

**UNIVERSIDADE DO VALE DO RIO DOS SINOS
UNIDADE ACADÊMICA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E ALIMENTOS
NÍVEL MESTRADO**

CAMILA NEDEL KIRSTEN

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA NANOEMULSÃO DO ÓLEO
ESSENCIAL DAS FOLHAS DA *CÚRCUMA LONGA L.***

**São Leopoldo
2025**

CAMILA NEDEL KIRSTEN

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA NANOEMULSÃO DO ÓLEO
ESSENCIAL DAS FOLHAS DA *CÚRCUMA LONGA L.***

Defesa apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Nutrição e Alimentos, pelo Programa de Pós-Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde da Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS).

Orientador: Prof. Dr. Cristiano Dietrich Ferreira

São Leopoldo
2025

K61a

Kirsten, Camila Nedel.

Avaliação da atividade antimicrobiana da nanoemulsão do óleo essencial das folhas da *Cúrcuma Longa L.* / Camila Nedel Kirsten. – 2025.

51 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Programa de Pós-Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde, 2025.

“Orientador: Prof. Dr. Cristiano Dietrich Ferreira”

1. Agentes anti-infecciosos. 2. Óleo essencial. 3. *Cúrcuma Longa L.* I. Título.

CDU 615.28

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Bibliotecária: Amanda Schuster Ditbenner – CRB 10/2517)

LISTA DE SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CIM	Concentração inibitória mínima
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetilsulfóxido
EUA	Estados Unidos da América
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FEL	α -felandreno livre
GRAS	Geralmente Reconhecidos como Seguros
KG	Quilograma
MRC-5	Células de fibroblastos de pulmão humano
NB1	Nanoemulsão branca método com emulsificantes sintéticos (método 01)
NB2	Nanoemulsão branca método com emulsificantes naturais (método 02)
NC1	Nanoemulsão de OE Cúrcuma método com emulsificantes sintéticos (método 01)
NC2	Nanoemulsão de OE Cúrcuma método com emulsificantes naturais (método 02)
NF1	Nanoemulsão de Felandreno método com emulsificantes sintéticos (método 01)
NF2	Nanoemulsão de Felandreno método com emulsificantes naturais (método 02)
NM	Nanômetros
OEL	Óleo Essencial de <i>Cúrcuma Longa L.</i> livre
PDI	Índice de Polidispersão
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
1.1 Tema	7
1.2 Delimitação do tema	7
1.3 Problema	8
1.4 Objetivos	8
1.4.1 Objetivo geral	8
1.4.2 Objetivos específicos	9
1.5 Justificativa	9
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	10
2.1 <i>Cúrcuma Longa</i> L.	10
2.1.1 Atividade Antimicrobiana	12
2.2 Óleo Essencial	13
2.2.1 Óleo Essencial de <i>C. Longa</i> L.	13
2.3 Nanoemulsão	14
2.4 Conservantes de alimentos	17
3 METODOLOGIA	19
3.1 Matéria-Prima	19
3.1.1 Microrganismos	19
3.2 Extração do óleo essencial de <i>C. longa</i>	19
3.3 Caracterização do óleo essencial de <i>C. longa</i>	20
3.4 Preparo das nanoemulsões	21
3.5 Caracterização das nanoemulsões	22
3.6 Ensaio de citotoxicidade de cultura celular e MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio)	23
3.7 Avaliação da atividade antimicrobiana	23
3.8 Análise estatística	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1 Composição química do óleo essencial das folhas de <i>C. Longa</i>	24
4.2 Caracterização das nanoemulsões	28
4.3 Avaliação da Citotoxicidade dos Compostos Livres e Nanoemulsionados	30
4.3.1 Avaliação da Citotoxicidade do Óleo Essencial de <i>C. Longa</i> e suas nanoemulsões	30

4.3.2 Avaliação da Citotoxicidade do Felandreno e suas Nanoemulsões	33
4.4 Atividade antimicrobiana	37
5. CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

A *Cúrcuma Longa L.* é pertencente da família Zingiberaceae, nativa do sudoeste da Ásia, principalmente na China e Índia, responsável por 90% da produção total no mundo (ARAÚJO; LEON, 2001; SALEHI; RODRIGUES; PERON, 2021). Socialmente, contribui para a medicina tradicional, práticas culturais e educação em saúde. Economicamente, possui um impacto positivo na agricultura, indústria de especiarias, área farmacêutica e cosmética (MOGHADAMTOUSI, *et al.*, 2014). A combinação desses fatores destaca a cúrcuma como um recurso valioso tanto para a saúde das comunidades quanto para o desenvolvimento econômico.

O rizoma da cúrcuma, popularmente conhecido como açafrão-da-terra, é a parte da planta rica em compostos bioativos, notadamente a curcumina, que lhe confere a cor amarelo vibrante e grande parte de suas propriedades terapêuticas. Após a colheita, os rizomas são submetidos a processos de cozimento, secagem e moagem para se obter o pó utilizado como especiaria na culinária e como insumo nas indústrias alimentícia e farmacêutica (SINGH *et al.*, 2010).

Os subprodutos da *Cúrcuma Longa L.*, como as folhas, de acordo com estudos recentes, também possuem propriedades bioativas. Entretanto, são frequentemente tratadas como subproduto de baixo ou nenhum valor. Na cadeia produtiva da cúrcuma, as folhas são descartadas ou incineradas no campo gerando um resíduo ambiental de alto custo de descarte (ELAMIN, *et al.*, 2021; MOGHADAMTOUSI, *et al.*, 2014). Estudos recentes investigaram a extração de óleos essenciais das folhas, que demonstraram possuir atividades antimicrobiana e antioxidante, com potencial aplicação em embalagens ativas para alimentos (GOVINDAKARN *et al.*, 2023).

Os óleos essenciais podem ser extraídos a partir das folhas, rizomas, caules e, a sua utilização em aplicações comerciais, apesar de promissora, é limitada por apresentar baixa biodisponibilidade e solubilidade. Uma alternativa é a aplicação em sistemas de entrega nanométricos, para solucionar essas questões, tais como as nanoemulsões. O tamanho de partícula reduzido e as cargas superficiais das nanoemulsões podem influenciar no sistema de liberação, interação com sítios moleculares, além de retardar a perda por volatilização, permitindo a utilização de menores concentrações em relação ao óleo essencial bruto e a redução da degradação pela luz (ELAMIN, *et al.*, 2021; GHADERI, *et al.*, 2017; PRAKASH *et al.*, 2018).

As nanoemulsões de *Cúrcuma longa* L. tem demonstrado potencial significativo na melhoria da atividade antimicrobiana devido às suas propriedades físico-químicas. Os estudos indicam que a formulação em nanoemulsão pode aumentar a eficácia antimicrobiana ao melhorar a dispersão e estabilidade dos compostos bioativos, permitindo uma melhor interação com os microrganismos (ZHANG *et al.*, 2021). O tamanho reduzido das partículas, geralmente entre 20-200 nanômetros (nm), potencializa essa ação, aumentando a penetração na membrana celular dos microrganismos (KUMAR *et al.*, 2022).

Outras características das nanoemulsões, como carga superficial e viscosidade, influenciam diretamente a eficácia antimicrobiana, sugerindo que ajustes na formulação podem potencializar sua ação bioativa (PATEL; SINGH, 2023). A carga superficial e a viscosidade influenciam a eficácia antimicrobiana ao modularem a interação entre a nanoemulsão e o patógeno. Uma carga positiva (catiônica) promove atração eletrostática e fusão com a membrana microbiana negativa, enquanto a viscosidade adequada aumenta a mucoadesão e o tempo de contato da formulação (HENOSTROZA, 2018). Essa combinação otimiza a desestabilização da estrutura celular, resultando em uma maior atividade antimicrobiana (MORAIS *et al.*, 2021). Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi caracterizar a composição química, produzir nanoemulsões do óleo essencial das folhas de *Cúrcuma Longa* L., avaliar a citotoxicidade e a atividade antimicrobiana.

1.1 Tema

Avaliação da atividade antimicrobiana da nanoemulsão do óleo essencial das folhas da *Cúrcuma Longa* L.

1.2 Delimitação do tema

O óleo essencial da *C. longa* L. possui uma série de propriedades bioativas importantes. Entre suas propriedades destacam-se a ação anti-inflamatória, antioxidante, antimicrobiana e potencial anticancerígena. No entanto, a aplicação do óleo essencial da cúrcuma é frequentemente limitada por sua baixa solubilidade em água e a baixa biodisponibilidade dos seus compostos ativos. A nanoemulsão surge como uma alternativa para superar essas limitações. Ao nanoemulsionar o óleo

essencial, é possível aumentar a solubilidade dos compostos ativos, melhorar sua absorção, biodisponibilidade e garantir uma distribuição uniforme no organismo. Além disso, oferece uma proteção adicional contra a degradação dos compostos bioativos, potencializando sua ação. Dessa forma, a nanoemulsão não apenas potencializa os benefícios do óleo essencial da cúrcuma, mas abre novas possibilidades para seu uso em formulações farmacêuticas e cosméticas, resultando em um impacto na saúde e bem-estar.

1.3 Problema

Os conservantes sintéticos são uma preocupação cada vez maior para a indústria alimentícia, devido a aceitação cada vez menor dos consumidores frente a exposição a estas moléculas, principalmente pela conscientização dos efeitos adversos para a saúde a curto, médio e longo prazo. Uma pesquisa da Mintel revelou que 56% dos consumidores afirmam que evitam alimentos com conservantes artificiais, refletindo uma mudança significativa em suas preferências alimentares. A *Clean Label Project* verificou que 60% dos consumidores estão preocupados com os efeitos dos aditivos sintéticos em alimentos, o que impulsiona a demanda por produtos livres desses conservantes. Neste contexto, os bioconservantes, ou conservantes naturais, se tornam uma alternativa para indústria. Descobriu-se que derivados de fontes vegetais, como ervas, especiarias e óleos essenciais, aumentam a vida útil, diminuindo a oxidação lipídica. Além de estender a vida útil e garantir a segurança dos alimentos, eles permitem melhora da qualidade e propriedades nutricionais na formulação. Portanto, o desafio é verificar se a nanoemulsão do óleo essencial das folhas da *Cúrcuma Longa L* tem potencial antimicrobiano para ser utilizado como conservante em produtos alimentícios?

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo geral

Avaliar a atividade antimicrobiana e perfil citotóxico da nanoemulsão do óleo essencial das folhas da *Cúrcuma Longa L* e do seu composto majoritário.

1.4.2 Objetivos específicos

1.4.2.1 Caracterizar quanto composição química o óleo essencial das folhas da *Cúrcuma Longa L.*;

1.4.2.2 Nanoemulsionar o óleo essencial das folhas da *Cúrcuma Longa L.* e seu composto majoritário;

1.4.2.3 Avaliar a citotoxicidade da nanoemulsão do óleo essencial das folhas da *Cúrcuma Longa L.* e seu composto majoritário;

1.4.2.4 Avaliar a atividade antimicrobiana da nanoemulsão do óleo essencial das folhas da *Cúrcuma Longa L.* frente as bactérias: *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (O157:H7).

1.5 Justificativa

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais é uma propriedade de grande interesse para a indústria alimentícia devido ao seu potencial natural de conservação dos alimentos. Isso ocorre, principalmente, devido à percepção negativa dos consumidores sobre conservação através do uso de aditivos sintéticos presentes nos produtos tradicionais e suas consequências ao longo prazo, como as possíveis atividades cancerígenas e toxicidade tecidual. A utilização de OE em aplicações comerciais, apesar de promissora, é limitada devido as características de volatilidade, baixa solubilidade em água, degradação pela luz, utilização de altas concentrações, além de odor e sabor fortes e característicos. Esses aspectos podem ser reduzidos quando os óleos são incorporados a sistemas de entrega bem projetados, como as nanoemulsões. Estas, possuem tamanho de partícula na faixa de 10 a 200 nm e são formadas, geralmente, por água, óleo, emulsionante e co-solventes. O tamanho de partícula reduzido e as cargas superficiais das nanoemulsões podem influenciar no sistema de liberação, interação com sítios moleculares, além de retardar a perda por volatilização, permitindo a utilização de menores concentrações em relação ao óleo essencial bruto, e a redução da degradação pela luz (GHADERI, *et al.*, 2017; PRAKASH, *et al.*, 2018; DONSI, FERRARI, 2016).

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 *Cúrcuma Longa* L.

A Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) relata que a produção de cúrcuma tem tido um crescimento expressivo, com a Índia liderando a produção com mais de 1 milhão de toneladas anuais (FAO, 2021). Embora a Índia seja o principal produtor global de cúrcuma, a América do Sul, especialmente o Brasil, está iniciando a expansão de sua produção devido ao clima favorável e para atender à demanda crescente do setor alimentício (GRAND VIEW RESEARCH, 2021; FAO, 2021). Segundo a *Grand View Research* (2021), o mercado global de cúrcuma foi avaliado em aproximadamente 5 bilhões de dólares em 2020 e está projetado para crescer a uma taxa composta anual de cerca de 7% até 2028 (GRAND VIEW RESEARCH, 2021).

A *C. Longa* L. é pertencente da família *Zingiberaceae*, nativa do sudoeste da Ásia, principalmente na China e Índia, responsável por 90% da produção total no mundo. Ela é cultivada em regiões subtropicais e tropicais dos países da América do Sul, Austrália e Ásia. O rizoma, Figura 1, é a parte frequentemente utilizada da planta na medicina e culinária, como corante e aromatizante. Ela é o ingrediente majoritário e essencial do *curry* (tempero alimentar de origem indiana), conferindo a coloração amarela alaranjada e o sabor picante. A cúrcuma possui propriedades anti-inflamatórias, antissépticas, antioxidantes, digestivas, analgésicas, anticancerígenas e antibacteriana (ARAÚJO; LEON, 2001; JYOTIRMAYEE; MAHALIK, 2023; KUMAR *et al.*, 2018).

Figura 1: Rizoma de *C. Longa L.*

Fonte: Oasis Nutrition (2021)

Figura 2: Folhas de *C. Longa L.*

Fonte: próprio autor

Os subprodutos da *Cúrcuma Longa L.*, como as folhas (Figura 2), de acordo com estudos recentes, são excelentes fontes de compostos bioativos, principalmente os fenólicos. Entretanto, grande parte é descartada, gerando um resíduo ambiental de alto custo e com grande potencial para indústria (KIM, *et al.*, 2014; KIM, *et al.* 2019). Os subprodutos agrícolas são uma preocupação emergente pois a queima desses descartes, ocasionam sérios problemas de poluição no solo, água e ar, dessa maneira a conversão em produto de valor agregado surge como um método benéfico e ambientalmente positivo. Entre estes, os óleos essenciais são predominantes e isolados a partir dessas matérias primas (ALBAQAMI *et al.*, 2022).

Um estudo avaliando as folhas frescas da *C. Longa*, encontrou que ela possui altas concentrações de carboidratos ($44,74 \text{ g.100 g}^{-1}$), proteínas ($39,5 \text{ g.100 g}^{-1}$) e fibras ($11,81 \text{ g.100 g}^{-1}$) sugerindo um alto valor nutricional e, também, níveis consideráveis de sódio, magnésio, cálcio e potássio. Além de apresentar baixos níveis de nitrato, sem compostos cianogênicos em sua composição, tornando o seu consumo seguro (BRAGA; VIEIRA; DE OLIVEIRA, 2018).

Outro estudo investigou a composição química dos óleos essenciais das folhas secas de cúrcuma e avaliou a atividade antimicrobiana contra *Pseudomonas aeruginosa* e *Listeria monocytogenes*. Os principais componentes identificados foram α -felandreno, terpinoleno e 1,8-cineol. A concentração mínima inibitória (CIM) dos óleos essenciais foi de 0,5%, e, quando combinados na concentração de 5%, apresentaram halos de inibição significativos para *P. aeruginosa* (14,67 mm), indicando uma atividade antimicrobiana promissora (SILVA *et al.*, 2020).

Teramoto *et al.* (2018) analisou a composição química das folhas senescentes de 36 acessos de cúrcuma em São Paulo/SP, Brasil. Os resultados indicaram que o teor de óleo essencial variou de 0,27% a 1,01%, com predominância de monoterpenos, especialmente α -felandreno (20,7% a 31,1%), p-cimeno (19,2% a 30,8%), terpinoleno (12,8% a 20,1%) e 1,8-cineol (8,1% a 13,2%). Além disso, o estudo avaliou a atividade antimicrobiana desses óleos essenciais frente aos microrganismos: *Enterococcus hirae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella enteritidis*, *Pseudomonas aeruginosae* e *Candida albicans*. Apresentaram potencial uso com CIM de 2 mg/mL apenas para *Enterococcus hirae*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (TERAMOTO *et al.*, 2018).

2.1.1 Atividade Antimicrobiana

Segundo Spinosa e Tárraga (2014), os antimicrobianos são substâncias químicas sintetizadas por microrganismos ou seus equivalentes *in vitro*, com a capacidade de, em pequenas quantidades, eliminar (fungicida ou bactericida) ou inibir o crescimento (bacteriostático ou fungistático) dos microrganismos patogênicos.

O mecanismo de inibição da atividade antimicrobiana do OE das folhas de *C. longa* é um processo multifatorial, mas que tem como alvo primário a desestabilização e o rompimento da membrana celular do microrganismo. Os principais componentes lipofílicos do óleo, como os monoterpenos α -felandreno e terpinoleno, integram-se à bicamada lipídica da membrana, alterando sua fluidez e aumentando sua permeabilidade. Essa desorganização estrutural provoca o extravasamento de componentes intracelulares vitais, como íons e trifosfato de adenosina, levando ao colapso do metabolismo energético e, conseqüentemente, à morte da célula bacteriana (BURT, 2004; SILVA *et al.*, 2020).

Um estudo avaliando diferentes espécies de Cúrcuma encontrou que os óleos essenciais de *C. aromatica*, *C. zedoaria* e *C. longa* demonstraram atividade antibacteriana contra bactérias deterioradoras de alimentos, incluindo *Bacillus cereus*, *Salmonella enteritidis* e *Staphylococcus aureus* com zona de inibição entre 11,7 e 17,8 mm (UECHI *et al.*, 2000). Outro estudo utilizou 10 μ L/disco de óleo essencial das folhas de *C. longa*, do qual, foi eficaz contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* e *Enterobacter aerogenes* (PARVEEN *et*

al., 2013). Além disso, o OE de *C. longa* também exibiu um valor de MIC de 83,3 µg/ml contra *Staphylococcus aureus* (TELES, *et al.*, 2019).

2.2 Óleo Essencial

Os OE são substâncias complexas, de alto poder volátil e de fragrâncias variáveis originadas de folhas, flores, talos, caules, hastes, cascas e raízes. A sua coloração varia de totalmente incolor a fortemente dourado, passando por colorações esverdeadas, ambarinas e amareladas, de acordo com as plantas das quais são extraídos; geralmente, são instáveis na presença de luz, calor, umidade e metais (CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2015; VIGAN, 2010). Os OE apresentam propriedades farmacológicas como antioxidante, antitumoral, anti-inflamatória e antimicrobiana. Com base em seus perfis de segurança favoráveis a *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos da América (EUA) colocou-os na categoria Geralmente Reconhecidos como Seguros (GRAS) (SINGH; TIWARI; DUBEY, 2021; DONSI; FERRARI, 2016).

A obtenção de óleos essenciais de matrizes vegetais é realizada por diversos métodos, cuja escolha impacta diretamente o rendimento e a composição química do produto final. Os métodos tradicionais mais difundidos são os baseados na destilação, como a hidrodestilação e a destilação por arraste a vapor, nos quais o vapor d'água volatiliza os compostos do óleo, que são subsequentemente condensados e separados da fase aquosa (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009). Para materiais sensíveis ao calor, como cascas de cítricos, emprega-se a prensagem a frio, um processo mecânico que preserva a integridade química do óleo. Tecnologias mais modernas e "verdes" incluem a extração com fluido supercrítico, utilizando principalmente CO₂, que permite obter extratos de alta qualidade sem o uso de altas temperaturas ou solventes tóxicos (GOLOLOBO *et al.*, 2020).

2.2.1 Óleo Essencial de *C. Longa L.*

Albaqami *et al.*, (2022) detectou os principais compostos do óleo essencial das folhas de *C. Longa L.* como α-felandreno (31,27%), 2-careno (21,73%), eucaliptol (13,54%) e o-cimeno (5,45%). Outro estudo mostrou a presença de (-)-zingibereno (17,84%); 3,7-ciclododecadien-1-ona, 3,7-dimetil-10-(1-metiletilideno) (15,31%); ciclo-

hexeno, 4-metil-3-(1-metiletilideno) (12,47%); e (+)-4-careno (11,89%) como principais fitocompostos (SHARMA *et al.*, 2022). O eucaliptol (10,27%) foi o principal componente do óleo essencial das folhas de *Cúrcuma Longa L.* de um terceiro trabalho, seguido de β -pineno (3,57%), limoneno (2,73%), 2-metilisoborneol (2,92%) e β -felandreno (2,49%) em valores consideráveis (PARVEEN *et al.*, 2013).

Uma pesquisa avaliando diferentes atividades biológicas de diferentes espécies de *Cúrcuma spp.* encontrou o óleo essencial das folhas de *C. Longa*, entre as espécies *Cúrcuma aromática* e *Cúrcuma angustifolia*, como o mais ativo entre os óleos essenciais avaliados nos ensaios antioxidantes. O óleo teve um potencial de eliminação de radicais DPHH e ABTS semelhante ao ácido ascórbico (ALBAQAMI *et al.*, 2022).

Além disso, o óleo essencial de cúrcuma mostrou atividade antibacteriana contra *Helicobacter pylori*, *Bacillus cereus*, *B. coagulans*, *B. subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa* (FAGODIA *et al.*, 2017; NEGI *et al.*, 1999). Também mostrou efeitos antifúngicos contra *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. parasiticum*, *Rhizoctonia solani*, *Helminthosporium oryzae*, *Trichoconis padwickii*, *Curvularia lunata*, *C. pallescens*, *C. trifolii*, *Fusarium verticillioides*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *Penicillium digitatum*, *Alternaria dianthi*, *Trichophyton longifusus* e *Colletotrichum falcatum* (SINGH *et al.*, 2010; AVANÇO *et al.*, 2017; APISARIYAKUL; VANITTANAKOM; BUDDHASUKH, 1995; BEHURA *et al.*, 2000.; FAGODIA *et al.*, 2017).

2.3 Nanoemulsão

A utilização de óleos essenciais em aplicações comerciais, apesar de promissora, é limitada devido às características de volatilidade, baixa solubilidade em água e alta oxidação. Esses aspectos podem ser reduzidos quando os óleos são incorporados a sistemas de entrega, tais como as nanoemulsões (GHADERI *et al.*, 2017; PRAKASH *et al.*, 2018). O uso de óleos essenciais em nanoemulsões em sistema alimentar apresenta grandes vantagens: (A) alta eficiência na prevenção da deterioração dos alimentos; (B) liberação sustentada e controlada de antimicrobianos baseados em óleos essenciais; (C) baixo risco de citotoxicidade; e (D) difusão profunda por causa do tamanho nanométrico (CHUACHAROEN; SABLIOV, 2019).

A incorporação de óleos essenciais em nanoemulsões tem sido amplamente estudada devido às vantagens proporcionadas por esses sistemas, e diversas formulações e métodos de preparo têm sido desenvolvidos para otimizar essas características. Em suma, a escolha dos surfactantes, métodos de homogeneização e a incorporação em matrizes poliméricas são fundamentais para o desenvolvimento de nanoemulsões eficazes contendo óleos essenciais (SILVA *et al.*, 2021; RIBEIRO *et al.*, 2024; SOUZA; LIMA; CASTRO, 2022).

A lecitina tem sido explorada como um emulsificante natural na formulação de nanoemulsões de óleos essenciais para aplicação na indústria de alimentos. É uma alternativa atraente para emulsificantes sintéticos, como o Span 80, devido sua origem natural, biodegradabilidade, e do fato de ser geralmente reconhecida como segura (GRAS) pela *Food and Drug Administration* (FDA) (LI, 2015; ROCHA, 2021).

De Li *et al.* (2015) desenvolveram nanoemulsões de óleo essencial para encapsulamento, investigando a estabilidade e o tamanho de partícula utilizando uma mistura de emulsificantes, incluindo a lecitina e o Tween 80. Os autores constataram que a combinação de lecitina com o emulsificante sintético foi eficaz na produção de nanoemulsões estáveis com partículas de tamanho reduzido. Rocha *et al.* (2021), utilizaram a lecitina como único agente emulsificante para encapsular o óleo essencial de tomilho em nanoemulsões. Eles verificaram que a lecitina não apenas formou nanoemulsões com estabilidade satisfatória, mas também que a nanoemulsão resultante exibiu uma atividade antimicrobiana significativa contra patógenos de origem alimentar, confirmando o potencial da lecitina como um emulsificante natural e funcional para conservantes alimentares.

Um estudo desenvolveu nanoemulsões utilizando uma mistura de água, Span 80 e Tween 80, incorporando *blends* de seis óleos essenciais: anis, canela, cravo, menta, orégano e tomilho. As nanoemulsões foram preparadas com o auxílio de um dispersor Ultra-Turrax, resultando em partículas com tamanhos variando entre 67 e 277 nm. Essas formulações demonstraram potencial para aplicações antimicrobianas e antioxidantes (SILVA *et al.*, 2021).

Outro estudo avaliou as nanoemulsões obtidas com óleo essencial de gengibre. As formulações foram preparadas vertendo a fase aquosa sobre a fase oleosa, que continha o óleo essencial e os surfactantes Tween 80 e Span 80, sob homogeneização no Ultra-Turrax e ultrassom. Dentre os lotes produzidos, um apresentou diâmetro

médio de 101,45 nm, índice de polidispersão de 11,84% e potencial zeta de -12,48 mV, indicando boa estabilidade da nanoemulsão (RIBEIRO *et al.*, 2024).

Um estudo teve como objetivo avaliar as nanoemulsões dos óleos essenciais de *Cinnamomun zeylanicum* (canela) e *C. longa* em relação ao óleo puro como conservante em carne bovina moída. Os resultados encontrados mostraram uma atividade maior em nanoemulsões em comparação com os óleos essenciais, o halo de inibição dos óleos essenciais de canela contra *Staphylococcus aureus* foi igual a 35 mm, enquanto o de sua nanoemulsão atingiu 40 mm (SILVA *et al.*, 2021).

Os óleos essenciais nanoemulsionados de semente de uva e canela foram testados, por Abderrahmane Ameur *et al.* (2022), para prolongar a vida útil de filés de tainha (*Mugil cephalus*) através da determinação das características físico-químicas (pH, índice de peróxido de hidrogênio, ácidos graxos livres), sensoriais e microbiológicas, através da contagem de bactérias aeróbias mesófilas, bactérias psicrótroficas totais e enterobactérias durante 14 dias de armazenamento à 2°C. Os resultados apresentados revelaram que as nanoemulsões inibiram o aumento no pH, retardaram a oxidação e hidrólise de lipídios. A avaliação sensorial indicou que o tratamento prolongou a vida útil para quatro dias, de 10 para 14 dias, em comparação com os controles. Também houve a redução do crescimento microbiológico, o que ocasionou em um acréscimo de 2 dias da vida útil (de 10 para 12 dias). Com estes resultados, as nanoemulsões de óleo essencial de semente de uva e canela, podem ser consideradas como novas formas de prevenção para a oxidação e contaminação microbiana em filés de tainha, consequentemente um novo meio de conservação e aumento da vida útil.

Apesar de promissora, a incorporação de óleos essenciais em nanoemulsões apresenta desafios, como a instabilidade física ao longo do tempo, podendo levar à floculação ou coalescência das gotículas, comprometendo a eficácia do produto (SILVA; OLIVEIRA; FERREIRA, 2022). Além disso, os óleos essenciais são compostos voláteis e altamente sensíveis à luz, oxigênio e temperatura, o que pode resultar na perda de compostos ativos mesmo quando incorporados em nanoemulsões, afetando sua estabilidade e funcionalidade (SANTOS, *et al.*, 2021). Outra limitação é a interferência sensorial, pois a presença de óleos essenciais pode alterar características como sabor e odor, especialmente em aplicações alimentícias, o que pode não ser desejável para todos os produtos (PEREIRA; SOUZA; ALMEIDA, 2023). Outra questão é para o desenvolvimento dessas formulações que exige a

seleção cuidadosa de surfactantes e métodos de produção adequados para garantir estabilidade e eficácia, o que pode aumentar a complexidade e os custos do processo (COSTA; FIGUEIREDO; MARTINS, 2024).

A incorporação em nanoemulsões do óleo essencial de bergamota e suas frações foi avaliada quanto a sua atividade antimicrobiana frente *Escherichia coli*, *Lactobacillus delbrueckii* e *Saccharomyces cerevisiae*. Os resultados encontrados apresentaram aumento da atividade antimicrobiana dos óleos nanoemulsionados. Todavia, as nanoemulsões, exibiram uma atividade citotóxica mensurável que foi aumentada pelo uso de diferentes formulações em comparação com o óleo livre, o que desencoraja o seu uso como conservante de alimentos, mas não descarta a utilização em aplicações terapêuticas (MARCHESE *et al.*, 2020).

2.4 Conservantes de alimentos

Os produtos alimentícios são suscetíveis a deterioração por processos físicos, químicos, enzimáticos e microbiológicos, que podem reduzir a vida útil e segurança até alterações físico-químicas e sensoriais indesejáveis para o alimento. A aplicação de aditivos alimentares é uma das formas atuais para a conservação de alimentos para manter a qualidade e controlar contaminações que podem causar doenças alimentares (SAMBU *et al.*, 2022; NOVAIS *et al.*, 2022)

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os aditivos alimentares são substâncias adicionadas intencionalmente aos alimentos com o objetivo de modificar suas características sensoriais, tecnológicas ou de conservação, sem propósito nutricional (BRASIL, 2018). Dentro dessa ampla categoria, os conservantes se destacam como aditivos utilizados para prolongar a vida útil dos alimentos, inibindo a ação de microrganismos ou retardando alterações químicas indesejadas, como a oxidação. De acordo com a ANVISA, aditivos e seus usos estão regulamentados pela Resolução RDC n.º 778, de 2023, que define critérios gerais para o emprego dessas substâncias, enquanto os conservantes possuem funções tecnológicas específicas listadas na Resolução GMC/MERCOSUL n.º 11, de 2006 (BRASIL, 2010; BRASIL, 2018; MERCOSUL, 2006).

Os conservantes sintéticos - como nitrito de sódio, benzoato de sódio, BHA e BHT – oferecem alta eficácia contra oxidação lipídica e contaminação microbiana, conferindo proteção a alimentos de origem animal e industrializados, entretanto sua

utilização está associada à formação de subprodutos potencialmente carcinogênicos e ao aumento de sensibilidades alérgicas (de BARROS *et al.*, 2021). Em contraste, os conservantes naturais — provenientes de extratos vegetais, óleos essenciais e compostos bioativos como tocoferóis e polifenóis — demonstram ação antimicrobiana eficaz e atividade antioxidante, além de apresentar potencial sinérgico com conservantes sintéticos, reduzindo doses e mitigando efeitos adversos (MARCIOLI, 2015; MINATTI *et al.*, 2023; SOUSA *et al.*, 2021). Porém, esses compostos naturais apresentam limitações como instabilidade térmica, alteração sensorial (aroma, cor), espectro de ação limitado e custo superior (MARCIOLI, 2015; SOUSA *et al.*, 2021). Como estratégia, estudos apontam para um cenário promissor no qual o uso combinado de conservantes naturais e sintéticos — especialmente com encapsulação de bioativos — permite potencializar a segurança e qualidade dos alimentos, mantendo a viabilidade econômica e sensorial (MARCIOLI, 2015).

Moosavi-Nasab *et al.* (2017) estudaram os óleos essenciais de tomilho (*Zataria multiflora*) e cravo (*Syzygium aromaticum*) como inibidores naturais do crescimento do fungo *Aspergillus flavus* e a produção da micotoxina aflatoxina B1 para preservação da biodeterioração de alimentos, como do queijo branco iraniano. Segundo os autores os óleos essenciais em todas as concentrações reduziram a produção de aflatoxina B1 e o crescimento fúngico no queijo.

Outro estudo avaliou o óleo essencial de Louro (*Laurus nobilis*) e suas atividades antifúngica, antitoxigênica e antioxidante para seu uso potencial como conservante de trigo. O óleo essencial mostrou potencial frente ao fungo *Aspergillus flavus* e a micotoxina aflatoxina B1, demonstrando ser um promissor conservante natural ao aumentar a vida útil dos produtos alimentícios armazenados ao controlar a deterioração e os danos oxidativos causados por fungos toxigênicos (BELASLI *et al.*, 2020).

O óleo essencial de *Pimpinella anisum* (erva-doce) nanoencapsulado foi avaliado para a preservação de amostras de arroz armazenados pós-colheita de contaminação fúngica e por micotoxina. Os resultados encontraram potencial protetor contra degradação por fungos toxigênicos e aflatoxina B1, em concentrações de 80 e 70 µL, respectivamente. Além disso, incorporado a nanomatrix de quitosona, o óleo essencial teve um impacto positivo na proteção de minerais e micronutrientes do arroz em um estudo conduzido por DAS *et al.* (2021).

3 METODOLOGIA

3.1 Matéria-Prima

As folhas de *C. longa* foram coletadas no período da manhã em Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil (29°41'02"S, 53°48'25"O). Elas foram transportadas para o Laboratório de Química da Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS), em São Leopoldo – RS, acondicionadas em recipiente isotérmico e proteção contra a luz, a fim de preservar suas características físico-químicas durante o trajeto. Para a identificação botânica, uma amostra do material vegetal foi encaminhada para o Herbarium do Instituto Anchietano de Pesquisa/UNISINOS, São Leopoldo, RS. O nome científico foi verificado na base de dados *The Plant List* (<http://www.theplantlist.org>).

3.1.1 Microrganismos

Os microrganismos utilizados foram cedidos pela Universidade Federal do Rio Grande (FURG). As cepas de *Staphylococcus aureus* foram cedidas pelo Laboratório de Microbiologia, do campus Santo Antônio da Patrulha, e as cepas de *Escherichia coli* O157:H7 foram cedidas pelo Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA) do campus sede da FURG, campus Carreiros.

3.2 Extração do óleo essencial de *C. longa*

O OE das folhas de *C. longa* foi extraído a partir da técnica de hidrodestilação, Figura 03, com aparelho de Clevenger (100 °C, por 3 h), conforme descrito pela Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2010). O OE obtido foi removido com o auxílio de uma pipeta de Pasteur e posteriormente transferido para um frasco de vidro âmbar e armazenado em freezer a -4 °C até a realização das análises. O rendimento do OE foi calculado com base no peso dos materiais vegetais. Para extração do óleo foi utilizado 2 quilogramas (kg) de folhas de *C. Longa* em 2 litros de água destilada.

Figura 03: Hidrodestilação



Fonte: Oliveira (2011)

3.3 Caracterização do óleo essencial de *C. longa*

Para avaliar o perfil fitoquímico, o OE foi diluído (2%, v/v) em éter etílico e as soluções obtidas foram submetidas à cromatografia gasosa com espectrometria de massas (CG-EM). O volume injetado no CG-MS foi de 1 μ L da amostra diluída, e a razão de divisão foi de 1:40 (v/v). A análise cromatográfica foi realizada em um espectrômetro de massas (Shimadzu® QP5000, Kyoto, Japão) equipado com Durabond-DB5 (30 m $\times$ 0,25 mm $\times$ 0,25 μ m) de sílica fundida, utilizando hélio como gás de arraste, com vazão de 1,0 mL/min. As temperaturas do injetor e do detector foram ajustadas em 220 e 290 °C, respectivamente. O programa de temperatura da coluna foi de 60 °C por 3 min e de 60 a 300 °C a uma taxa de 3 °C/min, encerrando um tempo de execução de 75 min.

Os compostos voláteis foram identificados pela Biblioteca Espectral de Massas NIST11 e a composição qualitativa de cada composto foi relatada como uma porcentagem relativa da área total do pico. No entanto, para confirmar os compostos identificados, a composição também foi determinada pela análise do índice de retenção (IR) (ADAMS RP, 2017). O IR linear de cada composto foi calculado com base no tempo de retenção do pico e em uma série homóloga de n-alcanos (C9-C30, Sigma Aldrich).

3.4 Preparo das nanoemulsões

Para os OEs foram avaliados dois métodos: método com emulsificantes sintéticos (método 01), descrito por Dias *et al.* (2014); e, método com emulsificantes naturais (método 02), descrito por Hashemi *et al.* (2020), com alterações. Todas as formulações foram obtidas pela técnica de homogeneização à alta pressão, de acordo com parâmetros previamente validados (DIAS *et al.* 2014). Duas nanoemulsões foram produzidas contendo óleo essencial de *C. longa* L., com 4% e 10% (p/p) de óleo essencial das folhas de *C. Longa*. Para avaliar a contribuição do componente majoritário frente ao OEL, foram preparadas formulações (NF1 e NF2) contendo apenas α -felandreno. O planejamento destas formulações baseou-se em um teor de referência de 50% de α -felandreno no óleo de cúrcuma, sendo as quantidades do padrão de felandreno (85% de pureza) ajustadas para que a concentração final de α -felandreno nas formulações controle fosse equivalente à de suas contrapartes contendo o óleo essencial (NC1 e NC2). Este rigor metodológico garantiu concentrações comparáveis de α -felandreno entre os sistemas, permitindo uma análise direta da influência deste marcador em relação a um possível efeito sinérgico dos demais constituintes do óleo. A composição percentual de cada formulação é apresentada na Tabela 01, método com emulsificantes sintéticos (método 01), e na Tabela 02, método com emulsificantes naturais (método 02). Uma nanoemulsão branca, de cada método, foi preparada para fins comparativos.

Tabela 1 – Composição das nanoemulsões do óleo essencial das folhas do método com emulsificantes sintéticos (método 01).

Componente	NB1 (%)	NC1 (%)	NF1 (%)
<i>Fase oleosa</i>			
OE cúrcuma*	-	10,00	-
Felandreno**	-	-	5,87
TCM	19,00	9,00	13,13
Span® 80	1,00	1,00	1,00
<i>Fase aquosa</i>			
Tween® 20	1,00	1,00	1,00
Água purificada	q.s.p.	q.s.p.	q.s.p. 100,00

*OE de cúrcuma contendo 50% de α -felandreno. **Padrão de felandreno contendo 85% em teor de α -felandreno. Legenda: NB1: Nanoemulsão branca; NC1: Nanoemulsão de OE de *C. longa*; NF1: Nanoemulsão de Felandreno; q.s.p: quantidade suficiente para completar a solução; OE: óleo essencial; TCM: triglicerídeos de cadeia média; "-": sem adição; % p/p. Fonte: Próprio autor.

Tabela 2 – Composição das nanoemulsões do óleo essencial das folhas de *Cúrcuma Longa L.* do método com emulsificantes naturais (método 02)

Componente	NB2 (%)	NC2 (%)	NF2 (%)
<i>Fase oleosa</i>			
OE cúrcuma*	-	4,00	-
Felandreno**	-	-	2,35
TCM	4,00	-	1,65
Lecitina de soja	0,1	0,1	0,1
<i>Fase aquosa</i>			
Tween® 80	4,00	4,00	4,00
Água purificada	q.s.p.	q.s.p.	q.s.p.

*OE de cúrcuma contendo 50% de α -felandreno. **Padrão de felandreno contendo 85% em teor de α -felandreno. Legenda: NB2: Nanoemulsão branca; NC2: Nanoemulsão de OE de *C. longa*; NF2: Nanoemulsão de Felandreno; q.s.p: quantidade suficiente para completar a solução; OE: óleo essencial; TCM: triglicerídeos de cadeia média; “-”: sem adição; % p/p. Fonte: Próprio autor.

A pesagem e homogeneização dos componentes das fases oleosa e aquosa separadamente, com auxílio de agitador magnético (500 rpm), foram realizadas no Laboratório de desenvolvimento galênico, Faculdade de Farmácia, UFRGS/RS. Após a fase aquosa foi vertida na fase oleosa e a emulsão resultante foi submetida ao cisalhamento em Ultra Turrax (IKA® 138 -Werke GmbH & Co. KG, Alemanha) a 9500 rpm por 1 min. Após, as nanoemulsões foram obtidas pela passagem da formulação no homogeneizador à alta pressão (EmulsiFlex-C3, Avestin, Canadá), por 6 ciclos consecutivos a 750 bar. Ambas as formulações foram armazenadas sob refrigeração em frascos de vidro âmbar e foram avaliadas em triplicata quanto ao tamanho de partícula médio, índice de polidispersão, potencial zeta.

3.5 Caracterização das nanoemulsões

O tamanho de partícula médio (nm) e o índice de polidispersão foram mensurados em Zetasizer® (Malvern Instruments, modelo Nanoseries ZN90, EUA), pelo método de espalhamento de luz dinâmico, sendo as amostras previamente diluídas em água ultrapura (1:1000, v/v). O potencial zeta (mV) foi determinado por espalhamento de luz eletroforético no mesmo equipamento, após diluição das nanoemulsões a 1:1000 (v/v) em solução de NaCl 1 mM (DIAS *et al.*, 2014).

3.6 Ensaio de citotoxicidade de cultura celular e MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio)

Os experimentos foram realizados em modelo *in vitro*, utilizando fibroblastos de pulmão humano (MRC-5), adquiridos do Banco de Células do Rio de Janeiro. As células foram cultivadas em meio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de solução de antibióticos (penicilina 100 U/mL e 100 µg/mL de estreptomicina). Durante o período experimental, as células foram mantidas em estufa a 37 °C com 5% de CO₂.

Para avaliar a citotoxicidade *in vitro* utilizou-se o método MTT descrito por Mosmann, T. *et al* (1983). e adaptado para placas de 96 poços. Inicialmente, as células foram transferidas para placas de 96 poços a 2×10^5 células/mL (MRC-5) e incubadas por 24 h. No segundo dia do experimento, soluções de cada amostra livre e nanoemulsionada foram preparadas em meio de cultura.

Especialmente para as substâncias livres, dimetilsulfóxido (DMSO) foi utilizado como cosolvente, não excedendo 0,1% v/v de DMSO nos poços. Em seguida, as soluções foram transferidas para as placas e as células foram novamente incubadas por 24 h. Para o controle positivo da citotoxicidade, solução de DMSO a 6% foi aplicada à cepa MRC-5 preparada em meio de cultura.

Após o período de exposição, solução de MTT (5 mg/mL) foi adicionada a todos os poços. Em seguida, as placas foram incubadas por 2,5 h e a absorbância foi verificada em 570 e 630 nm, após solubilização dos cristais de formazan com DMSO.

3.7 Avaliação da atividade antimicrobiana

A análise da atividade antimicrobiana do OE e das nanoemulsões das folhas da *Cúrcuma Longa* L. e seu composto majoritário, α -felandreno, foi realizada de acordo com o método descrito por Gómez-Estaca *et al* (2010), no laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Rio Grande, campus de Santo Antônio da Patrulha/RS, com adaptações, pelo teste disco-difusão. As placas de ágar Mueller-Hinton foram inoculadas com 100 µL das suspensões microbianas ($1-2 \times 10^8$ UFC mL⁻¹; padrão McFarland 0,5) das bactérias *Escherichia coli* O157:H7 e *Staphylococcus aureus*, respectivamente. Então, 20 µL dos diferentes extratos foram adicionados nos discos estéreis de papel filtro, com diâmetro de 5 mm, postos para secagem em estufa

à 30°C por 30 minutos, posteriormente adicionados nas placas inoculadas. As placas foram incubadas invertidas a 37 °C durante 24 h e os resultados foram expressos como halo de inibição (mm).

3.8 Análise estatística

Todos os experimentos foram realizados em triplicata e a ferramenta estatística utilizada foi adaptada ao tipo de análise e variável em cada caso. As médias desses resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e suas médias foram comparadas pelo teste de Tukey com um nível de significância 0,05 utilizando o software GraphPad Prism.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Composição química do óleo essencial das folhas de *C. Longa*

O óleo essencial extraídos das folhas de *C. Longa*, Figura 04, apresentou rendimento de 0,5%, com cor clara e odor característico. A composição química do OE está apresentada na Tabela 3.

Tabela 3 – Composição química do óleo essencial de *C. longa*

nº	Composto	IR	TR (min)	Conc. (%)*
1	β-felandreno	988	4,12	0,26
2	β-pineno	992	4,22	3,75
3	β-mirceno	998	4,37	2,39
4	α-felandreno	1012	4,72	47,4
5	3-careno	1018	4,85	1,04
6	(+)-4-careno	1023	4,97	1,67
7	o-cimeno	1030	5,15	2,13
8	D-limoneno	1034	5,25	3,45
9	Eucaliptol	1037	5,33	9,42
10	cis-β-ocimeno	1050	5,64	0,37
11	γ-Terpineno	1063	5,96	1,74
12	(+)-4-Careno	1095	6,74	25,79

nº	Composto	IR	TR (min)	Conc. (%)*
13	Linalol	1104	6,97	0,59
Total identificado				100,00
Monoterpenos				89,99
Monoterpenos oxigenados				10,01

IR: índice de retenção; TR: tempo de retenção; *Percentual de área relativa. Fonte: próprio autor

Os constituintes majoritários encontrados no óleo essencial de *C. Longa* foram o α -felandreno (47,4%), (+)-4-Careno (25,79%), Eucaliptol (9,42%) e β -pineno (3,75%). Dos constituintes químicos detectados, 89,99% foram monoterpenos e os outros 10,01% monoterpenos oxigenados. Um estudo na Índia identificou 11 componentes do OE da cúrcuma: terpinoleno (52,88%), α -felandreno (21,13%), 1,8-cineol (4,14%), p -cimeno (3,18%), α -terpineno (2,70%), β -mirceno (2,59%), α -pineno (1,51%), γ -terpineno (1,07%), ocimeno (0,65%), β -pineno (0,36%) e α -tujeno (0,08%), estes representaram 90,29% da composição (KUMAR *et al.*, 2018). Outro estudo realizado na Índia encontrou como principais componentes a α -turmerona (42,6%), β -turmerona (14,0%) e ar-turmerona 12,9%), α -felandreno (5,7%) e 1,8-cineol (2,4%), pertencentes às classes de monoterpenos e terpenos que representou 92,6% dos componentes (SINDHU *et al.*, 2023).

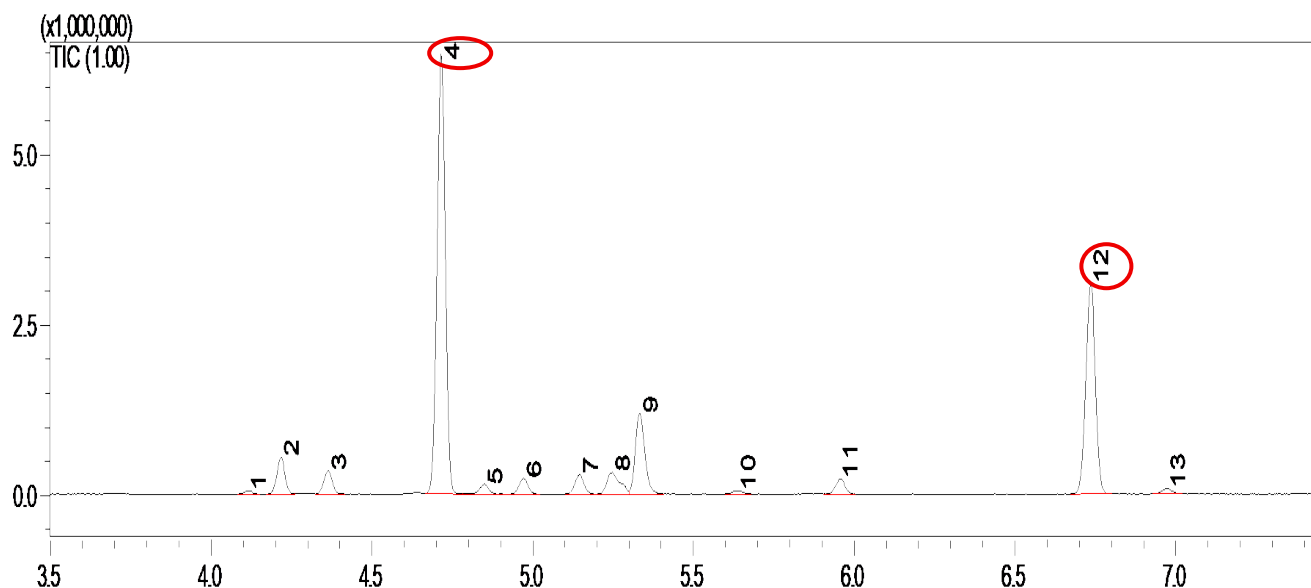
Figura 04: Óleo essencial de *C. Longa* L.



Fonte: próprio autor.

A composição química dos óleos essenciais de *Curcuma longa* L. apresentaram variabilidade entre diferentes estudos, o que pode ser atribuído a diversos fatores, como a origem geográfica, as condições agroclimáticas (clima, solo, altitude, pluviosidade), o tipo de parte vegetal utilizada (folha ou rizoma), o estado de maturação da planta, o método de extração e as condições analíticas empregadas (SILVA *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2017). Enquanto óleos extraídos de rizomas no Brasil apresentaram em média 40% de ar-turmerona e 23% de curlona (TERAMOTO *et al.*, 2020), as amostras de folhas da Nigéria apresentaram ar-turmerona em concentração superior a 60% (ADEWALE *et al.*, 2016). Estudo conduzido na China demonstrou diferenças significativas na composição de óleos essenciais de rizomas oriundos de diversas regiões, destacando variações em compostos como elemenona, turmerona e 1,8-cineol (ZHANG *et al.*, 2017). A variação na composição de óleos essenciais é um fenômeno bem documentado e depende diretamente do "terroir" da planta, tornando cada óleo potencialmente único (SANTOS *et al.*, 2021).

O α -felandreno, pico 4 da Figura 05, é um monoterpene cíclico com atividade antimicrobiana, reconhecido por sua forte ação desestabilizadora sobre as membranas celulares de bactérias e fungos (MOULEDI *et al.*, 2022). Os estudos com o óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius*), rico em α -felandreno, demonstram que a sua nanoemulsão possui uma Concentração Mínima Inibitória (CIM) significativamente inferior contra bactérias como, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* quando comparada ao óleo em sua forma livre (SANTOS *et al.*, 2024). Essa otimização é atribuída ao tamanho nanométrico das partículas, que aumenta a área de superfície e facilita a interação com a membrana celular dos microrganismos (NIZIOŁ-ŁUKASZEWSKA *et al.*, 2021). Segundo a literatura a nanoencapsulação supera barreiras como a baixa solubilidade e volatilidade do α -felandreno, potencializando sua aplicação como um agente antimicrobiano eficaz e promissor para diversas áreas (MOULEDI *et al.*, 2022).

Figura 05 – Cromatograma total de íons do óleo essencial das folhas de *C. longa*

Fonte: próprio autor.

A presença do 4-Careno, pico 12 da Figura 05, um composto com reconhecida e potente atividade antimicrobiana e antifúngica (SHAFIQ-UN-NABI *et al.*, 2017), devido à sua natureza lipofílica, que lhe permite desorganizar a bicamada lipídica das membranas celulares dos microrganismos. Essa ação rompe a integridade celular, aumentando a permeabilidade e causando o vazamento de componentes internos vitais, o que leva à morte do patógeno (HYLDGAARD *et al.*, 2012; SWAMY; AKHTAR; SINNIAH, 2016). Em conjunto com as tumeronas, sugere um perfil de bioatividade particular para este óleo, podendo resultar em um efeito sinérgico e um espectro de ação antimicrobiana ampliado (AVCI *et al.*, 2019). O óleo essencial das folhas de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius*) tem em sua composição 4-Careno e demonstrou uma notável atividade inibitória contra bactérias Gram-positivas, como *Staphylococcus aureus* (COSTA *et al.*, 2018). De forma similar, o óleo essencial extraído das folhas de *Protium heptaphyllum*, uma árvore da Amazônia, revelou a presença de 4-Careno e uma significativa atividade antibacteriana contra cepas de *Bacillus cereus* e *Escherichia coli* (LEMOS *et al.*, 2019). Essas evidências reforçam o papel do (+)-4-Careno como um importante marcador fitoquímico para a prospecção de óleos essenciais extraídos das folhas com potencial para o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos.

4.2 Caracterização das nanoemulsões

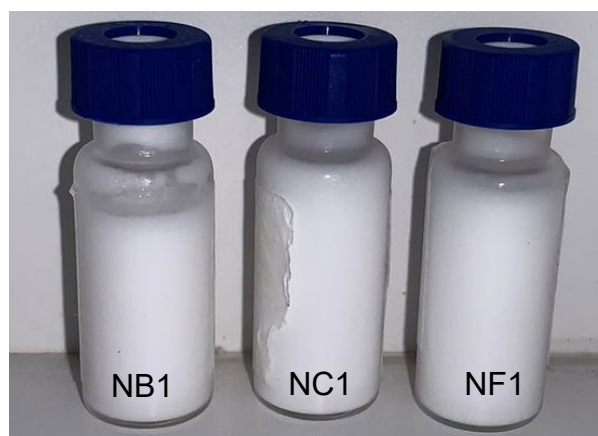
As nanoemulsões do método com emulsificantes sintéticos (método 01), apresentadas na Tabela 04 e ilustradas na Figura 06, obtiveram características consistentes com sistemas nanométricos monodispersos, evidenciadas por tamanho de gotícula < 400 nm e por valores de Índice de Polidispersão (PDI) inferiores a 0,30 (SINGH *et al.*, 2017). Os valores de PDI indicam elevada uniformidade na distribuição das partículas, característica fundamental para estabilidade físico-química em sistemas coloidais (TAMBA *et al.*, 2019). Além disso, o potencial zeta observado, por estar significativamente abaixo de -30 mV, sugere uma repulsão eletrostática eficiente entre as partículas, o que contribui para a prevenção da agregação e consequente estabilidade da emulsão (FERREIRA *et al.*, 2020).

Tabela 04: Caracterização das nanoemulsões pelo método com emulsificantes sintéticos (método 01)

Parâmetro	NB1	NC1	NF1
Tamanho de gotícula (nm)	257,9 $\pm$ 2,8 ^a	176 $\pm$ 1,71 ^b	199,6 $\pm$ 1,97 ^c
Índice de polidispersão	0,114 $\pm$ 0,02 ^a	0,161 $\pm$ 0,03 ^b	0,119 $\pm$ 0,05 ^c
Potencial zeta (mV)	-52,5 $\pm$ 0,38 ^a	-45 $\pm$ 0,76 ^b	-36,1 $\pm$ 0,93 ^b

Legenda: NB1: Nanoemulsão branca; NC1: Nanoemulsão de OE de *C. longa*; NF1: Nanoemulsão de Felandreno. Letras minúsculas iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa entre si ($p > 0,05$).

Figura 06: Nanoemulsão método com emulsificantes sintéticos (método 01)



Legenda: NB1: Nanoemulsão branca; NC1: Nanoemulsão de OE de *C. longa*; NF1: Nanoemulsão de Felandreno. Fonte: próprio autor.

Apesar de ter sido utilizada a metodologia de Hashemi *et al.* (2020), que utiliza lecitina como emulsificante natural, os resultados obtidos no método com emulsificantes naturais (método 02), tabela 05, mostraram que, embora o diâmetro médio das partículas das nanoemulsões tenha permanecido inferior a 200 nm — faixa ideal para estabilidade físico-química —, os valores de PDI se mantiveram elevados ($> 0,3$), indicando uma distribuição de tamanho heterogênea (BAGHERI *et al.* 2024).

Tabela 05: Caracterização das nanoemulsões pelo método com emulsificantes naturais (método 02)

Parâmetro	NB2	NC2	NF2
Tamanho de gotícula (nm)	$141,3 \pm 2,12^a$	$187,8 \pm 44,61^a$	$115,3 \pm 3,27^a$
Índice de polidispersão	$0,366 \pm 0,0^b$	$0,608 \pm 0,12^b$	$0,454 \pm 0,04^b$
Potencial zeta (mV)	$-28,4 \pm 2,67^b$	$-39,6 \pm 1,11^c$	$-32,7 \pm 0,85^c$

Legenda: NB2: Nanoemulsão branca; NC2: Nanoemulsão de OE de *C. longa*; NF2: Nanoemulsão de Felandreno. Letras minúsculas iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa ($p > 0,05$).

Segundo Schuh; Bruxel; Teixeira, (2014) valores de PDI superiores a 0,3 sugerem emulsões com baixa uniformidade, o que pode afetar a estabilidade coloidal e favorecer a formação de agregados (SCHUH; BRUXEL; TEIXEIRA, 2014). A utilização de nanoemulsões como conservantes em alimentos depende criticamente da sua estabilidade física, a qual é diretamente indicada pelo PDI. Tal heterogeneidade é a causa principal de mecanismos de desestabilização que comprometem a vida útil do produto, a eficácia do conservante e as características sensoriais do alimento, tornando o controle do PDI um fator essencial para o sucesso tecnológico (MOHAMMADZADEH *et al.*, 2020). A desestabilização resulta em uma liberação não controlada do composto ativo, comprometendo a proteção do alimento ao longo do tempo e tornando a ação conservante inconsistente e pouco confiável (SALVIA-TRUJILLO; MCCLEMENTS, 2016). A incorporação de uma nanoemulsão instável impacta negativamente as propriedades sensoriais e a aceitação do produto pelo consumidor. A formação de agregados pode gerar uma textura granulosa indesejável e a separação de fases afeta a viscosidade e a sensação na boca (KATOUZIAN; JAFARI, 2016; MOHAMMADZADEH *et al.*, 2020).

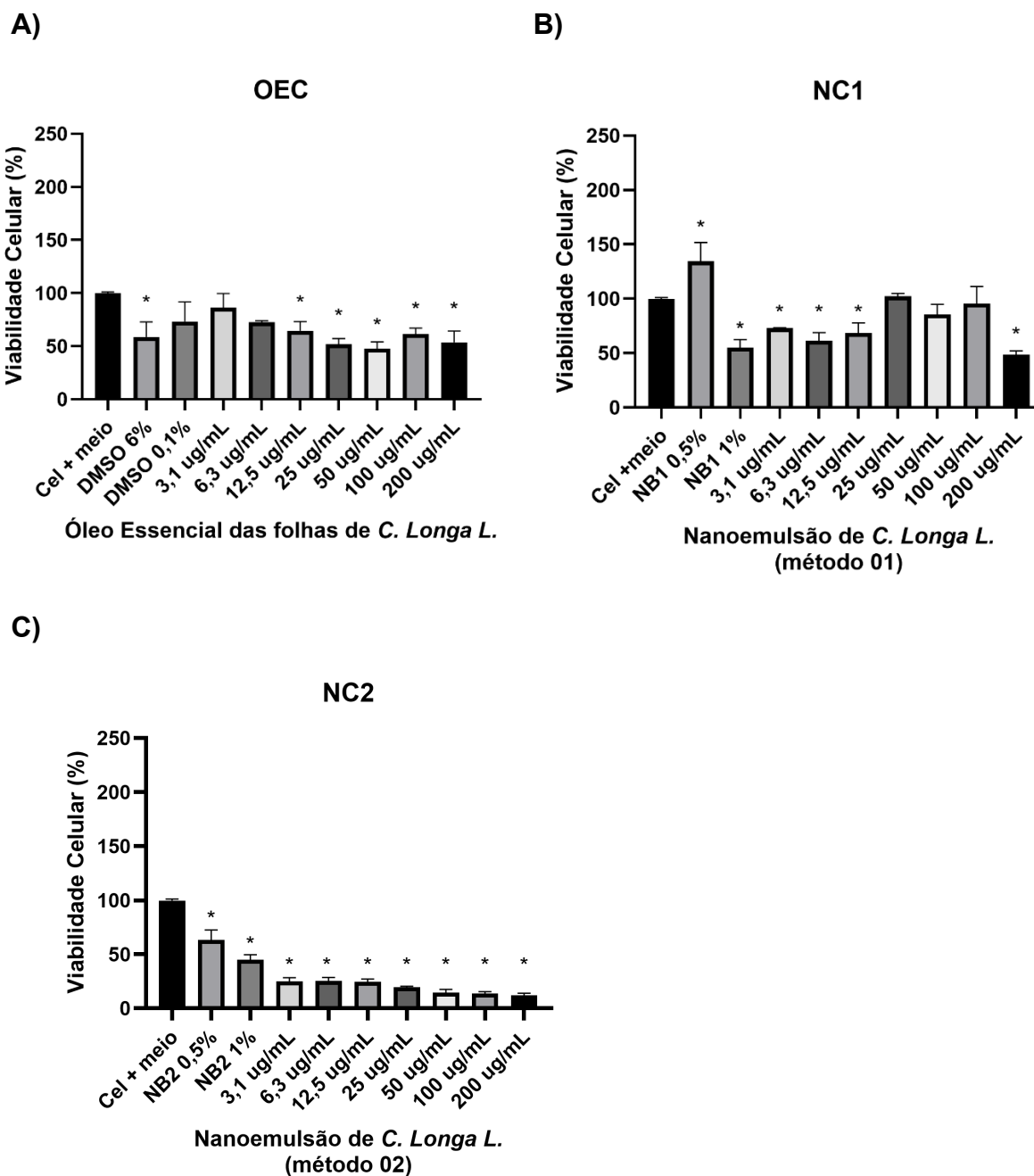
Ainda que o potencial zeta das amostras tenha apresentado valores negativos entre -28 mV e -39 mV, o que caracteriza estabilidade eletrostática moderada a alta (BAGHERI, A. M. *et al.* 2024), tal repulsão pode não ter sido suficiente para impedir completamente interações entre partículas de tamanhos distintos. ZHAO *et al.* (2023) destacam que nanoemulsões com lecitina podem apresentar variações significativas no PDI dependendo das condições de emulsificação, mesmo na presença de potencial zeta elevado.

4.3 Avaliação da Citotoxicidade dos Compostos Livres e Nanoemulsionados

4.3.1 Avaliação da Citotoxicidade do Óleo Essencial de *C. Longa* e suas nanoemulsões

A prospecção de novos conservantes naturais para alimentos exige uma avaliação criteriosa de segurança, sendo os ensaios de citotoxicidade *in vitro* uma ferramenta primária para estimar a biocompatibilidade de aditivos para consumo oral. Os resultados demonstraram que o óleo em sua forma livre (OEL), Figura 07 A, apresentou citotoxicidade moderada, o que poderia limitar sua aplicação direta em matrizes alimentícias devido a possíveis riscos à saúde do consumidor. A nanoemulsão surge, então, como uma estratégia para aumentar a eficácia antimicrobiana e, idealmente, reduzir a toxicidade (DAVID *et al.*, 2021).

Figura 07: Citotoxicidade do Óleo Essencial de *Cúrcuma Longa L.* e nanoemulsões.



Análise estatística: Os dados foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA) unidirecional seguida pelo teste de Tukey * $p < 0,05$.

A formulação NC1, desenvolvida pelo método com emulsificantes sintéticos (método 01), Figura 07 B, apresentou um perfil de dose-resposta não-linear em formato de "U". Enquanto concentrações mais baixas (3,1-12,5 $\mu\text{g/mL}$) e altas (200 $\mu\text{g/mL}$) demonstraram citotoxicidade estatisticamente significativa, uma "janela de

segurança" na faixa de 25 a 100 µg/mL, não apresentou toxicidade, mantendo a viabilidade celular em níveis semelhantes ao controle (MEHMOOD *et al.*, 2023).

Este fenômeno, embora contraintuitivo, é documentado na nanotoxicologia e pode ser explicado pelo "Efeito Cavalo de Troia" combinado com a saturação da captação celular. Em doses baixas, a alta eficiência de internalização das nanopartículas leva a uma elevada concentração intracelular do óleo, resultando em toxicidade. Contudo, em doses intermediárias, os mecanismos de endocitose celular podem se tornar saturados, limitando a entrada do agente tóxico e, paradoxalmente, aumentando a sobrevivência celular (FADEEL *et al.*, 2018; WITASPUA *et al.*, 2022).

O perfil de citotoxicidade não-linear em formato de "U" observado para a formulação NC1 representa uma interação biológica mais complexa, quando comparado ao efeito de potenciação direta da toxicidade, frequentemente reportado na literatura para nanoemulsões de óleos essenciais. Suthanthangjai *et al.* (2019) em seu estudo com uma nanoemulsão de óleo de *Curcuma zedoaria*, teve como resultados de citotoxicidade contra células A549, a dose-dependente, ou seja, aumentou progressivamente com a concentração. A nanoemulsão apresentou um valor de IC₅₀ (26,3 µg/mL) significativamente menor que o do óleo livre (43,8 µg/mL), indicando uma maior potência em toda a faixa de concentração, sem evidenciar qualquer recuperação da viabilidade celular em doses intermediárias.

O estudo de Souza (2023) testou uma nanoemulsão similar de folhas de *C. longa*, encontrada baixa citotoxicidade em células MRC-5, com viabilidade celular mantida acima de 70% mesmo na maior concentração testada de 200 µg/mL, em comparação com o óleo essencial livre que reduziu a viabilidade para aproximadamente 40%. Gortzi *et al.* (2017) reportaram um efeito hormético para uma nanoemulsão de óleo de tomilho em fibroblastos V79. Em seu estudo, concentrações intermediárias de 1 a 25 µL/mL não apenas foram seguras, como estimularam a proliferação celular, enquanto a toxicidade só se tornou aparente em concentrações superiores a 50 µL/mL, ao contrário do OE livre que em todas as concentrações testadas foi tóxico. Na menor dose (1 µL/mL), a viabilidade celular do OE caiu para aproximadamente 50%, e em doses maiores, a toxicidade foi ainda mais severa, chegando a quase 0% de viabilidade.

A retomada da citotoxicidade em 200 µg/mL, na NC1, por sua vez, pode ser atribuída tanto à instabilidade da formulação em altas concentrações quanto à

toxicidade intrínseca dos próprios componentes do veículo, como os surfactantes (MCCLEMENTS, 2018).

Este comportamento sugere que, nestas concentrações intermediárias, a nanoemulsão é capaz de entregar o ativo de forma controlada, sem sobrecarregar os mecanismos celulares, o que é um indicativo promissor de segurança para o consumidor (MEHMOOD *et al.*, 2023). A existência dessa janela segura é fundamental, pois permite o uso da nanoemulsão em uma concentração potencialmente eficaz como antimicrobiano, mas que ao mesmo tempo apresenta baixo risco toxicológico. Este balanço é o principal desafio no desenvolvimento de novos conservantes, e achados de citotoxicidade não-linear, embora complexos, têm sido reportados na avaliação de segurança de outros nanossistemas para aplicação alimentar (LU *et al.*, 2020).

Em contrapartida, a formulação NC2, Figura 07 C, método com emulsificantes naturais (método 02), demonstrou ser severamente citotóxica em todas as concentrações testadas. A análise do veículo da formulação (NB2), isento do óleo essencial, revelou que os próprios componentes do sistema de entrega foram responsáveis por uma drástica redução da viabilidade celular. A escolha da lecitina foi, a princípio, estratégica para aplicações alimentares, por ser um emulsificante natural com status GRAS e apelo de "rótulo limpo" (DAVID *et al.*, 2021).

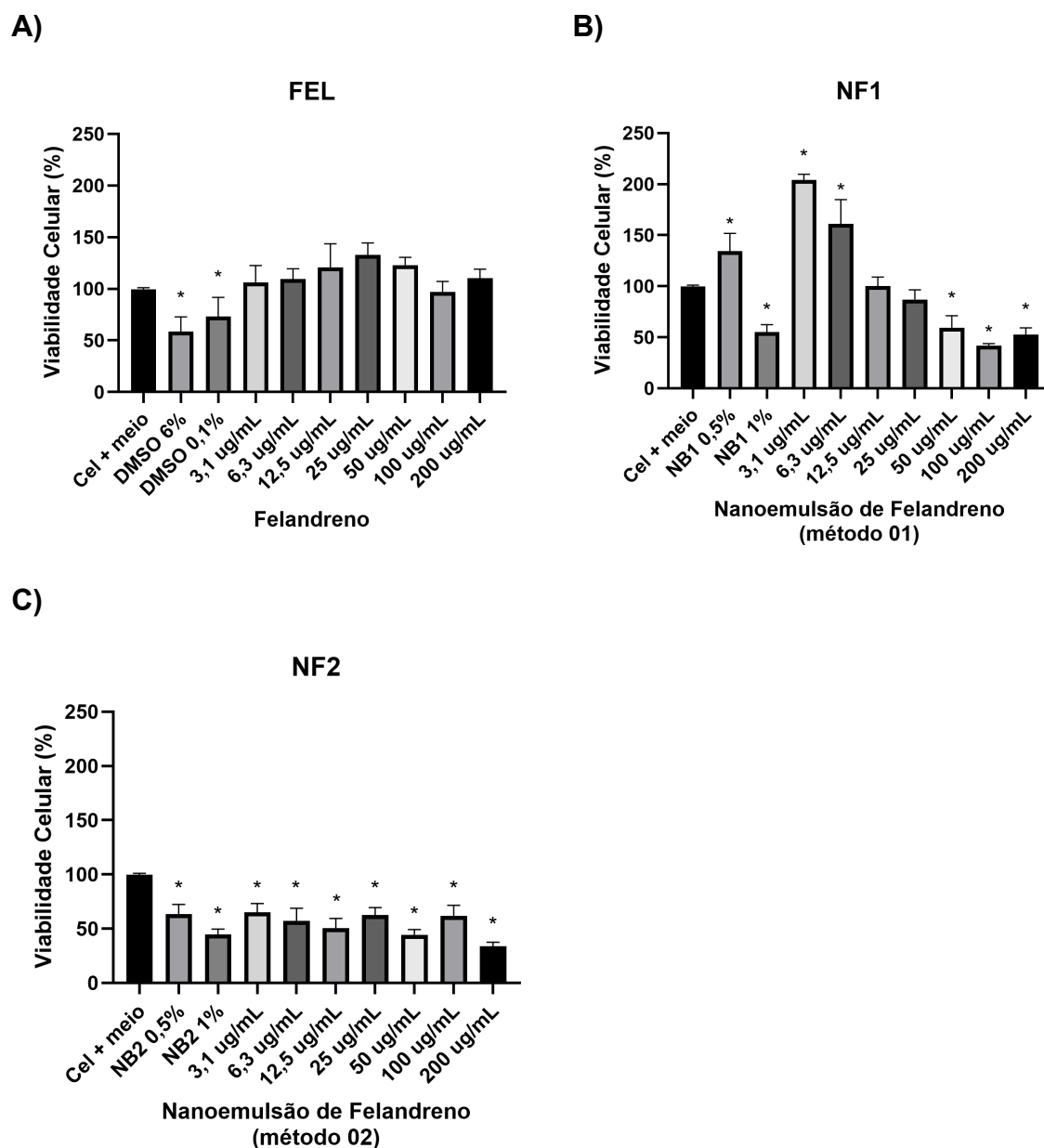
A lecitina, apesar de ser um fosfolípido anfifílico reconhecido como seguro (GRAS), pode induzir citotoxicidade de maneira dependente da concentração, pureza e da formulação em que está inserida. Em concentrações elevadas ou pela presença de impurezas, como a liolecitina (um potente solubilizador de membrana), a lecitina pode agir como um detergente, desestabilizando e permeabilizando a bicamada lipídica das membranas celulares, o que resulta em lise celular (CHEN *et al.*, 2019). Estudos demonstram que a interação sinérgica entre lecitina e outros surfactantes pode potencializar a perturbação da membrana, explicando a alta toxicidade observada no sistema NC2 e comprometendo sua função como um carreador seguro (LIU *et al.*, 2017).

4.3.2 Avaliação da Citotoxicidade do Felandreno e suas Nanoemulsões

A análise do felandreno em sua forma livre (FEL), Figura 08 B, revelou uma citotoxicidade dose-dependente, um perfil comum para compostos bioativos de óleos

essenciais. Em concentrações mais baixas, até 50 µg/mL, o felandreno demonstrou um perfil de segurança favorável, mantendo a viabilidade celular acima de 90%.

Figura 08: Citotoxicidade do Felandreno e suas Nanoemulsões



Análise estatística: Os dados foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA) unidirecional seguida pelo teste de Tukey * $p < 0,05$.

Este resultado sugere a existência de uma janela de concentração na qual o composto poderia ser aplicado com segurança. Estudos semelhantes foram reportados para outros monoterpenos, como o limoneno, que também apresenta

toxicidade seletiva em concentrações mais elevadas, mas é considerado seguro (GRAS) para consumo humano em níveis controlados (AMORIM *et al.*, 2016).

Em um estudo conduzido por Lin *et al.* (2021), o α -felandreno puro foi avaliado contra linhagens de carcinoma de pulmão de não pequenas células (A549 e H1975) através do ensaio de MTT. Os autores encontraram valores de IC₅₀ de 269 $\mu\text{g/mL}$ e 314 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, demonstrando que a faixa de concentração na qual o composto se torna significativamente tóxico é similar à observada neste trabalho. De forma análoga, Sobral *et al.* (2018) investigaram a atividade do α -felandreno em células de melanoma murino (B16-F10) e, por meio do ensaio do AlamarBlue, determinaram um valor de IC₅₀ de 168,7 $\mu\text{g/mL}$, com uma concentração de 200 $\mu\text{g/mL}$ sendo suficiente para reduzir a viabilidade celular a menos de 40%.

Contrariamente ao esperado, a nanoemulsão do felandreno aumentou sua citotoxicidade. A formulação NF1, Figura 08 B - método com emulsificantes sintéticos (método 01), se mostrou mais tóxica que o FEL, e a NF2 (Figura 08 C) - método com emulsificantes naturais (método 02), exibiu uma toxicidade acentuadamente superior. Este aumento da bioatividade é um resultado direto da própria natureza das nanoemulsões. Ao reduzir o tamanho das partículas a uma escala isométrica e aumentar a área de superfície, a dispersão do composto lipofílico no meio aquoso é otimizada, o que eleva sua biodisponibilidade e facilita a interação com as membranas celulares (SUGUMAR *et al.*, 2016).

O papel da lecitina na formulação NF2 foi determinante para a exacerbação da citotoxicidade. A lecitina, por ser um fosfolípido anfifílico, é estruturalmente similar aos componentes da membrana plasmática das células de mamíferos. Essa semelhança pode ter facilitado a fusão das nanopartículas com as células ou promovido sua internalização via endocitose, entregando o felandreno diretamente no interior celular (MOLET-CASSAID *et al.*, 2020). Esse mecanismo explica por que a NF2 foi a formulação mais tóxica para as células testadas, tornando-a inviável para aplicação direta em alimentos sob a perspectiva da segurança. O estudo de Donsì *et al.* (2015) corrobora essa observação, demonstrando que nanoemulsões à base de surfactantes biocompatíveis, como a lecitina, são sistemas de entrega altamente eficazes, potencializando tanto os efeitos desejados (antimicrobianos) quanto os indesejados (citotoxicidade).

A aparente contradição onde a nanoemulsão NF1 demonstrou menor citotoxicidade que o felandreno livre (FEL) em concentrações baixas (3,1 e 6,3 $\mu\text{g/mL}$)

pode ser elucidada pela análise do sistema dual "veículo-ativo". A baixa toxicidade observada para o FEL não significa que o composto seja inócuo, mas sim que sua baixa solubilidade em meio aquoso e ineficiência em transpor a membrana celular lipídica limitam severamente sua biodisponibilidade e, por conseguinte, sua ação biológica (SANTOS *et al.*, 2022). Em concentrações extremamente baixas da nanoemulsão, a quantidade do ativo (felandreno) nanoemulsionado é mínima. Nestas condições, o efeito biológico predominante é o da interação das células com o próprio nanoveículo.

Materiais biocompatíveis frequentemente utilizados em nanoemulsões, como lipídios e certos surfactantes, podem ser inertes ou até mesmo metabolizados pelas células, não apresentando toxicidade e podendo mascarar o efeito da pequena carga de ativo (CHEN; LIU, 2020). Contudo, à medida que a concentração aumenta, a eficiência superior do nanossistema em atravessar as barreiras biológicas e entregar o composto ativo no interior da célula torna-se o fator dominante. Este mecanismo de entrega facilitada, eleva a concentração intracelular do felandreno a um nível crítico, manifestando seu real potencial citotóxico e resultando na queda da viabilidade celular (GARCIA-MESA; LOPES; ZAMBRANO, 2021).

A nanoemulsão branca (NB1) apresentou viabilidade celular estatisticamente inferior ao controle (células+meio). Isto pode ser por A) a biocompatibilidade de um nanocarreador não implica em uma bioinércia absoluta; a simples interação física de bilhões de partículas com as membranas celulares pode induzir um nível de estresse subclínico, refletido como uma discreta redução na atividade metabólica (GNATOV; REBANE, 2021); B) é amplamente documentado na nanotoxicologia que as próprias nanopartículas podem interferir com os ensaios colorimétricos de viabilidade, como o MTT, por meio da adsorção de reagentes ou do produto final, levando a resultados falsamente diminuídos (KROLL *et al.*, 2017).

O aumento da citotoxicidade observado para as formulações nanoemulsionadas (NF1 e NF2) em comparação com o felandreno livre (FEL) é um fenômeno consistente com os avanços recentes na área de sistemas de entrega. A literatura demonstra que a nanoemulsão de compostos lipofílicos, como os terpenos, potencializa sua atividade biológica ao aumentar sua dispersibilidade em meio aquoso e facilitar sua internalização celular. Al-Rubaiery *et al.* (2024), ao avaliarem um óleo essencial rico em terpenos em células de câncer de mama (MDA-MB-231-TR), observaram uma redução no valor de IC₅₀ de 22,5 µg/mL para o óleo livre para

apenas 13,2 µg/mL para sua forma nanoemulsionada. De maneira similar, Gjini *et al.* (2025) confirmaram que nanoemulsões de óleos de tomilho e orégano possuíam uma citotoxicidade acentuadamente maior contra múltiplas linhagens de células tumorais (MCF-7, DU-145 e HT-29) do que os óleos em sua forma livre.

4.4 Atividade antimicrobiana

A avaliação da atividade antimicrobiana, cujos resultados estão expressos na Tabela 06, revelou que o Óleo Essencial de Cúrcuma (OEL) e seu composto majoritário, o felandreno (FEL), em suas formas livres, apresentaram capacidade inibitória contra os patógenos testados. Verificou-se uma ação significativamente superior de ambos os compostos livres contra *Staphylococcus aureus* em comparação com *Escherichia coli* O157:H7. O OEL exibiu um halo de inibição de 21 mm para *S. aureus* e 8 mm para *E. coli*, enquanto o FEL apresentou halos de 20 e 10 mm, respectivamente. Este padrão de maior suscetibilidade de bactérias Gram-positivas, como *S. aureus*, frente às Gram-negativas, como *E. coli*, é frequentemente reportado na literatura e atribuído à ausência da complexa membrana externa rica em lipopolissacarídeos (LPS), que atua como uma barreira de difusão em bactérias Gram-negativas, dificultando a penetração de compostos hidrofóbicos como os presentes em óleos essenciais (CHOUHAN; SHARMA; GULERIA, 2017).

A potência dos compostos livres testados é corroborada ao comparar seus resultados com os de outros óleos de conhecida capacidade antimicrobiana; por exemplo, o óleo de canela demonstrou um halo de 20,8 mm contra *S. aureus* em um estudo que utilizou metodologia similar de disco-difusão (PRABUSEENIVASAN; JAYAKUMAR; IGNACIMUTHU, 2006), valor semelhante dos halos obtidos para OEL (21 mm) e FEL (20 mm) neste trabalho.

Tabela 06 - Atividade antibacteriana das diferentes nanoemulsões

Microrganismo	<i>Escherichia coli</i> O157: H7*	<i>Staphylococcus aureus</i> *
NC1	6 ± 0,5 ^{bA}	7 ± 0,58 ^{bA}
NC2	7 ± 0,0 ^{bA}	6 ± 0,58 ^{bA}
NF1	5 ± 2,3 ^{bA}	7 ± 0,58 ^{bA}

Microrganismo	<i>Escherichia coli</i> O157: H7*	<i>Staphylococcus aureus</i> *
NF2	7 ± 0,0 ^{bB}	5 ± 0,58 ^{bA}
OEL	8 ± 0,6 ^{aA}	21 ± 2,08 ^{aB}
FEL	10 ± 2,1 ^{aA}	20 ± 2,89 ^{aB}

*Halo de inibição - utilizando os valores corrigidos de inibição NC1: nanoemulsão de cúrcuma (método 1), NC2: nanoemulsão de cúrcuma (método 2); NF1: nanoemulsão de felandreno (método 1); NF2: nanoemulsão de felandreno (método 2); OEL: óleo essencial de cúrcuma; FEL: felandreno. Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p > 0,05$) entre as nanoemulsões para o mesmo micro-organismo. Letras maiúsculas iguais na mesma linha indicam que não há diferença significativa ($p > 0,05$) entre os micro-organismos para a mesma nanoemulsão testada.

Contrastando com a alta atividade dos compostos livres, a atividade antimicrobiana foi significativamente inferior de todas as formulações nanoemulsionadas (NC1, NC2, NF1 e NF2) contra ambos os microrganismos. Os halos de inibição para as nanoemulsões variaram entre 5 e 7 mm, sem diferença estatística entre elas ou entre os patógenos testados para uma mesma formulação.

Este resultado, contudo, não deve ser interpretado como uma ineficácia do processo de nanoemulsificação, mas sim como uma consequência da metodologia de avaliação empregada. O ensaio de disco-difusão, embora útil para uma triagem inicial, pode ser inadequado para sistemas de nanocarreadores devido à mobilidade restrita das nanopartículas na matriz de ágar, o que subestima seu verdadeiro potencial antimicrobiano (CHOUHAN; SHARMA; GULERIA, 2017). Para superar essa limitação, a metodologia mais precisa é a de microdiluição em caldo, que garante o contato direto entre as nanoemulsões e os micro-organismos em um ambiente líquido (BALOUIRI; SADIKI; IBNSOUDA, 2016).

Um estudo de Moghimi, Aliahmadi e Rafati (2016), avaliaram a nanoemulsão do óleo essencial de *Zataria multiflora*. Em seus testes, a nanoemulsão apresentou halos de inibição entre 7 e 11 mm, o que poderia sugerir uma atividade apenas moderada. No entanto, ao ser testada pela metodologia de microdiluição em caldo, a mesma nanoemulsão revelou uma potente atividade, exibindo valores de Concentração Mínima Inibitória (CIM) notavelmente baixos, como 0,1 µL/mL contra *Staphylococcus aureus*. Salari *et al.* (2021), ao desenvolverem uma nanoemulsão com o óleo essencial de *Oliveria decumbens*, observaram um resultado pelo método de difusão de um halo de 15,3 mm contra *E. coli*, com o óleo livre, enquanto sua nanoemulsão produziu um halo consideravelmente menor, de apenas 10,1 mm. Contudo, os testes de CIM provaram o exato oposto da eficácia: a CIM do óleo livre

foi de 2000 µg/mL, enquanto a CIM da nanoemulsão foi de apenas 500 µg/mL, indicando um valor cerca de quatro vezes maior que o método de disco-difusão demonstrou.

5. CONCLUSÃO

A pesquisa demonstrou formulação de nanoemulsões estáveis e monodispersas (Método 01), com o alfa-felandreno como composto majoritário do óleo. Um dos avanços significativos do trabalho foi a verificação de que a nanoemulsão (NC1) reduziu a citotoxicidade do óleo essencial, criando uma "janela de segurança" (25-100 µg/mL) que o torna mais viável para futuras aplicações quando comparado à sua forma livre, que apresentou toxicidade moderada. Embora os testes de atividade antimicrobiana pelo método de disco-difusão tenham apresentado resultados superiores para o óleo livre, conclui-se que este fato não invalida o potencial da nanoemulsão. Pelo contrário, evidencia uma limitação da metodologia empregada, que restringe a mobilidade das nanopartículas no ágar e, consequentemente, subestima sua real capacidade de inibição.

Portanto, a avaliação cumpriu seu propósito ao caracterizar o sistema, confirmar a redução de toxicidade e identificar a necessidade de metodologias mais adequadas, como a microdiluição em caldo, para quantificar fidedignamente o potencial antimicrobiano da nanoemulsão desenvolvida. O trabalho estabelece uma base que justifica a continuidade da pesquisa, focando em ensaios que permitam o contato direto entre a nanoemulsão e os micro-organismos em meio líquido.

REFERÊNCIAS

ABDERRAHMANE AMEUR *et al.* *Application of oil-in-water nanoemulsions based on grape and cinnamon essential oils for shelf-life extension of chilled flathead mullet fillets.* *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 102, n. 1, p. 105–112, 15 jan. 2022.

ADAMS RP (2017): *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy.*

ADEWALE *et al.* *Chemical composition and antimicrobial activities of essential oil of Curcuma longa leaves from Nigeria.* *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v. 6, n. 8, p. 689–693, 2016.

ALBAQAMI, J. J. *et al.* *Chemical Composition and Biological Activities of the Leaf Essential Oils of Curcuma longa, Curcuma aromatica and Curcuma angustifolia.* *Antibiotics*, v. 11, n. 11, p. 1547, 1 nov. 2022.

AMORIM, J. L. *et al.* *Application of essential oils in tomatoes: a review.* *Trends in Food Science & Technology*, v. 56, p. 1-11, 2016.

APISARIYAKUL, A.; VANITTANAKOM, N.; BUDDHASUKH, D. *Antifungal activity of turmeric oil extracted from Curcuma longa (Zingiberaceae).* *J. Ethnopharmacol.* 1995, 49, 163–169.

ARAÚJO, C.; LEON, L. *Biological activities of Curcuma longa L.* *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 96, n. 5, p. 723–728, jul. 2001.

AVANÇO, G.B. *et al.* *Curcuma longa L. essential oil composition, antioxidant effect, and effect on Fusarium verticillioides and fumonisin production.* *Food Control* 2017, 73, 806–813.

AVCI, H. *et al.* *Preparation and characterization of turmeric oil nanoemulsion and its antibacterial activity against foodborne pathogens.* *Journal of Food Measurement and Characterization*, [S. l.], v. 13, p. 2998–3006, 2019.

BAGHERI, A. M. *et al.* *Curcumin nanoemulgel: Characterization, optimization, and evaluation of photoprotective efficacy, anti-inflammatory properties, and antibacterial activity.* *Journal of Cluster Science*, v. 35, n. 7, p. 2253-2272, 2024.

BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S. K. *Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review.* *Journal of Pharmaceutical Analysis*, v. 6, n. 2, p. 71-79, abr. 2016.

BEHURA, C. *et al.* Antifungal activity of essential oil of *Curcuma longa* against five rice pathogens *in vitro*. *J. Essent. Oil Bear. Plants* 2000, 3, 79–84.

BELASLI, A. *et al.* Antifungal, antitoxigenic, and antioxidant activities of the essential oil from laurel (*Laurus nobilis* L.): Potential use as wheat preservative. *Food Science & Nutrition*, v. 8, n. 9, p. 4717–4729, 23 jul. 2020.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. *Química Nova*, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

BRAGA, M. C.; VIEIRA, E. C. S.; DE OLIVEIRA, T. F. *Curcuma longa* L. leaves: Characterization (bioactive and antinutritional compounds) for use in human food in Brazil. *Food Chemistry*, v. 265, p. 308–315, nov. 2018.

Brasil (2010): Farmacopeia Brasileira

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 778, de 28 de março de 2023. Dispõe sobre os princípios gerais, as funções tecnológicas e as condições de uso de aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia em alimentos. *Diário Oficial da União*: seção 1, Brasília, DF, 29 mar. 2023.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n.º 45, de 3 de novembro de 2010. Dispõe sobre o uso de aditivos alimentares autorizados para uso em alimentos. *Diário Oficial da União*: seção 1, Brasília, DF, 2010.

BURT, S. *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review*. *International Journal of Food Microbiology*, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

CARVALHO, I. T.; ESTEVINHO, B. N.; SANTOS, L. *Application of microencapsulated essential oils in cosmetic and personal healthcare products - a review*. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 38, n. 2, p. 109–119, 25 maio 2015.

CHEN, B. *et al.* The interplay between nano-delivery systems and cell membrane: A systematic review. *Journal of Controlled Release*, v. 305, p. 18-32, 2019

CHEN, Y.; LIU, W. *Biocompatible nanocarriers for drug delivery: a review of recent advances*. *Journal of Materials Chemistry B*, v. 8, n. 40, p. 9145-9165, 2020.

CHOUHAN, S.; SHARMA, K.; GULERIA, S. *Antimicrobial activity of some essential oils—a review*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, v. 7, n. 7, p. 613-622, jul. 2017.

CHUACHAROEN, T.; SABLIOV, C. M. *Comparative effects of curcumin when delivered in a nanoemulsion or nanoparticle form for food applications: Study on stability and lipid oxidation inhibition*. LWT, v. 113, p. 108319, out. 2019.

Clean Label Project. (2020). "Clean Label Project Purity Award™". Disponível em: <https://cleanlabelproject.org/>

COSTA, E. A. *et al.* *Chemical composition and evaluation of antimicrobial and cytotoxic activity of the essential oil of Schinus terebinthifolius Raddi (Anacardiaceae) leaves*. Revista Virtual de Química, [S. l.], v. 10, n. 4, p. 1031-1043, 2018.

COSTA, R. H.; FIGUEIREDO, P. S.; MARTINS, C. A. *Formulação e estabilidade de nanoemulsões contendo óleos essenciais: desafios tecnológicos*. Revista Brasileira de Inovação Tecnológica, v. 10, n. 1, p. 120-135, 2024.

DAVID, D. *et al.* *Nanotechnology in food preservation: advances and challenges*. Journal of Food Science and Technology, v. 58, n. 10, p. 3757–3770, 2021.

de BARROS, J. R. *et al.* *Conservação de alimentos pelo uso de aditivos: uma revisão*. Bol. Centro Pesq. Process. Alimentos, Curitiba, v. 37, n. 2, e55962, nov. 2021.

DIAS, D. de O. *et al.* *Optimization of Copaiba oil-based nanoemulsions obtained by different preparation methods*. Industrial Crops and Products, [s. l.], v. 59, p. 154–162, 2014.

DONSÌ, F. *et al.* *The effect of lecithin on the stability and antimicrobial activity of nanoemulsified limonene*. Journal of Food Engineering, v. 148, p. 69-77, 2015

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

ELAMIN, M. *et al.* *“Anti-proliferative and apoptosis induction activities of curcumin on Leishmania major.”* Revista Argentina de microbiologia vol. 53,3 (2021): 240-247.

FADEEL, B. *et al.* *The Bumpy Road to Safe Design of Nanomaterials: Mechanisms of Nano-Bio-Interactions*. Advanced Materials, v. 30, n. 19, p. 1706018, 2018.

FAGODIA, S.K. *et al.* *Phytotoxicity and cytotoxicity of Citrus aurantiifolia essential oil and its major constituents: Limonene and citral*. Ind. Crops Prod. 2017, 108, 708–715.

[FAO. \(2021\). "FAOSTAT Statistical Database".](#)

FERREIRA, M. I. C. *et al.* Influence of zeta potential on the physicochemical stability of nanoemulsions for food applications. *Food Research International*, v. 131, p. 108993, 2020.

GARCIA-MESA, J. A.; LOPES, R.; ZAMBRANO, G. R. Trojan horse-like nanocarriers in drug delivery: mechanisms and applications. *Pharmaceutics*, v. 13, n. 7, p. 994, 2021.

GHADERI, L. *et al.* Development of antimicrobial nanoemulsion-based delivery systems against selected pathogenic bacteria using a thymol-rich *Thymus daenensis* essential oil. *Journal of Applied Microbiology*, v. 123, n. 4, p. 832–840, 11 set. 2017.

GNATOV, I.; REBANE, A. Nanoparticle-cell interactions: physical and chemical stress responses. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v. 21, n. 5, p. 2891-2905, 2021.

GOLOLOBO, P. A. *et al.* Tecnologias limpas para a extração de óleos essenciais. *Revista da Propriedade Intelectual*, v. 1, p. 74-89, 2020.

GÓMEZ-ESTACA, J. *et al.* Biodegradable gelatin-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food Microbiology*, v. 27, n. 7, p. 889–896, outubro 2010.

GORTZI, O. *et al.* A novel strategy for the encapsulation of thyme essential oil in a biocompatible nanoemulsion: evaluation of its biological activity. *RSC Advances*, v. 7, n. 45, p. 27953-27961, 2017.

GOVINDAKARN, C. *et al.* Turmeric Leaf Essential Oil Extraction From Agricultural Wastes and its Potential Application in Active Packaging of Food Items. *Waste and Biomass Valorization*, 2023.

Grand View Research. (2021). "Curcuma longa Market Size, Share & Trends Analysis Report By Product (Powder, Oil), By Application (Food & Beverages, Pharmaceuticals, Cosmetics), By Region, And Segment Forecasts, 2021 - 2028". Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/turmeric-extract-curcumin-market>

HASHEMI, S. M. B. *et al.* Chitosan-loaded nanoemulsion containing *Zataria Multiflora* Boiss and *Bunium persicum* Boiss essential oils as edible coatings: Its impact on microbial quality of turkey meat and fate of inoculated pathogens. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 150, p. 904–913, 2020.

HENOSTROZA, M. A. B. Nanoemulsão catiônica contendo rifampicina para o tratamento da tuberculose ocular: preparação e caracterização físico-química e

microbiológica. 2018. Dissertação (Mestrado em Fármaco e Medicamentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

HYLDGAARD, M., *et al.* *Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components*. *Frontiers in Microbiology*, v. 3, p. 12, 2012.

JYOTIRMAYEE, B.; MAHALIK, G. *A review on selected pharmacological activities of Curcuma longa L.* *International Journal of Food Properties*, v. 25, n. 1, p. 1377-1398, 2022.

KATOUZIAN, I.; JAFARI, S. M. *Nano-encapsulation and nano-coating of food ingredients*. In: JAFARI, S. M. (Ed.). *Encapsulation and release of food ingredients*. Cambridge: Woodhead Publishing, 2016. p. 305-350.

KIM, N. Y. *et al.* *"Comparison of Cosmetical Activities of Curcuma Longa L. Leaf Extracts Using Different Extraction Methods."* *Korean Journal of Medicinal Crop Science*, vol. 22, no. 4, The Korean Society of Medicinal Crop Science, 30 Aug. 2014, pp. 255–261 (2014).

KIM, S-C. K. *et al.* *"Determination of Curcuma longa L. (Turmeric) Leaf Extraction Conditions Using Response Surface Methodology to Optimize Extraction Yield and Antioxidant Content"*, *Journal of Food Quality* (2019).

KROLL, A. *et al.* *Assay interference: a challenge in nanotoxicological research*. *Nanotoxicology*, v. 11, n. 1, p. 1-20, 2017.

KUMAR, A. *et al.* *"Essential oil from waste leaves of Curcuma longa L. alleviates skin inflammation."* *Inflammopharmacology* vol. 26,5 (2018): 1245-1255.

KUMAR, R., *et al.* *Stability and antimicrobial efficacy of Curcuma longa nanoemulsions against pathogenic bacteria*. *International Journal of Pharmaceutics*, 605, 120833, 2022.

LEMOS, T. L. G. *et al.* *Essential oil of Protium heptaphyllum: chemical composition, antioxidant and antibacterial activity*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, [S. l.], v. 22, n. 4, p. 1097-1107, 2019.

LI, P. *et al.* *Stability of nanoemulsion formulated by emulsifier blend of lecithin and Tween 80 for encapsulation of essential oil*. *Journal of Food Engineering*, v. 152, p. 1-7, 2015.

LIN, C. *et al.* *α -Phellandrene promotes apoptosis of non-small cell lung cancer cells through G0/G1 cell cycle arrest and endoplasmic reticulum stress*. *Chinese Medicine*, v. 16, n. 1, p. 2, 2021.

LU, M. *et al.* *Non-linear cytotoxicity of essential oil nanoemulsions: Balancing antimicrobial efficacy and food safety.* Food and Chemical Toxicology, v. 145, p. 111689, 2020.

MARCHESE, E. *et al.* *Bergamot essential oil nanoemulsions: antimicrobial and cytotoxic activity.* Zeitschrift für Naturforschung C, v. 75, n. 7-8, p. 279–290, 22 jun. 2020.

MARCIOLI, A. Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana de produtos naturais e associação com conservantes químicos de alimentos. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Processos Químicos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, 2015. Disponível em: <https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/25785>.

MCCLEMENTS, D. J. *Nanoemulsions: Formulation, applications, and characterization.* Boca Raton: CRC Press, 2018.

MEHMOOD, T. *et al.* *Safety assessment of nanomaterials in food: current challenges and future perspectives.* Trends in Food Science & Technology, v. 138, p. 133-146, 2023.

MERCOSUL. Resolução GMC nº 11/06. Lista de Funções Tecnológicas dos Aditivos Alimentares. Montevideu, 2006. Disponível em: <https://www.mercosur.int>. Acesso em: 15 jul. 2025.

MINATTI, G. M. *et al.* Atividade antimicrobiana de conservantes de fontes naturais em formulações cosméticas. *Cosmetoguia*, Florianópolis, 22 fev. 2023. Disponível em: cosmetoguia.com.br+1repositorio.ufsc.br+1

MINTEL. (2021). "Global Food & Drink Trends 2021". Disponível em: <https://www.mintel.com/>

MOGHADAMTOUSI, S. Z. *et al.* "A review on antibacterial, antiviral, and antifungal activity of curcumin." BioMed research international vol. 2014 (2014).

MOGHIMI, R.; ALIAHMADI, A.; RAFATI, H. *Antibacterial and cytotoxic effects of Zataria multiflora essential oil and its nanoemulsion.* Journal of Food Quality and Hazards Control, v. 3, n. 4, p. 138-144, dez. 2016.

MOHAMMADZADEH, M. *et al.* *Cinnamon essential oil nanoemulsion: Its physicochemical properties and the effect on the microbial and sensory quality of minced beef.* Food and Bioprocess Technology, v. 13, n. 12, p. 2153-2163, 2020.

MOLET-CASSAID, S. *et al.* *Lecithin-based nanoemulsions for the delivery of lipophilic compounds: challenges and opportunities*. Current Opinion in Colloid & Interface Science, v. 49, p. 1-16, 2020.

MOOSAVI-NASAB, M. *et al.* *The inhibitory potential of Zataria multiflora and Syzygium aromaticum essential oil on growth and aflatoxin production by Aspergillus flavus in culture media and Iranian white cheese*. Food Science & Nutrition, v. 6, n. 2, p. 318–324, 15 dez. 2017.

MORAIS, J. M. *et al.* *Comportamento reológico e atividade antimicrobiana de uma formulação tópica contendo extrato de Heliotropium indicum L.* Research, Society and Development, v. 10, n. 5, e25910515068, 2021.

MOSMANN, T., *et al.* *Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays*. Journal of Immunological Methods, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

MOULEDI *et al.* *Biological activities and chemical composition of α -Phellandrene and α -Phellandrene-rich essential oils: a systematic review*. Pharmaceuticals, [S. l.], v. 15, n. 9, p. 1092, 2022.

NEGI, P.S. *et al.* *Antibacterial activity of turmeric oil: A byproduct from curcumin manufacture*. J. Agric. Food Chem. 1999, 47, 4297–4300.

NIZIOŁ-ŁUKASZEWSKA, Z. *et al.* *Schinus terebinthifolius and Schinus molle essential oils: a source of α -pinene and its impact on the larvicidal and repellent activity of nanoemulsions against Culex pipiens*. Molecules, [S. l.], v. 26, n. 21, p. 6506, 2021.

NOVAIS, C. *et al.* *“Natural Food Colorants and Preservatives: A Review, a Demand, and a Challenge.”* Journal of agricultural and food chemistry vol. 70,9 (2022): 2789-2805.

OASIS NUTRITION. CÚRCUMA, la especia dorada, 2021. Disponível em: <https://www.oasisnutrition.com/blogs/news/curcuma-la-especia-dorada>.

OLIVEIRA, A.R.M.F. *Produção de óleo essencial de mentha x piperita var. citrata sob diferentes condições de manejo*. Ilhéus, BA: UESC, 2011.

PARVEEN, Z *et al.* *“Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil from Leaves of Curcuma longa L. Kasur Variety.”* Indian journal of pharmaceutical sciences vol. 75,1 (2013): 117-22.

PATEL, M., SINGH, J. (2023). *Influence of particle size and zeta potential on antimicrobial properties of Curcuma longa nanoemulsions*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 217, 112587.

PEREIRA, J. L.; SOUZA, D. F.; ALMEIDA, T. B. Impacto sensorial da adição de óleos essenciais em nanoemulsões para aplicações alimentícias. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 43, n. 2, p. 305-315, 2023.

PRABUSEENIVASAN, S.; JAYAKUMAR, M.; IGNACIMUTHU, S. *In vitro antibacterial activity of some plant essential oils*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 6, p. 39, nov. 2006.

PRAKASH, A. *et al.* *Essential oil based nanoemulsions to improve the microbial quality of minimally processed fruits and vegetables: A review*. *Food Research International*, v. 111, p. 509–523, set. 2018.

RIBEIRO, C. L.; *et al.* Formulação e caracterização de nanoemulsões contendo óleo essencial de gengibre. *Revista Brasileira de Tecnologia e Ciências Farmacêuticas*, v. 60, n. 1, p. 45-57, 2024.

ROCHA, P. *et al.* *Encapsulation of thyme essential oil in nanoemulsions stabilized by lecithin: formation, stability, and antimicrobial activity against foodborne pathogens*. *Food Hydrocolloids*, v. 110, p. 106190, 2021.

SALARI, S. *et al.* *Formulation and evaluation of a nanoemulsion of Oliveria decumbens essential oil with enhanced antimicrobial activity for food applications*. *Food Science & Nutrition*, v. 9, n. 10, p. 5743-5752, out. 2021.

SALEHI, B.; RODRIGUES, C.F.; PERON, G. *et al.* *Curcumin nanoformulations for antimicrobial and wound healing purposes*. *Phytotherapy Research*. 2021; 35: 2487–2499.

SALVIA-TRUJILLO, L.; MCCLEMENTS, D. J. *Influence of nanoemulsion composition on their antimicrobial activity against E. coli and Listeria innocua*. *Food Chemistry*, v. 207, p. 87-96, 2016.

SAMBU, S. *et al.* *“Toxicological and Teratogenic Effect of Various Food Additives: An Updated Review.”* *BioMed research international* vol. 2022 6829409. 24 Jun. 2022.

SANTOS, F. K. *et al.* *Overcoming the low bioavailability of essential oils: a review on nanoencapsulation strategies*. *Food Chemistry*, v. 384, p. 132511, 2022.

SANTOS, L. B. *et al.* *Potencial antibacteriano da nanoemulsão do óleo essencial de Schinus terebinthifolius Raddi*. *Research, Society and Development*, [S. l.], v. 13, n. 6, p. e17113646736, 2024.

SANTOS, N. *et al.* Chemical variability of the essential oils from leaves of two chemotypes of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae) from the state of Mato Grosso, Brazil. *Journal of Essential Oil Research*, [S. l.], v. 33, n. 4, p. 385-392, 2021.

SCHUH, R. S.; BRUXEL, F.; TEIXEIRA, H. F. Physicochemical properties of lecithin-based nanoemulsions obtained by spontaneous emulsification or high-pressure homogenization. *Química Nova*, v. 37, p. 1193-1198, 2014.

SHAFIQ-UN-NABI, S. *et al.* Formulation and evaluation of a stable, safe and effective monoterpene-based nanoemulsion for the treatment of topical fungal infections. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, [S. l.], v. 40, p. 10-18, 2017.

SHARMA, N. *et al.* Evaluation of the Antifungal, Antioxidant, and Anti-Diabetic Potential of the Essential Oil of *Curcuma longa* Leaves from the North-Western Himalayas by In Vitro and In Silico Analysis. *Molecules*, v. 27, n. 22, p. 7664, 1 jan. 2022.

SILVA, A. P., *et al.* Desenvolvimento de nanoemulsões antimicrobianas e antioxidantes à base de óleos essenciais. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 57, n. 3, p. 210-219, 2021.

SILVA, A. P.; OLIVEIRA, M. R.; FERREIRA, L. A. Instabilidade físico-química em nanoemulsões de óleos essenciais: desafios e perspectivas. *Química Nova*, v. 45, n. 3, p. 215-223, 2022.

SILVA, C. D. *et al.* Chemical composition of essential oils from the leaves of *Curcuma longa* and *Bixa orellana* and antimicrobial activity in *Pseudomonas aeruginosa* and *Listeria monocytogenes*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 22, n. 1, p. 8-16, 2020.

SILVA, E. *et al.* Influência das condições agroclimáticas na produção e composição química do óleo essencial de *Curcuma longa* L. *Química Nova*, São Paulo, v. 43, n. 7, p. 882–888, 2020.

SILVA, I. D. D. L. Desenvolvimento de filmes ativos antimicrobianos e antioxidantes de PVA aditivado com extratos vegetais de plantas do Sertão. Tese (Doutor em Ciências de Materiais.) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2021.

SILVA, M. A., SOUZA, R. P., & OLIVEIRA, L. F. (2021). Avaliação da atividade antimicrobiana de nanoemulsões dos óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum*

e *Curcuma longa* como conservantes em carne bovina moída. *Food Control*, 123, 107800. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.107800>

SINDHU, M., *et al.* “*Functionalized nanoencapsulated Curcuma longa essential oil in chitosan nanopolymer and their application for antioxidant and antimicrobial efficacy.*” *International journal of biological macromolecules*, vol. 251 126387. 16 Agosto. 2023.

SINGH *et al.* Nanoemulsion: Concepts, development and applications in drug delivery. *Journal of Controlled Release*, v. 252, p. 28–49, 2017.

SINGH, B. K.; TIWARI, S.; DUBEY, N. K. Essential oils and their nanoformulations as green preservatives to boost food safety against mycotoxin contamination of food commodities: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 101, n. 12, p. 4879–4890, 25 abr. 2021.

SINGH, G. *et al.* Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of fresh and dry rhizomes of turmeric (*Curcuma longa* Linn.). *Food Chem. Toxicol.* 2010, 48, 1026–1031.

SINGH, S. *et al.* *Curcuma longa (turmeric): a promising spice for health benefits.* In: *On-line Journal of Biological Sciences*, v. 10, n. 4, p. 195-201, 2010.

SOBRAL, M. V. *et al.* *Antitumor activity of α -phellandrene in melanoma B16-F10 cells.* *Planta Medica*, v. 84, n. 12/13, p. 917-923, 2018.

SOUSA, C. C., *et al.* Conservantes naturais: uma revisão literária. *Encontros Univ. Da UFC*, Fortaleza, v. 6, n. 4, p. 2774, jan. 2021.

SOUZA, J. P.; LIMA, K. M.; CASTRO, R. S. Nanoemulsões de óleos essenciais incorporadas em matrizes poliméricas: desenvolvimento e aplicações. *Revista de Inovação Tecnológica em Saúde*, v. 5, n. 2, p. 98-112, 2022.

SOUZA, T. S. Desenvolvimento de nanoemulsão contendo óleo essencial extraído das folhas de *Curcuma longa* L., como uma abordagem farmacêutica de uso sustentável de recursos naturais. 2023. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2023.

SUGUMAR, S. *et al.* *Nanoemulsions of essential oils: a review of their formulation, characterization, and applications.* *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 139, p. 1-13, 2016.

SUTHANTHANGJAI, W. *et al.* A Development of a Nanoemulsion-Based Formulation for Enhancing the Antitumor Activity of *Curcuma zedoaria* Essential Oil. *Pharmaceutics*, v. 11, n. 12, p. 671, 2019.

SWAMY, M. K.; AKHTAR, M. S.; SINNIAH, U. R. *Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: an updated review.* *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2016, p. 3012462, 2016.

TAMBA, B. I. *et al.* Stability and characterization of nanoemulsions loaded with natural antioxidants: Correlation between particle size, PDI and zeta potential. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 180, p. 619–627, 2019.

TELES, A. M. *et al.* *Cinnamomum zeylanicum*, *Origanum vulgare*, and *Curcuma longa* Essential Oils: Chemical Composition, Antimicrobial and Antileishmanial Activity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2019, p. 1–12, 15 jan. 2019.

TERAMOTO, J. *et al.* Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas senescentes de *Curcuma longa* L. *Revista Intellectus*, v. 18, n. 2, p. 24–34, 2020.

UECHI, S. *et al.* Antibacterial Activity of Essential Oils from *Curcuma* sp. (*Zingiberaceae*) Cultivated in Okinawa against Foodborne Pathogenic Bacteria. *Nettai Nogyo/Nettai nougyou*, v. 44, n. 2, p. 138–140, 1 jun. 2000.

VIGAN, M. “Essential oils: renewal of interest and toxicity.” *European journal of dermatology : EJD* vol. 20,6 (2010): 685-92.

WITASPURA, D. *et al.* A review on the Trojan horse effect of nano-drug delivery systems. *Pharmaceutics*, v. 14, n. 10, p. 2167, 2022.

ZHANG *et al.* Comparative chemical profiles and biological activities of rhizome essential oils of *Curcuma longa* L. from different geographical origins. *Industrial Crops and Products*, v. 109, p. 1–8, 2017.

ZHANG, Y., *et al.* (2021). Enhanced antimicrobial activity of *Curcuma longa* nanoemulsions: Mechanistic insights and applications. *Journal of Nanobiotechnology*, 19(1), 123.

ZHAO, S. *et al.* Characterization of nanoemulsions stabilized with different emulsifiers and their encapsulation efficiency for oregano essential oil: Tween 80, soybean protein isolate, tea saponin, and soy lecithin. *Foods*, v. 12, n. 17, p. 3183, 2023.

