

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

JOÃO VITOR GEHLEN ZAGO

**POTENCIAL BACTERIOSTÁTICO DE EUGENOL ENCAPSULADO POR
NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA MESOPOROSAS: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO
E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE**

MEDIANEIRA

2023

JOÃO VITOR GEHLEN ZAGO

**POTENCIAL BACTERIOSTÁTICO DE EUGENOL ENCAPSULADO POR
NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA MESOPOROSAS: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO
E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE**

**Bacteriostatic potential of eugenol encapsulated by mesoporous silica
nanoparticles: synthesis, characterization and evaluation of the activity**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentada como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia de Alimentos da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR).

Orientador(a): Flavio Dias Ferreira

Co-orientador(a): Renata Mello Giona

MEDIANEIRA

2023



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

JOÃO VITOR GEHLEN ZAGO

**POTENCIAL BACTERIOSTÁTICO DE EUGENOL ENCAPSULADO POR
NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA MESOPOROSAS: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO
E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia de Alimentos da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR).

Data de aprovação: 13 de novembro de 2023

Flavio Dias Ferreira
Doutorado em Ciência de Alimentos
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Medianeira

Renata Mello Giona
Doutorado em Química
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Medianeira

Rosana Aparecida da Silva Buzanello
Doutorado em Ciência de Alimentos
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Medianeira

Ismael Laurindo Costa Junior
Doutorado em Química
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Medianeira

MEDIANEIRA

2023

Dedico este trabalho à minha família, por todo o apoio, suporte e incentivo dados, em especial ao meu avô, sei que vês de onde estás.

AGRADECIMENTOS

As seguintes palavras foram, provavelmente, as mais difíceis de serem escritas dentro desse projeto, e ainda sim, as expressões que vem em seguida são certamente as mais importantes. Desde já deixo o meu agradecimento a todas as pessoas que tiveram parte na minha trajetória até aqui, estejam diretamente citadas ou não, não diminui a importância que marcaram na minha formação profissional, bem como pessoal.

Gostaria de agradecer de forma inicial a minha família, uma vez que, são os responsáveis pela possibilidade de tudo isso existir. O apoio incondicional, incentivo e até mesmo puxões de orelha ao longo de todo esse trajeto foram essenciais para a resiliência que construí e obtive, sem o seu apoio nada disso seria possível e ao mesmo tempo que agradeço, me desculpo pelos momentos difíceis e de ausência, morar fora com certeza foi um desafio e hoje valorizo muito mais tudo que me foi passado, em especial pelos meus pais, Karen e Roberto, amo vocês.

Agradeço também a minha orientadora Prof. Dr^a. Renata Mello Giona, que indiretamente me acolheu desde o começo da faculdade, e tornou-se minha inspiração acadêmica e profissional, poder trabalhar ao longo de 4 anos ao lado de uma profissional tão exemplar pode me ensinar coisas que levarei comigo para o resto da vida, todo o conhecimento adquirido nesse tempo certamente não pode ser obtido apenas em sala de aula, fica aqui a minha sincera admiração e agradecimento por toda a paciência e desenvolvimento que me ofertou, além de sempre acreditar no meu potencial apesar das dificuldades.

Não obstante, gostaria de agradecer a todos os colegas de laboratório que conheci nesse tempo, Ariany, Natalia, Najla, Roberta e Professora Ana, e claro, todos os professores do departamento de química logo ao lado, tornaram o trabalho prazeroso e leve. Um ambiente amigável com certeza proporciona um trabalho melhor.

Aos amigos da mesa 2, Maira, Adrielly, Arnaldo, Larissas, Leandro, Matheus e Mariana que me acolheram no início da faculdade e me aguentaram em todos os momentos, nossas memórias são incríveis, obrigado pelo suporte. Aos amigos da mesa 2, 2.0, Gabriel, Marcelo, Hannah, Vitor, Matheus e Murilo, os últimos meses

foram difíceis e estar com vocês me permitiu superar tudo novamente, obrigado. Aos amigos de Videira que mesmo distantes estavam presentes e em memória, obrigado.

À família handebol UTFPR XVIII de março, por todas as histórias, churrascos, podcasts, jogos, vitórias, derrotas, mas principalmente pela irmandade criada, não poderia ter melhores pessoas ao meu lado, espero que muita coisa ainda aconteça, esse esporte só me trouxe boas coisas.

Por fim, gostaria de agradecer a UTFPR pela estrutura ofertada e apoio financeiro atribuídos ao longo desse trajeto, a universidade é importante em nosso meio e deve prosperar.

RESUMO

O aumento da epidemiologia atrelada a doenças transmitidas por alimentos é uma problemática prejudicial à saúde e à economia. Nesse contexto os métodos de conservação e os conservantes sintéticos, são uma opção para remediar esse problema e foram marcos de desenvolvimento tecnológico. Entretanto, também apresentam impactos negativos na saúde do consumidor. Dessa forma, estudos buscam solucionar ambos os problemas utilizando recursos biocompatíveis como os óleos essenciais e a nanotecnologia. O eugenol, principal componente do óleo essencial de cravo, é um composto aromático do grupo dos fenóis, que possui atividades antioxidantes e antimicrobianas. Entretanto sua aplicação se torna difícil, uma vez que, é quimicamente instável e possui baixa solubilidade em água. Neste trabalho, foi realizada a síntese de uma nanopartícula de sílica mesoporosa (SiNP) pelo método sol-gel para adsorção de eugenol, com a finalidade de aumentar a capacidade bacteriostática frente a *Salmonella enterica* e a sua estabilidade térmica. A análise da atividade antibacteriana foi realizada por meio da concentração inibitória mínima (CIM). Para a caracterização das partículas foram realizados ensaios termogravimétricos e espectrofotométricos. Os resultados mostraram que a rede de sílica foi obtida com sucesso e o eugenol adsorvido à matriz, com uma eficiência de encapsulação de 69,76%. Além disso, a partícula obtida foi comparada com o desempenho do óleo sem estar encapsulado, mostrando um aumento na estabilidade térmica do eugenol de 31 °C, e com o teste de liberação indicando um mecanismo de difusão não-Fickiniana. A determinação da CIM mostrou um aumento na eficiência do eugenol de 30,94% em relação ao óleo não encapsulado. Assim o uso de SiNPs se mostrou uma alternativa eficaz na melhoria da capacidade bacteriostática do eugenol em relação a *S. enterica*.

Palavras-chave: bacteriostática; essências e óleos essenciais; nanopartículas; sílica.

ABSTRACT

The increase in epidemiology linked to foodborne diseases is a problem that causes damage to the health and the economy. In this context conservation methods and synthetic preservatives are an option to remedy this problem and were important advances in technological development. However, they also have negative impacts on consumer health. Therefore, studies seek to solve both problems using biocompatible resources such as essential oils and nanotechnology. Eugenol, the main component of clove essential oil, is an aromatic compound from the phenol group, which has antioxidant and antimicrobial activities. However, its application becomes difficult since it is chemically unstable and has low solubility in water. In this work, the synthesis of a mesoporous silica nanoparticle was carried out using the sol-gel method for the adsorption of eugenol, the main component of clove essential oil, with the aim of increasing the bacteriostatic capacity against *Salmonella enterica* and its thermal stability. The analysis of antibacterial activity was carried out using the minimum inhibitory concentration (MIC), thermogravimetric and spectrophotometric tests were carried out to characterize the particle. The results showed that the silica network was successfully obtained, and the eugenol adsorbed to the matrix, with an encapsulation efficiency of 69.76%. Furthermore, the particle obtained was compared with the performance of the oil without being encapsulated, showing an increase in the thermal stability of eugenol of 31 °C, and with the release test indicating a non-Fickian diffusion mechanism. The MIC determination showed an increase in eugenol efficiency of 30.94% in relation to non-encapsulated oil. Thus, the use of SiNPs proved to be an effective alternative in improving the bacteriostatic capacity of eugenol in relation to *S. enterica*.

Keywords: bacteriostatic; essences and essential oils; nanoparticles, sílica.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Invasão da parede intestinal por <i>Salmonella</i>	17
Figura 2 – Estrutura molecular do eugenol	20
Figura 3 – Representação esquemática da morfologia de nanopartículas.....	21
Figura 4 – Técnicas <i>Top-down</i> e <i>Bottom-up</i> para formação de nanopartículas	22
Figura 5 – Representação do método sol-gel.....	23
Figura 6 – Método sol-gel para obtenção das SiNPs	26
Figura 7 – Formação de SiNP@Eugenol	27
Figura 8 – Técnica de avaliação de CIM para SiNP@Eugenol	30
Figura 9 – (a) FT-IR do CTAB, SiNP-CTAB e SiNP; (b) FT-IR do eugenol, SiNP e SiNP@Eugenol	33
Figura 10 – Comparativo entre partículas e eugenol não encapsulado	34
Figura 11– Curva de TGA e DTG de (a) eugenol; (b) SiNP@Eugenol.....	35
Figura 12– Formação da partícula, adsorção e mecanismo de difusão de SiNP@Eugenol	36
Figura 13– Ajustes de acordo com os modelos cinéticos.....	37
Figura 14 – Ensaio de concentração inibitória mínima (CIM).....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Índices de ocorrência de DTAs por <i>Salmonella</i> conforme região e ano..	16
Tabela 2 - Diferentes tratamentos para otimização do processo de adsorção.....	28
Tabela 3 – Resultados de eficiência de encapsulação para os diferentes parâmetros	32
Tabela 4 – Parâmetros para os modelos de liberação testados.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CG-EM	Cromatografia Gasosa Associada à Espectrometria de Massa
BET	Ensaio de Área Superficial Específica
<i>E_e</i>	Eficiência de encapsulação
FTIR	Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
GRAS	Geralmente Referida Como Segura
SiNPs	Nanopartículas de Sílica Mesoporosas
TEOS	Tetraetoxissilano
TGA	Análise Termogravimétrica
CTAB	Brometo de cetiltrimetilamônio
SiNP@Eugenol	Nanopartículas de sílica mesoporosas carregadas com eugenol
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	Clinical and Laboratory Standard Institute
DTAs	Doenças Transmitidas por Alimentos
BHI	Brain Heart Infusion
OEs	Óleos Essenciais

LISTA DE SÍMBOLOS

OH	Grupo hidroxila
Si-O	Ligação silício com oxigênio
Si(C ₂ H ₅ O) ₄	Tetraetoxissilano
PA	Padrão analítico
C ₁₉ H ₄₂ BrN	Brometo de cetiltrimetilamônio
NH ₄ OH	Hidróxido de amônio
P ₁	Porcentagem em massa perdida pela SiNP@Eugenol
P ₂	Porcentagem em massa perdida pela SiNP
KBr	Brometo de potássio
N ₂	Gás nitrogênio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	14
2.1	Objetivo geral	14
2.2	Objetivos específicos	14
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1	Doenças alimentares	15
3.1.1	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>Enterica</i> serovar <i>Typhimurium</i>	15
<u>3.1.1.1</u>	<u>Patogenicidade</u>	<u>16</u>
3.2	Conservantes sintéticos	17
3.3	Conservantes naturais	18
3.3.1	Óleos essenciais	19
<u>3.3.1.1</u>	<u>Eugenol</u>	<u>19</u>
3.4	Nanoencapsulação	20
3.4.1	Nanopartículas de sílica mesoporosas (SiNPs)	22
<u>3.4.1.1</u>	<u>Eficiência de encapsulação, morfologia e biocompatibilidade das SiNPs</u> <u>23</u>	
4	MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1	Reagentes para síntese das SiNPs	26
4.2	Síntese das SiNPs	26
4.3	Adsorção do eugenol para preparo do SiNP@Eugenol	27
4.4	Análise da variação dos parâmetros de adsorção	28
4.5	Caracterização físico-química	28
4.6	Avaliação da capacidade bacteriostática	29
4.6.1	Preparo das amostras	29
<u>4.6.1.1</u>	<u>Micro-organismos</u>	<u>30</u>
4.6.1.1.1	<i>Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)</i>	30
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1	Análise da variação dos parâmetros de adsorção	32
5.2	Análise de espectroscopia no infravermelho (FT-IR)	32
5.3	Termogravimetria	34
5.4	Ensaio de liberação	36
5.5	Concentração inibitória mínima (CIM)	38
6	CONCLUSÃO	39

REFERÊNCIAS.....	40
-------------------------	-----------

1 INTRODUÇÃO

A ingestão de alimentos contaminados por patógenos microbiológicos provoca danos econômicos e à saúde humana. Com isso, diferentes compostos são utilizados para atender as demandas de segurança, higiene, valor nutricional e manutenção das qualidades sensoriais. Contudo, o uso de alguns conservantes sintéticos pode desencadear danos à saúde e ao ambiente. Esses efeitos implicam na busca de substitutos aos métodos sintéticos, como a biopreservação que utiliza de preservativos naturais de fontes como bactérias, fungos, animais e plantas (PISOSCHI *et al.*, 2018).

Diante disso, o eugenol (4-alil-2-metoxifenol), constituinte majoritário do óleo essencial de cravo, é classificado como geralmente reconhecido como seguro (GRAS) e amplamente estudado devido suas atividades antioxidantes e antimicrobianas. Entretanto, sua volatilidade e baixa solubilidade em água dificulta a utilização desse composto na indústria de alimentos como possível conservante natural. Uma alternativa para esse problema é o uso de carreadores, como as nanopartículas, que realizam uma liberação controlada das moléculas, uma vez que, prolongam o tempo de vida dessas substâncias e aumentam sua estabilidade e durabilidade (JIN *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2021b).

Assim, as nanopartículas são sistemas que integram e constroem o campo da nanotecnologia e podem ser definidas como partículas que apresentam pelo menos uma de suas dimensões abaixo dos 100 nm. O estudo desses sistemas abrange uma gama de materiais diferentes, destacando aquelas produzidas a partir da sílica, devido a simplicidade de síntese e possibilidades de aplicações. Especificamente, o desenvolvimento de nanopartículas de sílica mesoporosas (SiNPs) se torna interessante devido as suas grandes áreas superficiais e volume de poros, que possibilitam uma grande quantidade de encapsulamento (BISWAS; WU, 2012; DE OLIVEIRA *et al.*, 2017; SREENIVASA *et al.*, 2005).

Dessa forma, neste trabalho a utilização de eugenol encapsulado em SiNPs foi investigada objetivando-se o aumento i) da capacidade bacteriostática do eugenol frente a *Salmonella enterica*, e ii) de sua estabilidade térmica.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Sintetizar nanopartículas de sílica mesoporosas carregadas com eugenol, avaliando suas propriedades físico-químicas e melhorias em relação à ação bacteriostática frente a *Salmonella enterica*.

2.2 Objetivos específicos

- Sintetizar as SiNPs com eugenol (SiNP@Eugenol);
- Otimizar a síntese, por meio da variação dos parâmetros de tempo de contato e volume de eugenol.
- Caracterizar as SiNPs e o eugenol por análise termogravimétrica (TGA) e espectroscopia vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR);
- Avaliar a eficiência de encapsulação de eugenol pelas SiNPs;
- Avaliar o aumento de estabilidade térmica do eugenol encapsulado;
- Avaliar o efeito bacteriostático do eugenol encapsulado frente a *Salmonella enterica*;
- Comparar o efeito bacteriostático da SiNP@Eugenol com o eugenol livre frente a *Salmonella enterica*.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Doenças alimentares

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) são originadas a partir da ingestão de alimentos contaminados, geralmente, por micro-organismos patogênicos impactando a saúde e a economia (OLIVEIRA, *et al.*, 2010).

Nos Estados Unidos, centros de controle de doenças estimam que 48 milhões de pessoas podem ser afetadas anualmente pelas DTAs, sendo relacionadas ainda à 3 mil mortes. No Brasil, relatórios coletados pelo Ministério da Saúde entre os anos de 2000 a 2018 estimam que cerca de 2,4 milhões de pessoas foram expostas a surtos de DTAs, resultando em 195 mortes identificadas, em que o agente etiológico mais prevalente foi a *Salmonella spp.* sendo responsável por 14,4% dos casos (FINGER *et al.*, 2019).

Parte majoritária das causas de contaminação são a manipulação indevida bem como inadequação do método de conservação, gerando contaminações cruzadas. Dessa forma, pesquisas e agentes de saúde pública tem realizado trabalhos a fim de minimizar os impactos causados pelas doenças e patógenos presentes na indústria de alimentos, como investigação epidemiológica por entrevistas ou formulários, laboratorial em coletas de exames ou dos produtos propriamente ditos, ambiental ou desenvolvimento de melhorias no setor de higiene e segurança na cadeia produtiva (AIMBERÊ *et al.*, 2010; NEWELL *et al.*, 2010).

3.1.1 *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar *Typhimurium*

O gênero *Salmonella* é o principal causador de DTAs ao redor do mundo, muito se deve por seu meio de transmissão ser geralmente carnes, ovos e leite, alimentos comuns na dieta da população (FORTES *et al.*, 2012).

A *Salmonella enterica*, família Enterobacteriaceae, é uma espécie gram-negativa em formato de bacilo. Seu habitat é o trato intestinal, o que acarreta dispersão pelo contato com fezes contaminadas, que em contato com os alimentos podem desencadear infecções, se não higienizados ou tratados adequadamente (CARNEIRO; COSTA, 2020).

Estudos realizados por Callejón et al. (2015) nos Estados Unidos, Kozak e colaboradores (2013) no Canadá e Hull-Jackson e Adesiyun (2011) em Barbados (região do Caribe), conforme Tabela 1, indicaram que a *Salmonella* foi o principal patógeno encontrado em alimentos na primeira década dos anos 2000. A zoonose gerada é nomeada salmonelose e sua presença em alimentos deve ser diagnosticada, dado que, a identificação dos sintomas pode ser difícil e possui impacto econômico em relação a desperdícios no setor industrial (FINGER *et al.*, 2019; KAZUE *et al.*, 2008).

Tabela 1 – Índices de ocorrência de DTAs por *Salmonella* conforme região e ano
Ocorrência de DTAs por *Salmonella*

Região	Período (anos)	Índice (%)
Estados Unidos	2004-2012	22,7%
Canadá	2001-2009	50%
Barbados	1998-2009	91,7%

Fonte: Adaptado de Callejón et al. (2015), Kozak et al. (2013), e Hull-Jackson e Adesiyun (2011)

3.1.1.1 Patogenicidade

As infecções por *S. enterica* são majoritariamente gastrointestinais, e os sintomas podem incluir dor abdominal, diarreias, calafrios, febre, cefaleia, vômitos e podem evoluir para quadros clínicos de maior severidade (CARNEIRO; COSTA, 2020).

Esses quadros se caracterizam pela habilidade da bactéria de invasão do hospedeiro e proliferação intracelular, a qual tem ligação com as ilhas de patogenicidade. Essas, são partes genéticas adaptáveis da bactéria que intensificam o potencial de virulência por carregarem os genes responsáveis pela patogenicidade (FORTES *et al.*, 2012).

A infecção ocorre a partir da ingestão de bactérias presentes em alimentos contaminados, em que as ilhas de patogenicidade, partes genéticas móveis, atuam induzindo a formação de produtos intracelulares que modificam o funcionamento padrão fisiológico e bioquímico. Esse comportamento geralmente ocorre pela fagocitose dos enterócitos que posteriormente servem de abrigo para a bactéria sobreviver, representado pela Figura 1. Diante disso, a inflamação ocasionada por

esse processo leva a resposta imunológica liberando enzimas que hidrolisam o ATP e geram diarreias aquosas e problemas abdominais (CARNEIRO; COSTA, 2020).

Figura 1 – Invasão da parede intestinal por *Salmonella*



Fonte: Adaptado de Carneiro e Costa (2020)

Geralmente a infecção causada pela *S. enterica* se atém ao intestino, embora, esse quadro pode tornar-se generalizado quando a replicação acontece nos fagócitos, que, por sua vez, percorrem o organismo e infectam diferentes órgãos, agindo como carreadores do patógeno e desenvolvendo septicemia, que pode levar ao óbito (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

3.2 Conservantes sintéticos

Conservantes são substâncias adicionadas em alimentos ou fármacos com a finalidade de aumentar o tempo de vida útil, estendendo a qualidade e seguridade dos produtos. Essa melhoria pode vir de diversas frentes como inibição microbiológica, retardo do processo de acidificação ou decomposição e inibição fermentativa (KUMARI *et al.*, 2019).

A produção de preservantes sintéticos marcou uma evolução dentro da indústria de alimentos, substituindo processos utilizados por povos antigos, que não obtinham segurança confirmada, como uso de sal e açúcar, para preservar carnes e vegetais. Dentro da classificação, os sintéticos se alocam nos conservantes de classe 2 e podem ser citados os benzoatos, sorbatos e os nitritos e nitratos como exemplo. Entretanto, os regulamentos de padrões alimentares, um conjunto de legislações que regram os padrões de higiene e qualidade para alimentos, exigem que apenas um desses compostos seja utilizado por produto, devido aos riscos gerados por tais substâncias (ANAND; SATI, 2013).

Com o avanço industrial, o consumo e desejo por comidas ultraprocessadas e os *Fast Foods* também aumentou, implicando no uso em maiores escalas dos conservantes sintéticos. Esses agentes podem apresentar diversos efeitos adversos no organismo, trazendo à tona, a necessidade de foco em seus possíveis malefícios como irritações, alergias ou impactos no sistema digestório (SHAHMOHAMMADI; JAVADI; NASSIRI-ASL, 2016).

3.3 Conservantes naturais

Concomitantemente à larga escala industrial no campo alimentar, consumidores buscam minimizar impactos ocasionados pelos alimentos a saúde, gerando demanda por produtos que não contenham preservantes sintéticos. Dessa maneira, a indústria pesquisa diferentes abordagens para solucionar esse problema, como uso de micro-organismos e seus metabólitos ou a preservação utilizando compostos naturais. Substâncias extraídas de especiarias, ervas e plantas são utilizadas desde o princípio da civilização como medicamentos, saborizantes e preservantes. Essas propriedades podem ser utilizadas como recurso para estender tempo de vida útil, melhoria de qualidades sensoriais e até como identificadores de contaminantes. Em geral, compostos derivados dos vegetais, sendo principalmente os fenólicos e polifenólicos, são denotados majoritariamente pela qualidade antimicrobiana (BEKUMA, 2018; RASOOLI, 2007; SHARIF *et al.*, 2017).

Outras características importantes do uso de biopreservantes de origem vegetal são sua grande disponibilidade e ausência de impactos ambientais, fatores que emergem nas necessidades atuais, tanto na indústria como na comunidade (KUMARI *et al.*, 2019).

Apesar disso, o uso em escala industrial desses compostos pode apresentar algumas limitações, uma vez que, podem ser facilmente oxidados por condições de ambiente como temperatura e umidade, e geralmente apresentam uma baixa solubilidade em solventes comuns no processamento, como a água. Além disso, apesar da produção comercial ser possível, o custo produtivo pode ser elevado e conseqüentemente afetar o valor agregado (MAURYA *et al.*, 2021; NAUFALIN, 2019).

Dessa forma, se faz necessário o estudo de novas ferramentas que buscam viabilizar as quantidades de uso produtivo sem que afetem características físico-químicas e sensoriais.

3.3.1 Óleos essenciais

Óleos essenciais (OEs) são líquidos obtidos a partir da extração por arraste a vapor ou prensagem de flores, folhas, cascas e frutos e configuram ingredientes da indústria farmacêutica, cosmética e de alimentos. Possuem metabólitos como os mono e sesquiterpenos e fenilpropanoides, compostos responsáveis por suas características sensoriais (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

São substâncias complexas que possuem cor e odor característicos e alta volatilidade, tendo propriedades medicinais conhecidas. Por conta disso, na indústria de alimentos, estudos são realizados a fim de utilizar OEs como opções para extensão do tempo de vida útil e redução do impacto ambiental (ALMEIDA; ALMEIDA; GHERARDI, 2020).

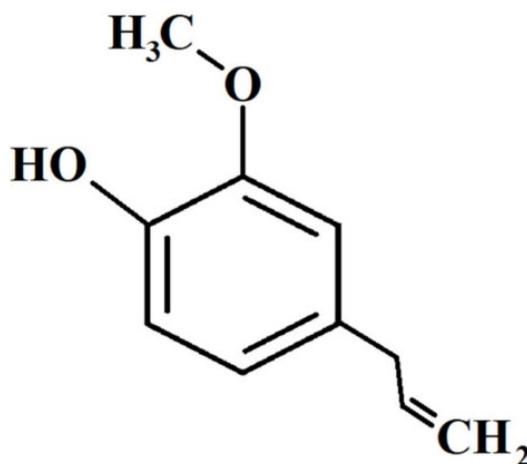
Por conta da variedade química presente na composição dos diferentes OEs, a atividade antimicrobiana também se diferencia dependendo do óleo, sendo geralmente relacionada à presença de compostos fenólicos, terpenos e cetonas e suas ações sinérgicas com componentes de menor quantidade, que atacam a parede celular bacteriana, inibindo seu crescimento ou gerando rompimentos que levam a morte. Essa atividade também depende das condições do ambiente e da compatibilidade dos OEs em relação às características da bactéria que se busca combater, sendo elas gram-positivas ou gram-negativas. Apesar disso, diferentes métodos de testes microbiológicos já são estabelecidos como ferramentas para quantificação dessa capacidade, como a determinação da concentração inibitória mínima (CIM), concentração bactericida mínima (CBM) e técnicas de macro e microdiluição em caldo (ANGANE *et al.*, 2022).

3.3.1.1 Eugenol

O eugenol é o principal componente do óleo essencial de cravo, representado estruturalmente pela Figura 2, sendo basicamente um líquido amarelo de consistência

oleosa e aparência límpida, possuindo baixa solubilidade em água e alta instabilidade. Quimicamente é um composto aromático do grupo dos fenóis e, quando ingerido, é rapidamente absorvido pelo organismo (ULANOWSKA; OLAS, 2021).

Figura 2 – Estrutura molecular do eugenol



Fonte: Adaptado de Ulanowska e Olas (2021)

O eugenol possui diversas propriedades farmacológicas conhecidas como atividade antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana, sendo comumente utilizado em materiais e processos odontológicos. Ainda, é largamente utilizado, na indústria de perfumaria e de alimentos, sendo classificado como GRAS e seu mecanismo bioativo é diverso (NISAR *et al.*, 2021; PAVITHRA, 2014).

Dentro do processo antimicrobiano, é conhecido por sua atividade bactericida frente a bactérias gram-positivas e gram-negativas. Essa atividade geralmente é relatada devido principalmente a presença de uma hidroxila livre em sua molécula, causando uma ruptura da parede e membranas celulares da bactéria, que gera diferentes processos de perda dos fluidos intracelulares e inibição respiratória, ocasionando a morte celular (NISAR *et al.*, 2021).

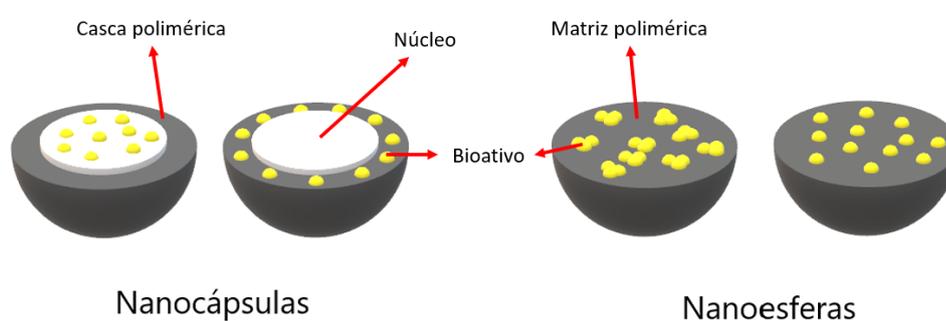
3.4 Nanoencapsulação

A incorporação de compostos com atividades biológicas em matrizes de tamanho nanométrico é denominada como nanoencapsulação. Esse método visa estabilizar, isolar ou controlar bioativos frente a diferentes tipos de degradação,

podendo ainda, melhorar a solubilização desses compostos em diferentes solventes (L. ASSIS; E. ZAVAREZE, 2012).

O processo de formação de nanopartículas pode ser subdividido em duas classes quanto a morfologia da matriz, sendo elas as nanocápsulas, em que a parede polimérica forma arranjos entorno de um núcleo, e as nanoesferas, em que o composto se retém ou adsorve à matriz polimérica. Ilustrados pela Figura 3 (HOLKEM *et al.*, 2015).

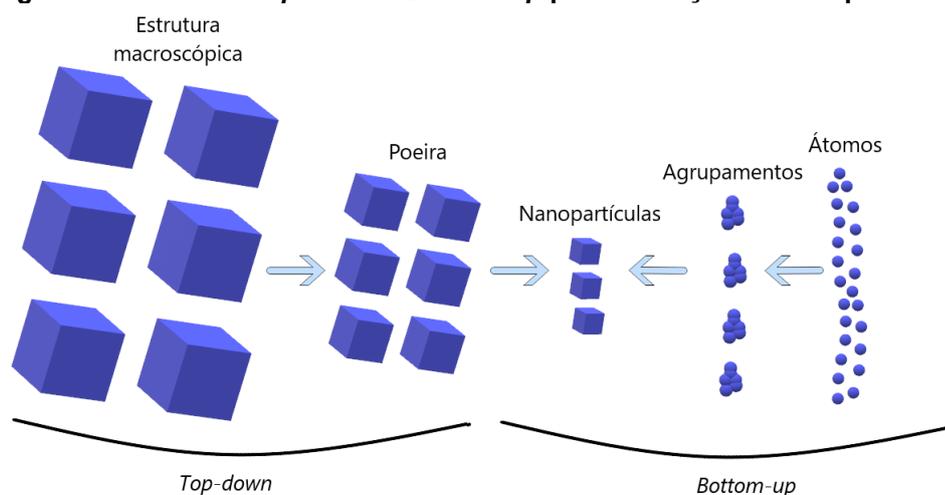
Figura 3 – Representação esquemática da morfologia de nanopartículas



Fonte: Adaptado de Holkem *et al.* (2015)

O revestimento geralmente atua como um bloqueio entre a substância-alvo e o meio. O formato de incorporação à parede polimérica pode ser realizado de diferentes formas, como dissolução e adsorção e, geralmente, sua escolha está associada às interações químicas que a substância oferece, como a polaridade ou solubilidade. Essas técnicas são classificadas em outras duas modalidades, *top-down* e *bottom-up*, em que, respectivamente, pode-se reduzir o tamanho do composto que visa ser encapsulado ou realizar a construção das estruturas baseando-se no comportamento molecular, representados pela Figura 4 (HOLKEM *et al.*, 2015; L. ASSIS; E. ZAVAREZE, 2012).

Figura 4 – Técnicas *Top-down* e *Bottom-up* para formação de nanopartículas



Fonte: Adaptado de ABID *et al.* (2022)

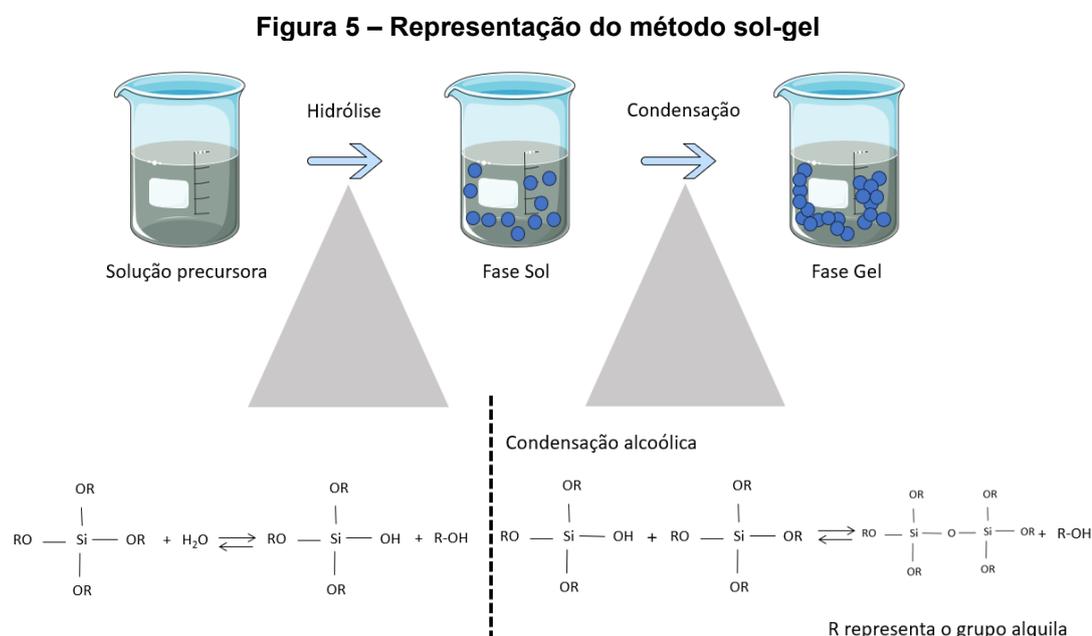
O uso da nanoencapsulação é crescente e possui usabilidade significativa na indústria de alimentos. Estudos utilizam essa metodologia para promover liberações controladas de bioativos melhorando o custo-benefício de suas aplicações e gerando impactos positivos no tempo de vida útil, processamento, qualidade e segurança alimentar (BAZANA; CODEVILLA; BONA, 2015; JUNGES *et al.*, 2022).

Em relação aos OEs, diferentes trabalhos já investigam o uso de nanoencapsulamento como recurso. Shahabadi *et al.* (2019), utilizou nanopartículas de sílica magnéticas para avaliar melhorias no eugenol frente a diferentes cepas. Jobdeedamrong e colaboradores (2018), utilizaram nano reservatórios para encapsular diferentes óleos como o de hortelã, tomilho e canela. Lu *et al.* (2021), desenvolveu biofilmes a partir de nanoestruturas e óleo essencial de orégano para aplicação em embalagens ativas. Reforçando o potencial uso e versatilidade de sistemas nanoestruturados.

3.4.1 Nanopartículas de sílica mesoporosas (SiNPs)

SiNPs são nanopartículas produzidas a partir de precursores de sílica, que, por sua vez, possibilitam a síntese de materiais mesoporosos utilizando a condensação do precursor. Essa condensação pode ocorrer ao redor de surfactantes que atuam como moldes e, posteriormente à síntese, são removidos a fim de se obter um material constituído de cavidades homogêneas (poros) e de tamanho nanométrico. Uma das maneiras possíveis de sintetizar as SiNPs é pelo método sol-gel, que é

iniciado pela hidrólise do precursor (fase sol) e posteriormente ocorre a condensação das partículas (fase gel), representado pela Figura 5 (LI *et al.*, 2012; MANZANO; VALLET-REGÍ, 2019).



Fonte: Adaptado de Bokov *et al.* (2021)

As partículas obtidas geralmente possuem grande área superficial e alto volume de poros, propriedades que tornam as SiNPs bons adsorventes de moléculas e possibilita sua utilização como carreadores. Essa adsorção geralmente objetiva proteger a substância de degradações e ocorre pela imersão do material produzido em uma solução (LI *et al.*, 2012; MANZANO; VALLET-REGÍ, 2019).

3.4.1.1 Eficiência de encapsulação, morfologia e biocompatibilidade das SiNPs

A encapsulação de substâncias por SiNPs geralmente é representada como miligrama de substância por grama de sílica (mg/g) e a quantia encapsulada geralmente se estabelece na faixa de 200 a 300 mg totais, entretanto, estudos indicam a possibilidade de números ainda maiores poderem ser atingidos (BHARTI *et al.*, 2015).

O processo de adsorção pode ocorrer de diferentes formas, sendo durante a síntese ou em contato pós síntese, que gera maiores benefícios, uma vez que,

possibilita a otimização do processo. Para todos os casos de fisissorção, as características das SiNPs permitem que uma menor quantidade de sólido seja utilizada para uma mesma quantidade de encapsulação quando comparadas a outras partículas. Além disso, a capacidade de adsorção também pode ser relacionada a área superficial do material e as interações entre material-substância, que podem ocorrer por pontes de hidrogênio ou interações eletrostáticas e estão diretamente ligadas a eficiência de encapsulação (LI *et al.*, 2012; MANZANO; VALLET-REGÍ, 2019).

Quanto a morfologia, as SiNPs podem adquirir diferentes conformações geométricas, a depender de suas funcionalizações ou ligações com as moléculas de interesse. Possuem ainda, ligações Si-O superficialmente, conferindo resistência a fatores do ambiente e dispensando a necessidade de estabilizações (BHARTI *et al.*, 2015).

A morfologia se dispõe com os poros de forma hexagonal e a partícula esférica. O tamanho dos mesoporos pode variar na faixa de 5 a 10 nm correspondentes ao tamanho das micelas formadas no molde. Entretanto, esses valores podem ser controlados alterando condições de síntese como pH e proporção entre surfactante e precursor (DEODHAR; ADAMS; TREWYN, 2017).

Outro fator positivo em relação ao uso de partículas derivadas de sílica, é sua biocompatibilidade. Possuir um alto valor de segurança em relação ao uso é motivo diferencial para aplicação de sistemas de carregamento. Assim, diversos estudos buscam analisar a compatibilidade das SiNPs com o organismo. Resultados de pesquisas utilizando ratos como cobaias indicaram que a sílica é majoritariamente excretada pelas fezes e urina, e ainda, não promoveu efeitos adversos significativos para os sistemas excretor, respiratório e exames hematológicos. A literatura descreve que a sílica é biodegradada em três estágios diferentes durante um ciclo de 15 dias, sendo que os produtos de degradação não são citotóxicos (MEKARU; LU; TAMANOI, 2015; WU; HUNG; MOU, 2011).

A biocompatibilidade também está associada a características físico-químicas como forma, tamanho e propriedades de superfície. Alterações químicas podem afetar diretamente as propriedades da partícula impactando a atividade biológica no organismo. Partículas de menores tamanhos, por exemplo, geralmente possuem menor toxicidade, uma vez que, o corpo é seletivo quanto a dimensão de corpos estranhos e suas permeações. Já a superfície, a depender de sua natureza, pode

interagir de diferentes formas com o sistema circulatório e realizar caminhos diferentes pelo organismo (ASEFA; TAO, 2012).

4 MATERIAL E MÉTODOS

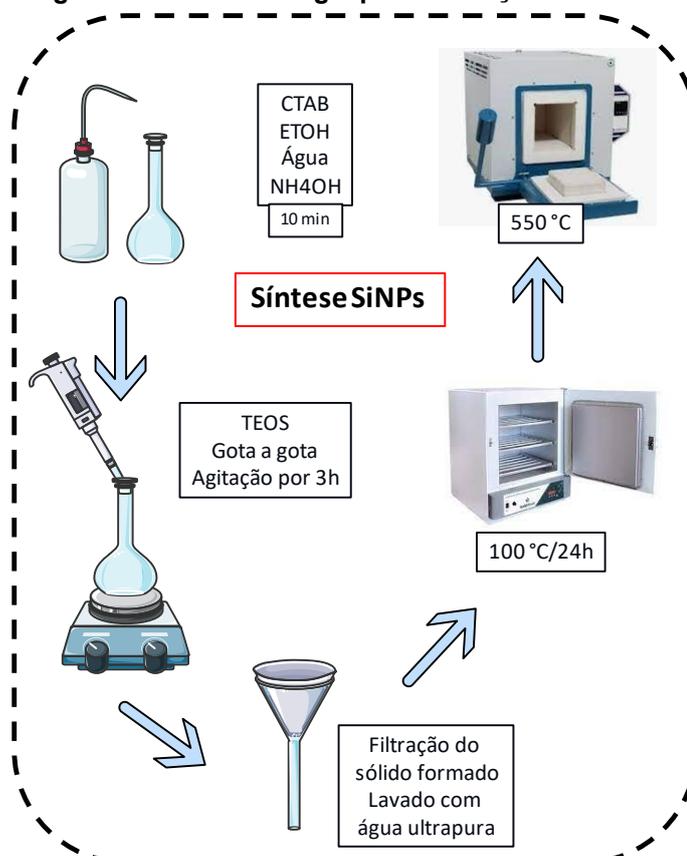
4.1 Reagentes para síntese das SiNPs

Os reagentes utilizados são listados a seguir, sendo esses o brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) ($C_{19}H_{42}BrN$) (Dinâmica, 98% - PA), Tetraetilortossilicato - TEOS ($SiC_8H_{20}O_4$) (Sigma-aldrich, 98% - PA), o álcool etílico (Dinâmica, 99% - PA) e o hidróxido de amônio (NH_4OH) (Biotec, 28% - PA). O eugenol foi obtido a partir do óleo essencial de cravo-da-índia (Biossência, 92%).

4.2 Síntese das SiNPs

As nanopartículas de sílica foram obtidas pelo método sol-gel representado pela Figura 6.

Figura 6 – Método sol-gel para obtenção das SiNPs

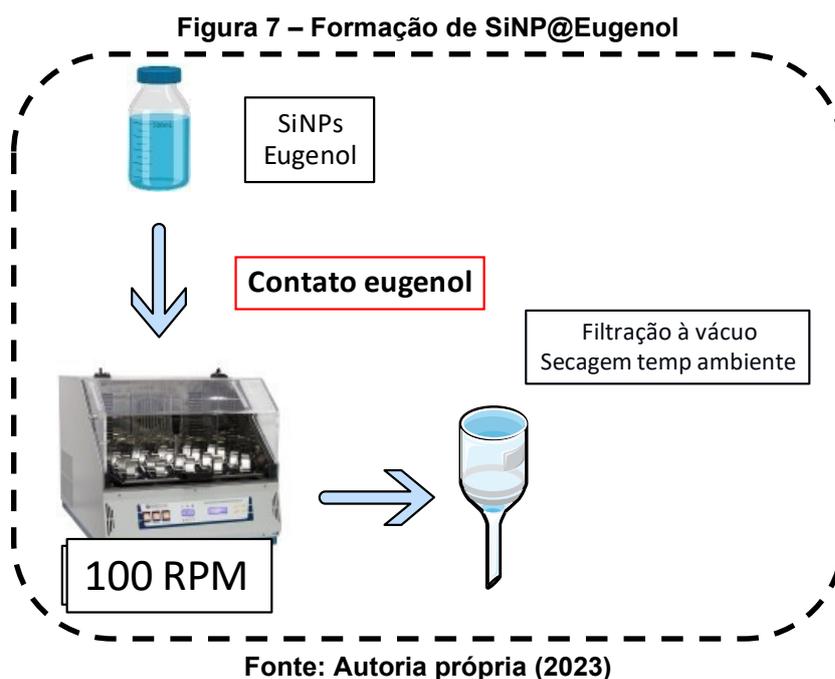


Fonte: Adaptado de (LU *et al.*, 2021)

Para isto, 3 mg de CTAB foram adicionados em uma solução de 62,5 mL de álcool etílico, 62,5 mL de água ultrapura e 15 mL de hidróxido de amônio em um balão volumétrico, e foram mantidos sob agitação magnética durante 10 minutos. Posteriormente, 4,25 g de TEOS foi adicionado à solução por gotejamento e a mistura foi mantida sob agitação magnética por 3 horas. Após o tempo de agitação, o precipitado foi coletado por filtração simples acrescido de lavagens de álcool etílico e água ultrapura e foi seco em estufa a 100 °C por 24 h. Por fim, após o tempo de secagem as SiNPs obtidas foram calcinadas em mufla a 550 °C (LU *et al.*, 2021).

4.3 Adsorção do eugenol para preparo do SiNP@Eugenol

O esquema de adsorção está representado pela Figura 7.



Para adsorver o eugenol, 25 mg de SiNPs foram pesados em um frasco de polipropileno e foram adicionados diferentes volumes de óleo essencial de cravo-da-índia (item 4.4) para obter SiNP@Eugenol. As amostras foram deixadas em uma incubadora do tipo shaker modelo Limatec a 30 °C e 100 rpm em diferentes tempos (item 4.4). Após, o óleo essencial residual foi removido por filtração à vácuo e as partículas obtidas foram secas em uma placa de Petri protegida por parafilme em temperatura ambiente (25-30 °C) durante 24 horas.

4.4 Análise da variação dos parâmetros de adsorção

Com a finalidade de melhorar os parâmetros de tempo de contato e volume de eugenol para obter a maior eficiência de encapsulação possível no processo de adsorção, realizou-se a variação desses parâmetros e posteriormente o cálculo da eficiência de encapsulação pelo método termogravimétrico. Os diferentes tratamentos estão expostos pela Tabela 2.

Em seus estudos Zhang *et al.* (2021b), utilizou 2,5 mL de eugenol para adsorção em 25 miligramas de nanopartículas de sílica durante um período de 24 h. Partindo desses dados, as alterações foram realizadas de forma decrescente visando a sua redução.

Tabela 2 - Diferentes tratamentos para otimização do processo de adsorção

Tratamento	Volume (mL)	Tempo de contato (h)
T1	2,5	24
T2	0,5	6
T3	1,5	6
T4	0,5	24
T5	1,5	24
T6	0,2	1

Fonte: Autoria própria (2023)

4.5 Caracterização físico-química

Para a avaliação do comportamento térmico do eugenol, da matriz de sílica e do material nanoencapsulado foi utilizado um analisador termogravimétrico (TGA) com o equipamento PerkinElmer, modelo: STA 6000 Thermal-Analyzer, com velocidade de aquecimento de 10 °C min⁻¹, varredura de 40 a 900 °C, sob atmosfera de N₂ (50 mL min⁻¹). A eficiência de encapsulação (*Ee*), também analisada com o resultado termogravimétrico, foi obtida pela Equação 1 (ZHANG *et al.*, 2021b), em que P₁ equivale a porcentagem de massa perdida pela SiNP@Eugenol e P₂ a porcentagem de massa perdida pela SiNP.

$$\frac{P_1}{100-Ee} = \frac{P_2}{100-P_2} \quad (1)$$

Com o objetivo de melhorar a volatilidade do eugenol, o TGA também foi utilizado para avaliar a liberação. Para isso, utilizou-se o método isotermal em que, fixou-se a temperatura em 60 °C, sob atmosfera de N₂ (20 mL min⁻¹) durante 1440 min. Os resultados obtidos foram posteriormente ajustados de acordo com as equações de primeira-ordem, Higuchi e Korsmeyer-Peppas (1983), expressas pelas suas formas linearizadas pelas Equações 2, 3 e 4, respectivamente, em que k₁ representa o expoente de liberação por difusão, k₂ a constante de cinética e y a taxa acumulada experimental de eugenol no tempo t (KORSMEYER *et al.*, 1983).

$$y = k_2[1 - \exp(-k_1 t)] \quad (2)$$

$$y = k_1 t^{\frac{1}{2}} \quad (3)$$

$$y = k_2 t^{k_1} \quad (4)$$

Além disso, a caracterização dos materiais foi realizada por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier, visando identificar os grupos funcionais presentes nas substâncias utilizadas, realizado com espectrofotômetro PerkinElmer, Modelo Frontier, com pastilhamento em brometo de potássio (KBr), com acumulação de 8 varreduras na faixa de 500 a 4000 cm⁻¹ e resolução de 4 cm⁻¹.

4.6 Avaliação da capacidade bacteriostática

4.6.1 Preparo das amostras

As amostras foram preparadas a fim de obter uma concentração de 5580,5 µg/mL de eugenol a partir da SiNP@Eugenol em água com auxílio de um agitador vórtex, objetivando evitar o uso de surfactantes para aplicação do óleo essencial.

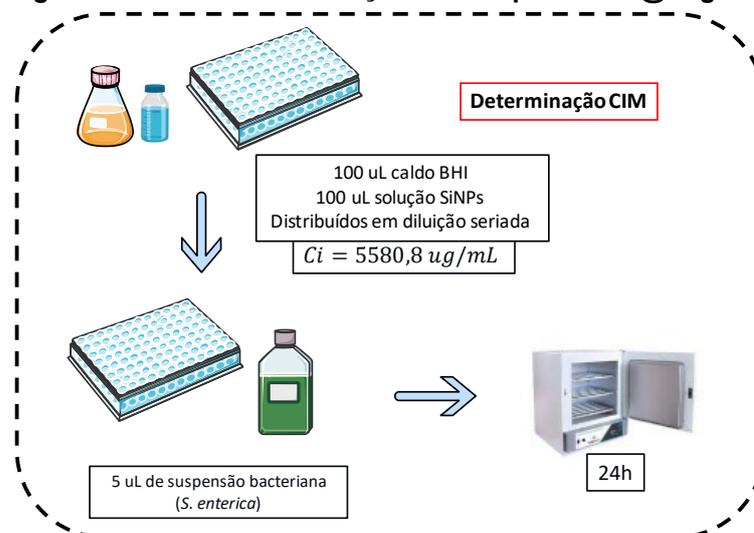
4.6.1.1 Micro-organismos

Foram utilizadas cepas da bactéria Gram-negativa *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovar *Typhimurium* para avaliar a capacidade bacteriostática das SiNP@Eugenol e ainda um controle utilizando SiNPs para avaliar a possível interferência do material no ensaio microbiológico. As cepas foram cultivadas por 24 h à 35 °C e a suspensão resultante foi diluída para o grau 0,5 de turbidez na escala de McFarland (Clinical and Laboratory Standard Institute, 2017).

4.6.1.1.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Para determinar a CIM das SiNP@Eugenol, a técnica de microdiluição em caldo baseada no método CLSI M2-A8 (Clinical and Laboratory Standard Institute, 2017) foi utilizada com modificações representada na Figura 8, no qual, em uma microplaca de 96 poços devidamente esterilizada foram depositados, em sequência, 100 µL de caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) em toda a linha e 100 µL da redispersão preparada (item 4.6.1) foram adicionados no primeiro poço e posteriormente distribuídos em série a fim de obter diferentes concentrações decrescentes no intervalo de 5580,5-10,74 µg/mL. Posteriormente foram adicionados 5 µL da suspensão bacteriana previamente preparada (item 4.6.1.1).

Figura 8 – Técnica de avaliação de CIM para SiNP@Eugenol



Fonte: Autoria própria (2023)

Ainda, nesse ensaio foram utilizados o controle de crescimento positivo composto pelo caldo BHI e suspensão bacteriana, o controle negativo composto exclusivamente de caldo BHI e controle da sílica composto por caldo BHI, sílica e suspensão bacteriana. Os testes foram realizados em triplicatas e incubados por 24 h à 35 °C.

A CIM foi determinada pela presença de turbidez nos poços, onde a ausência do fenômeno no poço de menor concentração foi considerada como CIM.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise da variação dos parâmetros de adsorção

Zhang *et al.* (2021b), reportou resultados de uma eficiência de encapsulação (E_e) de 63,7% para os parâmetros de referência, onde em seu estudo foi analisado diferentes tamanhos de mesoporos.

Na Tabela 3 são apresentados os resultados de E_e para os parâmetros tempo e volume de eugenol. Nela pode ser observado que, ao reduzir os parâmetros supracitados não se altera a eficiência de adsorção. A partir destes dados optamos por utilizar o tratamento (T6) para as análises posteriores.

Tabela 3 – Resultados de eficiência de encapsulação para os diferentes parâmetros

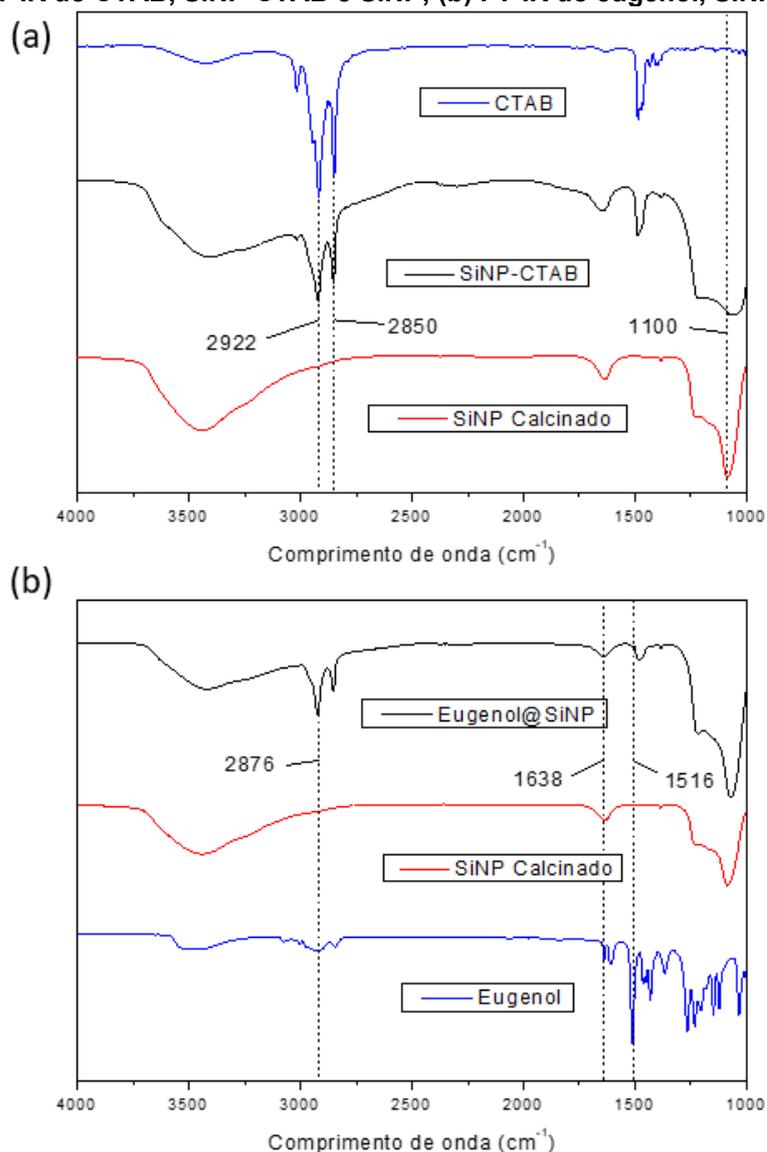
Tratamento	Volume (mL)	Tempo de contato (h)	E_e (%)
T1	2,5	24	69,7
T2	0,5	6	67,84
T3	1,5	6	67,21
T4	0,5	24	69,6
T5	1,5	24	67,79
T6	0,2	1	69,76

Fonte: Autoria própria (2023)

5.2 Análise de espectroscopia no infravermelho (FT-IR)

Os espectros de FTIR (Figura 9-(a)) da sílica antes da calcinação (SiNP-CTAB) e após a calcinação (SiNP) mostram bandas características de estiramento assimétrico e vibração do estiramento Si-O-Si em 1100 cm^{-1} .

Figura 9 – (a) FT-IR do CTAB, SiNP-CTAB e SiNP; (b) FT-IR do eugenol, SiNP e SiNP@Eugenol



Fonte: Autoria própria (2023)

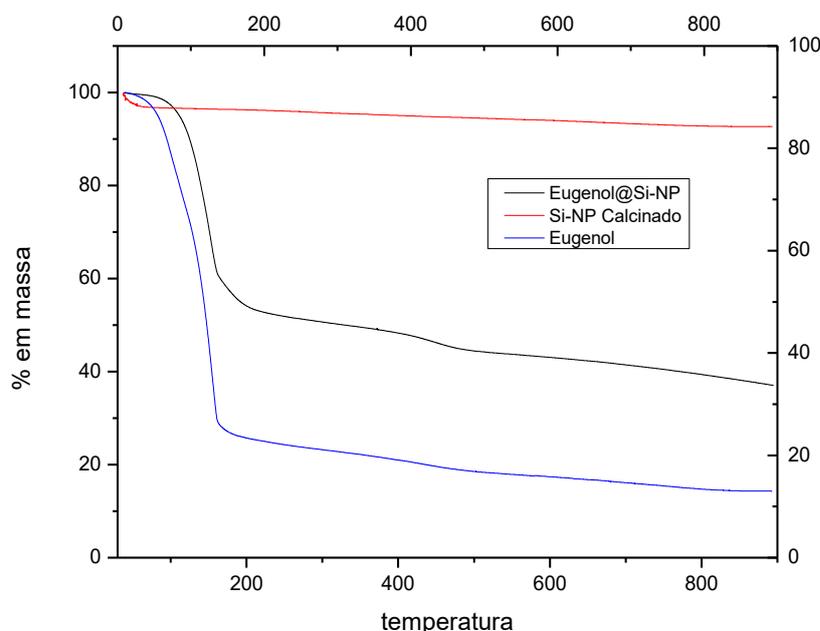
Já para o CTAB observamos bandas entre 2850 e 2922 cm⁻¹ relacionadas aos modos de estiramento assimétrico e simétrico de CH₂ do surfactante, que também estão presentes em SiNP-CTAB. Como é possível observar, a SiNP-calcinada não possui essas mesmas bandas, indicando a remoção completa do CTAB, que foi o molde utilizado para formação dos mesoporos (BACCILE; GROSSO; SANCHEZ, 2003; KIM *et al.*, 2021).

A Figura 9-(b) mostra os espectros da SiNP, do eugenol e do SiNP@Eugenol. No espectro do eugenol, pode-se observar bandas características na região de 2876 cm⁻¹ (estiramento C-H), 1516 cm⁻¹, 1603 cm⁻¹ e 1638 cm⁻¹ (C=C anel aromático), também presentes no espectro do SiNP@Eugenol, confirmando a encapsulação do eugenol na matriz de sílica (SHAHABADI *et al.*, 2019).

5.3 Termogravimetria

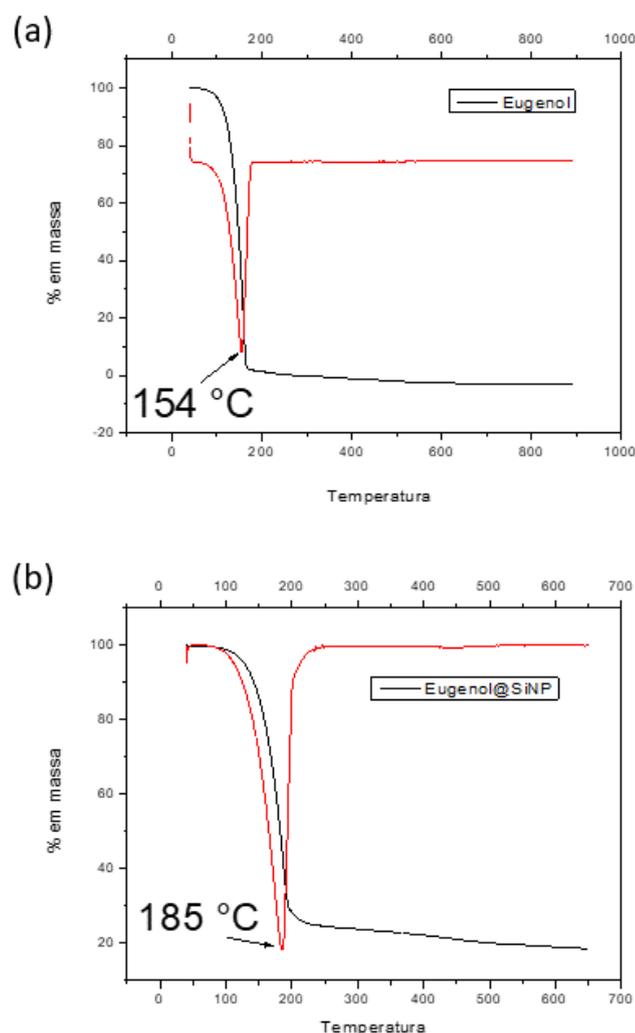
A Figura 10, apresenta o comparativo entre as curvas termogravimétricas da sílica calcinada, a qual possui uma perda de massa de aproximadamente 4,3% próximo aos 100 °C, equivalente a perda de água adsorvida, do SiNP@Eugenol e do eugenol. Por meio dessa análise pode-se calcular a eficiência de encapsulação, obtendo-se um valor de 69,76% de massa de eugenol/massa total da partícula, valor superior aos reportados por Zhang *et al.* (2021b) de 63,7% em seu estudo de controle do diâmetro dos poros.

Figura 10 – Comparativo entre partículas e eugenol não encapsulado



Fonte: Autoria própria (2023)

Na curva termogravimétrica derivada, Figura 11, pode-se observar que o eugenol quando não encapsulado, Figura 11-(a), possui uma perda de massa de aproximadamente 98% na temperatura de 154 °C indicando a temperatura de degradação da substância. Já na Figura 11-(b), pode-se analisar que quando encapsulado a temperatura de degradação do eugenol aumentou 31 °C, atingindo uma temperatura de degradação de 185 °C, indicando que a nanoencapsulação melhorou a estabilidade térmica da substância.

Figura 11– Curva de TGA e DTG de (a) eugenol; (b) SiNP@Eugenol

Fonte: Autoria própria (2023)

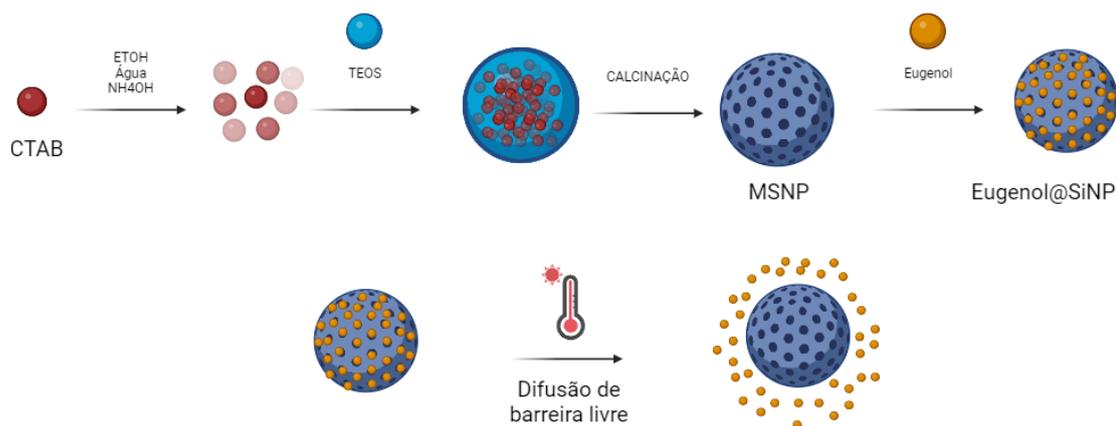
A diferença de comportamento térmico obtido após a encapsulação, pode ser relacionada a diferentes fenômenos físico-químicos. Dentre eles, acredita-se que o processo de adsorção pela sílica pode reter os compostos de degradação voláteis do eugenol desacelerando sua volatilização (LIU *et al.*, 2004; PALZA; VERGARA; ZAPATA, 2010).

A parte física do processo, baseia-se na difusividade baixa apresentada pela matriz de sílica, devido ao efeito labirinto imposto, onde, de forma geral, a alta proporção das camadas de silicato retarda o caminho da volatilização. Além disso, de forma análoga, pode-se inferir que as partículas de sílica podem atuar como isolante térmico para o composto encapsulado, o que também pode induzir o aumento da temperatura de degradação (LIU *et al.*, 2004; PALZA; VERGARA; ZAPATA, 2010).

5.4 Ensaio de liberação

Para avaliar a volatilidade do eugenol pelo encapsulamento com SiNPs, foi realizado o teste de ensaio de liberação, representado pela Figura 12.

Figura 12– Formação da partícula, adsorção e mecanismo de difusão de SiNP@Eugenol



Fonte: Criado com biorender.com, Autoria própria (2023)

Os ajustes dos modelos cinéticos aos dados experimentais foram realizados com a finalidade de compreender melhor o mecanismo de liberação do eugenol pela partícula e os resultados estão expostos pela Tabela 4, bem como nos gráficos contidos na Figura 13.

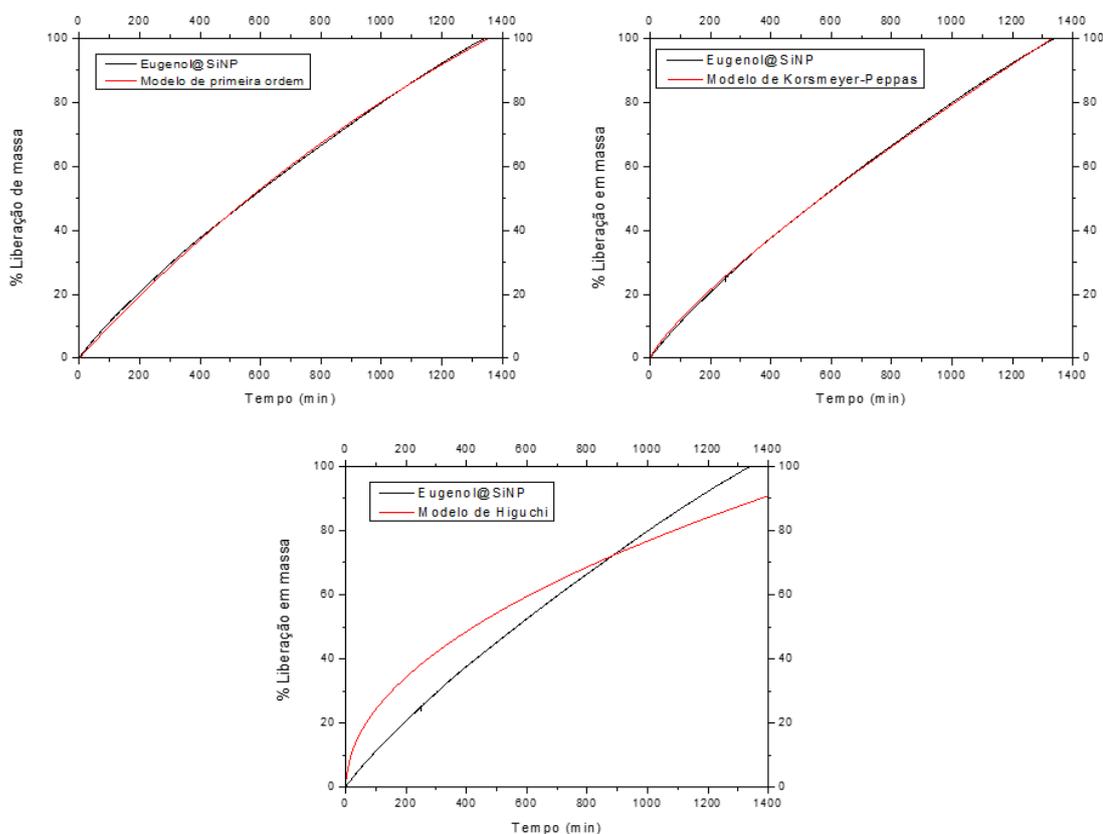
Tabela 4 – Parâmetros para os modelos de liberação testados

Modelo cinético	Parâmetros		
	Expoente de liberação por difusão (k_1)	Constante cinética (k_2)	R^2
Primeira ordem	$4,8 \times 10^{-5}$	205,6534	0,9989
Korsmeyer-Peppas	0,8122	0,2897	0,9994
Higuchi	2,4265	--	0,9081

Fonte: Autoria própria (2023)

Nela, pode-se observar que a partícula SiNP@Eugenol obteve bons ajustes quanto ao modelo de primeira-ordem com um valor de R^2 equivalente a 0,9989 e com o modelo de Korsmeyer-Peppas com um valor de R^2 equivalente a 0,9994.

Figura 13– Ajustes de acordo com os modelos cinéticos



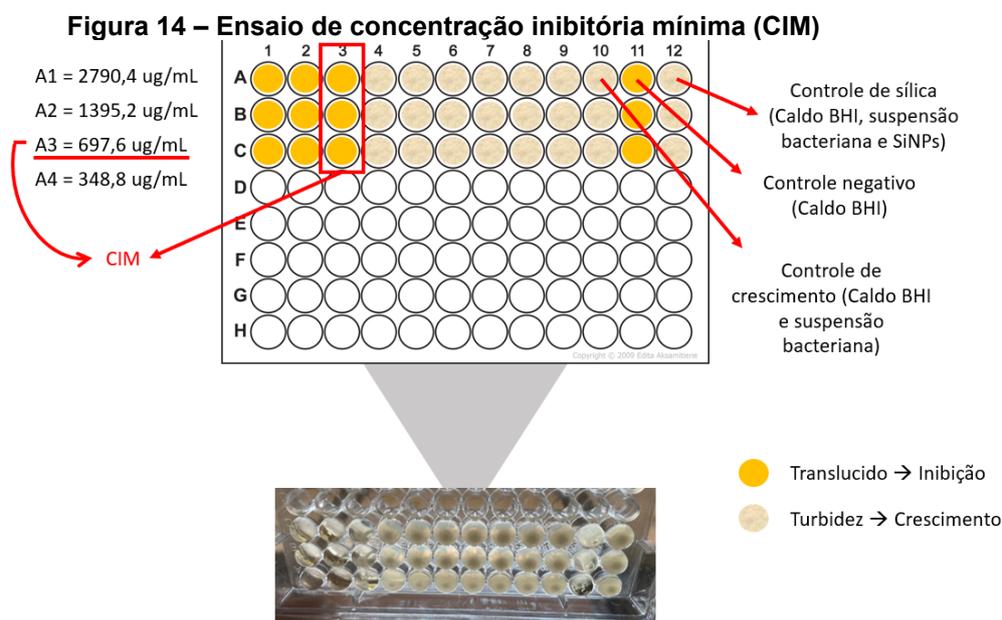
Fonte: Autoria própria (2023)

Além disso, o modelo de Korsmeyer-Peppas pressupõe que se o coeficiente de difusão (k_1) estiver em valores abaixo de 0,45 o processo é Fickiniano, entre 0,45-1 o processo de liberação sustentada é controlado principalmente por difusão não-Fickiniana, e acima de 1 é de superestado (YILMAZ; OZAY, 2022).

O estado Fickiniano, é onde o relaxamento da cadeia polimérica é inferior a taxa de difusão do meio, de superestado é onde a dilatação da cadeia é o principal controle de liberação, e não-Fickiniano é onde o mecanismo engloba ambos os fenômenos, dilatação e difusão. Dessa forma, o resultado obtido para o parâmetro k_1 foi de 0,8122, caracterizando o mecanismo como difusão não-Fickiniana. Os resultados são corroborados por estudos similares em que k_1 para primeira-ordem esteve em $6,48 \times 10^{-5}$ e para Korsmeyer-Peppas em 0,56. Assim, uma vez que, o mecanismo majoritário para a liberação depende da dilatação das camadas de silicato, e essas possuem uma alta proporcionalidade conforme indicado (item 5.3), esses resultados podem indicar um retardo na volatilidade do eugenol e posterior liberação sustentada com um possível aumento do tempo de vida-útil do eugenol (CHEN et al., 2020; YILMAZ; OZAY, 2022).

5.5 Concentração inibitória mínima (CIM)

A CIM do SiNP@Eugenol foi de 697,6 $\mu\text{g/mL}$, aumentando sua eficiência bacteriostática em 30,94% quando comparado com o mesmo óleo essencial não encapsulado (CIM = 1000 $\mu\text{g/mL}$), segundo resultados apresentados por Binhara *et al.* (2021). Além disso, esses dados mostraram que a sílica não mostrou toxicidade em relação à cepa utilizada, o esquema do ensaio está representado pela Figura 14.



Fonte: Autoria própria (2023)

Pesquisas anteriores, indicam que o potencial bacteriostático do eugenol pode ser proveniente da inibição de funções celulares. Niu (2019), em seus estudos, analisou a possibilidade da ligação do eugenol com macromoléculas intracelulares, como o DNA. Seus resultados mostraram que de acordo com o aumento da concentração de DNA genômico de *E. coli* no meio, o pico de fluorescência do eugenol diminui, sendo correlacionado com a extinção da fluorescência por ligação de ambas as substâncias. Uma vez que, o DNA é parte essencial para o funcionamento e sobrevivência celular, a ligação de diferentes moléculas à sua estrutura pode alterar o seu funcionamento e impactar o meio celular (NIU *et al.*, 2019).

Outros estudos, como o de Bravo e colaboradores (2018) ainda indicam, que a alta volatilidade e rápida degradação de óleos essenciais podem ser fatores limitantes no seu potencial antibacteriano, trazendo a encapsulação por SiNPs como

recurso para contornar esses problemas, uma vez que, a imobilização de óleos essenciais pela matriz permite que a liberação rápida e volatilização do composto sejam retardadas, permitindo uma presença estendida do efeito antibacteriano (BRAVO *et al.*, 2018). Resultados que também são corroborados pelas análises anteriores nesse estudo.

Dessa forma, acredita-se que o efeito bacteriostático do eugenol deriva de interações de ligação. Assim, uma vez que reduzimos à nanoescala, essas interações, podem ser potencializadas, uma vez que, ocorra o aumento do tempo de exposição do eugenol em relação aos micro-organismos (ZHANG *et al.*, 2021a).

6 CONCLUSÃO

Nesse estudo, foram sintetizadas nanopartículas de sílica mesoporosas para encapsulamento de eugenol e avaliado a possibilidade de melhoria na sua capacidade bacteriostática e estabilidade térmica.

Os resultados mostraram que as partículas de sílica foram sintetizadas com sucesso. Além disso o eugenol foi adsorvido à matriz com uma eficiência de encapsulação equivalente a 69,76%, valores superiores a reportados na literatura.

A análise termogravimétrica mostrou que houve um aumento de 31 °C na temperatura de degradação do eugenol quando encapsulado, indicando melhoria considerável em sua estabilidade térmica e permitindo uma possível extensão no seu tempo de vida-útil. Ainda, o teste de liberação mostrou bons ajustes em relação aos modelos de primeira-ordem e Korsmeyer-Peppas, indicando um mecanismo de difusão livre de barreiras não-Fickiniano.

Por fim, a caracterização microbiológica mostrou que houve melhoria de 30,94% na concentração inibitória mínima (697,6 µg/mL) do eugenol quando encapsulado sendo possivelmente atribuído às interações morfológicas e ligações celulares potencializadas pela redução à nanoescala, que pode possibilitar um maior tempo de exposição dos micro-organismos ao eugenol. Assim estudos futuros podem ser realizados buscando aplicabilidade em produtos como carnes e vegetais ou em processos tecnológicos.

REFERÊNCIAS

- ABID, N. et al. Synthesis of nanomaterials using various top-down and bottom-up approaches , influencing factors , advantages , and disadvantages : A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 300, n. December 2021, p. 102597, 2022.
- AIMBERÊ, C. et al. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul , Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 1, p. 44–48, 2010.
- ALMEIDA, J. C.; ALMEIDA, P. P.; GHERARDI, S. R. M. Potencial antimicrobiano de óleos essenciais : uma revisão de literatura de 2005 a 2018. **Nutri Time**, v. 17, n. 1, p. 8623–8633, 2020.
- ANAND, S. P.; SATI, N. Artificial preservatives and their harmful effects: looking toward nature for safer alternatives. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 4, n. 7, p. 2496–2501, 2013.
- ANGANE, M. et al. Essential Oils and Their Major Components : An Updated Review on Antimicrobial Activities , Mechanism of Action and Their Potential Application in the Food Industry. **Foods**, v. 11, n. 464, p. 1–26, 2022.
- ASEFA, T.; TAO, Z. Biocompatibility of Mesoporous Silica Nanoparticles. **Chemical Research in Toxicology**, v. 25, p. 2265–2284, 2012.
- BACCILE, N.; GROSSO, D.; SANCHEZ, C. Aerosol generated mesoporous silica particles. **Journal of materials chemistry**, v. 13, p. 3011–3016, 2003.
- BAZANA, M. T.; CODEVILLA, C. F.; BONA, C. DE. Nanoencapsulação de licopeno em alimentos Lycopene nanoencapsulation in food. **Ciência e Natura**, v. 37, p. 38–48, 2015.
- BEKUMA, A. Biopreservation , Promising Strategies to Improve the Safety and Shelf-Life of Foods. n. November, 2018.
- BHARTI, C. et al. Mesoporous silica nanoparticles in target drug delivery system : A review. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 5, n. 3, p. 124–133, 2015.
- BINHARA, R. DA C. **EFEITOS ISOLADOS E SINÉRGICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Syzygium aromaticum* E ISOTIOCINATO DE ALILO FRENTE A BACTÉRIAS PATOGÊNICAS**. [s.l: s.n.].
- BISWAS, P.; WU, C. Nanoparticles and the Environment. **Journal of the Air & Waste Management Association**, v. 2247, n. 2005, 2012.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588–594, 2009.
- BOKOV, D. et al. Nanomaterial by Sol-Gel Method : Synthesis and Application. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2021, p. 21, 2021.

- BRAVO, M. et al. Species-specific antimicrobial activity of essential oils and enhancement by encapsulation in mesoporous silica nanoparticles. **Industrial Crops & Products**, v. 122, n. June, p. 582–590, 2018.
- CALLEJÓN, R. M. et al. Reported Foodborne Outbreaks Due to Fresh Produce in the United States and European Union: Trends and Causes. **FOODBORNE PATHOGENS AND DISEASE**, v. 12, n. 1, p. 32–38, 2015.
- CARNEIRO, D. O.; COSTA, M. S. F. CARACTERÍSTICAS E PATOGENICIDADE DA SALMONELLA ENTERICA: UMA REVISÃO DE LITERATURA. **Visão Acadêmica**, v. 21, n. 1, p. 72–79, 2020.
- CHEN, H. et al. Synthesis of mesoporous silica post-loaded by methyl eugenol as an environment-friendly slow-release bio pesticide. **Scientific reports**, p. 1–12, 2020.
- DE OLIVEIRA, L. F. et al. Tailored silica nanoparticles surface to increase drug load and enhance bactericidal response. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 9, p. 1715–1724, 2017.
- DEODHAR, G. V.; ADAMS, M. L.; TREWYN, B. G. Controlled release and intracellular protein delivery from mesoporous silica nanoparticles. **Biotechnology Journal**, v. 12, n. 1, p. 1600408, 2017.
- FINGER, J. A. F. F. et al. Overview of Foodborne Disease Outbreaks in Brazil from 2000 to 2018. **Foods**, v. 8, n. 434, p. 1–10, 2019.
- FORTES, T. P. et al. Ilhas de patogenicidade de Salmonella enterica : uma revisão. **Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 2, p. 219–227, 2012.
- HOLKEM, A. T. et al. Técnicas de preparação de sistemas nanotecnológicos aplicados a alimentos. **Ciência e Natura**, v. 37, p. 87–96, 2015.
- HULL-JACKSON, C.; ADESIYUN, A. A. Review Foodborne disease outbreaks in Barbados (1998-2009): a 12-year review. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 13, p. 1–10, 2011.
- JIN, P. et al. Enhancement in Antibacterial Activities of Eugenol-Entrapped Ethosome Nanoparticles via Strengthening Its Permeability and Sustained Release. 2019.
- JOBDEEDAMRONG, A.; JENJOB, R.; CRESPIY, D. Encapsulation and Release of Essential Oils in Functional Silica Nanocontainers. **Langmuir**, v. 34, p. 13235–13243, 2018.
- JUNGES, A. et al. Aplicação da nanotecnologia na engenharia de alimentos : uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. 1–10, 2022.
- KAZUE, N. et al. Salmonella spp ., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Ciência e Saúde Coletiva**, p. 1675–1683, 2008.
- KIM, M. et al. Optimization of Mesoporous Silica Nanoparticles through Statistical Design of Experiment and the Application for the Anticancer Drug. 2021.
- KORSMEYER, R. W. et al. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 15, p. 25–35, 1983.

- KOZAK, G. K.; DONALD, D. M. A. C.; LANDRY, L. Foodborne Outbreaks in Canada Linked to Produce : 2001 through 2009. **Journal of Food Protection**, v. 76, n. 1, p. 173–183, 2013.
- KUMARI, P. V. K. et al. Alternative to Artificial Preservatives. **Systematic Reviews in Pharmacy**, v. 10, n. 1, p. 99–102, 2019.
- L. ASSIS, E. ZAVAREZE, ET AL. Revisão : Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos Review : Characteristics of nanoparticles and their potential applications in foods. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 99–109, 2012.
- LI, Z. et al. Mesoporous silica nanoparticles in biomedical applications. **Chem. Soc. Rev.**, v. 41, n. 7, p. 2590–605, 2012.
- LIU, Y. et al. Thermal stability of epoxy-silica hybrid materials by thermogravimetric analysis. **Thermochimica**, v. 412, p. 139–147, 2004.
- LU, W. et al. Development of antioxidant and antimicrobial bioactive films based on Oregano essential oil / mesoporous nano-silica / sodium alginate. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 29, n. May, p. 100691, 2021.
- MANZANO, M.; VALLET-REGÍ, M. Mesoporous Silica Nanoparticles for Drug Delivery. **Advanced Functional Materials**, v. 1902634, p. 1–13, 2019.
- MAURYA, A. et al. Essential Oil Nanoemulsion as Eco-Friendly and Safe Preservative : Bioefficacy Against Microbial Food Deterioration and Toxin Secretion , Mode of Action , and Future Opportunities. **frontiers in microbiology**, v. 12, n. November, p. 1–17, 2021.
- MEKARU, H.; LU, J.; TAMANOI, F. Development of mesoporous silica-based nanoparticles with controlled release capability for cancer therapy ☆ a) Liposome. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 95, p. 40–49, 2015.
- NAUFALIN, R. Natural preservation opportunities and challenges in improving food safety. **1st International Conference on Material Science and Engineering for Sustainable Rural Development AIP**, v. 020032, n. April, 2019.
- NEWELL, D. G. et al. International Journal of Food Microbiology Food-borne diseases — The challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. **International Journal of Food Microbiology**, v. 139, p. S3–S15, 2010.
- NISAR, M. F. et al. Pharmacological Properties and Health Benefits of Eugenol : A Comprehensive Review. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2021, p. 1–14, 2021.
- NIU, D. et al. Multi-target antibacterial mechanism of eugenol and its combined inactivation with pulsed electric fields in a hurdle strategy on Escherichia coli. **Food Control**, v. 106, n. June, p. 106742, 2019.
- OLIVEIRA, A. P. et al. Salmonella enterica: genes de virulência e ilhas de patogenicidade. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 16, p. 1947–1972, 2013.
- PALZA, H.; VERGARA, R.; ZAPATA, P. Improving the Thermal Behavior of Poly (

propylene) by Addition of Spherical Silica Nanoparticles. **Macromolecular Materials and Engineering**, v. 295, p. 899–905, 2010.

PAVITHRA, B. Eugenol-A Review. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 6, n. 3, p. 153–154, 2014.

PISOSCHI, A. M. et al. An overview of natural antimicrobials role in food. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 143, p. 922–935, 2018.

RASOOLI, I. Food Preservation – A Biopreservative Approach. **Global Science Books**, v. 1, n. 2, p. 111–136, 2007.

SHAHABADI, N. et al. Journal of Drug Delivery Science and Technology Cytotoxicity and antibacterial activities of new chemically synthesized magnetic nanoparticles containing eugenol. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 49, n. November 2018, p. 113–122, 2019.

SHAHMOHAMMADI, M.; JAVADI, M.; NASSIRI-ASL, M. An Overview on the Effects of Sodium Benzoate as a Preservative in Food Products. **Biotech Health Sci**, v. 3, n. 3, p. 1–5, 2016.

SHARIF, Z. I. M. et al. Review on methods for preservation and natural preservatives for extending the food longevity. **Chemical Engineering Research Bulletin**, v. 19, p. 145–153, 2017.

SREENIVASA, K. et al. A novel method for synthesis of silica nanoparticles. v. 289, p. 125–131, 2005.

ULANOWSKA, M.; OLAS, B. Biological Properties and Prospects for the Application of Eugenol — A Review. **International Journal of Molecular Sciences Review**, v. 22, n. 3671, p. 1–13, 2021.

WU, S.; HUNG, Y.; MOU, C. Mesoporous silica nanoparticles as nanocarriers. **Chemical Communications**, v. 47, p. 9972–9985, 2011.

YILMAZ, B.; OZAY, O. Synthesis of antibiotic-modified silica nanoparticles and their use as a controlled drug release system with antibacterial properties. **Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements**, v. 197, n. 9, p. 964–972, 2022.

ZHANG, R. et al. Antifungal activity and mechanism of cinnamon essential oil loaded into mesoporous silica nanoparticles. **Industrial Crops & Products**, v. 171, n. July, p. 113846, 2021a.

ZHANG, T. et al. Preparation of mesoporous silica nanoparticle with tunable pore diameters for encapsulating and slowly releasing eugenol. **Chinese Chemical Letters**, v. 32, n. 5, p. 1755–1758, 2021b.