



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE
SANTANA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIOTECNOLOGIA**



GABRIELLY SOBRAL NEIVA

**EFEITO DA NANOEMULSÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE
Lippia origanoides NAS PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES E
ANTIMICROBIANAS DE FILMES BIODEGRADÁVEIS COM
PROTEÇÃO UV**

Feira de Santana, BA

2025

GABRIELLY SOBRAL NEIVA

**EFEITO DA NANOEMULSÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE
Lippia origanoides NAS PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES E
ANTIMICROBIANAS DE FILMES BIODEGRADÁVEIS COM
PROTEÇÃO UV**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Feira de Santana como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Paulo José Lima Juiz

Co-orientadora: Profa. Dra Geany Peruch Camilloto

Feira de Santana, BA

2025

Ficha catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteadó - UEFS

Neiva, Gabrielly Sobral

N338e Efeito da nanoemulsão de óleo essencial de *Lippia origanoides* nas propriedades antioxidantes e antimicrobianas de filmes biodegradáveis com proteção UV / Gabrielly Sobral Neiva. – 2025.
89f. : il

Orientador: Paulo José Lima Juiz
Coorientadora: Geany Peruch Camilloto

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Feira de Santana. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2025.

1. Nanotecnologia. 2. Embalagens ativas. 3. Segurança alimentar.
4. Nanoemulsão. 5. *Lippia origanoides*. I. Juiz, Paulo José Lima, orient.
II. Camilloto, Geany Peruch, coorient. III. Universidade Estadual de Feira de Santana. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. IV. Título.

CDU: 621.798

Rejane Maria Rosa Ribeiro – Bibliotecária CRB-5/695

GABRIELLY SOBRAL NEIVA

**EFEITO DA NANOEMULSÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia
origanoides* NAS PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES E
ANTIMICROBIANAS DE FILMES BIODEGRADÁVEIS COM
PROTEÇÃO UV**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Feira de Santana, área de concentração em Biotecnologia com ênfase em Recursos Naturais da Região Nordeste, como requisito para obtenção do grau de doutor, tendo sido aprovada pelos membros signatários abaixo.

Feira de Santana, Bahia, 17 de dezembro de 2025.

Documento assinado digitalmente
 **PAULO JOSE LIMA JUIZ**
Data: 08/02/2026 13:02:55-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Orientador e presidente da Banca: Prof. Dr. Paulo José Lima Juiz
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)

Documento assinado digitalmente
 **ELAINE CHRISTINE DE MAGALHAES CABRAL ALE**
Data: 19/12/2025 07:01:29-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membra: Prof^ª. Dr^ª. Elaine Christine de Magalhães Cabral Albuquerque
Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Documento assinado digitalmente
 **JESSICA SOUZA RIBEIRO**
Data: 19/12/2025 10:37:59-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membra: Prof^ª. Dr^ª. Jéssica Souza Ribeiro
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)

Documento assinado digitalmente
 **SAMANTHA SERRA COSTA**
Data: 19/12/2025 18:08:12-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membra: Prof^ª. Dr^ª. Samantha Serra Costa
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)

Documento assinado digitalmente
 **MIRIANE MOREIRA FERNANDES SANTOS**
Data: 19/12/2025 16:37:26-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membra: Prof^ª. Dr^ª. Miriane Moreira Fernandes Santos
Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS)

*“Tempo rei, ó, tempo rei, ó, tempo rei
Transformai as velhas formas do viver
Ensinai-me, ó, Pai, o que eu ainda não sei”.*

Tempo Rei – Gilberto Gil

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder a força, a sabedoria e a fé que sustentaram cada passo desta jornada. Aos meus Guias e Orixás, pela luz, proteção e firmeza nos momentos de dúvida e medo. Sem a presença espiritual que me acompanha e guia, este caminho não teria sido possível.

À minha família, o alicerce que me sustentou nos dias de cansaço e incerteza. Ao meu marido Arthur, por compreender as ausências, dividir os fardos e me incentivar com amor. À minha filha Luísa, razão do meu esforço e maior inspiração para nunca desistir, que ela saiba que cada conquista que realizo é por ela.

À minha mãe, por me ensinar o valor do estudo, da honestidade e da persistência.

Ao meu orientador, professor Dr. Paulo José Lima Juiz, pela confiança depositada, por acreditar no meu potencial, pela paciência e amizade e pelas valiosas contribuições que enriqueceram este trabalho.

À minha coorientadora professora Dra. Geany Peruch Camilloto, pelo acolhimento no laboratório, generosidade, confiança e pela dedicação em cada experimento e orientação.

À professora Dra. Angelica Maria Luchesse, por permitir o uso de seu laboratório e pela valiosa contribuição no desenvolvimento deste trabalho, essenciais para que muitas etapas desta pesquisa se concretizassem.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Embalagens de Alimentos (LABEA) e Laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioativos (LAPRON). A convivência diária, as trocas de conhecimento, as risadas entre os experimentos e o apoio mútuo fizeram toda diferença na construção desta tese.

Aos amigos que acompanharam esta trajetória, em especial Tainar Cerqueira, pela generosidade em me acolher na sua casa durante os experimentos e Luiza Barbalho por todo apoio, amizade e incentivo.

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

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	12
CAPÍTULO 1 – NANOEMULSION CONTAINING <i>Lippia origanoides</i> ESSENTIAL OIL: CHARACTERIZATION, CHEMICAL COMPOSITION, ANTIBACTERIAL ACTIVITIES	17
1 INTRODUCTION	19
2 MATERIAL AND METHODS	20
2.1 ESSENTIAL OIL EXTRACTION	20
2.1.1 Determinação da composição química do óleo essencial	20
2.2 PREPARAÇÃO DE NANOEMULSÃO	21
2.3 CARACTERIZAÇÃO DE NANOEMULSÕES	21
2.4 ENSAIO DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	22
3. RESULTADOS	23
4. DISCUSSÃO	25
REFERÊNCIAS	33
CAPÍTULO 2 – FILMES DE CARBOXIMETILCELULOSE INTEGRADOS COM NANOEMULSÃO DE <i>Lippia</i> O óleo essencial de <i>Origanoides</i> apresenta propriedades antimicrobianas, fotoprotetoras e antioxidantes.	40
1 INTRODUÇÃO	40
2 MATERIAIS E MÉTODOS	41
2.1 PREPARAÇÃO DA NANOEMULSÃO	42
2.2 CARACTERIZAÇÃO DA NANOEMULSÃO	41
2.3 PRODUÇÃO DE FILMES ATIVOS	43
2.4 CARACTERIZAÇÃO DE FILMES ATIVOS	44
2.4.1 Determinação da Espessura	43
2.4.2 Avaliação das propriedades mecânicas	43
2.4.3 Determinação da permeabilidade ao vapor de água	43
2.4.4 Propriedades Ópticas	44
2.4.5 Opacidade e Transmissão de Luz	45
2.4.6 Avaliação das propriedades térmicas	46
2.4.7 Difração de raios X (DRX)	46
2.4.8 Testes antioxidantes (DPPH e ABTS)	46
2.4.9 Atividade antimicrobiana in vitro de compostos voláteis do filme ativo	46
2.4.10 Análise FT-IR	47
2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	48
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
3.1 CARACTERIZAÇÃO DA NANOEMULSÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Lippia origanoides</i>	48
3.2 ESTABILIDADE DA NANOEMULSÃO DURANTE O ARMAZENAMENTO	49
3.3 PROPRIEDADES MECÂNICAS E PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA	51
3.4 PROPRIEDADES ÓPTICAS	55

	8
3.5 TRANSMISSÃO DE LUZ DOS FILMES	57
3.6 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA	59
3.7 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)	64
3.8 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	66
3.9 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	67
3.10 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMAÇÃO DE FOURIER (FT-IR)	69
4 CONCLUSÃO	71
REFERÊNCIAS	72
 CONCLUSÕES GERAIS	 82
REFERÊNCIAS	84
ANEXO	89

RESUMO

A presente tese teve como objetivo o desenvolvimento, caracterização e aplicação de nanoemulsão contendo óleo essencial de *Lippia origanoides* (NE-OELO) em filmes ativos biodegradáveis à base de carboximetilcelulose (CMC), visando a obtenção de materiais funcionais com potencial uso em embalagens alimentícias. O estudo foi dividido em duas etapas complementares, resultando em dois artigos científicos. No capítulo 1, investigou-se a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia origanoides* e de sua nanoemulsão, bem como sua composição química e características físico-química. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação e caracterizado por cromatografia gasosa, cuja composição química apresentou carvacrol como composto majoritário (41,56%). A NE-OELO foi obtida por emulsificação assistida por ultrassom e caracterizada quanto ao tamanho de gotículas, índice de polidispersão (PDI) e potencial zeta. Apresentando boa estabilidade físico-química, tamanho médio de gotículas de $30,00 \pm 1,70$ nm, PDI de $0,25 \pm 0,03$ e potencial zeta de $-23,96 \pm 3,61$ mV. A atividade antimicrobiana foi avaliada por meio da determinação da concentração inibitória mínima frente a microrganismos de interesse alimentar. A avaliação antimicrobiana demonstrou que a NE-OELO apresentou atividade significativamente superior ao óleo essencial livre, com valores de concentração inibitória mínima menores frente a *Staphylococcus aureus* (ATCC 00039), *E. coli* ETEC (ATCC 11105) e *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028). No capítulo 2, a nanoemulsão desenvolvida foi incorporada a filmes biodegradáveis de carboximetilcelulose, produzidos pelo método casting, em diferentes concentrações da NE-OELO (10%, 15% e 20%). Os filmes foram caracterizados quanto às propriedades mecânicas, ópticas, térmicas, estruturais e de barreira, além da atividade antioxidante e antimicrobiana. A adição da NE-OELO promoveu alterações estruturais e funcionais relevantes no filme polimérico. Os filmes apresentaram espessura uniforme e superfície homogênea, além de propriedades ópticas adequadas, mantendo alta transparência e baixo índice de variação de cor, características desejáveis para aplicação em embalagens alimentícias. Observou-se aumento na opacidade sem prejuízo à aparência visual. Quanto à funcionalidade, os filmes incorporados com NE-OELO exibiram atividade antioxidante, com aumento proporcional à concentração da nanoemulsão, o que está associado à presença de compostos fenólicos. A atividade antimicrobiana in vitro demonstrou que os compostos voláteis liberados pelos filmes foram eficazes na inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus*, sendo observadas zonas de inibição diretamente relacionadas à concentração de NE-OELO. Os resultados demonstram que a NE-OELO potencializa sua

atividade antimicrobiana e possibilita sua aplicação eficiente em matrizes poliméricas biodegradáveis. A incorporação da nanoemulsão em filmes de CMC resultou em materiais ativos com propriedades físico-químicas e funcionais compatíveis com as exigências tecnológicas de embalagens alimentícias, destacando o potencial desses sistemas como alternativa natural e sustentável para a melhoria da segurança e conservação de alimentos.

Palavras-chave: Nanotecnologia, embalagem ativa, segurança alimentar.

ABSTRACT

This thesis centers on the development, characterization, and application of a nanoemulsion containing *Lippia origanoides* essential oil (NE-OELO) within biodegradable active films composed of carboxymethylcellulose (CMC). The objective is to create functional materials suitable for potential use in food packaging. The study is structured into two complementary phases, culminating in two scientific articles. Chapter 1 explores the antimicrobial properties of both *Lippia origanoides* essential oil and its nanoemulsion, and analyzes their chemical composition and physicochemical characteristics. The essential oil was extracted by hydrodistillation and characterized by gas chromatography, which revealed carvacrol as the major compound, accounting for 41.56% of the composition. The nanoemulsion of the essential oil (NE-OELO) was obtained through ultrasound-assisted emulsification and was characterized in terms of droplet size, polydispersity index (PDI), and zeta potential. It demonstrated good physicochemical stability, with an average droplet size of 30.00 ± 1.70 nm, a PDI of 0.25 ± 0.03 , and a zeta potential of -23.96 ± 3.61 mV. The antimicrobial activity of NE-OELO was assessed by measuring the minimum inhibitory concentration (MIC) against food-related microorganisms. The evaluation indicated that NE-OELO exhibited significantly greater antimicrobial activity than the free essential oil, with lower MIC values against *Staphylococcus aureus* (ATCC 00039), *E. coli* ETEC (ATCC 11105) and *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028). In Chapter 2, the developed nanoemulsion was incorporated into biodegradable carboxymethylcellulose films using the casting method, at various concentrations of NE-OELO (10%, 15%, and 20%). The films were characterized for mechanical, optical, thermal, structural, and barrier properties, as well as antioxidant and antimicrobial activities. The inclusion of NE-OELO brought about significant structural and functional enhancements in the polymeric films. The films exhibited uniform thickness and a homogeneous surface, along with favorable optical properties, retaining high transparency and a low color variation index, qualities desirable for food packaging applications. Although an increase in opacity was observed, it did not detract from the films' overall visual appeal. With respect to functionality, the films containing NE-OELO demonstrated antioxidant activity, which increased with nanoemulsion concentration, a phenomenon linked to the presence of phenolic compounds. In vitro antimicrobial activity studies revealed that the volatile compounds released by the films were effective in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus*, with inhibition zones directly correlated with NE-OELO concentration. These findings suggest that NE-OELO not only enhances

antimicrobial activity but also facilitates its incorporation into biodegradable polymeric matrices. The integration of the nanoemulsion into CMC films yielded active materials with physicochemical and functional properties that meet the technological requirements for food packaging. This underscores the potential of these systems as a natural sustainable alternative for enhancing food safety and preservation.

Keywords: Nanotechnology, active packaging, food safety.

INTRODUÇÃO GERAL

O uso de plantas com propriedades terapêuticas configura-se como uma prática tradicional amplamente disseminada em diversos contextos e culturas (Pio *et al.*, 2025). Este potencial terapêutico está intrinsecamente relacionado ao metabolismo secundário das plantas, responsável pela biossíntese de compostos bioativos, como os óleos essenciais, com propriedades antimicrobianas e antioxidantes já descritas na literatura (Batiha *et al.*, 2020; Carvalho, 2023; Yasir *et al.*, 2024; Kotwiski *et al.*, 2024).

Estas propriedades vêm sendo exploradas em outras áreas, como na indústria de alimentos para confecção de embalagens ativas. No entanto, a instabilidade, baixa solubilidade e biodisponibilidade dos óleos essenciais, limita o seu uso (Scapinello *et al.*, 2023), o que têm incentivado o desenvolvimento de novas estratégias tecnológicas como as nanoemulsões, uma abordagem promissora, devido à sua capacidade de encapsular os óleos essenciais em matrizes nanométricas, aumentando a estabilidade química, promovendo uma liberação controlada e potencializando sua eficácia terapêutica (Liang; Mckinnon; Rankin, 2020; Menezes *et al.*, 2021; Tayeb *et al.*, 2021; Taher *et al.*, 2024).

Os óleos essenciais (OEs) são substâncias originadas do metabolismo secundário de diferentes partes de vegetais. Eles podem ser extraídos de várias partes das plantas, como flores, raízes, sementes, folhas, cascas e frutos, apresentando composição química complexa (Bakkali *et al.*, 2008). Ainda, possuem aroma característico e são compostos, majoritariamente, por substâncias voláteis, geralmente lipofílicas e líquidas, pertencentes a diferentes classes de compostos terpênicos, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, ácidos, fenóis, alcóois, cetonas, esterres, óxidos, peróxidos (Simões e Spitzer, 2007).

A variedade na composição química dos óleos essenciais, tanto qualitativa como quantitativamente, ocorre devido a fatores intrínsecos, relacionados à própria planta, como o seu estágio de desenvolvimento, parte da planta utilizada e sua interação com o ambiente; bem como fatores extrínsecos, como características do solo, fatores geográficos, técnicas pós colheita, armazenamento do material vegetal e o método utilizado para a extração (Dhifi *et al.*, 2016; Pimenta *et al.*, 2024).

Essa complexidade na composição reflete diretamente nas propriedades funcionais dos óleos essenciais, amplamente descritas na literatura, dentre as quais se destacam as atividades antimicrobiana e antioxidante, de grande interesse para aplicações biotecnológicas e alimentícias.

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais está relacionada, principalmente, à alteração da permeabilidade e integridade da membrana celular bacteriana (Lupia *et al.*,

2024), além de interferir no metabolismo celular e inibir a formação de biofilme (Ghazal *et al.*, 2022). Segundo Zhai *et al.* (2018) os óleos essenciais apresentam uma composição química diversa, o que minimiza o risco de desenvolvimento de resistência microbiana, (Khwaza e Aderibigbe, 2025) e estas características são muito úteis para indústria de alimentos, especialmente quando se pensa em controle de contaminação e segurança alimentar.

Dentre as plantas medicinais com atividade antimicrobiana, destaca-se a *Lippia origanoides* (Kunth), conhecida popularmente como “alecrim-do-Nordeste”, “alecrim-grande”, “alecrim-pimenta”, encontrada no bioma caatinga, cujo óleo essencial extraído de folhas e flores apresenta ampla diversidade de bioativos para o tratamento, dentre outros, de infecções gastrointestinais e respiratórias, com propriedades anti-inflamatória e como antisséptico oral (Siqueira *et al.*, 2011; Trindade *et al.*, 2021; Teixeira *et al.*, 2023; Moniz *et al.*, 2023). O óleo essencial de *Lippia origanoides* é classificado em três quimiotipos principais (A, B e C), de acordo com o componente químico majoritário, sendo: quimiotipo A, aquele onde o composto p -cimeno é majoritário, o quimiotipo B possuindo carvacrol como majoritário e quimiotipo C, timol (Frattini *et al.*, 2024; Kotwiski *et al.*, 2024).

Apesar das propriedades biológicas presentes nos óleos essenciais, estes bioativos apresentam, também, propriedades indesejáveis, como instabilidade frente a fatores ambientais (luz, calor e oxidação), alta volatilidade e potencial citotóxico em doses elevadas, além de baixa solubilidade em sistemas aquosos (Taher *et al.*, 2024) o que pode limitar sua aplicação tecnológica. Para mitigar essas limitações, a utilização de nanoemulsões tem se mostrado uma solução eficaz.

As nanoemulsões são sistemas coloidais formados pela dispersão de dois líquidos imiscíveis, como óleo e água, com auxílio de agentes surfactantes, nos quais as gotículas apresentam dimensões nanométricas (Quintão *et al.*, 2013; Nascimento *et al.*, 2020; Prado *et al.*, 2024). A incorporação de óleos essenciais na forma de nanoemulsões tem se mostrado uma estratégia eficaz para melhorar sua dispersão em matrizes aquosas, aumentar a estabilidade físico-química, reduzir a volatilidade e minimizar perdas por degradação (Chinnaiyan *et al.*, 2022). No contexto de matrizes poliméricas e filmes de base aquosa, o uso de nanoemulsões favorece uma distribuição mais homogênea do óleo essencial, além de possibilitar uma liberação gradual dos compostos ativos durante o armazenamento, potencializando sua ação antimicrobiana (Damodharan, 2021; Rehman *et al.*, 2021; (Das *et al.*, 2021; Kaur *et al.*, 2020). Dessa forma, a nanoemulsificação

contribui para o desenvolvimento de sistemas mais estáveis e eficientes para aplicação em embalagens alimentares.

Desse modo, o uso de nanoemulsões se mostra uma abordagem promissora para o desenvolvimento de formulações mais eficazes e sustentáveis, permitindo explorar o potencial antimicrobiano do óleo essencial e subsequente incorporação em filmes para embalagens alimentícias. Portanto, os OEs encapsulados podem ser substitutos sustentáveis para conservantes sintéticos, com ampla aplicação nas indústrias agrícolas e alimentícias (Mukurumbira *et al.*, 2022), como o desenvolvimento de embalagens.

É crescente o interesse por embalagens de alimentos que além da função de proteção possam interagir com o alimento potencializando a proteção e que sejam produzidas com materiais sustentáveis (Silva *et al.*, 2022), neste contexto os filmes ativos cumprem bem o papel.

Os filmes são definidos como polímeros de fina espessura, pré-formados e utilizados para envolver alimentos, atuando como barreiras mecânicas protetoras que minimizam a interação com o ambiente externo, retardam a deterioração e contribuem para prolongar a vida útil de produtos perecíveis (Paidari *et al.*, 2021; Irimia *et al.*, 2021).

Os filmes ativos apresentam a capacidade de incorporar diferentes tipos de compostos ativos, incluindo biocompostos naturais e agentes inorgânicos com propriedades antioxidantes, antifúngicas e antimicrobianas, permitindo interagir com a matriz alimentícia e melhorar as características organolépticas, tais como cor, sabor e aroma dos alimentos (Singh *et al.*, 2017; Oliveira Filho *et al.*, 2021). Destacam-se por exercer a função principal das embalagens, mas também apresentar vantagens na área de sustentabilidade em comparação com os materiais sintéticos (Ganiari, Choulitoudi, Oreopoulou, 2017). O desenvolvimento de filmes ativos à base de fontes renováveis tornou-se uma importante linha de pesquisa na área de alimentos (Umaraw *et al.*, 2020).

Os materiais empregados na produção de filmes ativos devem atender a diversas exigências, como apresentar resistência à umidade e fornecer barreiras eficazes contra vapor de água e gases, assegurando melhores condições de conservação dos alimentos (Bezerra *et al.*, 2024). Esses filmes podem ser elaborados a partir de polissacarídeos, como quitosana, alginato, celulose, carragenina, pectina e amido, bem como de proteínas, lipídios ou da combinação desses compostos, conferindo-lhes flexibilidade, resistência mecânica e integridade estrutural necessárias para sua aplicação como embalagens (Mostafa *et al.*, 2023; Mostafani & Zaeim, 2020; Zhao *et al.*, 2023).

Entre os polissacarídeos utilizados na produção de filmes, destaca-se a

carboximetilcelulose (CMC), um biopolímero derivado da celulose, com biocompatibilidade e biodegradabilidade, custo relativamente baixo e capacidade de formar filmes com boa transparência e flexibilidade (Wang *et al.*, 2025). Utilizado como material filmogênico em sistemas de embalagens atuando como suporte para a incorporação de compostos ativos responsáveis pela ação conservante de vários produtos alimentícios, como carne, peixe, laticínios, frutas e vegetais (Li *et al.*, 2024).

Pesquisas recentes demonstram que a adição de nanoestruturas a filmes de CMC pode melhorar as propriedades mecânicas, barreira contra umidade, reforçando a estrutura do filme e potencializando a aplicação em sistemas de embalagens ativas (Mohammadi *et al.*, 2024; Dabrowska *et al.*, 2025).

Os filmes ativos podem ser desenvolvidos incorporando na solução filmogênica compostos funcionais como nanoemulsões de óleos essenciais que apresentam atividades antimicrobianas e antioxidantes que colaboram para estender a vida útil dos alimentos e monitorar a qualidade (Metha *et al.*, 2024).

Em estudo conduzido por Hoque *et al.* (2024) sobre o desenvolvimento de filme ativo com nanoemulsão de óleo essencial (NEOE) para aplicações em alimentos, verificou propriedades físicas adequadas e atividade antimicrobiana, com inibição do crescimento de *Escherichia coli* e *Bacillus cereus* em 24 h, quando o filme entrou em contato direto com alimento.

De forma semelhante, Zhang *et al.* (2024) relataram que filmes incorporados com óleo essencial de orégano nanoemulsionado apresentaram atividades antioxidante e antibacteriana, destacando seu potencial para o desenvolvimento de embalagens ativas voltadas à preservação de alimentos. Esses resultados evidenciam que a incorporação de nanoemulsões de óleos essenciais em filmes poliméricos pode contribuir significativamente para a melhoria da segurança microbiológica e da vida útil de produtos alimentícios.

Diante desse panorama, o presente trabalho propõe o desenvolvimento de nanoemulsões à base de compostos naturais, utilizando o óleo essencial de *Lippia origanoides*, como uma alternativa inovadora e sustentável para aplicações em embalagens ativas de alimentos. Embora estudos anteriores relatem a atividade antimicrobiana desse óleo e o uso de nanoemulsões de óleos essenciais, ainda são limitadas as investigações que integram a caracterização físico-química da nanoemulsão, sua atividade antimicrobiana e sua incorporação em filmes poliméricos biodegradáveis voltadas à conservação de alimentos.

Nesse contexto, esta pesquisa avança ao desenvolver e caracterizar nanoemulsões de *Lippia origanoides* e avaliar sua aplicação em filmes poliméricos à base de carboximetilcelulose, contribuindo para o aprimoramento de tecnologias de embalagem ativa. Assim, o estudo não apenas amplia o conhecimento científico existente, como também oferece subsídios aplicáveis à indústria de alimentos, fortalecendo a interface entre inovação tecnológica, sustentabilidade e segurança alimentar.

A tese foi estruturada em dois capítulos, apresentados conforme as normas das revistas científicas às quais foram submetidos.

O Capítulo 1, intitulado “Nanoemulsion containing *Lippia origanoides* essential oil: characterization, chemical composition, antibacterial activities”, apresenta a caracterização química do óleo essencial de *Lippia origanoides*, a avaliação de sua atividade antimicrobiana, o desenvolvimento e caracterização da nanoemulsão obtida a partir desse óleo, além dos testes de atividade antimicrobiana da nanoemulsão frente a microrganismos contaminantes de alimentos.

O Capítulo 2, intitulado “Carboxymethylcellulose films integrated with nanoemulsion of *Lippia origanoides* essential oil exhibit antimicrobial, photoprotective, and antioxidant properties”, descreve o desenvolvimento e caracterização da nanoemulsão e sua incorporação em filmes ativos à base de carboximetilcelulose. O estudo inclui a avaliação das propriedades físico-mecânicas, de barreira e ópticas dos filmes, bem como a determinação da atividade antioxidante e antimicrobiana frente aos principais microrganismos contaminantes de alimentos, demonstrando o potencial da nanoemulsão de *Lippia origanoides* como agente bioativo em embalagens alimentícias.

Ao final, são apresentadas as conclusões gerais sobre os resultados encontrados na tese, bem como sugestões para trabalhos futuros.

CAPÍTULO 1

NANOEMULSÃO CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides*: CARACTERIZAÇÃO, COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

RESUMO

Os óleos essenciais são promissores para o controle do crescimento microbiano devido às suas propriedades antimicrobianas, incluindo o rompimento das membranas celulares bacterianas e inibição de processos metabólicos, prevenindo assim a formação de biofilmes. Este estudo avaliou a eficácia antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia origanoides* e sua composição química no desenvolvimento de uma nanoemulsão. O óleo essencial é composto predominantemente por carvacrol (41,56%), timol (12,56%) e p-cimeno (12,49%), com rendimento de extração de 2,13%. A nanoemulsão foi caracterizada por um tamanho de gota de $30,00 \pm 1,70$ nm, um índice de polidispersão de $0,25 \pm 0,03\%$, potencial zeta $-23,96 \pm 3,61$ mV, índice de brancura $27,93 \pm 1,17$ e índice de refração $1,34 \pm 0,00$. A concentração inibitória mínima (CIM) para o óleo essencial não encapsulado (OELO) variou de 1.360 µg/mL a 5.460 µg/mL, enquanto a nanoemulsão (NE-OELO) apresentou valores de CIM significativamente menores, variando de 156 µg/mL a 1.250 µg/mL. Esses resultados indicam que a NE-OELO é mais eficaz que o OELO, enfatizando os benefícios das nanoemulsões no aumento da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais. Esta pesquisa pode abrir caminho para produtos inovadores que melhorem a segurança alimentar, atuando eficazmente contra microrganismos nocivos.

Palavras-chave: nanoemulsão, antimicrobiana, carvacrol, nanotecnologia.

ABSTRACT

Essential oils are vital for controlling microbial growth due to their antimicrobial properties, which disrupt bacterial cell membranes and inhibit metabolic processes, thereby preventing biofilm formation. This study assessed the antimicrobial efficacy of *Lippia origanoides* essential oil and its chemical composition in the development of a nanoemulsion. The essential oil predominantly comprises carvacrol (41.56%), thymol (12.56%), and p-cymene (12.49%), yielding a total of 2.13%. The nanoemulsion was characterized by a droplet size of 30.00 ± 1.70 nm, a polydispersity index of $0.25 \pm 0.03\%$, Zeta potential $-23,96 \pm 3,61$ mV, Whiteness index $27,93 \pm 1,17$, Refractive index $1,34 \pm 0,00$. The minimum inhibitory concentration (MIC) for the unencapsulated essential oil (OELO) ranged from 1,360 µg/mL to 5,460 µg/mL, while the nanoemulsion (NE-OELO) demonstrated significantly lower MIC values, ranging from 156 µg/mL to 1,250 µg/mL. These findings indicate that NE-OELO is more effective than OELO, emphasizing the benefits of nanoemulsions in enhancing the antimicrobial activity of essential oils. This

research could pave the way for innovative products that improve food safety by effectively targeting harmful microorganisms.

Keywords: nanoemulsion, antimicrobial, carvacrol, nanotechnology.

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas com propriedades terapêuticas constitui uma prática tradicional amplamente difundida presente em diversos contextos e culturas (Pio *et al.*, 2025). O potencial terapêutico das plantas está ligado ao seu metabolismo secundário, que produz compostos bioativos como os óleos essenciais (OE). Em sua revisão de literatura de 2025, Khwaza e Aderibigbe descreveram as propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e antioxidantes dos OE.

Bordón *et al.* (2025) descobriram que certos componentes de óleos essenciais podem penetrar nas membranas bacterianas, alterando sua estrutura e aumentando a fluidez e a permeabilidade. Essa ruptura compromete a função de barreira da membrana, levando à morte da célula bacteriana.

Os óleos essenciais oferecem propriedades biológicas benéficas, mas também enfrentam desafios, incluindo instabilidade à luz, ao calor e à oxidação, alta volatilidade, potencial citotoxicidade em altas doses e baixa solubilidade em água. Esses problemas podem limitar suas aplicações tecnológicas (Taher *et al.*, 2024).

Para superar esses desafios, as nanoemulsões surgiram como uma solução eficaz. Elas podem encapsular óleos essenciais em matrizes nanométricas, aumentando a estabilidade, permitindo a liberação controlada e melhorando a eficácia terapêutica (Taher *et al.*, 2024).

Nanoemulsões são sistemas coloidais formados pela combinação de dois líquidos imiscíveis, como óleo e água, utilizando um surfactante. Essas gotículas nanométricas aumentam a estabilidade cinética e a solubilidade dos óleos essenciais, preservando sua composição química (Quintão *et al.*, 2013; Chinnaiyan *et al.*, 2022). Isso leva a uma melhor biodisponibilidade e à liberação eficaz de compostos ativos em locais específicos, garantindo os efeitos celulares desejados (Damodharan, 2021). Além disso, esse método reduz o risco de efeitos adversos, como toxicidade, aumentando assim a segurança e a eficácia terapêutica (Kaur *et al.*, 2020).

Portanto, este estudo teve como objetivo explorar a composição química e a atividade antimicrobiana do óleo essencial extraído de *Lippia organoides*, planta medicinal nativa do bioma Caatinga, no Brasil, reconhecida por suas propriedades

antimicrobianas. Além disso, a pesquisa buscou desenvolver e caracterizar uma nanoemulsão do óleo essencial de *Lippia organoides* para avaliar se essa formulação poderia potencializar a eficácia antimicrobiana do óleo.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

A planta medicinal *Lippia organoides* foi coletada no município de Riachão do Jacuípe, situado nas coordenadas 11,75062° S e 39,48387° O, em maio de 2024. A coleta ocorreu no período da manhã, entre 10h00 e 11h30, em condições climáticas secas. Um especialista identificou visualmente o material botânico com base nas características distintivas das folhas e da inflorescência. O acesso ao patrimônio genético foi autorizado após o registro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Saberes Tradicionais Associados (SisGen) sob o código A4F716D.

As partes aéreas das espécies selecionadas, incluindo folhas e flores, foram cuidadosamente separadas e secas à temperatura ambiente em local designado, ao abrigo da luz, durante uma semana. Após a secagem, as amostras foram acondicionadas em novos sacos e enviadas ao Laboratório de Produtos Naturais da Universidade Estadual de Feira de Santana para a extração do óleo essencial.

2.1 Extração de óleo essencial

O óleo essencial das partes aéreas de *Lippia organoides* (OELO) foi extraído pelo método de hidrodestilação, utilizando-se aproximadamente 200 gramas de material vegetal. O processo de extração durou três horas, a partir da condensação da primeira gota.

Ao final do processo de extração, o volume de óleo essencial foi medido utilizando o aparelho de Clevenger. Os óleos foram armazenados em frascos de vidro âmbar, com adição de sulfato de sódio anidro para remover qualquer resíduo de água. Em seguida, foram acondicionados em frascos âmbar de 2 mL, etiquetados e armazenados em freezer comercial a -20 °C até a análise química. A extração foi realizada seis vezes, resultando em um total de 1.220 gramas de material vegetal seco. O rendimento de óleo essencial foi calculado utilizando a seguinte equação:

$$\text{Rendimento (\%)} = (\text{volume obtido (mL)} / \text{massa seca (g)}) \times 100 \text{ (Equação 1).}$$

2.1.1 Determinação da composição química do óleo essencial

A composição química dos óleos essenciais foi analisada no Centro Analítico do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, utilizando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM). Essa análise foi realizada em um

cromatógrafo Agilent 7809A (Agilent Technologies), acoplado a um detector de triplo eixo Agilent 5975C e uma coluna capilar ZB-5 (Phenomenex; dimensões: 30 m × 0,25 mm) com espessura de filme de 0,25 mm. A temperatura do injetor foi ajustada para 250 °C e o hélio foi utilizado como gás de arraste a uma vazão de 1 mL/min. Tanto a temperatura da interface quanto a temperatura da fonte de ionização foram mantidas a 250 °C. A energia de ionização foi configurada para 70 eV, com uma corrente de ionização de 0,7 kV. A temperatura do forno começou em 45°C por 1 minuto, antes de ser elevada para 300°C a uma taxa de 10°C por minuto, onde foi mantida por mais 5 minutos.

2.2 Preparação da nanoemulsão

Uma nanoemulsão de óleo essencial de *Lippia origanoides* (NE-OELO) foi criada utilizando ultrassom de alta energia. A formulação consistiu em 1% (m/m) de OELO combinado com uma proporção de 1:3 (m/m) de OELO para Tween 80, suspensos em água deionizada. O processo de preparação compreendeu três etapas principais: A mistura inicial foi submetida à sonicação em um banho ultrassônico (Q3.0/40 - Eco-Sonics) à temperatura ambiente por 10 minutos. Posteriormente, a mistura foi agitada com um agitador magnético por 30 minutos a 1000 rpm, também sem aquecimento, para produzir uma emulsão precursora grosseira (Nie et al., 2023). Por fim, a emulsão grosseira foi sonicada por 10 ciclos de 3 minutos cada em banho de gelo, utilizando um aparelho ultrassônico (Ultronique – Eco-Sonics) equipado com uma sonda de 4 mm de diâmetro, operando a uma frequência de 20 kHz e uma potência de saída de 550 W. Após essas etapas, a nanoemulsão resultante foi caracterizada.

2.3 Caracterização de Nanoemulsão

A nanoemulsão OELO (NE-OELO) foi caracterizada pela avaliação do tamanho das gotículas, índice de polidispersão (PDI), potencial zeta (ZP), índice de brancura (WI) e índice de refração (RI).

O tamanho das gotículas (em mm), o índice de polidispersão (PDI, em %) e o potencial zeta (em mV) foram medidos utilizando o Zetasizer Nano ZS da Malvern Instruments (Reino Unido). Para minimizar os efeitos de dispersão múltipla, a nanoemulsão foi diluída na proporção de 1:100 com água deionizada. Todas as medições foram realizadas em triplicata. Para avaliar a estabilidade, as medições de tamanho e PDI foram repetidas após 30 dias de armazenamento refrigerado. A turbidez da nanoemulsão foi analisada medindo-se sua absorbância utilizando um espectrofotômetro UV-Vis (K37, KASVI) em um comprimento de onda de 600 nm (Ghosh et al., 2014). O índice de

refração foi determinado com um refratômetro .

As medições de cor foram realizadas utilizando um colorímetro (CR-400, KONICA MINOLTA) que operava sob iluminante padrão D65. A análise de cor utilizou o sistema CIE $L^*a^*b^*$, estabelecido pela Comissão Internacional de Iluminação (CIE). Nesse sistema, L^* representa a luminosidade, enquanto a^* e b^* correspondem ao vermelho e ao amarelo, respectivamente. Após a determinação dos valores CIE L^* , a^* e b^* , o índice de brancura (WI) foi calculado utilizando a Equação 2 (ASTM, 2010):

$$WI = 100 - \sqrt{((100 - L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2)} \text{ (Equação 2)}$$

2.4 Ensaio de atividade antimicrobiana

Cepas padrão de microrganismos contaminantes de alimentos foram obtidas da American Type Culture Collection (ATCC) por meio do National Institute for Quality Control in Health (INCQS/FIOCRUZ), incluindo *Staphylococcus aureus* (ATCC 00039), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 016), *Enterococcus faecalis* (ATCC 234), *Shigella dysenteriae* (ATCC 13313), *Escherichia coli* ETEC (ATCC 11105), *Escherichia coli* EPEC (CDC 0111 AB) e *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028).

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi avaliada utilizando a técnica de microdiluição em caldo em placas de 96 poços, seguindo a metodologia descrita no Manual do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018), com pequenas modificações. Para o ensaio de Concentração Inibitória Mínima (CIM), o OELO foi diluído em Tween 80 a 10% até uma concentração inicial de 175 mg/mL, enquanto o NE-OELO foi preparado a 10 mg/mL. Ambas as soluções foram esterilizadas com filtros de 0,22 μm .

Uma diluição seriada resultou em concentrações de OELO de 175 mg/mL a 0,04 mg/mL e de NE-OELO de 10 mg/mL a 0,0024 mg/mL. As cepas bacterianas foram cultivadas em ágar nutritivo por 20 horas e, em seguida, homogeneizadas em solução salina estéril para atingir a turbidez equivalente ao padrão 0,5 de McFarland (aproximadamente $1,5 \times 10^8 \text{ UFC /mL}$). Leituras espectrofotométricas a 625 nm confirmaram a concentração, ajustando a absorbância para 0,08 a 0,1.

Uma diluição de 1:100 em solução salina estéril resultou em uma suspensão de $1,0 \times 10^6 \text{ UFC/mL}$ para os ensaios. Foram incluídos controles de viabilidade para os microrganismos e controles de esterilidade para o meio de cultura, óleo, solvente e nanoemulsão. As microplacas foram incubadas a 37 °C por 24 horas, com os testes realizados em triplicata.

Após o período de incubação, 30 μL de resazurina a 0,01% foram adicionados a

cada poço, e as placas foram incubadas novamente por 3 horas para facilitar a análise colorimétrica do crescimento microbiano. A CIM (Concentração Inibitória Mínima) foi definida como a última diluição que não apresentou crescimento microbiano.

O teste de determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi realizado em todos os poços onde o teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM) demonstrou inibição do crescimento bacteriano. Para realizar o teste, cinco microlitros do conteúdo de cada poço foram inoculados em placas de ágar Müller-Hinton, que foram incubadas a 37 °C por 24 horas. Se o inóculo não produziu crescimento microbiano, a concentração inibitória mínima do poço amostrado foi considerada bactericida. Por outro lado, se ocorreu crescimento microbiano, a CIM do poço amostrado foi classificada como bacteriostática.

3 RESULTADOS

A composição química do óleo essencial obtido de *Lippia origanoides* está detalhadamente descrita na Tabela 1, que enumera os constituintes químicos juntamente com suas respectivas porcentagens. Um total de vinte compostos distintos foram identificados no óleo, sendo os constituintes dominantes o carvacrol (41,56%), o timol (12,56%) e o p-cimeno (12,49%). Além disso, o β -cariofileno e o γ -terpineno também foram componentes notáveis, representando 6,61% e 6,27%, respectivamente. Ademais, o processo de extração rendeu um total de 2,13% de óleo essencial, destacando a eficiência do método de extração utilizado para esta planta aromática e medicinal.

Tabela 1. Composição química do óleo essencial obtido de *Lippia origanoides*

Pico	RT (min)	Composto	GC-MS (%)
1	5,548	α -tujeno	1,23
2	5,707	α -pineno	0,49
3	7,137	mirceno	2,18
4	7,802	γ - terpineno	1,43
5	8,021	p-cimenoc	12,49
6	8,175	limoneno + eucaliptol	3,23
7	8,954	γ - terpineno	6,27
8	9,215	Sabineno hidratado	0,34
9	10,145	linalol.	0,59
10	12,324	terpineno-4-ol	0,69
11	13,897	Timol, éter metílico	5,09

12	15,727	timol	12,56
13	16,009	carvacrol	41,56
14	16,677	elemento γ	0,48
15	18,845	(E)-cariofileno	6,61
16	19,336	aromandendreno	0,86
17	20,745	viridifloreno	1,85
18	20,840	NI	0,64
19	22,749	espatulenol	0,98
10	22,836	Óxido de cariofileno	0,43
Total			100

RT: Tempo de Retenção; GC-MS: Cromatografia Gasosa – Espectrometria de Massa

A nanoemulsão apresentou tamanho médio de gotículas de $30,00 \pm 1,70$ nm, indicando boa uniformidade e contribuindo para a estabilidade do sistema. O índice de polidispersidade ($0,25 \pm 0,03$) reflete uma distribuição estreita do tamanho das gotículas, enquanto o potencial zeta ($-23,96 \pm 3,61$ mV) sugere adequada estabilidade eletrostática da emulsão. Além disso, o índice de brancura ($27,93 \pm 1,17$) indica baixa opacidade, compatível com o aspecto translúcido observado, e o índice de refração ($1,34 \pm 0,00$) fornece informações sobre a propagação da luz através da nanoemulsão. Em conjunto, esses parâmetros caracterizam as propriedades físico-químicas e a estabilidade do sistema nanoemulsionado.

Os testes de concentração inibitória mínima (CIM) demonstraram conclusivamente que o óleo essencial derivado de *Lippia organoides* (OELO) e sua nanoemulsão (NE-OELO) apresentaram atividade antimicrobiana significativa contra todas as cepas padrão avaliadas, conforme resumido na Tabela 2. As amostras de controle, compostas por uma solução de Tween a 10% e uma nanoemulsão sem o óleo essencial ativo, não apresentaram efeitos inibitórios, reforçando a eficácia das formulações testadas.

Tabela 2. Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do óleo essencial e da nanoemulsão de *Lippia organoides* contra diferentes cepas padrão de microrganismos contaminantes de alimentos .

Microorganismo (ATCC)	MIC ($\mu\text{g/mL}^{-1}$)*		MBC ($\mu\text{g/mL}^{-1}$)	
	OELO	NE-OELO	OELO	NE-OELO
<i>Staphylococcus aureus</i> (00039)	1.360	625	43.700	2.500

<i>Staphylococcus epidermidis</i> (016)	5.460	312	21.870	1.250
<i>Enterococcus faecalis</i> (234)	5.460	1.250	21.870	N / D
<i>Shigella dysenteriae</i> (13313)	5.460	156	21.870	1.250
<i>Salmonella typhimurium</i> (14028)	680	156	5.460	625
<i>Escherichia coli</i> ETEC (11105)	5.460	625	21.870	2.500
<i>Escherichia coli</i> EPEC (cdc 0111 ab)	2.730	625	21.870	2.500

* A solução de Tween a 10% não mostrou inibição

Os valores de MIC para OELO variaram de 1.360 µg/mL a 5.460 µg/mL nas diversas cepas padrão, indicando seu potencial antimicrobiano. Em contraste, os valores de MIC para NE-OELO situaram-se em uma faixa consideravelmente menor, de 156 µg/mL a 1.250 µg/mL, para as mesmas cepas. Esse padrão consistente destaca que o NE-OELO não apenas superou o OELO em eficácia, como também enfatiza as vantagens do uso de nanoemulsões como uma estratégia superior para combater patógenos microbianos.

4 DISCUSSÃO

A nanoemulsão derivada do óleo essencial de *Lippia origanoides* (NE-OELO) apresentou não apenas um tamanho de partícula ideal, mas também uma estabilidade notável, tornando-a uma candidata promissora para diversas aplicações. Testes abrangentes de atividade antimicrobiana conduzidos contra uma variedade de cepas padrão de microrganismos contaminantes de alimentos revelaram que essa nanoemulsão exibiu concentrações inibitórias mínimas (CIMs) significativamente menores em comparação com o OELO.

Neste estudo, o rendimento de extração do óleo essencial de *Lippia origanoides* foi de 2,13%. A análise do rendimento de extração de óleos essenciais (OE) fornece informações cruciais para aplicações biotecnológicas. Diversos fatores podem afetar o rendimento de extração e a composição química dos OE, incluindo a época da colheita, a localização geográfica, a parte específica da planta utilizada, o tratamento do material colhido, o solvente escolhido e o método de extração aplicado (Kamal et al., 2023). Outras influências podem incluir ritmos circadianos e variações sazonais (Ribeiro et al., 2021).

Por exemplo, Alonso et al. (2021) relataram o rendimento de óleo essencial de *Lippia origanoides* em diferentes estações do ano na região do Cerrado brasileiro. Eles

descobriram que as coletas realizadas às 10h da manhã apresentaram maior porcentagem de óleo essencial quando a planta foi colhida em agosto (3,21%), enquanto em fevereiro, o rendimento foi de 2,45%, valor próximo ao observado no presente estudo. De Melo et al. (2020) também constataram que o rendimento de óleo essencial de *L. origanoides* foi maior pela manhã, sugerindo que as 10h da manhã é o horário ideal para a colheita.

Uma compreensão abrangente da composição química é vital para avaliar o potencial antimicrobiano de várias substâncias. De acordo com Nocchi et al. (2017), a produção de metabólitos secundários em plantas atinge o pico sob altos níveis de radiação solar, facilitando as reações biossintéticas impulsionadas pela fotossíntese.

O óleo essencial de *L. origanoides* pode ser classificado em três quimiotipos distintos com base em seus principais componentes químicos. O quimiotipo A é caracterizado pelo p-cimeno como composto predominante. O quimiotipo B é identificado principalmente pelo carvacrol, enquanto o quimiotipo C é definido pelo timol como seu principal constituinte (Stashenko et al., 2010). Neste estudo, o óleo essencial analisado se enquadra no quimiotipo B, pois contém 41,56% de carvacrol em sua composição.

Santos Filho et al. (2023) investigaram espécies de *Lippia* e relataram que os principais constituintes do óleo de *L. origanoides* incluíam timol (47,2%), p-cimeno (16,0%) e E-cariofileno (11,3%). Além disso, estudos de Menezes et al. (2018) identificaram o carvacrol como o principal composto, representando 56% da composição química do óleo essencial.

As variações observadas entre os estudos podem ser atribuídas a diversos fatores que influenciam os constituintes químicos dos óleos essenciais. Esses fatores abrangem condições climáticas, disponibilidade de água, altitude, características do solo, níveis de nutrientes, ritmos circadianos, práticas de cultivo, técnicas de colheita, métodos de processamento e a diversidade genética das plantas (Mugao et al., 2004).

Investigar as propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais é vital para o desenvolvimento de alternativas naturais no combate a microrganismos patogênicos. Esses óleos são ricos em diversos compostos bioativos que demonstram eficácia contra agentes infecciosos. Este estudo explorou as propriedades antimicrobianas do óleo essencial extraído de *Lippia origanoides*, com foco em sua eficácia contra vários microrganismos que representam risco de contaminação de produtos alimentícios, destacando o potencial de aplicação desse produto natural no aprimoramento da segurança alimentar.

Valores de concentração inibitória mínima (CIM) para óleos essenciais abaixo de 2.500 µg/mL indicam seu potencial de atividade antimicrobiana. Por outro lado, valores de CIM superiores a 2.500 µg/mL sugerem que esses óleos podem não ser adequados para investigação adicional ou aplicação prática (Scapinello et al., 2023). Considerando esse ponto de referência, os resultados apresentados indicam que o óleo essencial em estudo possui significativo potencial biotecnológico para o desenvolvimento de produtos antimicrobianos.

Em um estudo relacionado, Gallardo et al. (2022) avaliaram a eficácia antimicrobiana do óleo essencial de orégano na inibição do crescimento de cepas resistentes de *E. coli* e *S. aureus* isoladas de alimentos. Os autores relataram concentrações inibitórias mínimas de 2.000 µg/mL e concentrações bactericidas mínimas de 6.000 µg/mL, respectivamente.

Em um estudo de Pinheiro et al. (2022), foi explorada a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *L. origanoides* (OELO) contra bactérias Gram-negativas. Os resultados revelaram que a concentração inibitória mínima (CIM) do OELO foi de 625 µg/mL para *E. coli* e *Klebsiella pneumoniae*, e de 2.500 µg/mL para *Pseudomonas aeruginosa*. Notavelmente, os valores da concentração bactericida mínima (CBM) em seu estudo foram inferiores aos valores da CIM, contrastando com o presente estudo, no qual os valores da CBM foram superiores aos da CIM.

A diversidade e a concentração de metabólitos desempenham um papel crucial na determinação da atividade biológica dos óleos essenciais (OE), o que explica os resultados variáveis observados em estudos semelhantes. Os óleos essenciais (OE) são compostos por substâncias químicas altamente lipofílicas, o que lhes confere uma forte afinidade pelas membranas plasmáticas. Essa afinidade pode levar a rupturas na integridade da membrana (Man et al., 2019).

Esses compostos interagem com o núcleo hidrofóbico das bicamadas lipídicas, resultando em alterações nas propriedades físico-químicas das membranas celulares. Tais interações podem causar rupturas na membrana, vazamento do conteúdo celular, deformação e inchaço celular, indicando um processo reconhecido como permeabilização da membrana (Bordón et al., 2025). Um estudo que investigou os efeitos dos OEs utilizou microscopia eletrônica para revelar uma perda completa da integridade tanto da membrana plasmática quanto da parede celular da bactéria *E. coli* (Gallardo, 2022).

Os óleos essenciais demonstram propriedades antimicrobianas promissoras, no entanto, sua aplicação enfrenta desafios significativos, incluindo alta volatilidade, baixa

solubilidade em água e instabilidade em sistemas alimentares. Essas limitações dificultam sua eficácia (Marín et al., 2024). Para superar esses obstáculos, o desenvolvimento de nanoformulações contendo compostos bioativos derivados de óleos essenciais pode oferecer uma solução prática.

Pesquisas sugerem que nanoemulsões de óleos essenciais aumentam a solubilidade desses compostos, melhorando assim sua biodisponibilidade e eficácia antimicrobiana, particularmente para óleos essenciais ricos em compostos lipofílicos como o carvacrol (Zhang et al., 2024). Portanto, para aumentar a eficácia e a biodisponibilidade do óleo essencial, uma nanoemulsão do óleo essencial foi desenvolvida, testada e caracterizada utilizando tamanho de gota, índice de polidispersão, potencial zeta (PZ), índice de brancura (BI) e índice de refração (RI).

Os resultados demonstram que a técnica de emulsificação de alta energia, especificamente utilizando um homogeneizador ultrassônico, foi eficaz na produção de nanopartículas de óleo essencial, conforme indicado pelo tamanho médio das gotículas ($30,00 \pm 1,70$ nm) da nanoemulsão desenvolvida (NE-OELO). O tamanho das gotículas é crucial para a bioatividade, absorção e estabilidade das nanoemulsões (Bolgen et al., 2025).

A redução no diâmetro das gotículas pode ser atribuída ao papel essencial dos emulsificantes, o que pode ser compreendido pelo princípio do excesso de área superficial. A camada emulsificante que envolve as gotículas atua como uma barreira à coalescência, reduzindo efetivamente a tensão interfacial entre o óleo e a água. Além disso, a aplicação da homogeneização ultrassônica de alta energia aumenta a fragmentação das fases dispersas, incrementando a área superficial disponível. Como resultado, as emulsões tornam-se não apenas altamente estáveis, mas também exibem uma distribuição mais uniforme do tamanho das gotículas (Chouaibi, 2022).

A homogeneização ultrassônica é um processo estático no qual uma sonda emite energia acústica em uma emulsão precursora, atuando como meio de transmissão de vibrações mecânicas. Essas vibrações levam à formação e ao colapso de microbolhas de ar ou gás por meio de um fenômeno conhecido como cavitação. Esse processo cria turbulência intensa e forças de cisalhamento, que facilitam a ruptura da fase dispersa (Wang et al., 2015).

O índice de polidispersão (PDI) serve como indicador da homogeneidade da formulação desenvolvida, representando a distribuição uniforme dos tamanhos das gotículas, que se situam na faixa de 0,0 a 1,0 (Kayiran et al., 2025). Valores de $PDI \leq 0,7$

indicam a presença de uma nanoemulsão monodispersa, sugerindo uma nanoemulsão (NE) uniforme. Um valor de PDI inferior a 0,25 significa uma distribuição de tamanho estreita dentro do sistema (Ozogul et al., 2025), o que é ideal para aplicações em formulações. Quanto mais uniforme for o tamanho das partículas, mais previsível se torna a ação dos compostos. Consequentemente, os resultados de PDI do presente estudo ($0,25 \pm 0,03\%$) confirmam a uniformidade da distribuição do tamanho das gotículas.

Benitez-Llano et al. (2023) desenvolveram uma nova NE-OELO e obtiveram com sucesso diâmetros de partículas menores que 200 nm, com um índice de polidispersão inferior a 0,3. Essa descoberta está em consonância com os resultados da presente pesquisa. De forma semelhante, Da Silva et al. (2023) relataram valores de índice de polidispersão para nanoemulsão de carvacrol abaixo de 0,3, demonstrando uma distribuição de tamanho estreita e um alto nível de uniformidade na formulação.

Um parâmetro essencial na caracterização da nanoemulsão é o potencial zeta, que reflete a carga eletrostática entre as partículas e serve como indicador da estabilidade da nanoemulsão. Os resultados deste estudo revelaram que a nanoemulsão apresentou um valor de potencial zeta negativo, atribuível à presença do surfactante não iônico Tween 80 e à composição química do óleo essencial incorporado na formulação.

Valores negativos de potencial zeta podem ser explicados pela ionização de grupos hidroxila no Tween 80 durante a dispersão no meio, juntamente com a presença de terpenos em óleos essenciais (Tinh et al., 2025). O surfactante influencia o tamanho e as características da nanoemulsão. Por exemplo, Singh e Pulikkal et al. (2022) observaram que nanoemulsões preparadas com Tween 80 apresentaram um diâmetro médio de gotículas de 40,9 nm e um potencial zeta negativo de -25,10 mV.

De acordo com Showkat et al. (2025), a adição de óleos essenciais à nanoemulsão pode influenciar a carga na superfície das gotículas da emulsão. Da mesma forma, Kotwiski et al. (2024) relataram valores negativos de potencial zeta em sua pesquisa sobre uma nanoemulsão de óleo essencial de *Lippia origanoides*, o que é consistente com as descobertas apresentadas no presente estudo.

É amplamente reconhecido que nanopartículas com diâmetros inferiores a 100 nm, valores de potencial zeta em torno de ± 30 mV e índice de polidispersão (PDI) abaixo de 1,0 são indicativas de alta estabilidade físico-química. Essas medidas, que refletem a uniformidade e a carga das nanopartículas, estão de acordo com os resultados do presente estudo. Além disso, acredita-se que tais propriedades aumentam significativamente a biodisponibilidade do princípio ativo que transportam, melhorando assim sua eficácia em

diversas aplicações (Liu e Liu, 2020).

O índice de refração determinado neste estudo foi de $1,34 \pm 0,00$, indicando a translucidez da amostra e ilustrando a alta homogeneidade da nanoemulsão desenvolvida. Valores semelhantes foram observados por Kotwiski et al. (2024) ao examinarem diversas nanoemulsões de OELO, que apresentaram valores de índice de refração variando de $1,361 \pm 0,032$ a $1,372 \pm 0,030$. Além disso, os baixos valores do índice de brancura das nanoemulsões confirmam ainda mais suas características físicas translúcidas. Essa translucidez pode ser atribuída ao pequeno tamanho das gotículas, que dispersam menos a luz do que partículas maiores.

As características das nanoemulsões de óleos essenciais são moldadas por diversos fatores, incluindo a composição química do óleo essencial, sua estrutura molecular, a tensão superficial do surfactante utilizado e o método de síntese empregado (Singh e Pulikkal et al., 2022). Por exemplo, em pesquisa conduzida por Das et al. (2022) sobre o desenvolvimento e caracterização de nanoemulsão de óleo essencial de cardamomo, os autores relataram um valor de índice de brancura de $86,32 \pm 0,34$, que contrasta marcadamente com o valor de 1,34 encontrado no presente estudo.

Após a completa caracterização da nanoemulsão de OELO, o próximo passo foi comparar as atividades antimicrobianas tanto do óleo essencial quanto da nanoemulsão. Essa comparação teve como objetivo avaliar se a formulação da nanoemulsão demonstra maior eficácia na inibição de microrganismos, oferecendo, assim, uma alternativa mais eficiente para o seu controle.

Este estudo revelou que a nanoemulsão de OELO apresentou concentrações inibitórias mínimas (CIMs) variando de $156 \mu\text{g/mL}$ a $1.250 \mu\text{g/mL}$. Comparados aos resultados obtidos para o OELO puro, esses achados sugerem que a nanotecnologia aumenta significativamente a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais. Até o momento, não existem estudos similares que tenham desenvolvido e avaliado a NE-OELO contra cepas bacterianas padrão que contaminam as matrizes alimentares testadas, o que inviabiliza comparações diretas dos resultados.

Zaharioudakis et al. (2024) realizaram uma análise de óleos essenciais (OE) e nanoemulsões com alto teor de carvacrol. Seus resultados indicaram que a nanoemulsão demonstrou atividade antibacteriana significativamente maior contra *E. coli* e *Listeria monocytogenes* em comparação com os derivados de óleos essenciais livres. Em outro estudo, Kotwiski et al. (2024) avaliaram a atividade antifúngica de uma nanoemulsão de óleo essencial de *Lippia origanoides* (NE-OELO) rica em carvacrol. Eles relataram uma

concentração inibitória mínima entre 234,4 e 156,3 µg/mL contra os dermatófitos testados.

Os resultados desta pesquisa destacam as significativas propriedades antimicrobianas do NE-OELO, uma nanoemulsão caracterizada pelo seu alto teor do composto natural carvacrol. Pesquisas recentes de Cirino et al. (2023) demonstraram que os compostos químicos carvacrol e timol podem interromper a síntese de proteínas, contribuindo, em última análise, para a degradação das células bacterianas.

Os resultados deste estudo indicam que as nanoemulsões aumentam a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais em comparação com suas formas não encapsuladas. Esse aumento provavelmente se deve à melhor dispersão do óleo em meio aquoso quando encapsulado, o que aumenta a interação com as membranas celulares dos microrganismos.

A literatura sugere que as nanoemulsões aumentam significativamente a estabilidade, protegendo os compostos ativos da degradação oxidativa. Elas reduzem a área superficial desses compostos e permitem a liberação controlada, o que facilita sua movimentação através das paredes celulares dos microrganismos, aumentando assim a atividade antimicrobiana (Barradas et al., 2020; Low et al., 2020). Consequentemente, o uso de nanoemulsões surge como uma estratégia promissora para a formulação de soluções mais eficazes e sustentáveis. Essa abordagem amplia as aplicações de óleos essenciais em diversos setores, incluindo saúde, indústria alimentícia e agricultura.

Este estudo visa fornecer evidências convincentes do potencial biotecnológico inerente ao óleo essencial de *Lippia origanoides*, particularmente em sua forma nanoemulsionada, no campo da ciência de alimentos. Os resultados desta pesquisa podem abrir caminho para o desenvolvimento de produtos inovadores com potentes propriedades antimicrobianas, capazes de inibir eficazmente microrganismos contaminantes de alimentos. Em última análise, esse avanço representa uma grande promessa para aprimorar a segurança alimentar e proteger os consumidores de doenças transmitidas por alimentos.

Agradecimentos

Este trabalho foi apoiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia [BioproFAR-BA PIE0001/2024]; e foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasil)

Disponibilidade de dados

Todos os dados que sustentam as conclusões deste estudo estão incluídos no

artigo.

REFERÊNCIAS

- ALONSO, AM, OLIVEIRA, AD, MALAQUIAS, JV, SILVA, D. B, VIEIRA, RF, BIZZO, HR, 2021. Influência de elementos meteorológicos no rendimento e composição química do óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth cultivada no Cerrado do Distrito Federal : *Embrapa Cerrados* .
- ASTM – AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, 2010. Prática padrão da ASTM para o cálculo dos índices de amarelecimento e brancura a partir de coordenadas de cor medidas instrumentalmente. E313. West Conshohocken, PA: *ASTM International* , 2010.
- BARRADAS, TN, DE HOLANDA E SILVA, KG, 2020. Nanoemulsões de óleos essenciais para melhorar a solubilidade, estabilidade e permeabilidade: uma revisão. *Environmental Chemistry Letters* , vol. 19, nº 2, pp. 1153–1171.
- BENITEZ-LLANO, C. A, FLOREZ-ACOSTA, OA, VELASQUEZ-POLO, D. .D., MESA-ARANGO, AC, ZAPATA-ZAPATA, C., 2023. Preparação, caracterização físico-química e estudo de estabilidade de nanoemulsão à base de óleo essencial de *Lippia origanoides* como sistema de administração tópica. *Nanotecnologia Farmacêutica* , vol. 12, nº 3, pp. 251-261.
- BOLGEN, UMG, KAYIRAN, DS, OZOGUL, F., 2025. Nanoemulsões à base de óleos essenciais com conhecimento atual: Formulação, caracterização e aplicações em alimentos e produtos farmacêuticos. *Industrial Crops and Products* , vol. 233, no. 27, pp. 12141.
- BORDÓN, A. , RODRÍGUEZ, SA, CHAVES, DSDA, CUTRÓ, AC, HOLLMANN, A. , 2025. Ação antimicrobiana do óleo essencial de *Tagetes minuta*: papel da membrana bacteriana no mecanismo de ação. *Antibiotics* , vol.14, pp.632.
- CHINNAIYAN, SK, PANDIYAN, R., NATESAN, S., CHINDAM, S., 2022. Fabricação de hidrogel de goma gelana carregado com nanoemulsão de óleo de manjerição — avaliação de seu potencial antibacteriano e anti-biofilme. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, vol. 68, no. 1, pp. 103129.
- CHOUAIBI, M., 2022. Preparação de nanoemulsão de óleo essencial de cravo em água (O/A): Caracterização e estabilidade. *Academic Press* , pp. 559–571.
- CIRINO, ICS, RIBEIRO, MJ, ROCHA, IV, LUZ, ACO, HAN, H., COUTINHO, HDM, FIGUEIREDO, CBQ, RAPOSO, A., LHO, LH, LEAL-BALBINO, TC, 2023. Análise transcriptômica comparativa de *Acinetobacter baumannii* multirresistente em resposta

- ao tratamento com os compostos terpênicos timol e carvacrol. *Biomedicine & Pharmacotherapy* , vol. 165, pp. 115-189.
- CLSI., 2018. *Clinical and Laboratory Standards Institute. Métodos para testes de suscetibilidade antimicrobiana por diluição para bactérias que crescem aerobicamente* , 11^a ed. Padrão CLSI M07. Watne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- DA SILVA, BD, ROSÁRIO, DKA, NETO, LT, LELIS, CA CONTE-JUNIOR, CA, 2023. Atividade antioxidante, antibacteriana e antibiofilme de sistemas de liberação de compostos naturais baseados em nanoemulsão comparados com versões não nanoemulsionadas. *Foods* , vol. 12, nº 9.
- DAMODHARAN, J., 2021. Nanomateriais na medicina – Uma visão geral. *Materials Today: Proceedings* , vol. 37, pp. 383-385.
- DAS, KS, KUMARI VISHAKHA, K., SHATABDI DAS, S., DEBKUMAR CHAKRABORTY, D., 2022. Arnab Ganguli, A. Carboximetilcelulose e óleo de cardamomo em um revestimento comestível de nanoemulsão inibem o crescimento de patógenos transmitidos por alimentos e prolongam a vida útil dos tomates . *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* . vol.42 , pp.102369.
- DE MELO, ARB, MACIEL HIGINO ,TM, DA ROCHA OLIVEIRA, ADP, FONTES, A., DA SILVA, DCN, DE CASTRO, MCAB, DANTAS LOPES, JA, DE FIGUEIREDO, RCBQ ., 2020. Os óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *Lippia origanoides* afetam a viabilidade, motilidade e ultraestrutura de *Trypanosoma cruzi*. *Micron* ., vol.129, pp.102781.
- GALLARDO, RAV, CUELLAR, KC, JIMÉNEZ, EEG, OSMA, JF, 2022. Comparação de tecnologias verdes para o controle do crescimento de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina. *Alimentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria* , vol. 20, no. 1.
- GHOSH, V., MUKHERJEE, A., CHANDRASEKARAN, N., 2014. Eugenol-loaded antimicrobial nanoemulsion preserves fruit juice against, microbial spoilage. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, vol. 114, p. 392–397. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.10.034>.
- KAMAL, GM, NAZI, N., SABIR, A., SAQIB, M., ZHANG, X., JIANG, B., KHAN, J., NOREEN, A., UDDIN, J., MURTAZA, S., 2023. *Separações* , vol.10, no.3, pp.186.
- KAUR, M., DEVI, G., NAGPAL, M., SINGH, M., DHINGRA, GA, AGGARWAL, G., 2020. Óleos essenciais antivirais incorporados em nanocápsulas: estratégia para prevenção da COVID-19 e futuras pandemias infecciosas. *Nanotecnologia Farmacêutica* , vol. 8, nº 6, pp. 437-451.

- KAYIRAN, SD, BOLGEN, UMG, AKGUL, E., KADIROGLU, P., CENGİZ, N., CEVIKELLI, T., ONAN, D., OZKAN, EE, BOZDOGAN, G., BOGA, M., OZOGUL, Y., ESATBEYOGLU, T., OZOGUL, F., 2025. Composição química, caracterização e propriedades antimicrobianas de nanoemulsões à base de óleo essencial de *Thymbra spicata* e sua aplicação em queijo coalho. *Frontiers in Nutrition* , vol. 12.
- KHWAZA, V. e ADERIBIGBE, BA. Atividade antibacteriana de componentes selecionados de óleos essenciais e seus derivados: uma revisão. *Antibiotics*, vol. 14, nº 1, p. 68.
- ZAHARIOUDAKIS, K., SALMAS, C., ANDRITSOS, ND, KOLLIA, E., LEONTIOU, A., KARABAGIAS, VK, KARYDIS-MESSINIS, A., MOSCHOVAS, D., ZAFEIROPOULOS, NE, AVGEROPOULOS, A., PROESTOS, C., GIANNAKAS, AE, 2024. Nanoemulsões comestíveis à base de caseína à base de carvacrol, citral, eugenol e cinamaldeído como novos revestimentos ativos sustentáveis para preservação de carne de lombo de porco fresco. *Fronteiras em Ciência e Tecnologia de Alimentos* , vol. 4.
- KOTWISKI, FO, SÃO PAULO, I., CARNEIRO, PIS, BARBOSA, RM, 2024. Desenvolvimento de uma nanoemulsão contendo óleo essencial de *Lippia origanoides* com atividade antifúngica por método de baixa energia: da extração à formulação. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* , vol. 102, pp. 106392.
- LIU, T.; LIU, L., 2020. Fabricação e caracterização de nanoemulsões de quitosana carregadas com timol ou óleo essencial de tomilho para a conservação de carne suína refrigerada. *International Journal of Biological Macromolecules* , vol. 162, pp. 1509–1515.
- LOW, LE, SIVA, SP, HO, YK, CHAN, ES, TEY, BT, 2020. Avanços recentes em técnicas de caracterização para a formação, propriedades físicas e estabilidade de emulsões de Pickering. *Advances in Colloid and Interface Science* , vol. 277, pp. 102-117.
- MAN, A., SANTACROCE, L., JACOB, R., MARE, A., MAN, L., 2019. Atividade antimicrobiana de seis óleos essenciais contra um grupo de patógenos humanos: um estudo comparativo. *Pathogens* , vol. 8, nº 1, p. 15.
- MARÍN, VN, BUCCINI, DF, SILVA, VG, SOLIZ, IAF, FRANCO, OL, 2024. Nanoformulações de compostos bioativos derivados de óleos essenciais com atividade antimicrobiana. *Nano Trends* , vol. 9, pp. 100070.
- MENEZES, PMN, BRITO, MC, PAIVA, GO, SANTOS, CO, OLIVEIRA, LM, RIBEIRO, LAA, LIMA, JT, LUCCHESI, AM, SILVA, FS, 2018. O efeito relaxante do

óleo essencial de *Lippia origanoides* no músculo liso da traquéia de cobaia envolve canais de potássio e guanilil ciclase solúvel. *Revista de Etnofarmacologia* , vol. 220, pp.

MUGAO, L., 2004. Fatores que influenciam o rendimento, a composição química e a eficácia dos óleos essenciais. *Int. J. Multidiscip. Res. Growth Eval* , vol.5, pp.169–178.

TINH, NQ, THANH, DV, THU, NV, NHUNG, BTQ, HUYEN, PN, HUNG, NP, THUY, NT, THUY, PD, MI, NH, TAM, KT, 2025. Preparação de nanoemulsões a partir de óleos essenciais de *Elsholtzia kachinensis* e *Elsholtzia ciliata* via homogeneização ultrassônica e suas atividades antibacterianas e anticancerígenas. *RSC Advances* , vol. 15, nº 14, pp. 11243–11256.

NIE, Y., PAN, Y., JIANG, Y., XU, D., YUAN, R., ZHU, Y., ZHANG, Z., 2023. Stability and bioactivity evaluation of black pepper essential oil nanoemulsion. *Heliyon*, vol. 9, no. 4, p. e14730. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e14730. Pmid: 37025856; PMCID: PMC10070607.

NOCCHI, N., DUARTE, H., PEREIRA, RC, KONNO, TUP ., 2017. Efeitos da radiação UV-B na produção de metabólitos secundários, atividade antioxidante, fotossíntese e interações de herbivoria em *Nymphoides humboldtiana* (Menyanthaceae). *Journal of Photochemistry and Photobiology*, vol. 212, pp.112021.

OZOGUL, Y., KARSLI, GT, YAZGAN, H., KULEY, E., OZTOPO, HM, OZOGUL, F., ESATBEYOGLU, T., 2025. Controle aprimorado de patógenos por meio de nanoemulsões de timol e carvacrol: uma abordagem de microfluidização. *Food Bioprocess Technology* , vol. 18, pp. 5377–5387.

PINHEIRO, LG, FONTENELLE, ROS, RODRIGUES, THS, 2022. Atividades inibitórias e bactericidas do óleo essencial de *Lippia origanoides* contra *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes. *Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento*, vol. 11, nº 9, pp. e6811931478.

PIO, I. D. S. L.; LAVOR, A. L.; DAMASCENO, C. M. D.; MENEZES, P. M. N.; SILVA, F. S.; MAIA, G. L. A. Traditional knowledge and uses of medicinal plants by the inhabitants of the islands of the São Francisco River, Brazil and preliminary analysis of *Rhaphiodon echinus* (Lamiaceae). *Brazilian Journal of Biology = Revista Brasileira de Biologia*, v. 79, n. 1, p. 87-99, 2019. DOI: 10.1590/1519-6984.177447.

QUINTÃO, FJ, TAVARES, RS, VIEIRA-FILHO, SA, SOUZA, GH, SANTOS, OD, 2013. Extratos hidroalcoólicos de *Vellozia squamata*: estudo de suas nanoemulsões para aplicações farmacêuticas ou cosméticas. *Revista Brasileira de Farmacognosia* , vol. 23, não. 1, páginas 101-107.

- RIBEIRO, FP, OLIVEIRA, MS, FEITOSA, AO, MARINHO, PSB, MARINHO, AMR, ANDRADE, EHA, RIBEIRO, AF, 2021. Chemical composition and antibacterial activity of the *Lippia origanoides* Kunth essential oil from the Carajás National Forest, Brazil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* , vol.2021, pp. 9930336.
- SANTOS FILHO, LGAD, REIS, RB, SOUZA, ASQ, CANUTO, KM BRITO, ES, CASTRO, KNC, PEREIRA, AML, DINIZ, FM, 2023. Composição química e atividades biológicas dos óleos essenciais de *Lippia alba* e *Lippia origanoides*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* , vol. 95, não. 1, pp.e20220359.
- SCAPINELLO, J., SOUZA, MA, PARIS, A., MORGAN, LV, 2023. Aplicação de óleos essenciais em alimentos: uma revisão sobre desafios e perspectivas. *Acta Ambiental Catarinense* , vol. 21, nº 1.
- SHOWKAT, S., ANJUM, A. AYZAZ, Q., MMUSTAFA, S., 2025. Aumento da vida útil da ameixa por meio de revestimento de nanoemulsão à base de quitosana incorporada com óleo essencial de gengibre. *Applied Food Research* , vol. 5, no. 1, pp. 100768.
- SINGH, IR, PULIKKAL, AK, 2022. Preparação, estabilidade e atividade biológica de nanoemulsões à base de óleos essenciais: uma revisão abrangente. *OpenNano* , vol. 8, pp. 100066.
- STASHENKO, EE, MARTÍNEZ, JR, RUÍZ, CA, ARIAS, G., DURÁN, C., SALGAR, W., CALA, M. , 2010. Diferenciação do quimiotipo de *Lippia origanoides* com base em GC-MS de óleo essencial e análise de componentes principais. *J Sep Sci* ., vol.33, no.1, pp. 93- 103.
- TAHER, MK, FALIH, IQ, ABDULLAH, Y., 2024. Desenvolvimento de sistemas de liberação (nanoemulsões e nanopartículas de biopolímeros) de óleo essencial de cravo: preparação, caracterização, estudo da liberação e atividade antioxidante. *Journal of Preventive, Diagnostic and Treatment Strategies in Medicine* , vol. 3, no. 3, pp. 163-170.
- WANG, Z., NEVES, MA, ISODA, H., NAKAJIMA, M. Preparação e caracterização de micro/nanoemulsões contendo componentes alimentares funcionais. *Japan Journal of Food Engineering*, vol. 16, no. 4, pp. 263–276, 2015.
- ZHANG, L., LIN, J., ZHANG, C., HU, S., DONG, Y., FAN, G., ELE, F., 2024. Avanços recentes nas aplicações de óleos essenciais baseadas em nanotecnologia. *Current Nanoscience* , vol. 20, nº 5, pp. 630–643.

CAPÍTULO 2

**FILMES DE CARBOXIMETILCELULOSE INTEGRADOS COM
NANOEMULSÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia origanoides*
APRESENTAM PROPRIEDADES ANTIMICROBIANAS,
ANTIOXIDANTES E PROTEÇÃO UV**

RESUMO

A indústria alimentícia demanda tecnologias inovadoras de embalagem para prolongar a vida útil e proteger os produtos da deterioração causada pela radiação ultravioleta e contaminação microbiana. Uma estratégia promissora envolve sistemas de embalagem ativa que incorporam nanoemulsões de óleos essenciais, reconhecidas por sua eficácia antioxidante e antimicrobiana. Neste trabalho, os atributos físico-químicos e biológicos de um filme ativo formulado com uma nanoemulsão de óleo essencial de *Lippia origanoides* (NE-OELO) foram investigados para abordar os desafios da oxidação e da contaminação microbiana. A NE-OELO foi sintetizada utilizando dispersão ultrassônica de alta energia, composta por 5% (m/m) de OELO, Tween 80 na proporção de 1:2 em relação ao OELO e água ultrapura. A nanoemulsão foi avaliada quanto ao tamanho das gotículas, índice de polidispersão, potencial zeta, índice de brancura e estabilidade ao longo de um período de 120 dias. Filmes ativos foram produzidos pelo método de moldagem por vazamento, com NE-OELO incorporado em concentrações de 10%, 15% e 20% em um filme contendo 5% de carboximetilcelulose (CMC) e 1,5% de glicerol. Esses filmes foram caracterizados quanto às suas propriedades mecânicas, ópticas, térmicas e estruturais. A capacidade antioxidante foi medida utilizando os ensaios DPPH e ABTS, enquanto a atividade antimicrobiana foi avaliada por difusão em fase vapor contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*. Os filmes demonstraram desempenho como barreira UV, reduzindo a transmissão de luz na faixa de 200–350 nm e bloqueando quase completamente a luz em 280 nm nas concentrações mais elevadas de NE-OELO (formulações F15 e F20). A atividade antioxidante aumentou de forma dose-dependente (Filme F20, $35,89 \pm 0,62$ $\mu\text{mol TE/g}$ de filme), provavelmente devido a constituintes fenólicos como o carvacrol. Observou-se inibição do crescimento de *S. aureus*, enquanto nenhum efeito inibitório foi detectado contra as bactérias Gram-negativas testadas. Os testes mecânicos revelaram uma redução na resistência à tração, mas um aumento na flexibilidade (alongamento) em F10 e F15, enquanto a transparência permaneceu satisfatória. Notavelmente, a estabilidade térmica diminuiu com o aumento da concentração de NE-OELO, indicando que os filmes são mais adequados para embalar alimentos refrigerados ou frescos que não sejam submetidos a processamento térmico pós-embalagem. Em resumo, a incorporação de NE-OELO em um filme de CMC resultou em filmes ativos com capacidade eficaz de bloqueio de UV, alta atividade antioxidante e ação antimicrobiana seletiva contra *S. aureus*. Este estudo destaca o potencial de sistemas de óleos essenciais nanoestruturados para o desenvolvimento de soluções avançadas de

embalagens ativas que preservam eficazmente a qualidade dos alimentos, mantendo as propriedades visuais e de manuseio essenciais.

Palavras-chave: *Lippia origanoides*, Óleo Essencial, Nanoemulsão, Embalagem Ativa, Carboximetilcelulose, Antimicrobiano, Antioxidante.

1 INTRODUÇÃO

A indústria alimentícia enfrenta desafios cada vez mais complexos em seus esforços para prolongar a vida útil dos produtos, mantendo sua qualidade sensorial e nutricional. Um fator importante que contribui para a deterioração e potenciais problemas de segurança alimentar é a exposição dos alimentos à radiação ultravioleta (UV). Essa radiação desencadeia reações fotoquímicas que degradam componentes críticos dos alimentos, como lipídios e proteínas. Como resultado, os alimentos podem ficar rançosos e desenvolver sabores desagradáveis, o que impacta negativamente tanto seu valor nutricional quanto sua vida útil [1,2]. Além disso, a contaminação por microrganismos patogênicos compromete ainda mais a qualidade dos alimentos e representa riscos significativos para a saúde do consumidor [3].

A contaminação por microrganismos patogênicos, particularmente *Staphylococcus aureus*, é uma séria ameaça à saúde pública, especialmente quando envolve cepas que produzem enterotoxinas termoestáveis [4,5]. Essas toxinas podem levar à intoxicação alimentar aguda, que é caracterizada por sintomas como náuseas, vômitos, diarreia e cólicas abdominais [6].

Em resposta a esses problemas, as embalagens ativas surgiram como uma solução inovadora para melhorar a qualidade, a estabilidade e a segurança dos alimentos. Especificamente, as embalagens ativas que incorporam nanoemulsões contendo óleos essenciais podem proporcionar vantagens adicionais. Esses benefícios incluem maior estabilidade físico-química, liberação controlada de compostos bioativos e aumento das propriedades antimicrobianas e antioxidantes [7], uma vez que os óleos essenciais são bem conhecidos por suas propriedades biológicas, que abrangem tanto efeitos antioxidantes quanto atividade antimicrobiana de amplo espectro contra microrganismos patogênicos [8].

Além disso, as nanoemulsões aumentam a área de superfície dos agentes ativos [9], ajudando a mitigar problemas como volatilidade, baixa solubilidade e efeitos sensoriais indesejáveis normalmente associados à aplicação direta de óleos essenciais.

Neste contexto, o gênero *Lippia* apresenta interesse significativo, especialmente os quimiotipos ricos em carvacrol, um monoterpeno reconhecido por suas propriedades

antimicrobianas, particularmente sua capacidade de romper as membranas celulares bacterianas e inibir a formação de biofilme. O carvacrol é eficaz contra patógenos como *Staphylococcus aureus* [10-12].

Um estudo revelou que filmes biodegradáveis impregnados com timol e carvacrol podem prolongar eficazmente a vida útil do queijo [13]. Estes filmes, que continham 8% de carvacrol e timol, reduziram significativamente o crescimento microbiano de bactérias patogênicas, incluindo *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*.

Dentre as espécies, *Lippia origanoides* destaca-se pelo seu quimiotipo, que apresenta o carvacrol como componente predominante do seu óleo essencial [14]. Essa característica a torna uma matéria-prima valiosa para o desenvolvimento de embalagens ativas. Nesse contexto, o presente estudo visa avaliar as propriedades físico-químicas e biológicas de um filme ativo incorporando uma nanoemulsão de óleo essencial de *Lippia origanoides*. Essa abordagem inovadora foi concebida para enfrentar os desafios impostos pela oxidação e contaminação microbiana.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 PREPARAÇÃO DA NANOEMULSÃO

A nanoemulsão do óleo essencial de *Lippia origanoides* (NE-OELO) foi sintetizada utilizando tecnologia ultrassônica de alta energia. Esta formulação compreendeu uma concentração de 5% (m/m) de óleo essencial, combinada com uma proporção calculada de 1:2 (m/m) de óleo essencial para o surfactante não iônico Tween 80, todos dissolvidos em água ultrapura.

A formulação da nanoemulsão foi ajustada em relação ao estudo anterior em função da baixa concentração de óleo essencial empregada inicialmente, assim, a concentração do OELO e a razão óleo:tensoativo foram redefinidas com base em testes preliminares, visando à obtenção de uma nanoemulsão fisicamente estável e compatível com a aplicação em filmes destinados a produção de embalagens ativas. O processo de preparação foi executado em três etapas distintas, porém integradas.

Inicialmente, o Tween 80 foi completamente dissolvido em água ultrapura e submetido à agitação a uma velocidade de 1000 rpm durante 10 minutos à temperatura ambiente. Essa agitação foi crucial para garantir uma dispersão homogênea do surfactante no meio aquoso. Em seguida, o óleo essencial foi adicionado gradualmente à mistura, garantindo uma distribuição uniforme em toda a solução. A mistura resultante foi então submetida a um processamento intensivo utilizando um homogeneizador de alta

velocidade, operando a 10.000 rpm durante mais 10 minutos. Essa etapa gerou uma emulsão precursora estável [15].

Em seguida, a emulsão precursora foi submetida a uma série de ciclos de sonicação, especificamente seis ciclos sequenciais de 5 minutos cada. Para manter a estabilidade da temperatura e evitar o superaquecimento, a emulsão foi mantida em banho de gelo durante todo o processo. A sonicação foi realizada utilizando um aparelho ultrassônico (Ultronique – Eco-Sonics), que possuía uma sonda de 4 mm de diâmetro operando a uma frequência de 20 kHz, com uma potência de saída de 550 watts. Esse tratamento ultrassônico aprimorou o processo de emulsificação, resultando em uma nanoemulsão finamente dispersa. Finalmente, a nanoemulsão desenvolvida foi submetida a uma caracterização completa para avaliar suas propriedades e desempenho.

2.2 CARACTERIZAÇÃO DA NANOEMULSÃO

A caracterização da NE-OELO foi realizada por meio de diversos parâmetros, incluindo tamanho de gota, índice de polidispersão (PDI), potencial zeta (ZP) e índice de brancura (WI). Para determinar o tamanho de gota, medido em nanômetros (nm), juntamente com o PDI expresso em porcentagem (%), e o potencial zeta quantificado em milivolts (mV), foi utilizado o Zetasizer Nano ZS da Malvern Instruments (Reino Unido). Para garantir medições precisas e mitigar o impacto de efeitos de espalhamento múltiplo, as nanoemulsões foram diluídas com água deionizada na proporção de 1:100. Todas as medições foram realizadas em triplicata para validar os dados e garantir a reprodutibilidade.

Para avaliar a estabilidade da nanoemulsão ao longo do tempo, os parâmetros mencionados anteriormente tamanho da gota, PDI e potencial zeta — foram reavaliados após 20, 40 e 120 dias de armazenamento sob refrigeração, a fim de avaliar a estabilidade física das formulações.

Adicionalmente, a intensidade da cor da nanoemulsão foi medida utilizando um colorímetro (CR-400, KONICA MINOLTA) calibrado com o iluminante padrão D65 para garantir consistência e precisão. A análise de cor utilizou o sistema CIE $L^*a^*b^*$, estabelecido pela Comissão Internacional de Iluminação (CIE). Nesse sistema, L^* representa a luminosidade, enquanto a^* e b^* correspondem ao vermelho e ao amarelo, respectivamente. Além disso, o índice de brancura (IB) foi calculado de acordo com a Equação 1[16]. Essa avaliação das propriedades de cor contribuiu ainda mais para a compreensão da qualidade e estabilidade geral da nanoemulsão.

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + (a^*)^2 + (b)^2} \text{ (Equação 1)}$$

2.3 PRODUÇÃO DE FILMES ATIVOS

Os filmes ativos foram produzidos por meio de um processo de moldagem preciso. Para criar as soluções formadoras de filme, uma mistura de 5% de carboximetilcelulose (CMC) e 1,5% de glicerol foi dissolvida em água destilada, resultando em uma mistura viscosa e homogênea. A essa base, foram incorporadas concentrações variáveis de NE-OELO (10%, 15% e 20% em relação ao peso da solução formadora de filme). Essas soluções preparadas foram então vertidas sobre uma placa de vidro de 20 x 15 x 3 cm, formando uma camada lisa e uniforme. Os filmes foram secos sob condições controladas a 35 °C por 18 horas, garantindo a remoção ideal da umidade e a manutenção de sua integridade estrutural. Adicionalmente, um filme controle sem nanoemulsão foi preparado simultaneamente para fins comparativos. Após a secagem, os filmes foram selados em recipientes plásticos e armazenados sob refrigeração para manter a qualidade até o momento do uso.

2.4 CARACTERIZAÇÃO DE FILMES ATIVOS

2.4.1 Determinação da Espessura

A determinação da espessura do filme é um parâmetro crítico na caracterização de filmes ativos, pois pode influenciar significativamente suas propriedades físicas e desempenho. Neste estudo, a espessura de cada amostra de filme foi medida utilizando um micrômetro (Mitutoyo). Para cada amostra, as medições de espessura foram realizadas em três locais distintos ao longo da superfície para garantir uma avaliação representativa da uniformidade do filme. Este método minimiza o impacto potencial de variações localizadas na espessura que podem surgir durante a fabricação do filme. A espessura média foi calculada somando-se as leituras individuais e dividindo-se pelo número total de medições. Este método proporciona uma representação mais precisa das características do filme.

2.4.2 Avaliação das propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas dos filmes foram avaliadas por meio de um ensaio de tração realizado com um analisador de textura TA.XT Plus, equipado com uma célula de carga de 50 kg. O ensaio foi conduzido sob condições controladas, com uma velocidade

de tração de 5 mm/min, o que garantiu a aplicação consistente da deformação. A distância entre as garras foi mantida em 50 mm, assegurando a medição precisa do alongamento.

Para a avaliação, cada amostra de filme foi preparada com dimensões de 20 mm × 100 mm, seguindo as normas [17]. Um total de oito amostras de teste foram analisadas para cada tipo de filme, fornecendo um conjunto de dados para determinar o desempenho mecânico e garantir a confiabilidade dos resultados.

2.4.3 Determinação da permeabilidade ao vapor de água

A permeabilidade ao vapor de água dos filmes foi avaliada utilizando o método do dessecante [18]. Neste procedimento, as amostras de filme foram cortadas em quadrados uniformes e seladas com vaselina dentro de cápsulas de acrílico, que continham cloreto de cálcio anidro para servir como dessecante. Estas células de permeação foram então colocadas numa câmara controlada onde uma solução saturada de cloreto de sódio mantinha as condições ambientais.

Ao longo do experimento, foram registrados diariamente a temperatura e a umidade relativa da câmara, com médias mantidas em 24,7 °C e 61%, respectivamente. Para monitorar o desempenho do dessecante, o ganho de massa do sistema foi registrado por meio de pesagens sistemáticas realizadas em intervalos de 2 horas, até que o dessecante atingisse um limite de ganho de massa de 10%.

Os dados coletados, que incluíram o ganho de massa ao longo do tempo, foram plotados em gráficos para facilitar o cálculo da permeação diária de água através dos filmes, permitindo a determinação da permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes, expressa na unidade de $\text{g}\cdot\text{mm}/\text{m}^2\cdot\text{dia}^{-1}\cdot\text{kPa}$. Para garantir a confiabilidade e a precisão desses resultados, cada medição foi realizada em triplicata.

2.4.4 Propriedades Ópticas

As características ópticas dos filmes foram avaliadas utilizando um colorímetro CR400 da Konica Minolta. Para garantir uma avaliação completa, as medições foram realizadas em cada filme em quatro posições distintas, seguindo as diretrizes sob iluminante padrão D65, que simula de perto a luz natural do dia.

A cor dos filmes foi avaliada utilizando um colorímetro CR400 (Konica Minolta) sob iluminante padrão D65. As medições foram realizadas em quatro pontos de cada amostra e os resultados foram representados no sistema CIE $L^*a^*b^*$. Nesse sistema, L^* indica a luminosidade (onde 0 corresponde ao preto e 100 ao branco), a^* reflete a variação

entre o verde (-a*) e o vermelho (+a*), e b* denota a variação entre o azul (-b*) e o amarelo (+b*). A variação total de cor (ΔE), o índice de amarelo (YI) e o índice de brancura (WI) foram calculados utilizando as Equações 2, 3 e 4 [16], permitindo assim uma compreensão completa das propriedades de cor e do apelo visual dos filmes.

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2} \text{ (Equação 2)}$$

$$YI = 142,86 \times b^*/L^* \text{ (Equation 3)}$$

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2} \text{ (Equação 4)}$$

2.4.5 Opacidade e Transmissão de Luz

A avaliação da opacidade foi realizada utilizando um espectrofotômetro K37-UVVIS da KASVI [19]. Os filmes, recortados em dimensões de aproximadamente 3 x 1 cm, foram posicionados dentro de uma cubeta para garantir a medição ideal. Para esta avaliação, foi selecionado um comprimento de onda incidente de 600 nm. A opacidade dos filmes foi calculada quantitativamente utilizando a Equação 5, fornecendo uma visão clara de suas propriedades de bloqueio de luz.

Além da opacidade, a porcentagem de transmissão de luz através dos filmes ativos preparados foi medida usando um espectrofotômetro UV-Vis (K37-UVVIS, KASVI). Essa medição foi realizada em uma ampla faixa de comprimento de onda incidente de 200 a 800 nm [20]. Essa abordagem abrangente permitiu uma análise de quão eficazmente os filmes permitem a passagem da luz, contribuindo assim para uma melhor compreensão de suas propriedades ópticas.

$$Opacity = \frac{A600}{E}$$

A600 = absorbância a 600 nm; E = espessura do filme (mm)

2.4.6 Avaliação das propriedades térmicas

As propriedades térmicas dos filmes foram avaliadas por meio de análise termogravimétrica (TGA) [21]. Cada amostra de filme, com aproximadamente 8 mg, foi aquecida de uma temperatura inicial de 30 °C até um máximo de 800 °C. Esse aquecimento ocorreu a uma taxa controlada de 10 °C por minuto em atmosfera inerte de nitrogênio para evitar quaisquer reações oxidativas. As curvas de TGA e

termogravimetria derivada (DTG) resultantes forneceram informações valiosas para a interpretação completa da estabilidade térmica e do comportamento de degradação dos filmes.

2.4.7 Análise de Espectroscopia de Infravermelho por Transformação de Fourier (FT-IR)

O espectro infravermelho dos filmes foi examinado utilizando um espectrômetro FT-IR (Agilent Cary 630 FTIR) na faixa de número de onda de 4000 a 650 cm^{-1} . Essa análise foi realizada com o auxílio de um módulo de reflectância total atenuada (ATR), que facilitou a coleta de dados espectrais precisos e forneceu informações valiosas sobre os grupos funcionais presentes nos filmes.

2.4.8 Difração de raios X (DRX)

A análise dos padrões de difração de raios X (DRX) foi realizada utilizando um difratômetro de raios X de bancada D2 Phaser (Bruker), operando em um comprimento de onda de $\lambda = 1,54184 \text{ \AA}$. O instrumento foi configurado com uma tensão de 30 V e uma corrente de 10 mA para otimizar a emissão de raios X [22].

Durante o procedimento, os filmes em análise foram posicionados no centro de um suporte de quartzo, garantindo uma exposição uniforme ao feixe de raios X. As amostras foram então colocadas dentro do difratômetro para análise ao longo da linha de difração, abrangendo de 5° a 90°. Este método permitiu a identificação e caracterização das estruturas cristalinas presentes nos filmes.

2.4.9 Testes antioxidantes (DPPH e ABTS)

Esta seção detalha a avaliação das propriedades antioxidantes dos filmes, medindo sua atividade de eliminação de radicais livres por meio de dois métodos: os ensaios DPPH e ABTS. Os filmes foram inicialmente cortados em quadrados de 10 cm^2 , permitindo uma amostragem consistente. Esses pedaços foram então colocados em frascos âmbar contendo 10 mL de água destilada para facilitar a diluição e proteger as amostras da exposição à luz.

A capacidade de eliminação do cátion radical ABTS foi avaliada utilizando 50 μL da amostra do filme diluído, combinados com 2 mL de uma solução preparada de radical ABTS (concentração de 7 mM), que incluía a adição de 2,45 mM de persulfato de potássio para gerar o radical [23]. Especificamente, a reação foi monitorada continuamente, capturando as mudanças dinâmicas na absorbância a 734 nm utilizando um

espectrofotômetro K37-UVVIS (KASVI). Uma curva de calibração foi construída utilizando seis padrões de Trolox com concentrações variando de 40 a 400 mg.L⁻¹, permitindo a quantificação precisa da atividade antioxidante.

O ensaio de eliminação de radicais livres DPPH foi realizado adicionando-se 2,5 mL de uma solução de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) a 0,5 mL das amostras de filme diluídas. As reações foram conduzidas à temperatura ambiente, protegidas da luz ambiente para evitar interferências. A absorbância das soluções de filme/DPPH e dos controles negativos foi medida a 517 nm, utilizando um espectrofotômetro. A calibração para este método também foi estabelecida, utilizando seis padrões de Trolox na faixa de concentração de 10 a 160 mg. L⁻¹ [24].

As atividades antioxidantes resultantes dos filmes foram quantificadas e expressas em micromoles de equivalente de Trolox por grama de filme (μmol Trolox eq/g de filme), fornecendo uma indicação clara de sua eficácia na eliminação de radicais livres.

2.4.10 Atividade antimicrobiana in vitro de compostos voláteis do filme ativo

Neste estudo, os microrganismos *Staphylococcus aureus* (ATCC 00039), *Escherichia coli* ETEC (ATCC 11105) e *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028) foram inicialmente ativados em caldo de infusão cérebro-coração (BHI) e incubados a 37 °C por 18 a 20 horas, permitindo que ocorressem condições ótimas de crescimento. Após esse período de incubação, a suspensão microbiana foi ajustada para uma concentração padronizada de aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, utilizando um espectrofotômetro calibrado para uma faixa de densidade óptica (DO) entre 0,08 e 1 em um comprimento de onda de 625 nm [25].

Para avaliar os efeitos antimicrobianos dos compostos voláteis emanados do filme ativo impregnado com nanoemulsão de óleo essencial, foi aplicado o método de difusão em fase vapor. A suspensão microbiana ajustada foi espalhada uniformemente sobre a superfície de placas de Petri estéreis preenchidas com ágar Mueller-Hinton usando um swab estéril [25, 26].

Em seguida, recortes circulares do filme ativo, cada um com 10 cm de diâmetro, foram feitos em diferentes concentrações: 0% (como controle), 10%, 15% e 20%. Esses recortes foram submetidos à esterilização por UV durante 30 minutos para eliminar quaisquer contaminantes potenciais. Posteriormente, foram posicionados na parte interna das tampas das placas de Petri utilizando fita adesiva dupla face inerte e esterilizada por UV.

As placas de Petri, contendo agora o meio de cultura inoculado, foram imediatamente seladas com as tampas apropriadas, garantindo que o filme ativo permanecesse suspenso acima da superfície do ágar para facilitar a interação com os compostos voláteis. Para aumentar ainda mais a contenção desses compostos e evitar qualquer risco de contaminação, as bordas externas de cada placa foram hermeticamente seladas com Parafilm.

As placas seladas foram incubadas a 37 °C por 24 horas. Após esse período de incubação, as placas foram submetidas a uma inspeção visual minuciosa para avaliar a extensão do crescimento microbiano, permitindo a avaliação da eficácia antimicrobiana dos compostos voláteis em estudo.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os procedimentos experimentais foram realizados em triplicata, seguindo um delineamento inteiramente casualizado para minimizar o viés. Os dados obtidos foram submetidos a uma análise minuciosa utilizando Análise de Variância (ANOVA) e o teste de Tukey, ambos conduzidos com um nível de significância de 5%. Essa abordagem estatística abrangente, empregada com o software Statistica (versão 12), assegurou a avaliação dos resultados. Todos os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão (DP) para refletir com precisão a variabilidade das medições.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO DA NANOEMULSÃO DE ÓLEO ESSENCIAL *DE LIPPIA ORIGANÓIDES*

A nanoemulsão formulada a partir do óleo essencial *de Lippia origanoides* demonstrou um tamanho médio de gotícula de $59,7 \pm 0,99$ nm, que se encontra na faixa nanométrica de 20–200 nm [27]. Os menores tamanhos de gotícula observados neste estudo são significativos, pois minimizam a tendência de as gotículas se depositarem sob a influência da gravidade e melhoram a dispersão do composto lipofílico na fase contínua [28].

Os resultados obtidos estão de acordo com as descobertas de outros estudos que empregaram óleos essenciais e ultrassom. Por exemplo, um estudo [29] relatou tamanhos médios de gotículas em torno de 50 nm para nanoemulsões criadas a partir de óleos essenciais de orégano (*Origanum vulgare*), tomilho (*Thymus vulgaris*) e capim-limão (*Cymbopogon citratus*). O pequeno diâmetro das gotículas, juntamente com a

distribuição monomodal, pode ser atribuído à eficácia do tratamento com ultrassom em conjunto com o surfactante Tween 80. As ondas de choque geradas pela cavitação ultrassônica aumentam a quebra e a mistura das fases, transformando gotículas maiores em menores [30]. Além disso, tanto a duração do tratamento com ultrassom quanto a proporção óleo/surfactante desempenham papéis significativos na determinação do tamanho das gotículas da nanoemulsão [29].

O índice de polidispersidade (PDI) do NE-OELO foi determinado como $0,1365 \pm 0,0254$. Este baixo valor, inferior a 0,3, indica uma distribuição uniforme do tamanho das partículas, o que significa um sistema monodisperso. Tal homogeneidade é altamente vantajosa, pois minimiza a formação de gotículas com tamanhos diversos e extremos, aumentando assim a estabilidade geral do sistema [31].

O potencial zeta medido foi de $-17,89 \pm 1,31$ mV. Esta medição quantifica a carga eletrostática efetiva na interface da gota e serve como um parâmetro chave para avaliar o comportamento eletrocinético e a estabilidade de dispersões coloidais. Influencia vários fenômenos, incluindo sedimentação, aglomeração e deposição de partículas. Além disso, o potencial zeta é influenciado por diversos fatores, incluindo o pH do meio, a força iônica da solução, as propriedades físico-químicas da partícula e a temperatura do sistema [32].

O valor do potencial zeta observado neste estudo sugere um nível moderado de estabilidade eletrostática, provavelmente reforçado pela estabilização estérica proporcionada pelo surfactante Tween 80. Esta combinação de repulsão eletrostática e estabilização estérica desempenha um papel crucial na estabilidade geral da formulação. Resultados semelhantes foram relatados em outras formulações, como a nanoemulsão de óleo de *Nigella sativa*, que apresentou um potencial zeta de -14,17 mV [33].

Em resumo, parâmetros de tamanho de gotículas inferiores a 200 nm, um baixo índice de polidispersão (PDI) inferior a 0,3 e um potencial zeta negativo sugerem que a nanoemulsão apresenta uma distribuição monomodal, homogênea e estável. Esses resultados são consistentes com os recentes avanços em formulações de nanoemulsões de óleos essenciais, enfatizando que condições de emulsificação bem controladas e a seleção cuidadosa de combinações de surfactantes podem aumentar significativamente a estabilidade a longo prazo das nanoemulsões [34].

3.2 ESTABILIDADE DA NANOEMULSÃO DURANTE O ARMAZENAMENTO

A estabilidade físico-química da nanoemulsão durante o período de armazenamento é um parâmetro crucial, pois reflete a capacidade do sistema de manter

suas características nanométricas e, conseqüentemente, sua eficácia biológica e tecnológica. A Figura 1 ilustra as alterações no tamanho médio das gotículas (medido em nanômetros) e no Índice de Polidispersão (PDI) da NE-OELO ao longo do armazenamento (em dias).

O tamanho das partículas, ilustrado na Figura 1A, apresentou um aumento progressivo ao longo do período de análise de 120 dias. Inicialmente, o tamanho das gotículas era de aproximadamente 60 nm. Ao final dos 120 dias, o tamanho médio das gotículas havia aumentado para aproximadamente 155 nm. Embora tenha havido um aumento no diâmetro das gotículas, o tamanho permaneceu significativamente abaixo do limite de 200 nm, o que é tipicamente considerado indicativo de um sistema de nanoemulsão estável para óleos essenciais.

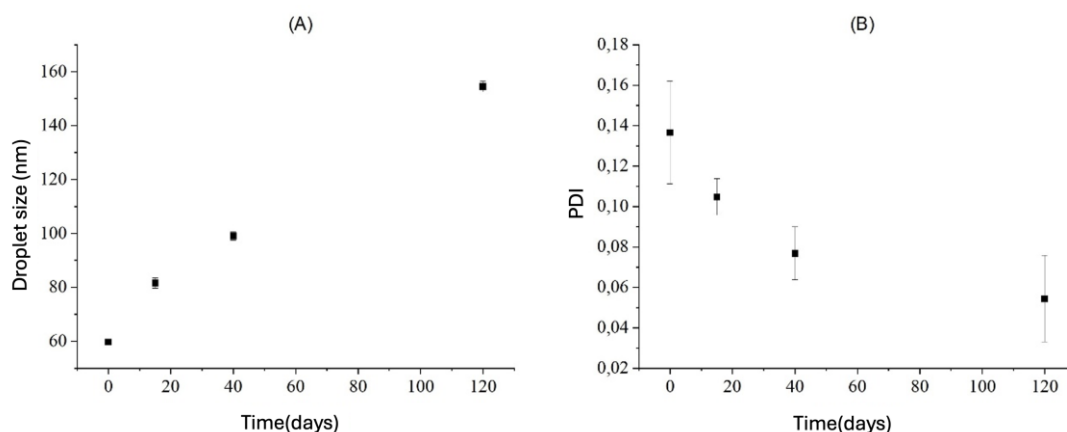


Figura 1. Tamanho das gotículas e polidispersidade da nanoemulsão de óleo essencial de *Lippia origanoides* ao longo do tempo de armazenamento.

O crescimento observado, resultante de fenômenos como floculação e coalescência subsequente, sugere que a estabilidade é mantida dentro de limites aceitáveis. No entanto, esse fator é importante a ser considerado ao avaliar a vida útil da formulação. Manter o sistema abaixo de 200 nm por um período prolongado demonstra boa estabilidade física da nanoemulsão durante o armazenamento. Essa estabilidade é essencial, pois um aumento no tamanho das partículas pode levar à aglomeração e coalescência, o que pode comprometer a eficácia da nanoemulsão.

O aumento no tamanho médio das gotículas pode estar relacionado ao valor do potencial zeta observado de $-17,89 \pm 1,31$ mV. Valores de potencial zeta com magnitude inferior a ± 30 mV sugerem estabilidade eletrostática moderada, permitindo que as partículas permaneçam próximas durante o armazenamento [35,36]. Essa condição explica o crescimento gradual das gotículas, que permanece dentro de uma faixa que garante boa estabilidade física da nanoemulsão.

O gráfico apresentado na Figura 1B ilustra as variações no Índice de Polidispersão (PDI), uma medida fundamental da uniformidade na distribuição do tamanho das partículas. O valor inicial do PDI, aproximadamente 0,14, sugere uma distribuição estreita e homogênea (monodispersa) de partículas. Essa característica é crucial para garantir a eficiência do sistema.

O PDI permaneceu consistentemente baixo, com valores inferiores a 0,14 ao longo dos 120 dias de armazenamento. Essa estabilidade indica que o sistema foi capaz de manter uma distribuição de tamanho de gotículas estreita, sem o surgimento de populações de partículas com tamanhos extremos. Esse comportamento sugere que eventuais processos de fusão entre gotículas ocorreram de forma limitada e controlada, não resultando em aumento significativo da variabilidade do tamanho das partículas. Como consequência, o sistema manteve-se homogêneo e fisicamente estável ao longo do período avaliado [28,37,38].

Manter o PDI dentro de uma faixa de 0,1 a 0,25 é altamente desejável, pois esses valores sugerem uma distribuição estreita de partículas. Essa distribuição estreita é um fator chave que aumenta tanto a estabilidade quanto a eficácia do sistema [39,40], de acordo com um estudo que relatou uma formulação de nanoemulsão estável contendo óleo essencial de *Lippia origanoides*, com um tamanho médio de nanopartícula de 167,5 nm e um PDI menor que 0,2, mantendo sua estabilidade físico-química e distribuição estreita de tamanho de partícula [41].

A Figura 1 ilustra que a NE-OELO mantém a estabilidade física durante um período de armazenamento de 120 dias. Embora tenha havido um aumento no tamanho das gotículas de 60 nm para 155 nm, a integridade do sistema nanométrico permaneceu intacta, enquanto a homogeneidade foi preservada com um índice de polidispersão (PDI) consistentemente baixo. Essa estabilidade é vital para futuras aplicações tecnológicas, pois garante a integridade da nanoemulsão, prolongando assim o tempo de liberação dos compostos bioativos do óleo essencial. Essa característica é fundamental para a eficácia do filme ativo.

3.3 PROPRIEDADES MECÂNICAS E PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA

Os valores medidos (Tabela 1) para permeabilidade ao vapor de água, resistência à tração e alongamento ilustram os efeitos da incorporação da nanoemulsão nos filmes. Essa incorporação proporciona um equilíbrio entre propriedades de barreira e flexibilidade, ambas cruciais para aplicações biotecnológicas e embalagens ativas. Os

valores para os filmes à base de carboximetilcelulose (CMC), que incluem concentrações variáveis de NE-OELO, são apresentados na Tabela 1.

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) é um parâmetro que avalia a capacidade de um filme de inibir a transferência de umidade, impactando significativamente tanto a qualidade dos alimentos quanto a vida útil [42]. Os resultados indicam que a incorporação de NE-OELO afetou a PVA, com filmes contendo uma concentração de 10% de nanoemulsão apresentando maior permeabilidade em comparação com o filme controle.

Tabela 1 – Permeabilidade ao vapor de água e propriedades mecânicas de filmes de carboximetilcelulose com diferentes concentrações de nanoemulsão de óleo essencial *de Lippia origanoides*.

Filme	WVP (g.mm/m ² .dia.kPa)	MR (MPa)	Alongamento (%)
F0	6,65 ± 0,33 c	22,59 ± 2,47 a	55,65 ± 0,32 b
F10	11,25 ± 0,59 a	12,66 ± 1,27 b	80,64 ± 8,50 a
F15	8,42 ± 0,50 b	15,25 ± 0,30 b	77,32 ± 5,99 a
F20	8,03 ± 0,35 b	15,44 ± 1,38 b	41,46 ± 3,28 b

*Nas colunas, as médias com as mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey, ao nível de probabilidade de 5%. WVP – Permeabilidade ao vapor de água; MR – Resistência mecânica. F0 Filme de controle (0% NE-OELO); F10 (10% NE-OELO m/m); F15 (15% NE-OELO m/m); F20 (20% NE-OELO m/m).

O aumento observado na permeabilidade ao vapor de água (PVA) após a incorporação de nanoemulsões em filmes hidrofílicos, como a carboximetilcelulose (CMC), é um fenômeno bem documentado. A natureza lipídica do óleo essencial, combinada com surfactantes como o Tween 80, perturba o empacotamento da rede polimérica dentro do filme de CMC. Essa perturbação resulta em caminhos tortuosos e poros que facilitam a difusão de moléculas de água através do filme

Concentrações mais elevadas de NE-OELO podem favorecer uma melhor dispersão das gotículas lipídicas no filme polimérica e aumentar a probabilidade de interações entre essas gotículas, resultando na formação de regiões com maior densidade lipídica distribuídas ao longo do filme. Essas regiões atuam como zonas hidrofóbicas descontínuas que dificultam a difusão de moléculas de água, restringindo de forma mais eficiente a passagem de vapor d'água quando comparadas a filmes com menores concentrações do aditivo, embora não superem completamente a barreira imposta pelo filme polimérica pura de CMC [43].

A redução na permeabilidade ao vapor de água (WVP) observada em F15 e F20, quando comparada a F10, sugere que concentrações mais elevadas de NE-OELO podem facilitar uma melhor dispersão e preenchimento de vazios, ou ainda aumentar a formação de domínios lipídicos interconectados. Esses domínios parecem restringir a passagem de água de forma mais eficaz do que em concentrações mais baixas, embora não superem completamente a barreira oferecida pela CMC pura.

Resultados semelhantes foram relatados em uma pesquisa sobre filmes ativos incorporando óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* nos quais, concentrações mais elevadas do óleo promoveram a formação de regiões hidrofóbicas dispersas no filme polimérico. Essas regiões aumentaram a tortuosidade do caminho de difusão do vapor d'água, resultando em menor permeabilidade, sem que houvesse a formação de uma fase lipídica contínua no sistema [44].

Ao examinar as propriedades mecânicas, observou-se que a resistência à tração dos filmes diminuiu com a incorporação de NE-OELO, sem diferenças significativas entre os filmes que incluíam esse aditivo. Essa redução sugere que as gotículas lipídicas dispersas atuam como descontinuidades físicas no filme polimérico, interferindo nas interações intermoleculares entre as cadeias de CMC, como ligações de hidrogênio. Mesmo em baixas concentrações, a presença dessas gotículas pode aumentar o espaçamento entre as cadeias poliméricas, reduzindo a coesão da rede, o que resulta em maior flexibilidade, menor resistência mecânica e alterações na permeabilidade ao vapor d'água [45].

Resultados semelhantes foram observados em relação à redução da resistência mecânica ao desenvolver filmes de CMC infundidos com óleo essencial de canela (*Cinnamomum cassia*), esse efeito é consistente com o comportamento observado no presente estudo, reforçando que a incorporação de nanoemulsões lipídicas tende a atuar como agente plastificante físico, alterando as propriedades mecânicas do filme [46].

Uma pesquisa demonstrou que os filmes de CMC apresentaram uma redução na resistência máxima à tração, diminuindo de 24,1 MPa no filme de controle para 16,4 MPa no filme que incorporou a nanoemulsão de óleo essencial. Os autores atribuem essa mudança à dispersão nanoestruturada, que resulta em maior heterogeneidade e flexibilidade aprimorada dentro da matriz [47].

Outro estudo examinou filmes de CMC impregnados com nanoemulsões de vários óleos essenciais, incluindo tomilho, cravo e cardamomo. Eles relataram valores de resistência à tração variando de 11,7 a 20,4 MPa. Sua pesquisa demonstrou que um

aumento no teor lipídico derivado dos óleos essenciais no filme resulta em uma diminuição nas forças coesivas entre as cadeias de CMC. Esse comportamento está de acordo com as observações feitas no presente estudo [48].

O aumento no alongamento observado em filmes contendo 10% e 15% de NE-OELO, em comparação com o controle, é particularmente notável. Esse aumento ilustra o efeito plastificante da nanoemulsão, que confere maior flexibilidade ao material e aumenta sua capacidade de deformação sem fratura [49]. Esses resultados destacam o papel das nanoemulsões como modificadores reológicos, aprimorando a distribuição e a interação das fases e, assim, otimizando a flexibilidade dos filmes.

O filme F20 apresentou um alongamento estatisticamente comparável ao do filme de controle (F0), porém significativamente menor do que o dos filmes F10 e F15. Esse comportamento pode ser atribuído à presença de partículas em excesso no filme polimérico. Em altas concentrações, essas partículas dispersas podem atuar como pontos de concentração de tensão ou agentes antiplastificantes, limitando assim a mobilidade da cadeia e impedindo a capacidade de deformação do filme [50, 51, 52].

Resultados semelhantes foram demonstrados em uma pesquisa sobre filmes biodegradáveis de metilcelulose para embalagens de alimentos perecíveis [53]. O estudo relatou uma redução na resistência à tração acompanhada por um aumento no alongamento, que eles atribuíram a alterações na organização interna do filme polimérico.

Na avaliação de filmes de biopolímeros que incorporam nanocristais de celulose e óleo essencial de hortelã-pimenta (*Mentha x piperita* L.), observou-se que os valores de alongamento dos filmes aumentaram significativamente, variando de 2,18% a 8,10%. Por outro lado, houve uma diminuição na resistência mecânica dos filmes [54]. Essa observação indica uma correlação em que valores de alongamento mais altos correspondem a resistências à tração mais baixas e vice-versa [55].

A incorporação de NE-OELO no filme de CMC levou a modificações na estrutura polimérica, que se evidenciaram nas alterações das propriedades do filme. Embora a capacidade de barreira ao vapor de água tenha sido comprometida por um aumento na permeabilidade ao vapor de água (WVP), representando uma desvantagem para embalagens de alimentos sensíveis à umidade, observou-se uma melhora significativa na flexibilidade (alongamento) nas concentrações F10 e F15. Essa melhoria é vantajosa para o manuseio. As alterações nas propriedades dos filmes sugerem seu potencial como camadas funcionais em filmes multicamadas. Tais configurações poderiam equilibrar efetivamente a flexibilidade e a atividade biofuncional da camada de CMC e NE-OELO

com a alta resistência à umidade proporcionada por uma segunda camada hidrofóbica, expandindo assim suas aplicações em embalagens biodegradáveis para alimentos.

3.4 PROPRIEDADES ÓPTICAS

As propriedades ópticas dos filmes, especialmente a sua transparência, são essenciais nas embalagens de alimentos. Estas características são importantes não só para garantir a proteção dos alimentos, mas também para influenciar as escolhas de compra dos consumidores, uma vez que muitos indivíduos preferem ver os produtos alimentares que estão a comprar [56,57,58].

A Tabela 2 apresenta os resultados de opacidade, variação total de cor (ΔE), índice de amarelecimento (YI) e índice de brancura (WI) de filmes de carboximetilcelulose (CMC) incorporando várias concentrações de nanoemulsão de óleo essencial de *Lippia origanoides* (NE-OELO).

Tabela 2 – Propriedades ópticas de filmes de carboximetilcelulose incorporados com diferentes concentrações de nanoemulsão de óleo essencial de *Lippia origanoides*.

Filme	Opacidade (mm^{-1})	ΔE	YI	WI
F0	$1,39 \pm 0,29$ b	$2,45 \pm 0,08$ a	$-3,72 \pm 0,03$ a	$90,99 \pm 0,05$ a
F10	$3,39 \pm 0,27$ a	$2,40 \pm 0,08$ a	$-3,98 \pm 0,11$ a	$90,89 \pm 0,10$ a
F15	$3,37 \pm 0,45$ a	$2,39 \pm 0,19$ a	$-3,83 \pm 0,15$ a	$90,84 \pm 0,10$ a
F20	$3,46 \pm 0,39$ a	$2,35 \pm 0,07$ a	$-3,79 \pm 0,07$ a	$90,88 \pm 0,09$ a

*Nas colunas, as médias que compartilham as mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey, ao nível de probabilidade de 5%. ΔE indica a Variação Total de Cor; YI representa o Índice de Amarelamento; WI denota o Índice de Brancura. F0 Filme de controle (0% NE-OELO); F10 (10% NE-OELO m/m); F15 (15% NE-OELO m/m); F20 (20% NE-OELO m/m).

A análise das propriedades ópticas indicou que os filmes contendo NE-OELO apresentaram maior opacidade em comparação com o filme de controle. Além disso, as opacidades dos filmes F10, F15 e F20 demonstraram diferenças estatisticamente significativas entre si, conforme mostrado na Tabela 2.

As demais variáveis, ΔE , YI e WI, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas e mantiveram valores estáveis em todas as formulações. Esse achado indica que a cor e a transparência visual dos filmes permaneceram consistentes. Os resultados sugerem que, embora a adição da nanoemulsão cause uma leve turbidez devido à dispersão uniforme do NE-OELO, isso não compromete a aparência ou a uniformidade óptica do filme polimérico.

Assim, os resultados dos testes de propriedades ópticas dos filmes neste estudo estão alinhados com o objetivo funcional de proteger o conteúdo da embalagem sem comprometer a transparência do filme, conforme mostrado na figura 2.

A comparação visual dos filmes mostrada na figura 2 ilustra claramente a sua transparência, mesmo em concentrações mais elevadas de NE-OELO.

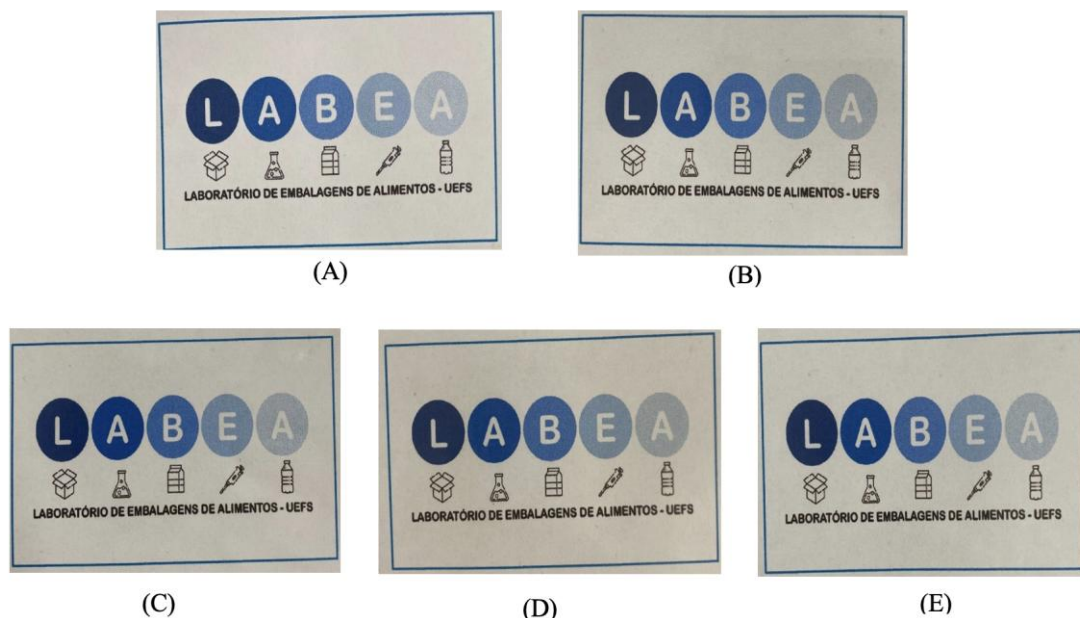


Figura 2. Aparência de filmes ativos no mesmo fundo visual: (A) Imagem sem filme (B) Filme controle (0% NE-OELO) (C) Filme 10 (10% NE-OELO m/m) (D) Filme 15 (15% NE-OELO m/m) (E) Filme 20 (20% NE-OELO m/m).

Filmes biodegradáveis de CMC infundidos com óleo essencial *de tomilho* revelaram que todas as amostras apresentaram valores de opacidade variando de 7,47 a 14,84 mm^{-1} , inferiores aos observados nas amostras de controle. Por outro lado, a adição de óleos essenciais (OE) aumentou significativamente os valores de transparência. Essa melhoria indica uma interação favorável entre os OE e a porção hidrofílica do polímero, promovendo a compatibilidade interfacial. Como resultado, os filmes formaram emulsões muito finas e uniformemente distribuídas, o que reduziu a dispersão da luz e, consequentemente, melhorou a transparência geral do filme [59].

Filmes de CMC aprimorados com curcumina e pigmentos naturais revelaram que os valores de opacidade variaram de 1,2 a 3,5 mm^{-1} , dependendo da concentração do ingrediente ativo. As características de cor e transparência permaneceram estatisticamente consistentes entre as várias formulações, atribuídas à dispersão uniforme dos pigmentos e à sua interação eficaz com o filme polimérico. Os autores destacaram o

potencial desses filmes como materiais para embalagens inovadoras, observando sua estabilidade de cor e propriedades físicas [60].

Filmes transparentes melhoram a avaliação visual dos alimentos, aprimorando a percepção dos consumidores sobre frescor e qualidade, permitindo uma visão clara do produto em seu interior. Além disso, o uso de filmes ativos transparentes imita a aparência das embalagens plásticas tradicionais, aumentando o apelo estético e expandindo suas aplicações na indústria alimentícia [54, 61, 62].

Embora uma maior opacidade possa ser vista como uma desvantagem de marketing em situações que exigem alta transparência, ela oferece benefícios significativos em embalagens projetadas para proteger contra a fotodegradação. Isso inclui a proteção contra a oxidação lipídica e a degradação de vitaminas, o que serve como um argumento de marketing convincente para prolongar a vida útil do produto.

3.5 TRANSMISSÃO DE LUZ DOS FILMES

A capacidade dos filmes de embalagem de filtrar a radiação luminosa é essencial para a proteção dos alimentos, particularmente contra a foto-oxidação e a degradação de compostos fotossensíveis [63]. A Tabela 3 ilustra a percentagem de transmissão de luz (%) para filmes de carboximetilcelulose (CMC) contendo várias concentrações de nanoemulsão de óleo essencial de *Lippia origanoides* (NE-OELO) em diferentes comprimentos de onda (em nanômetros).

Tabela 3 – Transmissão de luz de filmes de carboximetilcelulose contendo várias concentrações de nanoemulsão de óleo essencial de *Lippia origanoides*.

Filme	Comprimento de onda (nm)							
	200	280	350	400	500	600	700	800
F0	1,1 ± 0,5	55,9 ± 3,7	71,1 ± 1,6	77,3 ± 1,0	81,1 ± 0,7	82,8 ± 0,6	83,7 ± 0,7	84,5 ± 0,7
F10	0,3 ± 0,4	2,9 ± 1,5	60,9 ± 6,4	63,0 ± 6,2	65,6 ± 6,0	68,8 ± 5,3	70,0 ± 4,7	72,5 ± 4,0
F15	0,0 ± 0,0	0,4 ± 0,2	54,9 ± 3,1	60,3 ± 3,2	62,9 ± 3,0	64,6 ± 2,8	66,4 ± 2,9	68,3 ± 2,9
F20	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	55,3 ± 4,9	57,5 ± 6,2	58,5 ± 6,0	60,5 ± 5,6	62,6 ± 5,5	64,9 ± 5,3

Filmes de carboximetilcelulose incorporados com diferentes concentrações de nanoemulsão de óleo essencial de *Lippia origanoides*: F0 (0% NE-OELO), F10 (10% NE-OELO), F15 (15% NE-OELO) e F20 (20% NE-OELO).

O filme de controle (F0) apresentou alta transmitância em todo o espectro visível (400–800 nm), atingindo quase 85% em 800 nm, o que demonstra sua transparência. Em contraste, a incorporação de NE-OELO resultou em uma diminuição gradual da

transmitância dos filmes em todo o espectro, particularmente na faixa ultravioleta (200–350 nm). Essa redução foi especialmente pronunciada nas formulações com maiores concentrações de nanoemulsão (F15 e F20), indicando uma capacidade significativa de bloquear a radiação ultravioleta.

O impacto significativo da concentração de NE-OELO destaca a eficácia dos filmes de nanoemulsão de *Lippia organoides* como barreiras ópticas, particularmente contra a radiação ultravioleta. Esta propriedade é essencial para embalagens ativas concebidas para proteger compostos fotossensíveis e para mitigar reações oxidativas ou perda de nutrientes nos alimentos, preservando assim as qualidades organolépticas dos produtos embalados [64]. A redução observada na transmissão de luz é atribuída aos compostos polifenólicos presentes na composição química do óleo essencial de *Lippia organoides* [65].

Filmes à base de polímeros que incorporam compostos bioativos têm despertado considerável interesse na indústria alimentícia. Pesquisas estão em andamento sobre sua capacidade de aliviar problemas como oxidação, desidratação, ranço e escurecimento. Consequentemente, esses filmes não apenas melhoram as propriedades físico-químicas, nutricionais e sensoriais dos produtos alimentícios, mas também prolongam sua vida útil [66].

Os resultados de transmissão de luz revelam que a integração do NE-OELO no filme de CMC transformou o material em um filme com barreira UV. Essa característica é muito desejada no mercado de embalagens ativas. Esse filme é especialmente eficaz na conservação de alimentos fotossensíveis, como laticínios, carnes processadas, óleos e especiarias, pois bloqueia quase 100% da radiação UV, principalmente no comprimento de onda de 280 nm.

No entanto, a diminuição da transparência no espectro visível pode restringir sua aplicação em alimentos onde a visibilidade clara é crucial, embora o mercado frequentemente priorize a proteção da qualidade em detrimento da transparência completa para muitos produtos perecíveis.

Em resumo, o filme ativo desenvolvido, particularmente em concentrações mais elevadas como F15 e F20, demonstra propriedades ópticas que atendem às demandas do mercado por embalagens fotoprotetoras e ativas. Este filme oferece um valor significativamente superior em comparação com o filme de CMC não modificado.

Desse modo, os filmes ativos desenvolvidos, especialmente nas formulações com maiores concentrações, como F15 e F20, apresentaram propriedades ópticas compatíveis

com as exigências do mercado para embalagens ativas com capacidade de proteção contra radiação ultravioleta. Esse efeito fotoprotetor está associado predominantemente a mecanismos físicos, como a absorção seletiva da radiação ultravioleta por compostos bioativos do óleo essencial e o espalhamento da luz promovido pelas gotículas da nanoemulsão dispersas no filme polimérico, não havendo evidências de processos de degradação fotoquímica dos constituintes bioativos ou de geração de radicais livres no sistema avaliado.

3.6 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

A estabilidade térmica é uma consideração crucial na aplicação industrial de filmes ativos, visto que flutuações de temperatura podem ocorrer durante o processamento e armazenamento. A Análise Termogravimétrica (TGA) permite avaliar a estabilidade térmica de um material e os efeitos da incorporação de uma nanoemulsão no filme polimérico. A Figura 3 ilustra as curvas de TGA e termogravimetria derivada (DGT) para os componentes envolvidos na formulação do filme: (A) Carboximetilcelulose (CMC), (B) Glicerol e (C) Nanoemulsão de Óleo Essencial de *Lippia origanoides* (NE-OELO).

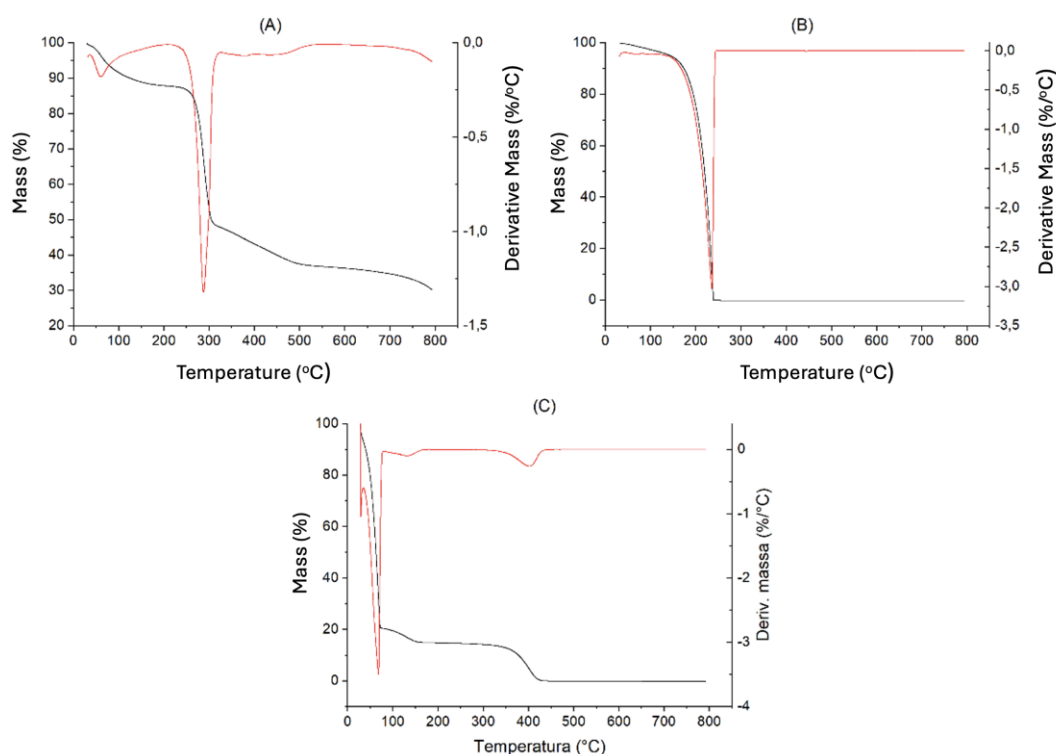


Figura 3. Curvas TGA dos compostos utilizados no desenvolvimento do filme: (A) carboximetilcelulose, (B) glicerol e (C) uma nanoemulsão de óleo essencial de *Lippia origanoides*.

A análise termogravimétrica revelou três faixas de temperatura principais para cada material. Para a carboximetilcelulose (A), a perda de massa inicial ocorre até aproximadamente 120 °C, o que está relacionado à liberação de água fisicamente adsorvida. O principal evento de perda de massa ocorre entre aproximadamente 220 °C e 350 °C, exibindo um pico acentuado próximo a 300 °C. Esse pico é indicativo da quebra da cadeia polimérica e da descarboxilação de grupos funcionais. Acima de 350 °C e até 800 °C, a perda de massa é atribuída à oxidação e à remoção de resíduos carbonáceos remanescentes. Essa decomposição em múltiplos estágios é típica de polímeros hidrofílicos, como a carboximetilcelulose, destacando processos como a perda de água residual, a degradação oxidativa da cadeia polimérica e a quebra de grupos funcionais laterais [67-69]. Essas observações demonstram a integridade estrutural do material e sua maior resistência à degradação térmica, tornando-o uma opção atraente para aplicações em embalagens biodegradáveis.

O glicerol (B) apresenta perda de massa quase completa em temperaturas de até aproximadamente 200 °C, resultando em rápida volatilização e degradação térmica, com o principal evento de decomposição ocorrendo antes de atingir 250 °C. Esse comportamento é característico de agentes plastificantes, que são incorporados em compostos poliméricos para alterar o filme polimérico e aumentar a mobilidade da cadeia para gelatinização [70]. Tais modificações reduzem as forças atrativas intermoleculares entre as moléculas do polímero, diminuindo assim a resistência térmica de filmes plastificados com glicerol [71].

No gráfico C, que ilustra a nanoemulsão (NE OELO), observa-se uma perda inicial de água e solventes até aproximadamente 120 °C. Entre 120 °C e 270 °C, ocorrem a evaporação e transformação dos componentes orgânicos do óleo essencial de *Lippia origanoides*, juntamente com o surfactante (Tween 80) utilizado na formulação. Observou-se que ocorrem alterações e oxidação dos resíduos orgânicos e das fases lipídicas na faixa de temperatura acima de 300 °C e até 800 °C, o que define o perfil térmico do sistema. Os resultados da análise termogravimétrica sugerem que a nanoemulsão permanece termicamente estável apenas em temperaturas mais baixas.

Estudos recentes destacam o padrão de degradação térmica observado em nanoemulsões de óleo essencial em filmes poliméricos. Uma nanoemulsão desenvolvida contendo óleo essencial de *Lippia origanoides* demonstrou estabilidade apenas em temperaturas mais baixas. Em temperaturas extremas, ela sofre perda de massa devido à

decomposição de componentes orgânicos, resultando na ausência de resíduo significativo [41].

Embora as nanoemulsões apresentem estabilidade térmica limitada, a utilização de sistemas nanoestruturados de óleos essenciais em polímeros para criar filmes pode proteger eficazmente os componentes ativos [14]. Estes sistemas facilitam a libertação controlada de compostos voláteis, não resultando em massa residual após exposição a altas temperaturas, ao contrário dos filmes produzidos diretamente com óleos essenciais.

A volatilização de óleos essenciais ocorre a temperaturas relativamente baixas, indicando que a incorporação do NE-OELO deve ser feita em condições amenas. Além disso, quaisquer processos de selagem ou embalagem que envolvam calor devem ser controlados e mantidos a uma temperatura inferior a 100 °C. Isso é crucial para minimizar a perda de carvacrol e outros compostos bioativos, garantindo assim a integridade e a qualidade do produto. Consequentemente, este filme é particularmente adequado para aplicações em alimentos que não são processados termicamente após a embalagem, como produtos frescos ou refrigerados, onde a liberação de compostos bioativos à temperatura ambiente ou inferior é otimizada.

O estudo destaca a importância da nanotecnologia na estabilização do óleo essencial de *Lippia origanoides*. No entanto, a volatilidade inerente aos monoterpenos continua sendo uma limitação operacional a ser considerada em escala industrial.

A análise dos termogramas dos filmes ativos que incorporam diferentes concentrações de NE-OELO (A-F0%, B-F10%(m/m), C-F15%(m/m) e D-F20%(m/m)) mostra a influência direta do NE-OELO nas propriedades físico-químicas e na estabilidade térmica dos filmes desenvolvidos (Figura 4).

Todos os filmes passam por três estágios principais de degradação. A perda de água adsorvida caracteriza o estágio inicial do processo. O estágio intermediário envolve a decomposição dos grupos funcionais da carboximetilcelulose (CMC) juntamente com os componentes orgânicos do NE-OELO. Por fim, o estágio final abrange a degradação do filme polimérico residual.

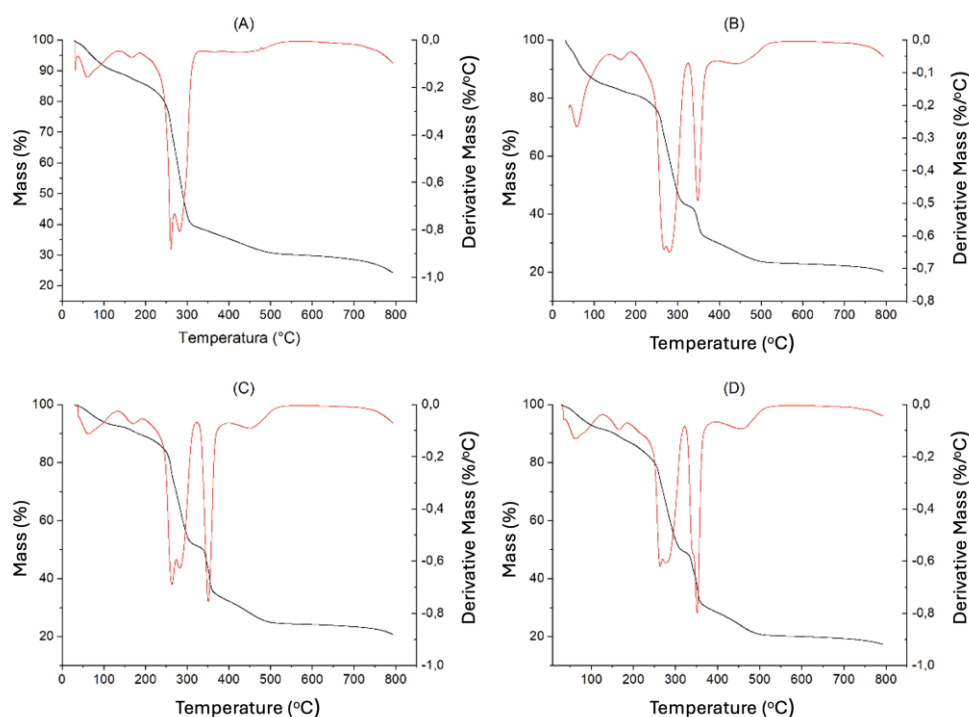


Figura 4. Curvas de TGA de filmes de carboximetilcelulose impregnados com diferentes concentrações de nanoemulsão de óleo essencial de *Lippia origanoides*. As amostras são designadas da seguinte forma: (A) filme controle (0% NE-OELO), (B) Filme 10 (10% NE-OELO m/m), (C) Filme 15 (15% NE-OELO m/m) e (D) Filme 20 (20% NE-OELO m/m).

A análise termogravimétrica de filmes de carboximetilcelulose (CMC) contendo concentrações variáveis de NE-OELO destaca diferenças sutis, porém notáveis, entre as formulações.

O filme de controle (gráfico A) exibe três estágios distintos de decomposição. A perda de massa inicial ocorre até aproximadamente 120 °C, o que é atribuído à remoção da água fisicamente adsorvida no filme polimérico. Um pico é observado entre aproximadamente 220 °C e 350 °C, sugerindo a degradação do polímero por meio da descarboxilação de seus grupos funcionais. Acima de 350 °C, ocorre uma fase prolongada de degradação do carbono residual, caracterizada por uma taxa gradual de perda de massa que se estende até 800 °C.

No gráfico B, o filme contendo 10% de NE-OELO exibe uma faixa inicial de eliminação de água semelhante à da amostra controle, atingindo até 120 °C. Na faixa de temperatura entre 220 °C e 350 °C, observam-se múltiplos picos. Esse comportamento sugere que, além da manipulação do filme de CMC, há uma sobreposição na suspensão dos constituintes voláteis e fenólicos do óleo essencial, o que se reflete nos múltiplos eventos térmicos observados na curva. A fase final de oxidação dos resíduos acima de 350 °C mostra uma diminuição na massa residual, indicando a presença de frações mais termolábeis.

O filme F15 (gráfico C) demonstra um perfil muito semelhante ao do filme F10, porém com intensidades de pico ainda maiores na faixa de 220–350 °C. Essa observação reforça o papel dos componentes do OELO na liberação de compostos voláteis. Notavelmente, a perda de massa parece ser mais substancial, e a proximidade dos picos em temperaturas semelhantes sugere uma influência mais significativa da fase lipídica. Na etapa final, acima de 350 °C, os resíduos exibem comportamento de oxidação contínua, com o filme F15 apresentando uma massa residual ainda menor que a do filme F10.

No filme F20 ilustrado no gráfico (D), a perda de massa inicial ocorre até 120 °C, correspondendo à remoção de água livre e umidade adsorvida no filme polimérico. Entre 220 °C e 350 °C, são detectados múltiplos picos, provavelmente refletindo os processos de degradação associados à despolimerização da carboximetilcelulose (CMC) e à quebra de constituintes termolábeis no OELO, incluindo terpenos e compostos fenólicos. A adição de 20% de NE-OELO resulta em maior liberação de compostos orgânicos voláteis e redução da estabilidade térmica. Acima de 350 °C, ocorre degradação contínua das frações residuais de carbono e lipídios.

Filmes contendo nanoemulsão apresentam múltiplos picos de degradação durante o teste TGA. Essa variabilidade é atribuída à presença de componentes orgânicos encapsulados. Em contraste, o filme de controle exibe um padrão de decomposição mais uniforme [72].

Essa mudança no perfil térmico indica que a incorporação da nanoemulsão altera a dinâmica de degradação do filme. Isso é atribuído à presença de compostos voláteis e mudanças estruturais que promovem a quebra de ligações poliméricas em temperaturas intermediárias [73].

Os resultados desta pesquisa revelam que, embora a incorporação de NE-OELO aprimore as propriedades funcionais do filme ativo — particularmente suas características antioxidantes e antimicrobianas —, ocorre um declínio progressivo na estabilidade térmica à medida que a concentração de componentes orgânicos aumenta. Essa observação ressalta a necessidade de formulações futuras que abordem esse desafio, facilitando, assim, potenciais aplicações industriais.

As propriedades térmicas obtidas são adequadas ao nicho de mercado de embalagens para alimentos refrigerados ou frescos que não são submetidos à esterilização ou aquecimento após o envase. Nesse segmento, os fatores-chave são a estabilidade física do filme (sua resistência) e a liberação eficaz do princípio ativo em condições de baixa

temperatura. Este trabalho se destaca por caracterizar um sistema que mantém a estabilidade física do componente ativo, ao mesmo tempo que se mostra termicamente vulnerável, orientando, assim, sua aplicação de maneira técnica e cientificamente sólida.

3.7 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMAÇÃO DE FOURIER (FT-IR)

A análise por FT-IR foi realizada nos filmes ativos para examinar possíveis alterações nos modos vibracionais moleculares resultantes da incorporação de diferentes concentrações de NE-OELO no filme polimérico de carboximetilcelulose (CMC). Essa análise espectroscópica é necessária para confirmar a integração efetiva do ingrediente ativo e para identificar interações intermoleculares que afetam a estabilidade e o desempenho funcional do filme ativo (Figura 7).

O espectro do filme de controle (F0) exibiu as bandas características da CMC, com um pico de absorção amplo e proeminente em torno de 3400 cm^{-1} , atribuível ao estiramento vibracional O–H. Além disso, as bandas observadas próximas a 1600 e 1410 cm^{-1} correspondem às vibrações assimétrica e simétrica do grupo carboxilato (COO^-), confirmando assim a integridade estrutural do polímero base.

Por se tratar de uma análise por ATR-FTIR, mais sensível às camadas superficiais do material, a ausência de bandas novas e de deslocamentos significativos nas bandas principais indica que a incorporação da NE-OELO não promoveu alterações químicas detectáveis na superfície do filme, sugerindo ausência de formação de novas ligações químicas e predominância de incorporação física da nanoemulsão no filme de CMC. Além disso, a manutenção do perfil espectral pode indicar que não houve enriquecimento superficial relevante do óleo essencial, sendo compatível com a retenção das gotículas no interior/na rede polimérica. Essa condição pode contribuir para maior proteção dos compostos bioativos e para uma liberação mais gradual, embora o ATR-FTIR, isoladamente, não permita confirmar diretamente o mecanismo de retenção ou liberação.

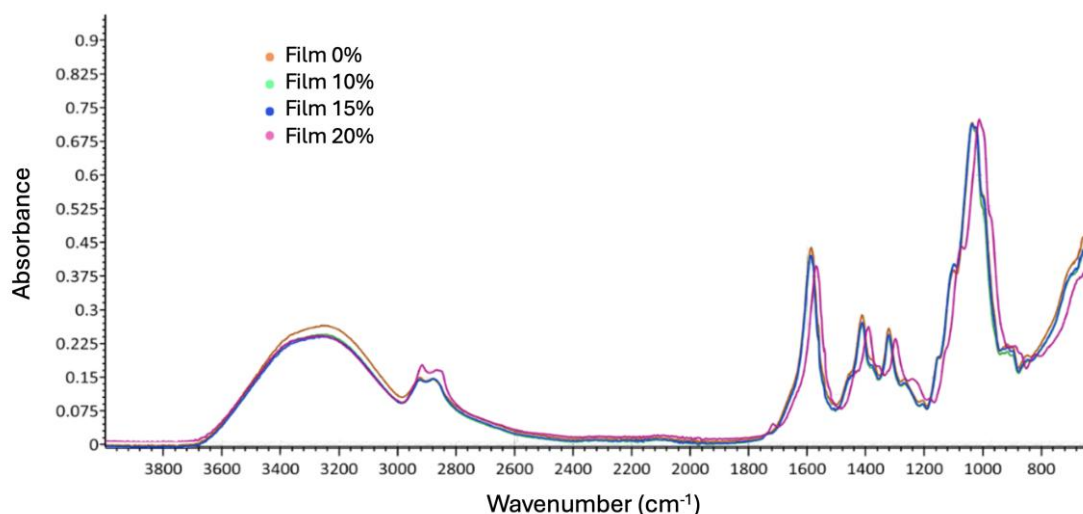


Figura 7. Espectros FT-IR de filmes de carboximetilcelulose que incorporam diferentes concentrações de nanoemulsão polimérica contendo óleo essencial de *Lippia origanoides*. Os diferentes filmes são os seguintes: filme controle (0% NE-OELO), Filme 10 (10% NE-OELO p/p), Filme 15 (15% NE-OELO p/p) e Filme 20 (20% NE-OELO p/p).

Não foram encontrados na literatura, no momento da redação deste artigo, resultados de análises FT-IR para filmes ativos contendo NE-OELO para fins comparativos. Uma pesquisa sobre um filme biopolimérico que incorpora timol e carvacrol, os principais compostos encontrados no óleo essencial de *Lippia origanoides*, relatou que tanto o timol quanto o carvacrol interagem com o filme polimérico, formando ligações de hidrogênio intermoleculares entre seus grupos hidroxila terminais e os grupos carbonila dos ésteres poliméricos. A incorporação desses óleos essenciais levou ao surgimento de novos picos, aumento da intensidade e deslocamentos nas bandas primárias [13].

Os espectros de FT-IR dos diversos filmes contendo NE-OELO exibiram uma banda O–H larga na faixa de 3600 a 3000 cm^{-1} , indicando a presença de uma extensa rede de ligações de hidrogênio. Adicionalmente, pares de carboxilato característicos foram observados em aproximadamente 1600 e 1410 cm^{-1} . A incorporação de NE-OELO em concentrações de 10–20% resultou em um alargamento ainda maior da banda O–H e um aumento na intensidade do pico entre 1200 e 1000 cm^{-1} . O aumento da intensidade nas regiões próximas a 1600 e 1510 cm^{-1} pode ser atribuído à atividade vibracional do anel aromático do carvacrol, o principal componente do OELO. Além disso, observou-se um pico em torno de 1260–1230 cm^{-1} correspondente ao $\nu\text{C–O}$ fenólico, confirmando a incorporação eficaz da nanoemulsão de óleo essencial de *Lippia origanoides*.

A análise FT-IR desempenha um papel fundamental ao demonstrar que a nanotecnologia facilita a dispersão uniforme e a interação molecular do óleo essencial no

filme hidrofílico de CMC. A forte evidência de interações por ligações de hidrogênio, juntamente com a detecção dos modos vibracionais do carvacrol no filme, confirma que a funcionalização do filme foi alcançada com sucesso em nível molecular. Sugere-se que essa integração sirva como base para o desempenho biológico superior do material, o qual influencia diretamente suas propriedades funcionais, como a liberação controlada do ingrediente ativo em comparação com a rápida volatilização associada à sua forma pura, e o aumento da capacidade antioxidante e da atividade antimicrobiana seletiva contra *Staphylococcus aureus*, devido à distribuição molecular e às interações do NE-OELO.

Em resumo, a espectroscopia fornece evidências convincentes de compatibilidade e miscibilidade molecular, confirmando o sucesso da abordagem nanotecnológica no desenvolvimento de filmes ativos de alto desempenho.

3.8 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

O índice de cristalinidade (IC) dos filmes apresentou uma média de $12,2 \pm 1,6$, sugerindo que os filmes de carboximetilcelulose (CMC) integrados com a nanoemulsão de óleo essencial de *Lippia origanoides* possuem uma estrutura predominantemente amorfa, caracterizada por apenas alguns domínios cristalinos detectáveis (Figura 5). Notavelmente, a adição da nanoemulsão não resultou em alterações significativas na organização cristalina do filme polimérico.

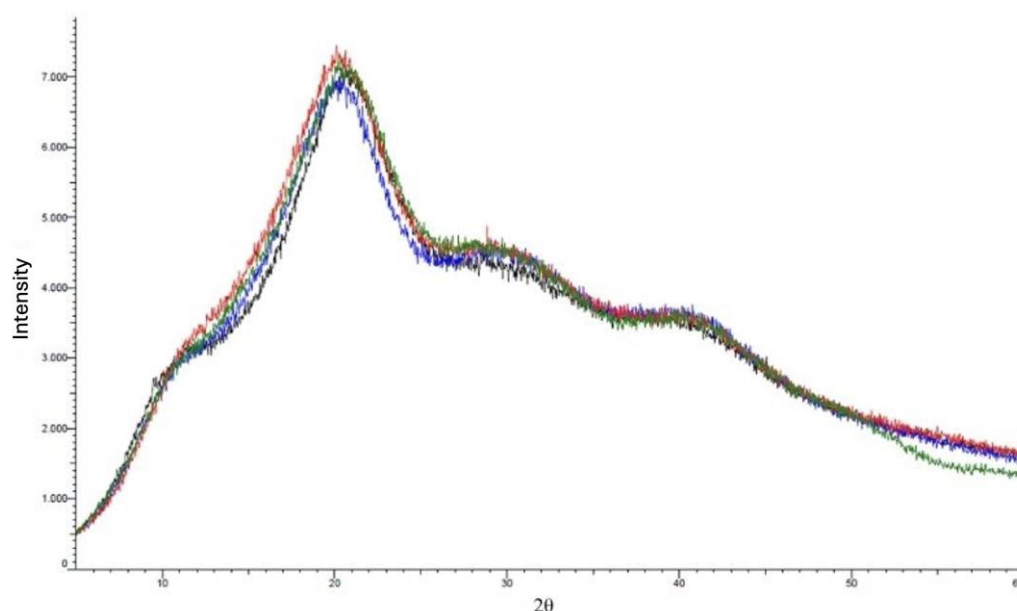


Figura 5. Difratogramas de raios X (DRX) de filmes de carboximetilcelulose impregnados com diferentes concentrações de nanoemulsão de óleo essencial de *Lippia origanoides*. Filme controle: 0% NE-OELO (preto); filmes com diferentes concentrações incluem 10% NE-OELO (azul), 15% NE-OELO (vermelho) e 20% NE-OELO (verde). Esta figura ilustra como a incorporação do óleo essencial afeta a organização estrutural do filme polimérico.

Resultados comparáveis foram descritos na literatura. Filmes compósitos à base de carboximetilcelulose que incluíam uma nanoemulsão de óleo essencial de *Cinnamomum* (canela). Seus testes de DRX revelaram que o filme de controle apresentou um pico de difração amplo a 20°, indicando uma cristalinidade de aproximadamente 17% e sugerindo uma estrutura pouco cristalina da carboximetilcelulose (CMC). É importante ressaltar que a introdução do óleo essencial *de canela* não levou ao surgimento de nenhum novo pico de difração [46]. Além disso, a análise de DRX de filmes nanocompósitos de carboximetilcelulose (CMC) confirmou a natureza amorfa da CMC, observando que a intensidade do pico característico do polímero de controle não se alterou com a incorporação dos compostos ativos [74].

Os resultados deste estudo sugerem que os filmes exibem uma estrutura desordenada, flexível e transparente. Nesta configuração, a dispersão dos componentes do óleo (terpenos e fenóis) interage fisicamente com as cadeias poliméricas, impedindo o empacotamento cristalino, preservando a topologia estrutural do filme [48].

3.9 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A avaliação da capacidade antioxidante de filmes de embalagem é crucial, visto que a oxidação lipídica é uma das principais causas de deterioração dos alimentos e contribui para a redução da vida útil. A Tabela 4 ilustra a capacidade antioxidante de filmes de carboximetilcelulose (CMC) incorporando diferentes concentrações de nanoemulsão de óleo essencial *de Lippia organoides* (NE-OELO). Essa avaliação foi realizada utilizando os ensaios de sequestro de radicais DPPH e ABTS.

Tabela 4 – Capacidade antioxidante de filmes de carboximetilcelulose incorporando diferentes concentrações de nanoemulsão de óleo essencial *de Lippia organoides*.

Filme	Capacidade antioxidante ($\mu\text{mol TE/g}_{\text{filme}}$)	
	DPPH	ABTS
F0	e	$1,71 \pm 0,07$ c
F10	$10,54 \pm 0,73$ c	$189,32 \pm 44,51$ b
F15	$23,08 \pm 1,88$ b	$236,03 \pm 41,97$ b
F20	$35,89 \pm 0,62$ a	$389,55 \pm 37,58$ a

*Nas colunas, as letras iguais não diferem estatisticamente entre si, de acordo com o teste de Tukey ao nível de probabilidade de 5%. DPPH refere-se ao radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil; ABTS refere-se ao cátion 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato). **nd: não detectado. F0: filme controle (0% NE-OELO), F10 (10% NE-OELO p/p), F15 (15% NE-OELO p/p) e F20 (20% NE-OELO p/p).

O radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) é amplamente utilizado para avaliar a capacidade de um composto doar hidrogênio ou elétrons. Neste estudo, o filme de carboximetilcelulose (CMC) pura, designado como F0, não apresentou capacidade de sequestrar radicais DPPH, indicando que o filme polimérico base possui atividade antioxidante mínima.

Em contraste, a incorporação de NE-OELO resultou em atividade antioxidante detectável em todas as concentrações testadas. Observou-se uma relação dose-dependente, com a capacidade antioxidante aumentando proporcionalmente à concentração de NE-OELO. Dentre os filmes analisados, o Filme F20 apresentou a maior atividade sequestradora de DPPH, com um valor de $35,89 \pm 0,62 \mu\text{mol TE/g}$ de filme, superando significativamente os filmes F15 e F10.

Para validar os resultados, foi realizado um ensaio utilizando radicais catiônicos de 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) (ABTS), que proporciona uma avaliação completa do potencial antioxidante em ambas as fases, lipofílica e hidrofílica. Os resultados revelaram que a capacidade antioxidante aumentou com a adição de NE-OELO, confirmando a eficácia da nanoemulsão como veículo para compostos bioativos.

A maior atividade antioxidante observada no ensaio ABTS pode ser atribuída à sua sensibilidade superior, uma vez que avalia compostos hidrofílicos e lipofílicos, ao contrário do ensaio DPPH, que mede principalmente respostas na fase orgânica. Consequentemente, a detecção de atividade antioxidante no filme controle exclusivamente no ensaio ABTS pode ser devida à presença de grupos hidroxila e resíduos redutores de CMC, que reagem com o radical ABTS^+ , mas não com o DPPH^- [75,76].

Os resultados indicam que a incorporação de NE-OELO transformou o filme de CMC de um material inerte em um filme ativo e funcional com alta capacidade antioxidante. O mercado de embalagens exige cada vez mais soluções que possam prolongar a vida útil dos produtos. A alta capacidade antioxidante do filme ativo permite que ele atue como um "eliminador de radicais livres" na interface entre o alimento e a embalagem, prevenindo ou retardando a oxidação lipídica e a rancidez — problemas particularmente comuns em alimentos ricos em gordura.

Nosso grupo de pesquisa identificou anteriormente um total de vinte compostos distintos no óleo essencial derivado de *Lippia origanoides*. Os constituintes predominantes incluem carvacrol (41,56%), timol (12,56%) e p-cimeno (12,49%). Além

disso, componentes significativos como β -cariofileno e γ -terpineno representam 6,61% e 6,27%, respectivamente.

Este estudo indica que a eficácia do NE-OELO é, em parte, atribuída ao seu principal componente, o carvacrol. Uma revisão bibliográfica recente [77] observou que o carvacrol, um monoterpene fenólico abundante em óleos essenciais como o de *Lippia origanoides*, é reconhecido pela sua versatilidade e potentes propriedades antioxidantes. Além disso, a revisão destaca o papel promissor do carvacrol como aditivo na indústria alimentar, onde elimina eficazmente espécies reativas de oxigênio e azoto, protegendo assim os alimentos da oxidação lipídica e de alterações indesejáveis no sabor e aroma.

Os autores enfatizam que, apesar do considerável potencial do carvacrol, sua incorporação direta em produtos alimentícios ou embalagens é frequentemente dificultada por diversos desafios inerentes. Esses desafios incluem sua alta volatilidade, baixa solubilidade em água e um aroma e sabor pronunciados que podem ser indesejáveis. Para superar essas limitações, uma estratégia de nanoencapsulação utilizando nanocápsulas, como nanoemulsões, apresenta-se como uma solução tecnológica.

Assim, os resultados deste estudo reforçam a eficácia de filmes ativos à base de CMC incorporando NE-OELO em várias concentrações para aplicações em embalagens de alimentos, particularmente para itens sensíveis à oxidação.

3.10 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A atividade antimicrobiana dos compostos voláteis encontrados em filmes ativos contendo NE-OELO foi testada contra *Staphylococcus aureus* (ATCC 00039), *Escherichia coli* ETEC (ATCC 11105) e *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), conforme descrito na metodologia.

A Figura 6 ilustra que o número e a distribuição de colônias de *S. aureus* diminuíram progressivamente com o aumento da concentração da nanoemulsão no filme ativo. Em contraste, o filme controle (sem NE-OELO) apresentou crescimento uniforme de colônias, indicando ausência de atividade antimicrobiana. Além disso, não foi observada inibição do crescimento das bactérias Gram-negativas *Escherichia coli* ETEC (ATCC 11105) e *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028).

Agentes antibacterianos naturais, como óleos essenciais, podem interagir com o núcleo hidrofóbico das camadas lipídicas, alterando assim as propriedades físico-químicas das membranas celulares. Essa interação pode resultar em rupturas da membrana, vazamento do conteúdo celular, deformação e inchaço celular, o que sugere

um processo de permeabilização da membrana [78-80]. Além disso, os óleos essenciais penetram a camada permeável de peptidoglicano de bactérias Gram-positivas mais facilmente do que a membrana externa complexa de bactérias Gram-negativas [81,82].

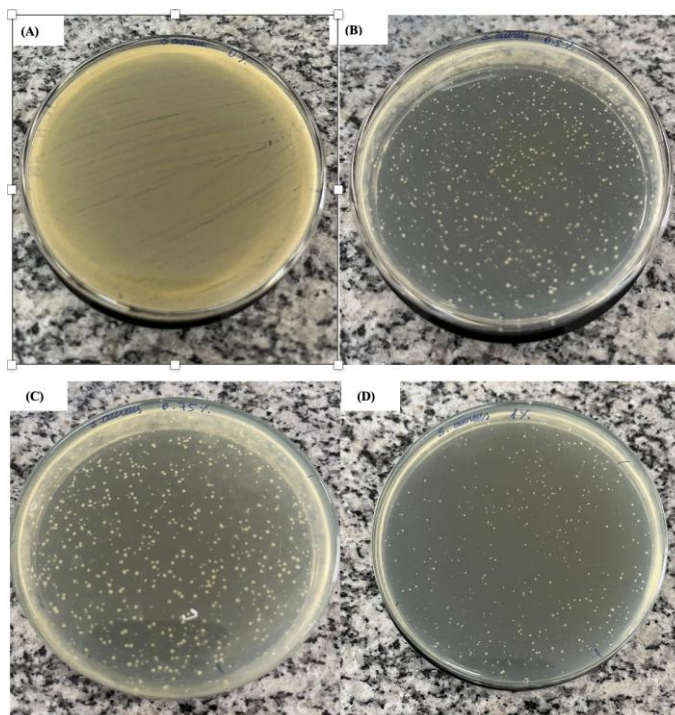


Figura 6. Ensaio de volatilização de filmes de carboximetilcelulose incorporados com diferentes concentrações de nanoemulsão de óleo essencial de *Lippia origanoides*. Os filmes incluem: (A) filme controle 0% (0% NE-OELO), (B) Filme 10 contendo 10% de NE-OELO (p/p), (C) Filme 15 contendo 15% de NE-OELO (p/p) e (D) Filme 20 contendo 20% de NE-OELO (p/p) contra *Staphylococcus aureus*.

Além disso, a atividade antimicrobiana observada é frequentemente atribuída a compostos como o carvacrol e o timol, que estão presentes na composição química do NE-OELO. Filmes biodegradáveis enriquecidos com carvacrol e timol foram avaliados quanto às suas propriedades antimicrobianas, demonstrando inibição significativa de bactérias deteriorantes de alimentos, incluindo *Staphylococcus aureus* [13].

Um filme composto de celulose, carboximetilcelulose (CMC) e timol apresentou uma zona de inibição antimicrobiana de 17,1 mm contra a cepa de *Staphylococcus aureus* [83]. Este achado destaca as propriedades antimicrobianas aprimoradas obtidas pela incorporação de timol na formulação de filmes ativos.

Embora atualmente não haja atividade antimicrobiana relatada contra bactérias Gram-negativas, é essencial enfatizar que *Staphylococcus aureus* é um patógeno Gram-positivo de importância clínica significativa. É também uma das principais causas de intoxicação alimentar em escala global [84].

A principal preocupação centra-se nas estirpes de *Staphylococcus aureus* que produzem enterotoxinas estafilocócicas (SEs), que são proteínas termoestáveis. Mesmo após a cozedura, as SEs pré-formadas nos alimentos podem permanecer ativas e causar doenças. A intoxicação alimentar estafilocócica caracteriza-se por um início rápido de náuseas, vômitos e cólicas abdominais, que normalmente ocorrem entre 30 minutos e 8 horas após o consumo de alimentos contaminados [85].

A contaminação por *S. aureus* está frequentemente associada a deficiências nas boas práticas de higiene e manipulação, visto que os seres humanos são importantes portadores assintomáticos da bactéria, que pode residir nas cavidades nasais, gargantas, pele e cabelos. Alimentos que envolvem manipulação considerável, como carnes fatiadas, laticínios, cremes, saladas e sanduíches, são frequentemente implicados, particularmente quando armazenados em temperaturas inadequadas que facilitam o crescimento bacteriano e a produção de toxinas [86]. Isso destaca a importância da implementação de estratégias de controle eficazes, como embalagens ativas, para minimizar o risco de contaminação.

Os resultados sugerem que os recursos naturais, particularmente os óleos essenciais nanoemulsionados, apresentam um potencial biotecnológico substancial para o desenvolvimento de soluções de embalagens ativas que melhoram a conservação dos alimentos e garantem a segurança do consumidor.

É crucial sublinhar que a composição química diversa e complexa desses óleos desempenha um papel significativo na redução do risco de resistência microbiana, dificultando a adaptação dos microrganismos [87]. Consequentemente, as descobertas desta pesquisa têm particular importância para o desenvolvimento de alternativas naturais que combatam os patógenos resistentes a antibióticos que afetam a indústria alimentícia.

4 CONCLUSÃO

Este trabalho apresenta a formulação de um sistema nanométrico de alta qualidade para a incorporação eficaz de um composto lipofílico, especificamente um óleo essencial rico em carvacrol, em o filme polimérico hidrofílico composta de carboximetilcelulose (CMC).

O desenvolvimento e a caracterização de filmes ativos à base de carboximetilcelulose integrada com NE-OELO resultaram em materiais funcionais com significativo potencial para aplicações em embalagens de alimentos. As nanoemulsões apresentaram homogeneidade e estabilidade satisfatórias, aprimorando as propriedades

físicas, ópticas e funcionais dos filmes sem comprometer atributos essenciais como transparência e flexibilidade.

Os filmes ativos demonstraram propriedades de barreira eficazes contra a radiação ultravioleta e mantiveram com sucesso níveis de transparência que atendem aos padrões de inspeção visual. Essa característica é crucial para garantir a aceitação do consumidor e a proteção dos alimentos durante o armazenamento. As avaliações da atividade antioxidante revelaram uma correlação direta entre a concentração de NE-OELO e o aumento do potencial antioxidante, o que é atribuído à presença de compostos fenólicos como o carvacrol. Além disso, as avaliações da atividade antimicrobiana indicaram que a inclusão da nanoemulsão permitiu que os filmes inibissem eficazmente o crescimento do microrganismo deteriorante de alimentos *Staphylococcus aureus*, demonstrando uma relação concentração-efeito.

As análises térmicas revelaram que a inclusão da nanoemulsão altera o perfil de degradação dos filmes, ressaltando a importância de avaliar sua estabilidade em condições práticas de aplicação. Embora a incorporação de NE-OELO resulte em uma redução da resistência mecânica, os materiais mantêm flexibilidade suficiente para aplicações específicas em sistemas alimentares.

Considerando o conjunto de propriedades avaliadas, as formulações contendo 15% e 20% de nanoemulsão de *Lippia origanoides* (F15 e F20) apresentaram o melhor equilíbrio entre estabilidade, propriedades ópticas, capacidade de redução da transmissão de radiação ultravioleta e desempenho funcional, destacando-se como as mais promissoras para aplicações em embalagens ativas. Em especial, a formulação F15 mostrou-se vantajosa por conciliar esses efeitos com menor impacto negativo sobre as propriedades mecânicas e a transparência do filme.

Esta pesquisa contribui para uma compreensão mais profunda de sistemas nanoestruturados à base de biopolímeros e óleos essenciais, demonstrando que a integração de nanoemulsões pode servir como uma estratégia promissora para aprimorar as propriedades funcionais de embalagens ativas. Estudos adicionais devem ser conduzidos em sistemas alimentares sob condições reais de uso para melhor avaliar o desempenho do filme ativo ao longo de sua comercialização e consumo.

Agradecimentos: Este trabalho foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia [BioproFAR-BA PIE0001/2024]; e foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasil)

Conflitos de interesse: Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Declaração de Disponibilidade de Dados: Os dados que sustentam as conclusões deste estudo estão disponíveis mediante solicitação razoável ao autor correspondente.

REFERÊNCIAS

1. Tan D, Ma A, Wang S, Zhang Q, Jia M, Kamal-Eldin A, Wu H, Chen G. Efeitos do teor de oxigênio e da intensidade da luz na foto-oxidação do leite usando análise metabolômica não direcionada. *J Agric Food Chem.* 2021;69(26):7488-7497. doi:10.1021/acs.jafc.1c02823
2. Riahi Z, Khan A, Ebrahimi M, Rhim JW, Shin GH, Kim JT. Explorando pontos quânticos de carbono sustentáveis como agentes bloqueadores de UV para a conservação de alimentos. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2025;24(3):e70192. doi:10.1111/1541-4337.70192
3. Karabagias VK, Giannakas AE, Leontiou AA, Karydis-Messinis A, Moschovas D, Andritsos ND, Avgeropoulos A, Zafeiropoulos NE, Proestos C, Salmas CE. Novo nanohíbrido de carbono ativado Carvacrol@ para filmes inovadores de embalagens ativas sustentáveis à base de poli(ácido láctico)/citrato de trietila. *Polímeros (Basileia).* 2025;17(5):605. doi:10.3390/polym17050605
4. Denayer S, Delbrassine L, Pardosse C, Crémieux A, Wernaers P, Piatte T, Goossens H, Lehrer S, Piette J, De Buysser ML. Investigação de surtos de origem alimentar e tipagem molecular. *Toxinas (Basileia).* 2017;9(12):407. doi:10.3390/toxinas9120407
5. Sanad MY, Mohamed AG, Mohamed AM. Investigação sobre surto de intoxicação alimentar causado pela enterotoxina A de *Staphylococcus aureus* e incidência de intoxicação alimentar estafilocócica no Reino do Bahrein. *Saúde (Basel).* 2025;17:557-568. doi:10.4236/health.2025.175035
6. Wu S, Duan N, Gu H, Hao L, Ye H, Gong W, et al. Uma revisão dos métodos para detecção de enterotoxinas de *Staphylococcus aureus*. *Toxins (Basel).* 2016;8:176. doi:10.3390/toxins8070176
7. Lakshmayya NSV, Mishra AK, Mohanta YK, Panda J, Naik B, Mishra B, Varma RS. Sistema de nanoemulsão à base de óleos essenciais para segurança e conservação de alimentos: estado atual e perspectivas futuras. *Biocatal Agric Biotechnol.* 2023;53:102897. doi:10.1016/j.bcab.2023.102897
8. Nikita, Agnihotri S. Nanoemulsões como sistemas de entrega avançados de compostos bioativos para aplicações de preservação de alimentos sustentáveis. *Biocatal Agric Biotechnol.* 2025;103702. doi:10.1016/j.bcab.2025.103702
9. Maia Filho M, de Macedo KG, Ramos AL, de Faria FSEDV, Rodriguez AFR. Preparação e caracterização de nanoemulsão dos óleos de *Euterpe precatória* Mart. e *Bertholletia excelsa* Bonp. *Desarrollo Local Sostenible.* 2023;16(45):1847-1860. doi:10.55905/rdelosv16.n45-024
10. Baser KHÇ. Atividades biológicas e farmacológicas de óleos essenciais de rolamento de carvacrol e carvacrol. *Curr Pharm Des.* 2008;14(29):3106-3119. doi:10.2174/138161208786404227

11. Peng Q, Tang X, Dong W, Zhi Z, Zhong T, Lin S, et al. Carvacrol inibe a síntese de adesina intracelular de polissacarídeos bacterianos e a formação de biofilme de *Staphylococcus aureus mucóide* : um estudo in vitro e in vivo. *RSC Av*. 2023;13(41):28743-28752. doi:10.1039/d3ra02711b
12. Kashi M, Noei M, Chegini Z, Shariati A. Compostos naturais no combate aos biofilmes de *Staphylococcus aureus* : uma revisão das estratégias antibiofilme. *Front Pharmacol*. 2024;15:1491363. doi:10.3389/fphar.2024.1491363
13. Di Matteo A, Stanzione M, et al. Filmes biodegradáveis enriquecidos com timol e carvacrol com propriedades antioxidantes e antibacterianas para prolongar a vida útil do queijo. *Food Control*. 2025;179:111541. doi:10.1016/j.foodcont.2025.111541
14. Da Silva AT, Cândido AEC, Júnior ECM, do É GN, Moura MPS, Souza RFS, Guimarães ML, Peixoto RM, de Oliveira HP, da Costa MM. Efeitos bactericidas e sinérgicos do óleo essencial de *Lippia organoides* e seus principais constituintes contra *Acinetobacter baumannii* multirresistente . *ACS Ômega*. 2024;9(43):43927-43939. doi:10.1021/acsomega.4c07565
15. Zhu CY, et al. Filmes de isolado proteico de frango do tipo PSE com propriedades antioxidantes e antimicrobianas, carregados com nanoemulsão de óleo essencial de orégano, para conservação de carne suína. *Food Chem*. 2025;475:143355. doi:10.1016/j.foodchem.2025.143355
16. Vargas M, Albors A, Chiralt A, González-Martínez C. Efeito de revestimentos comestíveis à base de quitosana aplicados por impregnação a vácuo na preservação da qualidade de cenouras frescas cortadas. *Postharvest Biol Technol*. 2008;47(2):176-185. doi:10.1016/j.postharvbio.2007.06.017
17. ASTM International. Prática padrão da ASTM para o cálculo dos índices de amarelecimento e brancura a partir de coordenadas de cor medidas instrumentalmente. ASTM E313. West Conshohocken, PA: ASTM International; 2010.
18. ASTM International. Métodos de ensaio padrão para transmissão de vapor de água em materiais. ASTM E96/E96M-00. West Conshohocken, PA: ASTM International; 2000.
19. Zheng K, Li W, Qi D, Wang C, Wang X, Jiang S. Preparação e caracterização de filmes de mistura de quitosana/gelatina incorporados com nanoemulsões de dupla camada contendo óleo essencial de gengibre e propriedades de carregamento-liberação. *Food Hydrocoll*. 2019;94:287-297. doi:10.1016/j.foodhyd.2019.03.016
20. Bitencourt CM, Fávaro-Trindade CS, Sobral PJA, Carvalho RA. Filmes à base de gelatina aditivados com extrato etanólico de cúrcuma: atividade antioxidante e propriedades físicas dos filmes e da carne de frango revestida. *Food Hydrocoll*. 2014;40:145-152. doi:10.1016/j.foodhyd.2014.02.005
21. Dang TT, Nguyen TH, Pham TT, et al. Melhorando as propriedades de filmes de quitosana/álcool polivinílico usando extrato da casca da castanha de caju: aplicações

- potenciais em embalagens de alimentos. *R Soc Open Sci.* 2024;11(9):241236. doi:10.1098/rsos.241236
22. Madian NG, Mohamed N. Aprimoramento das propriedades mecânicas dinâmicas de filmes finos de quitosana por reticulação com nanopartículas de prata sintetizadas de forma ecológica. *J Mater Res Technol.* 2020;9(6):12970-12975. doi:10.1016/j.jmrt.2020.09.028
23. Yin P, et al. Componentes bioativos e atividades antioxidantes do extrato bruto de carvalho e suas quatro frações parcialmente purificadas por cromatografia em resina macroporosa HPD-100. *Arab J Chem.* 2019;12(2):249-261. doi:10.1016/j.arabjc.2018.05.008
24. Xu M, Shen C, Zheng H, Xu Y, Xue C, Zhu B, Hu J. Análise metabolômica do fruto da acerola (*Malpighia emarginata*) durante o amadurecimento via UPLC-Q-TOF e contribuição para a atividade antioxidante. *Food Res Int.* 2020;130:108915. doi:10.1016/j.foodres.2019.108915
25. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 11th ed. CLSI standard M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
26. Ostrosky EA, Mizumoto MK, Lima MEL, Kaneko TM, Nishikawa SO, Freitas BR. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Rev Bras Farmacogn.* 2008;18(2):301-307. doi:10.1590/S0102-695X2008000200026
27. Jin W, Xu W, Liang H, Li Y, Liu S, Li B. Nanoemulsions for food: properties, production, characterization, and applications. In: Grumezescu AM, ed. *Emulsions: Nanotechnology in the Agri-Food Industry*. Vol 3. Amsterdam: Academic Press/Elsevier; 2016:1-36. doi:10.1016/B978-0-12-804306-6.00001-5
28. Jacob S, Kather FS, Boddu SHS, Shah J, Nair AB. Inovações na tecnologia de nanoemulsões: aprimorando a administração de medicamentos para aplicações orais, parenterais e oftálmicas. *Pharmaceutics.* 2024;16(10):1333. doi:10.3390/pharmaceutics16101333
29. Torres Neto L, Monteiro MLG, da Silva BD, Machado MAM, Mutz YDS, Conte-Junior CA. Nanoemulsão assistida por ultrassom carregada com mistura otimizada de óleos essenciais antibacterianos: uma nova abordagem contra *Escherichia coli* , *Staphylococcus aureus* e *Salmonella Enteritidis* em filés de truta. *Foods.* 2024;13(10):1569. doi:10.3390/foods13101569
30. Monteiro MLG, Torres Neto L, Mutz YDS, da Silva CR, Cardoso ACC, Conte-Junior CA. Condições otimizadas de UVC-LED para melhorar a vida útil de filés de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) refrigerados e embalados a vácuo. *Food Control.* 2024;156:110141. doi:10.1016/j.foodcont.2023.110141
31. Gaumet M, Vargas A, Gurny R, Delie F. Nanopartículas para administração de

- fármacos: a necessidade de precisão na descrição dos parâmetros de tamanho das partículas. *Eur J Pharm Biopharm.* 2008;69:1-9. doi:10.1016/j.ejpb.2007.08.001
32. Mohammadi-Jam S, Greenwood RW, Waters KE. Uma visão geral da dependência da temperatura no potencial zeta de suspensões aquosas. *Results Eng.* 2025;27:105698. doi:10.1016/j.rineng.2025.105698
33. Mohammed NK, Muhialdin BJ, Meor Hussin AS. Caracterização de nanoemulsão de óleo de *Nigella sativa* e sua aplicação em sorvete. *Food Sci Nutr.* 2020;8(6):2608-2618. doi:10.1002/fsn3.1500
34. Bolgen UMG, et al. Nanoemulsões baseadas em petróleo essenciais com conhecimento atual. *Ind Crops Prod.* 2025;210:115050. doi:10.1016/j.indcrop.2025.115050
35. Ashagrie YN, et al. Formulação e caracterização de nanoemulsão de óleo de semente de *Caesalpinia decapetala* : propriedades físico-químicas, estabilidade e atividade antibacteriana. *Sci Rep.* 2025;15:87732. doi:10.1038/s41598-025-87732-y
36. Elsewedy HS. Insights of nanoemulsion as a drug delivery system: an overview of current trends and applications. *Indian J Pharm Educ Res.* 2025;59(2):1-21. doi:10.5530/ijper.20250937
37. Rajasekaran B, Singh A, Nilsuwan K, Ma L, Nazeer RA, Benjakul S. Nanoemulsões de óleo de camarão preparadas por microfluidização e seus mecanismos de estabilidade. *RSC Adv.* 2024;14(7):7342-7353. doi:10.1039/D3RA07342D
38. Kim J, Noh Y, McClements DJ, Choi SJ. Impacto de substâncias hidrofílicas no amadurecimento de Ostwald em emulsões estabilizadas por surfactantes de diferentes grupos hidrofílicos. *npj Sci Food.* 2024;8:76. doi:10.1038/s41538-024-00316-4
39. Wu L, Zhang J, Watanabe W. Estabilidade física e química de nanopartículas de drogas. *Adv Drug Deliv Rev.* 2011;63(6):456-469. doi:10.1016/j.addr.2011.02.001
40. Hoseini B, Jaafari MR, Golabpour A, Momtazi-Borojeni AA, Karimi M, Eslami S. Aplicação da abordagem de aprendizado de máquina de conjunto para avaliar os fatores que afetam o tamanho e o índice de polidispersão de nanopartículas lipossomas. *Sci Rep.* 2023;13:18012. doi:10.1038/s41598-023-43689-4
41. Kotwiski FO, São Paulo Í, Sena Carneiro PI, Barbosa RM, Viseras C, Rangel AL, Villarreal CF, Cabral-Albuquerque ECM, Luchese AM. Desenvolvimento de uma nanoemulsão contendo óleo essencial de *Lippia origanoides* com atividade antifúngica por método de baixa energia: da extração à formulação. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2024;102:106392. doi:10.1016/j.jddst.2024.106392
42. Long J, Zhang W, Zhao M, Ruan CQ. A redução da permeabilidade ao vapor de água em filmes à base de polissacarídeos para embalagens de alimentos: uma revisão abrangente. *Carbohydr Polym.* 2023;321:121267. doi:10.1016/j.carbpol.2023.121267
43. Como YM, et al. Desenvolvimento de filmes antibacterianos à base de

- carboximetilcelulose-quitosana incorporando uma nanoemulsão de óleo essencial de *Persicaria minor* Huds. *Food Funct.* 2024;15(1):211-225. doi:10.1039/D3FB00183K
44. Martins SHF, Ferreira-Silva A, Luchese AM, Camilloto GP, et al. Filme antifúngico incorporado com óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* L. para armazenamento pós-colheita. *ACS Food Sci Technol.* 2022;2(7):1086-1095. doi:10.1021/acsfoodscitech.2c00039
45. Farahani FK, Oromiehi AR, Sharifan A, Farahani Z. Filmes comestíveis desenvolvidos a partir de carboximetilcelulose/óleo de gergelim: atributos físicos, mecânicos e microbiológicos dos filmes. *Appl Food Res.* 2025;5(5):100771. doi:10.1016/j.afres.2025.100771
46. Wang H, Han P, Zhao Y, Lu L, Qi W, Zhao K, Shu Y, Zhang Z. Preparação e características de filmes à base de carboximetilcelulose contendo óleo essencial de canela e sua aplicação na conservação de carne de carneiro. *Front Nutr.* 2025;12:1559833. doi:10.3389/fnut.2025.1559833
47. Mohammadi H, Rezaeigolestani M, Mohsenzadeh M. Otimização de filmes nanocompósitos antimicrobianos à base de carboximetilcelulose incorporando nanofibras de quitosana e polissacarídeo de goma guggul. *Sci Rep.* 2024;14:13693. doi:10.1038/s41598-024-64528-0
48. Iqbal SZ, Haider A, Rehman FU, Cui G, Waseem M, Iqbal M, Khanaghah AM. Aplicação de carboximetilcelulose em combinação com nanoemulsões de óleos essenciais como revestimento comestível para a conservação de kiwi. *Int J Biol Macromol.* 2024;261:129947. doi:10.1016/j.ijbiomac.2024.129947
49. Cesca RS, Fonseca GG, Paz MFD, Cortez-Vega WR. Avanços e perspectivas sobre a aplicação de óleos essenciais em filmes de embalagens de alimentos, revestimentos e materiais nanoencapsulados. *Bragantia.* 2024;83:e20230132.
50. Mascia L. Antiplastificação de materiais poliméricos: aspectos estruturais e efeitos nas propriedades mecânicas e controladas por difusão. *Polymers (Basel).* 2020;12(4):769. doi:10.3390/polym12040769
51. Kahdim QS, et al. Aprimorando as propriedades multifuncionais de compósitos de policaprolactona: efeitos da agregação de nanopartículas. *Polym Compos.* 2025;46:12409614. doi:10.1016/j.polymercom.2025.12409614
52. Semperé-Torregrosa J. Nanopartículas de resíduos de bebidas de infusão e seu efeito no comportamento composto de plasma PLA/PHB. *J Appl Polym Sci.* 2025;142:57800. doi:10.1002/app.57800
53. Bahramian B, Abedi-Firoozjah R, Khezerlou A, Kiani-Salmi N, Ahmadi N, Alizadeh-Sani M, Assadpour E, Ehsani A, Tavassoli M, Jafari SM. Filmes de embalagem ativa biodegradável baseados em celulose metil/nanofibras quitosanas e pontos de carbono de casca turnip para preservação de alimentos perecíveis. *Carbohydr Polym Technol Appl.* 2025;11:100950. doi:10.1016/j.carpta.2025.100950

54. Wigati LP, Wardana AA, Nkede FN, et al. Influência de formulações de nanocristais de celulose nas propriedades de filmes pré-gelatinizados de amido de milho e óleo essencial de hortelã-pimenta. *Sci Rep.* 2025;15:18997. doi:10.1038/s41598-025-03318-8
55. Zhang J, et al. Efeitos de diferentes fontes de celulose nas propriedades mecânicas e de barreira de filmes termoplásticos de amido de batata-doce. *Ind Crops Prod.* 2023;194:116358. doi:10.1016/j.indcrop.2023.116358
56. Oliveira Filho JG, et al. Embalagens ativas para alimentos: filmes de alginato com hidrolisados de proteína de algodão. *Food Hydrocoll.* 2019;92:267-275. doi:10.1016/j.foodhyd.2019.01.052
57. Ma X, Wang C, Zhang Y, Li X. Janelas transparentes em embalagens de alimentos nem sempre beneficiam os consumidores. *Front Psychol.* 2020;11:593690. doi:10.3389/fpsyg.2020.593690
58. Kanatt SR, Makwana SH. Desenvolvimento de filme de embalagem ativo e resistente à água de carboximetilcelulose-álcool polivinílico- *Aloe vera* . *Carbohydr Polym.* 2020;227:115303. doi:10.1016/j.carbpol.2019.115303
59. Spinei M, Oroian M, Ursachi VF. Caracterização de filmes biodegradáveis à base de carboximetilcelulose e pectina cítrica enriquecidos com óleo de pão de abelha e óleo de tomilho. *LWT-Food Sci Technol.* 2024;214:117088. doi:10.1016/j.lwt.2024.117088
60. Channa IA, Ashfaq J, Wasti M, Memon AG, Hasan M, Shar MA, AlHazaa A, Tiliakos A. Filmes halocrômicos responsivos ao pH baseados em carboximetilcelulose infundidos com extratos de corantes de antocianina ou curcumina para aplicações em embalagens inteligentes. *Hybrid Adv.* 2025;10:100476. doi:10.1016/j.hybadv.2025.100476
61. Chen C, et al. Filmes transparentes multifuncionais de nanocristais de celulose preparados por troca iônica de metal trivalente para embalagens de alimentos. *ACS Sustain Chem Eng.* 2022;10:9419-9430. doi:10.1021/acssuschemeng.2c03265
62. Zinina O, et al. Características de cor e microestrutura de filmes bioativos em diversos formadores de estrutura. *BIO Web Conf.* 2024;108:02012. doi:10.1051/bioconf/202410802012
63. Palanisamy Y, Kadirvel V, Ganesan ND. Avanços tecnológicos recentes em embalagens de alimentos: sensores, automação e aplicação. *Sustain Food Technol.* 2025;3:161-180. doi:10.1039/D4FB00296B
64. Sun W, Hu Y, Pandi A, Yi G, Tan Z. Sistemas de biopolímeros integrados com ácido cafeico: promovendo embalagens ativas sustentáveis para a conservação de alimentos. *Food Chem X.* 2025;29:102763. doi:10.1016/j.fochx.2025.102763
65. Ali A, Ahmed S. Filmes ativos antioxidantes à base de quitosana/álcool polivinílico carregados com extrato natural ecológico para embalagens de alimentos. *Heliyon.* 2021;7(3):e06550. doi:10.1016/j.heliyon.2021.e06550

66. Pillai ARS, Eapen AS, Zhang W, Roy S. Revestimentos comestíveis à base de biopolímeros polissacarídeos para conservação de frutas: uma revisão. *Foods*. 2024;13(10):1529. doi:10.3390/foods13101529
67. Tan L, Shi R, Ji Q, Wang B, Quan F, Xia Y. Efeito de Na⁺ e Ca²⁺ na degradação térmica da carboximetilcelulose no ar. *Polym Compos*. 2017;25:309-314. doi:10.1177/096739111702500408
68. Cosano D, Esquivel D, Romero-Salguero FJ, Jiménez-Sanchidrián C, Ruiz JR. Bionanocompósitos de carboximetilcelulose/hidrotalcita como sorventes de parabenos. *Langmuir*. 2023;39:5294-5305. doi:10.1021/acs.langmuir.2c03265
69. Farias MCdS, Costa WRPd, Nóbrega KC, Romualdo VB, Costa ACA, Nascimento RCAM, Amorim LV. Degradação térmica de carboximetilcelulose (CMC) em solução salina para aplicações em fluidos da indústria petrolífera. *Polímeros (Basileia)*. 2025;17(15):2085. doi:10.3390/polym17152085
70. Alizadeh Sani M, Tavassoli M, Hamishehkar H, McClements DJ. Filmes à base de carboidratos contendo antocianinas de bérberis vermelho sensíveis ao pH: aplicação como materiais biodegradáveis para embalagens inteligentes de alimentos. *Carbohydr Polym*. 2021;255:117488. doi:10.1016/j.carbpol.2020.117488
71. Tijani AT, Ayodele T, Liadi M, Sarker NC, Hammed A. Características mecânicas e térmicas de filmes de cera de carnaúba emulsionada com glicerol/álcool polivinílico. *Polymers (Basel)*. 2024;16(21):3024. doi:10.3390/polym16213024
72. Cruz GA, Ferreira EN, Cunha FET, Muniz CR, do Nascimento HO, do Nascimento RF, da Silva LMR, Ricardo NMPS, Carvalho JDG. Nanoemulsão de óleo essencial de kefir e coentro (*Coriandrum sativum* L.): aspectos químicos e tecnológicos. *J Braz Química Soc*. 2025;36(4):e-20240187. doi:10.21577/0103-5053.20240187
73. Beltrán Sanahuja A, Valdés García A. Novas tendências no uso de compostos voláteis em embalagens de alimentos. *Polymers (Basel)*. 2021;13(7):1053. doi:10.3390/polym13071053
74. Badry R, El-Nahass MM, Nada N, et al. Propriedades estruturais e de bloqueio UV de filmes nanocompósitos de carboximetilcelulose sódica/CuO. *Sci Rep*. 2023;13:1123. doi:10.1038/s41598-023-28032-1
75. Qiu L, Zhu Y, et al. Efeito dos ciclos de congelamento-descongelamento na qualidade do Yuba com diferentes proporções proteína-lipídio em seu sistema de rede proteína-lipídio. *Food Chem*. 2024;465:142096. doi:10.1016/j.foodchem.2024.142096
76. Mellinas AC, García-Serna E, Jiménez A, Garrigós MC. Filmes ativos à base de biopolietileno e extratos naturais ricos em tocoferóis para aplicações em embalagens de alimentos. *Front Mater*. 2024;11:1365222. doi:10.3389/fmats.2024.1365222
77. Benincá T, Schmidt L, Thomé Cardoso L, Rossini Augusti P, da Silva Malheiros P. Carvacrol como aditivo alimentar: aspectos toxicológicos e o papel da nanotecnologia no aprimoramento de suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes. *Food Res Int*.

2024;197(Pt1):115256. doi:10.1016/j.foodres.2024.115256

78. Zhang D, Gan RY, Ge YY, Yang QQ, Ge J, Li HB, Corke H. Progresso da pesquisa sobre os mecanismos antibacterianos do carvacrol: uma mini revisão. *Bioact Compd Health Dis*. 2018;1:71-81. doi:10.31989/bchd.v1i6.551

79. Trindade SC, Souza MT, Oliveira FC, Santos AL, Lima EO. Atividade antimicrobiana de extratos de metano de diferentes espécies de *Lippia*. *Res Soc Dev*. 2021;10(9):e22610918051. doi:10.33448/rsd-v10i9.18051

80. Martínez A, et al. Efeito de óleos essenciais na inibição do crescimento, formação de biofilme e integridade da membrana de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics (Basel)*. 2021;10(12):1474. doi:10.3390/antibiotics10121474

81. Nourbakhsh F, Lotfalizadeh M, Badpeyma M, Shakeri A, Soheili V. De plantas a antimicrobianos: Produtos naturais contra membranas bacterianas. *Phytother Res*. 2022;36(1):33–52. doi:10.1002/ptr.7275

82. Joshi M, Singh GP, Bose I, Yang T, Babaei A, Sharma S, Aayush K. Desenvolvimento de revestimento comestível de nanoemulsão antimicrobiana de goma xantana incorporada com extrato de casca de pomelo para conservação de queijo. *Food Chem X*. 2025;29:102692. doi:10.1016/j.fochx.2025.102692

83. Rukmanikrishnan B, Jo C, Chae J, Kim SS, Lee J. Filmes compósitos extensíveis são preparados utilizando polpa de celulose com substituição diferencial de carboximetilcelulose e timol com um processo de aquecimento por infravermelho para aplicação em embalagens. *ACS Omega*. 2024;9(40):41258–41267. doi:10.1021/acsomega.4c03087

84. Wu S, Huang J, Wu Q, Zhang J, Zhang F, Yang X, et al. *Staphylococcus aureus* isolado de carne e produtos cárneos comercializados na China: incidência, resistência a antibióticos e diversidade genética. *Front Microbiol*. 2018;9:2767. doi:10.3389/fmicb.2018.02767

85. Oliveira D, Borges A, Simões M. Toxinas de *Staphylococcus aureus* e sua atividade molecular em doenças infecciosas. *Toxinas (Basel)*. 2018;10(6):252. doi:10.3390/toxins10060252

86. Ou Q, Peng Y, Lin D, Bai C, Zhang T, Lin J, Ye X, Yao Z. Uma meta-análise das taxas de prevalência global de contaminação por *Staphylococcus aureus* e *S. aureus* resistente à meticilina em diferentes produtos de carne crua. *J Food Prot*. 2017;80(5):763–774. doi:10.4315/0362-028X.JFP-16-355

87. Zhai H, Liu H, Wang S, Wu J, Kluentner AM. Potencial dos óleos essenciais para aves e suínos. *Anim Nutr*. 2018;4(3):179–186. doi:10.1016/j.aninu.2018.03.001

88. Almeida T, Karamysheva A, Valente BFA, Silva JM, Braz M, Almeida A, et al. Filmes ternários de base biológica de amido termoplástico, nanocelulose bacteriana e ácido gálico para embalagens ativas de alimentos. *Food Hydrocoll*. 2023;144:108934. doi:10.1016/j.foodhyd.2023.108934

89. Karabagias VK, Giannakas AE, Leontiou AA, Karydis-Messinis A, Moschovas D, Andritsos ND, Avgeropoulos A, Zafeiropoulos NE, Proestos C, Salmas CE. Novo nanohíbrido de carbono ativado Carvacrol@ para filmes inovadores de embalagens ativas sustentáveis à base de poli(ácido láctico)/citrato de trietila. *Polímeros (Basileia)*. 2025;17(5):605. doi:10.3390/polym17050605

CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados confirmaram que a NE-OELO potencializou significativamente a atividade antimicrobiana do óleo essencial livre (OELO), reduzindo os valores de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) frente às cepas de microrganismos testadas, com destaque para *Staphylococcus aureus*. Essa melhora pode ser atribuída ao aumento da solubilidade e favorecendo a interação entre os compostos lipofílicos e as membranas celulares bacterianas. Além disso, a formulação obtida apresentou estabilidade físico-química satisfatória, transparência adequada e propriedades ópticas e estruturais coerentes com o perfil esperado para sistemas nanoemulsionados. Tais achados reforçam o potencial biotecnológico do uso de nanoemulsões como estratégia promissora para ampliar a eficácia e a aplicabilidade de óleos essenciais em diferentes setores, especialmente na conservação e segurança de alimentos.

A incorporação da NE-OELO em um filme de carboximetilcelulose, resultando em filmes ativos com potencial para uso em embalagens alimentícias. As nanoemulsões apresentaram estabilidade e homogeneidade adequadas, promovendo modificações positivas nas propriedades físicas, ópticas e funcionais dos filmes sem comprometer a transparência e a flexibilidade. Os filmes demonstraram boa barreira à radiação UV, mantendo transparência adequada à inspeção visual, além de apresentarem aumento da atividade antioxidante e atividade antimicrobiana frente ao *Staphylococcus aureus*, proporcional à concentração da nanoemulsão incorporada. As análises térmicas indicaram alterações no perfil de degradação, sugerindo necessidade de testes adicionais de estabilidade. Os filmes conservaram flexibilidade e permeabilidade compatíveis com aplicações em alimentos. Conclui-se que a incorporação de nanoemulsões em biopolímeros representa uma estratégia promissora para o desenvolvimento de embalagens ativas, recomendando-se estudos futuros em condições reais de uso para validação do desempenho dos materiais.

REFERÊNCIAS

- BATIHA, G.-S.; ALKAZMI, LM; WASEF, LG; BESHBIHY, AM; NADWA, EH; RASHWAN, EK *Syzygium aromaticum* L. (Myrtaceae): Usos tradicionais, constituintes químicos bioativos, atividades farmacológicas e toxicológicas. **Biomolecules** . 2020, *10*, 202. <https://doi.org/10.3390/biom10020202>
- Bakkali F.; Averbeck S.; Averbeck D.; Idaomar M. (2008). Efeitos biológicos dos óleos essenciais — Uma revisão. **Toxicologia de Alimentos e Produtos Químicos** , 46(2), 446-475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- BEZERRA, AC; LOPEZ, AMQ; SANTOS, AMP Filmes biopoliméricos biodegradáveis inteligentes e ativos contendo antocianinas: uma revisão. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research** , v. 7, n. 4, p. e74269, 5 nov. 2024.
- CARVALHO, ZS de. Potencial fitoquímico dos óleos essenciais: exploração e aplicações. **Boletim Científico Agrônomo do CCAAB/UFRB**, v. 1, e2254, 2023. Disponível em: <https://ufrb.edu.br/ccaab/boletim-cientifico-agronomico-do-ccaab-volume1/2254-2254-pdf>
- CHINNAIYAN SK et al. Fabrication of basil oil Nanoemulsion loaded gellan gum hydrogel—evaluation of its antibacterial and anti-biofilm potential. **Journal of Drug Delivery Science and Technology** , v. 68, p. 103129–103129, 1º fev. 2022.
- DABROWSKA GB, ANTOSZEWSKI M, SZYDŁOWSKA-CZERNIAK A, RASZKOWSKA-KACZOR A, JĘDRZEJEWSKI T, WROTEK S, BARTKOWIAK M, SWIONTEK BRZEZINSKA M, ZBOROWSKA M. Novos filmes biodegradáveis à base de carboximetilcelulose com produtos líquidos de pirólise de madeira de pinho com Propriedades Antibacterianas e Antioxidantes. **Materiais** . 2025; 18(10):2228. <https://doi.org/10.3390/ma18102228>
- DAMODHARAN, Jaishree. Nanomateriais na medicina – Uma visão geral. **Materials Today: Proceedings** , v. 37, p. 383-385, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.05.380>
- DAS, S.; SARKAR, S.; KOLEY, H.; et al. Revestimento comestível de óleos essenciais baseado em nanoencapsulação como uma nova estratégia verde contra a deterioração fúngica, contaminação por micotoxinas e deterioração da qualidade de frutas armazenadas: uma visão geral. *Frontiers in Microbiology* , v. 12, **2021**. DOI: 10.3389/fmicb.2021.768414.
- DHIFI, W. et al. Caracterização química de óleos essenciais e investigação de algumas atividades biológicas: uma revisão crítica. **Medicines** , v. 3, n. 4, p. 25, 22 set. 2016. <https://doi.org/10.3390/medicines3040025>
- FRATTINI, LM et al. Aprimorando a delimitação taxonômica de *Lippia origanoides* Kunth (Verbenaceae) por meio da análise de terpenos voláteis e marcadores

moleculares em acessos micropropagados. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)** . 156, 17, 2024. DOI: 10.1007/s11240-023-02619-y.

GHAZAL, TSA; SCHELZ, Z.; VIDÁCS, L.; SZEMERÉDI, N.; VERES, K.; SPENGLER, G.; HOHMANN, J. Efeito antimicrobiano, de reversão da resistência a múltiplos fármacos e de inibição da formação de biofilme de extratos, óleo essencial e monoterpenos de *Origanum majorana* . **Plants** 2022 , 11 , 1432.
<https://doi.org/10.3390/plants11111432>

GANIARI, S.; CHOULITOU, E.; OREOPOULOU, V. Filmes e revestimentos edificados e ativos como transportadores de antioxidantes naturais para alimentos lipídios. **Trend. Food Science & Technology**, v. 68, p. 70–82, out. 2017. DOI: 10.1016/j.tifs.2017.08.009 <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.009> .

HOQUE, Monjurul et al. Filme ativo à base de pectina/alginato de sódio integrado com celulose microcristalina e geraniol para aplicações em embalagens de alimentos. **International Journal of Biological Macromolecules** , v. 271, p. 132414, 2024.

IRIMIA, A.; STOLERU, E.; VASILE, C.; BELE, A.; BREBU, M. Application of vegetal oils in developing bioactive paper-based materials for food packaging. **Coatings**, v. 11, n. 10, p. 1211, 2021

KAUR, M.; DEVI, G.; NAGPAL, M.; SINGH, M.; DHINGRA, GA; AGGARWAL, G. Óleos essenciais antivirais incorporados em nanocápsulas: estratégia para prevenção da COVID-19 e futuras pandemias infecciosas. **Pharmaceutical Nanotechnology** , v. 8, n. 6, p. 437-451, 2020. <https://doi.org/10.2174/2211738508666201016151850>

KHWAZA V; ADERIBIGBE, BA. Atividade antibacteriana de componentes selecionados de óleos essenciais e seus derivados: uma revisão. **Antibiotics** , v. 14, n. 1, p. 68–68, 10 jan. 2025. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14010068>

KOTWISKI, FO et al. Desenvolvimento de uma nanoemulsão contendo óleo essencial de *Lippia origanoides* com atividade antifúngica por método de baixa energia: da extração à formulação. **Journal of Drug Delivery Science and Technology** , v. 102, p. 106392, 9 nov. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2024.106392>

Li, Y., Ma, L., Ji, T., et al. (2024). Filmes comestíveis de amido de mandioca/carboximetilcelulose com bactérias lácticas incorporadas para prolongar a vida útil do pão. **Packaging Technology and Science**. <https://doi.org/10.1002/pts.2822>

LIANG, JJH; MCKINNON, IA; RANKIN, CH. A contribuição da neurogenética de *C. elegans* para a compreensão de doenças neurodegenerativas. **Journal of Neurogenetics** , v. 34, n. 3–4, p. 527–548, 1 out. 2020. DOI 10.1080/01677063.2020.1803302.

LUPIA, C. et al. Uso de óleos essenciais para neutralizar o fenômeno da resistência antimicrobiana em espécies de animais de produção. **Antibiotics** , v. 13, n. 2, p. 163, 1 fev. 2024. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13020163>

MALIK, MN et al. Bioprospecção de *Dodonaea viscosa* Jacq.; uma planta medicinal tradicional com potencial antioxidante, citotóxico, antidiabético e antimicrobiano.

Arabian Journal of Chemistry , v. 15, n. 3, p. 103688, 2022.

<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.103688>

MENEZES, PMN et al. O efeito relaxante do óleo essencial de *Lippia origanoides* no músculo liso da traqueia de cobaias envolve canais de potássio e guanilil ciclase solúvel. **Revista de Etnofarmacologia** , v. 220, p. 16–25 de junho. 2018. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.03.040> .

METHA, C., BARVE, P., SHARMA, S., & PAL, D. (2024). Avanços recentes em filmes à base de alginato para embalagens ativas de alimentos: abordagens e aplicações.

Food & Function , 2024, 15, 9124–9142. <https://doi.org/10.1039/D3FB00216K>

MOHAMMADI, H.; REZAEIGOLESTANI, M.; MOHSENZADEH, M. Optimization of antimicrobial nanocomposite films based on carboxymethyl cellulose incorporating chitosan nanofibers and Guggul gum polysaccharide. *Scientific Reports*, v. 14, p.

13693, 2024. DOI: 10.1038/s41598-024-64528-0.

MONIZ, A. M. H. et al. Quimiotipos de *Lippia origanoides* Kunth na Amazonia e sua importância farmacológica: uma revisão. **Cuadernos De Educación y Desarrollo**, 15(12), 15619–15671. 2023. DOI: <https://doi.org/10.55905/cuadv15n12-030>

Mostafavi, FS, & Zaeim, D. (2020). Filmes edível baseados em ágar para aplicações de embalagem de alimentos - Uma revisão. *Jornal internacional de macromoléculas biológicas* , 159 , 1165–1176. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.123>

MUKURUMBIRA, AR; SHELLIE, R.; RUSSELL, S.; et al. Encapsulation of essential oils and their application in antimicrobial active packaging. *Journal of Food Processing and Preservation* , v. 46, e16409, 2022. DOI: 10.1111/jfpp.16409.

NASCIMENTO, JF; COSTA, EF; ABREU, FOMS CARACTERIZAÇÕES DE NANOEMULSÕES DE ALGINATO DE SÓDIO COM ÓLEO ESSENCIAL DE *Eucalyptus citriodora* . **Revista Coleta Científica** , 4 (8), 15-22, 2020.

<https://doi.org/10.7910/DVN/7QGVTR>

OLIVEIRA FILHO, JD; BRAGA, A.; OLIVEIRA, B.D.; GOMES, F.; MOREIRA, V.; PEREIRA, V.; EGEA, M. O potencial das antocianinas em filmes à base de polímeros ecológicos inteligentes, ativos e bioativos: uma revisão. **Food Research International** , v. 110202, 2021.

PRADO, JCS et al. Nanoemulsões de compostos bioativos vegetais com aplicações antimicrobianas: uma revisão. **Ciência e Natura** , v. e74325, 10 abr. 2024.

PAIDARI, S.; ZAMINDAR, N.; TAHERGORABI, R.; KARGAR, M.; EZZATI, S.; SHIRANI, N.; MUSAVI, SH. Revestimentos e filmes comestíveis como embalagens

promissoras: uma mini revisão. **Journal of Food Measurement and Characterization** . v. 15 n.5, p. 4205-4214, 2021.

PIMENTA, P. A.; SILVA, A. P. S.; ANDRADE, G. B.; SOUTO, R. B.; MOTA, M. D. Avaliação da atividade antimicrobiana e potencial conservante do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*). **Scientia Plena**, v. 20, n. 2, 2024. DOI: 10.14808/sci.plena.2024.026201.

QUINTÃO, F. J.; TAVARES, R. S.; VIEIRA-FILHO, S. A.; SOUZA, G. H.; SANTOS, O. D. Hydroalcoholic extracts of *Vellozia squamata*: study of its nanoemulsions for pharmaceutical or cosmetic applications. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 23(1), 101-107, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013005000001>

REHMAN, A.; QUNYI, T.; SHARIF, HR; KORMA, SA; KARIM, A.; MANZOOR, MF; MEHMOOD, A.; IQBAL, MW; RAZA, H.; ALI, A.; MEHMOOD, T. Sistema de entrega de nanoemulsão baseado em biopolímeros: Uma abordagem eficaz para impulsionar o potencial antioxidante do óleo essencial em produtos alimentares. *Tecnologias e Aplicações de Polímeros de Carboidratos* , v. 2, p. 100082, 2021. DOI: 10.1016/j.carpta.2021.100082.

SCAPINELLO, J. et al. Aplicação de óleos essenciais em alimentos: uma revisão sobre desafios e perspectivas. **Acta Ambiental Catarinense** , v. 21, n. 1, 3 dez. 2023. <https://doi.org/10.24021/raac.v21i1.7740>

SILVA, RS et al. Avanço no uso de filmes e revestimentos comestíveis com ação antimicrobiana na conservação de frutas e hortaliças: uma revisão. **Agron Food Academy eBooks** , 2022.

SIMÕES, CMO; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, CMO et al. (org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento* . 6. ed. Porto Alegre: Editora UFRGS; Florianópolis: Editora UFSC, 2007. cap. 15, p. 467-495.

SIQUEIRA-LIMA, P. S. et al. Central nervous system and analgesic profiles of *Lippia* genus. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, n. 1, p. 125–135, jan. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.11.006>

TAHER, MK et al. Design of Delivery Systems (Nanoemulsions and Biopolymer Nanoparticles) of Cloves Essential Oil: Preparation, Characterizations, Study the Release, and Antioxidant Activity. **Journal of Preventive, Diagnostic and Treatment Strategies in Medicine** 3(3):p 163-170, jul–sep 2024. DOI: 10.4103/jpdtsm.jpdtm_49_24

TAYEB HH, FELIMBAN R, ALMAGHRABI S, HASABALLAH N. Nanoemulsões: Formulação, caracterização, destino biológico e potencial papel contra a COVID-19 e outros surtos virais. **Colloid Interface Sci Commun** 2021;45:100533 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colcom.2021.100533>

TEIXEIRA, ML et al. Avaliação da atividade antioxidante dos óleos essenciais de *Cantinoa carpinifolia* (Benth.) e *Lippia origanoides* (Kunth.) por diferentes métodos.

Journal of Essential Oil Research , v. 35, n. 2, p. 143–153, 30 set. 2022.
10.1080/10412905.2022.2115570

TRINDADE, SC et al. Atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos de diferentes espécies do gênero *Lippia*. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 10, n. 9, p. e22610918051, 24 jul. 2021. DOI 10.33448/rsd-v10i9.18051.

UMARAW, P.; MUNEKATA, P.; VERMA, A.; BARBA, F.; SINGH, V.; KUMAR, P.; LORENZO, J. Filmes/revestimentos comestíveis com propriedades personalizadas para embalagens ativas de carne, peixe e produtos derivados. **Trends in Food Science & Technology** , v. 98, p. 10-24, 2020.

WANG, M.; JIA, X.; LIU, W.; LIN, X. **Filme transparente flexível e insolúvel em água à base de carboximetilcelulose** . *Carbohydrate Polymers* , v. 255, p. 117353, 2021. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.117353

YASIR, M.; NAWAZ, A.; GHAZANFAR, S.; OKLA, MK; CHAUDHARY, A.; AL, WH; AJMAL, MN; ABDELGAWAD, H.; AHMAD, A.; ABBAS, F.; WADOOD, A.; MANZOOR, Z. **Atividade antibacteriana**. **Journal of Biology** , v. 84, e259449, p. 1-8, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.259449>.

ZHANG, L.; LIN, J.; ZHANG, C.; HU, S.; DONG, Y.; FAN, G.; ELE, F. Avanços recentes nas aplicações de óleos essenciais baseadas em nanotecnologia. **Curr. Nanosci.** 2024 , 20 (5), 630 – 643, DOI: 10.2174/1573413719666230718122527

ZHAO, Y.; TIAN, R.; XU, Z.; JIANG, L.; SUI, X. Avanços recentes na tecnologia de extração de proteína de soja. **Journal of the American Oil Chemists' Society** , v. 100, n. 3, p. 187-195, 2023. DOI: 10.1002/aocs.12676.

ANEXO

Anexo 1. Resultado da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) apresentando os picos, tempos de retenção, % de área, nome da estrutura dos constituintes químicos do óleo essencial de *Lippia origanoides*.

