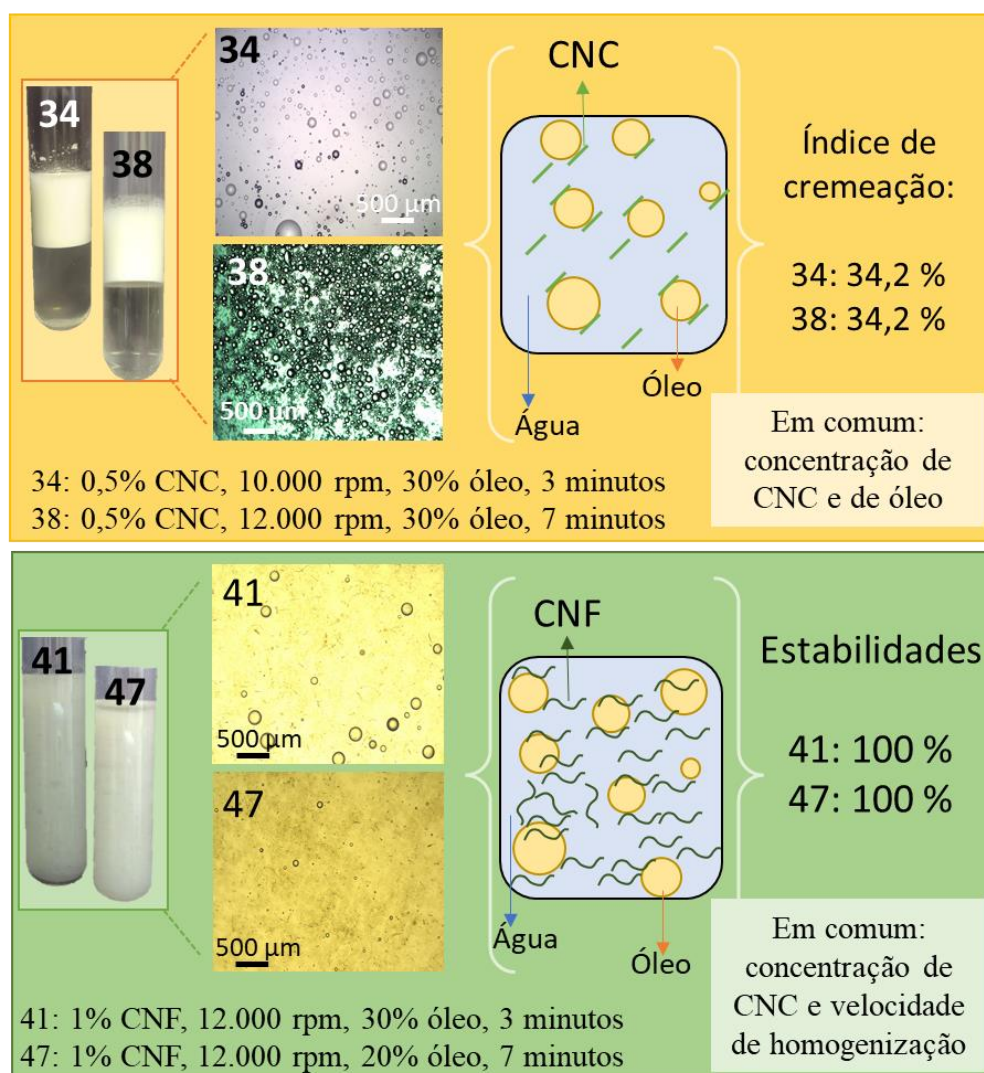
Fonte: Autoria Própria.

As Pickering *emulsions* estabilizadas com CNF, partículas de elevado L/D e alta flexibilidade, apresentaram como parâmetros em comum para a emulsificação a elevada concentração de CNF (1%) e a velocidade de homogeneização de 12.000 rpm. Os comprimentos micrométricos das nanofibras de celulose limitam a sua mobilidade durante o processo de homogeneização, o que poderia dificultar a quebra das gotas de óleo em gotículas menores e mais estáveis. Dessa forma, pode-se correlacionar ambos os parâmetros, uma vez que maiores velocidades fornecem mais energia para dispersar as CNFs na solução e gerar uma camada de cobertura ao redor das gotas. No entanto, devido

aos elevados tamanhos das fibras, estas tendem a se emaranhar com as CNFs próximas, formando um gel, em que as gotas de óleo estão presas no interior da estrutura 3D. O denso emaranhado de fibras evita a aproximação e coalescência das gotas por meio de impedimento estérico.

A Figura 50 apresenta um compilado das principais informações e resultados das emulsões de óleo essencial de cardamomo selecionadas para as próximas etapas do presente trabalho.

Figura 50. Ilustração esquemática dos principais resultados encontrados para as emulsões de óleo essencial de cardamomo e água, estabilizados com CNC e CNF.



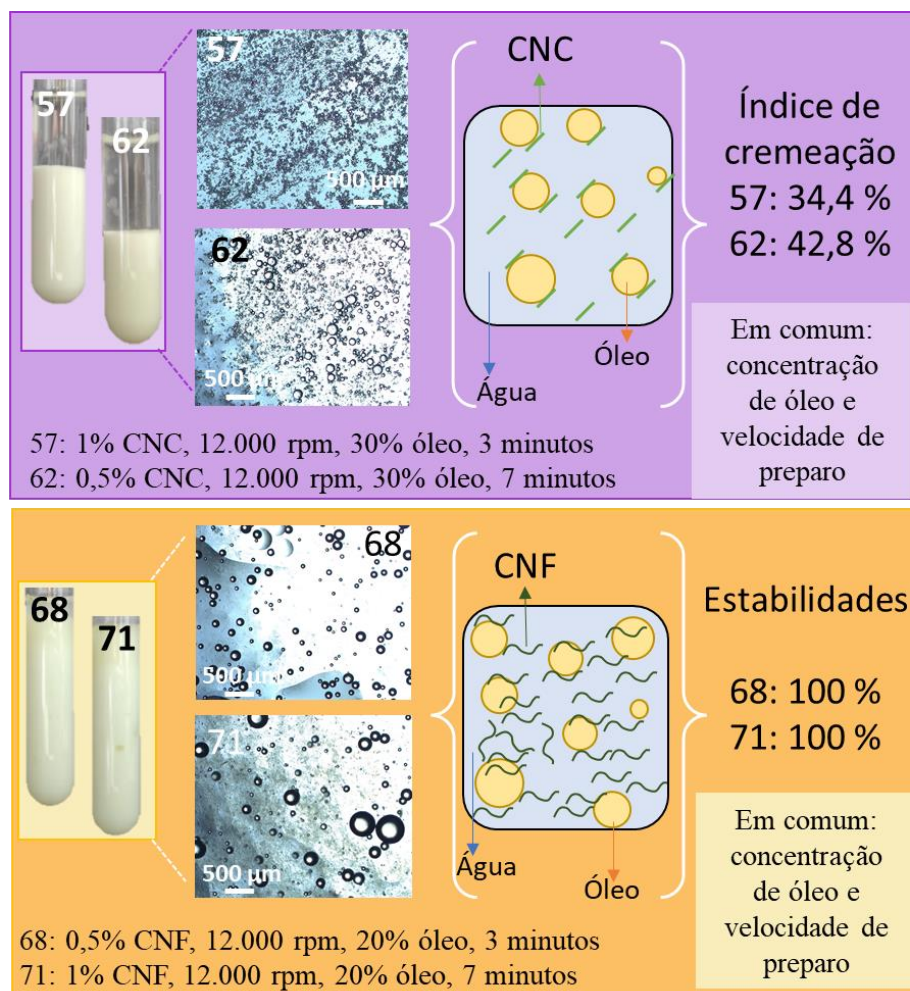
Fonte: Autoria Própria.

Os resultados indicam que para CNCs são indicados menores teores de fase sólida e maiores concentrações de óleo essencial, sendo este último também observado para o OE

de linalol. A maior concentração de óleo essencial e menor concentração de fase sólida indicam que é necessário mais óleo disponível no sistema para que haja um recobrimento eficiente pelos CNCs, visando a formação de uma camada de cobertura ao redor das gotas de óleo. Já no caso das CNFs, foi necessário um maior teor de fase sólida, bem como maiores velocidades de homogeneização, refletindo na maior energia necessária para formar a estrutura tridimensional estável ao redor das gotículas de óleo.

Assim, compilando todos os resultados encontrados, a Figura 51 apresenta um compilado das principais informações e resultados das emulsões de óleo essencial de canela selecionadas para as próximas etapas do presente trabalho.

Figura 51. Ilustração esquemática dos principais resultados encontrados para as emulsões de óleo essencial de canela e água, estabilizados com CNC e CNF.



Fonte: Autoria Própria.

5.7 Considerações parciais – Etapa 1

Para sumarizar, dentre todas as condições de preparo estudadas e os três óleos essenciais investigados, foram selecionadas duas emulsões estabilizadas com CNC e duas

com CNF. Não foram selecionadas misturas de óleo essencial e água pois, conforme apresentado, devido a diferenças de polaridade e imiscibilidade entre as fases, os sistemas não são emulsionáveis a ponto de atingir uma estabilidade, e, portanto, não são adequadas para uso a longo prazo. As amostras selecionadas foram:

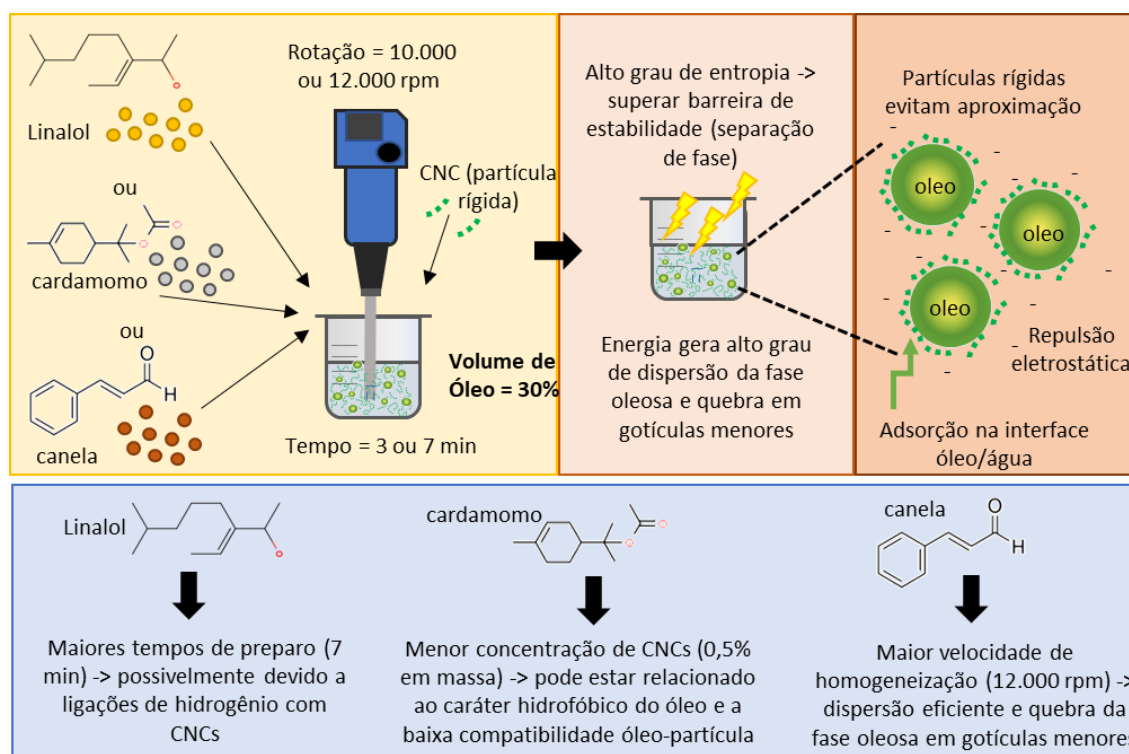
- 13 - Linalol – 1% CNC, 10.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
- 14 - Linalol – 0,5% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
- 19 - Linalol – 1% CNF, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
- 23 - Linalol – 1% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos
- 34 - Cardamomo - 0,5% CNC, 10.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos
- 38 - Cardamomo – 0,5% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
- 41 - Cardamomo - 1% CNF, 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos
- 47 - Cardamomo – 1% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos
- 57 - Canela - 1% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos
- 62 - Canela – 0,5% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos
- 68 - Canela - 0,5% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos
- 71 - Canela – 1% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos

Uma vez que um dos objetivos deste estudo foi avaliar a influência dos padrões de processo e das características dos óleos essenciais na preparação de *Pickering emulsions*, no caso das emulsões estabilizadas com nanocristais de celulose (em vermelho), verificou-se que a velocidade de homogeneização e o tempo não são padronizados, ou seja, as características do óleo essencial são parâmetros importantes na estabilização nas condições de processo. No entanto, a concentração de óleo essencial foi a mesma para todas as emulsões, de 30%, indicando que no caso de partículas rígidas, independente da estrutura química do óleo essencial, maiores concentrações de óleo essencial são mais adequadas para a dispersão das gotas em tamanhos menores e adsorção das CNCs nas interfaces. Isso permite a realização de uma correlação entre a morfologia da partícula sólida e o volume de óleo essencial adequado para que haja uma estabilização eficiente, com cobertura superficial das gotículas de óleo pelas CNCs. De acordo com Zhu e colaboradores, que investigaram óleo de girassol, variando entre 25 e 75% a fração de óleo, esse comportamento ocorre, pois, entre 20 e 30% normalmente encontra-se uma quantidade adequada de grupos ativos por gota para interagir com as CNCs e mantê-las adsorvidas (Zhu *et al.*, 2020). Estes autores verificaram que a concentração de 25% foi a mais

adequada para o sistema estudado, sendo um valor próximo ao estabelecido no presente trabalho. Outras correlações não puderam ser realizadas pois o Design de Experimentos foi realizado de forma simplificada.

Outros padrões observados foram que o OE de linalol exige tempos maiores de processamento para atingir maior estabilidade, possivelmente sendo um reflexo de uma maior energia necessária para a adsorção eficiente dos CNCs na interface. Já no caso do OE de cardamomo, o padrão foi a menor concentração de nanopartículas, podendo estar relacionado ao caráter hidrofóbico do óleo e a baixa compatibilidade óleo-partícula, que limitou a adsorção e, acima de 0,5% em massa, resultou na sedimentação do excedente de CNCs. O óleo essencial de canela exigiu alta velocidade de homogeneização para que houvesse uma dispersão eficiente. A Figura 52 apresenta os resultados obtidos durante a primeira etapa deste trabalho, em relação as emulsões de CNC, de forma sumarizada.

Figura 52. Figura ilustrativa dos principais resultados obtidos para as emulsões estabilizadas com CNC durante a primeira etapa do trabalho.



Fonte: Autoria Própria.

Considerando as emulsões estabilizadas com CNF (em azul na listagem acima), verificou-se que o único parâmetro padrão para as amostras selecionadas foi a velocidade de homogeneização (12.000 rpm), indicando que é necessária uma elevada quantidade de energia para que haja a dissociação da fase oleosa e reorganização das gotas em gotículas

menores, bem como para a dispersão das nanofibras de celulose (fibras longas e flexíveis) e a formação de uma estrutura do tipo gel.

Na maioria dos casos, o óleo foi totalmente disperso, indicando que todo o gel formado foi adsorvido na interface óleo-água. Esse comportamento foi verificado anteriormente por Destribats e colaboradores, que prepararam emulsões contendo microgéis com a fase oleosa de hexadecano e reportaram que a energia de emulsificação está diretamente relacionada com a irreversibilidade da ancoragem do gel formado (Destribats *et al.*, 2013).

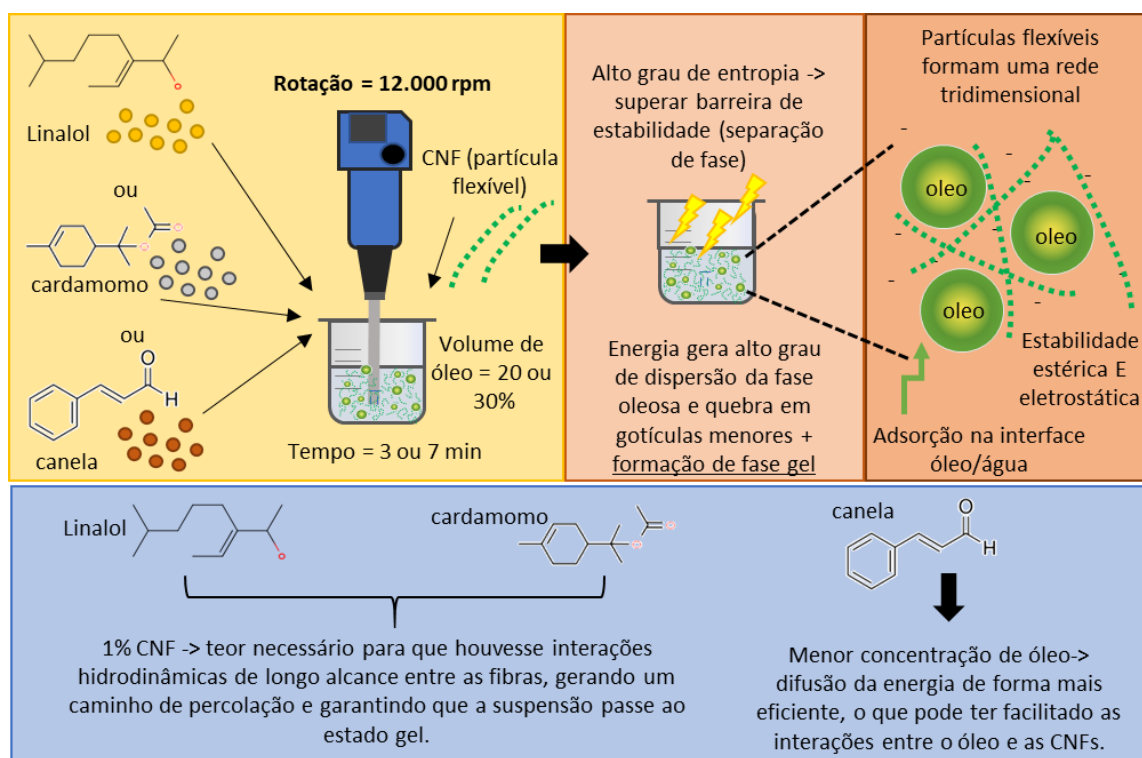
Avaliando os óleos individualmente, verifica-se que os OEs de linalol e cardamomo precisaram de 1% de CNF para atingir a estabilidade de 100%, ou seja, formar a rede tridimensional estável para envolver completamente as gotas de óleo. A concentração de CNF é altamente dependente da sua flexibilidade e razão de aspecto, possuindo relação direta com a capacidade de emulsificação.

As concentrações de 1% encontradas para os óleos de linalol e cardamomo podem estar associadas ao teor necessário para que a concentração atingisse um nível crítico para que houvesse interações hidrodinâmicas de longo alcance entre as fibras, gerando um caminho de percolação e garantindo que a suspensão passe ao estado gel, e que a maioria das gotas esteja bem revestidas, evitando a sua coalescência.

A exceção foi a amostra 68 (0,5% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos), que pode ser justificada por possíveis interações entre a estrutura química do OE de canela e a nanocelulose, permitindo a formação da rede com menores concentrações de CNF. Devido à alta reatividade da estrutura química do óleo essencial de canela e suas possíveis interações com as CNFs, foi necessário um menor teor de óleo essencial para a estabilização dessas emulsões.

A Figura 53 apresenta os resultados obtidos durante a primeira etapa deste trabalho, em relação as emulsões de CNF, de forma sumarizada.

Figura 53. Figura ilustrativa dos principais resultados obtidos para as emulsões estabilizadas com CNF durante a primeira etapa do trabalho.



Fonte: Autoria Própria.

6. Resultados e Discussão – Parte 2

A segunda etapa do presente trabalho consiste em avaliar a interação e influência das nanoceluloses com os óleos essenciais, considerando suas propriedades individuais, como estrutura química, polaridade, densidade, entre outras. Esses resultados são comparados visando entender a influência das propriedades dos OEs na estabilidade e características das *Pickering emulsions*. Tendo em vista que o número de amostras foi reduzido, alterou-se a nomenclatura adotada anteriormente. A Tabela 7 apresenta as novas nomenclaturas.

Tabela 7. Nomenclaturas antigas e sua atualização para a continuação do trabalho, em que PE indica *Pickering emulsion*, L representa Linalol, Car representa Cardamomo, e Can representa Canela.

Número	Características	Nova nomenclatura
13	Linalol – 1% CNC, 10.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos	PEL-CNC1
14	Linalol – 0,5% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos	PEL-CNC2
19	Linalol – 1% CNF, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos	PEL-CNF1
23	Linalol – 1% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos	PEL-CNF2
34	Cardamomo - 0,5% CNC, 10.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos	PECar-CNC1
38	Cardamomo – 0,5% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos	PECar-CNC2
41	Cardamomo - 1% CNF, 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos	PECar-CNF1
47	Cardamomo – 1% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos	PECar-CNF2
57	Canela - 1% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 3 minutos	PECAn-CNC1
62	Canela – 0,5% CNC, 12.000 rpm, 30% óleo, 7 minutos	PECAn-CNC2
68	Canela - 0,5% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 3 minutos	PECAn-CNF1
71	Canela – 1% CNF, 12.000 rpm, 20% óleo, 7 minutos	PECAn-CNF2

Visando relembrar e destacar os principais resultados encontrados para as amostras selecionadas, a Tabela 8 apresenta os resultados de tamanho de partícula e estabilidade.

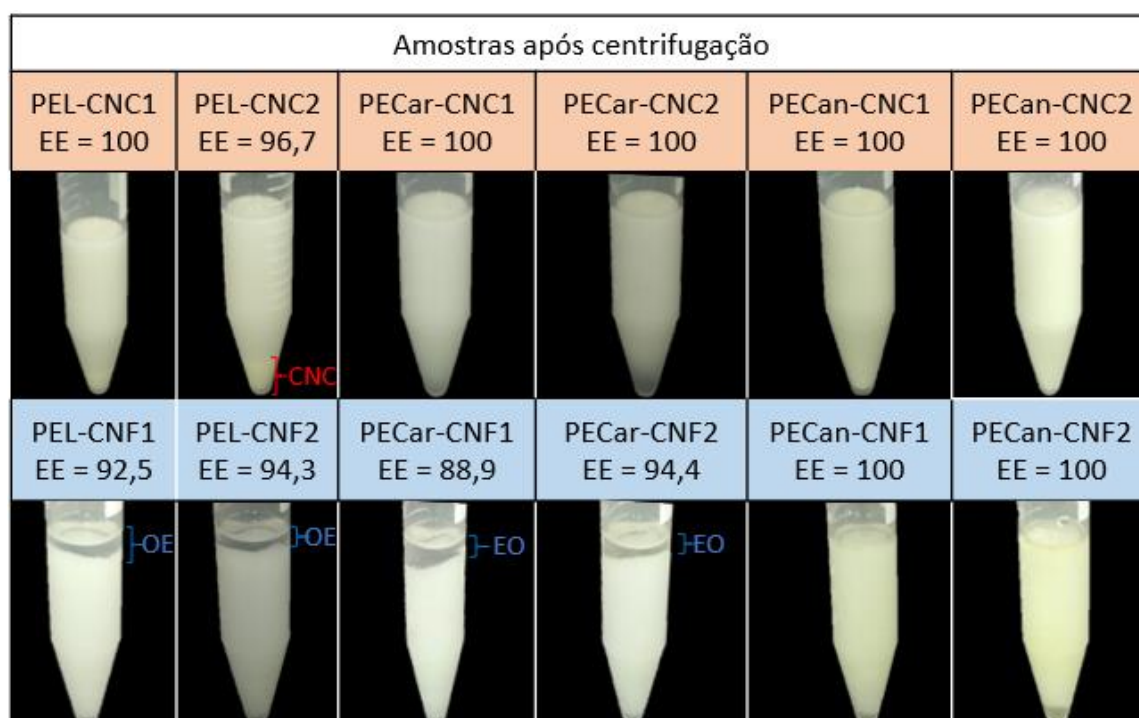
Tabela 8. Principais resultados de tamanho de partícula e estabilidade (dia 30) obtidos para as amostras selecionadas.

Amostra	Tamanho (MO) (μm)	Estabilidade (%)
PEL-CNC1	66,3 \pm 48,9	43,4
PEL-CNC2	60,2 \pm 47,8	39,6
PEL-CNF1	105,0 \pm 66,1	97,0
PEL-CNF2	82,0 \pm 73,6	100
PECar-CNC1	58,0 \pm 32,3	42,3
PECar-CNC2	68,1 \pm 32,4	44,3
PECar-CNF1	131,8 \pm 75,4	100
PECar-CNF2	196,1 \pm 82,5	100
PECAn-CNC1	36,5 \pm 5,5	59,9
PECAn-CNC2	32,1 \pm 8,4	53,6
PECAn-CNF1	55,1 \pm 9,6	100
PECAn-CNF2	46,7 \pm 12,6	100

6.1 Estabilidade sob centrifugação

A estabilidade de uma amostra é geralmente avaliada em condições de deformação ou coalescência induzida por centrifugação, vibrações ultrassônicas de baixa intensidade ou calor. Para avaliar a estabilidade das emulsões sob centrifugação, foram realizados os testes de estabilidade sob centrifugação, e os resultados são apresentados na Figura 54. Essa propriedade é diretamente relacionada a interações entre as fases presentes no sistema (óleo essencial, água e nanoceluloses) e a presença de aglomerados, que podem ser segregados em unidades separadas, formando agregados de gotículas por coalescência (Souza *et al.*, 2020; Tiong *et al.*, 2020).

Figura 54. Emulsões após a centrifugação, para avaliação da estabilidade sob centrifugação.



Fonte: Autoria Própria.

Nenhuma das emulsões estabilizadas com CNC demonstrou separação de fase após a centrifugação, indicando que possivelmente houve a formação de uma camada robusta de CNCs adsorvida ao redor das gotículas de óleo, sendo mantidas por meio de estabilização eletrostática. Ma *et al.* (2021), em seu trabalho, relataram a formação de uma camada de creme após centrifugação a 10.000 rpm usando partículas de celulose semelhantes a folhas e óleo essencial de limoneno (Ma *et al.*, 2021). A amostra PEL-CNC2 foi a única a apresentar a sedimentação das CNCs no fundo do tubo falcon, o que pode ter ocorrido devido à baixas interações das CNCs aderidas à interface óleo/água, que com a

centrifugação aplicada, pode ter segregado e resultado na floculação das nanoceluloses (Whitby e Krebsz, 2014). As demais amostras estabilizadas com CNC, independente do óleo essencial escolhido, demonstraram-se estáveis, conforme esperado e reportado por outros autores (Kalashnikova *et al.*, 2011; Wen *et al.*, 2014).

As emulsões estabilizadas por CNF apresentaram uma tendência de separação de fase para os óleos de linalol e cardamomo, com perda de estabilidade de ~10%, gerando uma camada oleosa na fase superior dos tubos Falcon, indicando que devido à centrifugação, as gotas de óleo que não estavam ligadas tendem a se separar e, por diferença de densidade, irem ao topo do volume total. No entanto, os valores de estabilidade obtidos foram superiores aos relatados por Miao *et al.* (2020) em seu trabalho, que obtiveram uma estabilidade máxima após centrifugação de 75% (Miao, Atifi e Hamad, 2020). Já as emulsões de canela foram 100% estáveis sob a ação da centrifugação. Esses resultados indicam que, mesmo com o caráter predominantemente anfifílico da celulose, as emulsões apresentam alta estabilidade e tendência a adsorção e montagem favorável à interface óleo/água (Cunha *et al.*, 2014; Gestranus *et al.*, 2017).

6.2 Potencial Zeta

As medidas de potencial ζ são importantes pois quando duas ou mais fases são colocadas em contato, e há íons ou elétrons em excesso em ambas as fases, haverá uma tendência para as cargas elétricas se distribuírem em um padrão não uniforme na interface, provavelmente devido às diferenças em polaridade. O arranjo das cargas elétricas é conhecido como dupla camada elétrica, e o potencial zeta refere-se ao potencial elétrico na dupla camada elétrica de uma partícula coloidal (Feng, Kilker e Lee, 2020). Os valores de potencial ζ obtidos estão associados a ionização de grupos de superfície, das pequenas moléculas ou adsorção de íons, das cargas contínuas associadas às estruturas cristalinas ou dessa combinação de mecanismos (Cano-Sarmiento *et al.*, 2018). Uma das principais aplicações dessa técnica é determinar a energia superficial de interação entre cada partícula coloidal, que por sua vez determina a estabilidade das partículas coloidais contra a coagulação ou agregação (Arpagaus *et al.*, 2018). Essa informação é avaliada por meio dos resultados, em módulo.

Emulsões com alto potencial ζ – acima de 30 mV (negativo ou positivo) são eletricamente estabilizadas, enquanto emulsões com baixo potencial tendem a coagular ou flocular, eventualmente levando à separação de fases. No entanto, esses valores também podem ser alterados pela estrutura química da fase oleosa e seus grupos funcionais, bem

como, no caso de emulsões *Pickering*, da estrutura química da fase sólida. Além disso, de acordo com Salvia-Trujillo e colaboradores, emulsões mais viscosas, ou seja, mais empacotadas ou com aspecto mais gel, comumente exibem potencial zeta menores, o que pode ser associado com o tipo de estabilização estérico, via impedimento físico (Salvia-Trujillo *et al.*, 2015). A Tabela 9 apresenta os resultados de potencial zeta obtidos para as emulsões obtidas no presente trabalho.

As emulsões de linalol (PEL) estabilizadas com CNC apresentaram potencial ζ de ~ -45 mV, ou seja, houve uma forte carga elétrica na formulação. Os valores encontrados são superiores ao potencial zeta dos CNCs (-33,0 mV). Valores maiores do que 30 mV, em módulo, indicam elevada estabilidade, o que, se avaliado em conjunto com os resultados de índice de cremeação para PEL-CNC1 e PEL-CNC2, que foram 7,8% e 4,9%, corrobora a estabilidade por meio do baixo índice de cremeação formado. Assim, o elevado valor de potencial zeta pode ser um indicativo de que a adsorção das CNCs na interface O/A foi eficiente, possivelmente devido a uma afinidade eletrostática entre os grupos superficiais da celulose e do óleo essencial (Kralova e Sjöblom, 2009; Salvia-Trujillo *et al.*, 2015).

Além disso, comparando as amostras PEL-CNC1 e PEL-CNC2, tem-se que estas apresentam 0,5 e 1% em massa de nanocelulose, respectivamente, e valores de potencial zeta, que foram -48,8 e -41,1 mV. Observou-se que quanto menor o teor de nanocelulose adicionado, maior a estabilidade eletrostática do sistema, possivelmente porque as hidroxilas estavam mais disponíveis para estabilização. A adição de 1% CNC, por sua vez, pode ter induzido a formação de ligação de hidrogênio entre as nanoceluloses ou interações entre a celulose e o óleo essencial (devido a sua estrutura química), diminuindo as cargas eletrostáticas do sistema.

As emulsões de linalol estabilizadas com CNF apresentaram valores de potencial ζ significativamente menores do que as PEL-CNC. A diminuição nos valores pode ser um indicativo de que as gotas de OE, que possuíam grupos funcionais disponíveis, foram recobertas pelas nanofibras de celulose e apresentaram algum tipo de interação entre fase oleosa e partículas, resultando em uma neutralização parcial das cargas eletrostáticas (Qi, J. ru *et al.*, 2021). No entanto, a presença de cargas negativas permaneceu elevada, característica dos componentes da mistura, indicando que houve estabilização eletrostática. Nessas amostras, a concentração de nanofibras foi constante, e, portanto, a variação do potencial ζ não pode ser associada a esse fator. No entanto, ao analisar a concentração de óleo essencial, verifica-se que a amostra PEL-CNF1, preparada com 30% de OE,

apresentou maior valor absoluto de potencial ζ , confirmando, portanto, que a estrutura química do óleo essencial possui influência na estabilidade da emulsão.

Tabela 9. Resultados de potencial Zeta (ζ) obtidos para as emulsões estudadas.

Amostra	Potencial Zeta (mV)
PEL-CNC1	$-48,8 \pm 2,6$
PEL-CNC2	$-41,4 \pm 0,4$
PEL-CNF1	$-24,1 \pm 1,9$
PEL-CNF2	$-20,6 \pm 1,6$
PECar-CNC1	$-45,6 \pm 1,8$
PECar-CNC2	$-49,9 \pm 0,5$
PECar-CNF1	$-17,9 \pm 1,4$
PECar-CNF2	$-19,5 \pm 1,5$
PECan-CNC1	$-29,3 \pm 3,9$
PECan-CNC2	$-28,3 \pm 1,7$
PECan-CNF1	$-18,3 \pm 1,4$
PECan-CNF2	$-11,1 \pm 0,9$

As emulsões de cardamomo (PECar) estabilizadas com CNC apresentaram valores de potencial ζ de ~ 47 mV. Esses valores são superiores ao potencial ζ dos CNCs. Essa técnica reflete a estabilidade eletrostática das gotículas, e é dependente do empacotamento das gotas e da força de ligação entre as nanoceluloses e o óleo essencial. Sendo assim, a mobilidade eletroforética depende da interface gerada pela adsorção da nanocelulose, e consequentemente, das características intrínsecas do óleo essencial (Keivani Nahr, Ghanbarzadeh, Hamishehkar, *et al.*, 2019). A estabilidade das emulsões com CNC é coerente com os valores de carga superficial encontrados, sendo que a amostra PECar-CNC2 apresentou o maior valor, em módulo, de potencial ζ , bem como a maior estabilidade (44,3%), comparada a amostra PECar-CNC1 (42,3%). Porém, considerando o desvio padrão, ambas as amostras apresentaram comportamento eletrostático semelhante, associado à eficiência dos CNCs no recobrimento das gotas e na sua adsorção na interface óleo/água. Ambas as amostras apresentaram valores similares e considerados excelentes pela literatura (Bai *et al.*, 2019).

As amostras de PECar-CNF apresentaram valores absolutos significativamente menores do que as PECar-CNC, possivelmente devido a diferença no mecanismo de estabilização das emulsões, similar ao reportado para as PEL. As nanofibras de celulose possuem cargas eletrostáticas negativas, porém a mobilidade eletroforética dessas emulsões é menor, sendo que o mecanismo de estabilização principal é estérico com a formação de uma fina camada de CNFs ao redor das gotas de óleo, que devido a

características de auto-organização, se auto-montam na forma de uma estrutura tridimensional do tipo gel. Esse mecanismo, para a metodologia de preparo adotada, mostrou-se o mais eficiente para a indução de uma adsorção irreversível, prevenindo a coalescência das gotas e resultando em emulsões com estabilidade de 100% ao longo de meses de armazenamento (Ni, Li e Fan, 2020).

A amostra PECan-CNC1 apresentou um valor de potencial ζ de -29,3 mV, enquanto a PECan-CNC2 mediu -28,3 mV. Analisando a composição de ambas as emulsões, a primeira foi preparada com 1% de CNC, e a segunda com 0,5% de fase sólida, e ambas possuem a mesma concentração de óleo essencial, sendo que a diferença nos valores de carga superficial pode ser atribuída a disponibilidade de hidroxilas livres no sistema. Essas emulsões apresentaram menores valores de potencial zeta ($\sim|30|$ mV) do que os demais óleos essenciais, o que pode estar associado a diferença na estrutura química do cinamaldeído em relação aos demais óleos, bem como a uma adsorção mais eficiente das nanoceluloses na interface das gotas, refletindo nas estabilidades das emulsões mais elevadas. Shao e colaboradores prepararam emulsões de cinamaldeído estabilizadas com *Ulva fasciata*, um polissacarídeo natural, e encontraram valores de potencial ζ entre -26 e -38 mV, dependendo da concentração da fase sólida (Shao *et al.*, 2016). De acordo com os autores, as partículas utilizadas resultam em um aumento da carga superficial negativa, em módulo, da emulsão, aumentando as cargas eletrostáticas e forças repulsivas do sistema, resultando em um sistema estabilizado.

Esses resultados de potencial Zeta também demonstram que a concentração de nanocelulose não impactou a estabilidade eletrostática, ou seja, para o óleo essencial de canela, em condições de processo adequadas (12.000 rpm e 30% de óleo), a baixa concentração de CNCs é suficiente para gerar um sistema fisicamente estável. Considerando os custos de processo, emulsões estáveis com menores teores de nanoceluloses são altamente desejáveis.

As emulsões PECan estabilizadas com CNF apresentaram valores de aproximadamente -15 mV. He e colaboradores prepararam emulsões utilizando fibras de *Flammulina velutiper* como estabilizantes (He *et al.*, 2020), e encontraram valores de potencial ζ similares ao encontrado neste trabalho, bem como ao reportado por Li e colaboradores (Li, Wang, *et al.*, 2019). Os autores reportaram que para emulsões estabilizadas com nanofibras, as cargas eletrostáticas são menos influentes no mecanismo de estabilização. Possivelmente, esse aumento no valor da carga superficial pode ser associado com uma interação entre as CNFs adsorvidas na superfície das gotas de óleo,

que alterou suas características elétricas, e à formação de uma camada interfacial mais espessa, o que alterou a localização do plano de cisalhamento efetivo onde o potencial zeta é medido (Chen *et al.*, 2018). Diferente do observado para as emulsões estabilizadas por CNCs, as emulsões contendo CNF apresentaram diferenças nos seus valores de potencial zeta para as diferentes concentrações de partículas sólidas, sendo que PECan-CNF2, que contém 1% CNF apresentou o menor valor, em módulo (11,1 mV). Esse resultado pode ser um indicativo de que, para o óleo essencial de canela, a maior concentração de CNF foi necessária na formação da camada interfacial para garantir uma boa estabilidade.

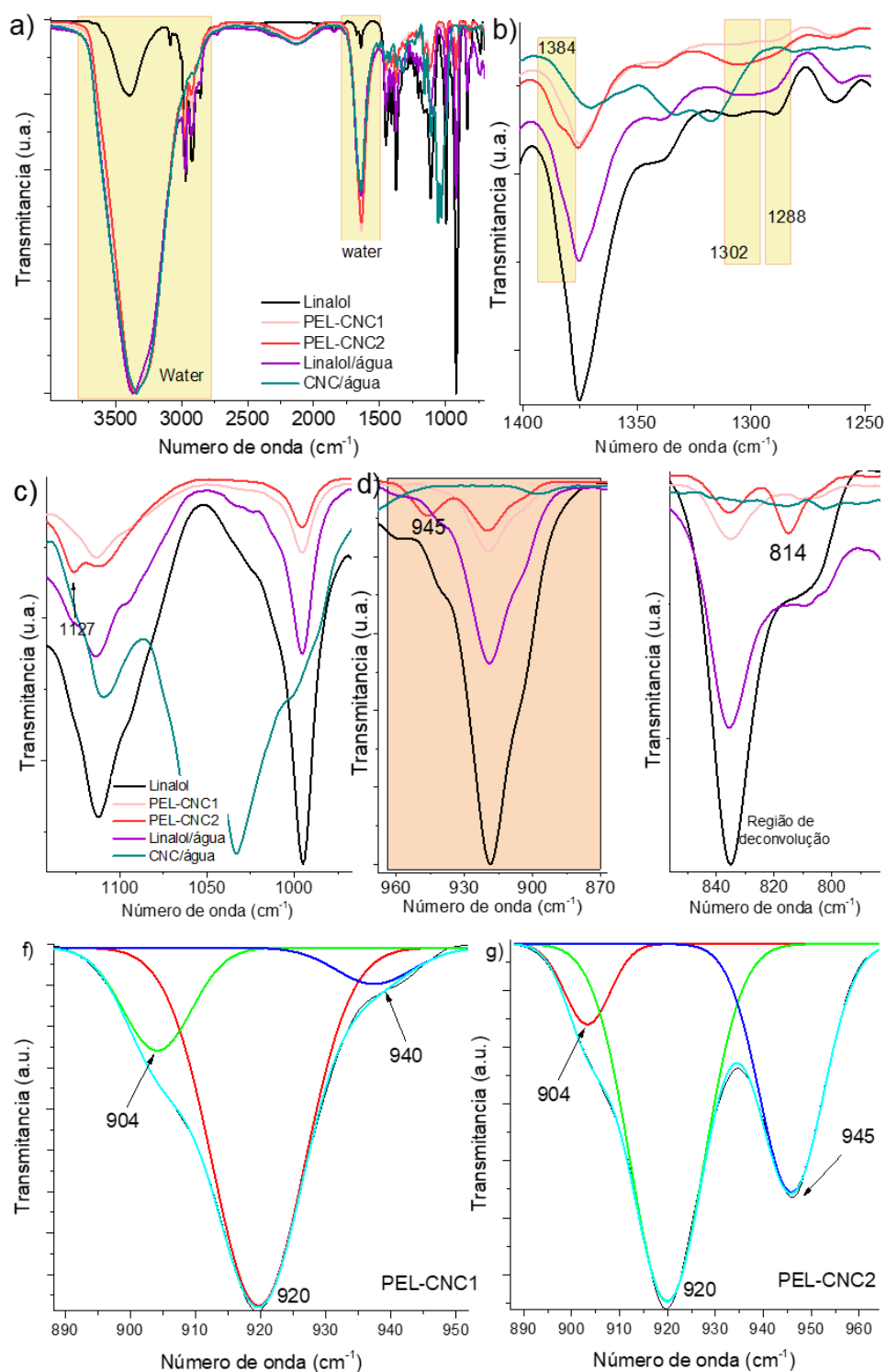
6.3 FTIR

A análise de FTIR parte do princípio de que, após a absorção de radiação de infravermelho (IR) por moléculas, há uma excitação de seus modos vibracionais – flexão e alongamento do dipolo elétrico. Assim, cada grupo funcional existente em moléculas orgânicas absorve IR de acordo com seus modos vibracionais característicos, resultando em um espectro com as denominadas bandas de absorção (Guerrero-Pérez e Patience, 2020). A Figura 55 apresenta os espectros de FTIR do OE de linalol puro e após diluição em água, CNC suspensa em água, e suas emulsões. O OE apresentou bandas características em $3600\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ (grupos -OH ligados), 2970 e 2921 cm^{-1} (vibrações CH_3 assimétricas e simétricas), 2857 cm^{-1} (ligações H-C=O), 1635 cm^{-1} (vibração de alongamento C=C), 1450 cm^{-1} (vibração de flexão de álcool C-OH), 1413 e 1379 cm^{-1} (diferentes modos vibracionais CH : deformação, *rocking* e *wagging*), 1225 cm^{-1} (ligação assimétrica $=\text{C-O-C}$), 1204 cm^{-1} (vibração C=O), 1109 cm^{-1} (vibrações de alongamento C-O e deformação C-OH), 996 cm^{-1} (vibração C-H), 921 cm^{-1} (estiramento C-C), 832 cm^{-1} (vibração C-H de alcenos) e 730 cm^{-1} (vibração C=C) (Chelaru *et al.*, 2016; Heredia-Guerrero *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2013; Salha, Ben *et al.*, 2017; Schulz *et al.*, 2005). De acordo com Kameoka e colaboradores, os principais picos/bandas vibracionais do linalol, dentre todos os listados anteriormente, são 3400 , ~ 1640 , ~ 990 e $\sim 910\text{ cm}^{-1}$, podendo haver deslocamento de acordo com a composição do óleo (Kameoka, Wang e Tokimitsu, 1977). Após a preparação da mistura óleo essencial e água, verificou-se uma acentuação dos picos característicos da água (como a banda em $3500\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ e em 1640 cm^{-1}), com a manutenção dos picos originais do OE puro.

Após a preparação das emulsões verificou-se que a banda de água e ligações CH_3 se sobressaíram a todas as demais ($3700\text{-}2700$ e 1640 cm^{-1}), similar ao observado para a

mistura OE/água. A Figura 55 também apresenta regiões ampliadas do espectro, visando facilitar a identificação de eventuais mudanças espectrais.

Figura 55. Espectros de FTIR do óleo essencial de linalol, mistura OE/água, CNCs em solução, e suas emulsões estabilizadas com CNC a) espectro completo, e ampliação das regiões b) 1400-1250 cm^{-1} , c) 1145-970 cm^{-1} , d) 970-875 cm^{-1} , and e) 856-800 cm^{-1} . *Curve Fitting* dos picos 904, 920 e 940 cm^{-1} para as amostras f) PEL-CNC1 e g) PEL-CNC2.



Fonte: Autoria Própria.

Após a emulsificação, alguns pequenos deslocamentos e novos ombros foram observados. Na Figura 55b é possível observar que a amostra PEL-CNC2 apresentou um novo ombro em 1384 cm^{-1} e uma nova banda em 1302 cm^{-1} , presente em ambas as emulsões, associada as ligações C-O da celulose; em comparação com a amostra de CNC, essa segunda banda apresenta-se deslocada para menores comprimentos de onda, indicando uma possível interação entre os componentes da emulsão (Pandi, Sonawane e Anand Kishore, 2021). O pico 1302 cm^{-1} , atribuído a vibrações da ligação O-H no plano (Silva, da *et al.*, 2017), apareceu com maior intensidade para a emulsão PEL-CNC2, o que pode estar associada a interação dos grupos OH do linalol com as hidroxilas livres da celulose, sendo que ambos os compostos tendem a se aproximar e realizar ligações de hidrogênio devido à natureza dos elementos químicos. O pico em 1288 cm^{-1} , associado a vibração C-O do grupo álcool desapareceu para as emulsões, indicando que houve uma mudança conformacional na estrutura química dos óleos após a adição da nanocelulose, possivelmente porque após a adsorção das CNCs nas gotículas de óleo, há uma reorganização das cadeias de óleo de forma a deixar os grupos mais suscetíveis a interação “mais disponíveis” para a aproximação da celulose.

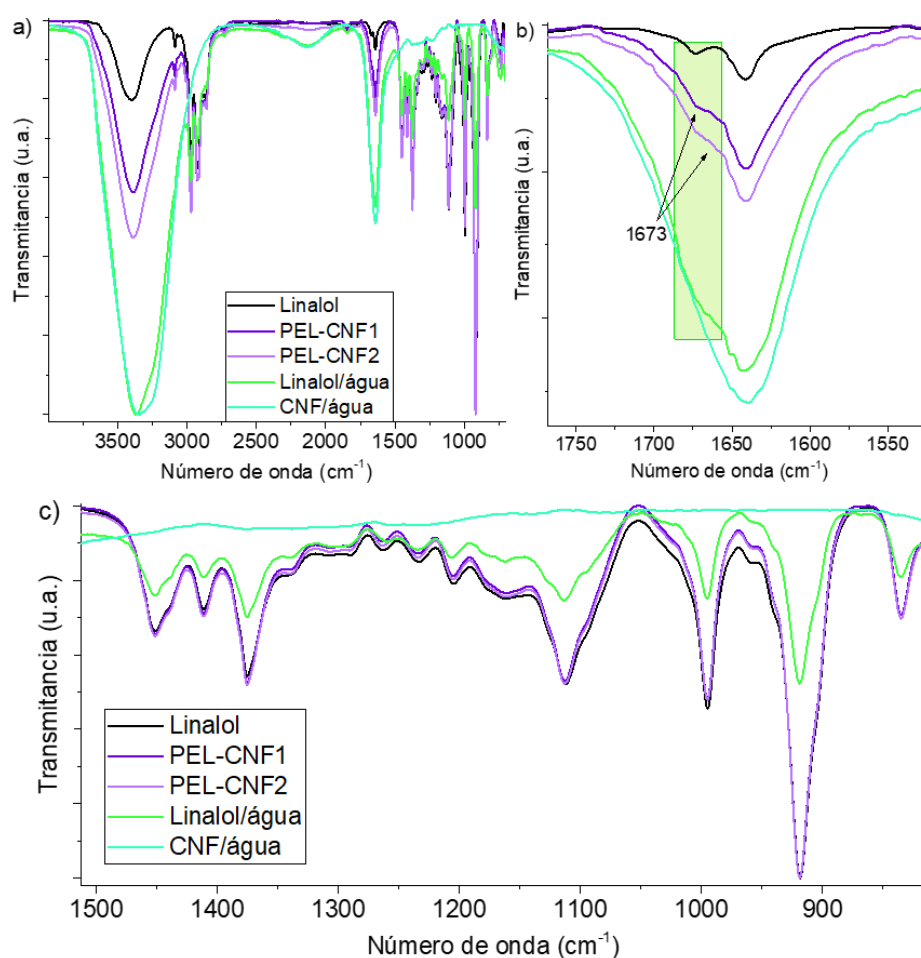
Na Figura 55c identificou-se um novo pico em 1127 cm^{-1} na amostra PEL-CNC2, associado as ligações C-O-C do anel piranose da celulose (Doh, Lee e Whiteside, 2020). Na Figura 55d, o óleo essencial apresentou inicialmente um ombro em 960 cm^{-1} , associado a ligações C-H (Cebi *et al.*, 2020), que não foi identificado nas emulsões. No entanto, estas apresentaram um sinal característico em 945 cm^{-1} , representativo da deformação glicosídica C₁-H, característica das ligações β -glicosídicas entre as glicoses presentes na celulose (Abdul Rahman *et al.*, 2017). A amostra PEL-CNC2 não apresentou o pico 960 cm^{-1} , e apresentou o pico 945 cm^{-1} em grande intensidade, o que pode estar associado a nova conformação adotada pelas moléculas de óleo essencial, ou por uma separação de fase ocorrida durante o ensaio. Esses picos permitem inferir que a adsorção foi menos eficiente para a amostra PEL-CNC2 devido a presença dos picos celulósicos facilmente identificáveis. Esses picos não foram encontrados para a amostra PEL-CNC1, indicando que possivelmente os nanocristais de celulose foram mais adsorvidos na interface óleo/água, e, portanto, estavam menos disponíveis no sistema.

Amostras celulósicas normalmente apresentam um pico em 898 cm^{-1} , associado as ligações β -glicosídicas entre os anéis de anidroglicose da celulose. Devido a uma possível sobreposição de picos e deslocamento associado a interações com o óleo essencial, verificou-se nas emulsões um ombro em 903 cm^{-1} , associado ao pico 920 cm^{-1} (vibrações

C-H do óleo essencial) (Salha, Ben *et al.*, 2017; Seta *et al.*, 2020). As Figuras 55f e g apresentam o fit das curvas da região $904\text{--}940\text{ cm}^{-1}$ nos principais picos descritos para as amostras PEL-CNC1 e PEL-CNC2, sendo esse fit realizado com base em atribuições prévias definidas pela literatura, buscando um entendimento aprofundado dos picos que compõem a banda principal de absorção. Verifica-se que os picos associados a celulose e ao óleo essencial são identificados. Na Figura 55e, o pico em 834 cm^{-1} (vibrações C-H) permaneceu inalterado para as emulsões, e houve uma sobreposição em 814 cm^{-1} , sendo que para o OE puro, há um ombro associado ao pico em $\sim 810\text{ cm}^{-1}$ (vibrações C-H fora do plano) (Valderrama e Rojas De, 2017), enquanto as emulsões apresentam sinais em 814 cm^{-1} e uma banda centrada em 806 cm^{-1} (vibrações C-H da cadeia celulósica) (Mohamed *et al.*, 2017).

A Figura 56a apresenta os espectros completos de FTIR das emulsões de linalol estabilizadas com CNF.

Figura 56. Espectros de FTIR do óleo essencial de linalol e suas emulsões estabilizadas com CNF a) espectro completo, e ampliação das regiões b) $1750\text{--}1550\text{ cm}^{-1}$, e c) $1500\text{--}920\text{ cm}^{-1}$.



Fonte: Autoria Própria.

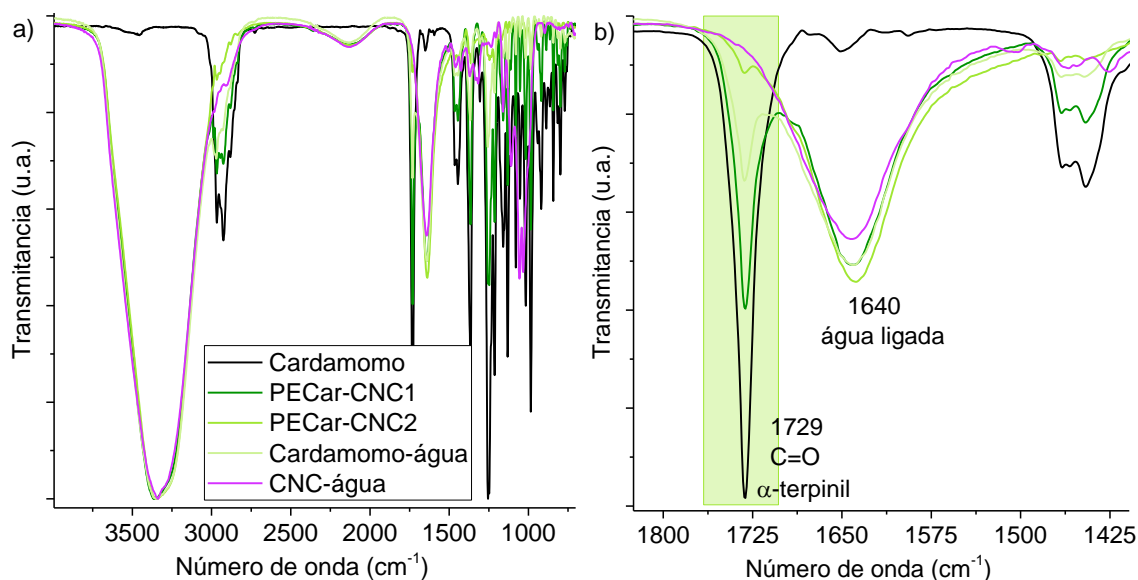
A adição de CNFs alterou a banda localizada entre 1700-1600 cm^{-1} , que possuía dois picos principais para o OE: 1673 e 1641 cm^{-1} . As emulsões resultaram no desaparecimento do primeiro pico, referente a vibrações C=C (Cebi, Arici e Sagdic, 2021). Uma possibilidade para que este pico tenha se alterado é que o pico 1641 cm^{-1} aumentou em intensidade devido a sobreposição do OE e da celulose (grupos OH ligados), alterando o perfil principal da região e tornando o pico 1673 cm^{-1} um ombro menos perceptível (Figura 56b).

A Figura 57a apresenta os espectros completos de FTIR do óleo essencial de cardamomo e suas emulsões estabilizadas com CNC. Enquanto as amostras cardamomo/água e CNC/água apresentam uma banda intensa em $\sim 3600 \text{ cm}^{-1}$, as emulsões possuem um pico intenso entre 3000-2800 cm^{-1} , atribuídas ao óleo essencial de cardamomo: 2973 cm^{-1} (alongamento C-H), 2922 e 2883 cm^{-1} (alongamento dos grupos carbonila). As demais bandas características foram encontradas em 1729 cm^{-1} (vibrações de alongamento éster carbonil C=O), 1464 e 1446 cm^{-1} (ligação CH_2), 1366 e 1306 cm^{-1} (ligações CH_2), 1252 cm^{-1} (alongamento de ácido carboxílico/acetato), 1212, 1054 e 1017 cm^{-1} (C-O), 1159 cm^{-1} (vibrações C-C do esqueleto da molécula), 1129 e 1113 cm^{-1} (vibrações de alongamento C-O), 1078 cm^{-1} (vibrações do grupo OH), 985 cm^{-1} (absorção de vibração de flexão C-H), 940 cm^{-1} (vibrações do anel aromático), e 918 cm^{-1} (ligação C-H fora do plano) (Cebi, Arici e Sagdic, 2021; Dehghani *et al.*, 2020; Karimi *et al.*, 2020; Keivani Nahr, Ghanbarzadeh, Hamishehkar, *et al.*, 2019; Li, Kong e Wu, 2013; Truzzi *et al.*, 2021). A presença de bandas na região entre 888-770 cm^{-1} é associada a presença de C=C e =CH de anéis aromáticos e vibrações C-H fora do plano (Adinew, 2014; Li *et al.*, 2016), o que condiz com a estrutura química dos compostos ativos α -terpineol e acetato de α -terpinil, principais compostos ativos presentes no óleo essencial de cardamomo.

Após a emulsificação, verificou-se uma modificação significativa nos espectros de FTIR, possivelmente devido a grande diferença de estruturas químicas entre as CNCs e o OE de cardamomo. Na Figura 57b é apresentado uma ampliação dos espectros na região 1800-1425 cm^{-1} , em que o pico 1729 cm^{-1} foi mantido para a amostra PECar-CNC1, e quase desapareceu na amostra PECar-CNC2, indicando que houve uma alteração conformacional na estrutura química do acetato de α -terpinil, possivelmente devido a presença dos CNCs, uma vez que a banda aparece conjugada com a 1640 cm^{-1} (água ligada). Essa teoria se confirma ao comparar os espectros com o de cardamomo-água, que também possui esse pico intenso, sendo a mudança atribuída as nanoceluloses do sistema. A banda 1470-1460 cm^{-1} (ligações CH_2) diminuiu em intensidade após a adição dos CNCs,

o que pode ser um indicativo que de houve uma possível interação química entre os componentes da emulsão.

Figura 57. Espectros de FTIR do óleo essencial de cardamomo e suas emulsões estabilizadas com CNC a) espectro completo, e ampliação da região b) 1800-1425 cm^{-1} .

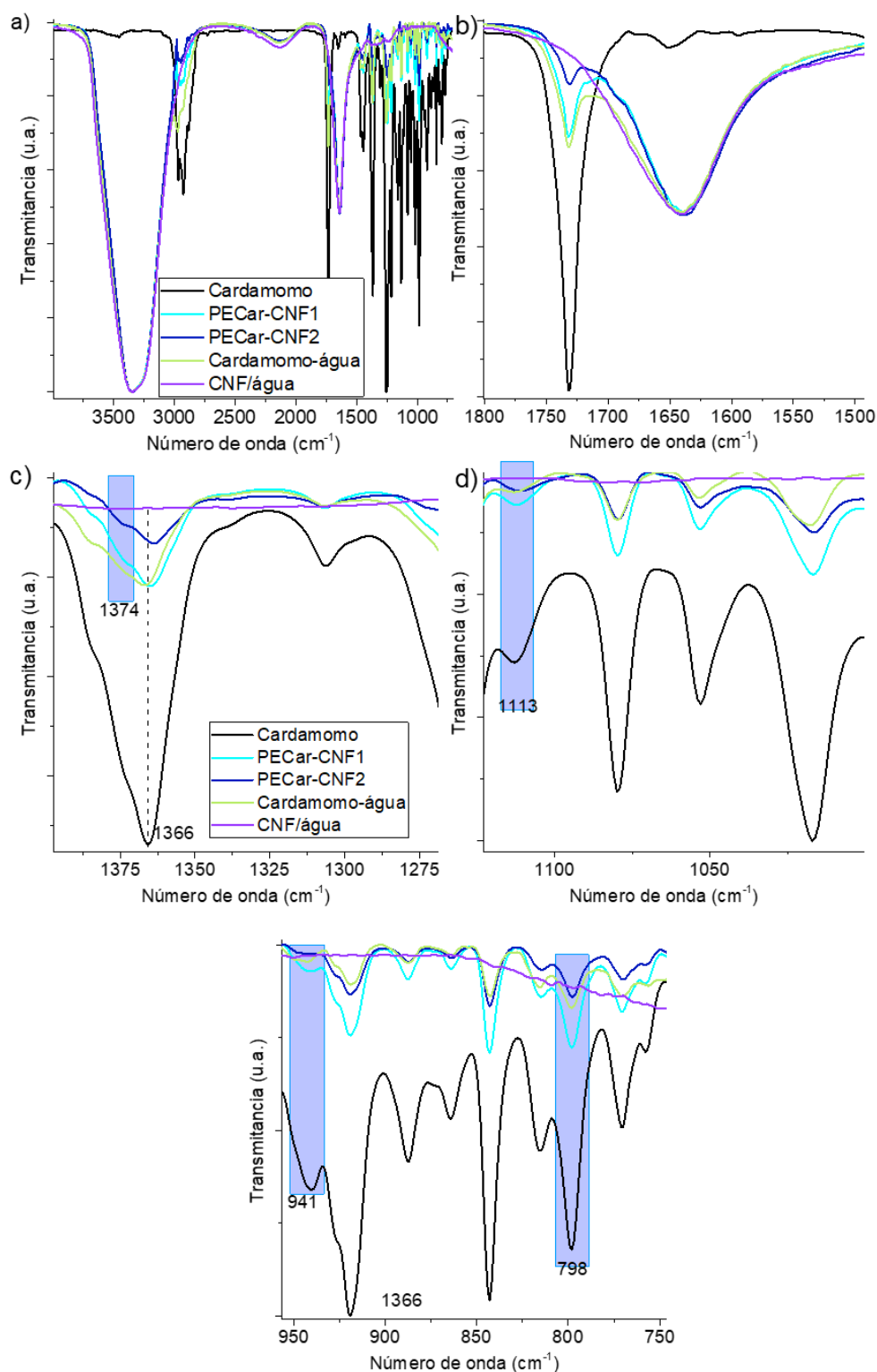


Fonte: Autoria Própria.

Os espectros completos das amostras estabilizadas com CNF são apresentados na Figura 58a, e uma ampliação da região 1800-1500 cm^{-1} é apresentado na Figura 58b. Verificou-se a mesma tendência para o pico 1729 e 1640 cm^{-1} do que para as emulsões estabilizadas com CNCs, bem como o aparecimento de um ombro em 1374 cm^{-1} (Figura 58c), indicando uma possível interação química entre os componentes da emulsão, independente da morfologia da nanocelulose. Os picos do óleo essencial centrados em 1366 cm^{-1} (ligações CH_2) e 1113 cm^{-1} (vibrações de alongamento C-O - Figura 58d) apresentaram um deslocamento de $\sim 2 \text{ cm}^{-1}$ para menores números de onda, sendo possível inferir que a adição de CNFs altera a organização conformacional das moléculas de óleo essencial devido ao impedimento estérico e cargas eletrostáticas resultantes da estrutura celulósica.

O pico em 941 cm^{-1} (vibrações do anel aromático) (Figura 58e) também apresentou um deslocamento de 2 cm^{-1} , para maiores números de onda, o que também foi observado para o pico em 798 cm^{-1} (C=C e =CH de anéis aromáticos e vibrações C-H fora do plano), com deslocamento de 4 cm^{-1} .

Figura 58. Espectros de FTIR do óleo essencial de cardamomo e suas emulsões estabilizadas com CNF a) espectro completo, e ampliação da região b) 1800-1500 cm^{-1} , c) 1400-1275 cm^{-1} , d) 1120-1000 cm^{-1} , e e) 950-750 cm^{-1} .



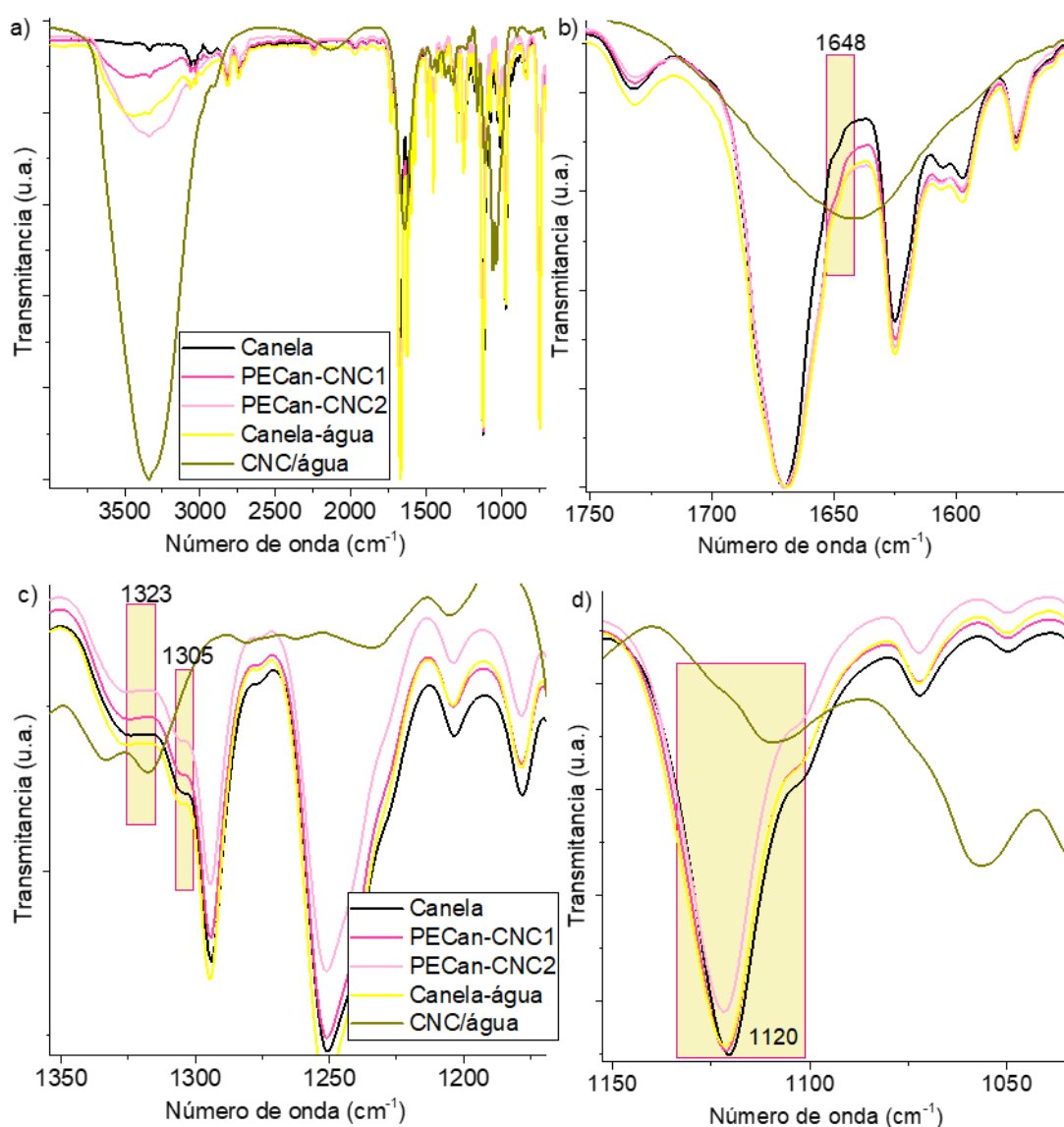
Fonte: Autoria Própria.

Os deslocamentos podem ser resultado do efeito batocrômico, ou seja, a banda de absorção sofre um deslocamento devido a uma substituição na molécula por um outro

radical, ou ainda devido a uma alteração nas nuvens eletrônicas que cercam os núcleos, devido à presença de outras moléculas por meio de interações eletrostáticas.

A Figura 59a apresenta os espectros completos de FTIR do óleo essencial de canela e suas emulsões estabilizadas com CNC.

Figura 59. Espectros de FTIR do óleo essencial de canela e suas emulsões estabilizadas com CNC a) espectro completo, e ampliação das regiões b) 1750-1555 cm^{-1} , c) 1350-1150 cm^{-1} , e d) 1150-1020 cm^{-1} .



Fonte: Autoria Própria.

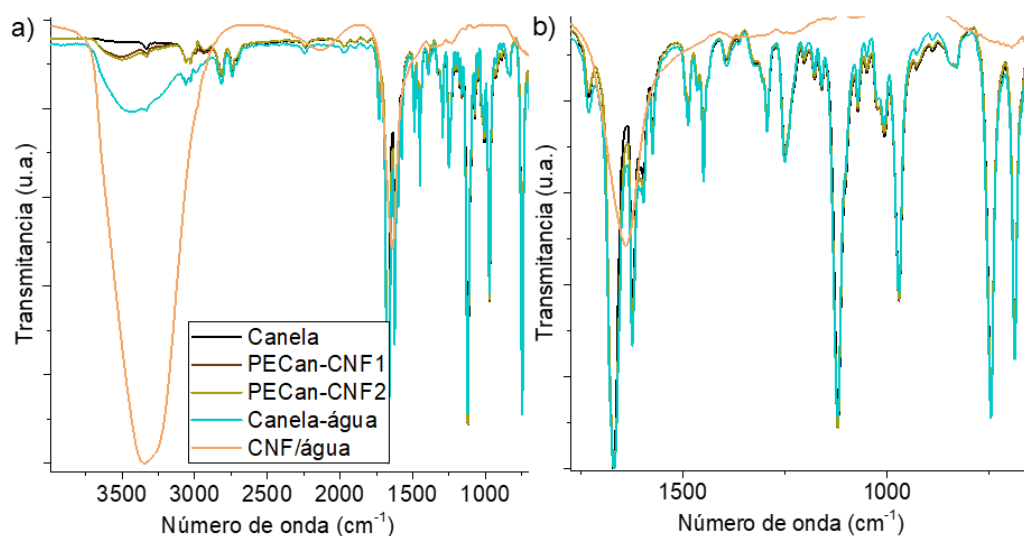
Os picos característicos do OE de canela são: 3100-300 cm^{-1} (vibrações C-H do anel aromático), 2938 cm^{-1} (ligação =C-H), 2818 e 2743 cm^{-1} (ligação C=O dos grupos carbonila), 1732 cm^{-1} (aldeído de uma gordura saturada), 1670 e 1624 cm^{-1} (vibração de alongamento de um aldeído carbonil C=O, indicando altos níveis de cinamaldeído e aldeídos no OE), 1575, 1487, and 1465 cm^{-1} (vibração C=C - anel aromático), 1450 cm^{-1}

(vibração C-O), 1393 e 1362 cm^{-1} (vibração C-H), 1294 cm^{-1} (vibração CH_2 e do anel aromático para absorções no plano), 1250 e 1204 cm^{-1} (vibração simétrica C-O-C do ácido ester aromático e vibrações dos grupos C-OH fenólicos), 1177, 1160, 1120, 1071, 1049 e 1005 cm^{-1} (vibrações de alongamento C-O e de deformação C-OH), 969 e 828 cm^{-1} (vibrações do anel aromático), 745 e 687 cm^{-1} (vibrações do anel benzeno =CH) (Al-Bayati e Mohammed, 2009; Alizadeh Behbahani *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2016; Li, Kong e Wu, 2013).

O óleo essencial puro, além do pico em 1670 cm^{-1} , apresentou um ombro em 1648 cm^{-1} (também associado a ligações C=O). Este ombro, nas amostras emulsificadas, deslocou-se para 1650 cm^{-1} (Figura 59b), indicando que as CNCs podem alterar a conformação das moléculas de óleo essencial devido a sobreposição das nuvens eletrônicas. De forma similar, verificou-se esse deslocamento para o ombro em 1323 para 1318 cm^{-1} , e do ombro 1305 para 1306 cm^{-1} , encontrados junto ao pico 1294 cm^{-1} . O pico centrado em 1120 cm^{-1} deslocou-se para 1122 cm^{-1} após a emulsificação. Apesar de não ser possível identificar a causa deste deslocamento, há duas possíveis hipóteses: i) alterações na vibração das moléculas de óleo essencial devido as interações eletrostáticas/reação, ou ii) sobreposição com picos característicos da celulose (de acordo com Kassab e colaboradores, picos entre 1161 e 1101 cm^{-1} são associados a vibrações C-O do esqueleto da molécula de celulose) (Kassab *et al.*, 2020). Estes resultados indicam que o mecanismo de interação eletrostática foi predominante para as emulsões de OE de canela e CNCs, conforme esperado e anteriormente apresentado.

A Figura 60a apresenta os espectros de FTIR completos das emulsões estabilizadas com nanofibras de celulose. Para essas emulsões não houve mudanças no espectro, conforme apresentado na ampliação (Figura 60b), indicando que a estabilização foi principalmente estérica, ou seja, via formação de uma rede tridimensional, sem interações significativas entre os componentes da emulsão.

Figura 60. Espectros de FTIR do óleo essencial de canela e suas emulsões estabilizadas com CNF a) espectro completo, e ampliação da região b) 1778-643 cm^{-1} .



Fonte: Autoria Própria.

6.4 FT-Raman

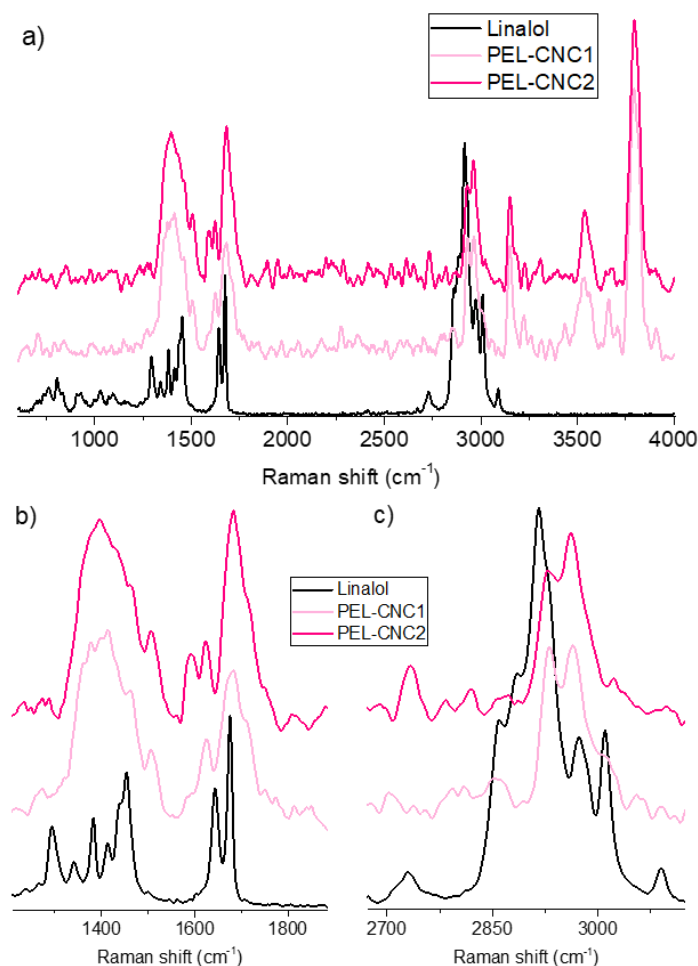
Na espectroscopia Raman, é incidida uma onda eletromagnética na superfície de um material, sendo uma parte refletida, e outra, transmitida. Da parcela transmitida, uma fração é absorvida na forma de calor, e outra é transmitida na forma de luz espalhada. A radiação emergente é definida como espalhamento ou efeito Raman, e só ocorre quando a radiação espalhada é alterada em relação à incidente, sendo conhecido como um espalhamento inelástico. O efeito Raman pode ser definido como a interação entre o movimento de vibração das partículas de um material e a radiação eletromagnética incidente. A região do espectro eletromagnético no qual o efeito Raman é observado depende da energia da radiação incidente e dos níveis de energia moleculares envolvidos, sendo uma técnica de elevado interesse devido a pouca influência provocada pela presença de água na amostra em estudo.

A Figura 61 apresenta o espectro de FT-Raman do óleo essencial de Ho wood (com composto ativo de linalol) e suas emulsões estabilizadas com CNC, sendo que as principais bandas identificadas no OE foram entre 770 e 805 cm^{-1} (vibrações do anel), 917 cm^{-1} (vibrações de flexão C-H fora do plano), 1291 cm^{-1} (vibrações C-H), 1380, 1413 e 1450 cm^{-1} (modos de deformação CH_2), 1638 e 1675 cm^{-1} (modos de vibração C-C típicos do linalol) (Schulz *et al.*, 2003; Strehle *et al.*, 2006). Os dois últimos picos estão associados as ligações $\text{C}=\text{C}$, $\text{RC}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$ e $\text{RC}=\text{CH}_2$ do óleo essencial (Daferera, Tarantilis e Polissiou, 2002). Ademais, foram observados picos na região entre 2700 e 3500 cm^{-1} ,

associados às vibrações da cadeia do terpenoide, principalmente ligações entre carbonos e de grupos OH (Schulz *et al.*, 2004).

A Figura 61a apresenta o espectro completo das emulsões estabilizadas com CNC. É evidente uma mudança significativa nos espectros, com sobreposição de picos associados aos nanocristais de celulose. Na Figura 61b é apresentada uma ampliação do espectro na região 1215-1800 cm^{-1} , em que o pico 1291 cm^{-1} tornou-se menos intenso, e os picos entre 1380 e 1450 cm^{-1} , antes bem definidos, tornaram-se uma ampla banda indefinida. Esse comportamento é esperado devido a uma sobreposição de picos da celulose, principalmente o pico 1374 cm^{-1} , associado a ligação C-H em $\text{R}_3\text{C-H}$ da estrutura do polissacarídeo (Özgenç *et al.*, 2017).

Figura 61. Espectro de FT-Raman do óleo essencial de Ho wood (Linalol) e suas emulsões estabilizadas com CNC a) espectro completo, e ampliação das regiões b) 1215-1800 cm^{-1} e c) 2700-3100 cm^{-1} .



Fonte: Autoria Própria.

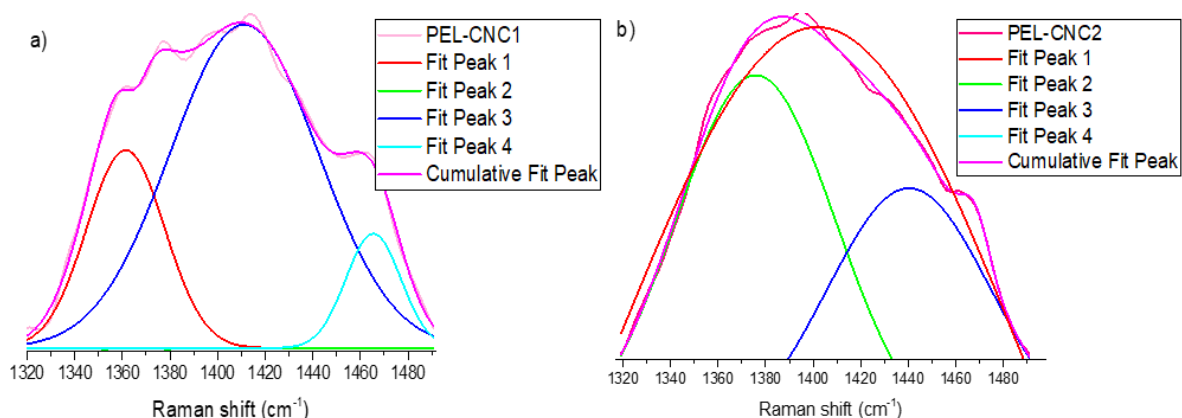
Após a adição dos CNCs, verificou-se, para a amostra PEL-CNC2, um novo pico em 1590 cm^{-1} , aparecendo na forma de ombro para a emulsão PEL-CNC1. Esse novo sinal é

um possível indicador de uma nova vibração química nos materiais, podendo ser associada a interações entre o óleo e a fase sólida. O pico 1642 cm^{-1} , presente no óleo essencial, foi deslocado para 1623 cm^{-1} após a emulsificação, e o pico 1675 deslocou-se para 1682 cm^{-1} , o que pode estar associado com o recobrimento do óleo pela deposição dos CNCs na interface óleo/água.

A Figura 61c apresenta a ampliação dos espectros na região $2700\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$. Os picos dessa região apresentam-se sobrepostos e são característicos da estrutura carbônica e suas vibrações, bem como da presença de grupos terminais OH- associados ao grupo álcool do linalol. Uma vez que a celulose possui hidroxilas disponíveis, quando em solução aquosa, para interagir com outros grupos funcionais, supõe-se que seu uso como estabilizante resulte, devido a elevada energia adicionada ao sistema, em ligações químicas entre os componentes da mistura. Para a confirmação da hipótese, posteriormente são apresentados os resultados de ressonância magnética nuclear.

Na Figura 62 são apresentados os ajustes das curvas dos espectros de FT-Raman das emulsões de linalol estabilizadas com CNC para confirmação da presença do óleo e de celulose. pelos CNCs, corroborando os resultados de estabilidade previamente apresentados.

Figura 62. *Fitting curve* utilizando o modelo de Gauss dos gráficos de FT-Raman na região $1320\text{-}1480\text{ cm}^{-1}$ para análise dos picos 1374 cm^{-1} (celulose), 1380 , 1413 , e 1450 cm^{-1} (linalol) da amostra a) PEL-CNC1 e b) PEL-CNC2.



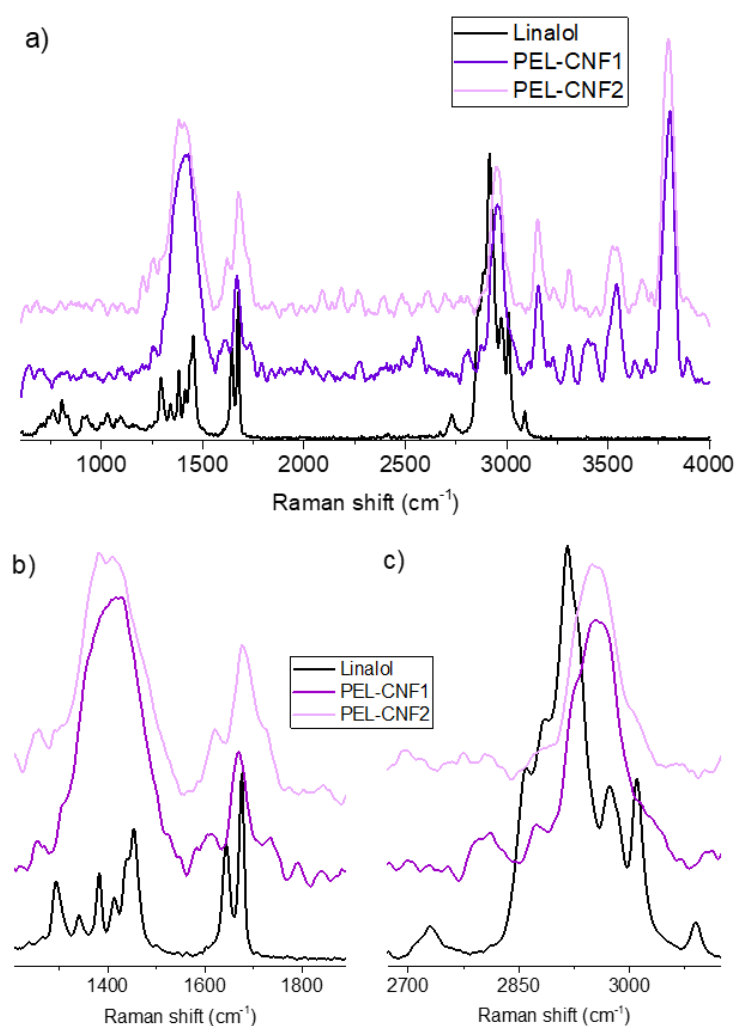
Fonte: Autoria Própria.

Na amostra PEL-CNC1 (Figura 62a), verificou-se que o pico em 1374 cm^{-1} , referente a celulose, deslocou-se para 1361 cm^{-1} , e o em 1380 cm^{-1} , atribuído a deformação CH_2 do óleo essencial, não estava presente, indicando possíveis alterações na conformação da

molécula do óleo devido a interação entre a celulose e o linalol. O pico em 1413 cm^{-1} foi o único sem alterações ou deslocamentos, estando em maior intensidade e área, e o pico localizado em 1450 cm^{-1} foi deslocado para 1465 cm^{-1} . A amostra PEL-CNC2 (Figura 62b) não apresentou o pico 1450 cm^{-1} , e verificou-se proporções mais similares entre a celulose e o óleo, o que pode ser um indicativo de que o óleo essencial estava menos recoberto.

A Figura 63 apresenta o espectro de FT-Raman do óleo essencial de Ho wood e suas emulsões estabilizadas com CNF. O espectro completo (Figura 63a) apresentou similaridade com as emulsões com CNCs, sendo esse comportamento esperado devido à mesma estrutura química similar entre as nanoceluloses, com o aparecimento de novos picos, principalmente entre $3000\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$, atribuídos a grupos CH_2 , CH_3 , e OH (Parida, Dash e Pradhan, 2015).

Figura 63. Espectro de FT-Raman do óleo essencial de Ho wood (Linalol) e suas emulsões estabilizadas com CNF a) espectro completo, e ampliação das regiões b) $1200\text{--}1900\text{ cm}^{-1}$ e c) $2700\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$.



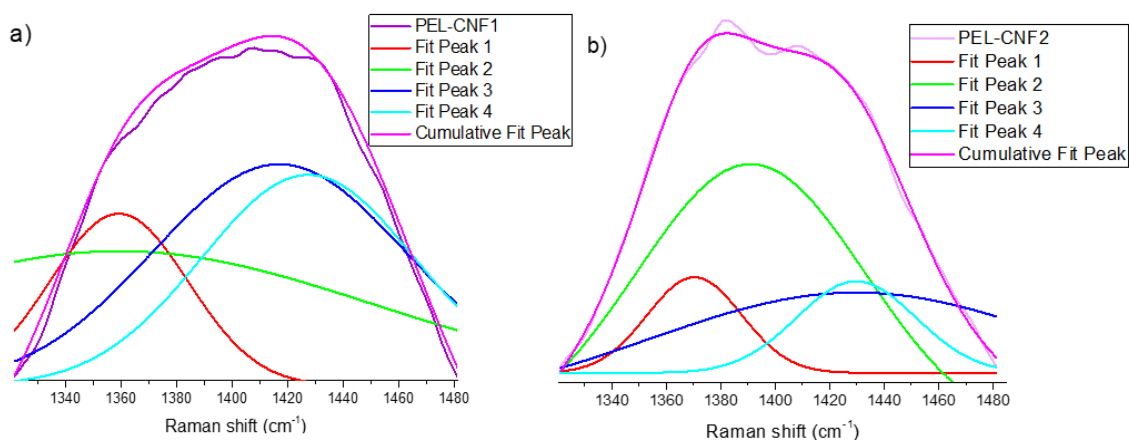
Fonte: Autoria Própria.

Na Figura 63b é apresentada a ampliação da região 1200-1900 cm^{-1} , sendo possível observar que o pico 1291 cm^{-1} apresentou um deslocamento para 1252 e 1259 cm^{-1} para as amostras PEL-CNF1 e PEL-CNF2, respectivamente. Uma vez que esse pico representa vibrações da estrutura do linalol, seu deslocamento indica mudanças significativas em seus modos vibracionais, o que pode estar atribuído a mudanças conformacionais causadas por perturbações pela nuvem eletrônica da celulose, ou ainda devido a novas ligações químicas entre os componentes. Novamente, a região entre 1318 e 1540 cm^{-1} tornou-se uma larga banda, indicador de sobreposição de picos do óleo e da celulose. O pico 1638 cm^{-1} deslocou-se para 1611 cm^{-1} com menor intensidade para a amostra PEL-CNF1, sendo este segundo pico atribuído à ligações C=C conjugadas (Hanif *et al.*, 2017). Já para a amostra PEL-CNF2, o pico deslocou-se para 1623 cm^{-1} , atribuído a vibrações C=C (Schulz *et al.*, 2005).

Na Figura 63c é apresentado um aumento da região 2700-3100 cm^{-1} , caracterizada por vibrações de grupos OH, CH₂ e CH₃. O pico em 2730 cm^{-1} é associado a vibrações de alongamento simétrico de ligações CH, e seu desaparecimento nas amostras PEL-CNF1 e PEL-CNF2 corrobora com os resultados encontrados para o pico 1638 cm^{-1} . Foram verificadas alterações na banda entre 2800-3000 cm^{-1} , atribuída a vibrações de alongamento assimétrico de CH e vibrações de alongamento OH (Moosavinejad *et al.*, 2019).

Na Figura 64 são apresentados os fits dos espectros de FT-Raman das emulsões de linalol estabilizadas com CNF na região 1320-1480 cm^{-1} .

Figura 64. *Fitting curve* utilizando o modelo de Gauss dos gráficos de FT-Raman na região 1320-1480 cm^{-1} para análise dos picos 1338 cm^{-1} (celulose), 1380, 1413, e 1450 cm^{-1} (linalol) da amostra a) PEL-CNF1 e b) PEL-CNF2.

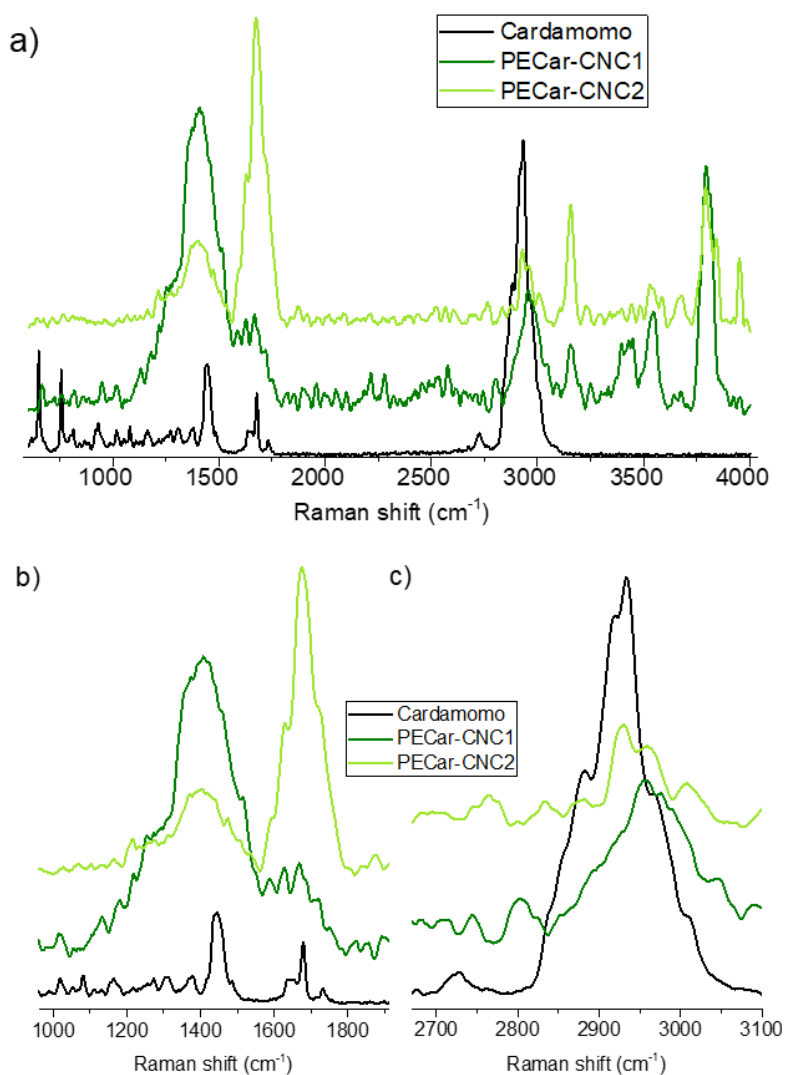


Fonte: Autoria Própria.

Na amostra PEL-CNF1 (Figura 64a) verificou-se que o pico referente a celulose e os picos em 1413 e 1450 cm^{-1} mantiveram-se bem definidos. No entanto, o pico em 1380 cm^{-1} , associado a deformação CH_2 do óleo essencial, tornou-se apenas uma linha indefinida. Na amostra PEL-CNF2 (Figura 64b) destaca-se que em 1413 cm^{-1} desapareceu, sendo que os outros aparecem bem definidos, porém deslocados. Resultados similares foram observados para as amostras estabilizadas com CNC. No entanto, a definição dos picos é um indicativo do mecanismo de estabilização estérico, em que a estrutura das nanofibras de celulose é mantida intacta, ocorrendo a formação de uma rede tridimensional que aprisiona as gotas de óleo em seu interior (Souza *et al.*, 2020).

A Figura 65 apresenta os espectros de FT-Raman do óleo essencial de cardamomo e suas emulsões estabilizadas com CNC.

Figura 65. Espectro de FT-Raman do óleo essencial de Cardamomo e suas emulsões estabilizadas com CNC a) espectro completo, e ampliação das regiões b) 1000-1900 cm^{-1} e c) 2700-3100 cm^{-1} .



Fonte: Autoria Própria.

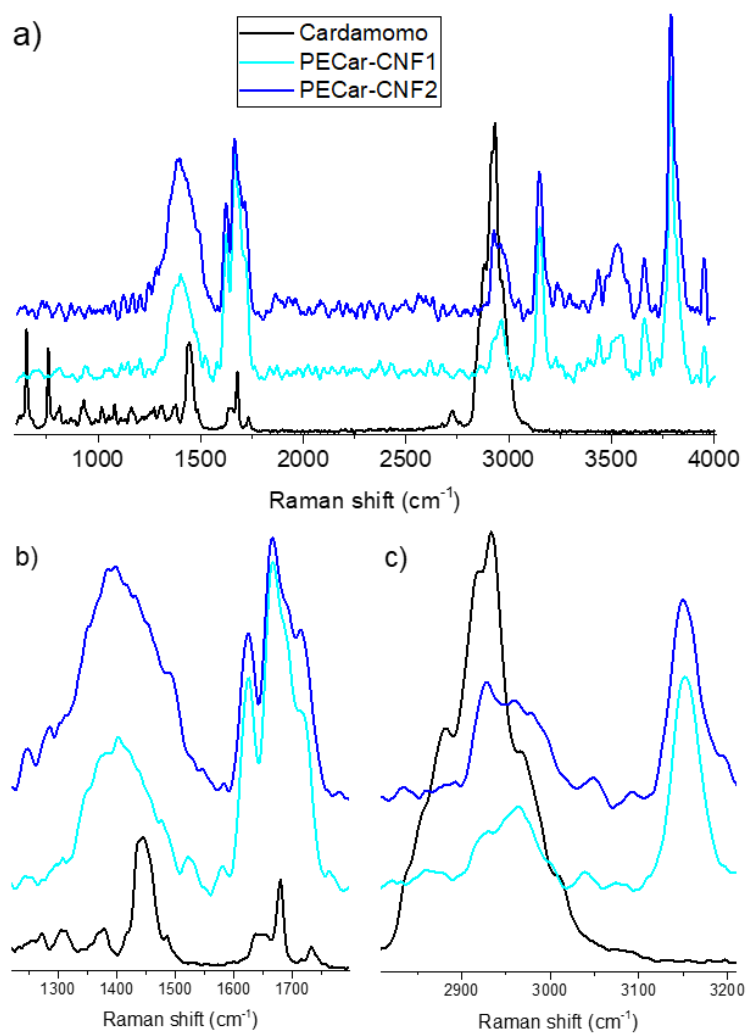
O óleo essencial de cardamomo puro apresentou nítidas diferenças espectrais em relação as emulsões quando comparados os espectros completos (Figura 65a), e os picos principais do óleo foram verificados em 652 cm^{-1} (vibração do anel de 1,8-cineol), 755 cm^{-1} (vibração do anel γ -terpineno), 926 cm^{-1} (α -cineol), 1025 cm^{-1} (fracas vibrações do linalol), 1075 e 1375 cm^{-1} (vibrações fracas do limoneno), 1162 cm^{-1} (vibrações não conjugadas C=C do γ -terpineno), 1448 cm^{-1} (deformação CH_2), 1677 cm^{-1} (vibrações de alongamento C=C) e 1737 cm^{-1} (alongamento C=O) (Hanif *et al.*, 2017; Jentzsch, Ramos e Ciobotă, 2015; Schulz *et al.*, 2005; Schulz e Baranska, 2007; Souza *et al.*, 2020).

A ampliação entre 1000 e 1800 cm^{-1} (Figura 65b) evidencia que as amostras PECar-CNC1 e PECar-CNC2 apresentaram diferenças significativas. Ambas as emulsões CNC mostraram uma nova forma de pico nessa região (1000 - 1900 cm^{-1}), que é associada às vibrações C=O, deformações CH_2 e CH_3 do óleo essencial, e também é atribuída às vibrações de flexão CH_2 , C-C, C-O-H e C-H dos CNCs (Ferreira *et al.*, 2019). Ambas as amostras, após a emulsificação, apresentaram um pico centrado em $\sim 1410\text{ cm}^{-1}$, sendo este possivelmente uma combinação dos picos 1448 cm^{-1} do óleo essencial e 1421 cm^{-1} da celulose (deformação da ligação CH_2). Interessantemente, o pico 1677 cm^{-1} do óleo essencial mudou completamente sua forma em ambas as emulsões, sendo que para PECar-CNC1, tornou-se uma série de picos de menor intensidade localizados na mesma região do pico do óleo essencial. Na amostra PECar-CNC2, identifica-se um novo pico intenso em 1674 cm^{-1} . Essa variação de intensidade dos picos pode estar associada a capacidade de emulsificação e recobrimento da superfície das gotas de óleo, uma vez que gotas de óleo mais recobertas possuem óleo livre menos disponível, e possivelmente com picos menos intensos devido a sua interação química com a celulose. De maneira análoga as amostras PEL-CNC, foram verificadas alterações na banda entre 2800 - 3000 cm^{-1} , atribuída a vibrações de alongamento assimétrico de CH e vibrações de alongamento OH (Moosavinejad *et al.*, 2019).

Na Figura 66 são apresentados os espectros de FT-Raman do óleo essencial de cardamomo e suas emulsões estabilizadas com CNF (Figura 66a). Conforme observado para espectros de emulsões CNC, o pico de OE em 1448 cm^{-1} apareceu como uma banda nítida centrada em 1390 cm^{-1} , provavelmente devido às interações CNF-óleo essencial. O pico em 1673 cm^{-1} foi alterado para a forma de dois picos centrados em 1620 e 1663 cm^{-1} , com ombro em 1721 cm^{-1} (Figura 66b). Os CNFs formaram uma rede em torno das gotículas de óleo que limitou seu movimento e coalescência. Essa rede estável semelhante a um gel se organizou em torno das gotas, prendendo-as dentro. Por esse motivo, os picos

característicos do óleo essencial de cardamomo são menos detectáveis e a celulose é mais intensa, pois há uma camada protetora de CNF ao redor das gotículas de óleo. Os picos em 2800-3200 cm^{-1} (Figura 66c) confirmam a presença das CNFs, sendo mais um indício do encapsulamento das gotas de óleo pelas nanofibras de celulose.

Figura 66. Espectro de FT-Raman do óleo essencial de cardamomo e suas emulsões estabilizadas com CNF a) espectro completo, e ampliação das regiões b) 1230-1800 cm^{-1} e c) 2800-3200 cm^{-1} .



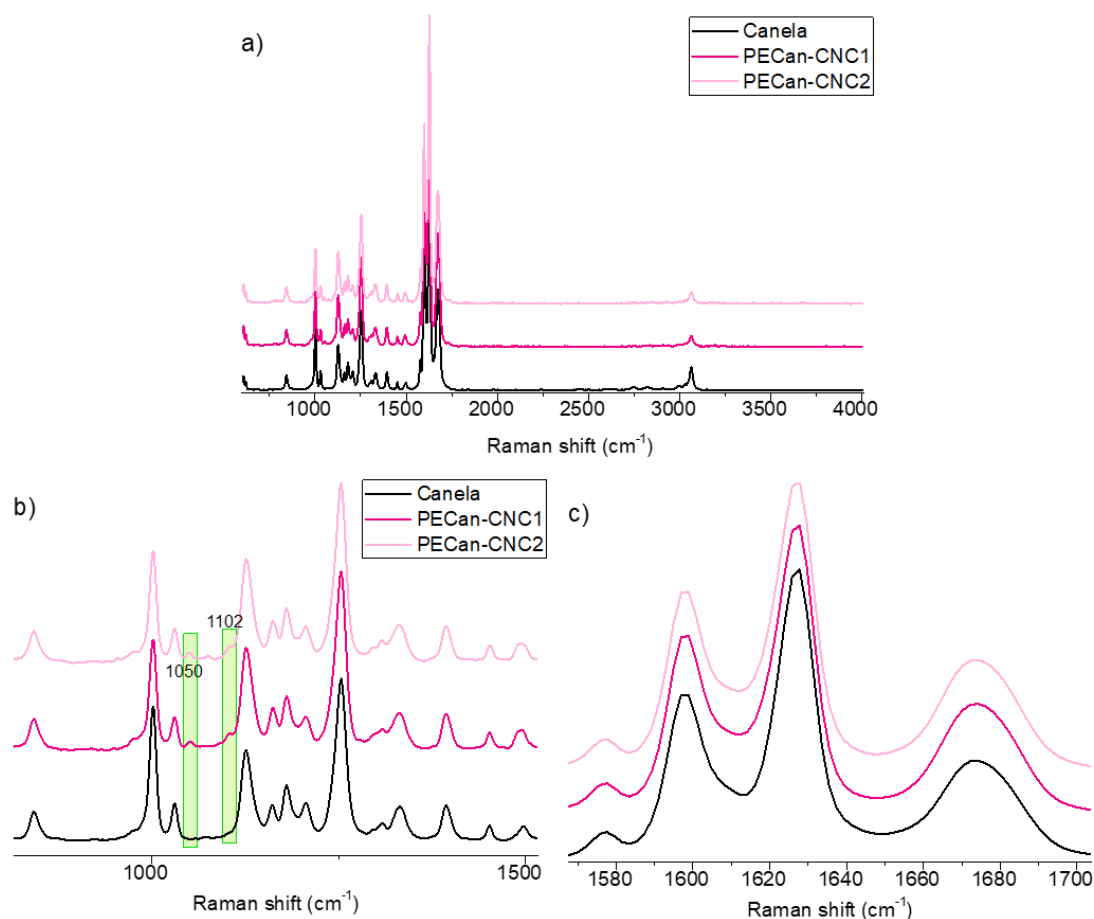
Fonte: Autoria Própria.

Na Figura 67 são apresentados os espectros de FT-Raman do óleo essencial de canela e suas emulsões estabilizadas com CNC. O óleo essencial de canela puro apresentou elevada similaridade com suas emulsões, sendo que seus principais picos são verificados em 843 cm^{-1} (vibração C-H fora do plano), 1001 cm^{-1} (anel benzeno monosubstituído), 1032 cm^{-1} (vibração de torção C-H do grupo CH_2), 1126 cm^{-1} (alongamento C-C), 1162 cm^{-1} (ligação C-H), 1180 cm^{-1} (ligação C-O), 1206 cm^{-1} (*p*-cimeno), 1253 cm^{-1} (vibração CH_2), 1332, 1393, 1452 e 1497 cm^{-1} (modos de ligação CH_3), 1598 cm^{-1} (anel benzeno

monosubstituído), 1627 cm^{-1} (C=C), e 1673 cm^{-1} (vibrações de alongamento C=O e C=C) (Andreev *et al.*, 2001; Cebi, Arici e Sagdic, 2021; Nelson *et al.*, 2020; Schulz *et al.*, 2004; Schulz e Baranska, 2006).

Após a emulsificação com os CNCs, verificou-se o surgimento de um pico de baixa intensidade em 1050 cm^{-1} e um novo ombro em 1102 cm^{-1} , associados a vibrações assimétricas C-O-C e vibrações do modo de ligação C-C da celulose (Park *et al.*, 2019; Sacui *et al.*, 2014). Além disso, o pico 1497 cm^{-1} deslocou-se para 1492 cm^{-1} para ambas as emulsões, indicando que a emulsificação pode ter induzido uma perturbação nos modos de vibração devido a possíveis interações entre os componentes. Não houve modificação nos picos acima de 1560 cm^{-1} (Figura 67c).

Figura 67. Espectro de FT-Raman do óleo essencial de canela e suas emulsões estabilizadas com CNC a) espectro completo, e ampliação das regiões b) $820\text{-}1515\text{ cm}^{-1}$ e c) $1560\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$.

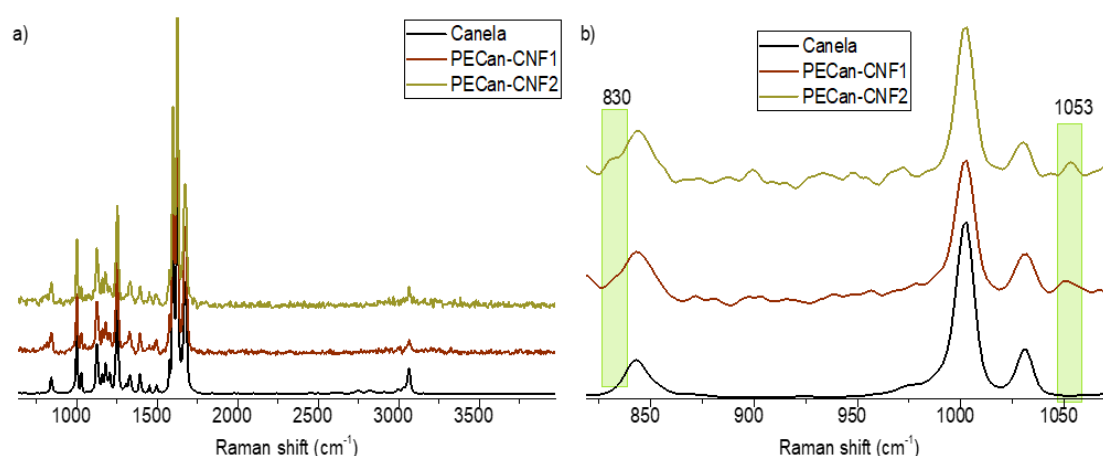


Fonte: Autoria Própria.

A Figura 68 apresenta os espectros de FT-Raman do óleo essencial de canela e suas emulsões estabilizadas com CNF. De maneira similar ao observado na Figura 67, não

houve mudanças significativas entre os espectros (Figura 68a), com predominância dos picos do óleo essencial. A Figura 68b apresenta uma ampliação da região 825-1075 cm^{-1} , sendo possível identificar que após a emulsificação com CNF, a amostra PECan-CNF2 apresentou um ombro em 830 cm^{-1} , associado a alongamento C-O-C da celulose (Sacui *et al.*, 2014). A presença de picos sobrepostos do óleo e da celulose são um indicativo da presença de ambos os componentes na mistura, e o alargamento do pico do óleo essencial pode indicar a presença de vibrações de modos de ligação novos, sendo um possível indício de interações químicas. Ambas as emulsões apresentaram um pico em 1053 cm^{-1} , confirmando a presença das nanofibras de celulose no sistema.

Figura 68. Espectro de FT-Raman do óleo essencial de canela e suas emulsões estabilizadas com CNF a) espectro completo, e b) ampliação da região 825-1075 cm^{-1} .



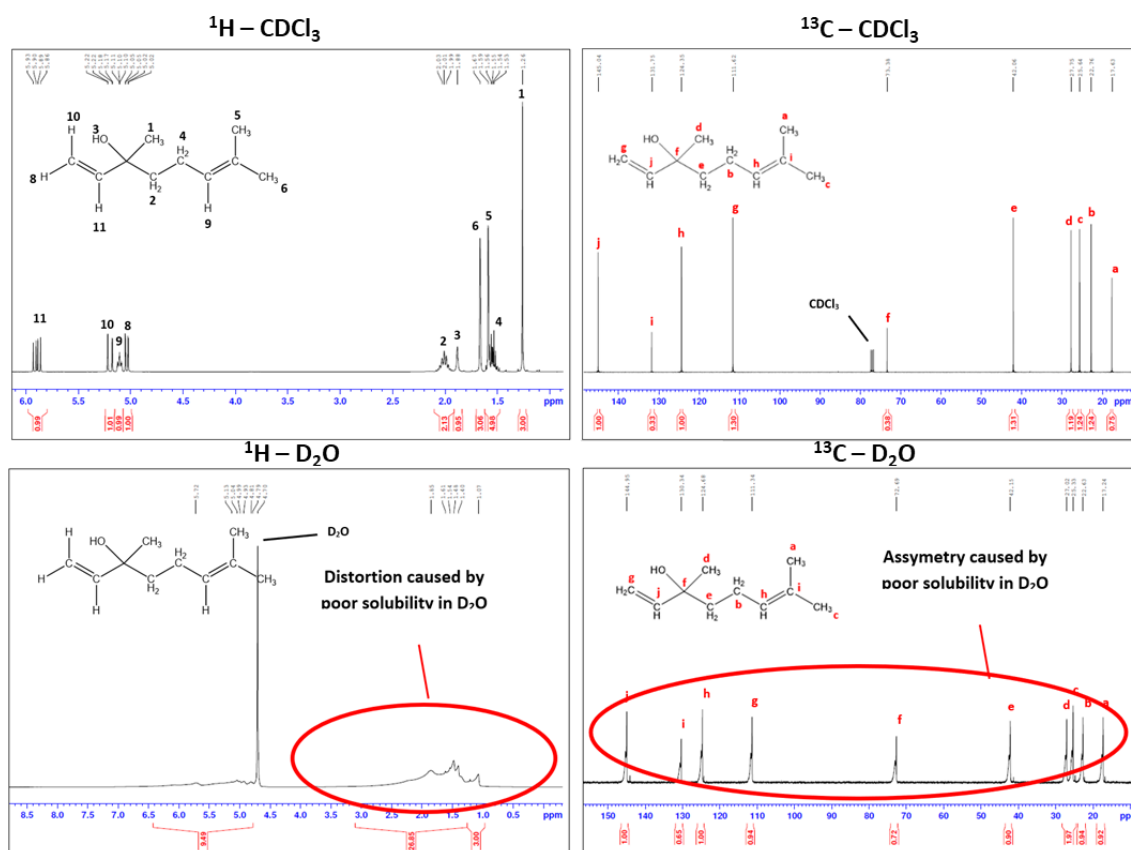
Fonte: Autoria Própria.

6.5 Ressonância magnética nuclear

A espectroscopia de RMN é geralmente empregada para a elucidação estrutural de compostos orgânicos. No entanto, estudos recentes têm demonstrado a importância desta técnica para investigar interações moleculares e as arquiteturas de arranjo supramolecular. Neste caso, parâmetros como mudanças químicas, taxa de relaxamento, largura de linha e constantes de taxa de difusão molecular são usados nas investigações (Pinto *et al.*, 2016). O RMN do material líquido é totalmente dependente da solubilidade do material analisado no solvente utilizado, refletindo a distribuição e o estado da água na emulsão (Liu *et al.*, 2018). Para avaliar as diferenças na estabilização e, consequentemente, o efeito da solubilidade dos óleos essenciais em emulsões Pickering estabilizadas, os óleos puros e suas emulsões foram investigados.

A Figura 69 mostra os espectros de ^1H e ^{13}C do óleo essencial de Ho wood puro em ambos os solventes deuterados CDCl_3 (clorofórmio) e D_2O (água). Esse óleo apresentou boa solubilidade em clorofórmio, apresentando um espectro detalhado de ^1H e ^{13}C . No entanto, os espectros obtidos com o óleo essencial diluído em água deuterada apresentaram um espectro de baixa resolução na análise de núcleos de ^1H . Em contraste, o espectro ^{13}C apresentou sinais deslocados com alguma distorção, provavelmente devido à heterogeneidade do campo magnético causada por uma fase líquida descontínua da solução OE + D_2O . Todos os picos apresentados no espectro ^{13}C de CDCl_3 também aparecem no espectro D_2O , indicando uma solubilidade parcial do óleo essencial em D_2O (1590 mg L^{-1} a 25°C) (Rodríguez-López *et al.*, 2020). Essa informação foi verificada mesmo com uma distorção na simetria dos picos.

Figura 69. Espectros de ^1H and ^{13}C do óleo essencial de Ho wood (*Cinnamomum camphora* var. *linalooliferum*, CAS Number 92201-50-8) diluído com CDCl_3 e D_2O .



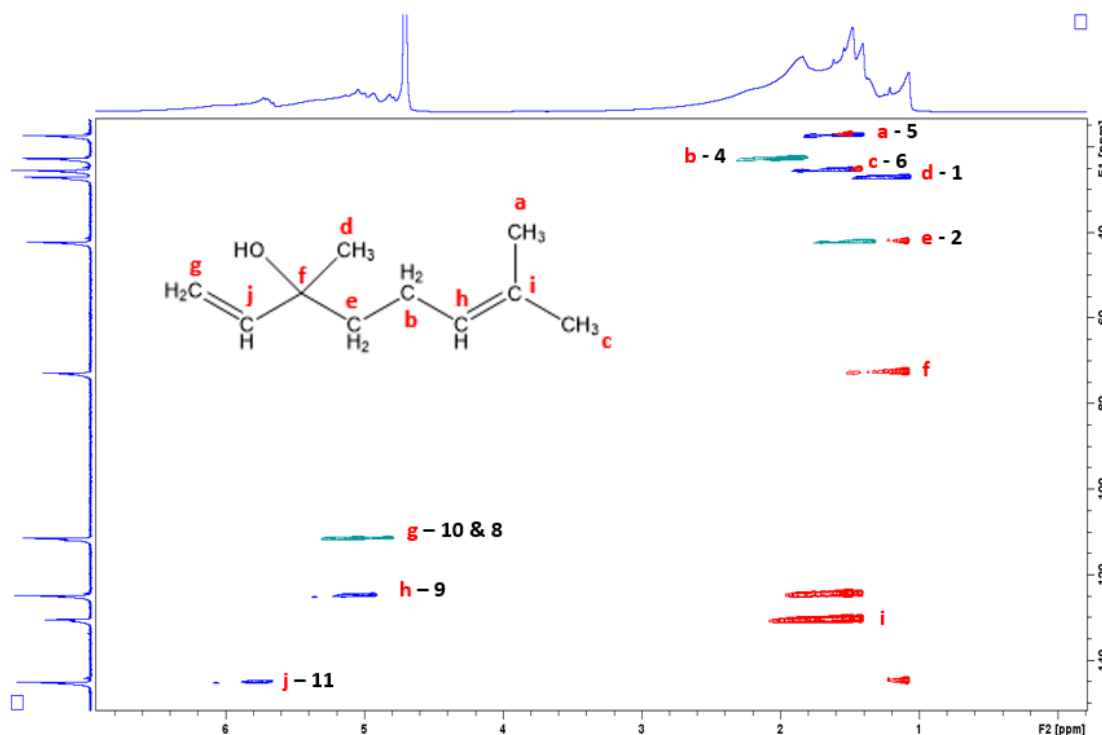
Fonte: Autoria Própria.

Os deslocamentos químicos do linalol foram coerentes com a literatura, com três singletos CH_3 em δ 1,2, 1,5 e 1,6 ppm, verificados pelo espectro de ^1H -NMR, e o espectro

^{13}C -NMR apresentou dez sinais principais, com dois atribuídos a carbonos quaternários (δ 73,5 e 131,9 ppm) (Phutdhawong *et al.*, 2007).

A Figura 70 mostra a sobreposição de dois espectros 2D, HSQC, do óleo *Cinnamomum camphora* var. *linalooliferum*, número CAS 92201-50-8. Esse experimento, chamado *Heteronuclear Single Quantum Coherence*, é usado para determinar as correlações entre os núcleos envolvidos em uma ligação química simples próton-carbono, fornecendo informações químicas do material. Ou seja, por meio de um espectro HSQC ^{13}C - ^1H é possível identificar qual carbono está ligado a cada um dos hidrogênios da molécula orgânica. É uma técnica rica em informações, uma vez que especifica a lista de pares ^1H - ^{13}C diretamente ligados presentes em uma molécula. Já HMBC é definido como *Heteronuclear Multiple Bond Correlation*, e representa os núcleos envolvidos por mais de uma ligação química de longa distância, em que cada sinal de próton pode ser correlacionado com um ou mais sinais de carbono.

Figura 70. Sobreposição de espectros HSQC e HMBC 2D ^1H - ^{13}C do óleo essencial de Ho wood (*Cinnamomum camphora* var. *Linalooliferum*, Número CAS 92201-50-8), diluído com D_2O .



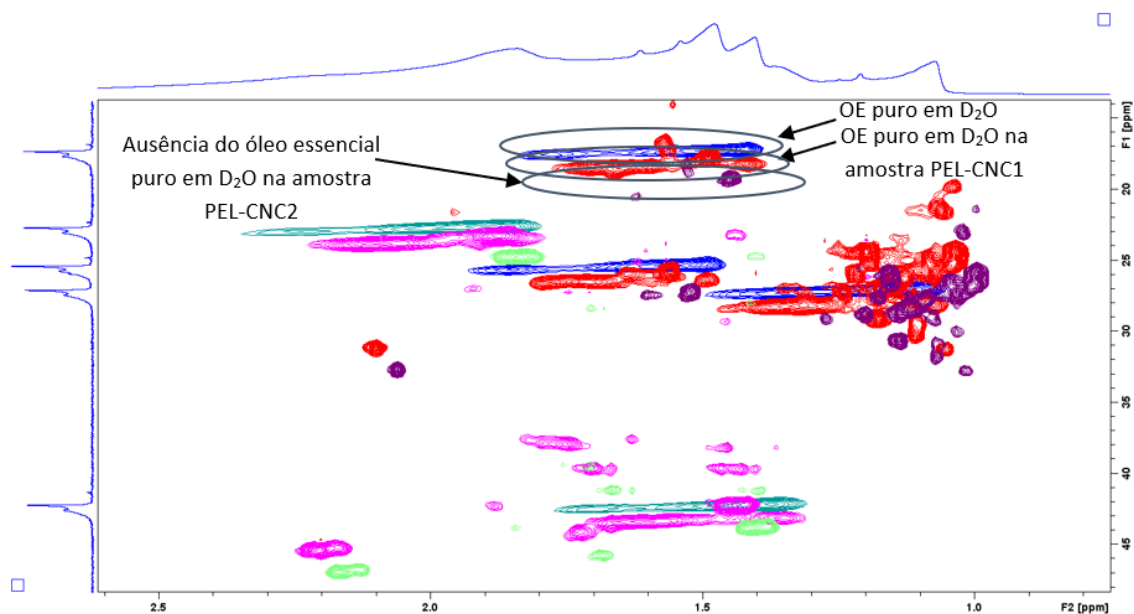
Fonte: Autoria Própria.

O gráfico obtido apresenta cores diferentes para diferentes espécies de carbono (cor azul para CH e CH_3 e verde para CH_2). Foram obtidos resultados semelhantes para os experimentos DEPT135 e HMBC - Heteronuclear Multiple Bond Correlation, que fornece

informações semelhantes a um experimento COSY próton-próton, correlacionando carbonos com constantes de acoplamento de J2, J3 e até J4 para alguns sistemas conjugados (em vermelho). Por meio dessa técnica foi possível confirmar/montar a estrutura química do óleo estudado, analisando, uma a uma, as ligações presentes no espectro.

A Figura 71 mostra a sobreposição de espectros de HSQC de óleo essencial puro (em azul e verde), e PEL-CNC1 (em vermelho e rosa) PEL-CNC2 (em roxo e verde claro). Picos cruzados entre os eixos X e Y indicam acoplamento entre prótons separados por até três ou quatro ligações químicas. No espectro, existem ligações cruzadas nas regiões 1 a 2-H ppm e 20-30-C e ~43-C ppm. Isso indica pontos de correlação fortemente ligados com acoplamento carbono-hidrogênio. Esses resultados são correlacionados com prótons de metileno, de acordo com Sahu e colaborador, e são resultado de uma formação de ligação química (Sahu e Bhowmick, 2019).

Figura 71. Sobreposição de espectros HSQC e HMBC 2D ^1H - ^{13}C do óleo essencial de Ho wood e suas emulsões estabilizadas com CNCs, diluídos com D_2O .



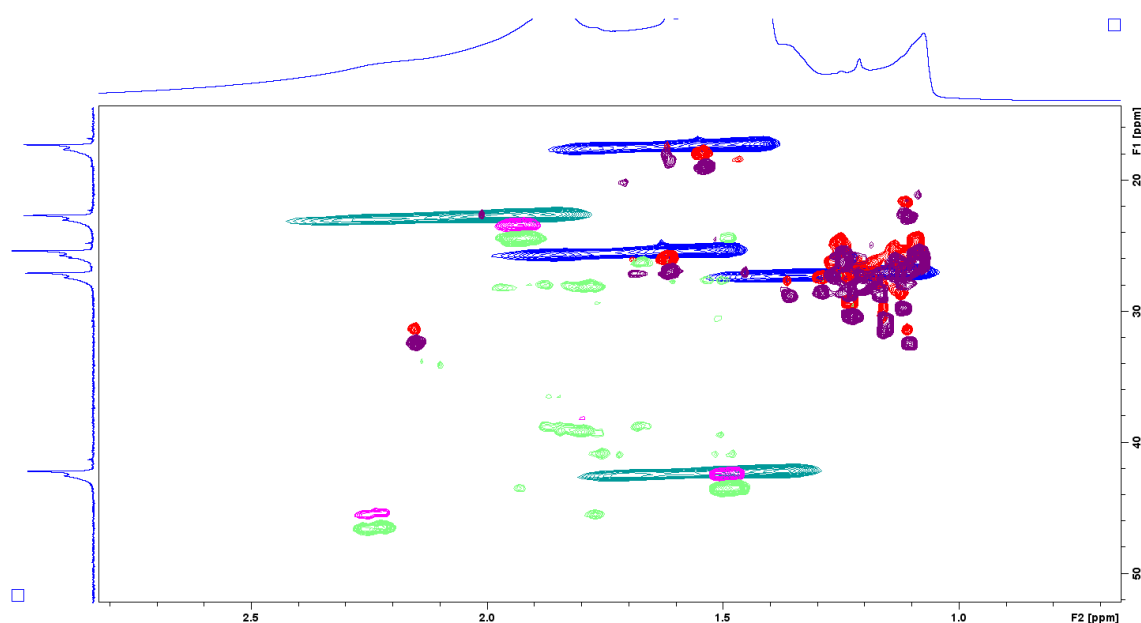
Fonte: Autoria Própria.

É possível observar que para PEL-CNC1 existem picos semelhantes ao óleo essencial puro em D_2O e outros picos relacionados às estruturas do processo de emulsificação. No entanto, em PEL-CNC2, os picos de óleo essencial não aparecem, indicando a ausência de EO puro nesta amostra em D_2O , ou seja, todo o óleo foi emulsificado, corroborando com os resultados anteriormente apresentados em que para essa amostra não há separação de fase. Esses resultados confirmam que o óleo essencial provavelmente foi incluído dentro

de um complexo de partículas de CNC (Jiang *et al.*, 2019) que blindou as gotículas de óleo e evitou sua aproximação e coalescência.

A Figura 72 apresenta a sobreposição de espectros de HSQC do óleo essencial de ho wood puro (em azul e verde), PEL-CNF1 (em vermelho e rosa) e PEL-CNF2 (em roxo e verde claro). Nenhuma das emulsões apresentam picos de óleo puro em água. No entanto, ambas possuem os mesmos picos encontrados nas emulsões estabilizadas com CNC, indicando a mesma tendência estabilização.

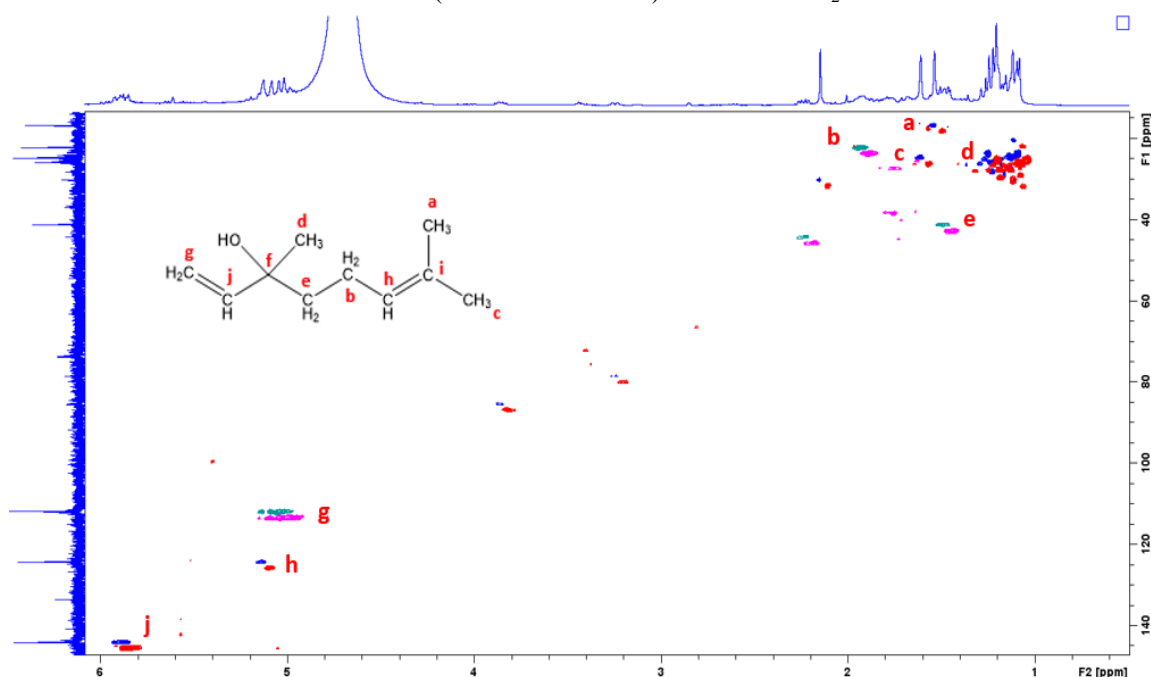
Figura 72. Sobreposição de espectros HSQC e HMBC 2D ^1H - ^{13}C do óleo essencial de Ho wood e suas emulsões estabilizadas com CNFs, diluídos com D_2O .



Fonte: Autoria Própria.

A Figura 73 apresenta o HSQC emulsões PEL-CNF1 (em azul e verde) e PEL-CNF2 (em vermelho e rosa), mostrando que os picos após a emulsificação apresentam diferentes deslocamentos químicos quando comparados ao EO puro na água. No entanto, os picos apresentados nos espectros ainda confirmam a estrutura do linalol. Os resultados de RMN sugerem que tanto o CNC quanto o CNF no processo de emulsão Pickering interagem com as estruturas do Linalol, alterando a forma como essa molécula interage com a água e, eventualmente, com o D_2O , ou seja, há a formação de novas ligações químicas que alteram a estrutura do linalol. Esses resultados corroboram os anteriormente apresentados no FTIR e FT-Raman, de que a estabilização do linalol ocorre por interações químicas entre os grupos funcionais da celulose e do óleo essencial.

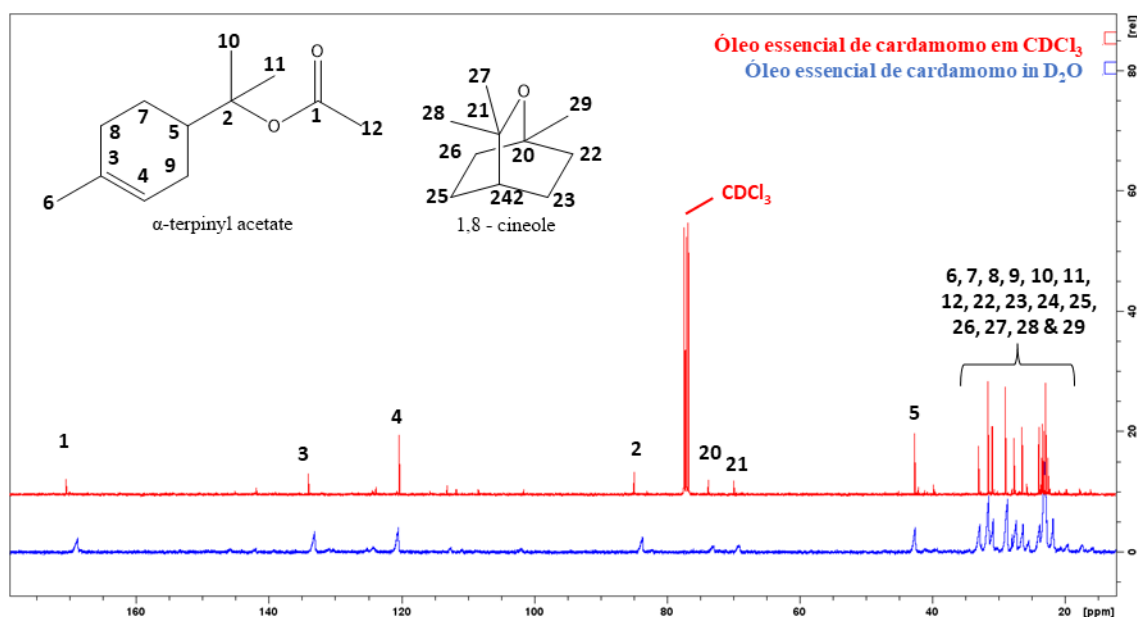
Figura 73. Sobreposição de espectros HSQC 2D ^1H - ^{13}C das emulsões PEL-CNF1 (em azul e verde) e PEL-CNF1 (em vermelho e rosa) diluídas com D_2O .



Fonte: Autoria Própria.

A Figura 74 apresenta o espectro ^{13}C do OE puro de cardamomo em ambos os solventes deuterados CDCl_3 e D_2O . O óleo demonstrou boa solubilidade em CDCl_3 , apresentando um espectro ^{13}C detalhado. Foi possível identificar a presença de dois principais compostos ativos no óleo essencial: acetato de α -terpineol e 1,8-cineol.

Figura 74. Espectros de ^{13}C do óleo essencial de cardamomo (*Elettaria cardamomum*, CAS Number 8000-66-6) diluído com CDCl_3 e D_2O .

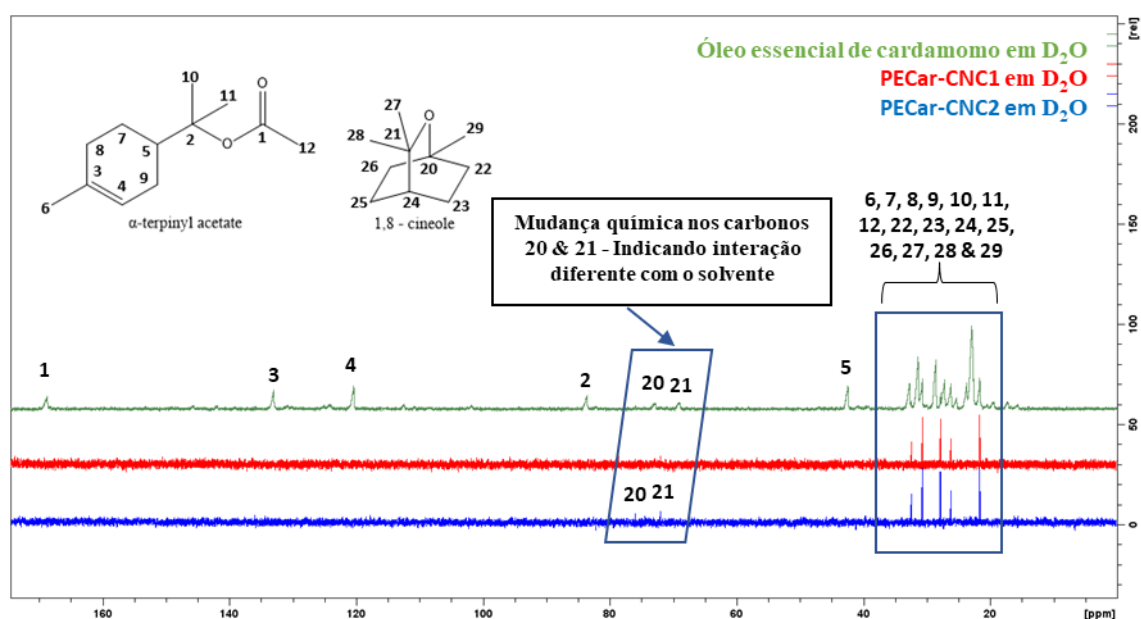


Fonte: Autoria Própria.

Porém, o espectro obtido com o óleo diluído em apresentou um espectro ^{13}C de baixa resolução com picos deslocados e alguma distorção. Todos os picos apresentados no espectro CDCl_3 ^{13}C também aparecem no espectro D_2O , mostrando uma solubilidade parcial do óleo essencial em D_2O ou H_2O .

A Figura 75 mostra a sobreposição de espectros ^{13}C de óleo essencial puro (em verde), PECar-CNC1 (em vermelho) e PECar-CNC2 (em azul). Verificou-se que os picos do acetato de α -terpinila não estão identificáveis nos espectros, o que poderia ser um indicativo de que este componente do óleo essencial sofre um rearranjo espacial, com orientação preferencial para o interior da gota formada pelo CNC estabilizado, formando uma espécie de “capsula protetora”. Além disso, nos espectros de emulsões, os picos característicos encontrados para a molécula de 1,8-cineol apresentam formato, deslocamento químico e resolução diferentes quando comparados ao OE puro, indicando que a molécula possui uma interação diferente com o solvente (D_2O) após a emulsificação, possivelmente devido ao rearranjo dos compostos ativos do óleo essencial.

Figura 75. Espectros de ^{13}C do óleo essencial de cardamomo (*Elettaria cardamomum*, CAS Number 8000-66-6) e das emulsões estabilizadas com CNC diluídas com D_2O .

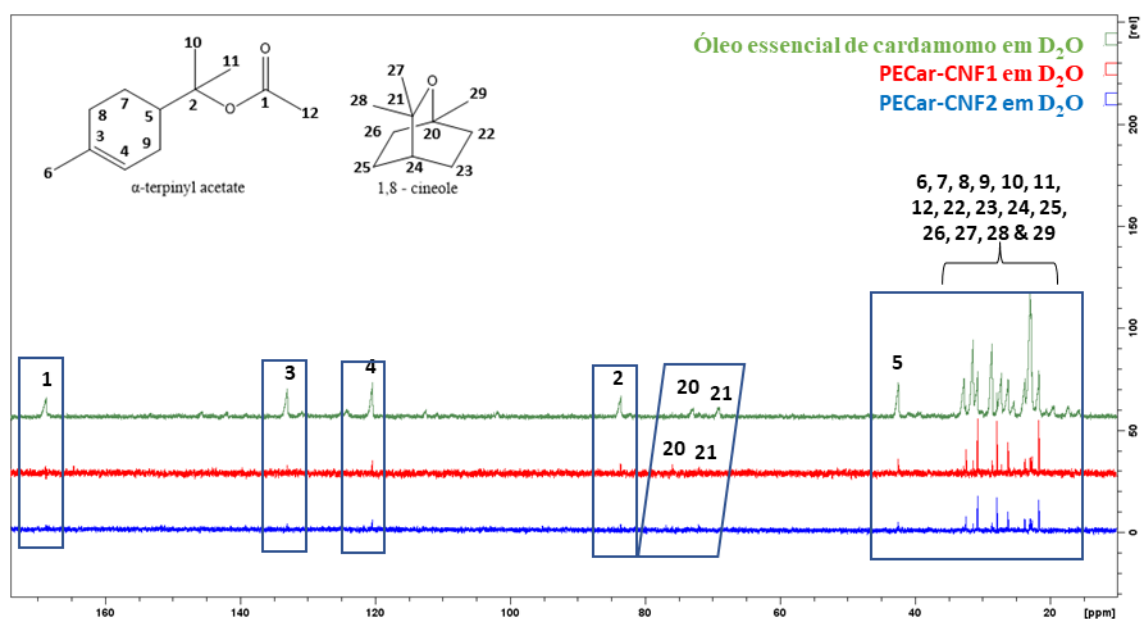


Fonte: Autoria Própria.

A Figura 76 mostra a sobreposição de espectros ^{13}C de óleo essencial puro (em verde), PECar-CNF1 (em vermelho) e PECar-CNF2 (em azul). Semelhante às emulsões estabilizadas com CNC, as emulsões CNF apresentaram picos deslocados para a molécula de 1,8-cineol. No entanto, diferentemente das emulsões CNC, os espectros mostraram picos característicos da molécula de acetato de α -terpinila, sendo possível inferir que o

mecanismo de estabilidade influencia na organização dos componentes do OE. Esses resultados indicam que na estrutura do CNF, mesmo com aspecto de gel, existe uma quantidade do OE que não é totalmente estabilizada pela emulsão, sendo suscetível à solução e consequentemente à separação de fases. Esses resultados são esperados, uma vez que as gotas de óleo não são completamente recobertas pelas nanofibras de celulose, mas sim aprisionadas no interior de poros formados pela estrutura tridimensional de CNFs.

Figura 76. Espectros de ^{13}C do óleo essencial de cardamomo (*Elettaria cardamomum*, CAS Number 8000-66-6) e das emulsões estabilizadas com CNF diluídas com D_2O .



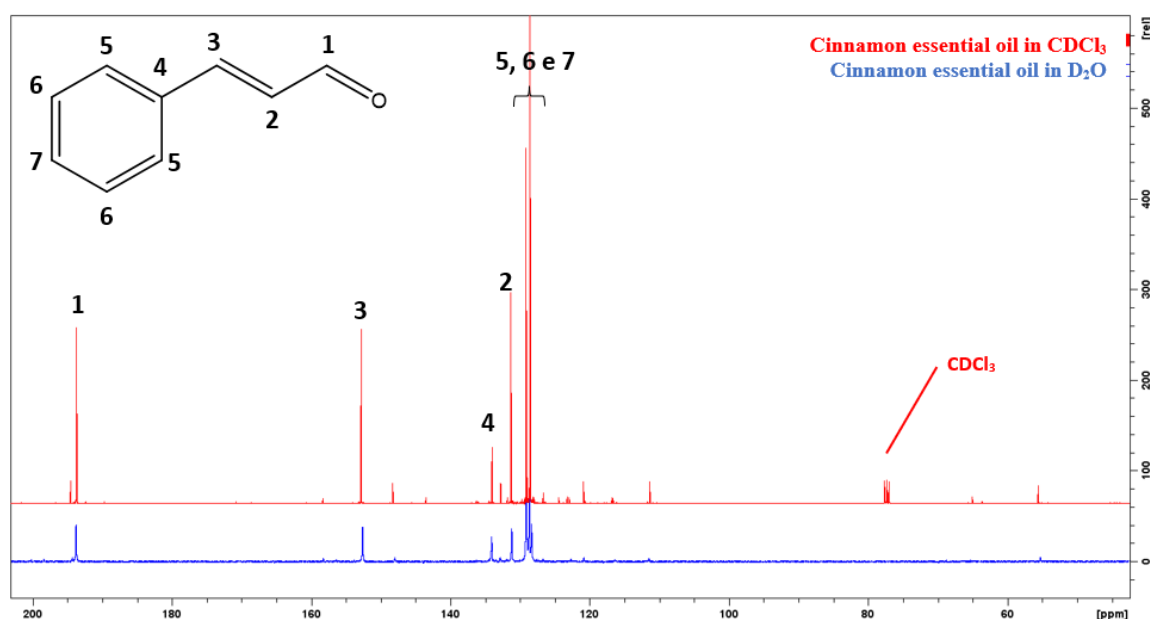
Fonte: Autoria Própria.

Os resultados de RMN indicam que o processo de emulsificação do óleo essencial de cardamomo com CNC altera a característica vibracional da molécula de acetato de α -terpinila, possivelmente fazendo com que ela se ordene de forma preferencial para o interior da gota de óleo, enquanto o 1,8-cineol apresenta picos deslocados, indicando interação com solvente e/ou CNC, consequência direta de diferentes solubilidades. As CNF não apresentaram a mesma estabilidade, e as duas principais moléculas do OE puro são verificadas no espectro da emulsão, indicando separação de fases.

A Figura 77 apresenta o espectro ^{13}C do óleo essencial de canela em solventes deuterados CDCl_3 e D_2O . O óleo demonstrou boa solubilidade em CDCl_3 , apresentando espectro ^{13}C detalhado. Os picos mais intensos do espectro apresentam deslocamento químico característico, que podem ser atribuídos ao aldeído cinâmico, comumente encontrado no OE de canela. Por outro lado, o espectro obtido com o OE diluído D_2O

apresentou um espectro ^{13}C de baixa resolução com picos deslocados e alguma distorção, provavelmente causada pela heterogeneidade do campo magnético causado por uma fase líquida descontínua da solução OE + D_2O . Todos os picos apresentados no espectro CDCl_3 ^{13}C também aparecem no espectro D_2O , mostrando uma solubilidade parcial do OE em D_2O ou H_2O .

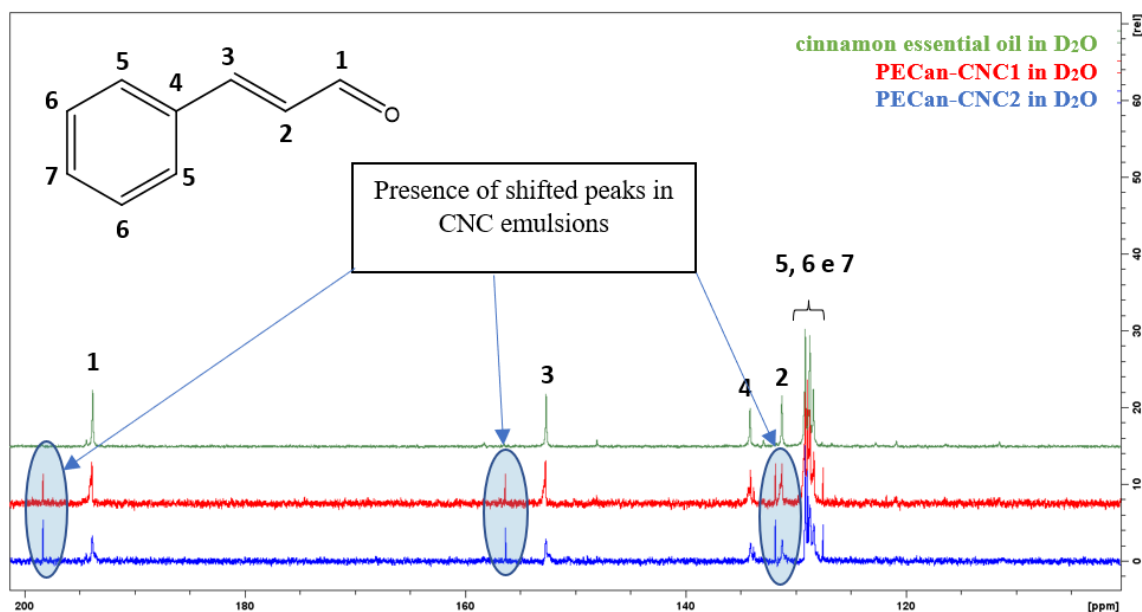
Figura 77. Espectros de ^{13}C do óleo essencial de canela diluídas com CDCl_3 e D_2O .



Fonte: Autoria Própria.

A Figura 78 ilustra os espectros de OE de canela em D_2O , bem como as emulsões estabilizadas com CNC, PECan-CNC1 e PECan-CNC2. Foi possível verificar diferenças nos espectros entre si, indicando variação significativa entre as interações de celulose cristalina e OE de canela. Os espectros das emulsões CNC apresentam os picos característicos do aldeído cinâmico. Além disso, outros picos com intensidades semelhantes e deslocamentos químicos em torno de 198 ppm, 156 ppm e 133 ppm semelhantes aos C's 1, 2 e 3 também são mostrados. A presença desses picos pode indicar uma interação química com os CNCs. O deslocamento químico de um núcleo C é diretamente influenciado pelo ambiente químico, confirmando assim a presença de duas espécies de aldeído cinâmico, uma espécie comum com deslocamentos químicos característicos e outra espécie com picos deslocados.

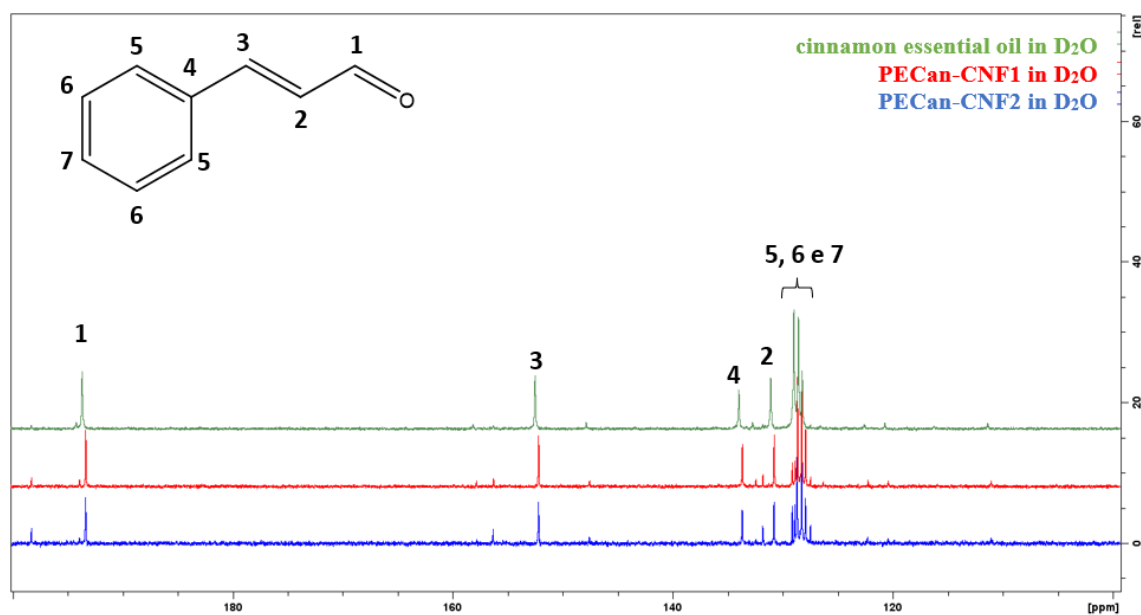
Figura 78. Espectros de ^{13}C do óleo essencial de canela e suas emulsões estabilizadas com CNC, diluídas com CDCl_3 e D_2O .



Fonte: Autoria Própria.

A Figura 79 ilustra os espectros de ^{13}C de óleo essencial de canela em D_2O e emulsões PECan-CNF1 e PECan-CNF2.

Figura 79. Espectros de ^{13}C do óleo essencial de canela e emulsões estabilizadas com CNF, diluídas com CDCl_3 e D_2O .



Fonte: Autoria Própria.

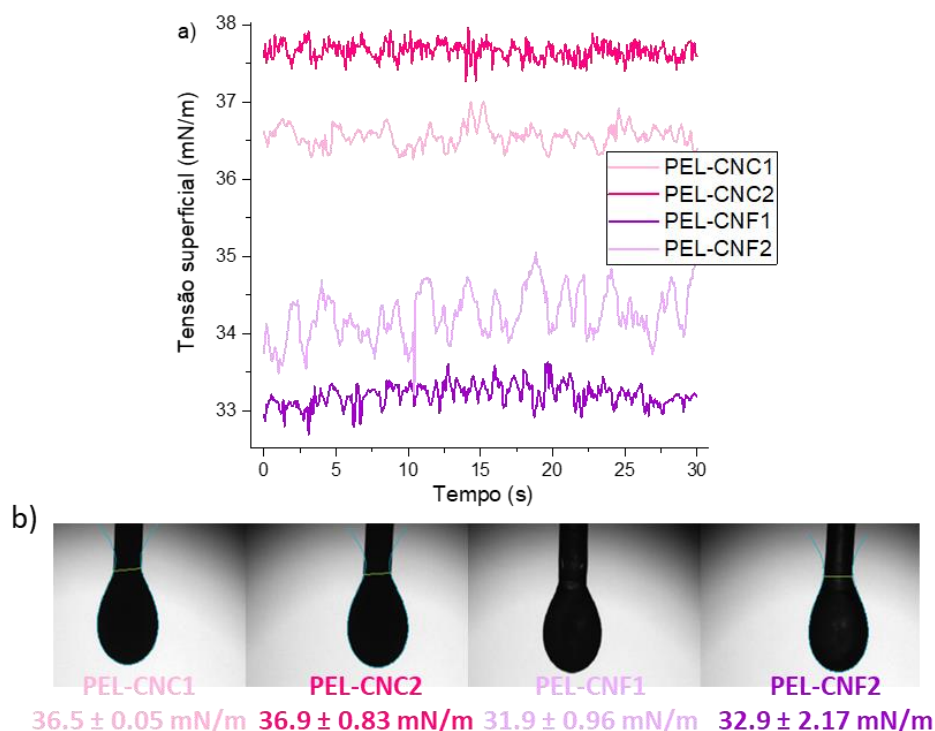
Os picos nos espectros são muito semelhantes, indicando que o processo de emulsão do OE de canela não altera significativamente a solubilidade e disponibilidade do OE à solução. Embora a mobilidade das partículas possa ser afetada, de acordo com as análises de RMN, não é possível afirmar uma interação química entre as estruturas de CNF e óleo essencial de canela.

6.6 Tensão superficial

A tensão superficial (TS) das amostras das emulsões Pickering foi medida para obter informações sobre a atividade superficial das diferentes nanoceluloses na estabilização da emulsão (Yuan, H. *et al.*, 2021). Os óleos essenciais de Ho wood, cardamomo e canela puros apresentaram tensões superficiais (TS) de $30,5 \pm 1,2$, $32,0 \pm 0,1$ e $40,2 \pm 0,2$ mN/m, respectivamente. Já as misturas de Ho wood/água, Cardamomo/água e Canela/água, sem agente estabilizante, apresentaram TS de $40,3 \pm 0,7$, $45,8 \pm 0,5$ e $55,6 \pm 1,9$ mN/m, respectivamente. Verifica-se que todas as emulsões apresentaram a mesma tendência de aumento dos valores de ST em comparação ao OE puro, sendo este fenômeno associado à presença da água, que possui uma tensão superficial de aproximadamente 73 mN/m. As suspensões de CNC/água e CNF/água apresentaram TS de $49,5 \pm 1,3$ e $63,9 \pm 0,7$ mN/m. De acordo com Berg *et al.* (2018), a morfologia dos nanomateriais de celulose influencia seu ângulo de contato e tensão superficial, uma vez que suas estruturas apresentam diferentes interações em uma interface fluido-fluido, como interações DLVO, forças capilares, comportamento hidrofílico e interações monopolar e dipolar. Uma vez que o L/D de CNCs e CNFs são diferentes, espera-se que partículas maiores (CNF) possam mostrar forças capilares de flotação induzidas pela gravidade devido ao seu peso. No caso de partículas menores (CNCs), as forças capilares de imersão podem existir dependendo da química da superfície e da posição da linha de contato. Partículas anisotrópicas causam uma deformação irregular da interface ao seu redor, e essa deformação leva a interações capilares. Assim, a intensidade da tensão superficial é dependente das forças de interações associadas à morfologia da nanocelulose, seus tamanhos e estados de dispersão.

A Figura 80a mostra a tensão superficial das emulsões estabilizadas com óleo essencial de Ho wood ao longo de 30 segundos, enquanto a Figura 80b mostra a imagem das gotas pendentes e seus respectivos valores médios de tensão superficial (mN/m) a mais nanoceluloses adsorvidas na interface óleo/água (Wu *et al.*, 2017).

Figura 80. Dados de tensão superficial das *Pickering emulsions* de óleo essencial de Ho wood (linalol) estabilizadas com CNC e CNF a) medições de tensão superficial ao longo do tempo e b) seus respectivos valores médios.



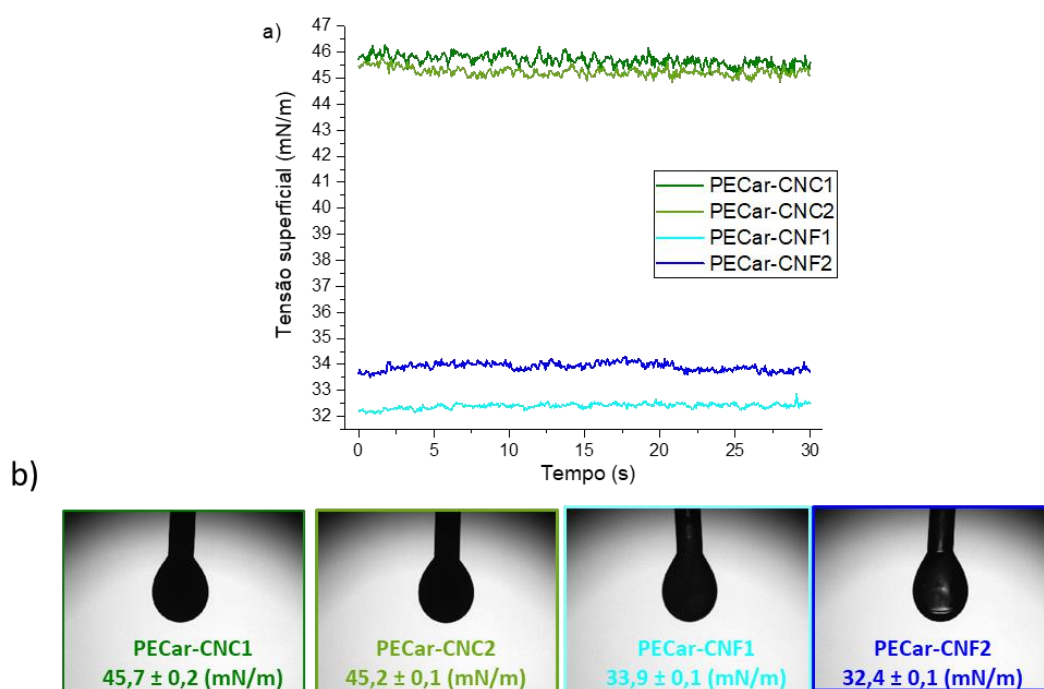
Fonte: Autoria Própria.

As amostras estabilizadas com nanocristais de celulose, PEL-CNC1 e PEL-CNC2, apresentaram valores de tensão superficial de $36,5 \pm 0,05$ e $36,9 \pm 0,83$ mN/m, enquanto as PEL-CNF1 e PEL-CNF2 apresentaram valores de TS de $31,9 \pm 1,0$ e $33,9 \pm 2,2$ mN/m, respectivamente. Comparando-se os TSs das emulsões com os das misturas óleo/água, verifica-se que houve uma redução da tensão superficial, possivelmente devido a complexos interfaciais formados para a estabilização da emulsão por meio de uma película interfacial, diminuindo a força repulsiva entre a água e o óleo, sendo este comportamento esperado em bons emulsionantes (Franzol e Rezende, 2015; Yaqoob Khan *et al.*, 2006; Zhai, Xichuan *et al.*, 2018). De acordo com Langevin (2000), a diminuição da tensão superficial é relacionada com a pressão superficial resultante da adsorção de um tensoativo (ou partícula sólida) na superfície das gotículas de óleo, sendo que esse fator altera a elasticidade e viscosidade superficial, ou seja, a curvatura da gota, e consequentemente a tensão superficial e fenômenos reológicos (Langevin, 2000).

A tensão superficial de PECar-CNC1, PECar-CNC2, PECar-CNF1 e PECar-CNF2 foi $45,7 \pm 0,2$, $45,2 \pm 0,4$, $33,9 \pm 0,1$ e $32,4 \pm 0,1$ mV/m, respectivamente (Figura 81). Nesse caso, como os nanocristais de celulose apresentam hidroxilas livres em sua estrutura que

favorecem sua adsorção na interface óleo/água e, ao mesmo tempo, geram forças repulsivas entre as gotículas de óleo. O mecanismo de estabilização eletrostática resultou em estabilidade semelhante para ambas as emulsões e, conseqüentemente, características físico-químicas semelhantes, resultando em valores de ST estatisticamente semelhantes.

Figura 81. Dados de tensão superficial das *Pickering emulsions* de óleo essencial de cardamomo estabilizadas com CNC e CNF a) medições de tensão superficial ao longo do tempo e b) seus respectivos valores médios.



Fonte: Autoria Própria.

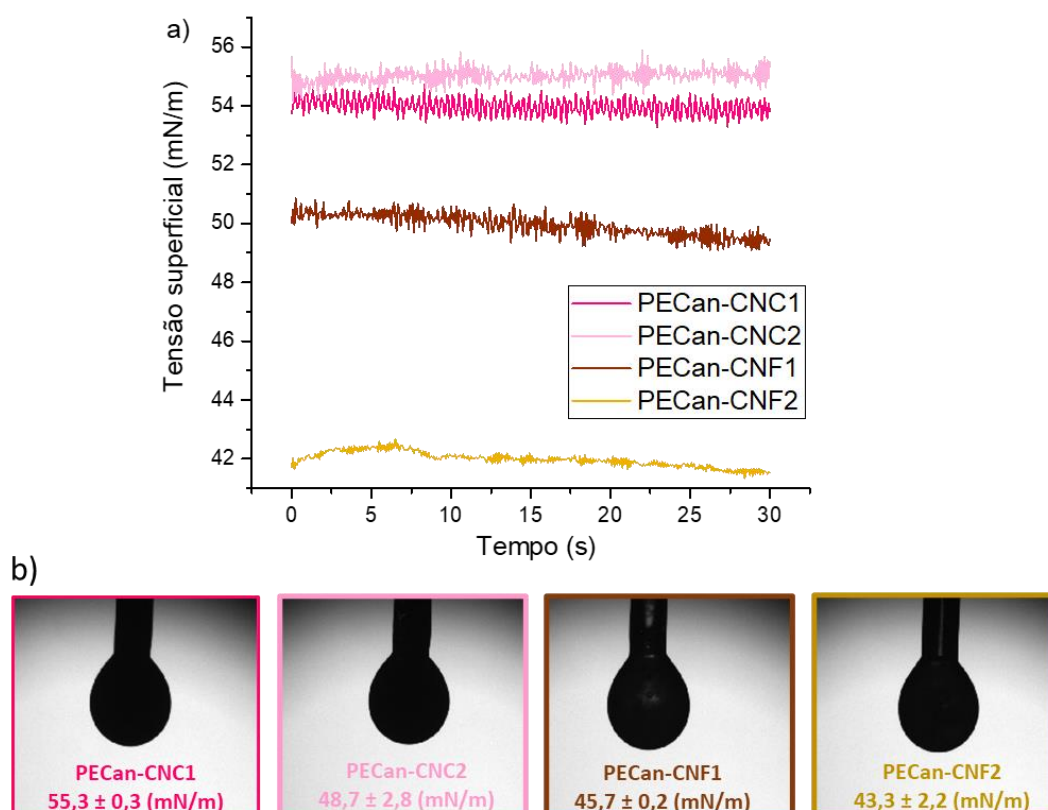
Por outro lado, o PECar-CNF1 apresentou um valor de ST ligeiramente superior ao PECar-CNF2, indicando que para a segunda amostra provavelmente ocorreu o acúmulo e auto-organização de nanofibras na interface líquido-ar (Kumar, Gaur e Mandal, 2017). Os valores ligeiramente inferiores para PECar-CNF2 poderiam indicar melhor adsorção de CNF na interface das gotas de óleo (Haaaj *et al.*, 2014). Segundo Zhou e colaboradores, valores baixos de ST indicam que a nanocelulose é facilmente adsorvida na interface, afetando o empacotamento das partículas nas interfaces e formando uma estrutura interfacial, característica crítica para as propriedades físico-químicas das emulsões Pickering (Zhou *et al.*, 2018). No geral, todas as emulsões apresentaram valores de ST entre 32 e 48 mV/m.

Os valores de ST para as emulsões de linalol e cardamomo sugerem que a estrutura do óleo essencial também interfere na química de superfície. Esse aumento também é verificado para as emulsões de canela, apresentadas a seguir, o que pode ser associado à

estrutura aromática do óleo de canela. A tensão superficial é relacionada com a polaridade das moléculas em estudo e com a densidade dos líquidos, e no caso de menores tensões superficiais, possivelmente a nanocelulose contrabalanceou as forças resultantes do óleo.

A Figura 82 apresenta os valores de tensão superficial das emulsões estabilizadas de óleo essencial de canela, sendo que todas apresentaram valores semelhantes, com exceção da amostra PECan-CNC1, o que pode ser associado com sua estabilidade eletrostática, ou ainda com os maiores tamanhos de gota dessa emulsão. As demais emulsões de canela apresentaram valores similares de tensão superficial e tamanho de gotas. Valores similares de TS foram reportados por Ozogul *et al.* para emulsões de óleo de timol estabilizadas com lauril (Ozogul *et al.*, 2017) e por Yazgan, em emulsões de sálvia (Yazgan, 2020).

Figura 82. Dados de tensão superficial das *Pickering emulsions* de óleo essencial de canela estabilizadas com CNC e CNF a) medições de tensão superficial ao longo do tempo e b) seus respectivos valores médios.



Fonte: Autoria Própria.

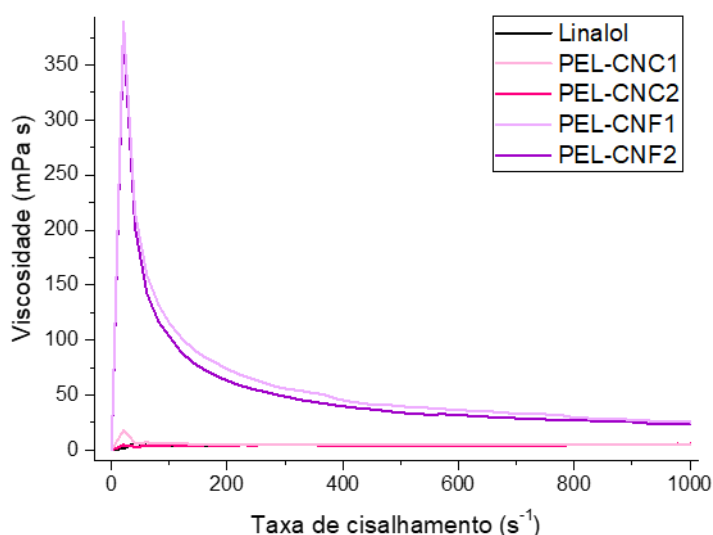
6.7 Reologia

Considerando um sistema de emulsão Pickering preparado para aplicações comerciais, sua fluidez é fundamental para o preparo e armazenamento e para o produto final. A Figura 83 mostra as curvas de viscosidade em função da taxa de cisalhamento do óleo essencial de linalol e suas emulsões. O óleo puro apresentou comportamento newtoniano, conforme

esperado. Já as emulsões estabilizadas com CNC (PEL-CNC1 e PEL-CNC2) apresentaram comportamento semelhante ao óleo essencial puro com leve aumento da viscosidade seguido de platô. Esses resultados indicam que a adição de CNC causa um distúrbio no sistema e possivelmente ocorreu a deposição efetiva de nanocristais de celulose nas gotículas de óleo. Devido a estabilidade do sistema, esses CNCs não devem estar emaranhados/agregados, resultando em uma viscosidade constante (Xu *et al.*, 2020). Além disso, a compatibilidade do sistema pode auxiliar na distribuição homogênea das nanoceluloses ao longo da emulsão, resultando em uma fase contínua estável sem a formação de microfases, independente da concentração CNC utilizada (Dai *et al.*, 2017; Hu *et al.*, 2019).

As amostras estabilizadas com CNF apresentaram comportamento não newtoniano, com diminuição de viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento, característico de materiais pseudoplásticos. Quando a taxa de cisalhamento aumenta o suficiente para superar o movimento browniano, a resistência do fluxo diminui e a viscosidade diminui (Hosseini e Rajaei, 2020). O “afinamento” também pode ser resultado da quebra da rede tridimensional formada pelas nanofibras de celulose. Após o desemaranhamento principal dos CNFs, a viscosidade diminui até atingir um platô em aproximadamente 30 mPa·s, significativamente maior do que as amostras PEL-CNC (~7 mPa·s).

Figura 83. Curvas de viscosidade versus taxa de cisalhamento do óleo essencial de linalol e suas emulsões Pickering.



Fonte: Autoria Própria.

Para amostras estabilizadas com CNF, modelos reológicos foram aplicados para avaliar a estrutura interna e as mudanças associadas ao estado do gel e a influência de forças externas, ou seja, cisalhamento. O modelo de Herschel-Bulkley tem três constantes, K, n (diluição de fluido) e γ (parâmetro relacionado à tensão de cisalhamento de forma não linear) (Equação 48) e fornece bons resultados para materiais sólidos até uma certa tensão de cisalhamento, e que passam a fluir a partir desse valor (Chhabra e Richardson, 1999).

$$\tau = \tau_0 + K\gamma^n \quad (48)$$

onde τ é o cisalhamento medido, τ_0 é a tensão de escoamento medida, K é o índice de consistência, n é o índice de comportamento do fluxo e γ é a taxa de cisalhamento. Os dados obtidos são apresentados na Tabela 10. Os resultados mostraram um bom ajuste com este modelo, e altos valores de K foram verificados para PEL-CNF2, indicando que o menor teor de óleo essencial otimizou o efeito de gelificação e, conseqüentemente, não houve separação de fase para essa amostra. Ambas as emulsões mostraram $n < 1$, característico de comportamento pseudoplástico não newtoniano (Husin, Taju Ariffin e Yahya, 2018).

Além disso, o modelo de Ostwald-de-Waele também apresentou um bom ajuste e foi utilizado para descrever o comportamento do fluxo independente do tempo. Este modelo relaciona a viscosidade efetiva à taxa de cisalhamento usando três parâmetros, de acordo com a Equação 49, onde γ é a taxa de cisalhamento, K é o índice de consistência e n é o índice de comportamento do fluxo.

$$\eta_a(\gamma) = K\gamma^{n-1} \quad (49)$$

Tabela 10. Parâmetros dos modelos reológicos de Herschel-Bulkley, Ostwald-de-Waele e Carreau-Yasuda para amostras PEL-CNF.

Amostra	Modelo: Herschel-Bulkley			
	τ_0 (Pa)	K	n	R ²
PEL-CNF1	-0,023	1,994	0,3444	0,9871
PEL-CNF2	-1,571	4,617	0,2565	0,9748
	Modelo: Ostwald-de-Waele			
	-	K	n	R ²
PEL-CNF1	-	1,984	0,345	0,9871
PEL-CNF2	-	3,761	0,277	0,9746
	Modelo: Carreau-Yasuda			
	μ_0	λ	n	R ²
PEL-CNF1	0,5605	0,1441	0,344	0,9870
PEL-CNF2	0,4008	0,04305	0,268	0,9750

Todos os valores de n foram menores que 1 ($n < 1$), indicando o comportamento pseudoplástico das amostras (Zhao *et al.*, 2019).

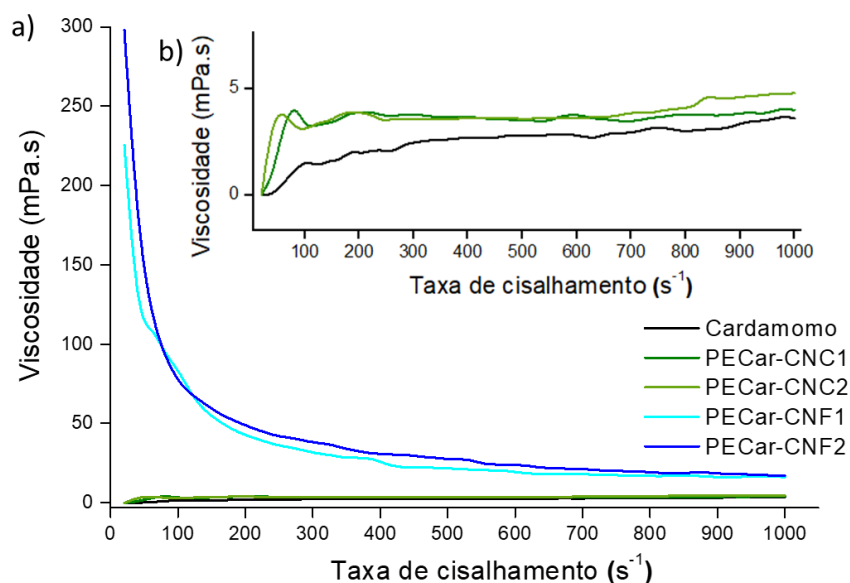
O modelo de Carreau-Yasuda considera os valores de viscosidade limite em taxas de cisalhamento muito altas ou baixas usando n e λ como parâmetros de ajuste de curva e é útil para prever o comportamento de diferentes tipos de fluidos em uma ampla faixa de taxas de cisalhamento. A Equação 50 representa esse modelo reológico, em que μ_{∞} é a viscosidade a alta taxa de cisalhamento, μ_0 é a viscosidade a baixa taxa de cisalhamento, a é a potência que determina a transição entre as taxas de cisalhamento e λ é uma constante de tempo de relaxamento (Chhabra e Richardson, 1999).

$$\frac{\mu - \mu_{\infty}}{\mu_0 - \mu_{\infty}} = \{1 + (\lambda \dot{\gamma})^a\}^{\frac{n-1}{a}} \quad (50)$$

Aplicando o modelo, obteve-se que $\mu_{\infty}=0$ e $a=2$ para ambas as amostras. Os resultados indicaram que as emulsões apresentaram comportamento de cisalhamento com valores de índice de fluxo (n) de 0,344 e 0,268 para PEL-CNF1 e PEL-CNF2, respectivamente. A constante de tempo também apresentou valores elevados para PEL-CNF1, o que pode estar associado a maior instabilidade ou tendência à separação de fases, indicando que maiores teores de CNF são mais indicados para preparação das emulsões de linalol e estabilização via interação gota-CNF (Domian e Szczepaniak, 2020). No entanto, essa constante de tempo também pode estar relacionada a “menor facilidade” com que as cadeias deslizam, e, conseqüentemente, maior tempo de reação, tornando-se, assim, uma característica do sistema emulsionado.

A Figura 84 mostra a viscosidade de cisalhamento do óleo essencial de cardamomo e suas emulsões Pickering. As emulsões PECar-CNC apresentaram comportamento newtoniano, indicando que possivelmente a emulsão foi bem estabilizada e, mesmo em repouso, os nanocristais permaneceram adsorvidos na interface óleo/água (Lu *et al.*, 2019, 2021).

Figura 84. Curvas de viscosidade versus taxa de cisalhamento do óleo essencial de cardamomo e suas emulsões Pickering a) gráficos completos e b) ampliação das amostras em baixa viscosidade (óleo essencial de cardamomo, PECar-CNC1 e PECar-CNC2).



Fonte: Autoria Própria.

As emulsões PECar-CNF mostraram um comportamento completamente distinto do que as emulsões estabilizadas com CNC, com um comportamento típico não-Newtoniano de pseudoplasticidade, sendo este comportamento justificado pela quebra da rede emaranhada de nanofibras e a orientação das fibrilas ao longo das linhas de fluxo sobre a força de cisalhamento (Paximada *et al.*, 2016; Paximada, Kanavou e Mandala, 2020). Em detalhe, em baixas taxas de cisalhamento, as gotículas têm uma distribuição aleatória por causa de seu movimento browniano e as gotículas são mantidas unidas devido às forças hidrodinâmicas insuficientes para sua separação, resultando em uma viscosidade relativamente alta. Com o aumento da taxa de cisalhamento, as forças hidrodinâmicas são suficientes para romper as interações intergotículas e deformar a rede de CNF e as gotas de óleo, formando camadas de nanofibras de celulose. Como consequência, a viscosidade diminui até atingir um valor constante em alta taxa de cisalhamento (Benitez *et al.*, 2020; McClements e Gumus, 2016).

Para essas emulsões, foram aplicados dois modelos reológicos para avaliar o tipo de fluxo, conforme apresentado na Tabela 11, sendo que os dados apresentaram boa adesão aos modelos, com $R^2 > 0,9$. A adesão ao modelo de Herschel-Bulkley indica que, em repouso, os materiais possuem a formação de estruturas semelhantes a um sólido, possivelmente indicando que há interações complexas entre os componentes das emulsões

nas interfaces entre as gotas de óleo e a água (Arab, Kantzas e Bryant, 2018; Merad *et al.*, 2021).

Tabela 11. Parâmetros dos modelos reológicos de Herschel-Bulkley e Ostwald-de-Waele para amostras PECar-CNF.

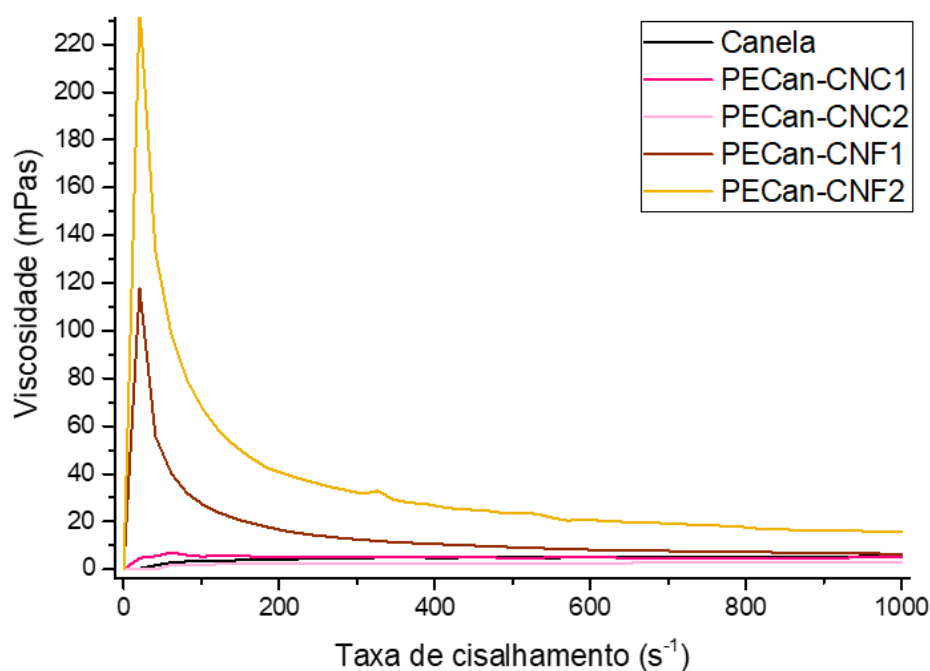
Amostra	Modelo: Herschel-Bulkley			
	τ_0 (Pa)	K	n	R ²
PECar-CNF1	1,146	1,221	0,3593	0,9201
PECar-CNF2	0,9669	1,364	0,3607	0,9950
	Modelo: Ostwald-de-Waele			
	-	K	n	R ²
PECar-CNF1	-	1,717	0,3206	0,9197
PECar-CNF2	-	1,765	0,3315	0,9947

As amostras PECar-CNF apresentaram valores de “*N*” entre 0 e 1 (para ambos os modelos), corroborando o comportamento pseudoplástico (Wei *et al.*, 2019), que é o comportamento não-ideal mais comum exibido para as emulsões comerciais, uma vez que valores de *n* baixos facilitam a dispersão do óleo e melhoram sua bioatividade. Além disso, os valores de *K* mais altos que os valores de *n* indicam que a emulsão não é fluída sobre a ação de forças externas, ou seja, mesmo sob cisalhamento, mantém-se o aspecto gelificado e, consequentemente, a estabilidade (Zhou *et al.*, 2021).

Considerando os parâmetros obtidos a partir do modelo de Ostwald-de-Waele, ambas as emulsões são consistentes, o que pode estar correlacionado com maiores interações CNF-CNF, interface O/A e tamanho de gotas menores (Fonseca-Florido *et al.*, 2018; Kumar *et al.*, 2020), corroborando os resultados de microscopia ótica. Comparado com as amostras de linalol, as emulsões de cardamomo apresentaram índice de consistência significativamente menor, o que pode estar associado aos menores tamanhos de gota associados às PEL-CNF.

A Figura 85 apresenta a viscosidade de cisalhamento do óleo essencial de canela e suas emulsões Pickering, que apresentaram resultados similares às demais amostras. Enquanto as amostras PECar-CNF apresentaram um comportamento próximo a um fluido newtoniano, com viscosidade constante com o aumento da taxa de cisalhamento, as amostras PECar-CNF apresentaram um comportamento pseudoplástico, com um aumento de viscosidade seguido por diminuição contínua. Esse comportamento indica que, com o aumento do cisalhamento, a rede tridimensional de celulose formada tornou-se mais ordenada e menos resistente à direção do fluxo, sendo um comportamento consistente com emulsões estabilizadas com polissacarídeos e biopolímeros (Zhu *et al.*, 2021).

Figura 85. Curvas de viscosidade versus taxa de cisalhamento do óleo essencial de canela e suas emulsões Pickering.



Fonte: Autoria Própria.

A amostra PECan-CNF2 apresentou maior viscosidade do que a PECan-CNF1, o que pode estar atribuído ao maior teor de nanofibras de celulose empregado durante o processamento, ou ao menor tamanho de gotas, sendo que quanto maior a viscosidade das emulsões Pickering, menor a possibilidade de que a emulsão sofra de fenômenos de instabilidade como floculação ou coalescência (Xiong *et al.*, 2018). Os modelos matemáticos foram aplicados às emulsões estabilizadas com nanofibras de celulose, e os parâmetros obtidos estão apresentados na Tabela 12. Nos modelos estudados, similar ao observado para os demais óleos, os valores de n foram menores do que 1, confirmando o comportamento pseudoplástico dos materiais. O valor de $R^2 > 0,99$ confirmou a confiabilidade dos parâmetros obtidos para as emulsões, e os valores de K foram significativamente menores do que os encontrados por Ye *et al.*, o que está relacionado com o tipo de rede polimérica formada durante o emaranhamento, o tamanho de gotas e a taxa de ruptura deste (Ye *et al.*, 2017). Como não houve nenhum agente reticulante neste trabalho, os valores de τ_0 e K tendem a ser menores do que em estruturas grafíticas ou reticuladas.

Tabela 12. Parâmetros dos modelos reológicos de Herschel-Bulkley e Ostwald-de-Waele para amostras PECan-CNF.

Amostra	Modelo: Herschel-Bulkley			
	τ_0 (Pa)	K	n	R^2
PECan-CNF1	0,7150	0,0875	0,6038	0,9921
PECan-CNF2	0,8063	0,9825	0,3819	0,9913
	Modelo: Ostwald-de-Waele			
	-	K	n	R^2
PECan-CNF1	-	0,2134	0,4912	0,9912
PECan-CNF2	-	1,287	0,3509	0,9909



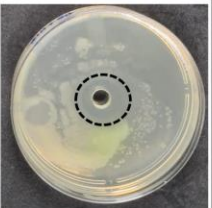
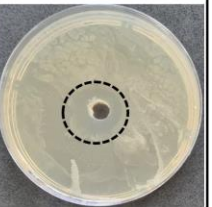
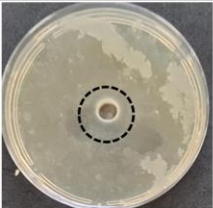
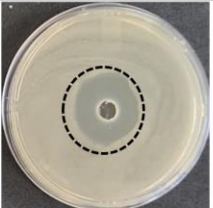
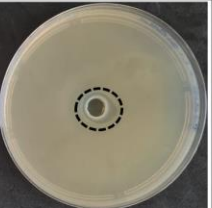
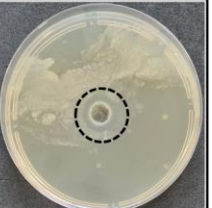

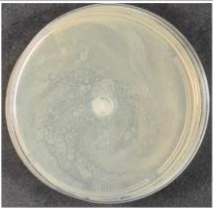

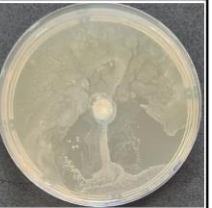
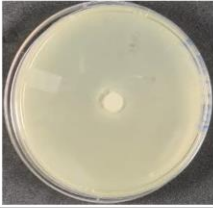


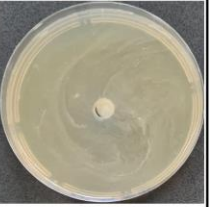
O modelo de Ostwald-de-Weale também apresentou $R^2 > 0,99$, sendo que a amostra PECan-CNF2 apresentou o maior K e o menor n, o que pode estar associado à baixa interação eletrostática entre as gotas. Esse resultado é coerente, uma vez que maiores concentrações de CNF induzem maior estabilidade estérica, e as cargas eletrostáticas são um mecanismo secundário (Zhang *et al.*, 2020).

6.8 Ensaios antibacterianos

Devido a tendência no desenvolvimento de produtos antimicrobianos naturais, novos emulsificantes baseados em biopolímeros e óleos essenciais tem emergido nos últimos anos. Para que um material seja considerado antimicrobiano, este deve inibir ou inativar o crescimento de microrganismos associados a doenças que podem estar presentes no meio, como em superfícies, alimentos, embalagens, etc. (Jamali *et al.*, 2021). Devido às limitações de aplicação de materiais antimicrobianos, os sistemas de entrega podem melhorar significativamente sua funcionalidade contra microrganismos, como no caso de emulsões Pickering. Inicialmente foram realizados ensaios controle das quatro bactérias estudadas (*E. coli*, *S. aureus*, *Pseudomonas* e *Salmonella*) para a validação da sua viabilidade, determinação das concentrações de óleo/emulsões a serem utilizadas (padronização) (Nascimento *et al.*, 2007; Reis *et al.*, 2020) e análise da atividade antimicrobiana dos nanocristais e nanofibras de celulose utilizados no presente trabalho.

A Figura 86 apresenta os resultados de hipoclorito e Lysoform[®] contra os microrganismos estudados, com volume estabelecido de 200 μ L, confirmando suas eficiências contra todas as bactérias. Além disso, verificou-se que nem os CNCs e nem as CNFs apresentaram atividade bactericida, o que é esperado, uma vez que essas fibras são altamente biodegradáveis e facilmente atacadas por bactérias e fungos (Štular *et al.*, 2019).

Figura 86. Resultados dos ensaios antimicrobianos obtidos para padronização dos microrganismos estudados utilizando hipoclorito e Lysoform®, e atividade antimicrobiana dos nanocristais e nanofibras de celulose.

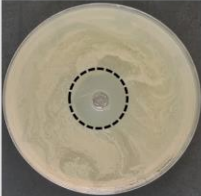
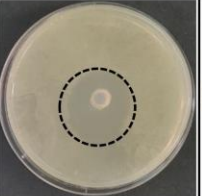

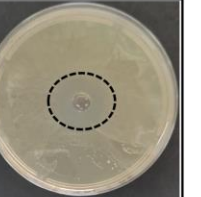

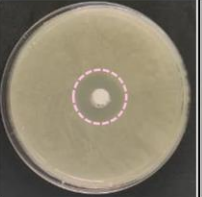
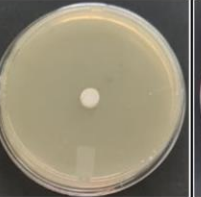
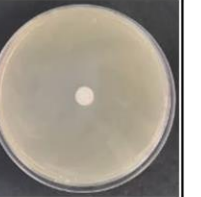


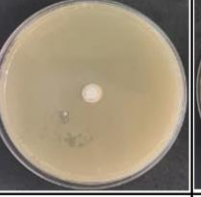






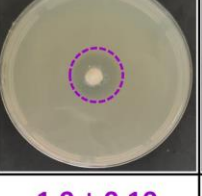


	<i>E. Coli</i>	<i>S. Aureus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Salmonella</i>
Hipoclorito				
Halo (cm)	1,8 ± 0,14	1,9 ± 0,20	1,8 ± 0,01	1,9 ± 0,10
Lysoform				
Halo (cm)	1,6 ± 0,04	2,7 ± 0,22	1,5 ± 0,33	2,0 ± 0,22
CNC				
Halo (cm)	0	0	0	0
CNF				
Halo (cm)	0	0	0	0

Fonte: Autoria Própria.

O linalol, conforme descrito anteriormente, é o principal composto ativo do óleo essencial de Ho wood (~99%), sendo um álcool monoterpênico com propriedades antibacterianas e antifúngicas largamente aplicado em diferentes produtos domésticos e cosméticos com fragrâncias variadas (Herman, Tambor e Herman, 2016).

A Figura 87 apresenta os resultados dos ensaios antimicrobianos obtidos para o óleo essencial de linalol e suas emulsões. O óleo essencial puro exibiu ação antimicrobiana contra todas as bactérias estudadas, principalmente para *E. coli* e *S. aureus*, sendo que o maior halo de inibição foi para a bactéria gram-positiva.

Figura 87. Resultados dos ensaios antimicrobianos utilizando óleo essencial de ho wood (linalol) e suas emulsões.

	<i>E. Coli</i>	<i>S. Aureus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Salmonella</i>
Óleo essencial Ho wood				
Halo (cm)	2,4 ± 0,07	2,9 ± 0,01	1,3 ± 0,01	1,9 ± 0,01
PEL-CNC1				
Halo (cm)	0	1,6 ± 0,03	0	0
PEL-CNC2				
Halo (cm)	0	1,3 ± 0,12	0	0
PEL-CNF1				
Halo (cm)	1,8 ± 0,15	2,2 ± 0,04	0	1,9 ± 0,12
PEL-CNF2				
Halo (cm)	0	1,9 ± 0,10	0	1,2 ± 0,01

Fonte: Autoria Própria.

Silva e colaboradores e Blažeković e co-autores revelam que o linalol atua nas membranas celulares, prejudicando sua estrutura e função, aumentando a fluidez e permeabilidade e induzindo o vazamento de materiais intracelulares, como DNA, RNA, citoplasma, etc., resultando em severos danos celulares e morte (Blažeković *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2017). Os menores halos observados para *Pseudomonas* e *Salmonella* indicam que, contra esses microrganismos, o óleo essencial não é tão eficiente, pois as bactérias não

são tão sensíveis ao linalol, e, conseqüentemente, este não impede seu crescimento (Herman, Tambor e Herman, 2016).

Após a emulsificação todas as amostras apresentaram redução significativa na atividade antimicrobiana, sendo que não houve inibição para a *Pseudomonas*. Essa variação foi inesperada, uma vez que a literatura reporta resultados antimicrobianos iguais ou superiores ao óleo puro para emulsões, porém algumas hipóteses podem ser levantadas para justificar esse comportamento: i) o processo de emulsificação resultou na encapsulação do óleo, conforme demonstrado anteriormente, que limitou sua liberação e difusão para o meio; ii) as interações químicas entre o óleo essencial e a nanocelulose limitaram a volatilização do componente ativo, reduzindo o potencial biocida da emulsão.

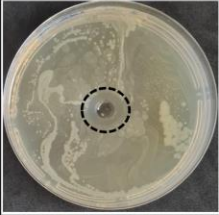
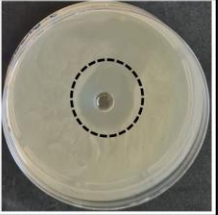
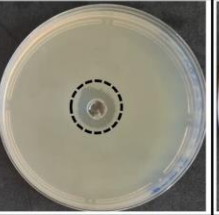
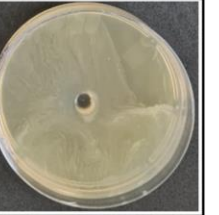
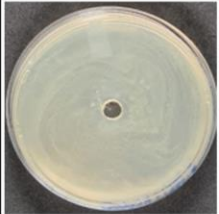
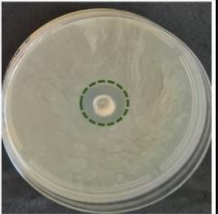
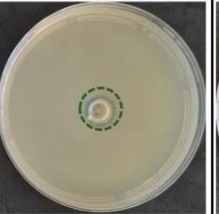
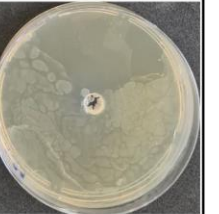

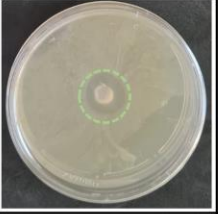
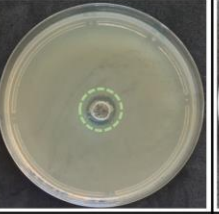
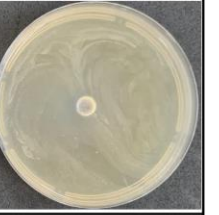

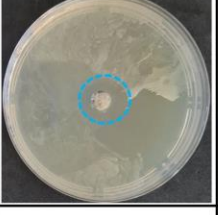
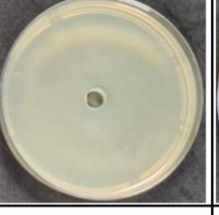


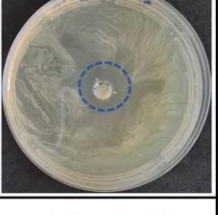


Uma vez que as emulsões PEL-CNC somente apresentaram inibição contra a bactéria *S. aureus*, um importante patógeno de intoxicação alimentar comumente encontrado em indústrias alimentares de todo o mundo que causa sintomas como cólicas abdominais, náuseas, vômitos e diarreia, essas possuem maior potencial de aplicação em indústrias alimentares ou de embalagens. Já as emulsões PEL-CNF apresentaram atividade contra *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella*, ampliando o espectro possível de aplicações e indicando o uso de nanofibras aumenta a disponibilidade do óleo essencial para volatilização.

É importante ressaltar que as emulsões PEL-CNF apresentaram maior inibição bacteriana com menor teor de óleo essencial (20%) em comparação às PEL-CNC. Esse comportamento pode ser associado aos diferentes mecanismos de emulsificação, que resultam em distintos mecanismos de estabilização e disponibilidade do composto ativo para o meio. Conforme anteriormente apresentado, as emulsões de CNC apresentaram interações entre a celulose e o linalol, o que pode ter dificultado a sua difusão e resultado em uma ação bactericida inferior às emulsões estabilizadas com CNF.

O cardamomo é uma espécie botânica famosa e utilizada ao longo do mundo há centenas de anos. Os usos farmacêuticos tradicionais dessa especiaria são atribuídos principalmente à presença de óleos voláteis e vários bioativos já citados ao longo do trabalho, como fenólicos, 1,8-cineol, limoneno, linalol, terpinoleno e mirceno. Atualmente, tem recebido destaque para uso em doenças como: gripe, infecções, asma, bronquite, distúrbio cardíaco, diarreia, entre outros (Gilani *et al.*, 2007; Khan, Khan e Gilani, 2011). Além disso, o óleo essencial de cardamomo apresenta atividades antimicrobianas, antiespasmódica, analgésica e anti-inflamatória (Anwar *et al.*, 2016).

A Figura 88 apresenta os resultados do óleo essencial de cardamomo e suas emulsões estabilizadas com CNC ou CNF contra as bactérias gram-positivas e gram-negativas testadas.

Figura 88. Resultados dos ensaios antimicrobianos utilizando óleo essencial de cardamomo e suas emulsões.

	<i>E. Coli</i>	<i>S. Aureus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Salmonella</i>
Óleo essencial Cardamomo				
Halo (cm)	1,55 ± 0,55	2,5 ± 0,01	1,6 ± 0,05	0
PECar-CNC1				
Halo (cm)	0	1,95 ± 0,05	1,4 ± 0,01	0
PECar-CNC2				
Halo (cm)	0	1,75 ± 0,05	1,4 ± 0,01	0
PECar-CNF1				
Halo (cm)	0	1,75 ± 0,05	0	0
PECar-CNF2				
Halo (cm)	0	1,3 ± 0,01	0	0

Fonte: Autoria Própria.

O óleo essencial puro apresentou resultados de inibição contra as bactérias *E. coli*, *S. aureus* e *Pseudomonas*, com maior potencial bactericida para a *S. aureus* (Gram-positiva). Essa diferença possivelmente ocorre devido às diferenças da estrutura da parede celular entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, com a membrana externa Gram-negativa atuando como uma barreira para muitas substâncias ambientais, incluindo antibióticos (Abdullah *et al.*, 2021; Malti, El, Mountassif e Amarouch, 2007). De acordo com Cui e colaboradores, o óleo essencial de cardamomo altera a membrana celular das bactérias Gram-positivas, inibindo sua atividade metabólica e a formação de polímeros extracelulares, levando a morte das bactérias (Cui *et al.*, 2020).

Em relação às *Pickering emulsions*, nenhuma das amostras apresentou bioatividade contra as bactérias *E. coli* ou *Salmonella*, ambas Gram-negativas. Para a espécie *Salmonella* esses resultados eram esperados, seguindo a tendência do OE puro. Os resultados da emulsificação em relação a espécie *E. Coli*, podem ser consequentes a diluição de 100% para 30% de óleo, concentração utilizada em ambas as emulsões de CNC, resultando em concentrações insuficientes para atividade bactericida, ou seja, para essa bactéria, a concentração mínima bacteriostática é elevada, e a emulsão diminui a disponibilidade de OE. Além disso, as emulsões apresentaram diâmetros de halo de inibição menores do que os testes destas bactérias com o óleo essencial para os testes contra *S. aureus* e *Pseudomonas*. De acordo com Agaoglu e colaboradores, a membrana externa protetora de bactérias Gram-(-) servem como uma barreira eficiente contra certos solutos hidrofílicos e macromoléculas (Ağaoğlu, Dostbil e Alemdar, 2006).

As amostras PECar-CNF não apresentaram inibição contra a *Pseudomonas*. Esse resultado está associado com a morfologia da nanocelulose e sua interação com o óleo essencial, sendo que para as nanofibras de celulose, ocorre uma diferente regulação da migração de óleo para o meio, uma vez que as CNFs criam uma rede tridimensional sólida e densa que resulta em um caminho mais tortuoso para que o óleo e seus componentes voláteis cheguem à superfície. Isso reduz a volatilidade do óleo, evitando sua rápida liberação para o meio ambiente e, consequentemente, influenciando a difusão do óleo essencial no meio (Souza, A. G. de *et al.*, 2021).

Além disso, uma vez que esses componentes ativos estão interagindo com as CNFs, conforme demonstrado anteriormente nas análises de FTIR, FT-Raman e RMN, espera-se que haja uma diminuição da volatilidade, e consequentemente, limitação da difusividade do óleo, impactando os resultados antimicrobianos. Nesse caso, a concentração de óleo essencial foi de 30 e 20% para PECar-CNF1 e PECar-CNF2, respectivamente, sendo que

essa concentração não influenciou o tamanho do halo de inibição, indicando que possivelmente, para *S. aureus*, a concentração mínima de óleo para a inibição deste micro-organismo fica abaixo de 20%.

Os resultados indicam que as emulsões estabilizadas com CNC (PECar-CNC1 e PECar-CNC2) possuem potencial para uso em novas formulações anti-infecciosas orgânicos para neutralizar microrganismos resistentes a múltiplos medicamentos, sendo a concentração de óleo necessária para garantir a eficiência antimicrobiana de 30%.

Estas emulsões também podem ser utilizadas como uma alternativa aos conservantes químicos antimicrobianos na indústria de alimentos para aumentar a vida útil de produtos alimentícios, melhorando o status antimicrobiano e, ao mesmo tempo, conferindo um aroma agradável e atraente a padarias, laticínios, carnes e outros produtos alimentícios (Abdullah *et al.*, 2021). O mesmo se aplica a emulsão PECar-CNF1, porém com mais cautela, uma vez que esta emulsão somente apresentou atividade contra a bactéria *S. aureus*.

A canela é conhecida na China, Índia e Austrália como um medicamento fitoterápico tradicional, além de ser amplamente utilizada em alimentos, temperos, cosméticos e indústrias médicas por causa de suas atividades antimicrobiana, antioxidante e anticancerígena. Isso porque o principal composto volátil da canela é o cinamaldeído, composto reconhecido pela literatura por suas propriedades biocidas (Hou *et al.*, 2021; Jeong *et al.*, 2021; Millezi *et al.*, 2019).

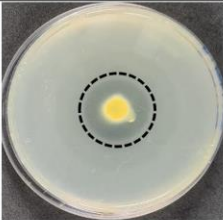
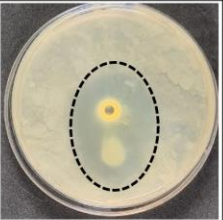
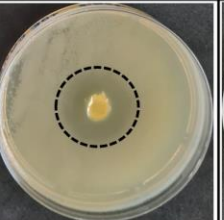
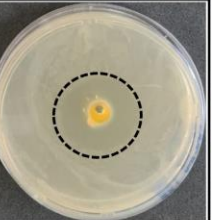
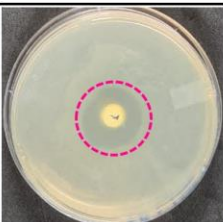
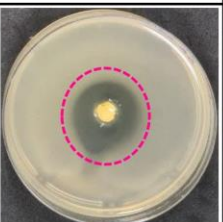
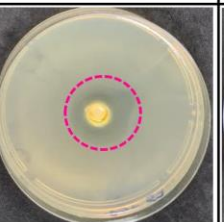
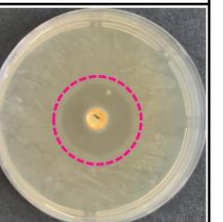
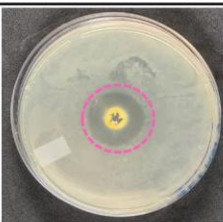
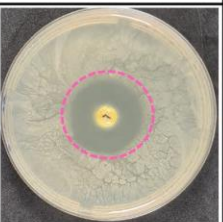
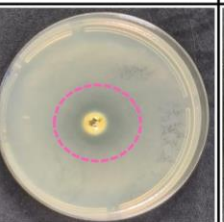
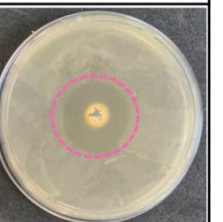
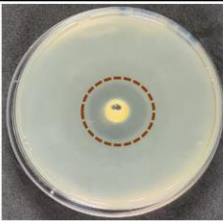
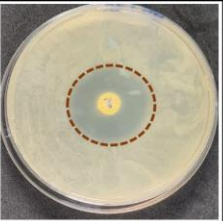
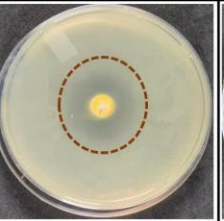
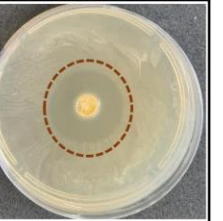
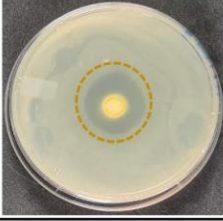
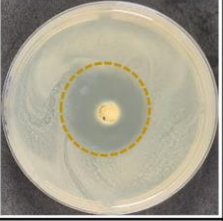
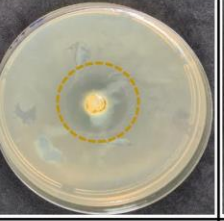
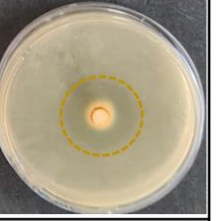
A Figura 89 apresenta a atividade antimicrobiana do óleo essencial de canela e suas emulsões pelo método de difusão em disco. O óleo essencial puro apresentou excelentes resultados biocidas, com diâmetros de halo maiores do que os testes-controle para todas as bactérias testadas. De acordo com Zhang e colaboradores, a canela resulta em severa destruição morfológica dos microrganismos, aumentando a permeabilidade da membrana celular e causando vazamento de ácidos nucleicos e proteínas (Zhang *et al.*, 2016).

Os resultados obtidos também indicaram que a *E. coli* exerceu mais resistência ao óleo essencial do que as demais bactérias, provavelmente devido a diferenças estruturais na membrana externa, que possui uma membrana de lipopolissacarídeo cobrindo a parede celular. Já a *S. aureus*, como as demais bactérias Gram-positivas, possui uma estrutura de camada única de peptidoglicano, mais susceptível a substâncias hidrofóbicas (Atki, El *et al.*, 2019).

Em relação ao mecanismo responsável pela atividade antimicrobiana, o cinamaldeído pode interferir no processo biológico celular, particularmente substâncias contendo

nitrogênio, como proteínas e ácidos nucleicos (Ferreira, Souza e Rosa, 2021; Ribeiro-Santos, Andrade, Melo, de, *et al.*, 2017).

Figura 89. Resultados do ensaios antimicrobianos utilizando óleo essencial de canela e suas emulsões.

	<i>E. Coli</i>	<i>S. Aureus</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Salmonella</i>
Óleo essencial Canela				
Halo (cm)	$2,7 \pm 0,23$	$3,4 \pm 0,23$	$2,9 \pm 0,17$	$2,9 \pm 0,11$
PECan- CNC1				
Halo (cm)	$2,5 \pm 0,08$	$3,1 \pm 0,23$	$2,5 \pm 0,13$	$2,9 \pm 0,10$
PECan- CNC2				
Halo (cm)	$2,6 \pm 0,16$	$3,1 \pm 0,12$	$2,4 \pm 0,16$	$2,9 \pm 0,12$
PECan- CNF1				
Halo (cm)	$2,7 \pm 0,15$	$3,3 \pm 0,27$	$2,5 \pm 0,17$	$2,9 \pm 0,18$
PECan- CNF2				
Halo (cm)	$2,6 \pm 0,18$	$3,3 \pm 0,20$	$2,6 \pm 0,04$	$2,8 \pm 0,08$

Fonte: Autoria Própria.

As emulsões, diferente do observado para o óleo essencial de ho wood ou cardamomo, em que houve uma limitação da difusão do óleo causada pela nanocelulose, apresentaram

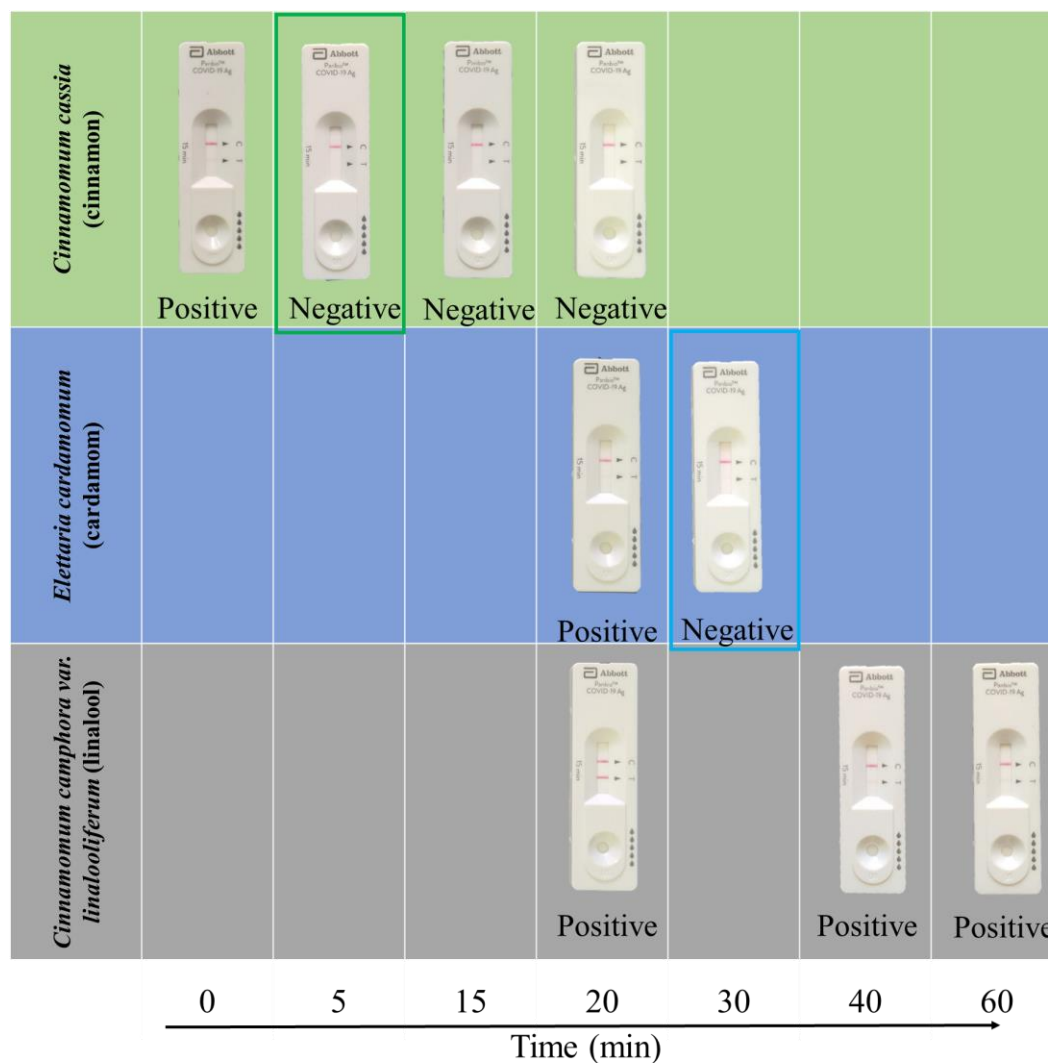
atividade antimicrobiana similar ao óleo essencial puro. Não foram observadas variações significativas nos halos de inibição ao comparar PECan-CNC ou PECan-CNF, mesmo com a diferença na concentração de óleo (30% para emulsões estabilizadas com CNC e 20% para CNF), indicando que teores abaixo de 20% de OE são suficientes para a ação antibacteriana. No entanto, deve-se levar em consideração que as emulsões foram selecionadas não apenas no teor de óleo e atividade antimicrobiana, mas também em termos de estabilidade física e outros parâmetros físico-químicos anteriormente apresentados.

Outro fator que pode ter influenciado a atividade bactericida são os menores tamanhos de gota observados para as emulsões PECan, em relação aos demais óleos, com diâmetros de gota de ~35 µm, e PECan-CNF, ~50 µm, o que facilita a difusão do óleo para o interior da membrana plasmática e alteração do funcionamento vital das bactérias, como permeabilidade celular e alteração no DNA. Foi possível correlacionar a maior eficiência antimicrobiana a dois fatores principais: menor tamanho de gota das emulsões e compostos ativos, uma vez que o cinamaldeído possui atividade bactericida reconhecidamente superior aos compostos presentes no cardamomo ou no linalol.

5.5.9 Ensaios antivirais: SARS-CoV-2

Os óleos essenciais são compostos naturais com atividade antiviral contra vários vírus que promovem doenças humanas, como vírus Influenza (Abou Baker *et al.*, 2021; Najar *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2020), dengue (Flechas, Ocazonez e Stashenko, 2017), Hepatite A (Battistini *et al.*, 2019) e outros. Homza *et al.* apresentaram que a maioria dos Testes Rápidos de Antígeno que não detectaram amostras positivas identificadas por RT-qPCR foram devido à inviabilidade do vírus verificada em ensaios de cultura de células (Homza *et al.*, 2021). Assim, eles sugerem que o Teste Rápido do Antígeno pode ser aplicado para verificar a viabilidade do SARS-CoV-2. Este trabalho explora esse tipo de kit para verificar a desnaturação de proteínas como um indicador de viabilidade do vírus. Para tanto, amostras positivas com o vírus potencialmente viável foram expostas a diferentes OE em momentos diferentes. Conforme mostrado na Figura 90, cada óleo essencial apresentou resultados únicos. O óleo de canela apresentou os melhores resultados, sugerindo que 5 minutos de exposição foram suficientes para inativar o SARS-CoV-2, seguido por cardamomo, que inativou em 30 minutos. O linalol (*Cinnamomum camphora* var. *linalooliferum*) não apresentou inativação do SARS-CoV-2, medida neste tipo de metodologia.

Figura 90. Resultados obtidos para cada óleo essencial (canela, cardamomo e linalol) contra o SARS-CoV-2, testado pelo Teste Rápido de Antígeno em momentos diferentes.



Fonte: autoria própria.

Os compostos bioativos podem atuar como desagregadores nas membranas celulares das bactérias, aumentando sua permeabilidade e resultando na destruição da parede celular (Saraiva *et al.*, 2011). A atividade antiviral dos OEs é baseada em sua natureza lipofílica, que favorece a entrada do óleo na membrana viral levando ao rompimento da membrana (Wani *et al.*, 2021). Boukhatem descreveu que os óleos essenciais podem interromper as membranas celulares e deslocar os envelopes virais, levando à inativação do vírus (Yadalam *et al.*, 2021). Além disso, os compostos fitoquímicos, como terpenos e fenilpropanóides, perturbam a replicação viral. A metodologia de Teste Rápido de Antígeno aplicada neste estudo detecta a desnaturação ou degradação de proteínas por meio da ausência de interação entre antígeno-anticorpo, um indicador da inviabilidade do vírus. Assim, se um OE interromper o capsídeo viral tornando-o inviável, produzindo fragmentos

do vírus, mas as proteínas permanecerem em sua conformação natural, provavelmente o Teste Rápido de Antígeno não será capaz de detectar essa inviabilidade.

Os resultados mostram que a eficiência antiviral dos óleos essenciais é altamente dependente de sua composição química, e cada OE apresenta um tempo mínimo necessário para o vírus inativar, ou seja, desnaturação das proteínas SARS-CoV-2. De acordo com Wani *et al.*, os óleos essenciais possuem diferentes vias bioquímicas como possíveis alvos contra a infecção por SARS-CoV-2, como o capsídeo do vírus, proteína spike, Mpro (uma enzima que auxilia a replicação viral) (Thuy *et al.*, 2020), e RdRp (catalisa a replicação viral) (Silva, da *et al.*, 2020). De acordo com Schnitzler *et al.*, a inativação do vírus pelo OE é dependente do tempo devido ao seu processo de adsorção às estruturas do envelope do vírus ou à entrada nas células do hospedeiro para dissolver o envelope viral (Schnitzler, Koch e Reichling, 2007).

O OE da canela apresentou forte atividade antiviral. Kulkarni *et al.* investigaram o efeito do cinamaldeído e do acetato de cinamila, compostos ativos desse óleo, nas proteínas spike do vírus COVID-19 (Kulkarni *et al.*, 2020). Acredita-se que óleo de canela tenha ação com base em sua estrutura química e características como eletronegatividade, eletrofilicidade, potencial químico dos fitoquímicos. Como o cinamaldeído é um dos compostos mais eletronegativos conhecidos, espera-se que tenha excelente atividade antiviral. Assim, acredita-se que esse óleo interaja com a proteína spike, causando uma alteração conformacional ou sua desnaturação e degradação (Lan *et al.*, 2020). Segundo Elfiky *et al.*, o cinamaldeído tem como alvo viral o “SARS-CoV-2 attachment” (Elfiky, 2021).

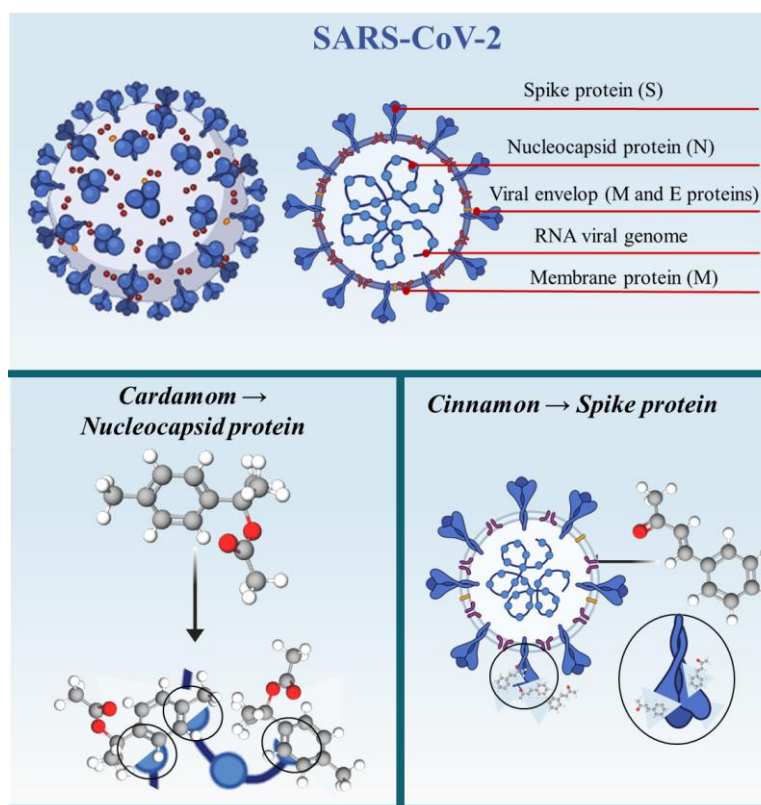
O óleo essencial de cardamomo levou cerca de 30 minutos em contato com o vírus para causar sua desativação, avaliada por meio da desnaturação/degradação de proteínas. Ao contrário de outros óleos essenciais, este é amplamente utilizado como antioxidante, antiinflamatório e imunomodulador (Johnson e Narayana, 2021). De acordo com Souissi *et al.*, a ação antimicrobiana do cardamomo é considerada média e altamente dependente do tempo de exposição e do tipo de microrganismo (Souissi *et al.*, 2020). Essa atividade antimicrobiana está associada a grandes quantidades de 1,8-cineol, um monoterpene conhecido por inibir vários tipos de bactérias e fungos. Segundo Ma e Yao, o cineol não possui atividade antiviral contra alguns vírus devido à sua baixa polaridade. Os resultados do presente trabalho sugerem uma baixa atividade antiviral para cardamomo EO, mas a baixa polaridade de seus compostos ativos induzem tempos elevados para danificar o capsídeo do vírus e inibir o coronavírus (Ma e Yao, 2020). Ademais, espera-se uma ligação

entre o cineol e a proteinase SARS-CoV-2, e os complexos Mpro/cardamomo formam compostos hidrofóbicos, ligações de hidrogênio e interações iônicas (Sharma e Inderjeet kaur, 2020).

O óleo essencial de Ho wood, por sua vez, não apresentou atividade antiviral detectável pelo teste rápido do antígeno para o vírus SARS-CoV-2. Outros mecanismos de inativação podem estar presentes, que não desnaturaram as proteínas SARS-CoV-2 medidas por este ensaio. Portanto, a possibilidade do linalol ter ação contra o SARS-CoV-2 não pode ser rejeitada, uma vez que ele poderia causar ruptura do capsídeo viral sem desnaturação da proteína. Segundo a literatura, os óleos essenciais antivirais mais eficazes contêm uma mistura de compostos ativos, sendo mais indicado para atuar diretamente no vírus. O óleo essencial quem contem altos teores de linalol, por sua vez, é reportado como sendo mais utilizado durante tratamentos terapêuticos como um composto anti-inflamatório (Malabadi *et al.*, 2021). Nesse caso, o óleo essencial ajuda a bloquear a entrada do vírus na célula hospedeira, evitando a infecção viral (Senthil Kumar *et al.*, 2020).

A Figura 91 mostra um esquema representativo dos mecanismos de ação esperados no SARS-CoV-2 após a interação com os óleos essenciais.

Figura 91. Esquema representativo dos resultados relativos a cada óleo essencial e os efeitos esperados no SARS-CoV-2.

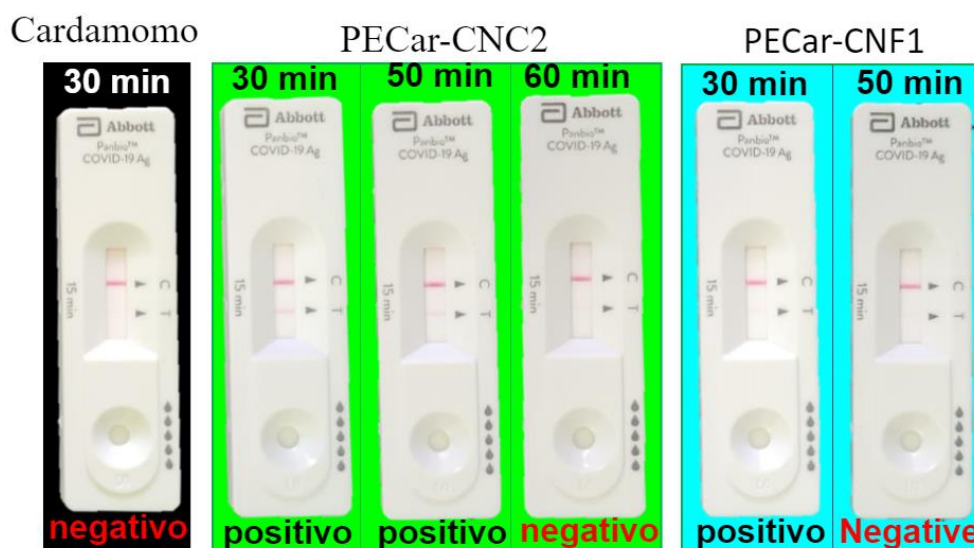


Fonte: autoria própria.

Uma vez que o óleo essencial de Ho wood não apresentou atividade antiviral contra o vírus SARS-CoV-2, as emulsões seguiram a mesma tendência e, mesmo após 60 minutos de teste, os resultados foram negativos. Já as emulsões de cardamomo e canela também foram testadas.

Com base nos resultados antimicrobianos, as amostras PECar-CNC2 e PECar-CNF1 foram selecionadas para serem testadas contra o vírus, conforme ilustrado na Figura 92. Nenhuma das emulsões apresentou resultados negativos após 30 minutos de contato, indicando que a emulsificação reduziu a biodisponibilidade dos componentes ativos e, conseqüentemente, exigiu maiores tempos para a desnaturação das proteínas virais. Ou, como hipótese apresentada nos testes antimicrobianos, a menor concentração do OE na emulsão poderia comprometer a atividade antiviral. A amostra PE-CNC2 necessitou de 60 minutos de contato para inativar o vírus, enquanto a amostra PE-CNF1 levou 50 minutos. Esses resultados são semelhantes aos observados para testes contra bactérias, nos quais a nanocelulose interagiu com óleos essenciais, alterando a regulação da migração do óleo e sua disponibilidade para interação com microrganismos. Apesar do longo tempo para inativação via desnaturação de proteínas, esses resultados indicam o potencial dos óleos essenciais para aplicação em novas formulações antimicrobianas, e possivelmente o óleo poderia ser mais eficiente analisando outros mecanismos de inativação.

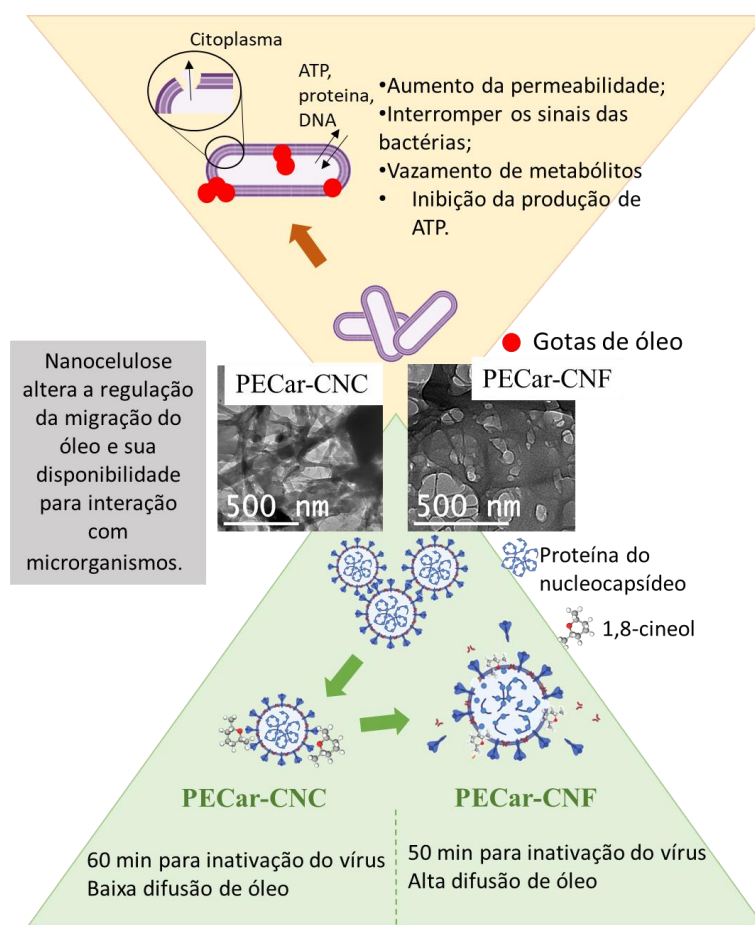
Figura 92. Resultados obtidos para óleo essencial de cardamomo e suas emulsões contra SARS-CoV-2, testados pelo Teste Rápido de Antígenos em diferentes momentos.



Fonte: autoria própria.

A Figura 93 mostra uma ilustração esquemática representando os principais resultados obtidos para ensaios antibacterianos e antivirais para as emulsões estudadas.

Figura 93. Principais conclusões sobre os testes antimicrobianos obtidos para amostras PECar-CNC e PECar-CNF.

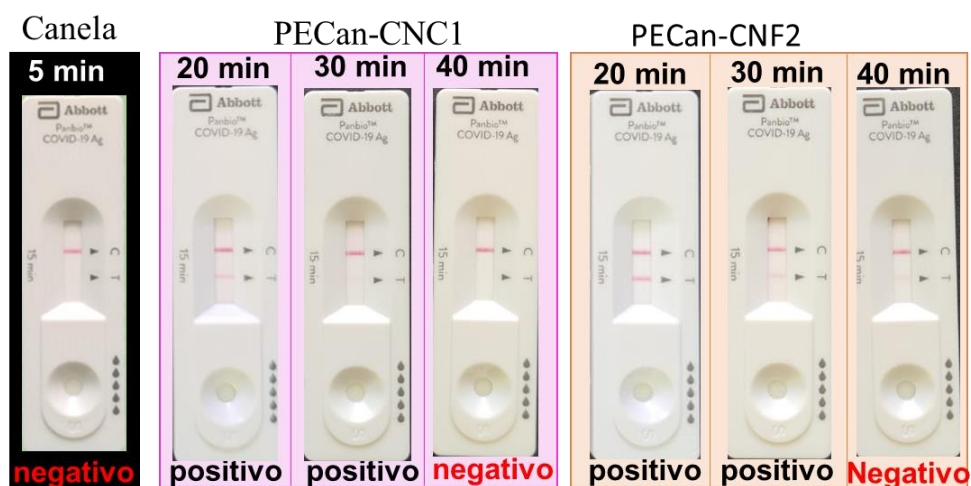


Fonte: autoria própria.

A Figura 94 apresenta os resultados obtidos contra o SARS-CoV-2 utilizando o óleo essencial de canela e suas emulsões. Similar ao observado para o OE de cardamomo, as emulsões exigiram tempos maiores para inativar o vírus por meio da destruição das proteínas, sendo o tempo necessário de 40 minutos para ambas as emulsões. De acordo com Kulkarni e colaboradores, o cinamaldeído, bem como outros compostos como carvacrol, acetato de cinamil, geraniol, L-4-terpineol e anetol, apresentam boa afinidade de ligação com o vírus SARS-CoV-2 por meio de pontes de hidrogênio. Essa ligação e a interação hidrofóbica entre os ligantes e as proteínas virais podem contribuir para a inativação do vírus. Além disso, a elevada eficiência de inibição do cinamaldeído também é atribuído a baixa eletronegatividade deste composto, conforme reportado por Zhan *et al.* (Zhan, Nichols e Dixon, 2003). Esse resultado justifica a diferença entre os OE estudados nesse trabalho, sendo que o cinamaldeído possui valores de eletronegatividade de -4,34, enquanto os compostos do OE de cardamomo pontuam valores de ~ -3, e o linalol apresenta

valor de 5,21 (Kulkarni *et al.*, 2020). Nas emulsões, o balanço de cargas é alterado, uma vez que ocorrem novas ligações químicas e interações eletrônicas entre os componentes, alterando o balanço de cargas, e, assim, resultando no aumento do tempo necessário para que o vírus possa ser inativado.

Figura 94. Resultados obtidos para óleo essencial de canela e suas emulsões contra SARS-CoV-2, testados pelo Teste Rápido de Antígenos em diferentes momentos.



Fonte: autoria própria.

6. Conclusões

Este trabalho foi dividido em três etapas: i) investigação de diferentes condições de preparo de emulsões para seleção dos parâmetros que conferem emulsões mais estáveis; ii) caracterização aprofundada das emulsões mais estáveis; iii) investigar as propriedades antibacterianas e antivirais das emulsões contra diversas bactérias e contra o vírus SARS-CoV-2.

Quanto a primeira etapa do trabalho, as emulsões foram preparadas variando o tipo de óleo essencial (linalol, cardamomo e canela), a velocidade de homogeneização (10.000 e 12.000 rpm), o tempo de emulsificação (3 e 7 minutos), a concentração de óleo essencial (20 e 30%), os tipos de nanocelulose (NC) (nanocristais - CNC ou nanofibras - CNF) e a concentração das NCs (0,5 e 1% m/v). O *screening* foi realizado avaliando tamanho de partículas, morfologia e estabilidade ao longo do tempo. Os resultados experimentais indicaram que a morfologia da nanocelulose determina o tipo de estabilização da emulsão; CNCs formam emulsões mais líquidas estabilizadas por interações eletrostáticas e CNFs formam uma estrutura tridimensional tipo gel devido a interações estéricas, observado para todos os óleos essenciais. Em relação as CNCs, não há padrão definido de velocidade de homogeneização, tempo ou concentração de nanocelulose, enquanto a concentração de óleo essencial ideal foi de 30%. Já para as CNFs, o único padrão encontrado foi a velocidade de homogeneização (12.000 rpm), indicando que independente do óleo essencial em estudo, para que haja a formação da estrutura tridimensional, é necessário fornecer alta quantidade de energia ao sistema.

A partir das equações obtidas pelo *Design of experiments*, considerando todas as emulsões, verificou-se que, em relação ao **índice de cremeação**, cada óleo essencial possui seus fatores de impacto mais relevantes, sendo que para o linalol, destaca-se a velocidade de homogeneização, para o cardamomo destaca-se a concentração de nanocelulose, e para a canela tem-se a morfologia da celulose. Já em relação ao **tamanho de gota**, as três emulsões revelaram que a concentração do óleo essencial e a combinação de velocidade e concentração de partículas são fatores críticos e em comum para a emulsificação, independente do óleo essencial em estudo.

A segunda etapa do trabalho revelou algumas características aprofundadas das emulsões mais estáveis, após o *Screening*. Todas as emulsões estabilizadas com CNC apresentaram estabilidade após centrifugação, independente do óleo essencial (OE), enquanto as emulsões com CNF indicaram perda de estabilidade de cerca de ~10% para

linalol e cardamomo. Os resultados de potencial zeta indicaram que emulsões com CNC foram estabilizadas por mecanismo eletrostático, com valores absolutos de ~30 mV, enquanto as emulsões com CNF apresentaram valores, em módulo, significativamente menores, indicando uma estabilidade estérica induzida pela formação de uma rede tridimensional do tipo gel pelas nanofibras de celulose.

Nas emulsões de ho wood e CNC foram verificadas interações químicas entre as hidroxilas do óleo essencial e as hidroxilas da celulose, associadas com o recobrimento das gotículas de óleo pelos nanocristais de celulose, fato não verificado nas emulsões estabilizadas com CNF.

As emulsões de cardamomo-CNC indicam uma possível interação entre os nanocristais de celulose, 1,8-cineol e o acetato de α -terpineol, composto ativo do óleo essencial. Os resultados sugerem que houve alteração química na estrutura do óleo essencial, sendo que o composto 1,8-cineol possivelmente esteve mais disponível a interações com a nanocelulose. Os resultados de FT-Raman indicam que as bandas do OE alteraram completamente sua forma devido ao processo de emulsificação, em que há o recobrimento da superfície das gotas de óleo com os nanocristais de celulose. As emulsões de CNF apresentaram tendência similar com alteração da organização conformacional das moléculas de óleo.

As emulsões de canela não apresentaram indicativo de interação química entre o óleo e ambas as morfologias de celulose. Os resultados sugerem que a estrutura química do OE, que contém um anel aromático na estrutura, conferem alta estabilidade a molécula de óleo essencial.

A tensão superficial das amostras de ho wood-CNC foi maior do que as estabilizadas com CNF, possivelmente porque enquanto no primeiro sistema havia mais hidroxilas disponíveis para detecção, no segundo, as gotas de óleo haviam sido encapsuladas pela rede de nanofibras. Resultados similares de tensão superficial foram obtidos para as emulsões de cardamomo e canela quando comparadas com as de linalol, porém cerca de 10 mV/m acima. Isso está associado as características intrínsecas do óleo, como densidade e polaridade das moléculas. A reologia das emulsões indicou que dois tipos de emulsões foram preparados, soluções e géis, sendo indicadas para diferentes produtos e ampliando as aplicações. Em geral, as emulsões estabilizadas com CNC apresentaram comportamento newtoniano, enquanto as emulsões estabilizadas com CNF apresentaram comportamento pseudoplástico.

Em relação aos ensaios antimicrobianos, o óleo essencial de **ho wood** (linalol) apresentou atividade antimicrobiana contra *E. coli*, *S. aureus*, *Pseudomonas* e *Salmonela*. O uso de CNCs diminuiu significativamente o espectro de bactérias inibidas, sendo que somente para a *S. aureus* apresentou halo de inibição devido ao processo de “encapsulação” do óleo pelos nanocristais de celulose e pelas interações entre a nanocelulose e o óleo essencial, que limitam a sua volatilização e migração. Com o uso de CNF, somente a *Pseudomonas* não apresentou halo, pois como o óleo estava somente “preso” fracamente pelas nanofibras, a volatilização e migração ocorreu de forma fácil, resultando na inibição das bactérias. O óleo essencial de **cardamomo** apresentou atividade antimicrobiana contra *E. coli*, *S. aureus* e *Pseudomonas*, e após a emulsificação, nenhuma das emulsões apresentou atividade contra a *E. coli*. Além disso, as emulsões estabilizadas com CNF também não apresentaram inibição de *Pseudomonas*, e houve diminuição do halo de inibição da *S. aureus* devido ao caminho tortuoso criado pelas CNFs que limitam a migração e volatilização do óleo na superfície, durante o ensaio. Já as emulsões de canela apresentaram atividade antimicrobiana similar ao óleo essencial puro, com inibição de todos os microrganismos estudados e halos de inibição entre 2,7 e 3,4 cm, indicando que a emulsificação não alterou a difusividade do óleo essencial ou seu poder bacteriostático. Os resultados indicam que tanto a morfologia da nanocelulose quanto suas interações com o óleo essencial são fundamentais para a regulação da migração do OE e atividade biocida.

Por fim, os óleos puros foram testados contra o vírus SARS-CoV-2 pelo método de Teste Rápido, que detecta a desnaturação ou degradação de proteínas. A atividade virucida dos óleos, esperada devido ao seu caráter lipofílico, mostrou-se única para cada composição química. O óleo de canela precisou ficar em contato com o vírus por 5 minutos para ser negativo no Teste Rápido de Antígeno, e sua ação esperada era através da proteína spike e da membrana viral, por danificar as proteínas detectáveis pelo teste. O óleo essencial de cardamomo levou 30 minutos para dar negativo no Teste Rápido de Antígeno, provavelmente danificando o capsídeo viral. Já o óleo essencial de linalol não conseguiu destruir ou degradar as proteínas do vírus SARS-CoV-2 em 60 minutos ou menos, e todos os testes realizados foram positivos. Esses resultados indicam que o linalol não tem atividade antiviral contra o SARS-CoV-2 ou não atua por meio da desnaturação de proteínas. Os resultados entre os OEs foram diferentes devido às suas eletronegatividades, e após a emulsificação, a alteração no balanço de cargas devido a adição de nanocelulose resultou em um aumento no tempo necessário para a inativação. No geral, os resultados indicam que os óleos essenciais são potenciais agentes ativos naturais para combater a

pandemia de COVID-19 ou outros microorganismos patogênicos e podem ser usados em desinfetantes para limpeza de superfícies altamente contaminadas existentes em hospitais, farmácias ou transporte público.

8. Referências bibliográficas

- ABDUL-RAZZAQ, R.; JAAFAR, M. Z.; BANDYOPADHYAY, S. Investigating synergistic effects of surfactants and nanoparticles (NPs) on emulsion viscosity. **Asian Journal of Fundamental and Applied Sciences**, v. 1, n. 1, p. 9–16, 2020.
- ABDUL KHALIL, H. P. S. *et al.* Production and modification of nanofibrillated cellulose using various mechanical processes: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, p. 649–665, 2014.
- ABDUL RAHMAN, N. H. *et al.* Extraction and Characterization of Cellulose Nanocrystals from Tea Leaf Waste Fibers. **Polymers**, v. 9, n. 11, p. 588, 2017.
- ABDULLAH *et al.* Anti-biofilm Potential of Elletaria cardamomum Essential Oil Against Escherichia coli O157:H7 and Salmonella Typhimurium JSG 1748. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, n. April, 2021.
- ABOU BAKER, D. H. *et al.* Antiviral activity of Lavandula angustifolia L. and Salvia officinalis L. essential oils against avian influenza H5N1 virus. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 4, n. December 2020, p. 100135, 2021.
- ADINEW, B. GC-MS and FT-IR analysis of constituents of essential oil from Cinnamon bark growing in South-west of Ethiopia. ~ 75 ~ **International Journal of Herbal Medicine**, v. 1, n. 6, p. 22–31, 2014.
- AĞAOĞLU, S.; DOSTBİL, N.; ALEMDAR, S. Antimicrobial Effect of Seed Extract of Cardamom (Elettaria cardamomum Maton). **YÜ Vet Fak Derg**, v. 16, n. 2, p. 99–101, 2006.
- AGNIHOTRI, S.; WAKODE, S. Antimicrobial Activity of Essential Oil and Various Extracts of Fruits of Greater Cardamom. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 72, n. 5, p. 657–659, 2010.
- AHMAD, M. *et al.* Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. **Food Hydrocolloids**, v. 28, n. 1, p. 189–199, 2012.
- AHSAN, H. M. *et al.* Surface modification of microcrystalline cellulose: Physicochemical characterization and applications in the Stabilization of Pickering emulsions. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 132, p. 1176–1184, 2019.
- AL-BAYATI, F. A.; MOHAMMED, M. J. Isolation, identification, and purification of cinnamaldehyde from Cinnamomum zeylanicum bark oil. An antibacterial study. **Pharmaceutical Biology**, v. 47, n. 1, p. 61–66, 2009.
- ALBERT, C. *et al.* Pickering emulsions: Preparation processes, key parameters governing their properties and potential for pharmaceutical applications. **Journal of Controlled Release**, v. 309, n. April, p. 302–332, 2019.
- ALEHOSSEINI, E.; JAFARI, S. M.; SHAHIRI TABARESTANI, H. Production of D-limonene-loaded Pickering emulsions stabilized by chitosan nanoparticles. **Food Chemistry**, v. 354, n. October 2020, p. 129591, 2021.
- ALIZADEH BEHBAHANI, B. *et al.* Chemical Composition and Antioxidant, Antimicrobial, and Antiproliferative Activities of Cinnamomum zeylanicum Bark Essential Oil. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2020, 2020.
- 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**, v. 99, p. 105338, 2020.
- ANDREEV, G. N. *et al.* Non-destructive NIR-FT-Raman analyses in practice. Part 1. Analyses of plants and historic textiles. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 371, n. 7, p. 1009–1017, 2001.
- ANDRESEN, M.; STENIUS, P. Water-in-oil emulsions stabilized by hydrophobized microfibrillated cellulose. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 28, n. 6, p. 837–844, 2007.
- ANGKURATIPAKORN, T. *et al.* Fabrication and characterization of rice bran oil-in-water Pickering emulsion stabilized by cellulose nanocrystals. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 522, p. 310–319, 2017.
- ANVISA, A. N. DE V. S. **RESOLUÇÃO-RDC Nº 14, DE 28 DE FEVEREIRO DE 2007 - Regulamento Técnico para Produtos com Ação Antimicrobiana, harmonizado no âmbito do**

Mercosul, e dá outras providências. [s.l: s.n.].

ANWAR, F. *et al.* Cardamom (*Elettaria cardamomum* Maton) Oils Farooq. *In: Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety.* [s.l.] Elsevier Inc., 2016. p. 295–301.

APROTOSOAIE, A. C.; COSTACHE, I. Linalool : a review on a key odorant molecule with valuable biological properties. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 29, n. January, p. 193–219, 2014.

ARAB, D.; KANTZAS, A.; BRYANT, S. L. Nanoparticle stabilized oil in water emulsions: A critical review. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v. 163, n. September 2017, p. 217–242, 2018.

ARDITTY, S. *et al.* Materials based on solid-stabilized emulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 275, n. 2, p. 659–664, jul. 2004.

ARPAGAU, C. *et al.* Nano spray drying for encapsulation of pharmaceuticals. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 546, n. 1–2, p. 194–214, 2018.

ASHOKKUMAR, K.; MURUGAN, M.; DHANYA, M K; *et al.* Botany , traditional uses , phytochemistry and biological activities of cardamom [*Elettaria cardamomum* (L .) Maton] – A critical review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 246, n. September 2019, p. 112244, 2020.

ATKI, Y. EL *et al.* Antibacterial activity of cinnamon essential oils and their synergistic potential with antibiotics. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research**, v. 10, n. 2, p. 63–67, 2019.

AVENDANO, C. *et al.* Multiwalled Carbon Nanotube/Cellulose Composite: From Aqueous Dispersions to Pickering Emulsions. **Langmuir**, v. 32, n. 16, p. 3907–3916, 2016.

BAHRAMI, A. *et al.* Antimicrobial-loaded nanocarriers for food packaging applications. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 278, p. 102140–102153, 2020.

BAI, L. *et al.* Oil-in-water Pickering emulsions via microfluidization with cellulose nanocrystals: 1. Formation and stability. **Food Hydrocolloids**, v. 96, n. April, p. 699–708, 2019.

BAILEY, E. S. *et al.* Essential Oil Disinfectant Efficacy Against SARS-CoV-2 Microbial Surrogates. **Frontiers in Public Health**, v. 9, 14 dez. 2021.

BALTA, I. *et al.* Geraniol and Linalool Loaded Nanoemulsions and Their Antimicrobial Activity. **Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies**, v. 74, n. 2, p. 157–161, 2017.

BARBON, B. *et al.* Performance of oil-in-water emulsions stabilized by different types of surface-active components. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 190, n. March, p. 110939, 2020.

BARBOSA, R. F. DA S. *et al.* Characterization of Rosewood and Cinnamon Cassia essential oil polymeric capsules: Stability, loading efficiency, release rate and antimicrobial properties. **Food Control**, v. 121, n. September 2020, p. 107605, 2021.

BATISTA, S. *et al.* Atividade antibacteriana e cicatrizante do óleo de buriti *Mauritia flexuosa* L. **Ciencia Rural**, v. 42, n. 1, p. 136–141, 2012.

BATTISTINI, R. *et al.* Antiviral Activity of Essential Oils Against Hepatitis A Virus in Soft Fruits. **Food and Environmental Virology**, v. 11, n. 1, p. 90–95, 2019.

BECERRIL, R.; NERÍN, C.; SILVA, F. Encapsulation systems for antimicrobial food packaging components: An update. **Molecules**, v. 25, n. 5, 2020.

BENITEZ, L. O. *et al.* Development of oil-in-water emulsions based on rice bran oil and soybean meal as the basis of food products able to be included in ketogenic diets. **Lwt**, v. 118, n. November 2019, p. 108809, 2020.

BERGFREUND, J. *et al.* Adsorption of charged anisotropic nanoparticles at oil-water interfaces. **Nanoscale Advances**, v. 1, n. 11, p. 4308–4312, 2019.

BERTSCH, P. *et al.* Adsorption and Interfacial Layer Structure of Unmodified Nanocrystalline Cellulose at Air/Water Interfaces. **Langmuir**, v. 34, n. 50, p. 15195–15202, 18 dez. 2018.

_____. Designing Cellulose Nanofibrils for Stabilization of Fluid Interfaces. **Biomacromolecules**, v. 20, n. 12, p. 4574–4580, 2019.

BERTSCH, P.; FISCHER, P. Adsorption and interfacial structure of nanocelluloses at fluid interfaces. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 276, p. 102089, 2020.

BINKS, B. P.; LUMSDON, S. O. Influence of Particle Wettability on the Type and Stability of Surfactant-Free Emulsions. **Langmuir**, v. 16, n. 23, p. 8622–8631, 1 nov. 2000.

_____. Pickering Emulsions Stabilized by Monodisperse Latex Particles: Effects of Particle Size.

Langmuir, v. 17, n. 15, p. 4540–4547, 1 jul. 2001.

BLAŽEKović, B. *et al.* Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oils of *Lavandula × intermedia* ‘Budrovka’ and *L. angustifolia* cultivated in Croatia. **Industrial Crops and Products**, v. 123, n. April, p. 173–182, 2018.

BOTTO, L. *et al.* Capillary interactions between anisotropic particles. **Soft Matter**, v. 8, n. 39, p. 9957–9971, 2012.

BOX, G. E. P.; HUNTER, J. S.; HUNTER, W. G. **Statistics for Experimenters Design, Innovation, and Discover**. 2. ed. New York: Wiley, 2005.

BRIGGS, N. *et al.* Stable pickering emulsions using multi-walled carbon nanotubes of varying wettability. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 537, n. October 2017, p. 227–235, 2018.

BRIGGS, N. M. *et al.* Multiwalled Carbon Nanotubes at the Interface of Pickering Emulsions. **Langmuir**, v. 31, n. 48, p. 13077–13084, 2015.

BUFFA, J. M. J. M. *et al.* Physical and mechanical properties of a vegetable oil based nanocomposite. **European Polymer Journal**, v. 98, n. November 2017, p. 116–124, 2018.

CALABRESE, V. *et al.* Pickering emulsions stabilized by naturally derived or biodegradable particles. **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 12, n. Figure 1, p. 83–90, 2018.

CANO-SARMIENTO, C. *et al.* Zeta Potential of Food Matrices. **Food Engineering Reviews**, v. 10, n. 3, p. 113–138, 2018.

CAPRON, I.; ROJAS, O. J.; BORDES, R. Behavior of nanocelluloses at interfaces. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 29, p. 83–95, 2017.

CARVALHO, D. M. DE *et al.* Impact of the chemical composition of cellulosic materials on the nanofibrillation process and nanopaper properties. **Industrial Crops and Products**, v. 127, n. November 2018, p. 203–211, 2019.

CEBI, N. *et al.* Detection of Orange Essential Oil, Isopropyl Myristate, and Benzyl Alcohol in Lemon Essential Oil by FTIR Spectroscopy Combined with Chemometrics. **Foods**, v. 10, n. 1, p. 27, 2020.

CEBI, N.; ARICI, M.; SAGDIC, O. The famous Turkish rose essential oil: Characterization and authenticity monitoring by FTIR, Raman and GC–MS techniques combined with chemometrics. **Food Chemistry**, v. 354, n. February, p. 129495, 2021.

CHEIKH, F. BEN *et al.* Chitin nanocrystals as Pickering stabilizer for O/W emulsions: Effect of the oil chemical structure on the emulsion properties. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 200, n. December 2020, p. 111604, 2021.

CHELARU, C. *et al.* Chemical characterization of vegetable oils - Lemon, lavender and argan. **Revista de Chimie**, v. 67, n. 9, p. 1680–1683, 2016.

CHEN, E. *et al.* Enhancement of physicochemical properties of whey protein-stabilized nanoemulsions by interfacial cross-linking using cinnamaldehyde. **Food Hydrocolloids**, v. 77, p. 976–985, 2018.

CHEN, Q. H.; LIU, T. X.; TANG, C. H. Tuning the stability and microstructure of fine Pickering emulsions stabilized by cellulose nanocrystals. **Industrial Crops and Products**, v. 141, n. July, p. 111733, 2019.

CHERHAL, F.; COUSIN, F.; CAPRON, I. Structural Description of the Interface of Pickering Emulsions Stabilized by Cellulose Nanocrystals. **Biomacromolecules**, v. 17, n. 2, p. 496–502, 2016.

CHHABRA, R. P.; RICHARDSON, J. F. Non-Newtonian fluid behaviour. **Non-Newtonian Flow in the Process Industries**, n. dVx, p. 1–36, 1999.

CHU, Y. *et al.* Dispersion Properties of Nanocellulose: A Review. **Carbohydrate Polymers**, v. 250, p. 116892, 2020.

CLAUSSE, M. *et al.* **Encyclopedia of emulsion technology: basic theory**. 1. ed. New York: Marcel Dekker, Inc., 1983.

COSTA, A. L. R. *et al.* Stabilization mechanisms of O/W emulsions by cellulose nanocrystals and sunflower protein. **Food Research International**, v. 152, p. 110930, fev. 2022.

COSTA, C. *et al.* Emulsion formation and stabilization by biomolecules: The leading role of cellulose. **Polymers**, v. 11, n. 10, p. 1–18, 2019.

CUI, H. *et al.* Inhibition mechanism of cardamom essential oil on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm. **Lwt**, v. 122, n. October 2019, p. 109057, 2020.

CUNHA, A. G. *et al.* Preparation of double pickering emulsions stabilized by chemically tailored nanocelluloses. **Langmuir**, v. 30, n. 31, p. 9327–9335, 2014.

DAFERERA, D. J.; TARANTILIS, P. A.; POLISSIOU, M. G. Characterization of essential oils from Lamiaceae species by Fourier transform Raman spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 20, p. 5503–5507, 2002.

DAI, H. *et al.* Recent advances on cellulose nanocrystals for Pickering emulsions: Development and challenge. **Trends in Food Science and Technology**, v. 102, n. 2, p. 16–29, 2020.

_____. Co-stabilization and properties regulation of Pickering emulsions by cellulose nanocrystals and nanofibrils from lemon seeds. **Food Hydrocolloids**, v. 120, n. 2, p. 106884, 2021.

DAI, S. *et al.* Stability and phase behavior of konjac glucomannan-milk systems. **Food Hydrocolloids**, v. 73, p. 30–40, 2017.

DALTIN, D. **Tensoativos: química, propriedades e aplicações**. [s.l.] São Paulo: Blucher, 2011.

DAVIES, J. T.; RIDEAL, E. K. **Interfacial Phenomena**. New York and London: Academic Press, 1962.

DEHGHANI, S. *et al.* Electrospun chia seed mucilage/PVA encapsulated with green cardamom essential oils: Antioxidant and antibacterial property. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 161, p. 1–9, 2020.

DESTRIE, M. *et al.* Pickering emulsions stabilized by soft microgels: Influence of the emulsification process on particle interfacial organization and emulsion properties. **Langmuir**, v. 29, n. 40, p. 12367–12374, 2013.

DOH, H.; LEE, M. H.; WHITESIDE, W. S. Physicochemical characteristics of cellulose nanocrystals isolated from seaweed biomass. **Food Hydrocolloids**, v. 102, n. November 2019, p. 105542, 2020.

DOMIAN, E.; SZCZEPANIAK, M. Rheological behavior of concentrated emulsions containing carotenoids with different polarity. **Journal of Food Engineering**, v. 274, n. June 2019, p. 109827, 2020.

DONSI, F.; FERRARI, G. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. **Journal of Biotechnology**, v. 233, p. 106–120, 2016.

DU, K. *et al.* Adsorption Energy of Nano- and Microparticles at Liquid–Liquid Interfaces. **Langmuir**, v. 26, n. 15, p. 12518–12522, 3 ago. 2010.

EICHHORN, S. J. Cellulose nanowhiskers: Promising materials for advanced applications. **Soft Matter**, v. 7, n. 2, p. 303–315, 2011.

ELFIKY, A. A. SARS-CoV-2 RNA dependent RNA polymerase (RdRp) targeting: an in silico perspective. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 39, n. 9, p. 3204–3212, 2021.

FELDSINE, P.; ABEYTA, C.; ANDREWS, W. H. AOAC International methods committee guidelines for validation of qualitative and quantitative food microbiological official methods of analysis. **Journal of AOAC International**, v. 85, n. 5, p. 1187–1200, 2002.

FENG, X. *et al.* Properties of Pickering emulsion stabilized by food-grade gelatin nanoparticles: influence of the nanoparticles concentration. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 196, n. 2, 2020.

FENG, Y.; KILKER, S. R.; LEE, Y. Surface charge (zeta-potential) of nanoencapsulated food ingredients. In: **Characterization of Nanoencapsulated Food Ingredients**. [s.l.] Elsevier, 2020. p. 213–241.

FERREIRA, R. R. *et al.* Use of ball mill to prepare nanocellulose from eucalyptus biomass: challenges and process optimization by combined method. **Materials Today Communications**, v. online, p. 101773, 2019.

FERREIRA, R. R.; SOUZA, A. G.; ROSA, D. S. Essential oil-loaded nanocapsules and their application on PBAT biodegradable films. **Journal of Molecular Liquids**, v. 337, p. 116488, set. 2021.

FIGUEIREDO, C. S. S. E. *et al.* Óleo essencial da Canela (Cinamaldeído) e suas aplicações biológicas. **Revista de Investigação Biomédica**, v. 9, n. 2, p. 192, 2018.

FIOCRUZ, F. O. C. **Método para Avaliação das Atividades Bacteriostáticas e Fungistáticas**

de Saneantes e Substâncias Preservativas. [s.l: s.n.].

FIORILLO, L. *et al.* COVID-19 surface persistence: A recent data summary and its importance for medical and dental settings. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 9, 2020.

FIRMINO, D. F. *et al.* Antibacterial and Antibiofilm Activities of Cinnamomum Sp. Essential Oil and Cinnamaldehyde: Antimicrobial Activities. **Scientific World Journal**, v. 2018, 2018.

FLECHAS, M. C.; OCAZONEZ, R. E.; STASHENKO, E. E. Evaluation of in vitro Antiviral Activity of Essential Oil Compounds Against Dengue Virus. **Pharmacognosy Journal**, v. 10, n. 1, p. 55–59, 26 nov. 2017.

FONSECA-FLORIDO, H. A. *et al.* Effect of acid hydrolysis and OSA esterification of waxy cassava starch on emulsifying properties in Pickering-type emulsions. **LWT - Food Science and Technology**, v. 91, n. February, p. 258–264, 2018.

FRANCO, T. S. *et al.* Production and technological characteristics of avocado oil emulsions stabilized with cellulose nanofibrils isolated from agroindustrial residues. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 586, p. 124263, 2019.

FRANZOL, A.; REZENDE, C. Estabilidade de emulsões : um estudo de caso envolvendo emulsionantes aniônico , catiônico e não-iônico Emulsion stability : a case study involving anionic , cationic and nonionic emulsifiers. v. 25, p. 1–9, 2015.

FRIBERG, S. E.; LARSSON, K.; JOBLÖM, J. S. **Food Emulsions**. Fourth Edition. New York: CRC Press, 2004.

FRISING, T.; NOÏK, C.; DALMAZZONE, C. The liquid/liquid sedimentation process: From droplet coalescence to technologically enhanced water/oil emulsion gravity separators: A review. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 27, n. 7, p. 1035–1057, 2006.

GESTRANIUS, M. *et al.* Phase behaviour and droplet size of oil-in-water Pickering emulsions stabilised with plant-derived nanocellulosic materials. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 519, p. 60–70, 2017.

GILANI, A. H. *et al.* Gut modulatory, blood pressure lowering, diuretic and sedative activities of cardamom. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 115, n. 3, p. 463–472, 2007.

GOH, C. F.; MING, L. C.; WONG, L. C. Dermatologic reactions to disinfectant use during the COVID-19 pandemic. **Clinics in Dermatology**, v. 39, n. 2, p. 314–322, mar. 2021.

GONZALEZ ORTIZ, D. *et al.* Current Trends in Pickering Emulsions: Particle Morphology and Applications. **Engineering**, v. 6, n. 4, p. 468–482, 2020.

GRAHAME, D. C. The Electrical Double Layer and the Theory of Electrocapillarity. **Chemical Reviews**, v. 41, n. 3, p. 441–501, 1 dez. 1947.

GREMMELS, H. *et al.* Real-life validation of the Panbio™ COVID-19 antigen rapid test (Abbott) in community-dwelling subjects with symptoms of potential SARS-CoV-2 infection. **EClinicalMedicine**, v. 31, p. 100677, 2021.

GUERRERO-PÉREZ, M. O.; PATIENCE, G. S. Experimental methods in chemical engineering: Fourier transform infrared spectroscopy—FTIR. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 98, n. 1, p. 25–33, 3 jan. 2020.

GUO, S. *et al.* Residual lignin in cellulose nanofibrils enhances the interfacial stabilization of Pickering emulsions. **Carbohydrate Polymers**, v. 253, n. June 2020, p. 117223, 2021.

HAAJ, S. B. *et al.* Starch nanocrystal stabilized pickering emulsion polymerization for nanocomposites with improved performance. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 6, n. 11, p. 8263–8273, 2014.

HADAMARD S, J. Mouvement permanent lent d'une sphere liquid et visqueuse dans un liquide visqueux. **C. R. Hebd. Seances Acad. Sci. Paris**, v. 152, p. 1735–1738, 1911.

HAN, J. *et al.* Environmental stability and curcumin release properties of Pickering emulsion stabilized by chitosan/gum arabic nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 157, p. 202–211, 2020.

HANIF, M. A. *et al.* Raman spectroscopy for the characterization of different fractions of hemp essential oil extracted at 130 °C using steam distillation method. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 182, p. 168–174, 2017.

HAQUE, M. M. U. *et al.* Effect of reactive functionalization on properties and degradability of poly(lactic acid)/poly(vinyl acetate) nanocomposites with cellulose nanocrystals. **Reactive and**

Functional Polymers, v. 110, p. 1–9, 2017.

HE, K. *et al.* Water-insoluble dietary-fibers from *Flammulina velutipes* used as edible stabilizers for oil-in-water Pickering emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 101, n. August 2019, p. 105519, 2020.

HELMHOLTZ, H. Studien über electrische Grenzschichten. **Annalen der Physik und Chemie**, v. 243, n. 7, p. 337–382, 1879.

HEREDIA-GUERRERO, J. A. *et al.* Antimicrobial, antioxidant, and waterproof RTV silicone-ethyl cellulose composites containing clove essential oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 192, n. December 2017, p. 150–158, 2018.

HERMAN, ANNA; TAMBOR, K.; HERMAN, ANDRZEJ. Linalool Affects the Antimicrobial Efficacy of Essential Oils. **Current Microbiology**, v. 72, n. 2, p. 165–172, 2016.

HERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, P. *et al.* Optimization of a method for preparing solid complexes of essential clove oil with β -cyclodextrins. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 2, p. 420–426, jan. 2017.

HIGUCHI, W. I.; MISRA, J. Physical Degradation of Emulsions Via the Molecular Diffusion Route and the Possible Prevention Thereof. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 51, n. 5, p. 459–466, maio 1962.

HOMZA, M. *et al.* Five antigen tests for sars-cov-2: Virus viability matters. **Viruses**, v. 13, n. 4, p. 1–9, 2021.

HOSSEINI, R. S.; RAJAEI, A. Potential Pickering emulsion stabilized with chitosan-stearic acid nanogels incorporating clove essential oil to produce fish-oil-enriched mayonnaise. **Carbohydrate Polymers**, v. 241, n. April, p. 116340, 2020.

HOU, K. *et al.* Nanoemulsion of cinnamon essential oil Co-emulsified with hydroxypropyl- β -cyclodextrin and Tween-80: Antibacterial activity, stability and slow release performance. **Food Bioscience**, v. 43, n. 3, p. 101232, 2021.

HU, Y. *et al.* Partial removal of acetyl groups in konjac glucomannan significantly improved the rheological properties and texture of konjac glucomannan and κ -carrageenan blends.

International Journal of Biological Macromolecules, v. 123, p. 1165–1171, 2019.

HU, Z. *et al.* Surfactant-enhanced cellulose nanocrystal Pickering emulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 439, p. 139–148, 2015.

HUA, X.; FRECHETTE, J.; BEVAN, M. A. Nanoparticle adsorption dynamics at fluid interfaces. **Soft Matter**, v. 14, n. 19, p. 3818–3828, 2018.

HUAN, S. *et al.* Pickering Emulsions via Interfacial Nanoparticle Complexation of Oppositely Charged Nanopolysaccharides. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 13, n. 10, p. 12581–12593, 17 mar. 2021.

HUANG, S. *et al.* Recent developments and prospective food-related applications of cellulose nanocrystals: a review. **Cellulose**, v. 27, n. 6, p. 2991–3011, 2020.

HUANG, Y. *et al.* Cinnamon Cassia Oil Emulsions Stabilized by Chitin Nanofibrils: Physicochemical Properties and Antibacterial Activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 49, p. 14620–14631, 2020.

HUSIN, H.; TAJU ARIFFIN, T. S.; YAHYA, E. Rheological Behaviour of Water-in-Light Crude Oil Emulsion. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 358, n. 1, 2018.

ILC, T. *et al.* Monoterpenol oxidative metabolism: Role in plant adaptation and potential applications. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. APR2016, p. 1–16, 2016.

JAMALI, S. N. *et al.* Natural antimicrobial-loaded nanoemulsions for the control of food spoilage/pathogenic microorganisms. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 295, p. 102504, 2021.

JARDIM, I. N. *et al.* (E)-cinnamaldehyde from the essential oil of *Cinnamomum cassia* controls *Meloidogyne incognita* in soybean plants. **Journal of Pest Science**, v. 91, n. 1, p. 479–487, 2018.

JENTZSCH, P. V.; RAMOS, L. A.; CIOBOTĂ, V. Handheld Raman spectroscopy for the distinction of essential oils used in the cosmetics industry. **Cosmetics**, v. 2, n. 2, p. 162–176, 2015.

JEONG, Y. J. *et al.* Antibacterial and antibiofilm activities of cinnamon essential oil nanoemulsion against multi-species oral biofilms. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–8, 2021.

JIANG, F.; HSIEH, Y. LO. Holocellulose Nanocrystals: Amphiphilicity, Oil/Water Emulsion,

and Self-Assembly. **Biomacromolecules**, v. 16, n. 4, p. 1433–1441, 2015.

JIANG, H.; SHENG, Y.; NGAI, T. Pickering emulsions: Versatility of colloidal particles and recent applications. **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, v. 49, p. 1–15, 2020.

JIANG, J. *et al.* Real-Time Measurements of Botanical Disinfectant Emissions, Transformations, and Multiphase Inhalation Exposures in Buildings. **Environmental Science & Technology Letters**, v. 8, n. 7, p. 558–566, 13 jul. 2021.

JIANG, Y. *et al.* Cinnamon Essential Oil Pickering Emulsion Stabilized by Zein-pectin Composite Nanoparticles: Characterization, Antimicrobial Effect and Advantages in Storage Application. **International Journal of Biological Macromolecules**, n. xxxx, 2019.

JIMÉNEZ SAELICES, C.; CAPRON, I. Design of Pickering Micro- and Nanoemulsions Based on the Structural Characteristics of Nanocelluloses. **Biomacromolecules**, v. 19, n. 2, p. 460–469, 2018.

JOHNSON, T. S.; NARAYANA, D. B. A. Role of spices in offering natural immunity to fight various diseases. **Pharmacognosy Journal**, v. 13, n. 2, p. 600–613, 2021.

JONOOBI, M. *et al.* Different preparation methods and properties of nanostructured cellulose from various natural resources and residues: a review. **Cellulose**, v. 22, n. 2, p. 935–969, 2015.

JUTAKRIDSADA, P. *et al.* Olive oil stability in Pickering emulsion preparation from eucalyptus pulp and its rheology behaviour. **Cellulose**, v. 27, n. 11, p. 6189–6203, 2020.

KALASHNIKOVA, I. *et al.* New pickering emulsions stabilized by bacterial cellulose nanocrystals. **Langmuir**, v. 27, n. 12, p. 7471–7479, 2011.

_____. Modulation of Cellulose Nanocrystals Amphiphilic Properties to Stabilize Oil/Water Interface. **Biomacromolecules**, v. 13, n. 1, p. 267–275, 9 jan. 2012.

_____. Cellulosic nanorods of various aspect ratios for oil in water Pickering emulsions. **Soft Matter**, v. 9, n. 3, p. 952–959, 2013.

KAMEOKA, H.; WANG, C. P.; TOKIMITSU, K. Terpenoids in the essential oil from the flower of trifolium repens L. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 41, n. 9, p. 1785–1786, 1977.

KANO, F. S.; SOUZA, A. G. DE; ROSA, D. DOS S. Variation of the milling conditions in the obtaining of nanocellulose from the paper sludge. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 24, n. 3, 2019.

KARIMI, NAYYER *et al.* Thymol, cardamom and Lactobacillus plantarum nanoparticles as a functional candy with high protection against Streptococcus mutans and tooth decay. **Microbial Pathogenesis**, v. 148, n. July, p. 104481, 2020.

KASIRI, N.; FATHI, M. Production of cellulose nanocrystals from pistachio shells and their application for stabilizing Pickering emulsions. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 106, p. 1023–1031, 2018.

KASSAB, Z. *et al.* Tomato plant residue as new renewable source for cellulose production: extraction of cellulose nanocrystals with different surface functionalities. **Cellulose**, v. 27, n. 8, p. 4287–4303, maio 2020.

KATEPALLI, H. *et al.* Microstructure and rheology of particle stabilized emulsions: Effects of particle shape and inter-particle interactions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 485, p. 11–17, jan. 2017.

KEIVANI NAHR, F.; GHANBARZADEH, B.; SAMADI KAFIL, H.; *et al.* The colloidal and release properties of cardamom oil encapsulated nanostructured lipid carrier. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 0, n. 0, p. 1–9, 2019.

KEIVANI NAHR, F.; GHANBARZADEH, B.; HAMISHEHKAR, H.; *et al.* Investigation of physicochemical properties of essential oil loaded nanoliposome for enrichment purposes. **Lwt**, v. 105, n. February, p. 282–289, 2019.

KEMPIN, M. V.; KRAUME, M.; DREWS, A. W/O Pickering emulsion preparation using a batch rotor-stator mixer – Influence on rheology, drop size distribution and filtration behavior. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 573, p. 135–149, 2020.

KHAN, A. U.; KHAN, Q. J.; GILANI, A. H. Pharmacological basis for the medicinal use of cardamom in asthma. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 6, n. 1, 10 jun. 2011.

KLEMM, D. *et al.* Nanocelluloses: A new family of nature-based materials. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 50, n. 24, p. 5438–5466, 2011.

KOMATSU, S. *et al.* Fabrication of Hybrid Capsules via CaCO₃ Crystallization on Degradable Coacervate Droplets. **Langmuir**, v. 34, n. 13, p. 3981–3986, 2018.

KRALOVA, I.; SJÖBLOM, J. Surfactants used in food industry: A review. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 30, n. 9, p. 1363–1383, 2009.

KREPKER, M. *et al.* Active food packaging films with synergistic antimicrobial activity. **Food Control**, v. 76, p. 117–126, 2017.

KULKARNI, S. A. *et al.* Computational evaluation of major components from plant essential oils as potent inhibitors of SARS-CoV-2 spike protein. **Journal of Molecular Structure**, v. 1221, p. 128823, 2020.

KUMAR, A.; SINGH, P.; GUPTA, V. Application of nanotechnology to boost the functional and preservative properties of essential oils. *In: Functional and Preservative Properties of Phytochemicals*. [s.l.] Elsevier Inc., 2020. p. 241–267.

KUMAR, M. *et al.* Techniques for formulation of nanoemulsion drug delivery system: A review. **Preventive Nutrition and Food Science**, v. 24, n. 3, p. 225–234, 2019.

KUMAR, N.; GAUR, T.; MANDAL, A. Characterization of SPN Pickering emulsions for application in enhanced oil recovery. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 54, p. 304–315, 2017.

KUMAR, V. *et al.* Dynamic interfacial properties and tuning aqueous foamability stabilized by cationic surfactants in terms of their structural hydrophobicity, free drainage and bubble extent. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 588, n. December 2019, p. 124362, 2020.

LACHAPELLE, J.-M. A comparison of the irritant and allergenic properties of antiseptics. **European Journal of Dermatology**, v. 24, n. 1, p. 3–9, jan. 2014.

LAN, J. *et al.* Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. **Nature**, v. 581, n. 7807, p. 215–220, 2020.

LANGEVIN, D. Influence of interfacial rheology on foam and emulsion properties. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 88, n. 1–2, p. 209–222, dez. 2000.

LAWRENCE, M. J.; REES, G. D. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. SUPPL., p. 175–193, 2012.

LE, V. D. *et al.* Physicochemical characterizations, antimicrobial activity and non-isothermal decomposition kinetics of Cinnamomum cassia essential oils. **Journal of Essential Oil Research**, v. 32, n. 2, p. 158–168, 2020.

LECLERCQ, L. *et al.* Highly Active, Entirely Biobased Antimicrobial Pickering Emulsions. **ChemMedChem**, v. 16, n. 14, p. 2223–2230, 20 jul. 2021.

LEE, J. E. *et al.* Antibacterial mode of action of trans-cinnamaldehyde derived from cinnamon bark (Cinnamomum verum) essential oil against Agrobacterium tumefaciens. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 165, n. November 2019, p. 104546, 2020.

LEI, W. *et al.* Cellulose nanocrystals obtained from office waste paper and their potential application in PET packing materials. **Carbohydrate Polymers**, v. 181, n. October 2017, p. 376–385, 2018.

LEUNISSEN, M. E. *et al.* Ion partitioning at the oil–water interface as a source of tunable electrostatic effects in emulsions with colloids. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 9, n. 48, p. 6405, 2007.

LI, Q.; XIE, B.; *et al.* Cellulose nanofibrils from Miscanthus floridulus straw as green particle emulsifier for O/W Pickering emulsion. **Food Hydrocolloids**, v. 97, n. February, 2019.

LI, Q.; WANG, Y.; *et al.* Flexible cellulose nanofibrils as novel pickering stabilizers: The emulsifying property and packing behavior. **Food Hydrocolloids**, v. 88, n. August 2018, p. 180–189, 2019.

LI, Q. *et al.* Application of Nanocellulose as particle stabilizer in food Pickering emulsion: Scope, Merits and challenges. **Trends in Food Science and Technology**, v. 110, n. September 2020, p. 573–583, 2021.

LI, S.; CHEN, G. Agricultural waste-derived superabsorbent hydrogels: Preparation, performance, and socioeconomic impacts. **Journal of Cleaner Production**, v. 251, n. 12, p. 119669, 2020.

LI, X. *et al.* Cellulose nanocrystals (CNCs) with different crystalline allomorph for oil in water Pickering emulsions. **Carbohydrate Polymers**, v. 183, n. November 2017, p. 303–310, 2018.

LI, Y. *et al.* Quality Evaluation for Essential Oil of Cinnamomum verum Leaves at Different

Growth Stages Based on GC–MS, FTIR and Microscopy. **Food Analytical Methods**, v. 9, n. 1, p. 202–212, 2016.

LI, Y. Q.; KONG, D. X.; WU, H. Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC-MS and FTIR spectroscopy. **Industrial Crops and Products**, v. 41, n. 1, p. 269–278, 2013.

LI, Y. QUN *et al.* Variations in essential oil yields and compositions of *Cinnamomum cassia* leaves at different developmental stages. **Industrial Crops and Products**, v. 47, p. 92–101, 2013.

LI, Z. *et al.* Stability mechanism of O/W Pickering emulsions stabilized with regenerated cellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 181, n. April 2017, p. 224–233, 2018.

LIMA, G. F. *et al.* Surface modification effects on the thermal stability of cellulose nanostructures obtained from lignocellulosic residues. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, n. 0123456789, 2019.

LIMA, G. F.; SOUZA, A. G.; ROSA, D. S. Effect of adsorption of polyethylene glycol (PEG), in aqueous media, to improve cellulose nanostructures stability. **Journal of Molecular Liquids**, v. 268, p. 415–424, 2018.

LIU, Q. *et al.* Food-grade nanoemulsions: Preparation, stability and application in encapsulation of bioactive compounds. **Molecules**, v. 24, n. 23, p. 1–37, 2019.

LIU, W. Y. *et al.* Influence of flaxseed gum and NaCl concentrations on the stability of oil-in-water emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 79, p. 371–381, 2018.

LIU, Z. *et al.* Characterization of konjac glucomannan-based active films loaded with thyme essential oil: Effects of loading approaches. **Food Hydrocolloids**, v. 124, p. 107330, mar. 2022.

LLANA-RUÍZ-CABELLO, M. *et al.* Preservation of phytosterol and PUFA during ready-to-eat lettuce shelf-life in active bio-package. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 22, n. July, p. 100405, 2019.

LOW, L. E. *et al.* Recent advances of characterization techniques for the formation, physical properties and stability of Pickering emulsion. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 277, p. 102117, 2020.

LU, Y. *et al.* Selective localization of cellulose nanocrystals in the biodegradable poly(vinyl alcohol)/poly(ϵ -caprolactone) blend composites prepared by Pickering emulsions. **Polymer**, v. 156, n. October, p. 136–147, 2018.

_____. Rheology of the sesame oil-in-water emulsions stabilized by cellulose nanofibers. **Food Hydrocolloids**, v. 94, p. 114–127, 2019.

_____. Pickering emulsion stabilized with fibrous nanocelluloses: Insight into fiber flexibility-emulsifying capacity relations. **Carbohydrate Polymers**, v. 255, n. October 2020, 2021.

LUO, J. *et al.* Elucidation of oil-in-water emulsions stabilized with celery cellulose. **Fuel**, v. 291, n. January, p. 120210, 2021.

MA, L.; YAO, L. Antiviral effects of plant-derived essential oils and their components: An updated review. **Molecules**, v. 25, n. 11, p. 1–13, 2020.

MA, T. *et al.* High internal phase Pickering emulsions stabilized by cellulose nanocrystals for 3D printing. **Food Hydrocolloids**, v. 125, p. 107418, abr. 2022.

MA, Z. *et al.* Synthetic semicrystalline cellulose oligomers as efficient Pickering emulsion stabilizers. **Carbohydrate Polymers**, v. 254, n. September 2020, p. 117445, 2021.

MAGURANO, F. *et al.* SARS-CoV-2 infection: the environmental endurance of the virus can be influenced by the increase of temperature. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 27, n. 2, p. 289.e5-289.e7, fev. 2021.

MAI-PROCHNOW, A. *et al.* Gram positive and Gram negative bacteria differ in their sensitivity to cold plasma. **Scientific Reports**, v. 6, n. December, p. 1–11, 2016.

MALABADI, R. B. *et al.* Role of botanical essential oils as a therapy for controlling coronavirus (SARS-CoV-2) disease (Covid-19). **International Journal of Research and Scientific Innovation**, v. 08, n. 04, p. 105–118, 2021.

MALTI, J. EL; MOUNTASSIF, D.; AMAROUCH, H. Antimicrobial activity of *Elettaria cardamomum*: Toxicity, biochemical, and histological studies. **Food Chemistry**, v. 104, p. 1560–1568, 2007.

MAMADALIEVA, N. Z. *et al.* Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of

the essential oils of three Uzbek Lamiaceae species. **Natural Product Research**, v. 33, n. 16, p. 2394–2397, 2019.

MATSUDA, E. M. *et al.* Field evaluation of COVID-19 antigen tests versus RNA based detection: Potential lower sensitivity compensated by immediate results, technical simplicity, and low cost. **Journal of Medical Virology**, v. 93, n. 7, p. 4405–4410, 8 jul. 2021.

MAZEAU, K. On the external morphology of native cellulose microfibrils. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, n. 1, p. 524–532, fev. 2011.

MCCLEMENTS, D. J. **Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques**. Third edit ed. [s.l.] CRC Press, 2015.

MCCLEMENTS, D. J.; GUMUS, C. E. Natural emulsifiers — Biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: Molecular and physicochemical basis of functional performance. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 234, p. 3–26, 2016.

MEIRELLES, A. A. D.; COSTA, A. L. R.; CUNHA, R. L. The stabilizing effect of cellulose crystals in O/W emulsions obtained by ultrasound process. **Food Research International**, v. 128, p. 108746, 2020.

MENDES, J. F. *et al.* Correlating emulsion characteristics with the properties of active starch films loaded with lemongrass essential oil. **Food Hydrocolloids**, v. 100, n. June 2019, p. 105428, 2020.

MERAD, B. *et al.* Rheological and flow behavior of water-in-oil Pickering emulsions stabilized with organo-hectorite clay. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v. 205, n. December 2020, p. 108780, 2021.

MIAO, C.; ATIFI, S.; HAMAD, W. Y. Properties and stabilization mechanism of oil-in-water Pickering emulsions stabilized by cellulose filaments. **Carbohydrate Polymers**, v. 248, n. April, 2020.

MILLEZI, A. F. *et al.* Antibacterial and anti-biofilm activity of cinnamon essential oil and eugenol. **Ciencia Rural**, v. 49, n. 1, p. 1–7, 2019.

MOHAMED, M. A. *et al.* Physicochemical characterization of cellulose nanocrystal and nanoporous self-assembled CNC membrane derived from Ceiba pentandra. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 1892–1902, 2017.

MONDAL, S. Preparation, properties and applications of nanocellulosic materials. **Carbohydrate Polymers**, v. 163, p. 301–316, 2017.

MOOSAVINEJAD, S. M. *et al.* Evaluation of degradation in chemical compounds of wood in historical buildings using Ft-Ir And Ft-Raman vibrational spectroscopy. **Maderas: Ciencia y Tecnologia**, v. 21, n. 3, p. 381–392, 2019.

MWANGI, W. W. *et al.* Food-grade Pickering emulsions for encapsulation and delivery of bioactives. **Trends in Food Science and Technology**, v. 100, p. 320–332, 2020.

NAJAR, B. *et al.* Screening of the essential oil effects on human H1N1 influenza virus infection: an in vitro study in MDCK cells. **Natural Product Research**, v. 0, n. 0, p. 1–4, 2021.

NAKATSU, T. *et al.* Biological activity of essential oils and their constituents. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 21, p. 571–631, 2000.

NALLAMILLI, T. *et al.* Stabilization of Pickering Emulsions with Oppositely Charged Latex Particles: Influence of Various Parameters and Particle Arrangement around Droplets. **Langmuir**, v. 31, n. 41, p. 11200–11208, 2015.

NAPPER, D. H. **Polymeric stabilization of colloidal dispersions**. 3. ed. Cambridge, Massachusetts: Academic Press, 1983.

NASCIMENTO, P. F. C. *et al.* Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 108–113, 2007.

NELSON, P. *et al.* Surface-Enhanced Raman Spectroscopy for Rapid Screening of Cinnamon Essential Oils. **Applied Spectroscopy**, v. 74, n. 11, p. 1341–1349, 2020.

NI, Y.; LI, J.; FAN, L. Production of nanocellulose with different length from ginkgo seed shells and applications for oil in water Pickering emulsions. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 149, p. 617–626, 2020.

OSTERTAG, F.; WEISS, J.; MCCLEMENTS, D. J. Low-energy formation of edible nanoemulsions: Factors influencing droplet size produced by emulsion phase inversion. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 388, n. 1, p. 95–102, 2012.

OTERO, J.; MEEKER, S.; CLEGG, P. S. Compositional ripening of particle-stabilized drops in a three-liquid system. **Soft Matter**, v. 14, n. 19, p. 3783–3790, 2018.

OZA, K. P.; FRANK, S. G. MICROCRYSTALLINE CELLULOSE STABILIZED EMULSIONS. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 7, n. 5, p. 543–561, dez. 1986.

ÖZGENÇ, Ö. *et al.* Determination of chemical changes in heat-treated wood using ATR-FTIR and FT Raman spectrometry. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 171, p. 395–400, 2017.

OZOGUL, Y. *et al.* Evaluation of effects of nanoemulsion based on herb essential oils (rosemary, laurel, thyme and sage) on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during ice storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 677–684, 2017.

PANDEY, A. *et al.* Role of interparticle interactions on microstructural and rheological properties of cellulose nanocrystal stabilized emulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 532, p. 808–818, 2018.

PANDI, N.; SONAWANE, S. H.; ANAND KISHORE, K. Synthesis of cellulose nanocrystals (CNCs) from cotton using ultrasound-assisted acid hydrolysis. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 70, n. May 2020, p. 105353, 2021.

PARAJULI, S. *et al.* Surface and Interfacial Interactions in Dodecane/Brine Pickering Emulsions Stabilized by the Combination of Cellulose Nanocrystals and Emulsifiers. **Langmuir**, v. 35, n. 37, p. 12061–12070, 2019.

PARIDA, C.; DASH, S. K.; PRADHAN, C. FTIR and Raman Studies of Cellulose Fibers of *Luffa cylindrica*. **Open Journal of Composite Materials**, v. 05, n. 01, p. 5–10, 2015.

PARK, N. M. *et al.* Facile extraction of cellulose nanocrystals. **Carbohydrate Polymers**, v. 223, n. June, p. 115114, 2019.

PAVONI, L. *et al.* An overview of micro- and nanoemulsions as vehicles for essential oils: Formulation, preparation and stability. **Nanomaterials**, v. 10, n. 1, 2020.

PAXIMADA, P. *et al.* Bacterial cellulose as stabilizer of o/w emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 53, p. 225–232, 2016.

PAXIMADA, P.; KANAVOU, E.; MANDALA, I. G. Effect of rheological and structural properties of bacterial cellulose fibrils and whey protein biocomposites on electrosprayed food-grade particles. **Carbohydrate Polymers**, v. 241, n. February, p. 116319, 2020.

PEDDIREDDY, K. R. *et al.* Stabilization of Water-in-Water Emulsions by Nanorods. **ACS Macro Letters**, v. 5, n. 3, p. 283–286, 2016.

PENG, J. *et al.* Protein Fibrils Induce Emulsion Stabilization. **Langmuir**, v. 32, n. 9, p. 2164–2174, 2016.

PEREIRA, I. *et al.* Linalool bioactive properties and potential applicability in drug delivery systems. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 171, n. July, p. 566–578, 2018.

PHUTDHAWONG, W. *et al.* Microwave-Assisted Isolation of Essential oil of *Cinnamomum iners* Reinw. ex Bl.: Comparison with Conventional Hydrodistillation. **Molecules**, v. 12, n. 4, p. 868–877, 30 abr. 2007.

PICKERING, S. U. Emulsions. **Journal of Chemical Society**, p. 2001–2021, 1906.

PINTO, N. DE O. F. *et al.* Production and physico-chemical characterization of nanocapsules of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Industrial Crops and Products**, v. 86, p. 279–288, 2016.

PIRAS, C. C.; FERNÁNDEZ-PRIETO, S.; BORGGRAEVE, W. M. Ball milling: a green technology for the preparation and functionalisation of nanocellulose derivatives. **Nanoscale Advances**, v. 1, n. 3, p. 937–947, 2019.

PRADO, K. S.; GONZALES, D.; SPINACÉ, M. A. S. Recycling of viscose yarn waste through one-step extraction of nanocellulose. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 136, p. 729–737, 2019.

PRATHAPAN, R. *et al.* Modulating the zeta potential of cellulose nanocrystals using salts and surfactants. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 509, p. 11–18, 2016.

QI, J. RU *et al.* Citrus fiber for the stabilization of O/W emulsion through combination of

Pickering effect and fiber-based network. **Food Chemistry**, v. 343, n. November, p. 128523, 2021.

QI, W. *et al.* Preparation and characterization of oleogel-in-water pickering emulsions stabilized by cellulose nanocrystals. **Food Hydrocolloids**, v. 110, p. 106206, jan. 2021.

QIAN, X. *et al.* Viscoelasticity of olive oil/water Pickering emulsions stabilized with starch nanocrystals. **Carbohydrate Polymers**, v. 230, n. November 2019, 2020.

RAGUSO, R. A. More lessons from linalool: Insights gained from a ubiquitous floral volatile. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 32, p. 31–36, 2016.

RAMSDEN, W. Separation of solids in the surface-layers of solutions and “suspensions” (observations on surface-membranes, bubbles, emulsions, and mechanical coagulation). — preliminary account. **Proc. Roy. Soc.**, v. 72, p. 156–164, 1903.

REIS, J. B. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais contra patógenos alimentares. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 1, p. 342–363, 2020.

RIBEIRO-SANTOS, R.; ANDRADE, M.; MELO, N. R. DE; *et al.* Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. **Trends in Food Science and Technology**, v. 61, p. 132–140, 2017.

RIBEIRO-SANTOS, R.; ANDRADE, M.; MELO, N. R. DE; *et al.* Biological activities and major components determination in essential oils intended for a biodegradable food packaging. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 201–210, 2017.

RIBEIRO-SANTOS, R. *et al.* Essential Oils for Food Application: Natural Substances with Established Biological Activities. **Food and Bioprocess Technology**, v. 11, n. 1, p. 43–71, 2018.

RIBEIRO, M.; SIMÕES, L. C.; SIMÕES, M. Biocides. **Encyclopedia of Microbiology**, p. 478–490, 2019.

RODRÍGUEZ-LÓPEZ, M. I. *et al.* Comprehensive Characterization of Linalool-HP- β -Cyclodextrin Inclusion Complexes. **Molecules**, v. 25, n. 21, p. 5069, 1 nov. 2020.

ROSEN, M. J.; KUNJAPPU, J. T. **Surfactants and interfacial phenomena**. 3rd ed ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2012.

RUDRA, S. G.; GUNDEWADI, G. Natural additives with antimicrobial and flavoring potential for fresh-cut produce. *In: Fresh-cut Fruits and Vegetables*. [s.l.] Elsevier Inc., 2020. p. 165–182.

RYU, V. *et al.* Effect of ripening inhibitor type on formation, stability, and antimicrobial activity of thyme oil nanoemulsion. **Food Chemistry**, v. 245, n. September 2017, p. 104–111, 2018.

—. Impact of ripening inhibitors on molecular transport of antimicrobial components from essential oil nanoemulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 556, p. 568–576, 2019.

SACUI, I. A. *et al.* Comparison of the Properties of Cellulose Nanocrystals and Cellulose Nanofibrils Isolated from Bacteria, Tunicate, and Wood Processed Using Acid, Enzymatic, Mechanical, and Oxidative Methods. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 6, n. 9, p. 6127–6138, 14 maio 2014.

SAFFARIONPOUR, S. Nanocellulose for stabilization of Pickering emulsions and delivery of nutraceuticals and its interfacial adsorption mechanism. **Food and Bioprocess Technology**, 2020.

SAHU, P.; BHOWMICK, A. K. Redox Emulsion Polymerization of Terpenes: Mapping the Effect of the System, Structure, and Reactivity. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 58, n. 46, p. 20946–20960, 20 nov. 2019.

SAIDANE, D. *et al.* Some modification of cellulose nanocrystals for functional Pickering emulsions. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, v. 374, n. 2072, 2016.

SALHA, G. BEN *et al.* Deterpenation of *Origanum majorana* L. essential oil by reduced pressure steam distillation. **Industrial Crops and Products**, v. 109, n. August, p. 116–122, 2017.

SALVIA-TRUJILLO, L. *et al.* Physicochemical characterization and antimicrobial activity of food-grade emulsions and nanoemulsions incorporating essential oils. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 547–556, 2015.

SARAIVA, R. A. *et al.* Synergistic action between *Caryocar coriaceum* Wittm. fixed oil with aminoglycosides in vitro. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 113, n. 8, p.

967–972, 2011.

SARKAR, A. *et al.* Colloidal aspects of digestion of Pickering emulsions: Experiments and theoretical models of lipid digestion kinetics. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 263, p. 195–211, 2019.

SAVAN, E. K.; KUÇUKBAY, F. Z. Essential oil composition of *Elettaria cardamomum* Maton. **Journal of Applied Biological Sciences**, v. 7, n. 3, p. 42–45, 2013.

SCHARAMM, L. L. **Emulsions, Foams, Suspensions, and Aerosols**. 2nd. ed. [s.l.] Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, 2015. v. Microscien

SCHNITZLER, P.; KOCH, C.; REICHLING, J. Susceptibility of drug-resistant clinical herpes simplex virus type 1 strains to essential oils of ginger, thyme, hyssop, and sandalwood.

Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 51, n. 5, p. 1859–1862, 2007.

SCHULZ, H. *et al.* Rapid classification of basil chemotypes by various vibrational spectroscopy methods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 9, p. 2475–2481, 2003.

SCHULZ, H. *et al.* Chemotaxonomic characterisation of essential oil plants by vibrational spectroscopy measurements. **Vibrational Spectroscopy**, v. 35, n. 1–2, p. 81–86, 2004.

____. Characterisation of essential oil plants from Turkey by IR and Raman spectroscopy.

Vibrational Spectroscopy, v. 39, n. 2, p. 249–256, 2005.

SCHULZ, H.; BARANSKA, M. Rapid evaluation of quality parameters in plant products applying ATR-IR and raman spectroscopy. **Acta Horticulturae**, v. 712 I, p. 347–355, 2006.

SCHULZ, H.; BARANSKA, M. Identification and quantification of valuable plant substances by IR and Raman spectroscopy. **Vibrational Spectroscopy**, v. 43, n. 1, p. 13–25, 2007.

SENTHIL KUMAR, K. J. *et al.* Geranium and lemon essential oils and their active compounds downregulate angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), a SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain, in epithelial cells. **Plants**, v. 9, n. 6, p. 1–12, 2020.

SETA, F. T. *et al.* Preparation and characterization of high yield cellulose nanocrystals (CNC) derived from ball mill pretreatment and maleic acid hydrolysis. **Carbohydrate Polymers**, v. 234, n. January, p. 115942, 2020.

SHAO, P. *et al.* Influences of *Ulva fasciata* polysaccharide on the rheology and stabilization of cinnamaldehyde emulsions. **Carbohydrate Polymers**, v. 135, p. 27–34, 2016.

SHARMA, A. D.; INDERJEET KAUR. Eucalyptol (1,8 cineole) from Eucalyptus Essential Oil a Potential Inhibitor of COVID 19 Corona Virus Infection by Molecular Docking Studies.

Preprints, 2020.

SHARMA, S.; SHARMA, J.; KAUR, G. Therapeutic uses of *Elettaria cardomum* Therapeutic uses of *Elettaria cardomum*. **INTERNATIONAL JOURNAL OF DRUG FORMULATION AND RESEARCH**, v. 2, n. 6, p. 102–108, 2011.

SHIN, J. *et al.* Biological activity of thyme white essential oil stabilized by cellulose nanocrystals. **Biomolecules**, v. 9, n. 12, p. 1–13, 2019.

SIDDIQUE, S. *et al.* Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oils from leaves of three *Melaleuca* species of Pakistani flora. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, n. 1, p. 67–74, 2020.

SILVA, A. R. **Desenvolvimento de Protocolo Para a Preparação de Nanoemulsões**. [s.l.] Universidade de Mogi das Cruzes, 2011.

SILVA, C. E. P. *et al.* Double stabilization mechanism of O/W Pickering emulsions using cationic nanofibrillated cellulose. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. Submitted, 2020.

SILVA, D. T. DA *et al.* Physicochemical characterization of leaf extracts from *Ocotea lancifolia* and its effect against wood-rot fungi. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 117, p. 158–170, 2017.

SILVA, J. K. R. DA *et al.* Essential oils as antiviral agents. Potential of essential oils to treat sars-cov-2 infection: An in-silico investigation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 10, 2020.

SILVA, K. V. S. *et al.* Inibitory effects of linalool on fungal pathogenicity of clinical isolates of *Microsporum canis* and *Microsporum gypseum*. **Mycoses**, v. 60, n. 6, p. 387–393, 2017.

SOO, Y. T. *et al.* Preparation of palm (*Elaeis oleifera*) pressed fibre cellulose nanocrystals via cation exchange resin: characterisation and evaluation as Pickering emulsifier. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 101, n. 10, p. 4161–4172, 2021.

SOUISSI, M. *et al.* Antibacterial and anti-inflammatory activities of cardamom (*Elettaria cardamomum*) extracts: Potential therapeutic benefits for periodontal infections. **Anaerobe**, v. 61, p. 102089, 2020.

SOUZA, A. G. *et al.* The effect of essential oil chemical structures on Pickering emulsion stabilized with cellulose nanofibrils. **Journal of Molecular Liquids**, v. 320, p. 114458, 2020.

_____. Starch-based films enriched with nanocellulose-stabilized Pickering emulsions containing different essential oils for possible applications in food packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 27, n. October 2020, p. 100615, 2021.

SOUZA, A. G. DE *et al.* A New Approach for Conversion of Eucalyptus Lignocellulosic Biomass into Cellulose Nanostructures : A Method that Can Be Applied in Industry A New Approach for Conversion of Eucalyptus Lignocellulosic Biomass into Cellulose Nanostructures : A Method that. **Journal of Natural Fibers**, v. 00, n. 00, p. 1–11, 2019.

SOUZA, A. G. DE *et al.* Cinnamon Essential Oil Nanocellulose-Based Pickering Emulsions: Processing Parameters Effect on Their Formation, Stabilization, and Antimicrobial Activity. **Polysaccharides**, v. 2, n. 3, p. 608–625, 2021.

SOUZA, A. G.; LIMA, G. F.; ROSA, D. DOS S. **Cellulose Nanostructures from lignocellulosic residues**. [s.l.] LAP LAMBERT Academic Publishing, 2019.

STOKES, G. G. On the effect of the internal friction of fluids on the motion of pendulums. *In: Transactions of the Cambridge Philosophical Society*. MATHEMATIC ed. [s.l.] Cambridge: Pitt Press, 1851. v. 9p. 8–18.

STREHLE, K. R. *et al.* Quality control of commercially available essential oils by means of Raman spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 19, p. 7020–7026, 2006.

ŠTULAR, D. *et al.* Antibacterial Activity and Biodegradation of Cellulose Fiber Blends with Incorporated ZnO. **Materials**, v. 12, n. October 2019, p. 3399, 2019.

SULBARÁN-RANGEL, B. *et al.* Partially acetylated cellulose nanofibrils from Agave tequilana bagasse and Pickering stabilization. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 0, n. 0, p. 1–9, 2020.

SWITZER, L. H.; KLINGENBERG, D. J. Rheology of sheared flexible fiber suspensions via fiber-level simulations. **Journal of Rheology**, v. 47, n. 3, p. 759–778, 2003.

TADROS, T. F. **Emulsions - Formation, stability, industrial applications**. Germany: De Gruyter, 2013.

TAHERIAN, A. R. *et al.* Rheology and stability of beverage emulsions in the presence and absence of weighting agents: A review. **Food Biophysics**, v. 3, n. 3, p. 279–286, 2008.

TAMBE, D. E.; SHARMA, M. M. Factors Controlling the Stability of Colloid-Stabilized Emulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 157, n. 1, p. 244–253, abr. 1993.

TANG, C. *et al.* Amphiphilic Cellulose Nanocrystals for Enhanced Pickering Emulsion Stabilization. **Langmuir**, v. 34, n. 43, p. 12897–12905, 2018.

TAYLOR, P. Ostwald ripening in emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 75, n. 2, p. 107–163, 1998.

TEHRANI-BAGHA, A. R. Cationic gemini surfactant with cleavable spacer: Emulsion stability. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 508, n. 2016, p. 79–84, 2016.

TEMPEL, M. VAN DEN. Stability of oil-in-water emulsions II: Mechanism of the coagulation of an emulsion. **Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas**, v. 72, n. 5, p. 433–441, 1953.

THOMAS, B. *et al.* Nanocellulose, a Versatile Green Platform: From Biosources to Materials and Their Applications. **Chemical Reviews**, v. 118, n. 24, p. 11575–11625, dez. 2018.

THUY, B. T. P. *et al.* Investigation into SARS-CoV-2 Resistance of Compounds in Garlic Essential Oil. **ACS Omega**, v. 5, n. 14, p. 8312–8320, 2020.

TIONG, A. C. Y. *et al.* Macroalgae-derived regenerated cellulose in the stabilization of oil-in-water Pickering emulsions. **Carbohydrate Polymers**, v. 249, n. August, p. 116875, 2020.

TRUZZI, E. *et al.* Attenuated total reflectance–Fourier transform infrared (ATR–FTIR) spectroscopy coupled with chemometric analysis for detection and quantification of adulteration in lavender and citronella essential oils. **Phytochemical Analysis**, n. November 2020, p. 1–14, 2021.

TUNG, Y. T. *et al.* Anti-inflammatory activities of essential oils and their constituents from different provenances of indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 10, p. 1130–1136, 2010.

VALDERRAMA, A. C. S.; ROJAS DE, G. C. Traceability of active compounds of essential oils in antimicrobial food packaging using a chemometric method by ATR-FTIR. **American Journal of Analytical Chemistry**, v. 08, n. 11, p. 726–741, 2017.

VARANASI, S. *et al.* Pickering Emulsions Electrostatically Stabilized by Cellulose Nanocrystals. **Frontiers in Chemistry**, v. 6, n. September, p. 1–9, 2018.

VASCONCELOS, N. G.; CRODA, J.; SIMIONATTO, S. Antibacterial mechanisms of cinnamon and its constituents: A review. **Microbial Pathogenesis**, v. 120, n. March, p. 198–203, 2018.

VIS, M. *et al.* Water-in-Water Emulsions Stabilized by Nanoplates. **ACS Macro Letters**, v. 4, n. 9, p. 965–968, 2015.

WALSTRA, P. Principles of emulsion formation. **Chemical Engineering Science**, v. 48, n. 2, p. 333–349, 1993.

WANG, B. *et al.* Stepwise interfacial self-assembly of nanoparticles via specific DNA pairing. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 9, n. 48, p. 6313–6318, 2007.

WANG, J. *et al.* In vitro and in vivo antiviral activity of gingerenone a on influenza a virus is mediated by targeting janus kinase 2. **Viruses**, v. 12, n. 10, p. 1–18, 2020.

WANG, YANAN *et al.* Using Cellulose Nanofibers and Its Palm Oil Pickering Emulsion as Fat Substitutes in Emulsified Sausage. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 6, p. 1740–1747, 2018.

WANI, A. R. *et al.* An updated and comprehensive review of the antiviral potential of essential oils and their chemical constituents with special focus on their mechanism of action against various influenza and coronaviruses. **Microbial Pathogenesis**, v. 152, n. October 2020, p. 104620, 2021.

WEERS, J. G. Molecular Diffusion in Emulsions and Emulsion Mixtures. *In: Modern Aspects of Emulsion Science*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2007. p. 292–327.

WEI, Z. *et al.* Genipin-crosslinked ovotransferrin particle-stabilized Pickering emulsions as delivery vehicles for hesperidin. **Food Hydrocolloids**, v. 94, n. April, p. 561–573, 2019.

WEN, C. *et al.* Preparation and stabilization of d-limonene Pickering emulsions by cellulose nanocrystals. **Carbohydrate Polymers**, v. 112, p. 695–700, 2014.

WHITBY, C. P.; KREBSZ, M. Coalescence in concentrated Pickering emulsions under shear. **Soft Matter**, v. 10, n. 27, p. 4848–4854, 2014.

WHITBY, C. P.; WANLESS, E. J. Controlling pickering emulsion destabilisation: A route to fabricating new materials by phase inversion. **Materials**, v. 9, n. 8, 2016.

WU, D. *et al.* Selective localization of nanofillers: Effect on morphology and crystallization of PLA/PCL blends. **Macromolecular Chemistry and Physics**, v. 212, n. 6, p. 613–626, 2011.

WU, X. *et al.* Ethyl cellulose nanodispersions as stabilizers for oil in water Pickering emulsions. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2017.

XHANARI, K. *et al.* Structure of nanofibrillated cellulose layers at the o/w interface. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 356, n. 1, p. 58–62, 2011.

XIONG, W. *et al.* Emulsion stability and dilatational viscoelasticity of ovalbumin/chitosan complexes at the oil-in-water interface. **Food Chemistry**, v. 252, n. September 2017, p. 181–188, 2018.

XU, W. *et al.* Stability, microstructural and rheological properties of complex prebiotic emulsion stabilized by sodium caseinate with inulin and konjac glucomannan. **Food Hydrocolloids**, v. 105, n. February, p. 105772, 2020.

YADALAM, P. K. *et al.* Antiviral Essential Oil Components Against SARS-CoV-2 in Pre-procedural Mouth Rinses for Dental Settings During COVID-19: A Computational Study. **Frontiers in Chemistry**, v. 9, n. March, 29 mar. 2021.

YAN, X. *et al.* Protein-stabilized Pickering emulsions: Formation, stability, properties, and applications in foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 103, n. July, p. 293–303, 2020.

YAN, Y.; CHANG, L.; WANG, L. Laboratory testing of SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2 (2019-nCoV): Current status, challenges, and countermeasures. **Reviews in Medical Virology**, v. 30, n. 3, 17 maio 2020.

YAQOOB KHAN, A. *et al.* Multiple Emulsions: An Overview. **Current Drug Delivery**, v. 3, n. 4, p. 429–443, 1 out. 2006.

YAZGAN, H. Investigation of antimicrobial properties of sage essential oil and its nanoemulsion as antimicrobial agent. **Lwt**, v. 130, n. February, p. 109669, 2020.

YE, F. *et al.* Elucidation of stabilizing oil-in-water Pickering emulsion with different modified maize starch-based nanoparticles. **Food Chemistry**, v. 229, p. 152–158, 2017.

____. Characterisations of oil-in-water Pickering emulsion stabilized hydrophobic phytoglycogen nanoparticles. **Food Hydrocolloids**, v. 76, p. 78–87, 2018.

YU, H. *et al.* Cellulose nanocrystals based clove oil Pickering emulsion for enhanced antibacterial activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 170, p. 24–32, 2021.

YUAN, H. *et al.* Novel fluorescent lignin-based hydrogel with cellulose nanofibers and carbon dots for highly efficient adsorption and detection of Cr(VI). **Science of the Total Environment**, v. 760, 2021.

YUAN, T. *et al.* Pickering emulsion stabilized by cellulosic fibers: Morphological properties-interfacial stabilization-rheological behavior relationships. **Carbohydrate Polymers**, v. 269, n. May, p. 118339, 2021.

ZHAI, XIANGANG *et al.* Inverse Pickering emulsions stabilized by carbon quantum dots: Influencing factors and their application as templates. **Chemical Engineering Journal**, v. 345, n. December 2017, p. 209–220, 2018.

ZHAI, XICHUAN *et al.* Emulsions stabilized by nanofibers from bacterial cellulose: New potential food-grade Pickering emulsions. **Food Research International**, v. 103, p. 12–20, 2018.

ZHAN, C.-G.; NICHOLS, J. A.; DIXON, D. A. Ionization Potential, Electron Affinity, Electronegativity, Hardness, and Electron Excitation Energy: Molecular Properties from Density Functional Theory Orbital Energies. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 107, n. 20, p. 4184–4195, 1 maio 2003.

ZHANG, C. *et al.* Cinnamomum cassia Presl: A review of its traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology. **Molecules**, v. 24, n. 19, p. 3473–3504, 2019.

ZHANG, S. *et al.* Pea protein microgel particles as Pickering stabilisers of oil-in-water emulsions: Responsiveness to pH and ionic strength. **Food Hydrocolloids**, v. 102, n. November 2019, p. 105583, 2020.

ZHANG, Y. *et al.* Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against Escherichia coli and Staphylococcus aureus. **Food Control**, v. 59, p. 282–289, 2016.

ZHANG, Y. *et al.* Nanoemulsions and Nanolatexes Stabilized by Hydrophobically Functionalized Cellulose Nanocrystals. **Macromolecules**, v. 50, n. 16, p. 6032–6042, 2017.

ZHAO, R. *et al.* Cutoff Ostwald ripening stability of eugenol-in-water emulsion by co-stabilization method and antibacterial activity evaluation. **Food Hydrocolloids**, v. 107, n. 1, p. 105925, 2020.

ZHAO, X. *et al.* Rheological and physical properties of O/W protein emulsions stabilized by isoelectric solubilization/precipitation isolated protein: The underlying effects of varying protein concentrations. **Food Hydrocolloids**, v. 95, p. 580–589, 2019.

ZHAO, Y. *et al.* Fabrication of Two Kinds of Polymer Microspheres Stabilized by Modified Titania during Pickering Emulsion Polymerization. **Macromolecular Chemistry and Physics**, v. 211, p. 2517–2529, 2010.

ZHOU, F. Z. *et al.* Fabrication of Zein/Pectin Hybrid Particle-Stabilized Pickering High Internal Phase Emulsions with Robust and Ordered Interface Architecture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 42, p. 11113–11123, 2018.

ZHOU, J. *et al.* Progress and Perspective of Antiviral Protective Material. **Advanced Fiber Materials**, v. 2, n. 3, p. 123–139, jun. 2020.

ZHOU, L. *et al.* Applications and effects of ultrasound assisted emulsification in the production of food emulsions: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 110, n. 1, p. 493–512, 2021.

ZHU, W. *et al.* Influence of formulation parameters on lipid oxidative stability of Pickering emulsion stabilized by hydrophobically modified starch particles. **Carbohydrate Polymers**, v. 246, n. March, p. 116649, 2020.

ZHU, X. *et al.* Tuning complexation of carboxymethyl cellulose/ cationic chitosan to stabilize Pickering emulsion for curcumin encapsulation. **Food Hydrocolloids**, v. 110, n. July 2020, p. 106135, 2021.

ZOU, T.; SIPPONEN, M. H.; ÖSTERBERG, M. Natural Shape-Retaining Microcapsules With Shells Made of Chitosan-Coated Colloidal Lignin Particles. **Frontiers in Chemistry**, v. 7, n. May, p. 1–12, 2019.

ANEXO I - Teste Tukey para as misturas óleo/água

Tabela I. Teste Tukey para as misturas de óleo essencial de linalol e água, sem estabilizante, para os tamanhos de partícula no dia de preparo (dia 0).

	1	2	3	4	5	6	7	8
1		0	0.00398	0	0.848	0.001133	0.1464	0.00089
2	14.35		4.78×10^{-9}	0.462	0	6.32×10^{-8}	0	0
3	5.364	8.99		0	0.2562	1	1.34×10^{-9}	0
4	17.23	2.871	11.86		0	0	0	0
5	2.008	12.35	3.356	15.22		0.1268	0.00145	8.96×10^{-7}
6	5.814	8.54	0.4498	11.41	3.806		0	0
7	3.721	18.08	9.085	20.95	5.729	9.535		0.7878
8	5.893	20.25	11.26	23.12	7.901	11.71	2.172	

Tabela II. Teste Tukey para as misturas de óleo essencial de cardamomo e água, sem estabilizante, para os tamanhos de partícula medidos por microscopia ótica no dia de preparo (dia 0).

	25	26	27	28	29	30	31	32
25		0	0	0	0	0	0	0
26	35.87		0	3.88×10^{-6}	7.14×10^{-6}	0.9358	0.9988	0
27	22.13	13.75		0.00031	0.00019	0	0	0.7951
28	28.36	7.51	6.236		1	0.0011	1.33×10^{-7}	1.22×10^{-7}
29	28.53	7.345	6.401	0.1647		0.00173	2.60×10^{-7}	6.13×10^{-8}
30	34.2	1.678	12.07	5.832	5.667		0.6246	0
31	36.73	0.8586	14.6	8.368	8.204	2.537		0
32	19.97	15.9	2.154	8.39	8.554	14.22	16.76	

Tabela III. Teste Tukey para as misturas de óleo essencial de canela e água, sem estabilizante, para os tamanhos de partícula medidos por microscopia ótica no dia de preparo (dia 0).

	49	50	51	52	53	54	55	56
49		0.6082	0.3264	0.589	0.100	1	0.999	0
50	2.57		1	1	0.904	0.462	0.406	4.76×10^{-7}
51	3.173	0.522		0.100	0.697	0.225	0.187	2.029×10^{-6}
52	2.608	0.009	0.541		0.898	0.443	0.388	2.666×10^{-6}
53	0.701	1.818	2.384	1.84		0.994	0.989	9.281×10^{-11}
54	0.456	2.872	3.445	2.91	1.104		1	4.506×10^{-13}
55	0.574	2.99	3.567	3.03	1.22	0.111		0
56	11.01	8.044	7.674	8.188	9.976	10.87	11.01	

ANEXO II - Teste Tukey para emulsões estabilizadas com CNCs

Tabela I. Teste Tukey para as emulsões de linalol estabilizadas com CNC, para os tamanhos de partícula no dia de preparo (dia 0).

	9	10	11	12	13	14	15	16
9		0	0.928	0.625	5.93×10^{-6}	1	0.031	0.069
10	39.58		0	0	0	0	0	0
11	1.712	37.87		0.999	0.0016	0.9321	0.492	0.678
12	2.536	37.04	0.8239		0.0140	0.6327	0.856	0.949
13	7.405	32.17	5.693	4.869		6.29×10^{-6}	0.455	0.289
14	0.0158	39.56	1.696	2.52	7.389		0.032	0.071
15	4.52	35.06	2.808	1.984	2.885	4.504		1
16	4.137	35.44	2.425	1.601	3.268	4.121	0.383	

Tabela II. Teste Tukey para as emulsões de óleo essencial de cardamomo contendo CNC, para os tamanhos de partícula medidos no dia de preparo (dia 0).

	33	34	35	36	37	38	39	40
33		0	1.10×10^{-8}	0	0	0.02624	0.1168	0.839
34	19.25		2.15×10^{-11}	0.024	0.0157	0	0	0
35	8.954	10.29		0	0.0030	0.04418	0.007847	3.26×10^{-5}
36	23.88	4.636	14.93		1.16×10^{-9}	0	0	0
37	14.43	4.82	5.471	9.457		2.06×10^{-9}	4.97×10^{-12}	0
38	4.597	14.65	4.357	19.28	9.828		0.9995	0.612
39	3.852	15.39	5.102	20.03	10.57	0.7453		0.9044
40	2.035	17.21	6.919	21.85	12.39	2.563	1.817	

Tabela III. Teste Tukey para as emulsões óleo essencial de canela e água estabilizadas com CNC, para os tamanhos de partícula medidos por microscopia ótica no dia de preparo (dia 0).

	57	58	59	60	61	62	63	64
57		0.5726	0.5443	0.3441	0.9589	0	0.4044	1
58	2.644		1	0.001273	0.9941	0	1	0.4857
59	2.701	0.05781		0.001076	0.992	0	1	0.458
60	3.132	5.776	5.833		0.02224	0	0.0004467	0.4233
61	1.541	1.102	1.16	4.673		0	0.9702	0.9272
62	13.92	11.27	11.22	17.05	12.38		0	0
63	2.995	0.3512	0.2934	6.127	1.454	10.92		0.3269
64	0.1783	2.822	2.88	2.954	1.719	14.1	3.173	

ANEXO III - Teste Tukey para emulsões estabilizadas com CNFs

Tabela I. Teste Tukey para as emulsões de linalol estabilizadas com CNF, para os tamanhos de partícula no dia de preparo (dia 0).

	17	18	19	20	21	22	23	24
17		0	6.37×10^{-5}	3.67×10^{-8}	0	0.9994	1	0
18	11.05		0.04832	0.705	0.07494	0	0	0
19	6.734	4.316		0.8666	1.18×10^{-7}	4.22×10^{-6}	0.00018	0
20	8.684	2.366	1.951		0.00016	0	1.39×10^{-7}	0
21	15.15	4.096	8.412	6.461		0	0	0
22	0.768	11.82	7.502	9.452	15.91		0.9949	0
23	0.310	10.74	6.423	8.374	14.83	1.078		0
24	28.23	17.18	21.5	19.55	13.09	29	27.92	

Tabela II. Teste Tukey para as emulsões de cardamomo estabilizadas com CNF, para os tamanhos de partícula no dia de preparo (dia 0).

	41	42	43	44	45	46	47	48
41		0	0.0009	0.0966	0.0002	0.9989	7.65×10^{-10}	0.9773
42	32.41		0	0	0	0	0	0
43	5.926	26.49		0.8638	1	6.51×10^{-5}	0.1384	0.0306
44	3.967	28.45	1.959		0.6687	0.01677	0.0016	0.6023
45	6.411	26	0.485	2.444		1.25×10^{-5}	0.2873	0.001
46	0.843	33.26	6.768	4.81	7.254		0	0.7655
47	9.687	22.73	3.761	5.72	3.276	10.53		2.53×10^{-7}
48	1.384	31.03	4.542	2.583	5.027	2.226	8.303	

Tabela III. Teste Tukey para as emulsões de canela estabilizadas com CNF, para os tamanhos de partícula no dia de preparo (dia 0).

	65	66	67	68	69	70	71	72
65		0.246	4.26×10^{-10}	4.25×10^{-10}	4.25×10^{-10}	4.25×10^{-10}	4.25×10^{-10}	4.25×10^{-10}
66	3.387		4.25×10^{-10}	4.25×10^{-10}	4.25×10^{-10}	4.25×10^{-10}	4.25×10^{-10}	4.25×10^{-10}
67	11.35	14.73		0.994	0.6433	0.3344	1	9.18×10^{-10}
68	12.45	15.84	1.105		0.9764	0.8331	0.9983	6.05×10^{-8}
69	13.85	17.23	2.498	1.393		0.9998	0.736	1.27×10^{-5}
70	14.5	17.89	3.156	2.051	0.658		0.4235	0.00012
71	11.55	14.94	0.2019	0.9027	2.296	2.954		1.65×10^{-9}
72	21.06	24.45	9.713	8.608	7.215	6.557	9.511	

APENDICE I - Artigos publicados durante o período do doutorado

Ano de 2022

1. **SOUZA, A. G.**; FERREIRA, RAFAELA REIS ; DE OLIVEIRA, EDER RAMIN ; KATO, MAURÍCIO M. ; MITRA, SUSHANTA K. ; ROSA, Derval DOS SANTOS. Chemical Stabilization behind Cardamom Pickering Emulsion Using Nanocellulose. *Polysaccharides*, v. 3, p. 200-216, 2022.
2. **DE SOUZA, ALANA GABRIELI**; BARBOSA, RENNAN FELIX DA SILVA; QUISPE, YASMIN MONTERO; ROSA, Derval DOS SANTOS. Essential oil microencapsulation with biodegradable polymer for food packaging application. *JOURNAL OF POLYMERS AND THE ENVIRONMENT*, v. online, p. 1-9, 2022.
3. SILVA, DANIEL J.; BARBOSA, RENNAN F.S.; **Souza, Alana G.**; FERREIRA, RAFAELA R.; CAMANI, PAULO H.; Rosa, Derval S. Morphological, UV blocking, and antimicrobial features of multifunctional cotton fibers coated with ZnO/Cu via sonochemistry. *MATERIALS CHEMISTRY AND PHYSICS*, v. 286, p. 126210, 2022.
4. FERREIRA, GREICIELE DA S.; DA SILVA, DANIEL J.; ZANATA, LEONARDO; **Souza, Alana G.**; FERREIRA, RAFAELA R.; ROSA, Derval S. Antimicrobial cotton wipes functionalized with *Melaleuca alternifolia* Pickering emulsions stabilized with cellulose nanofibrils. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, v. 3, p. 100208, 2022.

Ano de 2021

5. **SOUZA, A. G.**; FERREIRA, R. R.; AGUILAR, E. S. F.; ZANATA, L.; ROSA, D. S. Cinnamon Essential Oil Nanocellulose-Based Pickering Emulsions: Processing Parameters Effect on Their Formation, Stabilization, and Antimicrobial Activity. *Polysaccharides*, v. 2, p. 608-625, 2021.
6. **SOUZA, A. G.**; Ferreira, R. R. ; PAULA, L. C. ; Mitra, S.; Rosa, D. S. Starch-based films enriched with nanocellulose-stabilized Pickering emulsions containing different essential oils for possible applications in food packaging. *FOOD PACKAGING AND SHELF LIFE*, v. 27, p. 100615-100626, 2021.
7. **SOUZA, A. G.**; KOMATSU, L. G. H. ; BARBOSA, R. F. S. ; PARRA, D. F. ; ROSA, D. S. The effect of ZnO nanoparticles as Ag-carrier in PBAT for antimicrobial films. *POLYMER BULLETIN*, v. 79, p. 1-12, 2021.
8. ZANINI, N. C.; **SOUZA, A. G.**; BARBOSA, R. F. S.; ROSA, D. S.; MULINARI, D. R. Eco-friendly composites of polyurethane and sheath palm residues. *JOURNAL OF CELLULAR PLASTICS*, v. online, p. 0021955X2098715, 2021.
9. MONTERO, Y.; **SOUZA, A. G.**; OLIVEIRA, É. R.; ROSA, D. S. Nanocellulose functionalized with cinnamon essential oil: A potential application in active biodegradable packaging for strawberry. *SUSTAINABLE MATERIALS AND TECHNOLOGIES*, v. 29, p. e00289, 2021.
10. FERREIRA, R. R.; **Souza, A. G.**; ROSA, D. S. Essential oil-loaded nanocapsules and their application on PBAT biodegradable films. *JOURNAL OF MOLECULAR LIQUIDS*, v. 337, p. 116488, 2021.
11. FERREIRA, R. R.; **Souza, A. G.**; QUISPE, Y. M.; ROSA, D. S. Essential oils loaded-chitosan nanocapsules incorporation in biodegradable starch films: A strategy to improve fruits shelf life. *INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES*, v. 188, p. 628-638, 2021.
12. HANAUER, D. C.; **SOUZA, A. G.**; CARGNIN, M. A.; GASPARIN, B. C.; ROSA, D. S.; PAULINO, A. T. Pectin-based biohydrogels reinforced with eucalyptus sawdust: Synthesis, characterization, β -D-Galactosidase immobilization and activity. *JOURNAL OF INDUSTRIAL AND ENGINEERING CHEMISTRY*, v. 97, p. 368-382, 2021.
13. MARCIANO, J. S.; FERREIRA, R. R.; **SOUZA, A. G.**; BARBOSA, R. F. S.; MOURA JUNIOR, A. J.; ROSA, D. S. Biodegradable gelatin composite hydrogels filled with cellulose for chromium (VI)

adsorption from contaminated water. *INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES*, v. 181, p. 112-124, 2021.

14. BAULI, C. R.; LIMA, G. F.; **SOUZA, A. G.**; FERREIRA, R. R.; ROSA, D. S. Eco-friendly carboxymethyl cellulose hydrogels filled with nanocellulose or nanoclays for agriculture applications as soil conditioning and nutrient carrier and their impact on cucumber growing. *COLLOIDS AND SURFACES A-PHYSICOCHEMICAL AND ENGINEERING ASPECTS*, v. 623, p. 126771, 2021.

15. SILVA, D. J.; BARBOSA, R. F. S.; **SOUZA, A. G.**; FERREIRA, R. R.; CAMANI, P. H.; NANTES-CARDOSO, I. L.; ROSA, D. S. Bactericidal activity of cotton fabrics functionalized by ZnO and Cu via microwave. *Cellulose*, v. online, p. 1, 2021.

16. OLIVEIRA, É. R.; CAMPINI, P. A. L.; **SOUZA, A. G.**; SILVA, C. G.; YUDICE, E. D. C.; ROSA, D. S. Antibacterial cellulose papers loaded with different isolated active compounds for food packaging applications. *IRANIAN POLYMER JOURNAL*, v. online, p. 1, 2021.

17. MARTINS, L. S.; ZANINI, N. C.; MAIA, L. S.; **SOUZA, A. G.**; BARBOSA, R.F.S.; ROSA, D. S.; MULINARI, D. R. Crude oil and S500 diesel removal from seawater by polyurethane composites reinforced with palm fiber residues. *CHEMOSPHERE*, v. 267, p. 129288, 2021.

18. CORTAT, L. O.; ZANINI, N. C.; BARBOSA, R. F. S.; **SOUZA, A. G.**; ROSA, D. S.; MULINARI, D. R. A Sustainable Perspective for Macadamia Nutshell Residues Revalorization by Green Composites Development. *JOURNAL OF POLYMERS AND THE ENVIRONMENT*, v. 29, p. 1, 2021.

19. MARTINS, L. S.; CORTAT, L. I. C. C. O.; ZANINI, N. C.; BARBOSA, R. F. S.; **SOUZA, A. G.**; MEDEIROS, S. F.; ROSA, D. S.; MULINARI, D. R. A versatile filler in polyhydroxyalcanoates filaments for FDM: a diverse panorama for Pullulan application. *Materials Today Communications*, v. 28, p. 102690, 2021.

20. DA SILVA, DANIEL J.; **Souza, Alana G.**; FERREIRA, GREICIELE DA S.; DURAN, ADRIANA; CABRAL, ALINE D.; FONSECA, FERNANDO L. A.; BUENO, RODRIGO F.; ROSA, D. S. Cotton Fabrics Decorated with Antimicrobial Ag-Coated TiO Nanoparticles Are Unable to Fully and Rapidly Eradicate SARS-CoV-2. *Acs Applied Nano Materials*, v. 4, p. 12949-12956, 2021.

Ano de 2020

21. **SOUZA, A. G.**; JUNQUEIRA, M. T.; LIMA, G. F.; RANGARI, V. K.; ROSA, D. S. A New Proposal of Preparation of Different Polymorphs of Nanocellulose from *Eucalyptus citriodora*. *JOURNAL OF POLYMERS AND THE ENVIRONMENT*, v. online, p. 1, 2020.

22. **SOUZA, A. G.**; BARBOSA, R. F. S.; ROSA, D. S. Nanocellulose from industrial and agricultural waste for further use in PLA composites. *JOURNAL OF POLYMERS AND THE ENVIRONMENT*, v. 28, p. 1, 2020.

23. **SOUZA, A. G.**; LIMA, G. F.; COLOMBO, R.; ROSA, D. S. A new approach for the use of anionic surfactants: nanocellulose modification and development of biodegradable nanocomposites. *Cellulose*, v. online, p. 1-22, 2020.

24. **SOUZA, A. G.**; LIMA, G. F.; RANGARI, V. K.; ROSA, D. S. Investigation of nanocellulose as reinforcing agent on biodegradable nanocomposites. *POLYMER COMPOSITES*, v. online, p. pc.25716, 2020.

25. **Souza, A. G.**; VIANA, D. J. S.; SANTOS, A. S.; ANDRADE JUNIOR, V. C.; ROSA, D. S. Structure and properties of starch and flour of four Brazilian sweet potatoes (*Ipomoea batatas*) cultivars. *Matéria-Rio de Janeiro*, v. 25, p. e18828, 2020.

26. **SOUZA, A. G.**; SANTOS, N. M. A.; TORIN, R. F. S.; ROSA, D. S. Synergic antimicrobial properties of Carvacrol essential oil and montmorillonite in biodegradable starch films. *INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES*, v. 164, p. 1737-1747, 2020.

27. **Souza, A. G.**; FERREIRA, R. R.; PAULA, L. C.; SETZ, L. F. G.; Rosa, D. S. The effect of essential oil chemical structures on Pickering emulsion stabilized with cellulose nanofibrils. *JOURNAL OF MOLECULAR LIQUIDS*, v. 320, p. 114458, 2020.
28. **SOUZA, A. G.**; SANTOS, D. F.; FERREIRA, R. R.; PINTO, V. Z.; ROSA, D. S. Innovative process for obtaining modified nanocellulose from soybean straw. *INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES*, v. 165, p. 1803-1812, 2020.
29. **Souza, A. G.**; FERREIRA, R. R.; HARADA, J.; Rosa, D. S. Field performance on lettuce crops of poly(butylene adipate-co-terephthalate)/polylactic acid as alternative biodegradable composites mulching films. *JOURNAL OF APPLIED POLYMER SCIENCE*, v. 138, p. 50020, 2020.
30. BARBOSA, R. F. S.; **Souza, A. G.**; Rosa, D. S. Acetylated cellulose nanostructures as reinforcement materials for PBAT nanocomposites. *POLYMER COMPOSITES*, v. online, p. 1-14, 2020.
31. BARBOSA, R. F. S.; **Souza, A. G.**; MALTEZ, H. F.; Rosa, D. S. Chromium removal from contaminated wastewaters using biodegradable membranes containing cellulose nanostructures. *CHEMICAL ENGINEERING JOURNAL*, v. 395, p. 125055, 2020.
32. ZANINI, N. C.; **Souza, A. G.**; BARBOSA, R. F. S.; Rosa, D. S.; MULINARI, D. R. A novel hybrid polyurethane composites with particles and sheath palm residues: Synergistic effect. *POLYMER COMPOSITES*, v. online, p. 1-11, 2020.
33. CAMANI, P. H.; **SOUZA, A. G.**; BARBOSA, R. F. S.; ZANINI, N. C.; MULINARI, D. R.; ROSA, D. S. Comprehensive insight into surfactant modified-PBAT physico-chemical and biodegradability properties. *CHEMOSPHERE*, v. 1, p. 128708, 2020.
34. LIMA, G. F.; **Souza, A. G.**; ROSA, D. S. Nanocellulose as Reinforcement in Carboxymethylcellulose Superabsorbent Nanocomposite Hydrogels. *MACROMOLECULAR SYMPOSIA (ONLINE)*, v. 394, p. 2000126, 2020.
35. CAMANI, P. H.; **SOUZA, A. G.**; ROSA, D. S. Electrostatic or Steric Stabilization of the Cellulose Nanostructures Using Different Modifying Agents. *MACROMOLECULAR SYMPOSIA (ONLINE)*, v. 394, p. 2000110, 2020.
36. BARBOSA, R. F. S.; **SOUZA, A. G.**; RANGARI, V.; ROSA, D. S. The influence of PBAT content in the nanocapsules preparation and its effect in essential oils release. *FOOD CHEMISTRY*, v. 334, p. 128611-128611, 2020.
37. VERDI, A. G.; **SOUZA, A. G.**; ROCHA, D. B.; OLIVEIRA, S. A.; ALVES, R. M. V.; ROSA, D. S. Biodegradable films functionalized with Moringa oleifera applied in food packaging. *IRANIAN POLYMER JOURNAL*, v. online, p. 1-12, 2020.
38. ROCHA, D. B.; **SOUZA, A. G.**; SZOSTAK, M.; ROSA, D. S. Polylactic acid/Lignocellulosic residue composites compatibilized through a starch coating. *POLYMER COMPOSITES*, v. online, p. pc.25616, 2020.
39. ZANINI, N. C.; BARBOSA, R. F. S.; **SOUZA, A. G.**; ROSA, D. S.; MULINARI, D. R. Revaluation of Australian palm residues in polypropylene composites: Statistical influence of fiber treatment. *JOURNAL OF COMPOSITE MATERIALS*, v. online, p. 1, 2020.

Ano de 2019

40. **SOUZA, A. G.**; ROCHA, D. B.; KANO, F. S.; ROSA, D. S. Valorization of industrial paper waste by isolating cellulose nanostructures with different pretreatment methods. *RESOURCES CONSERVATION AND RECYCLING*, v. 143, p. 133-142, 2019.
41. **SOUZA, A. G.**; CESCO, C. T.; LIMA, G. F.; ARTIFON, S. E. S.; ROSA, D. S.; PAULINO, A. T. Arabic gum-based composite hydrogels reinforced with eucalyptus and pinus residues for controlled phosphorus release. *INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOLOGICAL MACROMOLECULES*, v. 140, p. 33-42, 2019.

42. **SOUZA, A. G.**; NUNES, E. C. D.; ROSA, D. S. Understanding the effect of chain extender on poly(butylene adipate-co-terephthalate) structure. *IRANIAN POLYMER JOURNAL*, p. 1-10, 2019.
43. **SOUZA, A. G.**; LIMA, G. F.; RODRIGUES, R. C. L. B.; CESARINO, I.; LEÃO, A. L.; Rosa, D. S. A New Approach for Conversion of Eucalyptus Lignocellulosic Biomass into Cellulose Nanostructures: A Method that Can Be Applied in Industry. *Journal of Natural Fibers*, v. online, p. 1-11, 2019.
44. Barbosa, R. F. S.; **SOUZA, A. G.**; FERREIRA, F. F.; ROSA, D. S. Isolation and acetylation of cellulose nanostructures with a homogeneous system. *CARBOHYDRATE POLYMERS*, v. 218, p. 208-217, 2019.
45. KANO, F. S.; **SOUZA, A. G.**; ROSA, D. S. Variation of the milling conditions in the obtaining of nanocellulose from the paper sludge. *Materia-Rio de Janeiro*, v. 24, p. 1-1, 2019.
46. NUNES, E. C. D.; **SOUZA, A. G.**; ROSA, D. S. Use of a chain extender as a dispersing agent of the CaCO₃ into PBAT matrix. *JOURNAL OF COMPOSITE MATERIALS*, p. 002199831988028, 2019.
47. FERREIRA, R. R.; **Souza, A. G.**; NUNES, L. L.; SHAHI, N.; RANGARI, V. K.; ROSA, D. S. Use of ball mill to prepare nanocellulose from eucalyptus biomass: challenges and process optimization by combined method. *Materials Today Communications*, v. 22, p. 100755, 2019.
48. LIMA, G. F.; **SOUZA, A. G.**; BAULI, C. R.; BARBOSA, R. F. S.; ROCHA, D. B.; ROSA, D. S. Surface modification effects on the thermal stability of cellulose nanostructures obtained from lignocellulosic residues. *JOURNAL OF THERMAL ANALYSIS AND CALORIMETRY*, p. 01, 2019.