

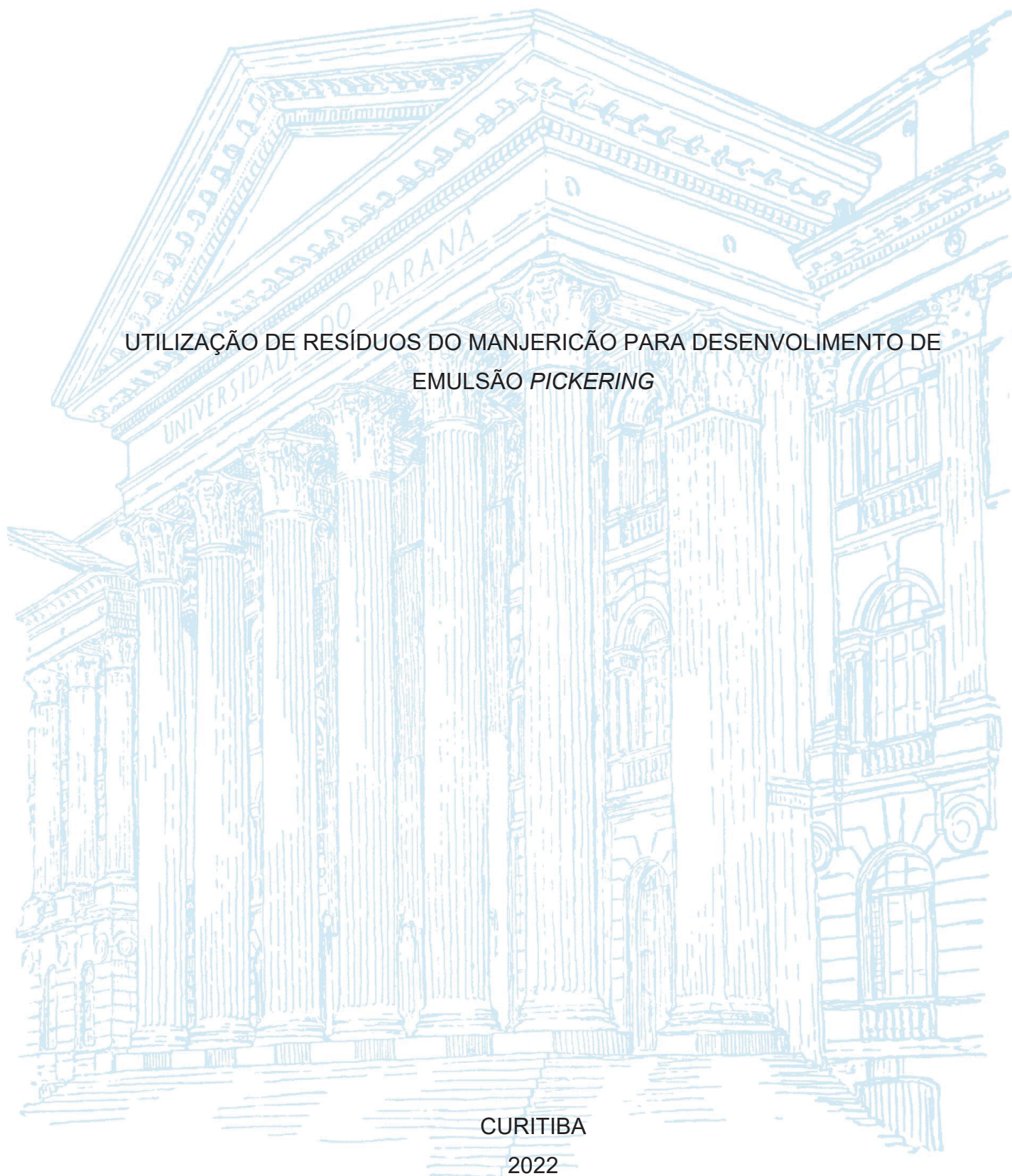
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LUANNA CARNEIRO DE SOUZA

UTILIZAÇÃO DE RESÍDUOS DO MANJERICÃO PARA DESENVOLVIMENTO DE  
EMULSÃO *PICKERING*

CURITIBA

2022



LUANNA CARNEIRO DE SOUZA

UTILIZAÇÃO DO RESÍDUO DO MANJERICÃO PARA O DESENVOLVIMENTO DE  
EMULSÃO *PICKERING*

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Agnes de Paula Scheer

Coorientadora: Profa. Dra. Luana Carolina Bosmuler Züge

CURITIBA

2022

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA JANDAIA DO SUL

Souza, Luanna Carneiro de

Utilização do resíduo do manjeriço para o desenvolvimento de emulsão *pickering*. / Luanna Carneiro de Souza. – Curitiba, 2022.  
1 recurso on-line : PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná,  
Setor de Tecnologia, Mestrado em Engenharia de Alimentos.  
Orientadora: Profa. Dra. Agnes de Paula Scheer.  
Coorientadora: Profa. Dra. Luana Carolina Bosmuler Züge.

1. Atividade antioxidante. 2. Compostos bioativos.  
3. Estabilização. 4. Encapsulação. I. Scheer, Agnes de Paula. II.  
Züge, Luana Carolina Bosmuler. III. Universidade Federal do Paraná.  
IV. Título.

CDD 664

Bibliotecário: César A. Galvão F. Conde - CRB-9/1747



## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação ENGENHARIA DE ALIMENTOS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **LUANNA CARNEIRO DE SOUZA** intitulada: **UTILIZAÇÃO DE RESÍDUOS DO MANJERICÃO PARA DESENVOLVIMENTO DE EMULSÃO PICKERING**, sob orientação da Profa. Dra. AGNES DE PAULA SCHEER, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 24 de Agosto de 2022.

Assinatura Eletrônica

15/09/2022 11:46:12.0

AGNES DE PAULA SCHEER

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

14/09/2022 15:40:13.0

GERSON LOPES TEIXEIRA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA)

Assinatura Eletrônica

14/09/2022 15:34:09.0

ALEXANDRE FERREIRA SANTOS

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus, pois sem Ele sei que não seria possível chegar até aqui. Em segundo lugar, gostaria de agradecer ao meu marido e amigo, Eric, que foi meu apoio e alicerce.

Também é de suma importância agradecer a aquelas que me ensinaram e guiaram durante todo o processo, obrigada a minha orientadora professora Agnes de Paula Scheer e a minha coorientadora Luana Carolina Bosmuler Züge por todos os conselhos concedidos.

Obrigada a Universidade Federal do Paraná e ao Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos por todo apoio acadêmico e estrutural.

À CAPES, pelo apoio financeiro através da bolsa de mestrado.

À todos aqueles que estiveram presente durante, e que de alguma forma tornaram o caminho até aqui mais leve.

## RESUMO

Os óleos essenciais, em geral, fazem parte do metabolismo das plantas e são compostos de terpenóides e, em menor quantidade, de fenilpropanóides. São conhecidos pela fragrância que exalam e por suas propriedades antioxidante e antimicrobiana, como é o caso, do óleo essencial do manjericão (*Ocimum basilicum* L.). Uma forma de preservar esses compostos e suas propriedades é realizando o seu encapsulamento, o que permite também que haja uma liberação controlada. Uma das formas de encapsulamento é a emulsificação. As emulsões Pickering tem chamado cada vez mais a atenção dos pesquisadores por serem sistemas estabilizados sem o uso de tensoativos. Nestes casos são utilizadas partículas sólidas na estabilização, podem até mesmo ser utilizadas partículas que seriam descartadas em outros processos. Um exemplo são partículas de celulose que podem ser obtidas de diversas fontes renováveis, como eucalipto, caule de bananeira e casca de coco. Este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de emulsões com o óleo essencial de manjericão, obtido através da hidrodestilação, e estabilizadas com nanocelulose proveniente do resíduo sólido da extração. Após a extração, a nanocelulose foi caracterizada por análise termogravimétrica (TG) e por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS). As emulsões desenvolvidas foram avaliadas em relação a sua propriedade antimicrobiana pelo método da Concentração Inibitória Mínima (CIM), a eficiência de encapsulamento ao longo do tempo através da análise da atividade antioxidante por diferentes mecanismos, Digestão in vitro por dois mecanismos de determinação da atividade antioxidante, Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Microscopia Óptica e Aparência Visual. Os resultados do TG demonstraram uma maior sensibilidade térmica da nanocelulose do que da celulose. O MEV por sua vez demonstrou que após uma etapa adicional de homogeneização houve uma redução no tamanho das partículas de celulose e estas se apresentaram de forma mais granular. Já os resultados da emulsão demonstraram que a elaboração de uma emulsão foi capaz de preservar as propriedades antibacterianas do óleo essencial, e melhorar a estabilidade da atividade antioxidante ao longo do tempo, como demonstrado pela análise da Eficiência da Encapsulação. Já a digestão simulada, demonstrou que a elaboração de uma emulsão *Pickering* foi capaz de manter a atividade antioxidante da amostra até a etapa final da digestão e, que, ao longo do processo digestivo ocorreu uma liberação mais controlada da atividade antioxidante quando comparada com o óleo essencial não emulsionado. Em relação a microscopia óptica e o aspecto visual das emulsões, notou-se que as emulsões elaboradas com 0,05% e 0,2% de nanocelulose apresentaram sinais mais evidentes de desestabilização, sendo que a amostra com 0,1% de nanocelulose, apresentou maior quantidades de gotas dispersas, e gotas de menor tamanho após 45 e 90 dias de armazenamento sob diferentes temperaturas. A análise DSC, indicou que a adição de uma maior concentração de celulose, promoveu uma melhoria na resistência térmica das emulsões. Pode-se dizer que a estabilização de emulsões com partículas de nanocelulose é uma forma eficaz de preservar os compostos presentes no óleo essencial sem a adição de estabilizantes sintéticos podendo ser utilizado no desenvolvimento de produtos alimentícios.

Palavras – Chave: Atividade Antioxidante, Compostos Bioativos, estabilização, encapsulação.

## ABSTRACT

Essential oils, in general, are part of plant metabolism and are composed of terpenoids and, to a lesser extent, of phenylpropanoids. They are known for the fragrance they exude and for their antioxidant and antimicrobial properties, as is the case with basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.). One way to preserve these compounds and their properties is by encapsulating them, which also allows for a controlled release. One of the forms of encapsulation is emulsification. Pickering emulsions have increasingly attracted the attention of researchers as they are stabilized systems without the use of surfactants. In these cases, solid particles are used in the stabilization, even particles that would be discarded in other processes can be used. One example is cellulose particles that can be obtained from several renewable sources, such as eucalyptus, banana stems and coconut husks. This work aimed to develop emulsions with basil essential oil, obtained through hydrodistillation, and stabilized with nanocellulose from the solid residue of extraction. After extraction, the nanocellulose was characterized by thermogravimetric analysis (TG) and by Scanning Electron Microscopy (SEM) and Energy Dispersive Spectroscopy (EDS). The developed emulsions were evaluated in relation to their antimicrobial property by the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) method, the encapsulation efficiency over time through the analysis of antioxidant activity by different mechanisms, In vitro digestion by two mechanisms of determination of antioxidant activity, Differential Scanning Calorimetry Analysis (DSC), Optical Microscopy and Visual Appearance. The TG results demonstrated a greater thermal sensitivity of nanocellulose than of cellulose. The SEM in turn showed that after an additional homogenization step there was a reduction in the size of the cellulose particles and they were more granular. On the other hand, the results of the emulsion showed that the elaboration of an emulsion was able to preserve the antibacterial properties of the essential oil, and improve the stability of the antioxidant activity over time, as demonstrated by the analysis of Encapsulation Efficiency. The simulated digestion showed that the elaboration of a Pickering emulsion was able to maintain the antioxidant activity of the sample until the final stage of digestion and that, throughout the digestive process, there was a more controlled release of the antioxidant activity when compared to the oil non-emulsified essential. Regarding optical microscopy and the visual appearance of the emulsions, it was noted that the emulsions made with 0.05% and 0.2% of nanocellulose showed more evident signs of destabilization, and the sample with 0.1% of nanocellulose, showed higher amounts of dispersed droplets, and smaller droplets after 45 and 90 days of storage under different temperatures. The DSC analysis indicated that the addition of a higher concentration of cellulose promoted an improvement in the thermal resistance of the emulsions. It can be said that the stabilization of emulsions with nanocellulose particles is an effective way to preserve the compounds present in the essential oil without the addition of synthetic stabilizers and can be used in the development of food products.

Keywords: Antioxidant Activity, Bioactive Compounds, stabilization, encapsulation, *Ocimum basilicum* Lamiaceae.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - EMULSÕES SIMPLES TIPO A/O E O/A; EMULSÕES MÚLTIPLAS TIPO O/A/O E A/O/A.....	24
FIGURA 2 - REPRESENTAÇÃO DE UMA MOLÉCULA DE TENSOATIVO COM SUAS FASES POLAR E APOLAR.....	25
FIGURA 3 - MECANISMOS DE SEPARAÇÃO DE EMULSÕES.....	26
FIGURA 4 - MECANISMO DE ATUAÇÃO DA MOLÉCULA DE SURFATANTE NA INTERFACE E DE PARTÍCULAS SÓLIDAS NA ESTABILIZAÇÃO DE EMULSÕES.....	27
FIGURA 5 – CURVAS TG DAS AMOSTRAS DE CELULOSE E NANOCELULOSE NA TEMPERATURA DE 0°C A 900°C.....	38
FIGURA 6 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DAS AMOSTRAS DE CELULOSE 1 NA APROXIMAÇÃO DE 100 VEZES E CELULOSE 2 NA APROXIMAÇÃO DE 1000 VEZES.....	41
FIGURA 7- MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DAS AMOSTRAS NANOCELULOSE 1 NA APROXIMAÇÃO DE 100 VEZES E NANOCELULOSE 2 NA APROXIMAÇÃO DE 1.000 VEZES.....	42
FIGURA 8 - FIGURA 8A REPRESENTA OS ESPECTROS 1, 2 E 3 EM UMA ESCALA DE 7UM DA AMOSTRA DE CELULOSE. FIGURA 8B - ESPECTROS 1, 2 E 3 OBTIDOS NA ANÁLISE DE ESPECTROSCOPIA POR ENERGIA DISPERSIVADA NANOCELULOSE, EM UMA ESCALA DE 7µM.....	44
FIGURA 9 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MECANISMO SISTEMA β-CAROTENO/ÁCIDO LINOLEICO DAS AMOSTRAS DE EMULSÃO. AS AMOSTRAS A, B E C REFEREM-SE AS AMOSTRAS ELABORADAS COM 0,05%, 0,1% E 0,2% DE NANOCELULOSE RESPECTIVAMENTE. A AMOSTRA OE, REFERE-SE A AMOSTRA DE ÓLEO ESSENCIAL DILUÍDA NA CONCENTRAÇÃO DE 0,33 µL mL <sup>-1</sup> .....	49
FIGURA 10 – ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MECANISMO DE REDUÇÃO DO FERRO (FRAP) DAS AMOSTRAS DE EMULSÃO. SENDO QUE AS AMOSTRAS A, B E C REFEREM-SE AS AMOSTRAS ELABORADAS COM 0,05%, 0,1% E 0,2% DENANOCELULOSE	

RESPECTIVAMENTE. A AMOSTRA OE, REFERE-SE A AMOSTRA DE ÓLEO ESSENCIAL DILUÍDA NA CONCENTRAÇÃO DE 0,33 $\mu\text{L mL}^{-1}$ .....	50
FIGURA 11 – ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MECANISMO DE CAPTURA DO RADICAL ABTS DAS AMOSTRAS DE EMULSÃO. AS AMOSTRAS A, B E C REFEREM-SE AS AMOSTRAS ELABORADAS COM 0,05%, 0,1% E 0,2% DE NANOCELULOSE RESPECTIVAMENTE. A AMOSTRA OE, REFERE-SE A AMOSTRA DE ÓLEO ESSENCIAL DILUÍDA NA CONCENTRAÇÃO DE 0,33 $\mu\text{L mL}^{-1}$ .....	51
FIGURA 12 – MICROSCOPIA DA EMULSÃO A COM 0,05% DE NANOCELULOSE. EM QUE A REFERE-SE AMOSTRA RECÉM ELABORADA, 45B(A) E 45R(A), REFEREM-SE AS AMOSTRAS MANTIDAS A 30°C E 8°C POR 45 DIAS RESPECTIVAMENTE. E 90B(A) E 90R(A) REFEREM-SE A AMOSTRAS MANTIDAS A 30°C E 8°C POR 90 DIAS RESPECTIVAMENTE APÓS 45 DIAS E APÓS 90 DIAS, SOB TEMPERATURA DE 30°C E 8°C.....	57
FIGURA 13 – MICROSCOPIA DA EMULSÃO B COM 0,1% DE NANOCELULOSE. EM QUE B REFERE-SE AMOSTRA RECÉM ELABORADA, 45B(B) E 45R(B), REFEREM-SE AS AMOSTRAS MANTIDAS A 30°C E 8°C POR 45 DIAS RESPECTIVAMENTE. E 90B(B) E 90R(B) REFEREM-SE A AMOSTRAS MANTIDAS A 30°C E 8°C POR 90 DIAS RESPECTIVAMENTE.....	58
FIGURA 14 – MICROSCOPIA DA EMULSÃO C COM 0,2% DE NANOCELULOSE. EM QUE C REFERE-SE AMOSTRA RECÉM ELABORADA, 45B(C) E 45R(C), REFEREM-SE AS AMOSTRAS MANTIDAS A 30°C E 8°C POR 45 DIAS RESPECTIVAMENTE. E 90B(C) E 90R(C) REFEREM-SE A AMOSTRAS MANTIDAS A 30°C E 8°C POR 90 DIAS RESPECTIVAMENTE.....	59
FIGURA 15 – ASPECTO VISUAL DAS EMULSÕES RECÉM ELABORAS, APÓS 10 E APÓS 30 DIAS MANTIDAS A 8°C E A 30°C, ELABORADAS COM 0,05% 0,1% E 0,2% DE NANOCELULOSE. A IMAGEM 15A TRATA-SE DAS EMULSÕES LOGO APÓS ELABORAÇÃO, 15B REFERE-SE AS AMOSTRAS MANTIDAS A 30°C POR 10 DIAS E 15C REFERE-SE AS AMOSTRAS MANTIDAS A 8°C POR 10 DIAS. IMAGEM 15D	

TRATA-SE DAS AMOSTRAS MANTIDA A 8°C POR 30 DIAS E A 15E AS AMOSTRAS MANTIDAS A 8°C POR 30 DIAS.....	62
FIGURA 16 – ANÁLISE DSC DAS AMOSTRAS DE EMULSÕES RECÉM ELABORADAS COM 0,05%, 0,1% E 0,2% DE NANOCELULOSE....	63
FIGURA 17 - ANÁLISE DSC DAS AMOSTRAS DE EMULSÕES ELABORADAS MANTIDAS SOB REFRIGERAÇÃO A 8°C NO PERÍODO DE 45 DIAS ELABORADAS COM 0,05%, 0,1% E 0,2% DE NANOCELULOSE. ....	65
FIGURA 18 – ANÁLISE DSC DAS AMOSTRAS DE EMULSÕES MANTIDAS A 30°C POR 45 DIAS ELABORADAS COM 0,05%, 0,1% E 0,2% DE NANOCELULOSE .....	66

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA MÉDIA DA NANOCELULOSE E DA CELULOSE.....	43
TABELA 2 – CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA DOS TRÊS MICRORGANISMOS AVALIADOS PARA AS EMULSÕES COM 0,05, 0,1 E 0,2% DE NANOCELULOSE .....	45
TABELA 3- ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MECANISMO DE REDUÇÃO DO FERRO (FRAP) PARA AS EMULSÕES A, B E CNAS ETAPAS DA FASE SALIVA, GÁSTRICA E INTESTINAL DA DIGESTÃO SIMULADA. EM QUE A, B E C REFERE-SE AS AMOSTRAS ELABORADAS COM 0,05%, 0,1% E 0,2% DE NANOCELULOSE RESPECTIVAMENTE. A AMOSTRA ÓLEO, REFERE-SE A AMOSTRA DE ÓLEO ESSENCIAL DILUÍDA NA CONCENTRAÇÃO DE 0,33 $\mu\text{L mL}^{-1}$ .....	53
TABELA 4 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO SISTEMA ABTS PARA AS EMULSÕES A, B E CNAS ETAPAS DA FASE SALIVA, GÁSTRICA E INTESTINAL DA DIGESTÃO SIMULADA. EM QUE A, B E C REFERE-SE AS AMOSTRAS ELABORADAS COM 0,05%, 0,1% E 0,2% DE NANOCELULOSE RESPECTIVAMENTE. A AMOSTRA ÓLEO, REFERE-SE A AMOSTRA DE ÓLEO ESSENCIAL DILUÍDA NA CONCENTRAÇÃO DE 0,33 $\mu\text{L mL}^{-1}$ .....	54

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
1.1 OBJETIVOS .....	15
1.1.1 Objetivo geral .....	15
1.1.2 Objetivos específicos .....	15
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>17</b>
2.1 MANJERICÃO – <i>OCIMUM BASILICUM</i> (LAMIACEAE) .....	17
2.2 ÓLEO ESSENCIAL DO MANJERICÃO .....	17
2.3 NANOCELULOSE .....	18
2.3.1 Uso de nanocelulose em emulsões .....	21
2.4 ENCAPSULAÇÃO .....	22
2.5 EMULSÕES .....	23
2.5.1 Classificação das emulsões .....	23
2.5.2 Estabilidade das emulsões e estabilizantes .....	24
2.5.3 Fatores que afetam a estabilidade das emulsões .....	25
2.5.4 Emulsões <i>Pickering</i> .....	27
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>30</b>
3.1 OBTENÇÃO E PREPARO DO MANJERICÃO .....	30
3.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL .....	30
3.3 NANOCELULOSE .....	31
3.3.1 Recuperação do resíduo sólido e extração da nanocelulose .....	31
3.3.2 Análises da celulose .....	32
3.3.2.1 Análise termogravimétrica .....	32
3.3.2.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) / Espectroscopia por energia dispersiva (EDS) .....	32
3.4 EMULSÕES .....	33
3.4.1 Análise das emulsões .....	33
3.4.2 Concentração mínima inibitória .....	33
3.4.3 Eficiência da Encapsulação ao longo do tempo .....	34
3.4.4 Digestão <i>in vitro</i> .....	36
3.4.5 Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .....	37
3.4.6 Microscopia óptica .....	37
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>38</b>

4.1 NANOCELULOSE.....	38
4.1.1 Análise termogravimétrica.....	38
4.1.2 Microscopia eletrônica de varredura.....	40
4.1.3 Espectroscopia por dispersão de energia.....	43
4.2 EMULSÕES .....	44
4.2.1 Eficiência da encapsulação ao longo do tempo .....	48
4.2.2 Digestão in vitro.....	53
4.2.3 Microscopia óptica.....	56
4.2.4 Estabilidade visual das emulsões .....	61
4.3 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL.....	63
<b>5 CONCLUSÃO .....</b>	<b>67</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>69</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O manjeriço pertence à família *Lamiaceae*, do gênero *Ocimum* da espécie *basilicum*. É originário da Ásia e África, mas também cultivado em muitos lugares do mundo. Seu óleo essencial pode ser utilizado como aromatizante em alimentos, como por exemplo, em azeites e conservas vegetais, ou ainda, em cosméticos, como cremes e sabonetes (HUSSAIN et al., 2008).

Acredita-se que o óleo essencial do manjeriço contenha compostos do grupo dos terpenos, que possuem atividade antibacteriana e auxiliam na inibição do desenvolvimento de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Além disso, esses compostos podem ou não estar ligados a outros voláteis responsáveis pelo aroma e fragrância dos vegetais (GOMES, 2003; DESCHAMPS et al., 2006). De acordo com Soares et al., (2007), o manjeriço também possui em seu óleo essencial compostos como eugenol, e parte da atividade antioxidante do óleo essencial pode estar ligada a esse composto.

Devido à presença dessas substâncias nos óleos essenciais, torna-se interessante o estudo da encapsulação desses compostos com o objetivo de preservar suas propriedades. O desenvolvimento de emulsões é uma das formas de se encapsular o óleo essencial e ainda promover seu uso em produtos alimentícios, cosméticos, farmacêuticos, entre outros, fornecendo uma melhor estabilidade, aumento da vida de prateleira e redução no uso de aditivos alimentares e conservantes.

Em geral, emulsões são sistemas heterogêneos, instáveis termodinamicamente, em que há a presença de dois líquidos imiscíveis no qual gotas de um líquido estão dispersos no outro, chamado de fase contínua. As emulsões estão presentes no nosso cotidiano na forma de cosméticos, fármacos, produtos agrícolas e alimentos. Alguns exemplos de emulsões alimentícias são manteiga, creme de leite, sorvete, maionese entre outros. Há ainda emulsões que são utilizadas com o objetivo de melhorar a qualidade de outros produtos, como por exemplo, o uso de uma emulsão de óleo essencial de laranja em sucos de laranja, ou ainda o desenvolvimento de nanoemulsões com óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L com propriedades larvicidas. Entre os tipos de emulsões, pode-se mencionar as emulsões do tipo *Pickering*, que são aquelas estabilizadas

através de partículas sólidas e, por esse motivo, possuem melhor estabilidade contra a coalescência e a oxidação lipídica.

Um exemplo de partícula utilizada na estabilização das emulsões, é a celulose, que pode ser obtida de diversas fontes renováveis, sendo a madeira a principal fonte para extração de celulose. Além disso, também pode ser obtida de materiais que seriam descartados como por exemplo, casca de coco, casca de banana, folhas de abacaxi, resíduos sólidos da extração do óleo de soja entre outros (FENG et al., 2020). Essas diferentes fontes de obtenção da celulose, são responsáveis por permitirem a extração de diferentes nanoestruturas com propriedades morfológicas distintas. Além da fonte de obtenção, o tipo de processo de extração também influencia no material que se deseja obter (LENGOWSKI, 2016).

Tais fatores tem atraído a atenção para essas emulsões na indústria de alimentos, por permitirem a obtenção de produtos de melhor qualidade e maior vida de prateleira.

Este trabalho por sua vez, buscou utilizar o manjericão como matéria prima para extração do óleo essencial, e o resíduo sólido que seria descartado para obtenção da nanocelulose, o que promove um aproveitamento considerável da matéria prima utilizada. Em geral este estudo trata-se do encapsulamento do óleo essencial do manjericão, através da elaboração de uma emulsão *Pickering*, estabilizada com diferentes concentrações de nanocelulose. O óleo essencial do manjericão possui interessantes propriedades antimicrobianas e antioxidantes, que tornam seu encapsulamento interessante para preservação dessas propriedades.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Elaborar emulsões *Pickering* para encapsulação de óleo essencial de manjericão estabilizadas com nanocelulose obtida dos resíduos de extração.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- a) Extrair o óleo essencial do manjeriço por hidrodestilação;
- b) Obter e caracterizar a nanocelulose extraída do resíduo da extração;
- c) Desenvolver emulsões *Pickering* para encapsular o óleo essencial;
- d) Avaliar a estabilidade térmica, microscópica e visual das emulsões;
- e) Avaliar as propriedades antioxidante e antimicrobiana das emulsões;
- f) Avaliar a digestibilidade das emulsões.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 MANJERICÃO – *OCIMUM BASILICUM* (LAMIACEAE)

O manjericão pertence à família *Lamiaceae*, do gênero *Ocimum* da espécie *basilicum*. É originário da Ásia e África e atualmente cultivado em muitos lugares do mundo (HUSSAIN et al., 2008). De acordo com estudos, o óleo essencial obtido do manjericão possui propriedades antimicrobiana, antioxidante, e pode ser utilizado como aromatizante na culinária, além de seu uso medicinal (LUZ et al., 2009; MILENOVIĆ et al., 2019).

Dependendo da região, o manjericão pode ter seu cultivo perene ou anual. Acredita-se que existam mais de 60 espécies diferentes de manjericão, que podem ser classificadas de acordo com o aroma que possuem em doce, limão, cinamato, canfora, anis e cravo (BLANK et al., 2004). Os vários tipos de espécie de manjericão diferem entre si em sua composição química. No entanto, a forma de cultivo, a localização, as técnicas agrônômicas, os métodos de colheita e secagem, também podem interferir na sua composição, o que também interfere na composição do óleo essencial extraído (MILENOVIĆ et al., 2019). O óleo essencial do manjericão é um produto nobre que pode ser obtido através da técnica de hidrodestilação utilizando suas folhas e inflorescências (BLANK et al., 2004).

### 2.2 ÓLEO ESSENCIAL DO MANJERICÃO

Acredita-se que o óleo essencial do manjericão contenha compostos do grupo dos terpenos, que possuem atividade antibacteriana e portanto, auxiliam na inibição do desenvolvimento de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Tal propriedade estaria relacionada à presença de linalol que de acordo com Bhatti et al. (2017) seria o composto majoritário do óleo essencial do manjericão.

Entretanto, de acordo com Martins (2010) um dos componentes principais do óleo essencial do manjericão seria o estragol, seguido do linalol. Por outro lado, de acordo com Milenović et al. (2019) compostos como geraniol, geranial, cânfora, neral, e fenilpropanóides como metil-cavicol, metil cinamato, eugenol, metil eugenol, também são encontrados na composição do óleo essencial do manjericão, assim como álcoois e aldeídos, além disso alguns estudos relatam que parte da atividade

antioxidante do óleo essencial do manjeriço estaria relacionada ao composto eugenol (SOARES et al., 2007).

Lee et al. (2005) verificou a ação antioxidante do eugenol, e este apresentou ação na concentração de  $5 \mu\text{g mL}^{-1}$  comparável ao BHT e à vitamina E, para a oxidação do hexanal em ácido hexanoíco, inibindo uma porcentagem de 95 a 99 % da oxidação em 30 dias. Em Abbasy et al. (2015), o extrato do óleo do manjeriço seco foi capaz de inibir o crescimento do *S. aureus* e da *E. coli* pelo método da difusão, comprovando também sua atividade antimicrobiana.

Devido a essas propriedades, o óleo essencial do manjeriço pode ser utilizado no desenvolvimento de emulsões com aplicação em alimentos como por exemplo, no estudo realizado por Ozdemir et al. (2021), em que foram adicionadas microcápsulas com óleo essencial de manjeriço em maionese elaboradas com diferentes formulações, os testes demonstraram que além de melhorar aroma e cor do produto, a adição do óleo essencial de manjeriço também melhorou as propriedades antimicrobianas em relação a *Escherichia coli* e a *Salmonella Typhimurium*. Os resultados também demonstraram que o óleo foi eficiente na estabilização oxidativa ao longo do tempo.

O óleo essencial de manjeriço também foi utilizado como aromatizante em azeite de oliva. Os testes de análise sensorial revelaram uma boa aceitação por parte dos julgadores, apontando que há potencial de aplicação do óleo essencial como aromatizante em outros óleos (PINHEIRO et al., 2017).

O processo de extração do óleo essencial gera dois tipos de resíduos, um líquido de cor marrom escura, proveniente da água utilizada na extração e o resíduo sólido, proveniente das folhas que ficaram imersas durante a hidrodestilação, sendo que a partir do resíduo sólido foi extraído a celulose hidrolisada utilizada na estabilização da emulsão.

### 2.3 NANOCELULOSE

A nanotecnologia representa uma das grandes inovações dos últimos anos, propiciando a criação e desenvolvimento de novos materiais, substâncias e produtos (SUNDARARAJAN et al., 2018). O marco inicial da nanotecnologia foi em 1959 com Richard Feynman que propôs o termo nanotecnologia para a manipulação de micropartículas. Nos últimos anos as pesquisas científicas nessa área tem

aumentado consideravelmente. Muitas empresas tem investido nessa nova tecnologia na área médica, na computacional, na produção de energia e também na indústria de alimentos (BAZANA et al., 2015).

Devido à nanotecnologia, uma série de inovações tornaram-se possíveis, como a presença de nanopartículas ou materiais nanoestruturados nos alimentos, e a encapsulação de compostos de interesse. Desta forma, é possível melhorar a solubilidade em água, a estabilidade térmica e a biodisponibilidade oral dos compostos bioativos. Além de promover o aprisionamento de micronutrientes, enzimas e antioxidantes. Portanto, é uma tecnologia em expansão e com aplicações potenciais na área de alimentos (BAZANA et al., 2015).

Com a busca por materiais naturais o interesse em fontes renováveis vem aumentando, assim como o uso de fibras naturais e seus derivados. O uso de nanopartículas de celulose também tem se mostrado interessante, uma vez que seu uso melhora as propriedades dos materiais como, por exemplo, sua aplicação em polímeros na elaboração de filmes, melhorando suas propriedades mecânicas (MACHADO et al., 2014).

Para formar os nanocristais a celulose é extraída na forma de nanoestruturas, e sua obtenção envolve processos químicos e físicos. Os nanocristais obtidos possuem alta rigidez e cristalinidade, e tamanho nanométrico. Essas nanopartículas são isoladas em solução para que possam ser utilizadas em matrizes poliméricas, e desta forma, melhorar as propriedades mecânicas, de barreira, óptica e térmicas desses materiais (MACHADO et al., 2012; MILANEZ et al., 2012). Além disso, se a matriz polimérica também for obtida através de uma fonte renovável, é possível a obtenção de um material totalmente biodegradável (MACHADO et al., 2012).

A nanocelulose pode ser dividida em três grupos: os nanocristais de celulose (CNC), a celulose microfibrilada (CMF) e a celulose nanofibrilada (CNF), e para cada uma há uma forma de obtenção adequada, o que faz com sejam diferentes entre si em relação a algumas propriedades e também em relação a sua cristalinidade e tamanho (LENGOWSKI, 2016). A nanocelulose também pode diferir de acordo com a fonte e método de obtenção em suas propriedades químicas e em sua estrutura física (BARROS, 2020). A nanocelulose pode ser caracterizada por materiais que apresentem diâmetro entre 1 e 100 nm com comprimentos variáveis, além dessa denominação também podem ser designadas por celulose nanofibrilada, nanofibras

de celulose ou nanofibrilas de celulose, utilizados para nomear compostos celulósicos que contenham pelo menos uma de suas dimensões em escalas nanométricas (POTULSKI, 2016).

A celulose pode ser obtida através de diversas fontes renováveis como por exemplo, a bananeira. Em Pereira (2010), foi utilizado o pseudocaule da bananeira, que seria descartado após a colheita, para obtenção de nanocelulose. Os resultados mostraram que as fibras de nanocelulose obtidas possuíam resistência acima das fibras naturais, e melhor desempenho em relação a degradação oxidativa.

Já em Machado et al. (2012) a celulose foi obtida da fibra de coco. Os resultados apontaram que a celulosa extraída apresentava alta resistência e durabilidade devido à alta concentração de lignina encontrada nas fibras. Além dessas propriedades, o coco é uma fonte de baixo custo e é facilmente encontrada em nosso país (MACHADO et al., 2012).

Em Morais et al. (2013) foi realizada a extração de nanocelulose de linters de algodão, e foi observado uma alta cristalinidade dos cristais de celulose que apresentaram dimensão média de 177 nm de comprimento e 12 nm de diâmetro. Tal resultado sugere uma potencial aplicação desses cristais de celulose na estabilização de emulsões, ou ainda sua utilização como reforço no desenvolvimento de filmes biodegradáveis. Além disso a utilização de linters de algodão torna-se interessante pelo fato do Brasil se tratar de um importante produtor.

Em Xie *et al.* (2020) foi extraída nanocelulose de resíduos de batata doce, para estabilização de emulsões *Pickering*, os resultados apontaram que a nanocelulose apresentou melhor capacidade emulsificante e estabilizante quando comparada com o Tween 80.

Outro exemplo de obtenção de nanocelulose, é aquela nanoestruturada, produzida por bactérias como por exemplo a *Gluconacetobacter*, em que é secretada de forma extracelular em uma espécie de rede de nanofibras. A nanocelulose bacteriana (BNC) possui características como, boas propriedades mecânicas, cristalinidade elevada e boa capacidade de absorção de água o que também torna seu uso interessante em alimentos e também a sua utilização no desenvolvimento de filmes (FISHER et al., 2017).

### 2.3.1 Uso de nanocelulose em emulsões

A nanocelulose tem sido cada vez mais utilizada como estabilizante no desenvolvimento de emulsões. O mecanismo de estabilização através da nanocelulose ou de qualquer outra partícula sólida é conhecido como *Pickering*, em que partículas sólidas de tamanho reduzido atuam na interface líquido-líquido, diminuindo a tensão interfacial (MACHADO, 2019).

Alguns autores já obtiveram resultados satisfatórios na estabilidade das emulsões *Pickering*. O estudo realizado por Kargar et al. (2012) avaliou a estabilização de emulsões *Pickering* com celulose microcristalina e também com amido modificado. Foi possível notar através dos resultados, que ambas as partículas foram capazes de estabilizar as emulsões por 40 dias. Porém um aumento no tamanho das partículas de 0,5% para 2,5%, conseguiu reduzir o tamanho das gotas e também a formação de creme. Também notou-se que a celulose microcristalina foi mais eficiente na redução da taxa de oxidação lipídica do que as partículas de amido modificado.

Já alguns estudos avaliaram o encapsulamento de compostos bioativos, com a utilização de partículas sólidas como, por exemplo, o demonstrado por Machado (2019), que utilizou isolado proteico de ervilha e nanocelulose para estabilização de emulsões elaboradas com óleo essencial de laranja. Neste caso houve, conseqüentemente, o encapsulamento do  $\alpha$ -tocoferol para aplicação em bebidas e desenvolveu-se uma bebida funcional. Além disso, a adição de óleo essencial na emulsão foi responsável por agregar sabor e aroma ao produto final.

As emulsões desenvolvidas com óleo essencial e estabilizadas com nanocelulose podem ser utilizadas, não somente, em produtos alimentícios mas também no desenvolvimento de embalagens como demonstrado no estudo feito por Souza et al. (2021). Os filmes foram desenvolvidos a base de amido e enriquecidos com emulsão *Pickering* estabilizada com nanocelulose e elaboradas com diferentes óleos essenciais, sendo eles o óleo essencial de canela, cardamomo e Ho Wood. Os resultados demonstraram que os filmes possuem potencial para aplicação em alimentos e em geral apresentaram alta estabilidade térmica e uma baixa taxa de transmissão de vapor d'água.

No estudo de Sogut (2020) foram desenvolvidos filmes ativos de proteína de soro de leite, incluindo emulsão de óleo de bergamota estabilizados por

nanocelulose. Os resultados demonstraram que as propriedades mecânicas dos filmes foram melhoradas com a adição da emulsão estabilizada com nanocelulose além de apresentarem estrutura mais homogênea.

O desenvolvimento de nanoemulsões, estabilizadas com partículas sólidas, tem atraído o interesse por parte dos pesquisadores e cada vez mais tem-se utilizado esse processo no encapsulamento de óleos essenciais. Os compostos como a nanocelulose possuem grande potencial de atuação como encapsulante de constituintes de interesse por possuir importantes propriedades, tais como, baixa toxicidade, alta biodegradabilidade, além de apresentar baixa solubilidade e ser o polímero mais abundante e obtido de fonte renovável (CHAUDHARI et al., 2021).

## 2.4 ENCAPSULAÇÃO

A encapsulação pode ser definida como um processo, em que partículas ou gotas do composto que se deseja encapsular, são retidas por um agente encapsulante, formando uma barreira física de proteção contra os fatores externos ao meio em que se encontram. Na área de alimentos, a encapsulação tem auxiliado na preservação de compostos de fácil degradação, ao permitir sua aplicação em processos sem que suas propriedades sejam perdidas. Estes compostos de fácil degradação, em geral são sensíveis à luz, ao oxigênio e a altas temperaturas, como por exemplo, vitaminas, aromas e pigmentos (CAVALCANTI, 2018).

O material revestido na encapsulação é normalmente denominado núcleo, já o material externo é denominado de membrana ou material de parede, e normalmente trata-se de um carboidrato (MACHADO, 2019). A nanoencapsulação permite a liberação controlada do núcleo, de modo gradual até o fim do armazenamento, transporte ou processamento do alimento, aumentando a qualidade, a estabilidade e a vida de prateleira de produtos alimentícios (HOLKEM et al., 2015).

A encapsulação pode ocorrer através de métodos físicos como por exemplo *spray-drying*, liofilização e extrusão. Também pode envolver processos químicos como a inclusão molecular e processos físico-químicos como, gelificação iônica e emulsificação. A escolha da técnica de encapsulação depende da característica do composto a ser encapsulado, do tamanho da partícula que se deseja obter e também da aplicação (SALVADORI et al., 2019).

O processo de encapsulação através da emulsificação, por sua vez, gera cápsulas de tamanho reduzido que podem ser utilizadas para aplicação em diversos processos. A fase dispersa, após o uso de um estabilizante, consegue se manter retida na fase contínua, ou seja o estabilizante atua na interface do composto que se deseja estabilizar (ABURTO et al., 1998).

O interesse por produtos sem conservantes e aditivos tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, devido a isso o foco de muitas pesquisas tem se voltado ao desenvolvimento de alimentos que não utilizem tais substâncias, mas que possuam a mesma qualidade encontrada em produtos convencionais (FENG et al., 2020). Por esse motivo, o encapsulamento de compostos bioativos com propriedades antioxidantes, antibacterianas e com capacidade de prolongar a vida de prateleira torna-se cada vez mais interessante.

## 2.5 EMULSÕES

Uma emulsão é um sistema coloidal constituído por dois líquidos imiscíveis, em sua maioria água e óleo, em que um deles forma gotas, fase dispersa, que ficam distribuídas no outro líquido, fase contínua (MCCLEMENTS, 2005; HAZT et al., 2021). As emulsões são termodinamicamente instáveis e, portanto, tendem a se separar com o tempo e para que isso não ocorra é necessário o uso de compostos chamados estabilizantes, tensoativos ou emulsificantes, que impeçam a separação das fases (GUERRA 2015; MORGAN 2014).

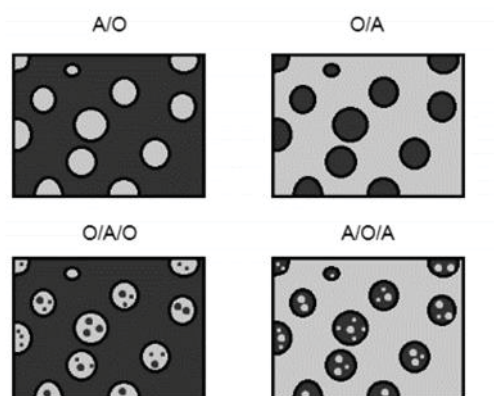
Diversas podem ser as ocorrências de emulsões nas indústrias alimentícias, por exemplo, manteiga, maionese, salsicha e molho para saladas, e também nas cosméticas como no caso de cremes e loções, além de produtos petroquímicos e fármacos (MORGAN, 2014). Muitos outros produtos alimentícios podem, em alguma etapa do processamento, constituir algum tipo de emulsão ou terem passado por um estado emulsionado como por exemplo, bebidas, queijos, cremes e sobremesas (GUERRA, 2015).

### 2.5.1 Classificação das emulsões

As emulsões podem ser classificadas de acordo com a forma em que as fases se encontram, ou seja, quando a fase dispersa é oleosa e a fase contínua

aquosa, trata-se de uma emulsão do tipo óleo em água (O/A) como, por exemplo, a maionese e o leite. Quando a fase dispersa é a fase aquosa e a contínua é a fase oleosa, trata-se de uma emulsão do tipo água em óleo (A/O) no caso a margarina e a manteiga são exemplos desse tipo de emulsão. Essas emulsões são chamadas de emulsões simples, entretanto as emulsões também podem ser múltiplas, que são aquelas formadas por pequenas gotas suspensas em uma gota maior que por sua vez está contida em uma fase contínua, ou seja, é uma emulsão da emulsão. As emulsões múltiplas podem ser do tipo óleo-em-água-em-óleo ou do tipo, água-em-óleo-em-água (MCCLEMENTS, 2005). A FIGURA 1 representa os tipos de emulsões citadas.

FIGURA 1 - EMULSÕES SIMPLES TIPO A/O E O/A; EMULSÕES MÚLTIPLAS TIPO O/A/O E A/O/A



FONTE: Morgan (2014).

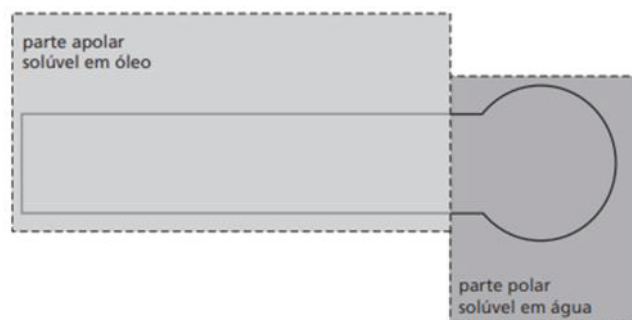
As emulsões também podem ser classificadas de acordo com o tamanho das gotas emulsionadas em macroemulsões e nanoemulsões. As macroemulsões possuem tamanho de gota acima de 1  $\mu\text{m}$  estas são termodinamicamente instáveis, logo tendem a se separar. As nanoemulsões, por sua vez, possuem tamanho de gota de aproximadamente 20 a 200 nm e por isso tendem a ser mais estáveis já que possuem baixa energia interfacial, entretanto suas propriedades podem ser facilmente afetadas por alterações na temperatura ou na composição (BORGES, 2020; SUNDARARAJAN et al., 2018).

### 2.5.2 Estabilidade das emulsões e estabilizantes

A capacidade de uma emulsão de não sofrer mudanças em suas propriedades físicas e sensoriais ao longo do tempo é definido como estabilidade da

emulsão. Para que a estabilidade de uma emulsão seja mantida é necessário que uma combinação adequada da composição da emulsão seja encontrada, sendo necessário o uso de compostos emulsificantes para auxiliar na estabilização das emulsões a longo prazo (FRANZOL et al., 2015). Os emulsificantes ou tensoativos possuem em sua estrutura uma parte hidrofílica capaz de interagir com a fase aquosa e uma parte hidrofóbica capaz de interagir com a fase oleosa, além disso alguns polímeros também podem atuar como tensoativos, como no caso da nanocelulose. A FIGURA 2 representa a molécula de tensoativo em que a barra é referente a fase apolar, enquanto que o círculo refere-se a fase polar.

FIGURA 2 - REPRESENTAÇÃO DE UMA MOLÉCULA DE TENSOATIVO COM SUAS FASES POLAR E APOLAR



FONTE: Daltin (2011).

A escolha do emulsificante ou tensoativo ideal é essencial para que a estabilidade da emulsão seja atingida, quando usado em alimentos é essencial que este seja inodoro, atóxico e não provoque alterações de cor e sabor (FRANZOL et al., 2015). Entre os tipos de emulsificantes pode-se citar os mono e diacilgliceróis, os mono e diacilgliceróis acetilados, os mono e diacilgliceróis fosfatados, os ésteres de propilenoglicol, os ésteres de sorbitana, os ésteres de sacarose, os ésteres de poliglicerol, os ésteres de lactato e a lecitina.

### 2.5.3 Fatores que afetam a estabilidade das emulsões

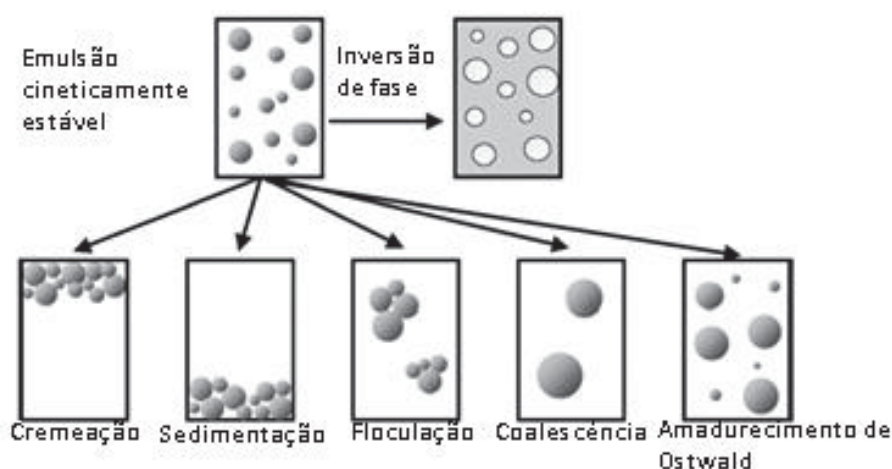
A estabilidade das emulsões pode ser afetada por alguns fatores como por exemplo a forças de van der Waals, a gravidade e o movimento Browniano. Esses fatores são responsáveis por promover a desestabilização das emulsões por

diferentes mecanismos como a cremação, sedimentação, floculação e a coalescência (SCHONS, 2008).

A cremação (*creaming*) trata-se de um dos processos de desestabilização das emulsões e ocorre quando as gotas dispersas possuem densidade menor que a fase contínua. A diferença de densidade faz com que estas migrem para a parte superior da emulsão, ao contrário do que ocorre quando as gotas possuem densidade maior do que a fase contínua, pois neste caso a migração ocorre para a parte inferior da emulsão. Quando a densidade da gota é maior ocorre o processo de desestabilização chamado de sedimentação, sendo que ambos são processos que ocorrem por diferença de densidade entre as fases (FURTADO, 2014; MCCLEMENTS, 2005).

Outros dois mecanismos de separação são a floculação e a coalescência. No caso da floculação ocorre uma aproximação das gotas que tendem a se manterem juntas devido as forças de van der Waals (GRAMATGES, 2018; MCCLEMENTS, 2005). Diferentemente a coalescência trata-se de um processo em que ocorre a aproximação das gotas até que estas se fundem, formem uma gota de tamanho maior, até que seja formada uma fase contínua separada do meio dispersante, ou seja ocorre a quebra da emulsão (FURTADO, 2014). A FIGURA 3 representa cada um dos mecanismos de separação citados.

FIGURA 3 - MECANISMOS DE SEPARAÇÃO DE EMULSÕES



FONTE: McClements (2005).

Outro mecanismo de desestabilização de emulsões é o Amadurecimento de Ostwald, esse fenômeno se dá pela transferência de massa pela fase contínua, em que gotas maiores se formam às custas de gotas menores. A inversão de fases também é tida como uma instabilidade das emulsões e pode ocorrer quando uma emulsão óleo em água passa a ser do tipo água em óleo ou o oposto (MCCLEMENTS, 2007).

#### 2.5.4 Emulsões *Pickering*

As emulsões, por se tratarem de sistemas termodinamicamente instáveis, necessitam do uso de estabilizantes para que não ocorra a separação e cada vez mais tem-se buscado por produtos naturais e não tóxicos. Devido a isso os estudos sobre as emulsões *Pickering* tem chamado a atenção, por consistirem em sistemas líquidos ou semissólidos em que não há o uso de surfatantes pois nesse caso são utilizados partículas sólidas para estabilizar o sistema (FENG et al., 2020). O estudo sobre as emulsões *Pickering* teve início em 1907, mas somente em 1970 as pesquisas sobre esse tipo de sistema foram efetivamente consolidadas na área alimentícia, farmacêutica e cosmética (MARTINS, 2018).

A estabilização através de partículas sólidas permite que a emulsão seja mais estável a longo prazo e mais resistente ao processo de maturação de Ostwald. Nesse caso há uma tendência das partículas de migrarem para a interface da emulsão, formando uma barreira física entre as gotas da fase dispersa (GRAMATGES, 2018).

A FIGURA 4 mostra o mecanismo de atuação das partículas sólidas na interface da gota, comparado com a estabilização convencional feita por surfatantes.

FIGURA 4 - MECANISMO DE ATUAÇÃO DA MOLÉCULA DE SURFATANTE NA INTERFACE E DE PARTÍCULAS SÓLIDAS NA ESTABILIZAÇÃO DE EMULSÕES



FONTE: Adaptado de Martins (2018).

Nas emulsões *Pickering*, as partículas de estabilização possuem um tamanho inferior as gotas da emulsão e, portanto, o tamanho das partículas é um fator de relevância, assim como a molhabilidade (XIA et al., 2021). Além disso, sua estabilidade pode também, estar relacionada a concentração das partículas, como demonstrado por Lv et al. (2021), que em seu estudo desenvolveu emulsões *Pickering* que foram estabilizadas por uma mistura contendo nanofibrilas de celulose e quitina fazendo com que as emulsões ficassem mais estáveis à coalescência

Em Guo et al. (2021) foi observado um aumento na estabilização de emulsões *Pickering* com uma maior concentração de lignina residual, os dados demonstraram que a emulsão apresentou menor tamanho de gota e maior resistência a cremação. Já em Feng et al. (2020) foram utilizadas nanopartículas de gelatina na estabilização da emulsão com 50% de óleo de soja em diferentes concentrações, e foi possível constatar que a concentração de 2% reduziu o tamanho da gota de 69,33  $\mu\text{m}$  para 41,77  $\mu\text{m}$  promovendo conseqüentemente um prolongamento na estabilização da emulsão.

O pH, e a força iônica também são fatores importantes na estabilidade das emulsões *Pickering*, já que as partículas irão atuar na interface da emulsão (DANIEL, 2018). A estabilização das emulsões *Pickering* pode ser afetada pela composição da fase oleosa pelo tipo e tamanho das nanopartículas e pela temperatura (GRAMATGES, 2018). O tipo de partícula utilizada é bastante variável, como por exemplo o uso de sílica, isolado de proteína, nanocelulose, celulose microcristalina, argila, amido, gelatina entre outros (MARTINS, 2018).

Em estudos realizados por Tan et al. (2017), as emulsões *Pickering* foram utilizadas para avaliar a digestão *in-vitro* de  $\beta$ -caroteno encapsulado, e foi possível obter uma retenção de 90% do composto encapsulado após 27 dias de armazenamento, e isso teria se dado devido ao uso de partículas de gelatina na estabilização da emulsão, que retardaram a difusão de radicais livres e pró-oxidantes.

Neste trabalho foi avaliada a digestibilidade das emulsões *Pickering*, elaboradas com óleo essencial de manjeriço e estabilizadas com a nanocelulose obtida do resíduo da extração, afim de observar como a atividade antioxidante atuaria ao longo da simulação. Também foi analisado a atividade antioxidante da emulsão ao longo do tempo de armazenamento sob diferentes temperaturas. Sabe-se que o óleo essencial do manjeriço possui relevante atividade antioxidante,

porém também é conhecido que óleos essenciais, em geral, são compostos sensíveis a processo de degradação, sendo interessante o estudo de formas de preservar suas propriedades.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 OBTENÇÃO E PREPARO DO MANJERICÃO

Para a extração do óleo essencial foram utilizadas folhas frescas de manjericão, selecionadas e sanitizadas com cloro ativo a  $200 \text{ mg kg}^{-1}$ . As amostras foram obtidas em uma propriedade no município de Apucarana, no norte do Paraná, situada a 863 metros de altura com as seguintes coordenadas geográficas: Latitude  $23^{\circ}, 33' 5''$  sul; Longitude a  $51^{\circ} 27' 41''$  a oeste. A colheita foi realizada em janeiro de 2021, mês em que as temperaturas registradas foram de  $22^{\circ}\text{C}$  a  $29^{\circ}\text{C}$  aproximadamente. As folhas foram secas em estufa Lucadema DZ47-63 de circulação forçada de ar a  $40^{\circ}\text{C}$ , por 24 horas. Após a secagem as folhas foram cominuídas em peneira Tyler 12 mesh, tamanho este escolhido para que se obtivesse uma melhor extração do óleo essencial e para que fosse possível recuperar o resíduo sólido após a extração.

#### 3.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

A extração foi feita através do método da hidrodestilação utilizando o aparato Clevenger, neste método o material de interesse é acomodado em uma balão de fundo redondo com água suficiente para encobri-lo e é mantido sob aquecimento. A água evapora arrastando os compostos voláteis presentes, que em seguida se condensam formando as gotas de óleo essencial.

Para a extração do óleo essencial de manjericão uma alíquota de 20 g foi adicionada em um balão de fundo redondo e mantido sob ebulição por 2 horas. As amostras de óleo foram coletadas e armazenadas a  $-18^{\circ}\text{C}$  em freezer até a elaboração das emulsões. A extração foi realizada no laboratório de vegetais do curso de Engenharia de Alimentos no Campus da Universidade Federal do Paraná em Jandaia do Sul.

### 3.3 NANOCELULOSE

#### 3.3.1 Recuperação do resíduo sólido e extração da nanocelulose

Após a remoção do óleo essencial o resíduo sólido do manjeriço foi drenado, recuperado e seco em estufa de circulação forçada de ar a 100°C até massa constante. Posteriormente o resíduo recuperado foi direcionado a um moinho de bola (Splabor SP-38) para redução do tamanho das partículas.

A obtenção da nanocelulose foi realizada no Laboratório de Pesquisa no Campus Avançado da Universidade Federal do Paraná, localizado no município de Jandaia do Sul, situado no interior do estado, e foi baseado no método realizado por Jongaroontaprangsee et al. (2018) e Franco et al. (2019) com as alterações necessárias.

Para tanto, inicialmente foi realizado o tratamento alcalino do resíduo, para isso foram pesados 10 g de amostra seca e adicionado 1,5g de NaOH e 100 mL de água destilada. Essa mistura foi disposta em um Erlenmeyer e mantida sob agitação em banho metabólico orbital tipo Dubnof marca Matoli, a 80°C por 2 horas. Posteriormente as amostras foram lavadas com água destilada com o auxílio de uma peneira e o procedimento foi repetido, mantendo as amostras por mais uma hora sob aquecimento a 80°C com agitação, e realizada lavagem com água destilada.

Em seguida, realizou-se a hidrólise ácida das amostras, para isso foram utilizados 4 mL de ácido acético glacial, 40 mL de hipoclorito de sódio e 150 mL de água destilada, que também foram mantidos a 80°C por uma hora sob agitação. Após esse período as amostras foram lavadas com água destilada e repetiu-se esse processo adicionando 3 mL de ácido acético glacial, 35 mL de hipoclorito e 150 mL de água destilada. Posteriormente, as amostras foram lavadas e centrifugadas a 5000 rpm por 30 minutos, o sobrenadante foi removido e as amostras foram armazenadas sob refrigeração. Ao fim dessa etapa foi obtida a fibra de celulose.

Para obtenção de uma celulose com um menor tamanho de partícula, foi elaborada uma solução aquosa com 50% de ácido acético, que foi adicionada às amostras em uma proporção 1:20 (m/v). A amostra foi aquecida até 80°C e colocada

em homogeneizador Turratec TE -102 Tecnal por 5 minutos a 8.000 rpm. As amostras foram levadas para o banho ultrassônico conjugado onde foram mantidas por 1 hora e, posteriormente, homogeneizadas por 5 minutos. Por fim, as amostras foram lavadas com água destilada até aproximadamente pH 5, centrifugadas por 20 minutos, a 5.000 rpm, e mantidas sob refrigeração até a elaboração das emulsões.

### 3.3.2 Análises da celulose

Após a extração foram realizadas as seguintes análises nas amostras de celulose e nanocelulose: Análise termogravimétrica (TG), Microscopia eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia por energia dispersiva (EDS). As análises foram realizadas em parceria com o laboratório da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) no período de dezembro de 2021 a abril de 2022.

#### 3.3.2.1 Análise termogravimétrica

A análise termogravimétrica (TG) foi realizada a fim de verificar a variação de massa das amostras de celulose e de nanocelulose, quando submetidas a uma temperatura elevada. Para isso foi utilizado um analisador térmico simultâneo STA6000-PerkinElmer, com fluxo de  $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , atmosfera de  $\text{N}_2$  a uma taxa de  $20 \text{ mL min}^{-1}$  com aproximadamente 10 mg de amostras em um cadinho de alumina na faixa de temperatura de  $50^{\circ}\text{C}$  a  $900^{\circ}\text{C}$ .

#### 3.3.2.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) / Espectroscopia por energia dispersiva (EDS)

A morfologia foi observada na microscopia de varredura de elétrons (MEV) com espectroscopia dispersiva de energia (VEGA3—Tescan) equipado com um dispersor de energia Microsom de raios X (EDS). A análise de MEV foi realizada afim de avaliar a morfologia da superfície das amostras e tamanho de partícula. A EDS por sua vez, foi responsável por realizar uma análise qualitativa e semiquantitativa dos elementos químicos presentes na amostra.

### 3.4 EMULSÕES

As emulsões foram elaboradas a 1% (v/v) de óleo essencial, com diferentes concentrações de solução de 10% de nanocelulose, sendo elas 0,05%, 0,1%, e 0,2% (m/m). As concentrações de nanocelulose foram determinadas baseado em dados da literatura como por exemplo Sundararajan et al. (2018) e Feng et al. (2020). Inicialmente as massas de nanocelulose foram solubilizadas e homogeneizadas por 1 minuto. Em seguida, o óleo essencial foi adicionado lentamente e homogeneizado em homogeneizador Turratec a 9.000 rpm por um minuto. As emulsões elaboradas foram mantidas em diferentes condições de armazenamento, sendo que uma duplicata estava a 30°C em BOD, e a outra duplicata mantida sob refrigeração a 8°C.

#### 3.4.1 Análise das emulsões

Após a obtenção das emulsões foram realizadas as seguintes análises: Microscopia ótica e estabilidade, Digestão *in vitro*, Concentração Mínima Inibitória (CMI), Eficiência da Encapsulação e Aspecto visual da emulsão que foram executadas no laboratório de pesquisa do Campus Avançado da UFPR em Jandaia do Sul. Além destas, também foi realizada a análise de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) que foi desenvolvida no laboratório da Central Analítica no Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná no Centro Politécnico em Curitiba.

Também foram observados o tamanho das gotas das emulsões após determinados períodos mantidas sob refrigeração a 8°C e mantidas em temperatura controlada a 30°C, para tanto foi utilizado o software Image J.

Já para elaboração das curvas e avaliação dos demais dados foi utilizado o software Origin, v 8.0.

#### 3.4.2 Concentração mínima inibitória

A análise de atividade antimicrobiana foi realizada pelo método da microdiluição em placas, conforme proposto por Ellof (1998). As amostras das

emulsões elaboradas foram testadas a fim de determinar a concentração mínima inibitória, (CMI) conforme o método adaptado descrito pelo NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*, 2003), das seguintes bactérias: *Klebsiella pneumoniae* (ATCC700600), *Staphylococcus aureus* (ATCC23923) e *Escherichia coli* (ATCC23922). As bactérias foram previamente ativadas em caldo Muller-Hinton (MH) a 35°C por 24 horas, em seguida foram diluídas em solução salina (0,9%) e a concentração foi padronizada de acordo com a turbidez em 0,5 pela escala de McFarland. A análise foi realizada utilizando placa de 96 poços, sendo uma placa para cada uma dos microrganismos. Nos poços da primeira linha foi adicionado 150 µL de caldo MH, 150 µL das emulsões e do óleo essencial e 10 µL das bactérias, porém o óleo essencial adicionado foi diluído em uma concentração de 0,33 µL mL<sup>-1</sup>. Nos poços das linhas seguintes foi utilizado 150 µL de caldo MH, 150 µL da amostra do poço da linha anterior (antes da adição da bactéria) e 10 µL das bactérias. Na primeira coluna da placa foi realizado o controle negativo e o branco. As placas foram incubadas a 35 °C por 48 horas. Para identificação da inibição foi utilizado uma solução de cloreto de trifetil tetrazólio na concentração de 5 mg mL<sup>-1</sup> como indicador, sendo que a presença de coloração indica que houve o desenvolvimento de bactérias. A análise foi realizada em duplicata.

### 3.4.3 Eficiência da Encapsulação ao longo do tempo

A eficiência da encapsulação do óleo essencial através da elaboração da emulsão foi avaliada a partir da determinação da atividade antioxidante das emulsões pelo período de um mês. As emulsões foram mantidas sob condições ambientais controladas, uma parte refrigerada a 4°C e outra em BOD (Caltech) a 30°C. Os mecanismos utilizados para determinação de atividade antioxidante foram FRAP, ABTS e o sistema Beta-Caroteno / Ácido linoleico.

A atividade antioxidante determinada pelo método ABTS foi adaptada de Teixeira (2017) e utiliza a captura do radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico). Para tanto, foram feitas três soluções: uma solução ABTS (7 mM), uma solução de persulfato de potássio (140 mM) e uma solução combinada do radical ABTS, a qual foi mantida protegida da luz por 16 horas e posteriormente diluída em álcool etílico até que se obtivesse a absorvância de 0,70 ± 0,05 em um

comprimento de onda de 734 nm. Uma alíquota de 30 µL de cada extrato diluído em diferentes concentrações foi transferida para um tubo de ensaio e posteriormente foram adicionados 3,0 mL da solução radical ABTS<sup>+</sup>. Após homogeneização, a absorbância foi medida em um comprimento de onda também de 734 nm, em espectrofotômetro UV-Vis (Drawel DV 8200). A curva padrão foi obtida com trolox em concentrações entre 100 e 2000 µM.

A atividade antioxidante pelo método β-caroteno/ácido linoleico, é um método baseada na atividade de inibição de radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoleico. Para isso foram adicionados adicionando-se 10 mg de β-caroteno em um balão de 10 mL e completando o volume com clorofórmio. Em seguida foi preparada uma emulsão com 50 mg de ácido linoleico, 0,2 mL de Tween 20, 1 mL de solução de β-caroteno. Essa solução foi levada ao rotaevaporador por 10 minutos, a 35°C, para remoção do clorofórmio. Em seguida foi adicionado água destilada, para formação de uma emulsão límpida com absorvância entre 0,6 e 0,7 nm.

Por fim, a emulsão β-caroteno/ácido linoleico foi adicionada em tubos de ensaio juntamente com 0,5 mL da amostra diluída, a leitura foi realizada imediatamente após o preparo no comprimento de onda de 470 nm. Em seguida os tubos foram mantidos a 50°C por 120 minutos e então realizou-se novamente a leitura. A amostra controle foi preparada com metanol e o método foi realizado conforme descrito por (Rufino et al., 2006a). Para determinação da atividade antioxidante foi utilizada a seguinte equação:

$$AAT = 1 - \frac{(abs_i - abs_{FT})}{(abs_i - abs_f)}$$

Em que:  $abs_i$  é a absorvância inicial;  $abs_{FT}$  é a absorvância final do trolox e  $abs_f$  é a absorvância final das amostras, após 2 horas a 50°C.

Já para o método FRAP, que utiliza o mecanismo de redução do ferro, preparou-se uma solução reagente FRAP com tampão acetato, uma solução de TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina) e cloreto férrico, que foi utilizada imediatamente após o preparo. Também foram preparadas 3 diluições diferentes de cada amostra e adicionadas 90 µL de cada diluição em tubos de ensaio, 270 µL de água destilada e

2,7 mL de reagente FRAP, que foram homogeneizados e mantidos em banho maria a 37°C por 30 minutos. Em seguida, foi realizada a leitura das amostras a uma absorvância de 595 nm. A curva padrão foi elaborada com sulfato ferroso em quatro concentrações diferentes que variam de 500 a 2000 µM e o reagente FRAP foi utilizado como branco para calibrar o espectrofotômetro. O método foi realizado conforme descrito por (Rufino et al., 2006).

#### 3.4.4 Digestão *in vitro*

A digestão simulada foi realizada afim de observar a preservação dos compostos ao longo das etapas de digestão. Para isso foram preparadas 3 amostras distintas das emulsões: 0,025, 0,05 e outra com 0,1 g de nanocelulose, que foram imediatamente testadas na fase oral, gástrica e intestinal.

Na fase oral, a solução simulada de saliva foi elaborada utilizando 0,2% de  $\alpha$ -amilase, dissolvidos em tampão fosfato de sódio com pH de aproximadamente 6,8. Já o suco gástrico foi preparado utilizando 3 g L<sup>-1</sup> de pepsina em uma solução de cloreto de sódio com concentração de 9 g L<sup>-1</sup> e nesta etapa o meio foi acidificado até pH 3 com HCl 0,1 N. Para a fase intestinal foi necessário uma solução com 3 g L<sup>-1</sup> de sais biliares e 10 g L<sup>-1</sup> de pancreatina em uma solução tampão de fosfato de sódio e pH 7 com NaOH 0,1 N.

Após o preparo das soluções 10 mL de cada amostra foram dispostos em Erlenmeyers de 125 mL e colocados em incubadora tipo Shaker (Tecnal TE-4200) por 5 minutos, a 37°C e 100 rpm de agitação, juntamente com a solução simulada de saliva. Após isso uma alíquota de 5 mL de amostra foi retirada e congelada imediatamente para parar a reação, para posterior análise. Na fase gástrica, após a adição da solução, as amostras permaneceram por 60 minutos nas condições iniciais, e na fase intestinal, após a adição da solução, as amostras permaneceram por 240 minutos, sendo que as alíquotas de 5 mL foram retiradas ao fim dos 60min, 120 min e 240 min.

As amostras retiradas foram posteriormente avaliadas em relação a sua atividade antioxidante pelo método FRAP e pelo método ABTS já mencionadas no item “Eficiência da encapsulação”.

#### 3.4.5 Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

O DSC foi utilizado nas emulsões para avaliar a estabilidade térmica através da medição da desnaturação térmica dessa amostra, quando submetida a uma taxa de calor constante. É uma técnica útil para detectar a solidificação, cristalização, e processos de fusão de compostos presentes em emulsões. Como os comportamentos térmicos das emulsões estão relacionados com as suas propriedades, os termogramas obtidos podem ser usados para avaliar algumas propriedades. (MIAO, 2014). Neste trabalho foi utilizado uma alíquota de 5,89 mg de amostras com um fluxo de  $5^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , sendo que a temperatura inicial foi de  $10^{\circ}\text{C}$  e a temperatura final  $135^{\circ}\text{C}$ .

#### 3.4.6 Microscopia óptica

A microscopia óptica foi utilizada para observar as emulsões logo após preparo e após 45 e 90 dias, afim de notar possíveis variações na sua estabilidade em função da distribuição e tamanho das gotas das emulsões foi utilizada uma aproximação de 400 vezes em um Microscópio.

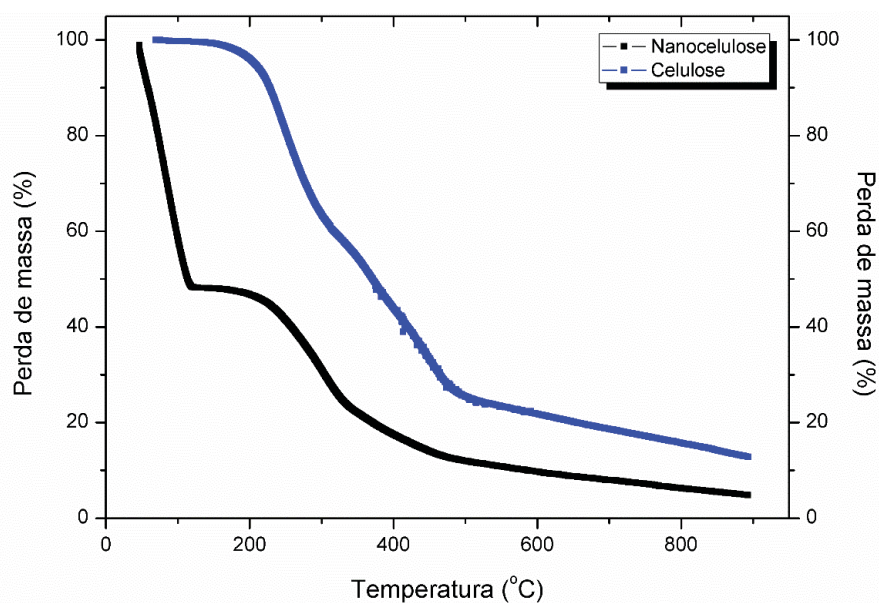
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 NANOCELULOSE

#### 4.1.1 Análise termogravimétrica

A análise termográfica foi realizada a fim de analisar as propriedades térmicas das amostras de celulose e nanocelulose. A FIGURA 5 apresenta as curvas de comportamento térmico da celulose e da nanocelulose obtidas do resíduo do manjeriço.

FIGURA 5 – CURVAS TG DAS AMOSTRAS DE CELULOSE E NANOCELULOSE NA TEMPERATURA DE 0°C A 900°C



Fonte: A autora (2022).

Em relação as curvas para a celulose e para a nanocelulose, pode-se observar que em geral na faixa de temperaturas que vai até 100°C, as amostras apresentaram perdas de massa relacionadas provavelmente a desidratação devido à perda de umidade, mas que ocorreram de formas distintas, devido a diferenças na estrutura de cada uma delas

Entre 200 e 350°C é observado uma perda considerável de massa na curva que representa a celulose, nessa faixa de temperatura é observado a degradação da celulose, que ocorre devido a decomposição de unidades

glicosídicas, a desidratação e a despolimerização, também acredita-se que tenha ocorrido a degradação da hemicelulose, que em geral pode acontecer na faixa de temperatura em torno de 275°C, como demonstrado por Rosa et al., (2010). Já entre 350 e 450°C é observado uma perda mais acentuada de massa que pode ser devido à perda parcial da lignina.

De acordo com Yang *et al.* (2007) a decomposição da lignina pode ocorrer em uma faixa ampla de temperaturas, podendo ser de 200°C até 700°C. Em um estudo que avaliou as características de pirólise da celulose, da hemicelulose e da lignina obtidos de forma comercial, através da análise termogravimétrica, os resultados apontaram diferenças significativas na decomposição de cada um dos compostos, sendo que a hemicelulose foi mais facilmente degradada em uma faixa de temperatura de 220 a 315°C.

Pode-se observar que a celulose, apresentou uma maior resistência à degradação térmica. Isso sugere que uma maior quantidade de estruturas de celulose não tenham tido contato com o ácido acético o que agrega uma maior resistência térmica à amostra. Além disso, a celulose também possui um maior tamanho de suas estruturas, sem tantas extremidades livres como na nanocelulose, dificultando a decomposição térmica (SEIXAS, 2019).

A nanocelulose demonstrou ser mais sensível a decomposição quando comparada à celulose. Isto pode estar relacionado ao fato de a nanocelulose apresentar uma maior quantidade de cadeias de extremidade livre devido ao menor tamanho das partículas, o que permite que a decomposição ocorra mais facilmente. Além disso, a etapa de branqueamento com a adição de NaOH promove a remoção da hemicelulose e também pode interferir na presença de lignina, que possui elevada temperatura de decomposição.

Portanto, a remoção da hemicelulose e de parte da lignina, faz com que a temperatura de degradação da amostra seja reduzida, como demonstrado em Rosa et al. (2010), onde foi notado uma redução na temperatura de degradação de amostras de celulose obtidas da fibra da casca de coco, que passaram por etapas de branqueamento com NaOH.

Já entre 150 e 300 °C também é notado uma faixa de degradação, mais acentuada na curva que representa a nanocelulose. Acredita-se que nessa faixa de temperatura possa ocorrer a decomposição de resíduos de celulose ou ainda

de hemicelulose que permaneceram na amostra por não terem sido removidas na etapa de hidrólise ácida e no tratamento final.

Em Xu et al. (2018), foram obtidas nanopartículas de celulose extraídas com líquido iônico para a incorporação em filmes de amido. A caracterização das nanopartículas pela análise termogravimétrica, demonstrou que a celulose se decompõe principalmente na temperatura de aproximadamente 250°C, similar ao encontrado nesse trabalho.

De forma geral, pode se notar que a degradação térmica de ambas as amostra é influenciada pelo processo de extração, já que este, por sua vez, influencia diretamente nas estruturas das amostras. A celulose apresentou uma degradação mais lenta, abrangendo uma ampla faixa de temperatura de degradação, o que sugere então que esta seja mais resistente que a nanocelulose, quando submetida a altas temperaturas.

#### 4.1.2 Microscopia eletrônica de varredura

A análise MEV permitiu a observação da superfície das amostras de celulose e de nanocelulose de forma a avaliar a estrutura de ambas. A FIGURA 6 mostra o registro feito da superfície da amostra de celulose em uma aproximação de 100 vezes e também na aproximação de 1.000 vezes. Pelos resultados obtidos é possível notar que a superfície da celulose se apresenta de forma mais irregular, com fibras de formatos variados e em tamanhos mais longos. Já a FIGURA 7 representa a superfície da amostra de nanocelulose nas mesmas aproximações citadas, e é possível notar a presença de fibras com tamanho reduzido, com aspecto cristalino, característica essa, comum de fibras de nanocelulose.

Essa diferença pode, principalmente estar relacionada a remoção de compostos como a lignina que é facilmente removida na presença de temperatura elevada e clorito, o que foi utilizado na extração da celulose e da nanocelulose.

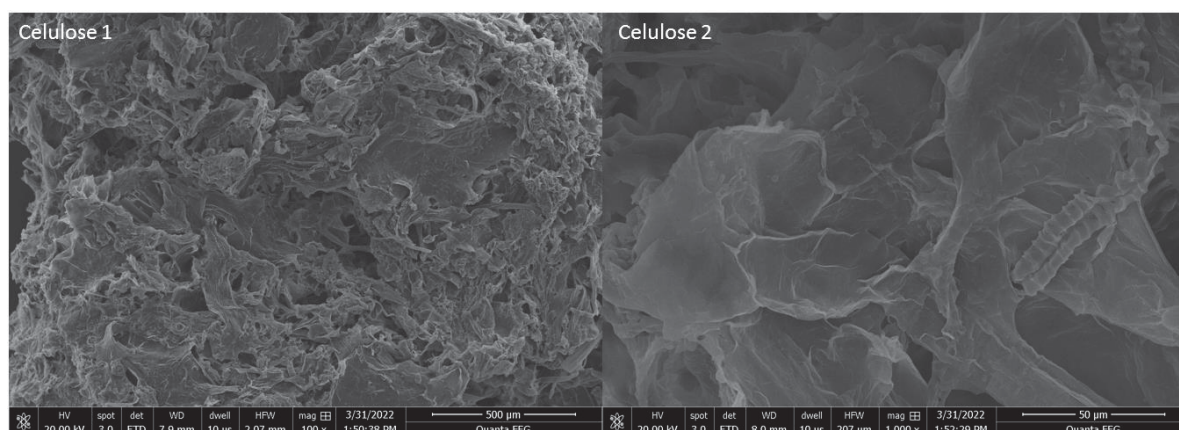
Essa remoção da lignina foi mencionada em um estudo feito por Barros (2020), que realizou a síntese e a caracterização de celulose obtida de folhas de abacaxi. A análise MEV apresentou desigualdades relevantes entre as imagens obtidas para a fibra *in natura* e para as fibras e de celulose. A fibra *in natura*

possuía aparência com formato mais lamelar, mais alongado e mais lisa, diferentemente da amostra de celulose que apresentava um formato lamelar curto e com aparênciamais rugosa.

Outro fator a ser levado em consideração, em relação as diferenças avaliadas entre a celulose e nanocelulose, é o processo mecânico pelo qual essa amostra é submetida. A nanocelulose passa por uma etapa de homogeneização e também é mantida em banho ultrassônico o que pode promover alterações em sua estrutura. Na estrutura da celulose pode-se observar alguns pontos com aglomerados de fibras, na nanocelulose por outro lado esses emaranhados apresentam-se de forma mais dispersa, o que sugere que o tratamento mecânico dessa amostra, tenha promovido um rompimento nas ligações de celulose.

No caso da nanocelulose, podemos notar que houve um aumento na área superficial da amostra, porém o tamanho das partículas não está igualmente distribuído, tendo partículas de tamanho muito menor que as presentes na celulose. A presença de partículas maiores, mesmo após a hidrólise, pode ser justificado por falhas na etapa de homogeneização final da fibra de celulose, ou mesmo na realização de uma hidrólise mais branda do que a necessária. Devido à presença de partículas com pequeno diâmetro, ou pequena espessura, este material foienominado nanocelulose em todo este trabalho.

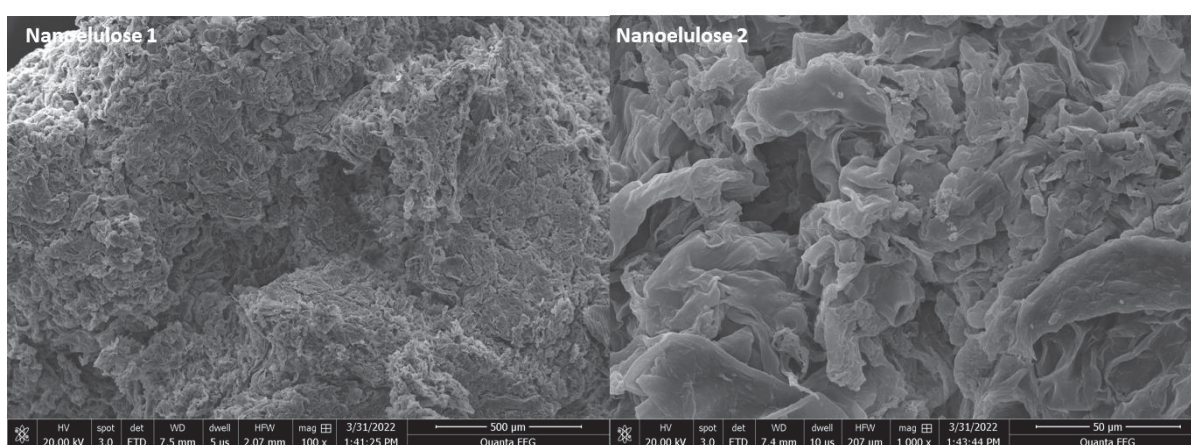
FIGURA 6 - MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DAS AMOSTRAS DE CELULOSE 1 NA APROXIMAÇÃO DE 100 VEZES E CELULOSE 2 NA APROXIMAÇÃO DE 1000 VEZES



Fonte: A autora (2022).

O estudo feito Wu et al. (2021), preparou e caracterizou a nanocelulose obtidas do processamento do óleo de soja desenvolvidas sob diferentes tratamentos de sonicação ou homogeneização de alta pressão. A análise MEV, mostrou que as amostras que foram submetidas a tratamentos mecânicos de alta pressão ou sonicação apresentaram fibras mais finas do que as fibras não submetidas a esses tratamentos. As imagens também mostraram que os tratamentos mecânicos promoveram uma certa erosão nas fibras.

FIGURA 7- MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DAS AMOSTRAS NANOCELULOSE 1 NA APROXIMAÇÃO DE 100 VEZESE NANOCELULOSE 2 NA APROXIMAÇÃO DE 1.000 VEZES



Fonte: A autora (2022).

Os resultados obtidos a partir da análise MEV mostraram que o tipo de tratamento e processo mecânico ao qual é submetido, são fatores que podem afetar a estrutura da celulose bem como da nanocelulose que se deseja obter. O tratamento mecânico ao qual essa amostra foi submetida, pode ter auxiliado na redução das fibras de celulose, promovendo assim uma redução no tamanho das partículas, que pode ser observado na FIGURA 7, da nanocelulose. Esse fato deve ser levado em consideração, principalmente pelo ponto de vista da aplicação da nanocelulose obtida, sabe-se que no caso emulsões quanto menor o tamanho, melhor será sua atuação na interface óleo-água de tal forma que espera-se que melhor seja a estabilização dessa emulsão.

#### 4.1.3 Espectroscopia por dispersão de energia

Pode-se observar uma variação nas amostras em relação a composição. A amostra de celulose apresentou em sua composição a presença do composto cálcio (Ca), diferentemente da amostra de nanocelulose em que não foi identificada a presença do mesmo. A TABELA 1 apresenta os dados obtidos no que se refere a composição das amostras de celulose e nanocelulose.

Em ambas as amostras foi constatado a presença de sódio e cloro. A presença de tais compostos provavelmente está relacionado ao processo de extração da celulose e da nanocelulose, já que foi utilizado hipoclorito de sódio para realizar o branqueamento das amostras.

Em ambas as amostras foi constatado a presença de sódio e cloro. A presença de tais compostos provavelmente está relacionado ao processo de extração da celulose e da nanocelulose, já que foi utilizado hipoclorito de sódio para realizar o branqueamento das amostras.

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA MÉDIA DA NANOCELULOSE E DA CELULOSE

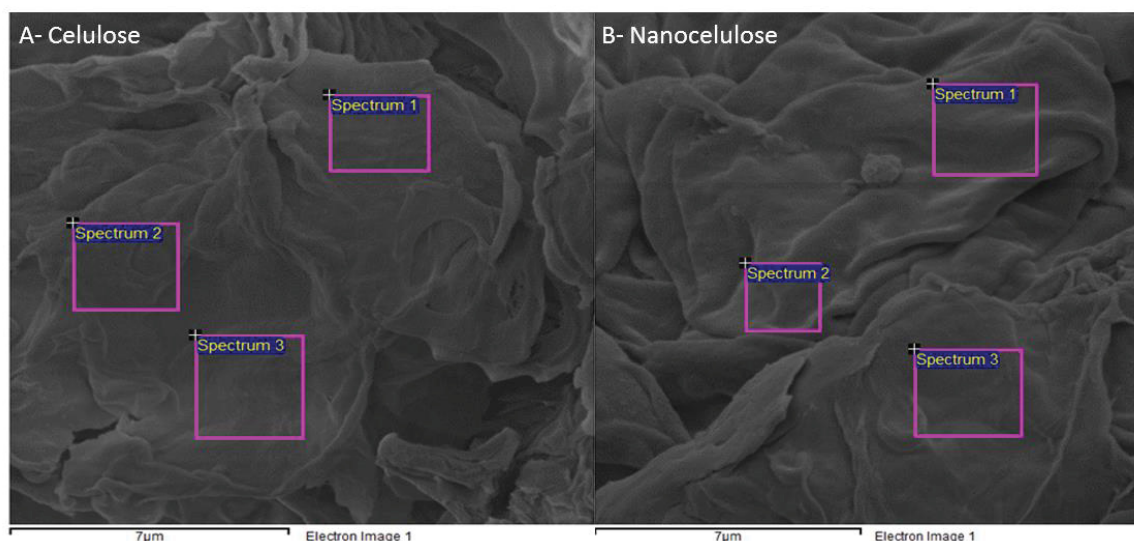
Amostra	Composição			
	C	O	Na	Cl
Celulose	69,53	16,95	0,47	12,1
Nanocelulose	80,17	16,16	0,16	3,54

FONTE: A autora (2022).

Outra diferença em relação a composição está na presença de carbono. A nanocelulose apresentou um maior percentual de carbono quando comparado com a celulose. Por outro lado no caso do oxigênio, a amostra de celulose apresentou um percentual um pouco mais elevado. A presença desses elementos pode estar relacionados ao hidrólise ácida realizada com ácido acético glacial ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), já que resíduos desse composto podem ter permanecido na amostra.

Sabe-se que a celulose é constituída basicamente por carbono, hidrogênio e oxigênio. Logo sugere-se que o uso do ácido acético glacial tenha aumentado a presença de oxigênio e carbono. As FIGURAS 8A e 8B, mostram as imagens de superfície obtidas para a celulose e para a nanocelulose respectivamente.

FIGURA 8 - FIGURA 8A REPRESENTA OS ESPECTROS 1, 2 E 3 EM UMA ESCALA DE 7UM DA AMOSTRA DE CELULOSE. FIGURA 8B - ESPECTROS 1, 2 E 3 OBTIDOS NA ANÁLISE DE ESPECTROSCOPIA POR ENERGIA DISPERSIVADA NANOCELULOSE, EM UMA ESCALA DE 7 $\mu$ M



FONTE: A autora (2022).

Em relação as imagens de superfície de cada uma, que são fornecidas pelas FIGURAS 8A e 8B da celulose e da nanocelulose respectivamente, pode-se perceber que a celulose apresentou uma superfície mais regular, diferentemente da nanocelulose que apresentou espectros com aparência não uniforme quando comparada a celulose. Isso pode ser justificado pelo processo mecânico ao qual a nanocelulose é submetida, que pode promover uma redução no tamanho das fibras da celulose.

## 4.2 EMULSÕES

A análise CMI permitiu observar o efeito das emulsões A, B e C elaboradas com 0,05%, 0,1% e 0,2% de nanocelulose e 1% de óleo essencial de manjeriço, em relação a inibição do crescimento microbiano para três bactérias avaliadas.

No caso da *Klebsiella pneumoniae*, foi observado inibição do desenvolvimento bacteriano nas concentrações de 0,48 mg mL<sup>-1</sup> para a amostra A e na concentração de 0,24 mg mL<sup>-1</sup> para as amostras B e C, ou seja, a amostra A só foi capaz de inibir o desenvolvimento da *K. pneumoniae* em uma concentração mais elevada. O mesmo foi avaliado para a *E. coli*, em que as amostras B e C, (0,1 e 0,2% de nanocelulose), foram capazes de inibir seu desenvolvimento em

concentrações inferiores a amostra A, que continha 0,05% de nanocelulose, ou seja uma menor concentração.

Tal fato sugere que a adição de nanocelulose, pode ajudar a manter a propriedade antimicrobiana do óleo essencial do manjeriço emulsionado. Já para a *S. aureus*, foi notado que houve inibição do seu desenvolvimento nas concentrações de 0,48 mg mL<sup>-1</sup> no caso da amostra A e 0,12 mg mL<sup>-1</sup> nas amostras B e C. A TABELA 2 apresenta as concentrações que foram capazes de inibir o desenvolvimento dos microrganismos avaliados.

TABELA 2 – CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA DOS TRÊS MICRORGANISMOS AVALIADOS PARA AS EMULSÕES COM 0,05, 0,1 E 0,2% DE NANOCELULOSE

Microrganismo	Concentração Mínima Inibitória (mg mL <sup>-1</sup> )		
	A (0,05%)	B (0,1%)	C (0,2%)
<i>Escherichia coli</i>	0,48	0,24	0,24
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,48	0,12	0,12
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,48	0,24	0,24

FONTE: A autora (2022).

De modo geral a elaboração de uma emulsão com o óleo essencial de manjeriço, não impede que o óleo essencial atue na inibição do desenvolvimento dos microrganismos. Ou seja a adição de nanocelulose para estabilizar as emulsões, de fato auxilia na preservação das propriedades do óleo, e que, neste caso a concentração de nanocelulose utilizada na emulsão também pode auxiliar em um efeito antimicrobiano mais eficaz. Pode-se perceber que as emulsões B e C, com concentrações mais elevadas de nanocelulose, foram capazes de inibir o desenvolvimento de todos os microrganismos em concentrações inferiores as da amostra A, que continha 0,05% de nanocelulose.

O óleo essencial não emulsionado, foi utilizado como controle, diluído em água destilada em concentrações mais baixas que as emulsões. Pode-se notar desenvolvimento bacteriano em todos os poços, isso se deve provavelmente ao fato da concentração do óleo se apresentar inferior, comparada com as emulsões. O mesmo foi observado na solução de nanocelulose (1 mg mL<sup>-1</sup>) e também nos poços que continham somente o caldo (MH). Portanto observou-se

que a atividade antimicrobiana está relacionada às emulsões e não aos demais compostos presentes nas mesmas. Mostrou-se também que, para que haja uma melhor inibição do desenvolvimento bacteriano é necessário que sejam elaboradas emulsões com a concentração ideal de nanocelulose.

Estudos relatam que os óleos essenciais têm maior capacidade de inibir o crescimento de bactérias Gram-positivas do que bactérias Gram-negativas devido a diferenças nas paredes celulares. Já a atividade antimicrobiana se deve principalmente a compostos bioativos como os compostos fenólicos, que formam complexos com proteínas extracelulares, que, além de inibir a atividade enzimática, podem causar ruptura da parede celular (COWAN, 1999; NURMAHANI et al. 2012).

Esse comportamento também foi verificado por Hussain et al. (2008), em que tanto o teste de microdiluição como o teste de difusão em disco mostraram que *B. subtilis* e *S. aureus*, são sensíveis ao óleo essencial de *Ocimum basilicum* mesmo em concentrações inferiores sendo que ambas tratam-se de bactérias Gram-positivas. O mesmo fato foi observado nesse trabalho, em que pode-se notar a inibição da *S. aureus* na concentração de 12 mg mL<sup>-1</sup>. Já a *E. coli* e a *K. pneumoniae* são bactérias do grupo do Gram-negativos, e de fato demonstraram ser mais resistentes a emulsão de óleo essencial de manjeriço.

Outro fator que pode influenciar na atividade antibacteriana dos óleos essenciais está relacionado à presença de monoterpenos, que podem inibir a respiração celular e a transmissão de íons aos microrganismos (DEBA et al., 2008; SHARAFATI-CHALESHTORI et al., 2015).

De acordo com Zhou et al. (2018) o óleo essencial do orégano possui interessantes propriedade antibacteriana, e o mesmo foi observado nas emulsões *Pickering* que foram elaboradas com óleo essencial de orégano e estabilizadas com nanocristais de celulose. A atividade foi avaliada de pelo método da diluição em caldo, utilizando quatro bactérias distintas sendo elas *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* e *Saccharomyces cerevisiae*, os resultados demonstraram que a emulsão foi eficiente na inibição da *Staphylococcus aureus* e também da *Escherichia coli*.

Já em um estudo elaborado por Sundararajan et al. (2018) foram elaboradas nanoemulsões com o óleo essencial de manjeriço e estabilizadas com

polissorbato 80, e sua propriedade antibacteriana foi avaliada. O método utilizado, foi o da microdiluição com placas de 96 poços sendo que as bactérias avaliadas foram *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella paratyphi*, e *Klebsiella pneumoniae*.

Os testes apontaram que as nanoemulsões exibiram atividade antimicrobiana tão eficientes quanto do óleo essencial puro, no caso da *Salmonella paratyphi*, a CMI do óleo puro foi de  $15 \mu\text{g mL}^{-1}$  enquanto que para a emulsão a CMI foi de  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$  ou seja, uma concentração inferior da nanoemulsão com óleo essencial de manjeriço foi capaz de inibir o desenvolvimento dessa bactéria. No caso da *Klebsiella pneumoniae*, tanto a CMI do óleo essencial puro quanto da emulsão foram  $15 \mu\text{g mL}^{-1}$ , neste trabalho o menor CMI capaz de inibir o desenvolvimento dessa mesma bactéria foi  $120 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

Em Tang et al, (2022) foi avaliada a atividade antimicrobiana frente a frango resfriado de emulsões de óleo essencial de gengibre estabilizadas com zeína e caseinato de sódio (Nacas) sendo que seus resultados apresentaram inativação da *S. aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* com o uso da nanoemulsão de óleo essencial de gengibre. Além disso quando testadas em peito de frango resfriado as nanoemulsões apresentaram resultados superiores ao do óleo essencial não emulsionado.

Outro estudo, realizado por Huang et al. (2021), elaborou emulsões de óleo essencial de cedro estabilizadas com amido modificado. Por se tratar de um óleo muito volátil e pouco solúvel, a elaboração de uma emulsão se mostrou viável, apresentando uma atividade antimicrobiana superior ao próprio óleo essencial de cedro, pelo método da difusão em disco de papel contra *Proteus vulgaris*, que se propaga facilmente em alimentos podendo causar toxinas. A emulsão *Pickering* com amido modificado demonstrou também atividade antimicrobiana superior à da emulsão estabilizada com Tween 80.

Os estudos já citados corroboraram com o fato de que elaborar uma emulsão com óleos essenciais, não interfere nas propriedades antibacterianas desses óleos, ao contrário podem evidenciar essa propriedade. Foi possível utilizar uma concentração menor de óleo essencial na elaboração da emulsão que ainda assim foi capaz de inibir o desenvolvimento das bactérias avaliadas.

Outro fator relevante é que essas emulsões podem ser aplicadas na preservação de alimentos como relataram alguns trabalhos mencionados, auxiliando na inativação de microrganismos patogênicos que são responsáveis por causar intoxicações alimentares como no caso do *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, e *Klebsiella pneumoniae*.

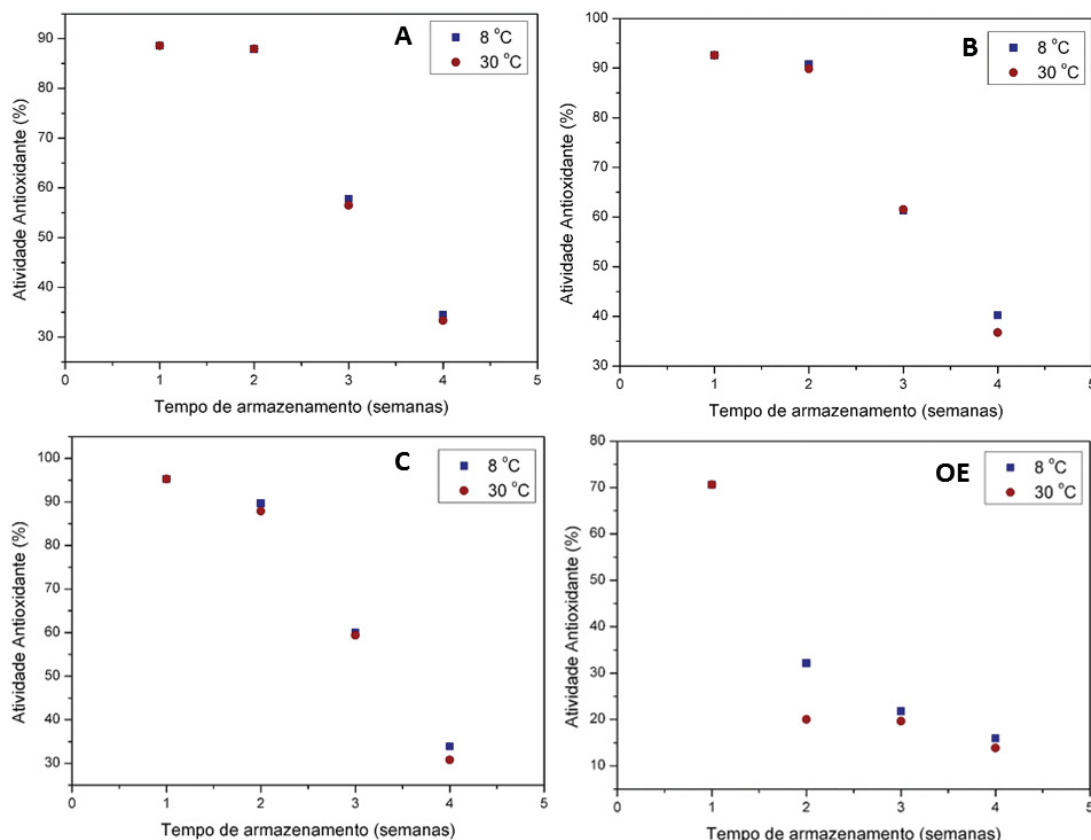
#### 4.2.1 Eficiência da encapsulação ao longo do tempo

As FIGURAS 9, 10, e 11 referem-se a atividade antioxidante obtida no período de 4 semanas, pelos métodos da inibição da oxidação do Beta Caroteno/Ácido linoleico, FRAP e ABTS, respectivamente. Amostra A trata-se de emulsão com 0,05% (m/m) de nanocelulose, B emulsão elaborada com 0,1% (m/m) de nanocelulose e C emulsão com 0,2% (m/m) de nanocelulose e OE óleo essencial não emulsionado.

A atividade antioxidante, determinada pelo método da inibição da oxidação do  $\beta$ -Caroteno/Ácido linoleico, apresentou um resultado muito similar para as emulsões preparadas nas três concentrações de nanocelulose e nas duas temperaturas de armazenamento, 30°C e 8°C. Isso pode sugerir que a menor concentração de nanocelulose já é eficiente na preservação do potencial do óleo essencial emulsionado, tornando-o mais estável quando submetidos a diferentes temperaturas.

Também pode-se constatar que entre a primeira e segunda semana a atividade antioxidante se manteve praticamente constante, para todas as amostras emulsionadas, independente da forma de armazenamento, o que não ocorreu para o óleo essencial, que foi degradado significativamente já na segunda semana. Após a segunda semana houve uma diminuição gradual da atividade antioxidante.

FIGURA 9 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MECANISMO SISTEMA  $\beta$ -CAROTENO/ÁCIDO LINOLEICO DAS AMOSTRAS DE EMULSÃO. AS AMOSTRAS A, B E C REFEREM-SE AS AMOSTRAS ELABORADAS COM 0,05%, 0,1% E 0,2% DE NANOCELULOSE RESPECTIVAMENTE. A AMOSTRA OE, REFERE-SE A AMOSTRA DE ÓLEO ESSENCIAL DILUÍDA NA CONCENTRAÇÃO DE 0,33  $\mu\text{L mL}^{-1}$ .



Fonte: A autora (2022).

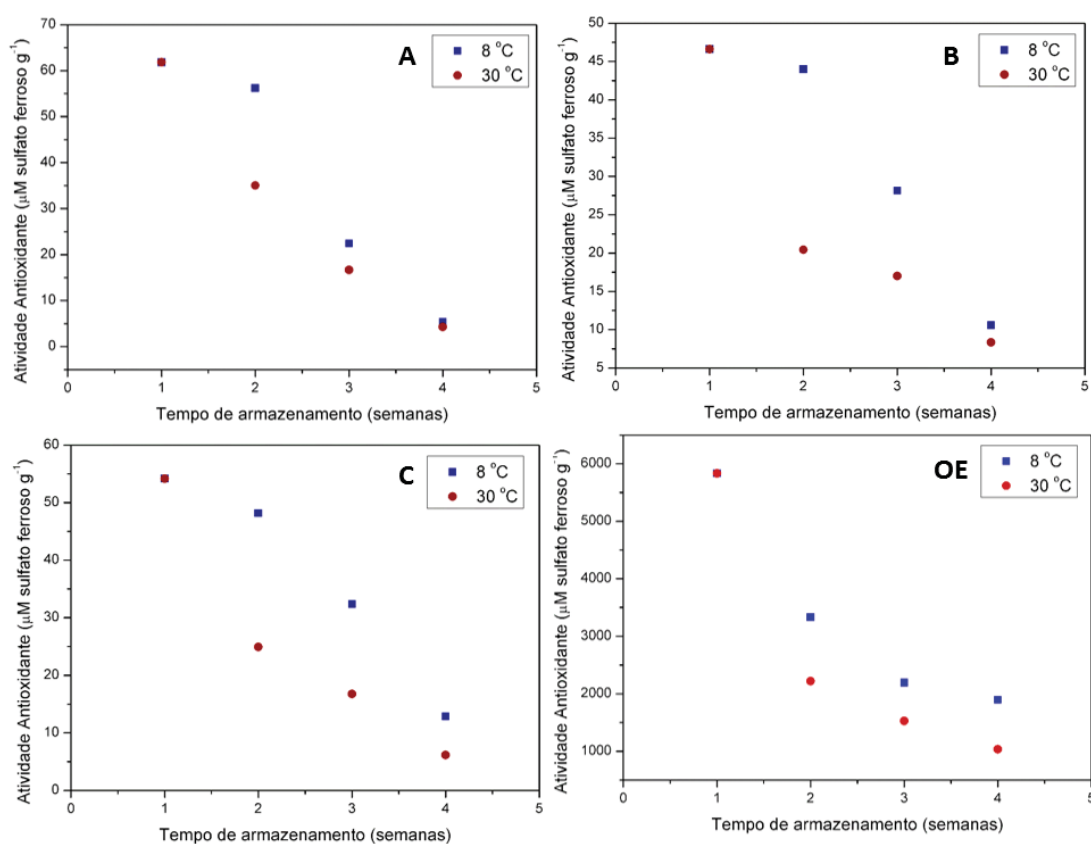
Pelo mecanismo FRAP (FIGURA 10) foi possível observar que as amostras armazenadas, sob refrigeração, apresentaram uma maior resistência a perda da atividade antioxidante quando comparada com as amostras acondicionadas sob temperatura de 30°C. Na temperatura mais alta (30°C) foi possível visualizar que as amostras apresentaram atividade antioxidante inferior, que foi se reduzindo de forma mais acentuada ao longo do tempo. A amostra A, demonstrou uma maior tendência a oxidação, indicando que a concentração de nanocelulose utilizada não foi suficiente para atuar na interface da emulsão e auxiliar na sua estabilização ao longo do tempo.

As amostras B e C, com 0,1 e 0,2% de nanocelulose respectivamente, apresentaram resultados similares e melhores do que a amostra A, indicando com

uma maior concentração de celulose, atuou de forma mais eficiente para inibir a oxidação das amostras.

Já o óleo essencial não emulsionado, demonstrou ser facilmente degradado, já na segunda semana de análise, principalmente quando mantido a 30°C, assim como também foi observado pelo método do Sistema  $\beta$ -Caroteno/Ácido linoleico.

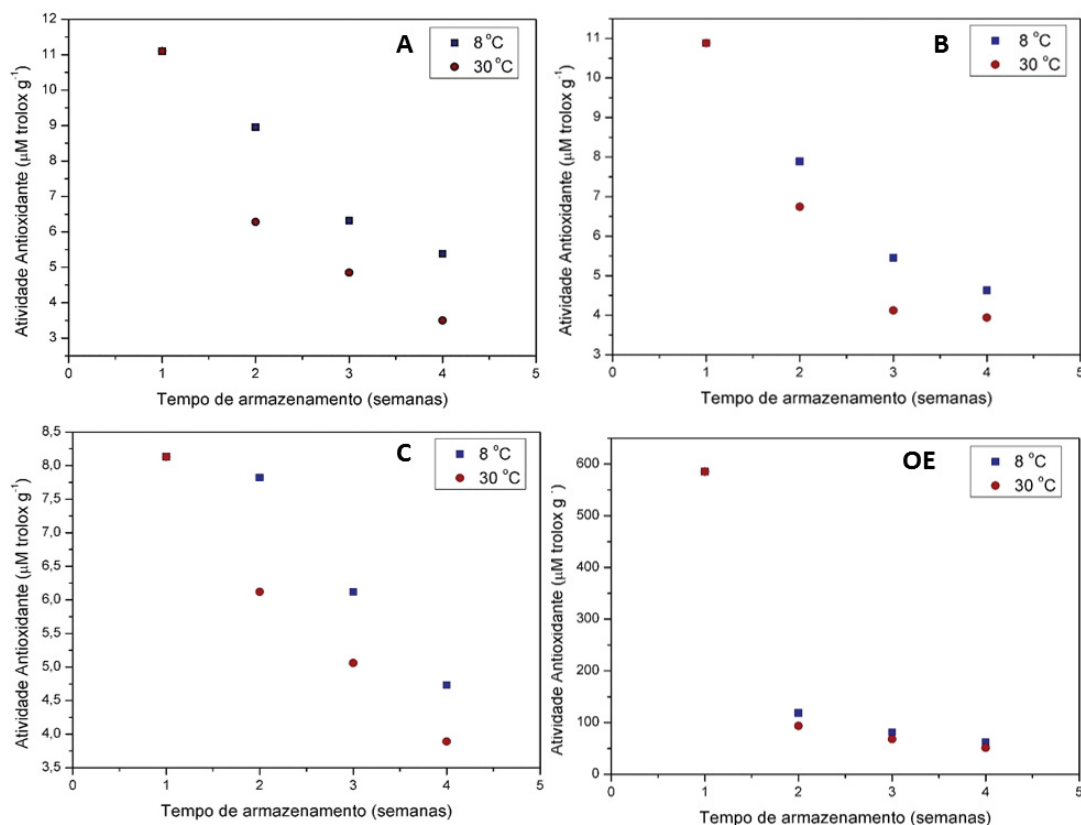
FIGURA 10 – ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MECANISMO DE REDUÇÃO DO FERRO (FRAP) DAS AMOSTRAS DE EMULSÃO. SENDO QUE AS AMOSTRAS A, B E C REFEREM-SE AS AMOSTRAS ELABORADAS COM 0,05%, 0,1% E 0,2% DENANOCELULOSE RESPECTIVAMENTE. A AMOSTRA OE, REFERE-SE A AMOSTRA DE ÓLEO ESSENCIAL DILUÍDA NA CONCENTRAÇÃO DE 0,33  $\mu\text{L mL}^{-1}$ .



Fonte: A autora (2022).

Os resultados da análise antioxidante pelo mecanismo ABTS apresentaram comportamento similar aos obtidos pelo FRAP. Neste caso a amostra A também demonstrou ser mais susceptível a oxidação do que as amostras B e C. O mesmo comportamento do mecanismo FRAP também foi observado para o óleo essencial, que neste caso apresentou uma diminuição considerável da atividade antioxidante entre a primeira e segunda semana.

FIGURA 11 – ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MECANISMO DE CAPTURA DO RADICAL ABTS DAS AMOSTRAS DE EMULSÃO. AS AMOSTRAS A, B E C REFEREM-SE AS AMOSTRAS ELABORADAS COM 0,05%, 0,1% E 0,2% DENANOCELULOSE RESPECTIVAMENTE. A AMOSTRA OE, REFERE-SE A AMOSTRA DE ÓLEO ESSENCIAL DILUÍDA NA CONCENTRAÇÃO DE 0,33  $\mu\text{L mL}^{-1}$ .



FONTE: A autora (2022).

Os resultados obtidos, permitiram constatar que a elaboração da emulsão auxiliou na manutenção da atividade antioxidante do óleo essencial nas diferentes concentrações de nanocelulose. Também pode-se notar que as amostras com uma menor concentração de nanocelulose não foram eficazes para preservar a propriedade antioxidante do óleo essencial, e que por outro lado a amostra B com 0,1% de nanocelulose se mostrou mais eficiente, apresentando similaridade com a amostra com 0,2% de nanocelulose (C).

De maneira geral, ainda é possível verificar que a temperatura é um fator importante na perda da atividade antioxidante dos compostos presentes no óleo essencial de manjeriço, e mesmo em óleos emulsionados essa perda é verificada. Isso pode estar relacionado ao fato de que mesmo encapsulados, ocorrem reações nos componentes que possuem atividade antioxidante, diminuindo essa atividade.

Por outro lado, o encapsulamento por emulsões pode reduzir a perda desses compostos por contato com oxigênio e mudanças de pH, por exemplo.

Essa capacidade de proteção das emulsões *Pickering* também foi aplicada por Shah et al. (2016) para avaliar a atividade antioxidante da curcumina antes e depois da elaboração das emulsões elaboradas com óleo de milho e estabilizadas com nanopartículas de quitosana-tripolifosfato. A análise antioxidante realizada pelo método DPPH mostrou que a encapsulação da curcumina apresentou maior atividade sequestrante dos radicais em comparação com a curcumina livre.

O mesmo foi observado com a emulsificação do óleo essencial de cedro, em que foram elaboradas emulsões *Pickering* e nanoemulsões com o óleo essencial, e ambas as emulsões apresentaram atividade antioxidante melhorada tanto pelo método DPPH, quanto método ABTS, sendo significativamente superior ao óleo essencial não emulsionado. O que permite concluir que as emulsões podem efetivamente eliminar os radicais livres e exibir maior poder redutor (HUANG *et al.*, 2021). Em Sundarajan et al. (2018), as nanoemulsões elaboradas com 5% de óleo essencial de manjeriço e estabilizadas com Tween 80, apresentaram uma interessante atividade antioxidante, demonstrando que a elaboração de uma emulsão não interferiu nas propriedades antioxidantes do óleo essencial de manjeriço.

Acredita-se que a emulsificação se apresenta como uma forma eficaz na encapsulação de compostos de interesse como óleos essenciais, vitaminas e pigmentos. Os resultados obtidos por este trabalho e por trabalhos mencionados, revelaram que é possível preservar esses compostos de interesse através da emulsificação e que as emulsões *Pickering* demonstram ser eficientes para esse objetivo. Além de prolongarem a liberação dos compostos no meio em que se encontram, também atuam como uma forma de proteção a esses compostos quando submetidos a diferentes temperaturas e condições do meio, como por exemplo pH ou exposição a luz.

Para tanto, deve-se considerar a aplicação da emulsão e sua interação como composto utilizado no desenvolvimento e o meio em que será aplicada, para que seja possível encontrar a composição ideal da emulsão, como por exemplo a concentração de nanocelulose necessária para estabilizar a emulsão.

#### 4.2.2 Digestão in vitro

A Digestão *in vitro* foi elaborada afim de acompanhar a diminuição da atividade antioxidante das emulsões elaboradas com óleo essencial de manjerição e estabilizadas com nanocelulose durante a simulação um processo digestivo em diferentes pH e na presença de diferentes enzimas. A TABELA 3 mostra como a atividade antioxidante em cada uma das etapas da digestão.

TABELA 3- ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MECANISMO DE REDUÇÃO DO FERRO (FRAP) PARA AS EMULSÕES A, B E C NAS ETAPAS DA FASE SALIVA, GÁSTRICA E INTESTINAL DA DIGESTÃO SIMULADA. EM QUE A, B E C REFERE-SE AS AMOSTRAS ELABORADAS COM 0,05%, 0,1% E 0,2% DE NANOCELULOSE RESPECTIVAMENTE. A AMOSTRA ÓLEO, REFERE-SE A AMOSTRA DE ÓLEO ESSENCIAL DILUÍDA NA CONCENTRAÇÃO DE 0,33  $\mu\text{L mL}^{-1}$ .

Amostras	Atividade Antioxidante por ABTS ( $\mu\text{M}$ sulfato ferroso $\text{g}^{-1}$ )			
	Fases da Digestão			
	Salivar	Gástrica	Intestinal 120 min	Intestinal 240 min
A	19,23	4,88	3,02	3,16
B	17,86	8,21	4,96	4,28
C	17,52	8,21	4,43	4,13
OE	1,58	0,33	0,19	0,11

Fonte: A Autora (2022).

O método FRAP, permitiu observar que a atividade antioxidante foi reduzindo em todas as amostras e também no óleo não emulsionado, o qual foi diluído em água destilada na concentração de 0,33  $\mu\text{L mL}^{-1}$ , ao longo de todas as fases da digestão. Tal comportamento era esperado uma vez que durante simulação da digestão a enzimas atuam quebrando os componentes presentes nas amostras, diminuindo assim sua atividade antioxidante.

Na avaliação geral, as amostras B e C apresentaram o comportamento similar, demonstrando uma atividade antioxidante mais elevada na fase saliva que foi diminuindo gradativamente. Enquanto que a amostra A apresentou uma diminuição mais evidente da atividade antioxidante, quando comparada com a amostra B e C ao longo da simulação.

Já na fase gástrica, a amostra A apresentou uma redução significativa da atividade antioxidante, enquanto que as amostras B e C por sua vez apresentaram um valor mais elevado nessa fase, assim como na fase intestinal após 240 minutos.

A determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS, apresentou resultados similares aos obtidos no método FRAP. Entretanto, o óleo essencial do manjeriço apresentou atividade antioxidante elevada nas fases oral e gástrica, apresentando uma redução significativa nas fases intestinal com 120 e 240 min. A TABELA 4 apresenta os resultados da atividade antioxidante pelo método ABTS, para as emulsões A, B e C em cada uma das fases da digestão simulada.

TABELA 4 - ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO SISTEMA ABTS PARA AS EMULSÕES A, B E C NAS ETAPAS DA FASE SALIVA, GÁSTRICA E INTESTINAL DA DIGESTÃO SIMULADA. EM QUE A, B E C REFERE-SE AS AMOSTRAS ELABORADAS COM 0,05%, 0,1% E 0,2% DE NANOCELULOSE RESPECTIVAMENTE. A AMOSTRA ÓLEO, REFERE-SE A AMOSTRA DE ÓLEO ESSENCIAL DILUÍDA NA CONCENTRAÇÃO DE 0,33  $\mu\text{L mL}^{-1}$ .

Amostra	Atividade Antioxidante por ABTS ( $\mu\text{M trolox g}^{-1}$ )			
	Fases da Digestão			
	Salivar	Gástrica	Intestinal 120 min	Intestinal 240 min
A	3,42	0,99	0,73	0,71
B	3,63	2,51	1,92	1,04
C	3,67	2,2	1,97	1,72
OE	1,26	1	0,32	0,17

Fonte: A autora (2022).

Pode-se observar que a amostra C apresentou atividade antioxidante superior às demais amostras, até a fase intestinal com 120 minutos. Isso pode ser justificado pela maior concentração da nanocelulose presente nessa amostra que pode promover uma maior estabilidade e uma liberação controlada da atividade antioxidante. Sabe-se que a estabilização de emulsões *Pickering* ocorre principalmente pelo fato de haver a formação de uma barreira física pelas partículas em torno das gotas de óleo, portanto supõe-se que essa barreira física tenha promovido a estabilização do óleo essencial de manjeriço até a fase final da digestão. Tal fato também demonstra que por haver uma maior concentração

de partículas sólidas de nanocelulose, a amostra C, apresentou resultados satisfatórios quando comparada com as amostras A e B.

A redução da atividade antioxidante ao longo da simulação deve-se ao facto de certos compostos serem sensíveis a variações de pH, por exemplo pH 3 na fase gástrica, e também à ação de enzimas, perdendo assim a sua atividade. No entanto, pode-se observar que quando o óleo essencial é emulsionado ele fica parcialmente protegido, tendo uma perda menor que o óleo não emulsionado.

Muito tem-se estudado na elaboração de emulsões para preservar propriedades antioxidantes e antimicrobianas de compostos que são sensíveis a processamentos, temperaturas elevadas, luz, condições do meio e afins. Tal interesse em manter essas propriedades também envolve o fato de otimizar a biodisponibilidade de compostos no meio em que são liberados.

Em ZHANG et al. (2021) foram desenvolvidos géis de emulsões estabilizados com isolados de proteína de soja e utilizando ultrassom de alta intensidade para avaliar como seria a estabilidade e as características digestiva do  $\beta$ -caroteno. Os testes revelaram que a degradação do  $\beta$ -caroteno encapsulado nos géis de emulsão foi consideravelmente reduzida no trato gastrointestinal. Considerando que o  $\beta$ -caroteno é um pigmento com relevante atividade antioxidante, mas que também possui elevada sensibilidade ao calor, pode-se afirmar que a encapsulação retardou sua degradação.

As vitaminas também são compostos de interesse a serem encapsulados através da elaboração de emulsões, como no estudo realizado por Winuprasith et al. (2018). Foi realizado o encapsulamento de vitamina D<sub>3</sub> utilizando emulsões *Pickering* estabilizadas com nanocelulose obtida de casca de mangostão (*Garcinia mangostamana* L.). Os dados obtidos com a digestão *in vitro*, apontaram que a nanocelulose de mangostão se mostrou eficiente na estabilização de emulsões do tipo O/A desenvolvidas com óleo de soja. Porém, quando as quantidades de nanocelulose estavam elevadas houve uma diminuição no nível de vitamina D<sub>3</sub>, o que pode ter acontecido por uma redução. Já quando os níveis de nanocelulose de mangostão estavam baixos, não foram percebidos grandes alterações na estabilidade e na bioacessibilidade das vitaminas.

Já o trabalho desenvolvido por Majeed et al. (2016) avaliou a influência do óleo carreador e do tamanho de partícula na digestão lipídica *in vitro* e liberação da

eugenol em emulsões e nanoemulsões. As emulsões foram elaboradas com óleo de

canola emulsionada com amido modificado e com diferentes tamanhos de gotículas, entre 3.000 nm e 300 nm e 150 nm. As emulsões com um tamanho reduzido de gotículas mostraram um aumento considerável na liberação de eugenol, demonstrando ser uma forma eficaz de encapsulação desse composto (MAJEED *et al.*, 2016).

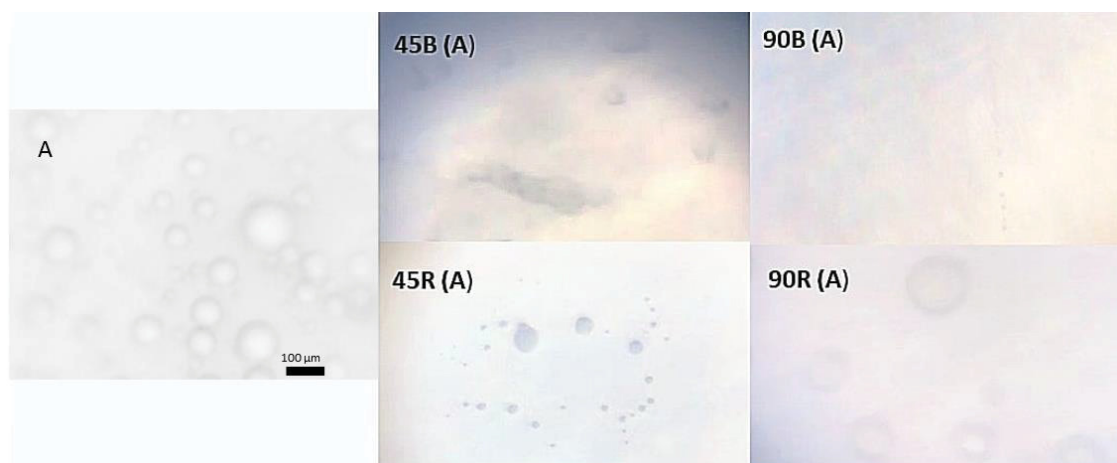
De acordo com estudos realizados, um dos componentes presentes no óleo essencial do manjeriço é o eugenol, entretanto suas limitações de baixa solubilidade e baixa biodisponibilidade tornam o uso de seu óleo essencial restrito (SOARES, 2007). Tal fator, torna a emulsificação um meio propício para a elaboração de sistemas funcionais que contribuam para o desenvolvimento de alimentos incorporados com substâncias biologicamente ativas, já que permite otimizar a liberação de compostos antioxidantes de forma a favorecer seu melhor aproveitamento.

A partir destes resultados é possível concluir que a emulsão pode atuar na liberação controlada de constituintes que possuem atividade antioxidante uma vez que a redução da atividade antioxidante das emulsões ocorre de forma mais controlada em comparação ao óleo essencial não emulsionado ao longo da digestão, o que indica que parte dos componentes ficam protegidos durante o processo digestivo quando estão emulsionados, desta forma, chegando ao intestino onde ocorre principal absorção de micronutrientes.

#### 4.2.3 Microscopia óptica

A visualização microscópica das emulsões elaboradas permitiu a observação de uma grande quantidade de gotas emulsionadas dispersas por toda a amostra quando recém elaborada, e que essas gotas foram ficando maiores ao longo do tempo e em consequência, aparecendo em menor quantidade nas amostras. A FIGURA 12 apresenta as micrografias para a emulsão elaborada com 0,05% de nanocelulose armazenada durante 45 dias e 90 dias nas temperaturas de 8°C e 30°C.

FIGURA 12 – MICROSCOPIA DA EMULSÃO A COM 0,05% DE NANOCELULOSE. EM QUE A REFERE-SE AMOSTRA RECÉM ELABORADA, 45B(A) E 45R(A), REFEREM-SE AS AMOSTRAS MANTIDAS A 30°C E 8°C POR 45 DIAS RESPECTIVAMENTE. E 90B(A) E 90R(A) REFEREM-SE A AMOSTRAS MANTIDAS A 30°C E 8°C POR 90 DIAS RESPECTIVAMENTE APÓS 45 DIAS E APÓS 90 DIAS, SOB TEMPERATURA DE 30°C E 8°C



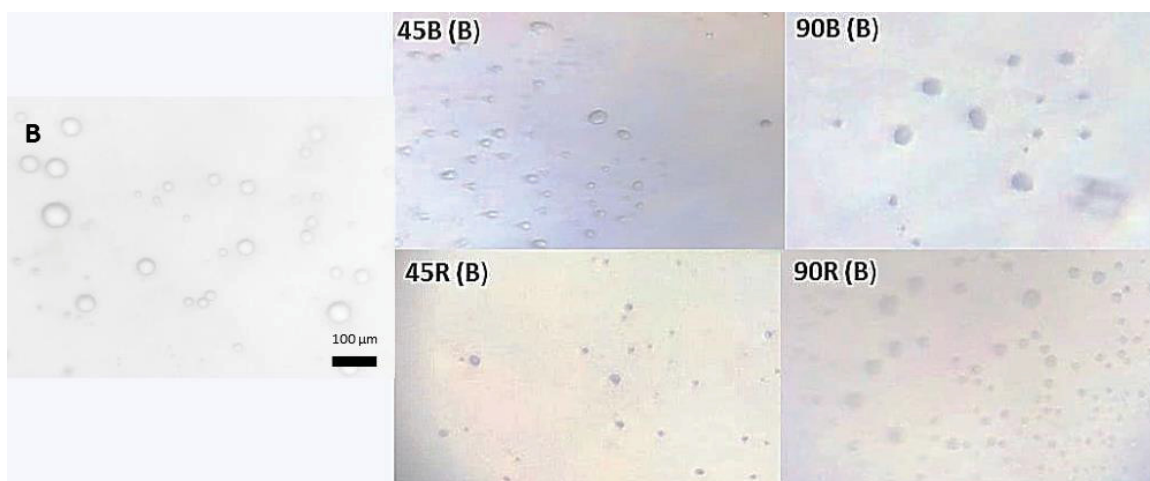
FONTE: A Autora (2002).

As imagens demonstraram que logo após a elaboração a emulsão apresentou uma grande quantidade de gotas de tamanho reduzido dispersas por toda a amostra, em que foi possível observar a presença de gotas de óleo essencial com diâmetros variando entre 3 e 145  $\mu\text{m}$ , o que indica que de fato houve a emulsificação.

Porém após 45 dias mantidas a 30°C, essas gotas já quase não eram visíveis e apresentavam um tamanho maior que o inicial, enquanto que as amostras mantidas a 8°C apresentaram gotas de menor tamanho. Após os 90 dias não foi possível observar a presença de gotas na amostra mantida a 30°C, e gotas maiores foram observadas na amostra que permaneceu a 8°C. Isso se deve ao mecanismo de instabilidade conhecido como coalescência, no qual gotículas menores se fundem, formando gotículas maiores e, posteriormente, causando a separação de fases nas emulsões. Ou seja a concentração de nanocelulose utilizada não foi suficiente na estabilização das emulsões permitindo que ocorresse a coalescência das mesmas após um longo período de tempo.

Já a FIGURA 13, mostra as micrografias das emulsões elaboradas com 0,1% de nanocelulose no período de 45 e 90 dias

FIGURA 13 – MICROSCOPIA DA EMULSÃO B COM 0,1% DE NANOCELULOSE. EM QUE B REFERE-SE AMOSTRA RECÉM ELABORADA, 45B(B) E 45R(B), REFEREM-SE AS AMOSTRAS MANTIDAS A 30°C E 8°C POR 45 DIAS RESPECTIVAMENTE. E 90B(B) E 90R(B) REFEREM-SE A AMOSTRAS MANTIDAS A 30°C E 8°C POR 90 DIAS RESPECTIVAMENTE

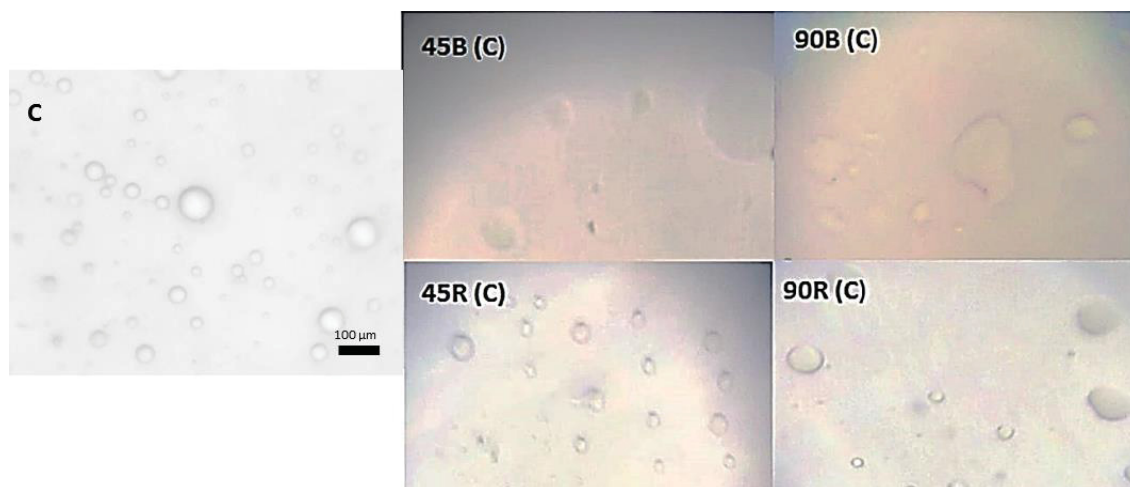


FONTE: A Autora (2002).

Neste caso é possível notar a presença de gotas menores até o final do período de 90 dias, o que demonstra que a concentração de nanocelulose foi eficiente na estabilização da emulsão. Porém pode-se notar que quando mantidas a 30°C, as emulsões com 45 dias de armazenamento e as emulsões com 90 dias de armazenamento, apresentaram uma menor quantidade de gotas dispersas, quando comparado com as amostras mantidas a 8°C no mesmo período. Ou seja, em temperaturas elevadas foi observado aumento no tamanho das gotas nas emulsões, sendo que esse aumento pode levar a uma quebra da emulsão.

A FIGURA 14, mostra as micrografias das emulsões elaboradas com 0,2% de nanocelulose no período de 45 e 90 dias. Pode-se observar que as emulsões desenvolvidas com 0,2% de nanocelulose mantidas a 8°C, mesmo após 45 e 90 dias de armazenamento, ainda apresentaram gotículas dispersas, porém maiores e menores que a emulsão imediatamente após o preparo. Por outro lado quando mantidas a 30°C, as emulsões apresentaram gotículas com tamanhos entre 17 e 96 µm ao final do período avaliado, o que pode indicar que gotículas maiores coalesceram levando a uma separação parcial do óleo emulsionado. Este aumento de gotas também pode estar relacionado ao amadurecimento de *Ostwald*, neste caso gotas menores com maior pressão podem ter migrado para gotas maiores, com menor pressão, através da fase contínua, desta forma contribuindo com o crescimento das gotas.

FIGURA 14 – MICROSCOPIA DA EMULSÃO C COM 0,2% DE NANOCELULOSE. EM QUE C REFERE-SE AMOSTRA RECÉM ELABORADA, 45B(C) E 45R(C), REFEREM-SE AS AMOSTRAS MANTIDAS A 30°C E 8°C POR 45 DIAS RESPECTIVAMENTE. E 90B(C) E 90R(C) REFEREM-SE A AMOSTRAS MANTIDAS A 30°C E 8°C POR 90 DIAS RESPECTIVAMENTE.



FONTE: A Autora (2002).

De forma geral, os testes mostraram que a emulsão B, desenvolvida com 0,1% de nanocelulose, apresentou melhores resultados. Essa amostra apresentou uma maior resistência a coalescência, mesmo em temperatura mais elevada, 30°C. Os resultados também revelaram que a temperatura de armazenamento afeta diretamente a estabilidade das emulsões, fazendo com que ocorra a coalescência das emulsões ou ainda promovendo o amadurecimento de *Ostwald*. Também foi possível notar a importância da concentração ideal de nanocelulose utilizada para estabilizar a emulsão.

Pode-se perceber que é possível prolongar a vida útil de uma emulsão desde que haja armazenamento correto e utilização adequada da concentração de nanocelulose utilizada na sua estabilização, permitindo sua aplicação em diversos produtos.

Em Feng et al. (2020), foi estudado as propriedades e também a influência da concentração de partículas em emulsão *Pickering* desenvolvida com óleo de soja e estabilizada com nanopartículas de gelatina de grau alimentício. Os resultados obtidos apontaram uma redução no tamanho das gotas das emulsões com o aumento da concentração de nanopartículas, indicando uma boa adsorção das partículas na interface óleo-água. Também foi observado que com um aumento para 2% da concentração de nanopartículas não ocorreram alterações significativas na estabilidade e no tamanho das gotas. O estudo também revelou

uma boa estabilidade na microestrutura da emulsão após 30 dias de armazenamento a 4°C e uma boa resistência a coalescência, sendo que a amostra desenvolvida com 1,5% de nanopartículas de gelatina apresentaram resultados satisfatórios.

Em Ning et al. (2020), foram preparadas nanopartículas de proteína de amendoim e estas foram utilizadas na estabilização de emulsões com diferentes frações de fase oleosa e diferentes concentrações de nano partículas. Os dados demonstraram que o aumento na concentração de nanopartículas promoveu uma diminuição significativa no tamanho da gota da emulsão. Também foi observada uma melhoria na estabilidade da emulsão em relação a coalescência e a formação de creme. Os resultados mostraram que a emulsão *Pickering* tornou-se semelhante a um gel a quando a concentração de nanopartículas foi de 2 % indicando que essa emulsão poderia ser aplicada na produção de temperos para saladas por exemplo.

O trabalho desenvolvido por BOOSTANI et al (2020) avaliou a influência dos parâmetros da emulsão na estabilidade e também nas propriedades da emulsão *Pickering* que foi estabilizada com nanopartículas de hordeína. Os resultados demonstraram que com o aumento na concentração dessas partículas, ocorreram melhorias significativas na estabilidade e na reologia da emulsão devido a uma maior aderência das partículas na interface óleo-água.

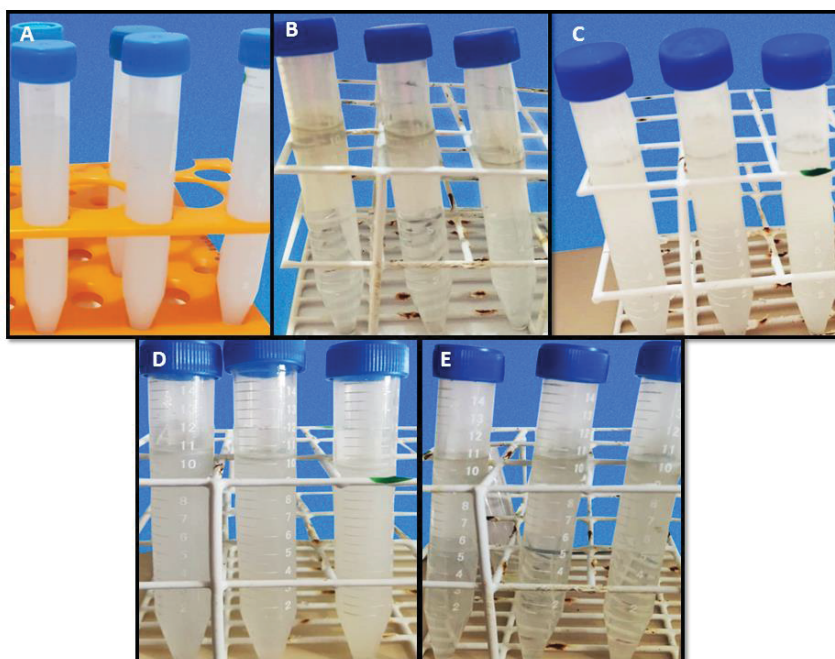
Pode-se constatar que a utilização de nanopartículas é um método eficiente e promissor na estabilidade de emulsões e que cada vez mais tem-se estudado sobre suas aplicações. Os estudos também revelaram a importância de se obter uma concentração ideal de partículas a ser adicionada, pois podem influenciar diretamente na estabilidade das emulsões. Os resultados demonstraram que as partículas de nanocelulose podem promover uma maior resistência das emulsões a mecanismos de instabilidade como a coalescência e também a formação de creme, além de ser responsável pela formação de uma emulsão com menor tamanho de gota.

#### 4.2.4 Estabilidade visual das emulsões

O comportamento das emulsões também foi avaliado em relação ao seu aspecto visual durante 30 dias afim de observar possíveis alterações que tenham ocorrido e que sejam visíveis a olho nu. Pode-se dizer que as emulsões mantidas a 30°C sofreram alterações mais perceptíveis do que as amostras mantidas a 8°C. A FIGURA 15 mostra o aspecto visual das emulsões registrados imediatamente após o preparo, após 10 dias e após 30 dias mantidas na temperatura de 8°C 30°C e dias, respectivamente.

A Figura 15A, mostra as emulsões imediatamente após o preparo na concentração de 0,05%, 0,1% e 0,2% de nanocelulose e pode-se observar um aspecto homogêneo de coloração branca, porém após 10 dias de armazenamento a 30°C (FIGURA 15B) as emulsões apresentaram uma coloração translúcida, com a formação de uma espécie de anel na superfície da amostra. Comparando as três emulsões da FIGURA 15B, pode-se observar que a amostra com 0,2% de nanocelulose, apresentavam um aspecto homogêneo sem sinais tão evidentes de separação. Já as emulsões mantidas sob refrigeração (8°C) aparentavam coloração similar das amostras recém elaboradas. Já após os 30 dias as amostras mantidas na temperatura de 30°C (FIGURA 15E), as amostras estavam ainda mais transparentes, de forma que quase não se percebia a fase emulsionada, enquanto que as emulsões refrigeradas (FIGURA 15D) ainda apresentavam o mesmo aspecto esbranquiçado das amostras com 10 dias de armazenamento na temperatura de 8°C, com uma leve formação de uma espécie de anel, indicando talvez uma quebra parcial dessa emulsão.

FIGURA 15 – ASPECTO VISUAL DAS EMULSÕES RECÉM ELABORAS, APÓS 10 E APÓS 30 DIAS MANTIDAS A 8°C E A 30°C, ELABORADAS COM 0,05% 0,1% E 0,2% DE NANOCELULOSE. A IMAGEM 15A TRATA-SE DAS EMULSÕES LOGO APÓS ELABORAÇÃO, 15B REFERE-SE AS AMOSTRAS MANTIDAS A 30°C POR 10 DIAS E 15C REFERE-SE AS AMOSTRAS MANTIDAS A 8°C POR 10 DIAS. IMAGEM 15D TRATA-SE DAS AMOSTRAS MANTIDAS A 8°C POR 30 DIAS E A 15E AS AMOSTRAS MANTIDAS A 8°C POR 30 DIAS



FONTE: A Autora (2022).

Esse aspecto translúcido das emulsões mantidas a 30°C, podem estar associados a uma possível quebra da emulsão, como pode ser observado na microscopia óptica, na qual quase não se observou a presença de gotas e também nos resultados dos testes anteriormente citados, como a Eficiência da encapsulação em que a AAT foi diminuindo gradativamente.

Em Li et al. (2022) foi observado que mesmo após seis meses de armazenamento, as emulsões Pickering elaborados com óleo de oliva e estabilizadas por nanopartículas de híbridas de amido/ $\beta$ -ciclodextrina se mostraram inalteradas em seu aspecto visual, indicando uma excelente estabilidade a longo prazo, o que foi confirmado pela análise microscopia das emulsões.

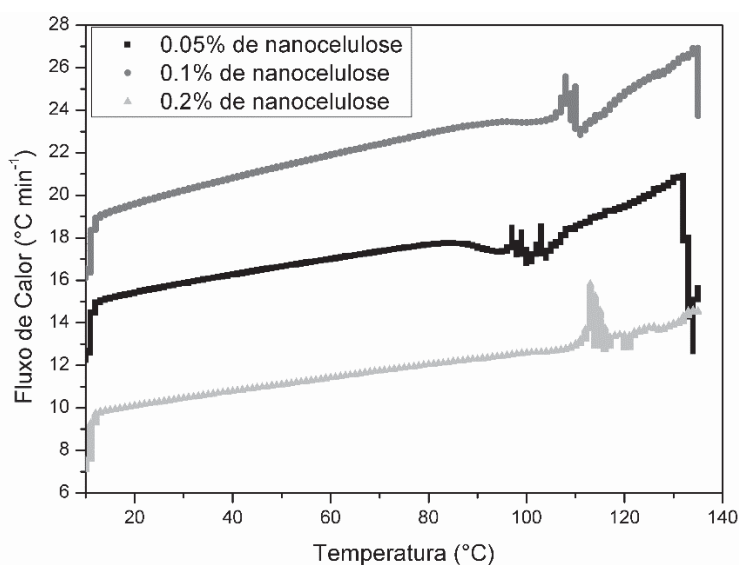
A diferença avaliada nas emulsões, sugerem que assim como as demais análises, a temperatura de armazenamento seja de fato um fator relevante na estabilização das emulsões. Através das imagens pode-se perceber a alteração da emulsão mantida a 30°C, enquanto que a outra manteve similaridade com o aspecto inicial.

### 4.3 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL

As FIGURAS 16, 17 e 18 curvas criadas a partir dos dados obtidos da análise em DSC das emulsões contendo 0,05, 0,1 e 0,2 % de nanocelulose imediatamente após o preparo e após 45 dias de armazenamento, quando armazenadas nas temperaturas de 8 e 30°C. A FIGURA 16 a seguir refere-se as amostras elaboradas horas antes da realização da análise das emulsões desenvolvidas com 0,05%, 0,1% e 0,2% de nanocelulose respectivamente.

Pode-se notar que a amostra com 0,2% de nanocelulose apresentou um único evento endotérmico em uma temperatura superior a 110°C, diferindo da amostra com 0,05% de nanocelulose, que apresentou uma sequência de picos de possíveis degradação na faixa entre 90°C e 100°C quando submetida a um fluxo de calor intermediário as outras duas amostras. Tais picos também podem estar relacionados a perdas de água presente na amostra, além de possíveis compostos que possam ser degradados nessa faixa de temperatura, como por exemplo compostos do óleo essencial do manjeriço. A amostra contendo 0,1% de nanocelulose apresentou uma certa similaridade com a amostra que continha 0,2% de nanocelulose com um pico de degradação em uma faixa de temperatura próxima a 100°C.

FIGURA 16 – ANÁLISE DSC DAS AMOSTRAS DE EMULSÕES RECÉM ELABORADAS COM 0,05%, 0,1% E 0,2% DE NANOCELULOSE



Fonte: A Autora (2022).

As diferentes concentrações de nanocelulose promoveram uma melhoria na estabilidade térmica das emulsões. Pode-se dizer que a emulsão com menor concentração de nanocelulose demonstrou ser mais sensível quando submetida a fluxos de calor. Além disso as amostras são composta por água e óleo essencial, vale ressaltar que os óleos essenciais são compostos sensíveis a temperaturas elevadas.

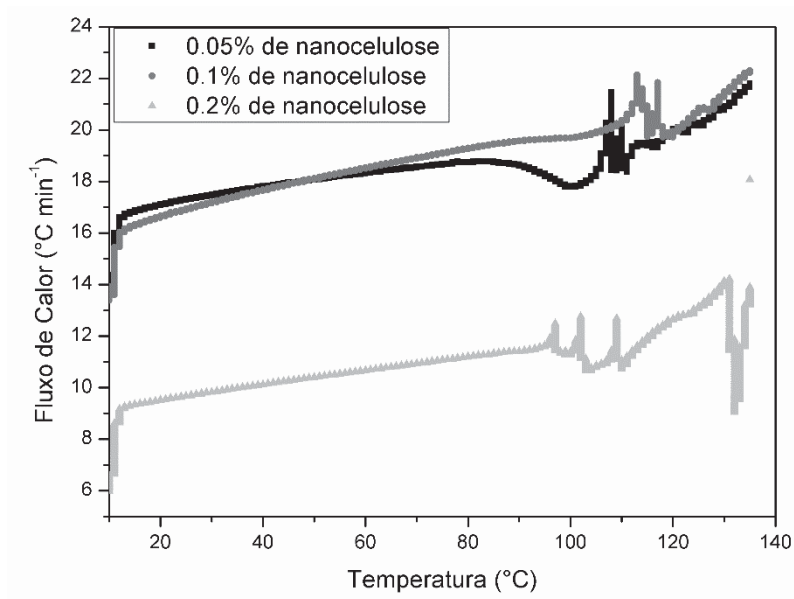
A FIGURA 17 é referente as amostras mantidas sob refrigeração a 8°C no período de 45 dias das emulsões desenvolvidas com 0,05%, 0,1% e 0,2% de nanocelulose respectivamente.

As curvas de aquecimento das amostras armazenadas a 8°C por 45 dias já apresentam comportamentos diferentes dos que foram observados nas amostras iniciais. Nas três curvas é possível notar uma maior quantidade de picos de oxidação. Fazendo uma comparação entre a amostra com 0,2 % mantida 8°C e a mesma amostra recém elaborada, é possível observar que após o armazenamento por 45 dias essa amostra se mostrou mais sensível termicamente apresentando picos de oxidação desde a temperatura de 90°C até próximo de 130°C.

Já as amostras desenvolvidas com 0,05% e 0,1% de nanocelulose apresentaram suas curvas de aquecimento muito similares, quase que sobrepostas, em fluxos de calor muito próximos. Neste caso a amostra com 0,1% de nanocelulose apresentou um pico oxidativo em uma temperatura superior a amostra com 0,05% de nanocelulose mantida a 8°C, demonstrando que essa amostra está mais facilmente susceptível a processos de degradação térmica.

Também pode-se observar que todas as amostras apresentaram picos de uma possível desnaturação térmica em uma temperatura acima de 90°C, quando submetidas a diferentes fluxos de calor. O mesmo foi constatado nas amostras que foram mantidas a 30°C, mas neste caso, é possível notar a ocorrência dos picos principalmente em temperaturas próximas a 110°C, como pode-se observar na FIGURA 18.

FIGURA 17 - ANÁLISE DSC DAS AMOSTRAS DE EMULSÕES ELABORADAS MANTIDAS SOB REFRIGERAÇÃO A 8°C NO PERÍODO DE 45 DIAS ELABORADAS COM 0,05%, 0,1% E 0,2% DE NANOCELULOSE.

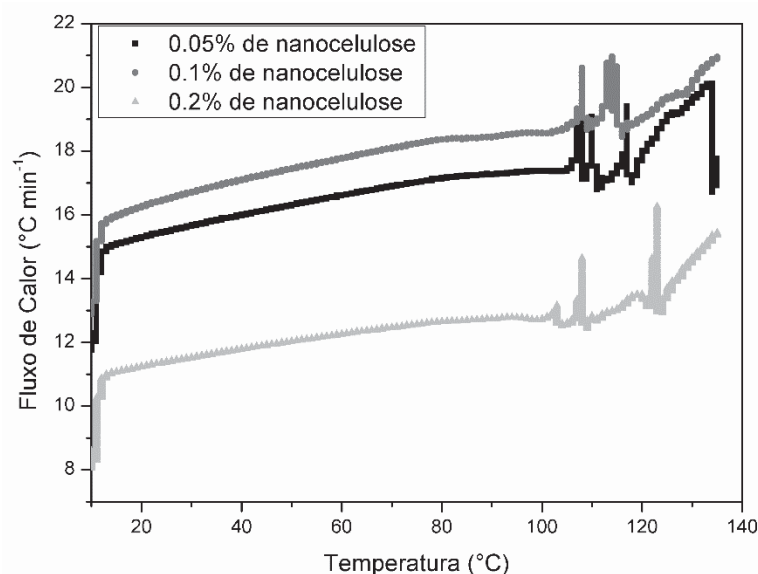


FONTE: A autora (2022).

A FIGURA 18 apresenta as amostras que foram mantidas a 30°C por 45 dias, das amostras de emulsões elaboradas com 0,05%, 0,1% e 0,2% de nanocelulose.

Para essas amostras é possível notar que as amostras apresentaram curvas similares de modo geral, em diferentes fluxos de calor. Isso pode estar relacionado ao fato das amostras terem permanecido armazenadas já a 30°C por 45 dias, o que pode ter provocado a degradação de compostos mais sensíveis a altas temperaturas presentes no óleo essencial por exemplo.

FIGURA 18 – ANÁLISE DSC DAS AMOSTRAS DE EMULSÕES MANTIDAS A 30°C POR 45 DIAS ELABORADAS COM 0,05%, 0,1% E 0,2% DE NANOCELULOSE



FONTE: A autora (2022).

Também considera-se que uma possível quebra da emulsão possa ter ocorrido, e quando submetida uma temperatura superior a de armazenamento, os compostos presentes na amostra estavam mais expostos ao processo de oxidação. Pode-se observar que para as três amostras, mesmo que em diferentes fluxos de calor, a degradação térmica ocorreu na faixa entre 90°C até 130°C.

A partir das curvas é possível perceber que ao longo do tempo as amostras sofreram alterações em suas propriedades que provavelmente estão relacionadas não só ao tempo de armazenamento, mas também à temperatura em que permaneceram.

De maneira geral, os resultados sugerem que a emulsão feita com 0,1% de nanocelulose apresentou maior estabilidade térmica quando comparada às demais, pois quando submetida a um maior fluxo de calor, seu pico de degradação foi semelhante ao das amostras submetidas a um menor fluxo de calor. Tal comportamento esteve presente tanto nas amostras previamente preparadas quanto nas amostras que foram mantidas sob armazenamento por 45 dias.

Em Alehosseini (2021) a análise DSC foi aplicada na avaliação das propriedades térmicas do D-Limoneno, e de emulsões Pickering elaboradas com D-Limoneno e estabilizadas com partículas de quitosana. A análise revelou que o D-Limoneno antes de emulsificado apresentava um pico endotérmico na temperatura

de 44,1°C, enquanto que a emulsão Pickering apresentou um pico endotérmico inicial na temperatura de 57,6°C. Foi constatado que as partículas apresentaram uma excelente eficiência na incorporação do D-Limoneno promovendo um aumento na sua estabilidade térmica.

## 5 CONCLUSÃO

Após a caracterização da celulose obtida do extrato, pode-se dizer que o processo de extração altera não só a estrutura da celulose mas também suas propriedades térmicas, como pode-se observar pela análise de microscopia eletrônica e também pela análise termogravimétrica. No caso do MEV, foi possível visualizar uma diminuição no tamanho das partículas de nanocelulose comparadas com a celulose. Já a análise termogravimétrica permitiu observar diferentes comportamentos da celulose e da nanocelulose em que pode-se notar diferentes picos de oxidação e degradação térmica de cada uma das amostras.

Em relação a elaboração das emulsões o resultado da análise de CMI revelou que a utilização de partículas sólidas para estabilizar as emulsões, foi eficaz na preservação da atividade antimicrobianas do óleo essencial, em que pode-se notar inibição no desenvolvimento dos microrganismos testados. O mesmo pode-se dizer em relação a preservação da atividade antioxidante pela análise da eficiência da encapsulação, em que foi observado que o desenvolvimento da emulsão foi capaz de prolongar a atividade antioxidante do óleo essencial no período de até 30 dias sob diferentes temperaturas de armazenamento. Sendo que também constatou-se que a temperatura e a concentração das partículas na emulsão são fatores relevantes na preservação da atividade antioxidante.

A análise de simulação do processo digestivo, demonstrou que a emulsão pode manter atividade antioxidante do óleo essencial ao longo das etapas da digestão, diferentemente do óleo essencial não emulsionado que demonstrou perda considerável da atividade antioxidante ao longo do processo de digestão in vitro, entretanto para isso deve-se considerar a dissolução de compostos bioativos no meio em que se encontram, podendo variar de acordo com fatores como pH, presença de demais compostos e possíveis interações entre outros.

O aspecto visual da emulsão, também revelou que as emulsões são mais sensíveis a temperaturas elevadas, pois após 45 e 90 dias mantidas armazenadas sob temperatura controlada, sendo elas 8°C e 30°C, foi possível observar que as emulsões mantidas a 30°C, demonstraram sinais de desestabilização, como redução das gotas dispersas e aumento no tamanho das gotas, ou ainda a possível ocorrência do envelhecimento de *Ostwald*

Esses sinais de instabilidade das emulsões, também puderam ser observados no aspecto visual das emulsões, em que notou-se que após 90 dias mantidas a 30°C as emulsões apresentaram sinais de separação das fases.

A análise DSC, revelou que a adição de nanocelulose promoveu melhorias na propriedade térmica das emulsões, sendo que as amostras contendo uma maior concentração de celulose (0,2%) apresentaram maior resistência a oxidação.

De forma geral, a elaboração das emulsões *Pickering*, é um método para estabilizar emulsões e encapsular compostos de interesse, podendo controlar sua liberação no meio em que se encontram, o que também pode auxiliar na sua incorporação no desenvolvimento de produtos alimentícios.

Além disso o processo de estabilização pode ser realizado através da utilização de nanopartículas obtidas de resíduos de outros processos, que além de utilizar fontes renováveis também auxilia na redução de resíduos.

## REFERÊNCIAS

ABBASY, Dalia Waleed Al *et al.* Chemical composition and antibacterial activity of essential oil isolated from Omani basil (*Ocimum basilicum* Linn.). **Asian Pacific Journal Of Tropical Disease**, [S.L.], v. 5, n. 8, p. 645-649, ago. 2015. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s2222-1808\(15\)60905-7](http://dx.doi.org/10.1016/s2222-1808(15)60905-7).

ABURTO, Lucy C.; TAVARES, Débora de Queiroz; MARTUCCI, Enny Therezinha. Microencapsulação de óleo essencial de laranja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 0101-2061, abr. 1998. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0101-20611998000100010>.

ALEHOSSEINI, Elham *et al.* Production of d-limonene-loaded Pickering emulsions stabilized by chitosan nanoparticles. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 354, p. 129591, ago. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129591>.

BARROS, Silma de Sá. **Síntese e caracterização de nanocelulose a partir da folha de abacaxi (*Ananás comosus* (L) Merrill) CV. VITÓRIA**. 2020. 69 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2020.

BAZANA, Maiara Taís *et al.* Nanoencapsulação de licopeno em alimentos. **Revista do Centro de Ciências Naturais e Exatas**, Mato Grosso do Sul, v. 37, n. 5, p. 38-48, dez. 2015. <http://dx.doi.org/10.5902/2179-460X19713>

BHATTI, Huma Aslam *et al.* Identification of new potent inhibitor of aldose reductase from *Ocimum basilicum*. **Bioorganic Chemistry**, [S.L.], v. 75, p. 62-70, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bioorg.2017.08.011>.

BLANK, Arie F. *et al.* Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de manjerição e alfavaca. **Horticultura Brasileira**, [S.L.], v. 22, n. 1, p. 113-116, mar. 2004. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-05362004000100024>.

BORGES, Gustavo Rodrigues. **Desenvolvimento de metodologia para avaliação em tempo real de distribuição de tamanho de gota e teor de água de emulsões de petróleo sob pressão**. 2011. 111 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Processos, Universidade Tiradentes, Aracaju, 2011.

CAVALCANTI, Anny Karoliny de Oliveira. **Nanoencapsulação de carotenoides de melão Cantaloupe (*Cucumis Melo L. reticulatus* Naud.): caracterização de partículas, avaliação da solubilidade em água e estabilidade de cor em iogurte**. 2018. Dissertação de Mestrado. Brasil.

CHAUDHARI, Anand Kumar; SINGH, Vipin Kumar; DAS, Somenath; DUBEY, Nawal Kishore. Nanoencapsulation of essential oils and their bioactive constituents: a novel strategy to control mycotoxin contamination in food system. **Food And Chemical Toxicology**, [S.L.], v. 149, p. 112019-112038, mar. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2021.112019>.

COWAN, Marjorie Murphy. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

DALTIN, Decio. **Tensoativos química, propriedades e aplicações**. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 2011. Disponível em: <http://www.usp.br/massa/2014/qfl2453/pdf/Tensoativos-livrodeDecioDaltin-Capitulo1.pdf>. Acesso em: 09 jan. 2021.

DANIEL, Taiana Husila Gomes. **Obtenção, caracterização físico-química, oxidação e aplicação de nanocristais de amidos de *Phaseolus vulgaris* L. (feijão), de *Manihot esculenta* Crantz (mandioca) e de *Zea mays* L. (milho) em emulsões pickering**. 2018. 79 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2018.

Deba, F.; Xuan, T. D.; Yasuda, M.; Tawata, S. Chemical Composition and Antioxidant, Antibacterial and Antifungal Activities of the Essential Oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. **Food Contr.**, 19: 346-352, 2008.

DESCHAMPS, Cícero *et al.* Developmental Regulation of Phenylpropanoid Biosynthesis in Leaves and Glandular Trichomes of Basil (*Ocimum basilicum* L.). **International Journal Of Plant Sciences**, [S.L.], v. 167, n. 3, p. 447-454, maio 2006. University of Chicago Press. <http://dx.doi.org/10.1086/500987>.

ELOFF, J.. A Sensitive and Quick Microplate Method to Determine the Minimal Inhibitory Concentration of Plant Extracts for Bacteria. *Planta Medica*, [S.L.], v. 64, n. 08, p. 711-713, dez. 1998. Georg Thieme Verlag KG. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2006-957563>.

FENG, Xin *et al.* Properties of Pickering emulsion stabilized by food-grade gelatin nanoparticles: influence of the nanoparticles concentration. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, [S.L.], v. 196, p. 111294-111324, dez. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2020.111294>.

FISCHER, Michele Roberta *et al.* **Biossíntese e caracterização de nanocelulose bacteriana para engenharia de tecidos**. *Matéria (Rio J.)* [online]. 2017, vol.22, suppl.1, e11934. Epub Jan 08, 2018. ISSN 517- 7076. <https://doi.org/10.1590/s1517-707620170005.0270>.

FRANCO, Talita Szlapak *et al.* Nanocellulose obtained from residues of peach palm extraction (*Bactris gasipaes*). **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 218, p. 8-19, ago. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.04.035>.

FRANZOL, Angélica *et al.* Estabilidade de emulsões: um estudo de caso envolvendo emulsionantes aniônico, catiônico e não-iônico. **Polímeros**, [S.L.], v. 25, n. , p. 1-9, dez. 2015. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0104-1428.1669>.

FURTADO, Guilherme de Figueired. Quebra de emulsões modelo visando a produção de biocombustíveis. 2014 141.Dissertação (Mestrado) — Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014.

GOMES, Fabiana. **Estudo Dos Compostos Voláteis Do Alecrim Utilizando As Técnicas De Microextração Em Fase Sólida (Spme), Hidrodestilação E**

**Extração Com Fluido Supercrítico (SFE).** 2003. 62 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

GRAMATGES, Aurora Pérez. **Nanopartículas de sílica funcionalizadas com grupos amônio e polímeros aniônicos para estabilização de emulsões Pickering contendo repelente de insetos.** 2018. Tese de Doutorado. PUC-Rio

GUERRA, Cristina Grace de Sousa. **Desenvolvimento e análise de emulsão alimentícia a base de óleos vegetais amazônicos.** 2015. 82 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2015.

GUO, Shasha; LI, Xia; KUANG, Yishan; LIAO, Jianming; LIU, Kai; LI, Jun; MO, Lihuan; HE, Shuaiming; ZHU, Wenyuan; SONG, Junlong. Residual lignin in cellulose nanofibrils enhances the interfacial stabilization of Pickering emulsions. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 253, p. 117223-117233, fev. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117223>.

HAZT, Bianca *et al.* EMULSÕES ÁGUA EM ÁGUA: potencial aplicação alimentícia. **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Volume 2**, [S.L.], p. 233-258, 2021. Editora Científica Digital. <http://dx.doi.org/10.37885/201102233>.

HOLKEM, Augusto Tasch *et al.* Técnicas de preparação de sistemas nanotecnológicos aplicados a alimentos. **Ciência e Natura**, v. 37, n. 5, p. 87-96, 2015. <http://dx.doi.org/10.5902/2179-460X19720>

HUANG, Kai *et al.* Characteristics of two cedarwood essential oil emulsions and their antioxidant and antibacterial activities. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 346, p. 128970, jun. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128970>.

HUSSAIN, Abdullah Ijaz; ANWAR, Farooq; SHERAZI, Syed Tufail Hussain; PRZYBYLSKI, Roman. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 108, n. 3, p. 986-995, jun. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.010>

JONGAROONTAPRANGSEE, Saranya *et al.* Production of nanocellulose from lime residues using chemical-free technology. **Materials Today: Proceedings**, Thailand, v. 5, n. 8, p. 11095-11100, nov. 2018.

KARGAR, Maryam *et al.* Investigation into the potential ability of Pickering emulsions (food-grade particles) to enhance the oxidative stability of oil-in-water emulsions. **Journal Of Colloid And Interface Science**, [S.L.], v. 366, n. 1, p. 209- 215, jan. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2011.09.073>.

LEE, Seung-Joo; UMANO, Katumi; SHIBAMOTO, Takayuki; LEE, Kwang-Geun. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 91, n.1,p.131-137,jun.2005.ElsevierBV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.05.056>.

LENGOWSKI, Elaine Cristina. **Formação e caracterização de filmes com nanocelulose**. 2016. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná.

LUZ, José Magno Q; MORAIS, Tatiane Ps; BLANK, Arie F; SODRÉ, Ana Carolina B; OLIVEIRA, Guedmiller s. Teor, rendimento e composição química do óleo essencial de manjeriço sob doses de cama de frango. **Horticultura Brasileira**, [S.L.], v. 27, n. 3, p. 349-353, set. 2009. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-05362009000300016>.

LV, Shanshan; ZHOU, Hualu; BAI, Long; ROJAS, Orlando J.; MCCLEMENTS, David Julian. Development of food-grade Pickering emulsions stabilized by a mixture of cellulose nanofibrils and nanochitin. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 113, p. 106451- 106459, abr. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106451>.

MACHADO, Bruna A. S. *et al.* Obtaining nanocellulose from green coconut fibers and incorporation in biodegradable films of starch plasticized with glycerol. **Química**

Nova, [S.L.], v. 37, p. 327-345, 2014. GN1 Genesis Network. <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20140220>.

MACHADO, Bruna Aparecida Souza; NUNES, Itaciara Larroza; PEREIRA, Fabiano Vargas; DRUZIAN, Janice Izabel. Desenvolvimento e avaliação da eficácia de filmes biodegradáveis de amido de mandioca com nanocelulose como reforço e com extrato de erva-mate como aditivo antioxidante. **Ciência Rural**, [S.L.], v. 42, n. 11, p. 2085-2091, nov. 2012. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-84782012001100028>.

MACHADO, Thiago Monteiro. **Estabilização de emulsões concentradas de óleo de laranja com isolado proteico de ervilha**. 2019. 135 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

MAJEED, Hamid *et al.* Influence of carrier oil type, particle size on in vitro lipid digestion and eugenol release in emulsion and nanoemulsions. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 52, p. 415-422, jan. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.009>.

MARTINS, André Gustavo Lima de Almeida. **Antibacterial activity of essential oils of basil (*Ocimum basilicum* Linnaeus) and ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) front the line of enteropathogenic *Escherichia coli* isolated of grasses**. 2010. 179 f. Tese (Doutorado em Química e Bioquímica de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.

MARTINS, Lilian dos Santos. **Preparo e avaliação da estabilidade de nanoemulsões à base de solbrax e polióxidos**. 2018. 86 f. Dissertação (Mestrado) Curso de Nanociências e Materiais Avançados, Universidade Federal do Abc, Santo André -Sp, 2018.

MCCLEMENTS, David Julian. **Food emulsions: principles, practice, and techniques**. 2. ed. Washington: Crc Press, 2005.

MCCLEMENTS, David Julian. Critical Review of Techniques and Methodologies for Characterization of Emulsion Stability. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [S.L.], v. 47, n. 7, p. 611-649, 27 set. 2007. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408390701289292>.

MILANEZ, Douglas Henrique et al. Prospecção tecnológica dos processos de obtenção da nanocelulose a partir de indicadores tecnológicos. In: **CONGRESSO ANUAL DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE METALURGIA, MATERIAIS E MINERAÇÃO, 69º**. 2012.

MILENKOVIĆ, L.; STANOJEVIĆ, J.; CVETKOVIĆ, D.; STANOJEVIĆ, L.; LALEVIĆ, D.; JUNIĆ, L.; FALLIK, E.; ILIĆ, Z.s.. New technology in basil production with high essential oil yield and quality. **Industrial Crops And Products**, [S.L.], v. 140, p. 111718-111718, nov. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111718>.

MORAIS, João Paulo Saraiva *et al.* Extraction and characterization of nanocellulose structures from raw cotton linter. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 91, n. 1, p. 229- 235, jan. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.08.010>

MORGAN, Vinícius Gomes. Determinação do tamanho de gota de emulsões de petróleo por RMN de baixo campo. **Vitória: Dissertação de Mestrado**, 2014.

NIU, Ben et al. Co-encapsulation of chlorogenic acid and cinnamaldehyde essential oil in Pickering emulsion stabilized by chitosan nanoparticles. *Food Chemistry: X*, [S.L.], v. 14, p. 100312, jun. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100312>.

NURMAHANI et al. Short Communication Antibacterial property of *Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus* peel extracts. *International Food Research Journal*, [s. l.], v. 1, n. 19, p. 77-84, fev. 2012.

OZDEMIR, Necla *et al.* Fabrication and characterization of basil essential oil microcapsule-enriched mayonnaise and its antimicrobial properties against

Escherichia coli and Salmonella Typhimurium. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 359, p. 129940, out. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129940>.

PEREIRA, André LS et al. Extração e caracterização de nanocelulose de fibras do pseudocaule da bananeira. In: **Embrapa Agroindústria Tropical-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: CONGRESSO NORTE-NORDESTE DE PESQUISA E INOVAÇÃO, 5., 2010, Maceió. Anais... Maceió: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, 2010.

PINHEIRO, Patrícia Fontes *et al.* USAGE OF ESSENTIAL OILS OF BASIL (*Ocimum basilicum* L.) AND GINGER (*Zingiber officinale* Roscoe) FOR FLAVORING OLIVE OIL. **Nucleus**, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 189-196, 30 abr. 2017. Fundacao Educational de Ituverava. <http://dx.doi.org/10.3738/1982.2278.1766>.

POTULSKI, Daniele Cristina. **INFLUÊNCIA DA NANOCELULOSE NAS PROPRIEDADES FÍSICAS E MECÂNICAS DE PAPEL PRIMÁRIO E RECICLADO DE PINUS E EUCALYPTUS**. 2016. 97 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós Graduação em Engenharia Florestal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

ROSA, M.F. *et al.* Cellulose nanowhiskers from coconut husk fibers: effect of preparation conditions on their thermal and morphological behavior. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 81, n. 1, p. 83-92, maio 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.01.059>.

RUFINO, M. D. S. M. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de captura do radical livre ABTS. **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2007

RUFINO, M. D. S. M. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2006.

RUFINO, M. D. S. M. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas no sistema beta-caroteno/ácido linoléico. **Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2006

SCHONS, Elenice Maria. Desestabilização de emulsões visando a redução do teor de óleo em água. 2008 168. Dissertação (Mestrado) – Curso de Engenharia Mineral, Universidade Federal do Rio Preto, Ouro Preto, 2008.

SALVADORI, Natalia Maldaner *et al.* ESTUDO SOBRE TÉCNICAS DE ENCAPSULAÇÃO PARA ÓLEOS ESSENCIAIS. III **Simpósio em Saúde e Alimentação da Universidade Federal da Fronteira Sul**, Chapecó, v. 9917, n.2526, p. 1-5, out. 2019.

SEIXAS, Marcos Vinicius de Souza. **Obtenção de nanocelulose a partir do bagaço de cana de açúcar e incorporação em EVA**. 2019. 132 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Metalurgica e de Materiais, Universidade de São Paulo, Sao Paulo, 2019

SHAH, Bakht Ramin *et al.* Bioaccessibility and antioxidant activity of curcumin after encapsulated by nano and Pickering emulsion based on chitosan-tripolyphosphate nanoparticles. **Food Research International**, [S.L.], v. 89, p. 399-407, nov. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.08.022>.

Sharafati-Chaleshtori, R.; Rokni, N.; Rafieian-Kopaei, M.; Drees, F.; Salehi, E. Antioxidant and Antibacterial Activity of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Essential Oil in Beef Burger. **J. Agr. Sci. Tech.** (2015) Vol. 17: 817-826.

SOARES, Rilvaynia Dantas; CHAVES, Modesto Antonio; SILVA, Arienilmar Araujo Lopes da; SILVA, Marcondes Viana da; SOUZA, Betânia dos Santos. Influência da temperatura e velocidade do ar na secagem de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) com relação aos teores de óleos essenciais e de linalol. **Ciência e Agrotecnologia**, [S.L.], v. 31, n. 4, p. 1108-1113, ago. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1413-70542007000400025>

SOGUT, Ece. Active whey protein isolate films including bergamot oil emulsion stabilized by nanocellulose. **Food Packaging And Shelf Life**, [S.L.], v. 23, p. 100430-100442, mar. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100430>.

SOUZA, Alana G.; FERREIRA, Rafaela R.; PAULA, Larissa C.; MITRA, Sushanta K.; ROSA, Derval S. Starch-based films enriched with nanocellulose-stabilized Pickering emulsions containing different essential oils for possible applications in food packaging. **Food Packaging And Shelf Life**, [S.L.], v. 27, p. 100615-100626, mar. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100615>.

SUNDARARAJAN, Balasubramani; MOOLA, Anil Kumar; VIVEK, K.; KUMARI, B.D.Ranjitha. Formulation of nanoemulsion from leaves essential oil of *Ocimum basilicum* L. and its antibacterial, antioxidant and larvicidal activities (*Culex quinquefasciatus*). **Microbial Pathogenesis**, [S.L.], v. 125, p. 475-485, dez. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2018.10.017>.

TAN, Huan; ZHAO, Lifeng; TIAN, Sisi; WEN, Hui; GOU, Xiaojun; NGAI, To. Gelatin Particle-Stabilized High-Internal Phase Emulsions for Use in Oral Delivery Systems: protection effect and in vitro digestion study. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 65, n. 4, p. 900-907, 19 jan. 2017. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04705>.

TANG, Minmin *et al.* Physicochemical characteristics of ginger essential oil nanoemulsion encapsulated by zein/NaCas and antimicrobial control on chilled chicken. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 374, p. 131624, abr. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131624>.

WINUPRASITH, Thunnalin *et al.* Encapsulation of vitamin D3 in pickering emulsions stabilized by nanofibrillated mangosteen cellulose: impact on in vitro digestion and bioaccessibility. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 83, p. 153-164, out. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.04.047>.

XIA, Tianhang *et al.* Physicochemical characteristics, applications and research trends of edible Pickering emulsions. **Trends In Food Science & Technology**,

[S.L.], v. 107, p. 1-15, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2020.11.019>.

XIE, Yong *et al.* Characterization of Pickering emulsions stabilized by OSA-modified sweet potato residue cellulose: effect of degree of substitute and concentration. **Food Hydrocolloids**, [S.L.], v. 108, p. 105915, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105915>.

XU, Huaizhong *et al.* Regeneration of cellulose dissolved in ionic liquid using laser-heated melt-electrospinning. **Carbohydrate Polymers**, [S.L.], v. 201, p. 182-188, dez. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.08.062>.

YANG, Haiping *et al.* Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. **Fuel**, [S.L.], v. 86, n. 12-13, p. 1781-1788, ago. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2006.12.013>.

ZHANG, Xin *et al.* Emulsion gels stabilized by soybean protein isolate and pectin: effects of high intensity ultrasound on the gel properties, stability and  $\beta$ -carotene digestive characteristics. **Ultrasonics Sonochemistry**, [S.L.], v. 79, p. 105756, nov. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105756>.

ZHOU, Yan *et al.* Preparation and antimicrobial activity of oregano essential oil Pickering emulsion stabilized by cellulose nanocrystals. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 112, p. 7-13, jun. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.102>.