

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE
MATERIAIS – PPGCEM**

JANAINA DOS SANTOS TASCA

**DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULAS DE ALGINATO E
HIDROXIAPATITA CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE *CYMBOPOGON NARDUS*
(CITRONELA) PARA AÇÃO ANTIMICROBIANA E REPELENTE**

**CRICIÚMA
FEVEREIRO, 2024**

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE
MATERIAIS – PPGCEM**

JANAINA DOS SANTOS TASCA

**DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULAS DE ALGINATO E
HIDROXIAPATITA CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE *CYMBOPOGON NARDUS*
(CITRONELA) PARA AÇÃO ANTIMICROBIANA E REPELENTE**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Orientadora: Profa. Dra. Sabrina Arcaro

Coorientadora: Profa. Dra. Maria Alice Prado
Cechinel.

**CRICIÚMA
FEVEREIRO, 2024**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

T197d Tasca, Janaina dos Santos.

Desenvolvimento de micropartículas de alginato e hidroxiapatita contendo óleo essencial de *cymbopogon nardus* (citronela) para ação antimicrobiana e repelente / Janaina dos Santos Tasca. - 2024.

133 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Criciúma, 2024.

Orientação: : Sabrina Arcaro.

Coorientação: Maria Alice Prado Cechinel.

1. Alginato. 2. Hidroxiapatita. 3. Microencapsulamento. 4. Essências e óleos essenciais - Indústria. 5. Citrolena. 6. Repelentes de insetos - Eficiência. 7. Anti-Infecciosos - Eficiência. I. Título.

CDD 23. ed. 620.192


Janaina dos Santos Tasca

Desenvolvimento de micropartículas de alginato e hidroxiapatita contendo óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (citronela) para ação antimicrobiana e repelente.


Esta Dissertação foi julgada adequada à obtenção do grau de Mestre(a) em Ciência e Engenharia de Materiais pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais - PPGCEM (Área de concentração: Tecnologia de Materiais) da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

Criciúma, SC, 28 de fevereiro de 2024.


Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **OSCAR RUBEM KLEGUES MONTEDO**
Data: 28/02/2024 16:27:30-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Oscar Rubem Klegues Montedo
Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC

Documento assinado digitalmente
 **ELIDIO ANGIOLETTO**
Data: 05/03/2024 15:38:47-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. Elidio Angioletto
Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC

Documento assinado digitalmente
 **JOSIANE SOMARIVA PROPHIRO**
Data: 04/03/2024 15:02:29-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profª Drª Josiane Somariva Prophiro
Universidade do Sul de Santa Catarina - UNISUL

Dedico este trabalho a Deus, aos meus pais e ao meu noivo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus pela dádiva da vida e pela sabedoria concedida em cada etapa desta jornada acadêmica. Sua presença constante foi fundamental para enfrentar os desafios e alcançar os objetivos estabelecidos.

Aos meus pais, Juraci e Jandira Tasca, expresso minha profunda gratidão por todo apoio incondicional e amor dedicado.

Ao meu noivo, pelo apoio incondicional, por me incentivar a acreditar que tudo é possível com determinação e fé e por estar sempre presente ao longo desta jornada acadêmica. Sua presença foi meu porto seguro.

Aos meus amigos, agradeço pelo suporte e pela companhia ao longo dessa jornada acadêmica.

Às minhas maravilhosas orientadoras, Sabrina Arcaro e Maria Alice Prado Cechinel, minha sincera gratidão pelo aprendizado compartilhado e pela orientação dedicada.

Aos professores Jairo José Zocche, Elídio Angioletto e Oscar Rubem Klegues Montedo, agradeço pelo tempo dedicado e pelo compartilhamento do seu conhecimento.

Aos meus sogros, Iraci e Vanderlei, expresso meu sincero agradecimento pelo apoio e suporte ao longo desta jornada.

Ao pessoal do Certec, especialmente ao Henrique Borba, Natália Possoli, Eduarda Olivo e ao Tiago Wermuth, minha gratidão pela parceria e apoio em todos os momentos.

Ao laboratório de Imunoparasitologia da UNISUL, agradeço a toda equipe e à professora Josiane pela disponibilidade e colaboração.

Por fim, agradeço à CAPES pelo apoio financeiro para a realização deste estudo por meio da bolsa PROSUC, bem como à Universidade do Extremo Sul Catarinense e ao programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais pela infraestrutura disponibilizada. A todos que contribuíram de alguma forma, meu sincero

agradecimento. Suas diversas formas de apoio foram indispensáveis ao longo desta jornada acadêmica.

RESUMO

Os óleos essenciais são compostos naturais de caráter volátil e lipofílico, apresentando-se como misturas complexas com odor forte e baixa toxicidade, além de mínimo impacto ambiental devido à fácil degradação. O óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (citronela), em particular, destaca-se por suas propriedades bactericidas e repelentes, mas sua aplicação direta muitas vezes é limitada devido à volatilidade e à instabilidade desses compostos. Uma técnica promissora para encapsular óleos essenciais é o microencapsulamento, utilizando biopolímeros para proteger suas propriedades. A hidroxiapatita (HA), um mineral fosfato de cálcio, é reconhecida pela sua importância na tecnologia de biocerâmicas, devido às suas propriedades como alta capacidade de adsorção, biocompatibilidade e estabilidade. Devido à sua capacidade adsorptiva, a hidroxiapatita tem potencial para adsorver substâncias, como óleos essenciais. O objetivo deste estudo foi produzir partículas de *Cymbopogon nardus* (citronela) encapsulado com alginato e, pela primeira vez, com hidroxiapatita obtida a partir de resíduos de origem animal, para avaliar seu potencial antimicrobiano e repelente. Foram realizados ensaios variando a razão entre alginato e óleo essencial, bem como entre alginato e hidroxiapatita. As partículas foram caracterizadas morfológicamente e quimicamente, e a cinética de liberação foi avaliada. Além disso, o potencial antimicrobiano e repelente das partículas também foi investigado. Os resultados demonstraram que as partículas foram encapsuladas com sucesso com hidroxiapatita, formando estruturas esféricas. A melhor amostra apresentou um halo de inibição com diâmetro de $3,3947 \pm 0,3125$ cm, indicando atividade antimicrobiana satisfatória. Além disso, observou-se um potencial repelente, com uma redução média no número de picadas comparado ao controle negativo de 34,13 para 20,40. Os resultados demonstram que a hidroxiapatita pode ser utilizada no encapsulamento de óleos essenciais melhorando as propriedades dele. Desta forma, o trabalho contribui para o avanço da ciência e engenharia de materiais, abrindo novas perspectivas para pesquisas futuras no campo do encapsulamento de óleos essenciais e oferecendo novas possibilidades de aplicação para a hidroxiapatita, abrindo portas para futuras pesquisas e aplicações inovadoras.

Palavras-chave: Óleos essenciais, citronela, hidroxiapatita, encapsulamento, microencapsulamento, biopolímeros, antimicrobiano, repelente.

ABSTRACT

Essential oils are natural compounds that are volatile and lipophilic in nature. They are complex mixtures with a strong odor, low toxicity and minimal environmental impact due to their easy degradation. Citronella essential oil (*Cymbopogon nardus*), in particular, stands out for its bactericidal and repellent properties, but its direct application is often limited due to the volatility and instability of these compounds. A promising technique for encapsulating essential oils is microencapsulation, using biopolymers to protect their properties. Hydroxyapatite (HA), a calcium phosphate mineral, is recognized for its importance in bioceramic technology, due to its properties such as high adsorption capacity, biocompatibility and stability. Due to its adsorptive capacity, hydroxyapatite has the potential to adsorb substances such as essential oils. The aim of this study was to produce citronella essential oil particles encapsulated with alginate and, for the first time, with hydroxyapatite obtained from animal waste, in order to evaluate their antimicrobial and repellent potential. Tests were carried out varying the ratio between alginate and essential oil, as well as between alginate and hydroxyapatite. The particles were characterized morphologically and chemically, and their release kinetics were evaluated. In addition, the antimicrobial and repellent potential of the particles was also investigated. The results showed that the particles were successfully encapsulated with hydroxyapatite, forming spherical structures. The best sample showed an inhibition halo with a diameter of 3.3947 ± 0.3125 cm, indicating satisfactory antimicrobial activity. In addition, a significant repellent potential was observed, with an average reduction in the number of bites compared to the negative control from 34.13 to 20.40. The results showed that hydroxyapatite can be used to encapsulate essential oils, improving their properties. In this way, the work contributes to the advancement of materials science and engineering, opening up new perspectives for future research in the field of encapsulation of essential oils and offering new application possibilities for hydroxyapatite, opening doors for future research and innovative applications.

Keywords: Essential oils, citronella, hydroxyapatite, encapsulation, microencapsulation, biopolymers, antimicrobial, repellent.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Produção de óleos essenciais no Brasil (2014 a 2018).....	21
Figura 2 - Bloco de isopreno com identificação de cabeça e cauda.	25
Figura 3 - Monoterpenos comuns.....	26
Figura 4 - Planta de citronela	27
Figura 5 - Principais componentes do óleo essencial de citronela	27
Figura 6 – Casos prováveis de dengue por ano e por mês de início dos sintomas (2023 e 2024).....	31
Figura 7 - Esquema da estrutura de uma microcápsula e de uma microesfera.	32
Figura 8 - Micrografias de uma microesfera a base de goma do cajueiro carboximetilada e quitosana, com ampliação de 70 vezes.	32
Figura 9 - Micrografia de uma microcápsula de alginato contendo óleo essencial de casca de laranja em ampliação de 1000 vezes.	33
Figura 10 - Atomização	37
Figura 11 - Diagrama de fase da água	38
Figura 12 - Etapas da Coacervação: Dispersão, indução, deposição, coalescência e endurecimento	39
Figura 13 - Extrusão.....	40
Figura 14 - Processo de microencapsulamento por fluido supercrítico.....	40
Figura 15 - Materiais de parede de origem natural	42
Figura 16 - Curva de escoamento do Fluido Newtoniano e de fluidos Não-Newtonianos	44
Figura 17 - Curvas de fluxo de fluidos tixotrópicos e reopéticos	45
Figura 18 - Materiais de parede de origem natural	47
Figura 19 - Mecanismo de liberação por ativação	47
Figura 20 - Representação do processo de erosão.....	48
Figura 21 - Variáveis avaliadas na produção das micropartículas	54
Figura 22 - Avaliação de perda de massa	57
Figura 23 - Ensaio para avaliação da cinética de liberação do óleo essencial	58
Figura 24 - Ciclo de vida do mosquito <i>Aedes aegypti</i>	62
Figura 25 - Gaiola para o ensaio de repelente	62
Figura 26 - Avaliação da repelência	64
Figura 27 - Cromatograma de óleo essencial de citronela	65
Figura 28 - Espectros na região do infravermelho do óleo essencial de citronela	66
Figura 29 - Curva de calibração do óleo essencial de citronela.....	67
Figura 30 - Análise térmica por DSC/TG	68
Figura 31 - Concentração inibitória mínima do óleo essencial de citronela	69
Figura 32 - Perda de massa e teor de água nas formulações	71
Figura 33 - Perda de massa cumulativa de massa das amostras A, B e C.	72
Figura 34 - Cinética de liberação do óleo essencial- amostras B e C.....	73
Figura 35 - Mecanismo de difusão da partícula de óleo essencial encapsulado	74
Figura 36 - Curvas de escoamento amostras analisadas	76
Figura 37 - Tixotropia das emulsões	78
Figura 38 - Viscosidade das amostras	79
Figura 39 - Perda de massa e teor de água nas formulações	81

Figura 40 - Perda de massa cumulativa de massa das amostras (a) D, (b) E, (c) F e (d) G	82
Figura 41 - Diâmetro médio das partículas, inicial e após 96 h	84
Figura 42 - Redução do diâmetro das partículas após 96 h	85
Figura 43 - Micrografias da amostra D, com ampliação de 100x, após secagem em estufa: (a) partícula inteira e (b) partícula cortada; e após secagem por liofilização: (c) partícula inteira e (d) partícula cortada.	86
Figura 44 - Microscopias da morfologia obtidas por MEV das amostra E em 100x (a) Secagem estufa (b) secagem estufa – meia partícula, (c) secagem por liofilização e (d) secagem por liofilização – meia partícula.....	86
Figura 45 - Microscopias da morfologia obtidas por MEV das amostra F em 100x (a) Secagem estufa (b) secagem estufa – meia partícula, (c) secagem por liofilização e (d) secagem por liofilização – meia partícula.....	87
Figura 46 - Micrografias da morfologia obtidas por MEV das amostra G em 100x (a) Secagem estufa (b) secagem estufa – meia partícula, (c) secagem por liofilização e (d) secagem por liofilização – meia partícula.....	88
Figura 47 - Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) Hidroxiapatita e da amostra H (somente alginato).....	90
Figura 48 - Cinética de liberação do óleo essencial de citronela em acetona para as amostras D, E, F e G em função do tempo.	91
Figura 49 - Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) das amostras D, E, F, G e I	92
Figura 50 - Halo de inibição das amostras D (a), E (b), F (c), G (d), H (e), I (f) e Hidroxiapatita (g).....	94
Figura 51 - Número médio de tentativas de picadas por tratamento e avaliação da significância estatística	97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais óleos essenciais comercializados no mercado internacional...	20
Tabela 2 - Preço por kg de exportação de alguns óleos essenciais do Brasil (janeiro a dezembro de 2022).....	22
Tabela 3 - Classificação dos terpenos	24
Tabela 4 - Concentração de óleo essencial	53
Tabela 5 - Variáveis avaliadas na produção das micropartículas	55
Tabela 6 - Formulações com variação entre alginato e hidroxiapatita	56
Tabela 7 - Formulações de emulsões para comparação– somente alginato (H) e sem óleo (I).....	56
Tabela 8 - Amostras e quantidades utilizadas no ensaio de repelência	63
Tabela 9 - Densidade e porosidade das amostras D, E, F e G.....	83
Tabela 10 - Diâmetro médio e área dos halos de inibição.....	95

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Alg	Alginato
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC Culture Collection)	Coleção de microorganismos Norte americana (American Type
CIM	Concentração inibitória mínima
DEET	N,N-dietil-3 metilbenzamida
DSC/TG	Calorimetria de varredura diferencial termogravimétrica
FOB	Free on board
FTIR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
HA	Hidroxiapatita
EMAR	Espectrometria de massas de alta resolução
PICs	Práticas Integrativas e Complementares (PICs)
UV-Vis – UV-	visível

Sumário

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS.....	18
2.1 OBJETIVO GERAL	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	19
3.1 ÓLEOS ESSENCIAIS	19
3.1.1 Composição dos Óleos Essenciais	23
3.1.2 Óleo essencial de citronela	26
3.2 USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS PARA PREVENÇÃO E CONTROLE DE DOENÇAS INFECTOCONTAGIOSAS.....	29
3.3 MICROESFERAS E MICROCÁPSULAS	31
3.3.1 Microencapsulamento de Óleos Essenciais	34
3.4 FATORES QUE INFLUENCIAM NO ENCAPSULAMENTO	41
3.4.1 Material encapsulante	41
3.4.2 Reologia da emulsão.....	44
3.5 LIBERAÇÃO CONTROLADA.....	46
3.6 HIDROXIAPATITA	48
4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	50
4.1 MATERIAIS.....	50
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL	50
4.2.1 Caracterização química.....	50
4.2.2 Caracterização óptica.....	51
4.2.3 Caracterização térmica	51
4.2.4 Caracterização microbiológica	52
4.3 PRODUÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS	53
4.3.1 Influência da razão Alginato/Óleo essencial	54
4.3.2 Influência da razão Alginato/Hidroxiapatita.....	55
4.3.3 Análise reológica das emulsões	56
4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS.....	57
4.4.1 Perda de massa total	57
4.4.2 Cinética de liberação de óleo essencial	58
4.4.3 Morfologia, distribuição de tamanho e razão de aspecto.....	59
4.4.4 Porosidade	59

4.4.5 Análise dos grupos funcionais	60
4.5 ENSAIO ANTIMICROBIANO.....	60
4.6 ENSAIO DE EFICÁCIA REPELENTE	61
4.6.1 Manutenção das Colônias de <i>Aedes aegypti</i>	61
4.6.2 Bioensaio de Repelente de Ambiente	62
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL	65
5.1.1 Caracterização química.....	65
5.1.2 Caracterização térmica	67
5.1.3 Caracterização microbiológica	68
5.2 INFLUÊNCIA DA RAZÃO ALGINATO/ÓLEO ESSENCIAL	69
5.2.1 Perda de massa	70
5.2.2 Cinética de liberação de óleo essencial	72
5.3 INFLUÊNCIA DA RAZÃO ALGINATO/HIDROXIAPATITA	76
5.3.1 Perda de massa	80
5.3.2 Porosidade e densidade.....	82
5.3.3 Morfologia e distribuição de tamanho	83
5.3.4 Análise dos grupos funcionais	90
5.3.5 Liberação de óleo essencial	91
5.4 POTENCIAL ANTIMICROBIANO	93
5.5 ENSAIO DE EFICÁCIA REPELENTE	96
6 CONCLUSÃO	99
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	100
REFERÊNCIAS	101

1 INTRODUÇÃO

As doenças infecciosas representam um desafio significativo para a saúde global. Suas causas são variadas, incluindo bactérias, vírus, fungos, algas e parasitas. Entre essas enfermidades, as arboviroses merecem atenção especial. Estas doenças são causadas por patógenos transmitido pelo dos artrópodes, principalmente insetos, e requerem uma abordagem específica para controle e prevenção, e apresentam um desafio significativo para os sistemas de saúde pública em todo o mundo (DUARTE *et al.*, 2024).

Antimicrobianos, também chamadas de microbicidas, são utilizados como método de controle desses agentes. São substâncias que matam ou inibem a multiplicação de microrganismos (bactérias, leveduras, fungos, vírus, algas e líquenes). Além disso, os inseticidas são empregados para controle de insetos, enquanto os repelentes atuam como uma medida preventiva contra sua presença (GARCÍA *et al.*, 2014; PAULUS, 2017) .

Dentro desse contexto amplo de doenças infecciosas, a dengue emerge como uma doença de significativa importância, atribuída à infecção pelo patógeno transmitido pelo mosquito do gênero *Aedes*, que possui quatro sorotipos virais: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4). Este vetor, além de ser responsável pela propagação da dengue, demonstra a capacidade de transmitir outras arboviroses, incluindo Chikungunya, Zika e febre amarela. Os anos de 2022 e 2023 registraram recorde de óbitos relacionados à dengue, enfatizando a gravidade dessa condição como um desafio crítico para a saúde pública (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2023; SINAN, 2024).

Os agentes químicos enfrentam limitações no controle de vetores de doenças transmitidas por mosquitos. Problemas logísticos, resistência em muitas espécies de mosquitos e custo elevado além de efeitos nocivos ambientais, têm restringido a eficácia desses métodos. Diante das limitações dos inseticidas sintéticos, surge a necessidade de se buscar alternativas mais seguras para o meio ambiente, e os inseticidas biodegradáveis específicos para mosquitos representam uma solução promissora para oferecer uma abordagem mais responsável e eficaz no controle dessas doenças (PAVELA, 2008).

Essa mesma busca por abordagens inovadoras também se reflete no mercado de microbicidas. Nas indústrias farmacêutica e alimentícia, por

exemplo, há uma crescente demanda por substitutos aos antimicrobianos sintéticos, que apresentam riscos à saúde, desencadeando reações alérgicas e suscitando preocupações quanto à segurança. Nesse contexto, tem-se dedicado esforços à investigação de produtos naturais dotados de potencial antimicrobiano, incluindo óleos essenciais e extratos vegetais (BARROS *et al.*, 2020; MARTELLI *et al.*, 2021).

É essencial aprimorar constantemente os métodos de controle a fim de se enfrentar desafios emergentes, assegurando um controle eficaz e mais responsável. A busca por inovação e alternativas mais seguras para o meio ambiente, destaca a necessidade contínua de evolução diante das complexidades e limitações dos métodos tradicionais de controle.

Os óleos essenciais são produtos com odor característico, obtidos a partir de frutos, cascas ou folhas de plantas aromáticas ou de alguns animais (BAKKALI *et al.*, 2008; WIŃSKA *et al.*, 2019). São produtos voláteis, com composição complexa e majoritariamente compostos de terpenos, que são os hidrocarbonetos naturais responsáveis pelo cheiro das plantas. Dependendo da composição, podem possuir propriedades antimicrobianas, antioxidantes, repelentes, entre outras (FELIPE; BICAS, 2017).

No entanto, a utilização direta de óleos essenciais muitas vezes enfrenta desafios relacionados à sua estabilidade e eficácia. É aqui que as técnicas de microencapsulamento entram em cena, fornecendo uma abordagem para proteger e prolongar as propriedades dos óleos essenciais. Tais técnicas produzem o aprisionamento do óleo dentro de uma cápsula ou de uma esfera (AKSOYLU; GÜNÇ ERGÖNÜL, 2017; BAKRY *et al.*, 2016). O uso das técnicas de microencapsulamento com óleos essenciais permite, além de conservar as propriedades, promover a liberação controlada do óleo, sendo utilizada em diversas aplicações, como antimicrobianas e repelentes. O agente encapsulante tem como objetivo fornecer maior estabilidade e qualidade, permitindo a liberação controlada dos componentes. Algumas técnicas comumente utilizadas para encapsulamento de óleos são a emulsificação, a secagem por *spray*, a liofilização, a coacervação e a extrusão.

O encapsulamento de óleos essenciais tem sido objeto de estudo ao longo de décadas. Em um estudo seminal, Szejtli e Szente (1979) investigaram o encapsulamento de 25 tipos de óleos essenciais em β -ciclodextrina, visando

preservar suas propriedades aromáticas para aplicação em pós ou comprimidos domiciliares, observando uma melhoria na estabilidade dos óleos por meio desse processo.

Posteriormente, Rosenberg, Kopelman e Talmon (1990) examinaram os fatores influentes na retenção de óleo essencial encapsulado por secagem *spray* com goma. Hsieh *et al.* (2006) abordaram a produção de microcápsulas de óleo de citronela encapsuladas com quitosana, investigando as condições de formação das microcápsulas e seu efeito na liberação do óleo. Wang (2008) concentrou-se na produção de microcápsulas de etilcelulose com óleo de lavanda, com aplicações voltadas para a indústria têxtil.

Além disso, o encapsulamento de óleos essenciais passou a ser explorado para aplicações antimicrobianas e larvicidas. Abreu *et al.* (2012) investigaram o perfil de liberação e mortalidade larval do alecrim-pimenta encapsulado com quitosana e goma de cajueiro por meio da emulsificação/evaporação do solvente. Alencar (2020) avaliou o potencial antimicrobiano e antioxidante do óleo de *Cymbopogon citratus* encapsulado com maltodextrina e gelatina por meio do método de secagem por atomização.

Ao longo desses estudos, diversos materiais poliméricos foram avaliados por diferentes métodos para diversas aplicações. Dentre eles, destacam-se o alginato (MOTELICA *et al.*, 2021; SILVERIO *et al.*, 2018) e também a quitosana (HSIEH; CHANG; GAO, 2006; HU; LUO, 2021; RAZA *et al.*, 2020). No entanto, até o presente momento, nenhum mineral de fosfato de cálcio foi incorporado à produção de partículas para investigar a potencialização dos efeitos dos óleos essenciais, já que tais materiais são reconhecidos em aplicações para liberação controlada de substâncias.

Um fosfato de cálcio que tem sido amplamente utilizado em diversas áreas visando a liberação controlada de substâncias, é a hidroxiapatita (MATSUMOTO *et al.*, 2004; XU; CZERNUSZKA, 2008; ZHANG; WANG; WANG, 2010). A hidroxiapatita possui grande importância na tecnologia de biocerâmicas, basicamente devido as suas propriedades, como alta capacidade de adsorção, biocompatibilidade, e estabilidade, tendo muitas aplicações na área biomédica (BIEDRZYCKA; SKWAREK; HANNA, 2021; BONAN *et al.*, 2014). Além disso, devido a sua capacidade de aceitar substituintes iônicos nas vacâncias, a hidroxiapatita vem sendo estudada como adsorvente, principalmente de íons

metálicos e compostos orgânicos, sendo um potencial adsorvente de óleos essenciais (IVANETS *et al.*, 2019; STÖTZEL *et al.*, 2009). Embora apresente um potencial de uso associado aos óleos essenciais, até o presente momento não foram encontrados estudos que visem a produção de partículas com hidroxiapatita e óleo essencial para liberação controlada e aplicações antimicrobianas e repelentes.

Neste contexto, este estudo propõe pela primeira vez a utilização de hidroxiapatita, obtida a partir de resíduo animal (espinha de tilápia), no encapsulamento do óleo essencial de citronela e alginato, com o intuito de potencializar suas propriedades antimicrobianas e repelentes, além de controlar a liberação do óleo, devido às suas propriedades adsorventes/dessorventes. Para a produção das micropartículas, foi realizado um amplo estudo abrangendo os quatro pilares da ciência e engenharia de materiais: processamento, composição, estrutura e aplicação. A avaliação da razão alginato/óleo essencial e alginato/hidroxiapatita, juntamente com a análise da estrutura das micropartículas, completou essa abordagem, fornecendo informações importantes para aplicações futuras. Neste sentido, a pesquisa preenche uma lacuna existente na literatura. Até o momento, o encapsulamento de óleos essenciais era predominantemente realizado utilizando polímeros, deixando uma brecha no conhecimento. Ao se buscar desenvolver micropartículas utilizando hidroxiapatita de origem animal como adjuvante, este estudo abre novas perspectivas para pesquisas futuras no campo do encapsulamento de óleos essenciais.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o uso de micropartículas de óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (citronela) em matriz de alginato e hidroxiapatita como agente antimicrobiano e repelente.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a influência da razão alginato/óleo essencial na perda de massa e na cinética de liberação de óleo essencial das micropartículas.
- Avaliar a influência da razão alginato/hidroxiapatita na perda de massa, liberação de óleo essencial, e nas características físicas e estruturais das micropartículas.
- Investigar as propriedades antimicrobianas das micropartículas produzidas
- Investigar a repelência das micropartículas de *Cymbopogon nardus* (citronela) em matriz de alginato e hidroxiapatita

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais são compostos naturais, com caráter volátil, lipofílico e apresentando-se como misturas complexas caracterizadas por apresentarem odor forte. São utilizados e explorados há mais de 3500 anos em perfumaria, cosméticos e na indústria alimentícia (BAKKALI *et al.*, 2008; FELIPE; BICAS, 2017; WIŃSKA *et al.*, 2019). São considerados óleos, já que são líquidos de aparência oleosa em temperatura ambiente, e “essenciais” devido ao aroma agradável e intenso que apresentam (SILVEIRA; JOSÉ; BRITO, 2003).

Este histórico de uso e suas características influenciam sua produção, mercado e aplicação. E isto se reflete na dinâmica do mercado global, onde países como Índia, China, Indonésia e Brasil emergem como líderes na produção. No Brasil, a principal contribuição é a indústria de sucos de frutas, que produz óleos essenciais cítricos como subproduto. Essa diversidade de produtos é refletida na comercialização internacional de óleos essenciais, onde o Brasil se destaca como um dos principais produtores de óleo de laranja e lima destilada (BIZZO HUMBERTO RIBEIRO, 2013).

A Tabela 1 apresenta um panorama do mercado internacional dos principais óleos essenciais no ano de 2018, bem como sua faixa de produção em toneladas e suas principais aplicações. O óleo essencial de laranja lidera a lista pois possui grande interesse científico e comercial, sendo aplicado tanto na indústria alimentícia quanto na farmacêutica. Seu principal uso é para dar sabor bebidas, balas, sorvetes e outros alimentos, e na fabricação de medicamentos e cosméticos. O Brasil é responsável por um terço da produção mundial de laranja (MÜLLER, 2011).

A menta japonesa, que ocupa o segundo lugar na lista, sua comercialização expressiva se dá pela contribuição na indústria de perfumes, alimentos e farmacêutica, sendo amplamente utilizada como sabores de alimentos, ingredientes em produtos de higiene oral, confeitos e bebidas. A Índia é o principal fornecedor mundial e o Brasil é um grande importador de óleo essencial de menta (BIZZO; REZENDE, 2022; TIWARI, 2016).

O óleo essencial de eucalipto possui aplicação em três setores: industrial, na aromatização de desinfetantes e sabonetes líquidos, como óleo medicinal, e também na indústria de perfumes (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009).

O óleo essencial de limão siciliano destaca-se pelo uso como flavorizante em bebidas e alimentos (KODJOH, 2022). O óleo de hortelã pimenta, e de menta, tem uso na indústria farmacêutica, principalmente na higiene oral (BLANK *et al.*, 2006). O cravo tem aplicação comercial, sendo utilizado como aromatizante e como anestésico local em odontologia (AFFONSO *et al.*, 2012; BIZZO; REZENDE, 2022). O óleo de cedro da Virginia e de citronela possuem, como aplicação comercial, o uso em fragrâncias.

Tabela 1 - Principais óleos essenciais comercializados no mercado internacional

Óleo essencial	Quantidade (ton)	Usos
Laranja <i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck e outras)	50.000-55.000	Bebidas, aromatizante
Menta japonesa (<i>Mentha arvensis</i> L.)	25.000-40.000	Aromatizante, mentol
Eucalipto (<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.)	5.000-11.000	Aromatizante, medicamentos
Limão siciliano (<i>Citrus limon</i> (L.) Osbeck)	7.000-7.500	Bebidas, aromatizante
Hortelã-pimenta (<i>Mentha x piperita</i> L.)	4.000-4.500	Aromatizante, higiene oral
Cravo, folhas (<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. & L.M.Perry)	2.500-4.000	Fragrâncias, aromatizante
Menta (<i>Mentha spicata</i> L.)	2.000-3.700	Aromatizante, higiene oral
Cedro da Virginia (<i>Juniperus virginiana</i> L.)	2.000-3.500	Fragrâncias
Citronela (<i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt ex Bor)	1.500-3.000	Fragrâncias

Fonte: Bizzo, H.; Rezende, C., (2022)

O Brasil é considerado um país com uma extensa diversidade florística, o que permite uma abundante extração de óleos essenciais da flora nativa (FELIPE; BICAS, 2017). A Figura 1 mostra um panorama da produção de óleos essenciais no Brasil, segundo dados disponíveis entre 2014 e 2018 apresentados pelo IBGE (2022). Nela, destaca-se a produção de óleos essenciais de laranja, que vem liderando o mercado nacional com mais de 150.000 ton em 2018; em segundo lugar, com produção superior a 20.000 em

2018, observa-se a produção óleos não cítricos, entre eles o óleo de eucalipto, vetiver, pau-rosa, lemongrass, coriandro, pau-santo, cabreúva, lavanda, palmarosa, cedro e citronela. Por último, produzidos em menor quantidade, estão os óleos de limão e outros cítricos, tais como limão siciliano, limão Tahiti, petitgrain e as mandarinas (BIZZO, HUMBERTO, REZENDE, 2022).

Figura 1 - Produção de óleos essenciais no Brasil (2014 a 2018).



Fonte: IBGE (2022)

Por outro lado, o preço dos óleos essenciais é influenciado por uma série de fatores, incluindo a dinâmica do mercado, a disponibilidade da matéria-prima e o rendimento da extração. A escassez de matéria-prima e um menor rendimento de extração contribuem para elevar o valor desses óleos no mercado internacional. Essa relação entre oferta, demanda e valor do produto é evidenciada na Tabela 2, que apresenta os valores de exportação de diversos óleos essenciais produzidos no Brasil. Esses dados fornecem uma visão detalhada das tendências de preço e destacam a importância da gestão sustentável dos recursos naturais na indústria de óleos essenciais.

Tabela 2 - Preço por kg de exportação de alguns óleos essenciais do Brasil (janeiro a dezembro de 2022).

Óleo Essencial	Preço FOB (US\$/kg)
Limão	21,32
Eucalipto	14,11
Outras mentas	45,06
Hortelã pimenta	26,29
Pau rosa	439,50

Fonte: Comex Stat (2022a)

Essa perspectiva é especialmente relevante considerando-se o crescente reconhecimento dos benefícios terapêuticos dos óleos essenciais ao longo da história, sendo caracterizado como uma prática integrativa complementar (PIC). Os aromas dos óleos essenciais podem provocar bem-estar físico e emocional e auxiliar na redução dos níveis de estresse e ansiedade (COLI *et al.*, 2018).

Essa percepção impulsiona não apenas a sua utilização na saúde humana, mas também desperta o interesse da comunidade científica para explorar ainda mais suas propriedades e aplicações. A baixa toxicidade dos óleos essenciais para os seres humanos e o mínimo impacto ambiental, devido à sua fácil degradação, adicionam um componente importante à sua atratividade como objeto de estudo. Além disso, os potenciais bactericidas e biocidas de alguns óleos essenciais oferecem uma ampla variedade de aplicações, incluindo na indústria cosmética, alimentícia e farmacêutica, como destacado por Militello *et al.* (2011) e Romero *et al.*, (2013). Essa convergência de benefícios terapêuticos, segurança para o ser humano e potencial antimicrobiano faz dos óleos essenciais uma área de pesquisa promissora. O Quadro 1, apresentando estudos detalhados sobre suas propriedades, ilustra a variedade de aplicações exploradas, com foco particular nas propriedades antimicrobianas desses compostos. Essa conexão entre benefícios terapêuticos, segurança e potencial antimicrobiano dos óleos essenciais estimula uma abordagem interdisciplinar na investigação de suas propriedades e aplicações.

Quadro 1 - Estudos sobre aplicabilidade dos óleos essenciais

Óleo essencial	Uso	Referência
<i>Xylopiya aromatica Lamm</i>	Atividade inseticida frente à mosca branca em plantas de feijão	Peres (2015)
Óleo essencial de <i>Eucalyptus citriodora L</i>	Administração farmacológica	Pinheiro <i>et al.</i> (2021)
Óleo essencial de cravo	Atividade antimicrobiana do óleo livre e encapsulado	Kopp (2020), Pinheiro <i>et al.</i> (2021)
Óleo de <i>Zehntneri Pax et Hoffm</i>	Larvicida para combate ao vetor da dengue	Oliveira <i>et al.</i> (2010)
Óleo essencial de Citronela	atividade antibacteriana de embalagens de alimentos	Motelica <i>et al.</i> (2021)
cravo-da-índia, citronela e palmarosa	Atividades antioxidante e antimicrobiana	Scherer <i>et al.</i> (2009)
Orégano, Tomilho e Canela	Atividade antimicrobiana	Santurio <i>et al.</i> (2007)
Rutaceae	Atividade antimicrobiana	Saraiva <i>et al.</i> (2020)
Pimenta Preta	Atividade antimicrobiana	Melo <i>et al.</i> (2021)
Hortelã-pimenta, capim-limão, manjerona e manjeriço	Atividade antimicrobiana	Valeriano <i>et al.</i> (2012)
Canela, rabo-de-raposa, capim santo, eucalipto, pitanga e arruda.	Atividade antimicrobiana	De Araujo <i>et al.</i> (2008)

Embora os óleos essenciais representem uma alternativa promissora de desenvolvimento de novos produtos com uma variedade de benefícios para a sociedade, ainda é um desafio para a comunidade científica aproveitar todo o potencial dos óleos, pois eles são quimicamente instáveis e estão susceptíveis à deterioração oxidativa quando expostos a calor, luz, umidade e oxigênio (BAKRY *et al.*, 2016).

3.1.1 Composição dos Óleos Essenciais

A composição de um óleo essencial depende de muitos parâmetros, como as condições climáticas e do solo, a origem geográfica, o estágio do ciclo vegetativo, a variação sazonal, a espécie da planta que o deu origem, entre outros (ZAEDDI *et al.*, 2016).

Os componentes majoritários dos óleos essenciais são os terpenos, definidos como hidrocarbonetos naturais produzidos como metabólitos secundários por uma grande variedade de plantas e alguns animais, e alguns possuem comprovada atividade antimicrobiana. A composição de terpenos pode variar entre 20 e 70% da composição total, combinando entre dois ou três terpenos. Os demais componentes em menor concentração são denominados minoritários e, em geral, são responsáveis pelo aroma característico. Esses componentes presentes em diminutas proporções, como ceras, ácidos, conservantes ou até mesmo os defensivos agrícolas utilizados nas plantas, podem influenciar o aroma final do óleo essencial (BAKKALI *et al.*, 2008; PADUCH *et al.*, 2007; SÁNCHEZ, 2006).

A classificação dos terpenos se dá de acordo com a quantidade de blocos de isopreno presentes em sua estrutura, conforme é apresentado na Tabela 3 (FELIPE; BICAS, 2017).

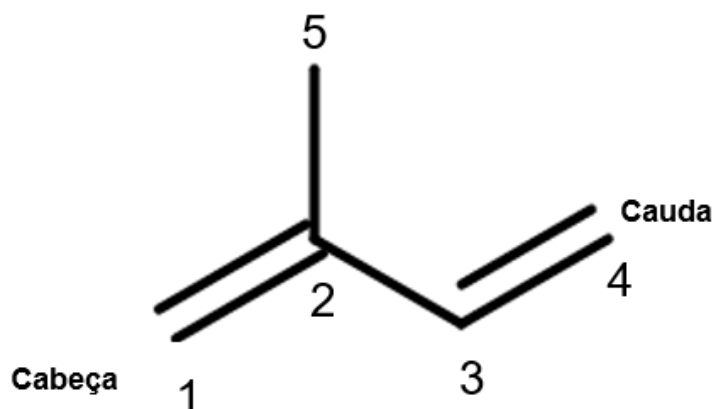
Tabela 3 - Classificação dos terpenos

Classificação	Bloco de Isopreno	Quantidade de carbono	Unidades de Terpeno
Monoterpenos	2	10	1
Sesquiterpenos	3	15	1,5
Diterpenos	4	20	2
Triterpenos	6	30	3
Tetraterpenos	8	40	4
Politerpenos	>8	>40	>4

Fonte: Felipe; Bicas (2017)

Se os terpenos possuem um oxigênio na cadeia, são definidos com terpenóides, podendo então ser álcoois, ácidos, cetonas, ésteres ou fenóis. Uma unidade de terpeno é constituída por dois blocos de isopreno ligados entre si, cada um com cinco carbonos (C₅H₈), com cabeça e cauda, conforme Figura 2 (FELIPE; BICAS, 2017).

Figura 2 - Bloco de isopreno com identificação de cabeça e cauda.



Fonte: Felipe; Bicas (2017)

Os monoterpenos são moléculas pequenas de carbono (até 10 C), e em sua maioria, cíclicas. São reportados por suas atividades inibitórias contra várias bactérias e fungos de óleos essenciais. O monoterpeno carvacrol, por exemplo, possui atividade inibitória contra as bactérias *Staphylococcus* spp, *Staphylococcus aureus*, e *Staphylococcus typhimurium* (DAL POZZO *et al.*, 2011; HAUDENSCHILD; CROTEAU, 1998; MIBIELLI, 2019; ROMERO *et al.*, 2013).

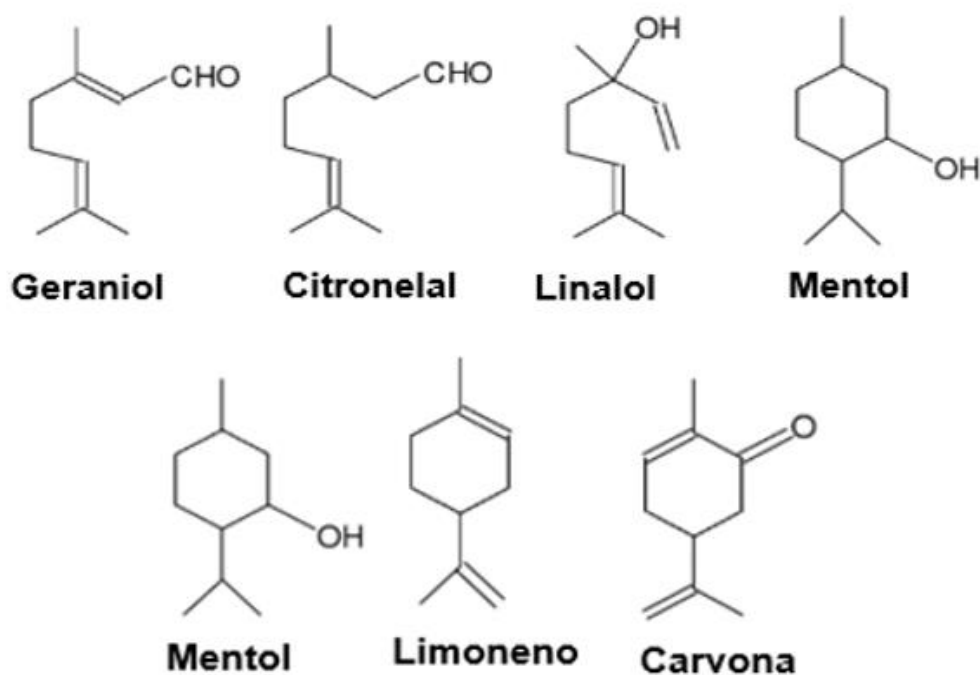
Existe uma grande diversidade de monoterpenos e mais de 1000 já foram identificados em óleos essenciais (HAUDENSCHILD; CROTEAU, 1998). Os monoterpenos mais comuns são mostrados no Quadro 2, e nela estão relacionados os óleos essenciais em que eles são os componentes majoritários.

Quadro 2 - Exemplo de óleos essenciais e seus componentes majoritários.

Óleo essencial	Monoterpeno	Referência
Palmarosa	Geraniol	Scherer <i>et al.</i> , (2009)
Capim- Citronela	Citronelal	Seixas <i>et al.</i> (2011)
Erva Cidreira	Linalol	Silva <i>et al.</i> (2006)
Hortelã Pimental	Mentol	Felipe; Bicas (2017)
Limão	Limoneno	Felipe; Bicas (2017)
Endro	Carvona	Vieira <i>et al.</i> (2019)

As estruturas moleculares dos monoterpenos citados no Quadro 2 são mostrados na Figura 3, em que mentol é um álcool, geraniol e citronelal são aldeídos e o restante são hidrocarbonetos terpênicos.

Figura 3 - Monoterpenos comuns

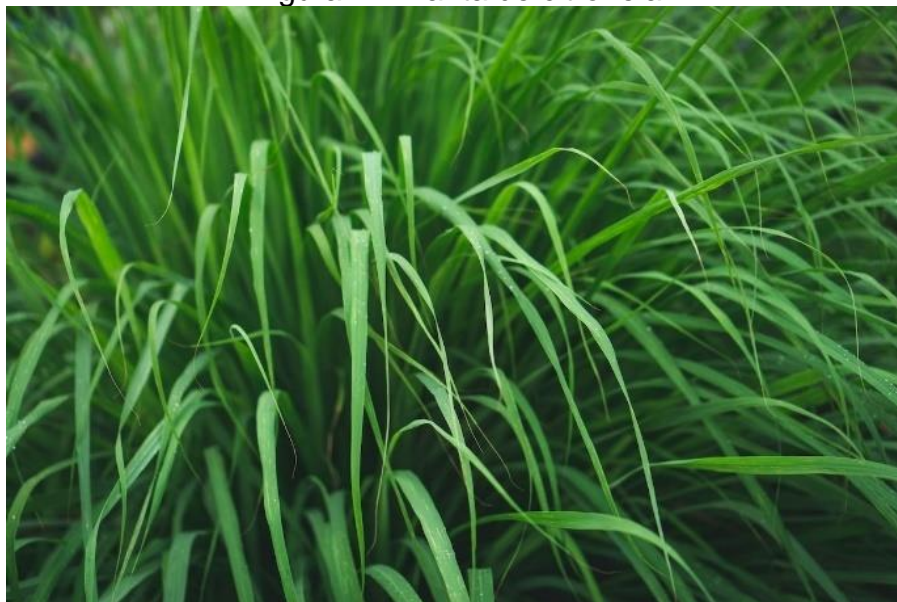


Fonte: Adaptado de Sánchez (2006)

3.1.2 Óleo essencial de citronela

A erva de citronela (Figura 4), também conhecido como capim-citronela, é uma gramínea do gênero *Cymbopogon nardus*, nativa do sul da Índia e do Sri Lanka. Também pode ser encontrada crescendo selvagem na maioria dos países asiáticos tropicais, América Central e África (HAMZAH *et al.*, 2013).

Figura 4 - Planta de citronela



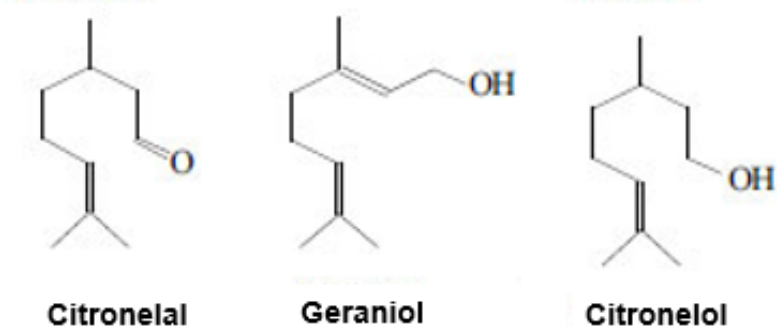
Fonte: Lemos (2022).

O gênero *Cymbopogon* pertence à família *Poaceae* e possui mais de 100 espécies em diversos países, incluindo o Brasil. Dessas espécies, aproximadamente 56 são aromáticas (BRUGNERA; OLIVEIRA; PICCOLI, 2011).

O gênero *Cymbopogon nardus*, por sua vez, é composto basicamente por monoterpenos, canfeno, limoneno, 1-borneol, metil isoeugenol, geranil, citronelal, citronelol, geraniol, os três últimos, compreendendo como os componentes majoritários (KAUR; BHARDWAJ; KAUR, 2021).

Na Figura 5 são apresentadas as fórmulas estruturais planas dos componentes majoritários do óleo essencial de citronela.

Figura 5 - Principais componentes do óleo essencial de citronela



Fonte: Adaptado de (Guilhon; Perini; Leal (2010)

O óleo essencial de citronela possui propriedades, antibacteriana, repelente e também de aromatização (LEMOS, 2022; NAKAHARA *et al.*, 2013).

O citronelal é um monoterpeno da classe dos aldeídos e é utilizado como material na síntese de compostos químicos iononas, e também na síntese de vitamina A. Além do mais, a literatura aborda alguns efeitos biológicos no uso desse fitoconstituente, dentre eles ação antimicrobiana e antioxidante (BEZERRA *et al.*, 2019; CASTRO *et al.*, 2010; LIMA *et al.*, 2020)

O citronelol é um monoterpeno, com dois blocos de isopreno, pertencente ao grupo dos álcoois. A literatura reporta alguns efeitos farmacológicos no uso do citronelol, como atividade antibacteriana, antifúngica, antiespasmódica e anticonvulsivante (BASTOS *et al.*, 2009).

O geraniol é um álcool monoterpênico. É formado pelas flores de muitas espécies e está presente nos tecidos vegetativos de muitas ervas e muitas vezes coexiste com geranial e neral, que são produtos de da oxidação do geraniol. Além disso, o geraniol apresenta a propriedade de repelência de insetos (CHEN; VILJOEN, 2010)

Por conta dos seus componentes, o óleo essencial de citronela é comum em formulações de repelentes de mosquitos. Velas e incensos contendo óleos essenciais de citronela também têm sido utilizados como ação repelente em países como os Estados Unidos, no entanto apresentam resultados ineficazes devido à liberação descontrolada do óleo essencial (SOLOMON *et al.*, 2012).

Segundo dados do Comex Stat (2022), a exportação do óleo essencial de citronela de janeiro a dezembro de 2022 foi de 911 kg líquido, correspondendo a US\$ 23699; a importação, por sua vez, foi de 5311 kg líquido, correspondente a US\$ 100.646, sendo o preço médio de exportação e importação, respectivamente, US\$ 26,00 e US\$ 18,95.

A hidrodestilação e a destilação à vapor são os métodos mais comuns ou convencionais para extrair óleo de citronela. Embora o processo seja muito simples, pode induzir degradação térmica do óleo. A extração com fluido supercrítico também é utilizada para extrair o óleo essencial de citronela, porém possui altos custos de investimento (HAMZAH *et al.*, 2013).

3.2 USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS PARA PREVENÇÃO E CONTROLE DE DOENÇAS INFECTOCONTAGIOSAS

As doenças infectocontagiosas são causadas por agentes infecciosos que possuem como principal característica a patogenicidade, isto é, a capacidade de causar doenças. Os agentes são divididos em bactérias, vírus, fungos, algas, entre outros parasitas (VANILSSEN, 2020).

As bactérias são uma das principais causas de doenças em seres humanos. Sua propagação ocorre de forma direta, passando de pessoa para pessoa, ou indiretamente, por meio de matrizes ambientais, como água e alimentos. Os principais patógenos transmitidos pela água incluem *Campylobacter*, *Listeria*, *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga, *Salmonella*, *Yersinia* e *Vibrio* (ISHII, 2019).

Os antimicrobianos, também chamadas de microbicidas, são substâncias que matam ou inibem a multiplicação de microrganismos (bactérias, leveduras, fungos, vírus, algas e líquenes). Os antimicrobianos podem ser bactericida, fungicida, algicida, dentre outras (PAULUS, 2017). Os antimicrobianos podem ter ação específica, como bactericidas para bactérias e fungicidas para fungos, ou podem ter ação em qualquer microrganismo, independentemente do tipo (FONTOURA; GUTTERRES, 2016)

A comunidade científica tem buscado cada vez mais desenvolver produtos antimicrobianos utilizando óleos naturais. Motelica *et al.* (2021b) avaliaram a atividade antimicrobiana do óleo essencial de citronela em embalagens biodegradáveis e obtiveram resultados satisfatórios, em que foi identificada viabilidade do uso de filmes com óleo essencial de citronela em embalagens antibacterianas para queijos, visando prolongar sua vida útil. Dănilă *et al.* (2018) investigaram a atividade antimicrobiana e antibiofilme dos óleos essenciais de limão siciliano e lavanda para serem usados isoladamente ou em combinação como alternativas naturais aos antibióticos atualmente disponíveis. Militello *et al.* (2011a) estudaram a atividade a capacidade do óleo essencial de *Artemisia arborescens* inibir algumas bactérias patogênicas transmitidas por alimentos.

Outra classe de doenças bastante comuns em humanos são as arboviroses, que são doenças transmitidas por artrópodes, como os mosquitos,

que são os vetores de várias doenças, como malária, dengue e febre amarela (FREIRE, 2017; SAKULKU *et al.*, 2009).

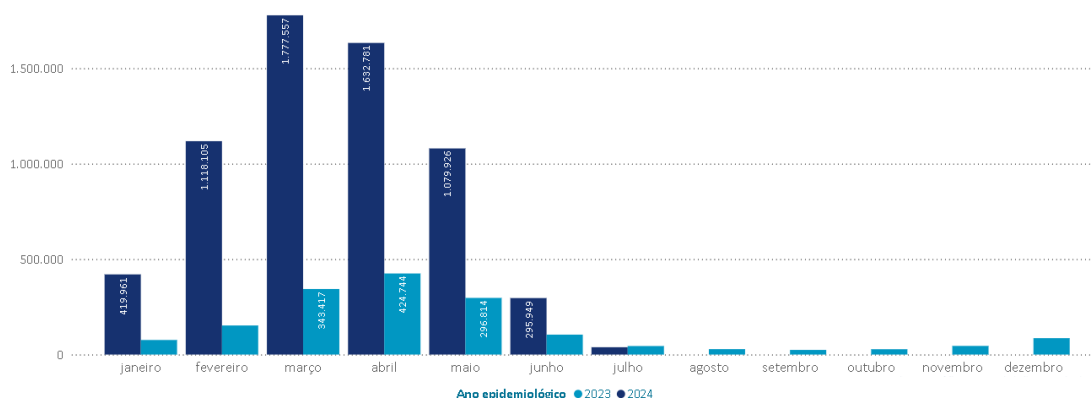
Uma estratégia interessante no controle de arboviroses, é o uso de repelentes. As formulações mais comuns possuem DEET (N,N-dietil-3 metilbenzamida) na sua composição. No entanto, ao longo do tempo, o uso indiscriminado desses repelentes tem levado à redução de insetos benéficos e ao surgimento de novas pragas, ampliando ainda mais os desafios no controle de doenças transmitidas por vetores (GARCÍA *et al.*, 2014; SAKULKU *et al.*, 2009).

Com isto, é cada vez maior o interesse de desenvolver produtos alternativos no controle de insetos. Muitos trabalhos reportam os estudos com materiais vegetais para desenvolvimento de novos repelentes, como extrato e pó de sementes de *Anethum graveolens* e *Azadirachta*, líquido da casca da castanha-de-caju e pó de citronela (ALBIERO; FREIBERGER; VANIN, 2020; DA SILVEIRA *et al.*, 2019)

O gênero de mosquitos *Aedes* é conhecido por transmitir o patógeno de diversas doenças, como dengue, chikungunya, Zika e febre amarela. Esses mosquitos, divididos em *Ae. aegypti* e *Ae. Albopictus* têm preferência por diferentes ambientes e condições climáticas (ZARA *et al.*, 2016). A dengue, em particular, é um problema predominante nas Américas, com epidemias recorrentes a cada poucos anos. Em 2023, foram registrados mais de 1,6 milhão de casos prováveis dessa doença, com um número significativo de óbitos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2023). A Figura 6 mostra o número de casos prováveis de dengue por ano e mês do início dos sintomas, de 2023 e 2024, enfatizando a gravidade dessa condição como um desafio crítico para a saúde pública.

No Brasil, as estratégias de monitoramento envolvem educação, uso de inseticidas, controle biológico e mecânico (ZARA *et al.*, 2016). No entanto, os desafios persistem, especialmente em relação aos agentes químicos, devido às questões logísticas, resistência dos mosquitos, custo e impactos ambientais. Diante disso, a busca por inseticidas biodegradáveis específicos para mosquitos emerge como uma alternativa promissora para um controle mais sustentável e eficaz dessas doenças transmitidas por vetores (PAVELA, 2008).

Figura 6 – Casos prováveis de dengue por ano e por mês de início dos sintomas (2023 e 2024)



Fonte: MINISTÉRIO DA SAÚDE, (2024)

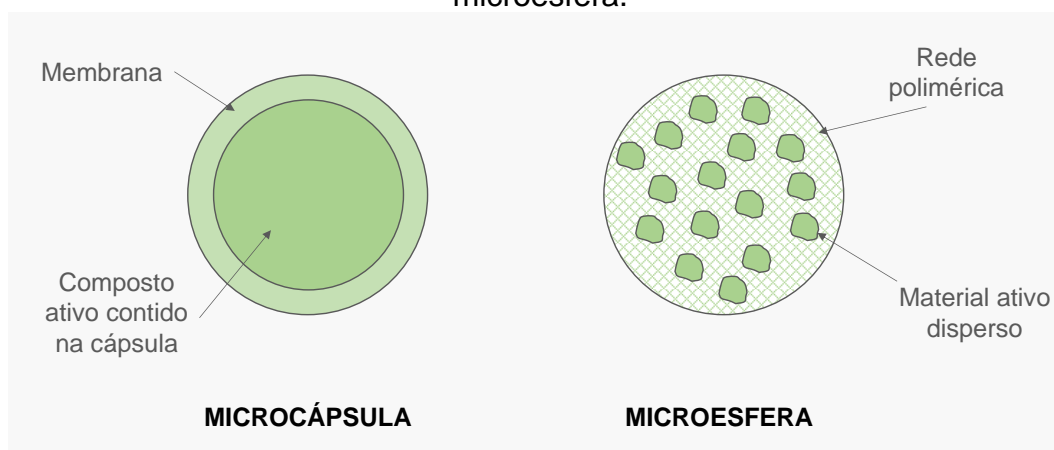
3.3 MICROESFERAS E MICROCÁPSULAS

Para as aplicações de encapsulamento de ingredientes ativos, as partículas que contêm tal ingrediente podem ser divididas em micropartículas e macropartículas, dependendo do tamanho que possuem. As micropartículas possuem dimensão micrométrica, com tamanhos que variam de 1 a 1000 μm , e as macropartículas, de tamanho milimétrico (MANIECKA *et al.*, 2021).

São constituintes dos sistemas de liberação controlada, permitindo o revestimento e proteção de substâncias bioativas e muito utilizadas na indústria de alimentos, farmacêutica, aromas e sabores, tintas, química, agrícola, dentre outras. Dependendo da maneira com que o material ativo está contido na partícula, pode ser denominada ainda de microcápsulas ou microesferas (LENGYEL *et al.*, 2019; VELLOSO, 2008).

A Figura 7 ilustra (a) uma microcápsula, em que o núcleo é composto pelo material ativo, e este é envolvido por uma membrana, que é o material de parede; (b) uma microesfera, composta por uma rede polimérica e o material ativo disperso e incorporado na mesma.

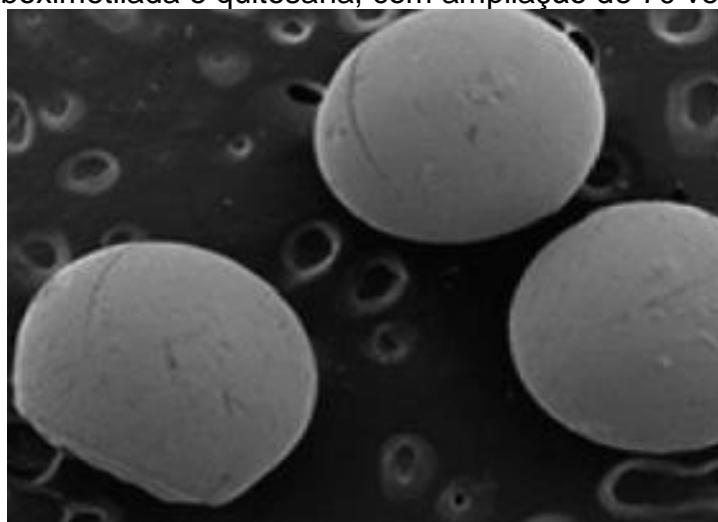
Figura 7 - Esquema da estrutura de uma microcápsula e de uma microesfera.



Fonte: Adaptado de Matté; Da Rosa (2013).

As microesferas são sistemas matriciais em que o material bioativo, sólido ou líquido, se encontra disperso ou dissolvido homogeneamente na matriz, conforme pode ser observado na Figura 8.

Figura 8 - Micrografias de uma microesfera a base de goma do cajueiro carboximetilada e quitosana, com ampliação de 70 vezes.



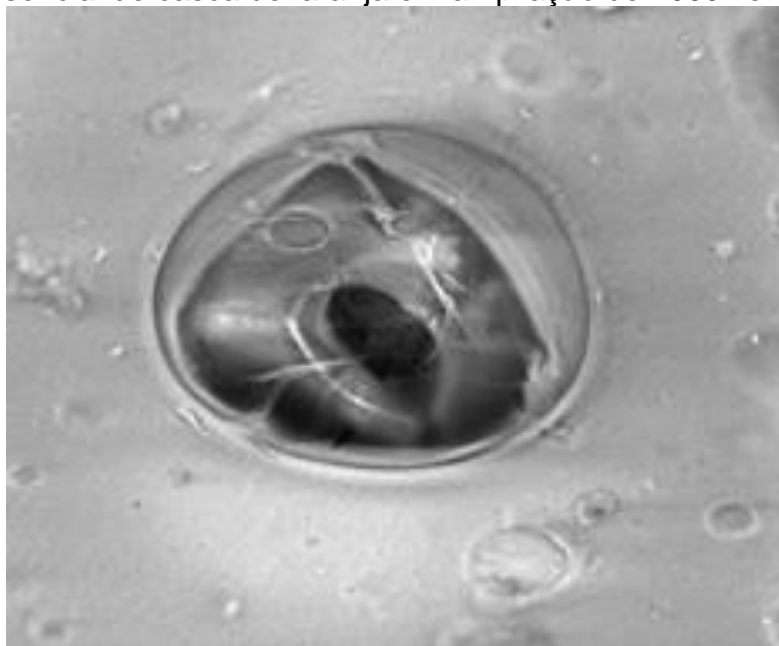
Fonte: Adaptado de Monteiro *et al.* (2015).

Nelas, o ingrediente ativo é dissolvido na solução polimérica antes do processamento de fabricação de partículas, ou o material encapsulado pode ser incorporado à matriz polimérica por meio da adsorção (LENGYEL *et al.*, 2019; MATTÉ; DA ROSA, 2013; WEZGOWIEC *et al.*, 2021).

Suspensões de microesferas podem ser utilizadas para liberar ativos em doses desejáveis. A rede polimérica pode ser formada pelo uso de biopolímeros naturais, como celulose, alginato, quitina e quitosana (FREIBERG; ZHU, 2004).

As microcápsulas, por sua vez, são conhecidas como reservatórios e são compostas por um sistema heterogêneo, em que uma membrana (também chamada de material de parede, encapsulante, ou casca) protege um núcleo formando duas fases, conforme pode ser observado na Figura 9. O material de parede permite que a liberação do material no núcleo seja feita de forma controlada, dependendo do agente (GÜRBUZ *et al.*, 2020; LENGYEL *et al.*, 2019).

Figura 9 - Micrografia de uma microcápsula de alginato contendo óleo essencial de casca de laranja em ampliação de 1000 vezes.



Fonte: Adaptado de Fernandes, Gonçalves Kieling, *et al.* (2014).

As microcápsulas possuem característica de reservatório, armazenando o ingrediente ativo no núcleo da partícula. Já nas microesferas, uma pequena parte do material encapsulado permanece na superfície (DE AZEREDO, 2005).

O uso industrial de microcápsulas e microesferas tem crescido no mercado devido às variadas aplicações que o uso dessa tecnologia permite. Muitos cosméticos e produtos de cuidados pessoais contêm substâncias biologicamente ativas que requerem encapsulamento para maior estabilidade dos materiais ativos. A preservação dos princípios ativos é também essencial

durante a formulação, armazenamento e aplicação do produto cosmético final (CASANOVA; SANTOS, 2016).

Na indústria farmacêutica, microesferas e microcápsulas são utilizadas na liberação de fármacos; seu uso fornece a administração adequada dos medicamentos por várias vias, prolongando ou direcionar o efeito de uma droga (LENGYEL *et al.*, 2019). Na indústria de alimentos, a tecnologia de microencapsulamento permite produzir alimentos diferenciados, que nutrem e ao mesmo tempo, fornecem saúde e bem estar. As microcápsulas permitem aumentar a vida útil dos componentes ativos dos alimentos, garantir sua estabilidade e realizar sua liberação controlada (BAKRY *et al.*, 2016; GÜRBÜZ *et al.*, 2020).

Atualmente, quase todo material que necessite ser protegido, isolado de outros compostos, ou até mesmo ter sua liberação controlada pode ser encapsulado. As técnicas de encapsulamento consistem no aprisionamento de qualquer ingrediente bioativo dentro de uma microcápsula com o objetivo de proteger o material, garantir sua estabilidade e controlar sua liberação, prolongando sua eficácia ao longo do tempo.

3.3.1 Microencapsulamento de Óleos Essenciais

O microencapsulamento é uma técnica que promove a modificação da liberação de princípios ativos (fármacos, pesticidas, corantes, aromatizantes, entre outros), a partir da construção de uma barreira física entre o núcleo (ingrediente ativo) e outros constituintes do produto. Esta modificação tem como objetivo evitar reações químicas e físicas, e manter as propriedades biológicas, funcionais e físico-químicas dos materiais do núcleo, visando aumentar a sua efetividade no meio em que é liberado (BAKRY *et al.*, 2016; PEREIRA *et al.*, 2018; SUAVE *et al.*, 2006).

Muitos trabalhos reportam estudos do encapsulamento dos óleos essenciais para proteger suas propriedades, conforme mostrado no Quadro 3. Tendo em vista a importância desta técnica, uma grande atenção deve ser dedicada à escolha do método a ser utilizado para a encapsulação, pois o mesmo deve ser de acordo com a aplicação que será dada à micropartícula, do tamanho desejado da cápsula ou da esfera, do mecanismo de liberação do

núcleo e das propriedades físico-químicas, tanto do agente ativo quanto do material encapsulante (MATTÉ; DA ROSA, 2013).

Os métodos de preparação de micropartículas classificam-se em:

- a) Métodos físicos: *spray-drying* (secagem por atomização), *spray-chiling* (nebulização em corrente de ar frio), *spray-cooling*, co-cristalização e liofilização;
- b) Métodos químicos: Inclusão molecular e polimerização interfacial;
- c) Métodos físico-químicos: coacervação, separação de fase orgânica em formação de lipossomas, emulsificação seguida de evaporação do solvente (SUAVE *et al.*, 2006)

Quadro 3 - Trabalhos que reportam encapsulamento de óleos essenciais

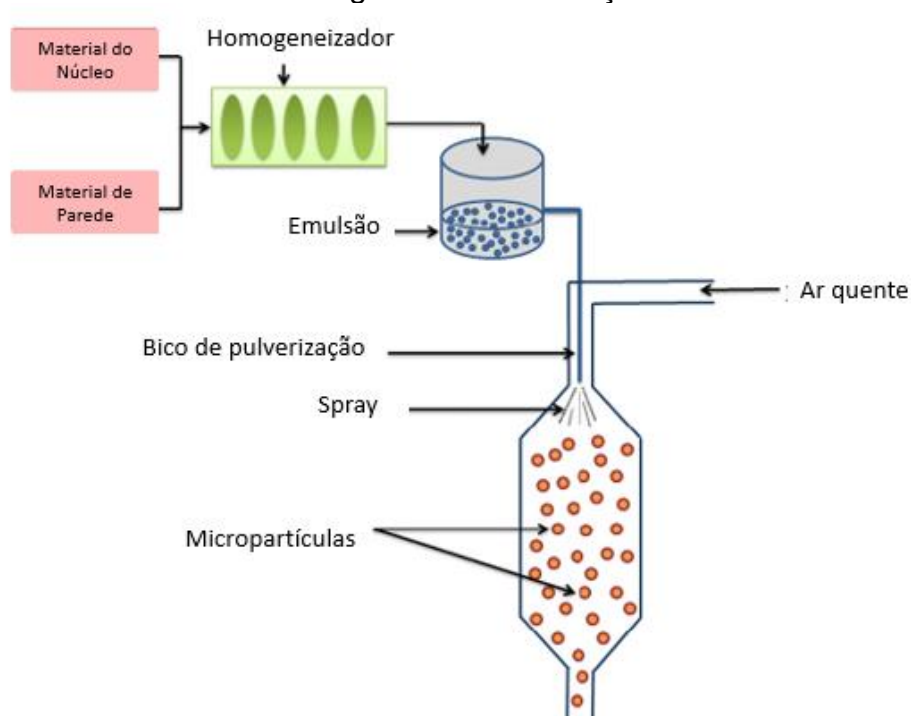
Óleo essencial	Encapsulamento	Método	Aplicação	Referência
Laranja	Maltodextrina e gelatina	Emulsificação/ liofilização	Aumentar a resistência do OE para aplicação em produtos alimentícios	Comunian <i>et al.</i> (2016)
Citronela	Casca de gelatina e goma arábica.	Coacervação	Liberação controlada do OE em tecido	Bezerra <i>et al.</i> (2016)
Cravo-da-índia	Gelatina	Coacervação simples	Atividade antibacteriana	Borborema <i>et al.</i> (2022)
Echium	Gelatina e goma arábica	Coacervação complexa	Aplicação em produtos alimentícios	Comunian <i>et al.</i> (2016)
<i>Cymbopogon citratus</i>	Maltodextrina e gelatina	Secagem por atomização	Avaliar potencial antimicrobiano e antioxidante.	Alencar (2020)
Óleo de Croton Zehntneri Pax et Hoffm	Alginato de sódio	Extrusão	Avaliar atividade larvicida	Paula <i>et al.</i> (2010)
Alecrim-pimenta	Alginato/goma de cajueiro	Spray drying	Desenvolvimento de uma mistura de biopolímeros para encapsulamento de um óleo essencial.	De Oliveira; Paula; Paula (2014)

Alecrim-pimenta	Quitosana e goma de cajueiro	Emulsificação/evaporação do solvente	Perfil de liberação e mortalidade larval	Abreu <i>et al.</i> (2012)
Capim Limão	poli(álcool vinílico)	Coacervação Simples	Atividade antimicrobiana	Leimann, (2008)
Gengibre	Poli (óxido de etileno)	<i>Electrospinning</i>	Aplicação embalagem ativa de alimentos.	Da Silva (2018)
Alecrim d'Angola, Erva Cidreira, Verbenacea, Matricá e Pimenta-de-Macaco	PCL/ Gelatina	Coacervação Complexa	Potencial como biodefensivos alternativos	Figueiredo (2020)

Na técnica de emulsificação, o ingrediente ativo é disperso por agitação em dispersor com um polímero em uma solução e, dessa forma, a fase orgânica é emulsificada em uma fase aquosa. A emulsificação faz parte do processo de microencapsulamento, na formação de cápsulas ou esferas, em que o ingrediente ativo e a matriz polimérica são preparados de antes do processo final, que pode ser removido do solvente por meio da evaporação a temperatura ambiente, de calor ou vácuo, por técnicas como *spray drying* ou liofilização, podendo ainda ser extrusados ou submetidos a coacervação (BAKRY *et al.*, 2016; ZANETTI, 2001).

A técnica de encapsulamento por *spray drying*, também chamada de atomização, é amplamente utilizada em escala industrial, pois tem possibilidade de operação contínua, produzindo partículas uniformes e esféricas (SUAVE *et al.*, 2006). Trata-se de uma secagem por pulverização de uma emulsão, solução ou suspensão, em que o material a ser encapsulado é homogeneizado e, então, adicionado com um *spray* em uma câmara de secagem com alta temperatura, o que provoca a evaporação rápida da água e aprisionamento do ingrediente ativo, formando as micropartículas, podendo ser microcápsulas ou microesferas (BAKRY *et al.*, 2016; CARNEIRO, 2011; GÜRBÜZ *et al.*, 2020). A Figura 10 mostra o processo de atomização.

Figura 10 - Atomização

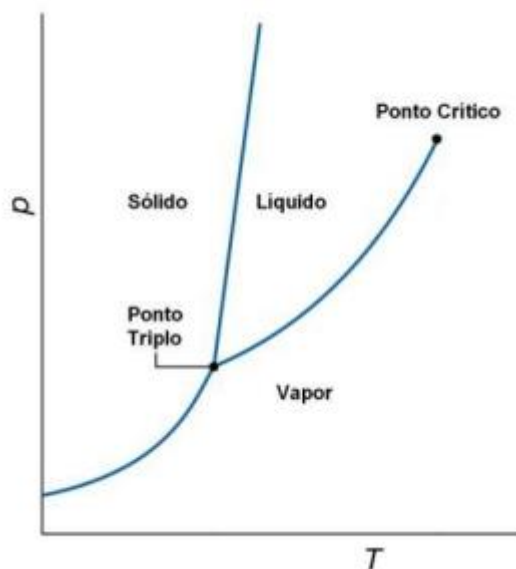


Fonte: Adaptado de Bakry *et al.* (2016)

A liofilização é uma técnica baseada na desidratação por sublimação de um produto congelado. O método consiste em duas etapas: I) o congelamento rápido do produto em temperaturas entre -90 e -40°C e II) a sublimação do gelo com a redução da pressão (BAKRY *et al.*, 2016c; DE AZEREDO, 2005).

Com isto, a água é sublimada, passando do estado sólido para o gasoso. Para que isso ocorra, é necessário realizar o controle de temperatura e pressão do sistema, isto porque, à pressão atmosférica, conforme mostrado na Figura 11, a mudança de estado físico da água ocorre do sólido, para o líquido, para o vapor. Para que a mudança ocorra do sólido para o vapor, sem passar para o líquido, é necessário que a pressão e temperatura estejam abaixo do ponto triplo da água, ponto em que coexistem os três estados físicos (sólido, líquido e gasoso) (BAKRY *et al.*, 2016b; DE AZEREDO, 2005).

Figura 11 - Diagrama de fase da água



Fonte: Atkins (1999)

Neste método, as cápsulas produzidas possuem boa qualidade, pois alterações decorrentes de altas temperaturas, como degradação dos componentes termosensíveis do óleo, são descartadas. Além disto, o congelamento promove o enrijecimento da estrutura, prevenindo colapsos da matriz após a secagem e o uso de baixas temperaturas propicia a preservação do núcleo (BAKRY *et al.*, 2016b; PASSAGLIA, 2019).

A coacervação é uma técnica de encapsulamento que é composta de um sistema com duas fases, uma delas é a matriz polimérica com camada homogênea que envolve o material bioativo (chamado de coacervado) e a outra é o próprio material bioativo, que fica no núcleo em fase líquida.

Ela é dividida em coacervação simples e complexa (BAKRY *et al.*, 2016b). A coacervação simples envolve um biopolímero e sais inorgânicos, que serão responsáveis por separar a fase promovendo a formação da cápsula. A coacervação complexa, por sua vez, envolve as interações eletrostáticas entre, pelo menos, dois polímeros com cargas opostas. A coacervação simples possui a vantagem de economia de custos e operações flexíveis se comparada a coacervação complexa (BAKRY *et al.*, 2016b; SOARES, 2018).

As etapas de coacervação são:

a) dispersão do material a ser encapsulado em uma solução de polímero;

b) indução da coacervação, que pode ser por mudança de temperatura, de pH ou adição de um solvente;

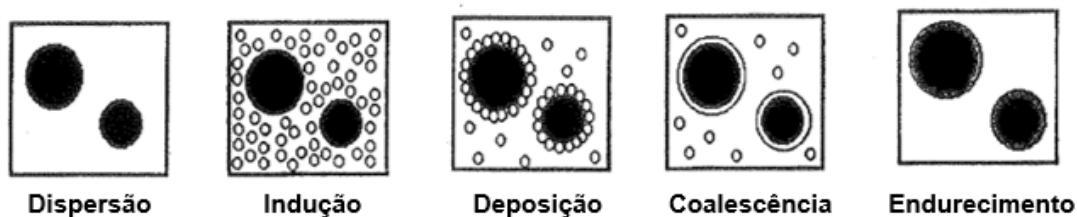
c) Deposição (adsorção) de gotículas de coacervado ao redor dos núcleos a serem encapsulados;

d) Coalescência das gotas para formar um recobrimento do ingrediente ativo;

e) Endurecimento do material de parede, submetendo o sistema a um resfriamento ou a um agente reticulante (JATO, 2001).

A Figura 12 apresenta uma ilustração das etapas descritas.

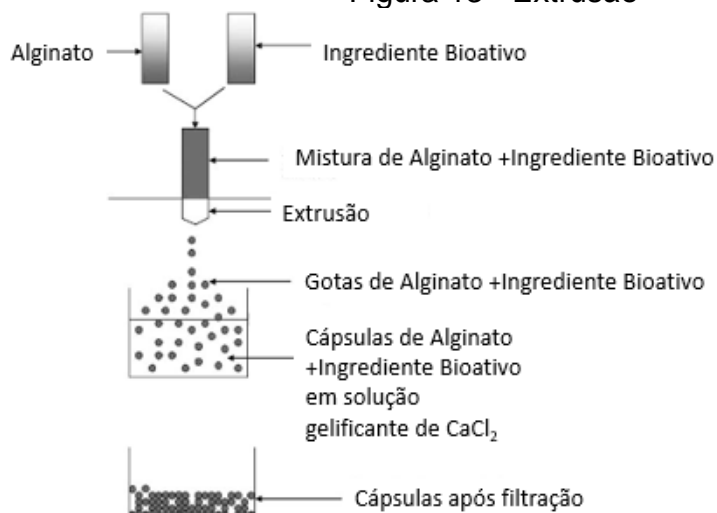
Figura 12 - Etapas da Coacervação: Dispersão, indução, deposição, coalescência e endurecimento



Fonte: Adaptado de Jato (2001).

A extrusão é um método comum para transformar hidrocolóides, que são polímeros hidrossolúveis, em microcápsulas ou microesferas. É uma técnica barata, simples e que não agride o material a ser encapsulado (KRASAEKOOPT; BHANDARI; DEETH, 2003; MANADAS *et al.*, 2002). A técnica baseia-se na gelificação ionotrópica do alginato, em que o ingrediente bioativo é encapsulado em uma solução de alginato, enquanto a solução é homogeneizada e a mistura é extrusada gota a gota por uma pipeta com calibre reduzido ou uma seringa em uma solução de cloreto de cálcio, que promove a reticulação (KRASAEKOOPT; BHANDARI; DEETH, 2003; VIEIRA, 2014). O processo de extrusão é mostrado na Figura 13.

Figura 13 - Extrusão

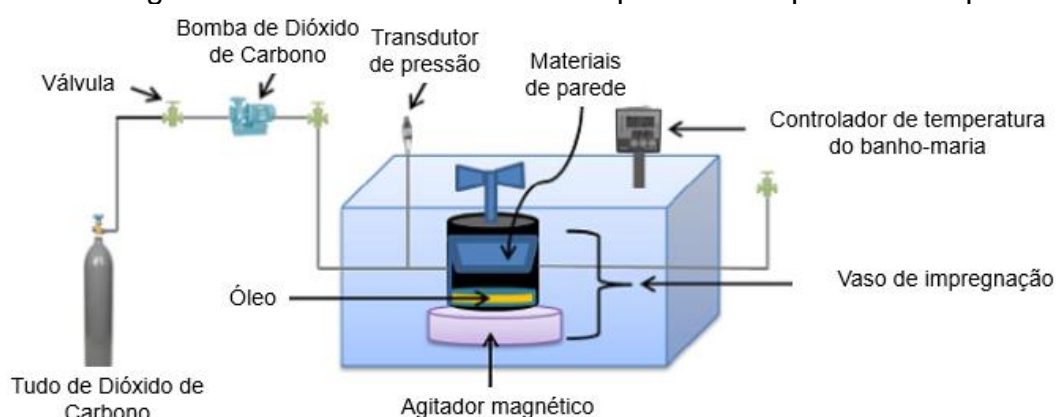


Fonte: Adaptado de Anjani; Kailasapathy; Phillips (2007)

O método de microencapsulamento por fluidos supercríticos tem adquirido ampla utilização e tem grande relevância nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia, pois apresenta vários atrativos para o processamento de produtos de origem natural como a possibilidade de realizar a extração sem riscos de resíduos indesejáveis ou degradar termicamente o produto obtido (BAKRY *et al.*, 2016; MOHAMED, 1997).

Esse processo ocorre pela impregnação do óleo essencial com um solvente supercrítico (dióxido de carbono) em uma matriz polimérica. O processo de impregnação acontece em batelada, conforme mostrado na Figura 14.

Figura 14 - Processo de microencapsulamento por fluido supercrítico



Fonte: Adaptado de Bakry *et al.* (2016)

O aparelho consiste em um sistema de alta pressão, em que a célula de impregnação é alimentada com uma quantidade de óleos essenciais na parte inferior. Os materiais da parede são colocados em uma malha de aço inoxidável elevada do fundo por um suporte. Posteriormente, a célula é imersa em um banho de água com temperatura inferior a 80 °C e o dióxido de carbono é então alimentado na célula até a pressão desejada ser alcançada, visando garantir a solubilização dos ingredientes ativos em dióxido de carbono supercrítico (BAKRY *et al.*, 2016).

3.4 FATORES QUE INFLUENCIAM NO ENCAPSULAMENTO

3.4.1 Material encapsulante

Além da escolha do método de encapsulamento, é importante a definição do material de parede ou de matriz a ser utilizado. O material de parede ideal deve possuir fácil manipulação, baixa viscosidade em altas concentrações, habilidade de emulsificar o ingrediente ativo, não ser reativo, conseguir encapsular o material do núcleo e ter baixo custo (BATALHA, 2017; DE AZEREDO, 2005)

Muitos polímeros de origem natural ou sintética podem ser utilizados para esse fim (BATALHA, 2017). O Quadro 4 apresenta as principais opções de materiais de parede de origem natural.

Quadro 4 - Materiais de parede de origem natural.

Origem	Carboidratos	Proteínas	Lipídios
Vegetal	Amido e derivados	Glúten (milho)	Ácidos /álcoois
	Celulose e derivados	Isolados de (ervilha, soja)	graxos
	Celulose e derivados		Glicerídeos
	Exsudados de plantas		Ceras
	- Goma arábica		Fosfolipídios
	- Goma de karaya		
	- Goma mesquite		
	Extratos de plantas		
	- Galactomanana		
	- Soja solúvel		
Polissacarídeos			

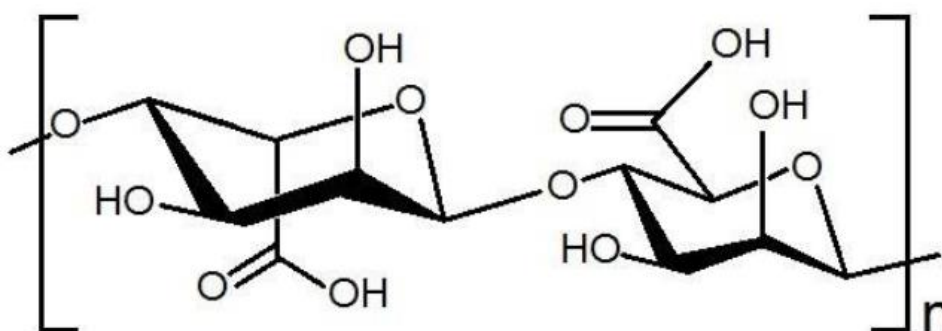
Marinha	- Carragena		
	- Alginato		
Microbiana/animal	Xantana	Caseínas	Ácidos/álcoois
	Gelena	Proteínas do soro	Graxos
	Dextrano	Gelatina	Glicerídeos
	Quitosana		Ceras
			Fosfolípídios

Fonte: Adaptado de Wandrey; Bartkowiak; Harding, (2010)

Os materiais de parede comumente utilizados são alginato de sódio, gelatina, gomas arábica e xantana. Cada um tem características específicas que são descritas nos itens a seguir.

O alginato é um bi polímero aniônico constituído por cadeias lineares de ácido α -L-glucurônico e β -D-mannurônico. Possui a capacidade de formar hidrogéis, filmes, esferas, micro e nanocápsulas com capacidade de encapsulamento, quando estão na presença de íons Ca^{2+} ou Mg^{2+} (MÜLLER; SANTOS; BRIGIDO, 2011; PAULA *et al.*, 2010). A representação plana da molécula de alginato pode ser vista na Figura 15.

Figura 15 - Materiais de parede de origem natural



Fonte: Oliveira *et al.* (2017)

O alginato tem sido utilizado como matriz polimérica no encapsulamento de diversos ingredientes ativos, incluindo óleo essenciais. Pasqualim *et al.* (2010) utilizaram alginato para encapsular óleo vegetal de semente de uva pelo método de extrusão, para posterior uso em produto cosmético ou farmacológico. Em todas as concentrações testadas no estudo, foram identificadas a formação

da microcápsula de alginato contendo o óleo. Bastos (2019) encapsulou óleo essencial de pimenta preta com alginato de sódio pelo método de coacervação complexa, com o objetivo de caracterizar e avaliar a estabilidade do óleo essencial, obtendo eficácia na proteção do óleo. Paula *et al.* (2010) encapsularam óleo essencial de *Croton zehntneri Pax et Hoffm* com alginato pelo método de extrusão, visando a seu emprego como larvicida e obtiveram mortalidade das larvas na faixa de 72 a 100%.

A gelatina é amplamente utilizada em várias formulações devido à sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa antigenicidade. No entanto, cápsulas contendo gelatina na parte externa são propensas a realizarem ligações cruzadas com fatores externos, comprometendo a durabilidade da cápsula. Por isto, a adição de um reticulador químico, como por exemplo o glutaraldeído, dá estabilidade à gelatina, melhorando a estrutura e desempenho das cápsulas (SAXENA *et al.*, 2005).

A gelatina tem sido utilizada como matriz polimérica em estudos que avaliam o encapsulamento de ingredientes ativos. Costa *et al.* (2021) e De Carvalho (2009) encapsularam óleo essencial de *Piper Nigrum* e óleo essencial de *Origanum virens L*, respectivamente, utilizando gelatina.

A goma arábica é um polissacarídeo anfifílico (apresentam características hidrofílicas, e hidrofóbicas) amplamente utilizado na indústria alimentícia (PINHEIRO; COSTA; ABREU, 2021). Possui excelente propriedade de emulsificação e por isto é muito utilizada. No entanto, apresenta capacidade limitada contra a oxidação, pois age como uma membrana semipermeável (BERTOLINI; SIANI; GROSSO, 2001). Muitos estudos a utilizam em conjunto com a goma xantana, que compensa essa desvantagem.

A goma xantana, por sua vez, é um polissacarídeo solúvel em água e muito utilizado na indústria de alimentos como espessante, na produção de emulsões estáveis (PINHEIRO; COSTA; ABREU, 2021).

As gomas, tanto arábica quanto xantana, também têm sido utilizadas no encapsulamento de óleos essenciais. Ascheri; Marquez; Martucci (2003) utilizaram a goma arábica para encapsular o óleo essencial de laranja. Pinheiro; Costa; Abreu (2021), por sua vez, utilizaram a goma arábica e a goma xantana para encapsular o óleo essencial de Eucalipto.

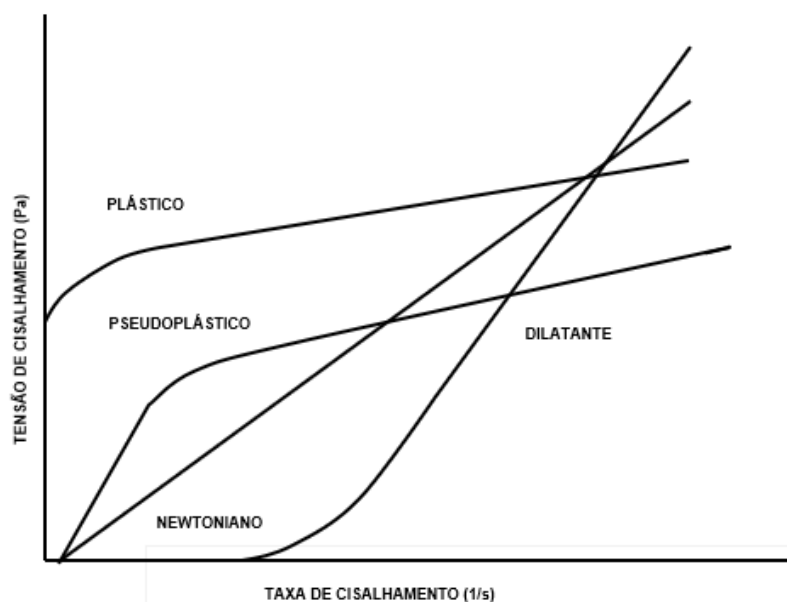
3.4.2 Reologia da emulsão

A reologia é o estudo de como os fluidos se comportam no escoamento sob a influência de forças externas. As propriedades reológicas são definidas pela deformação dos materiais quando submetidos a tensões. A resistência que um fluido oferece ao escoar ou cisalhar ocorre por meio da propriedade física viscosidade (LABA, 1993; RAO, 2007).

O comportamento reológico dos fluidos é representado graficamente por meio da curva de fluxo, onde a tensão cisalhante varia em função da taxa de cisalhamento. A relação entre essas duas propriedades é definida como parâmetro de classificação dos fluidos (DA SILVA; SILVA JR; PINTO JR, 2019)

Os fluidos podem ser classificados em newtonianos e não newtonianos. O primeiro grupo refere-se aos fluidos nos quais a tensão de cisalhamento possui uma relação linear com a taxa de deformação, o segundo grupo, por sua vez, trata dos fluidos em que essa relação não é linear, isto é, a viscosidade varia com a alteração da taxa de cisalhamento (FERREIRA *et al.*, 2005).

Figura 16 - Curva de escoamento do Fluido Newtoniano e de fluidos Não-Newtonianos



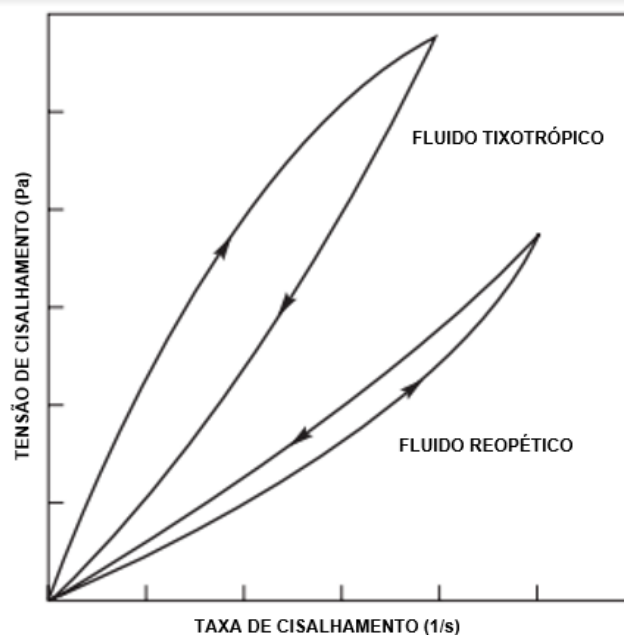
Fonte: Adaptado de Laba (1993).

No caso em que a viscosidade diminui com a variação da taxa de deformação, os fluidos são chamados de pseudoplásticos. Quando ocorre o aumento da viscosidade, por sua vez, o fluido é denominado dilatante. Há ainda

os fluidos plástico de Bingham, em que a tensão de cisalhamento é linear em valores após a tensão de escoamento (DA SILVA; SILVA JR; PINTO JR, 2019). O comportamento desses fluidos independe do tempo e é mostrado na curva de fluxo mostrada na Figura 16.

Quando os fluidos não newtonianos são dependentes do tempo, eles são classificados em tixotrópicos e reopéticos. Os tixotrópicos possuem a viscosidade reduzida com o tempo; os reopéticos, por sua vez, possuem a viscosidade aumentada. O comportamento desses fluidos é mostrado na Figura 17 (FERREIRA *et al.*, 2005).

Figura 17 - Curvas de fluxo de fluidos tixotrópicos e reopéticos



Fonte: Adaptado de Chhabra; Richardson (2008)

A emulsão desempenha um papel importante na determinação da retenção do material ativo. Por isso, conhecer a emulsão bem como suas propriedades reológicas tem fundamental importância no encapsulamento de óleos essenciais. Três parâmetros significativos a serem considerados são concentração total de sólidos, viscosidade e estabilidade. Um maior valor de sólidos leva ao aumento da viscosidade da emulsão, impedindo o movimento de circulação no interior das gotas e, com isso, resultando em uma rápida formação da parede da micropartícula (JAFARI *et al.*, 2008)

Contudo, estudos mostram que existe um teor ideal de sólidos na emulsão. Um elevado valor de sólidos pode exceder a dispersabilidade do material de parede e esses materiais não dispersos não podem fornecer eficácia de efeito encapsulante. Portanto, há um limite de sólidos e viscosidade para um encapsulamento ideal (ACHARYA *et al.*, 2021; REINECCIUS; BANGS, 1985).

3.5 LIBERAÇÃO CONTROLADA

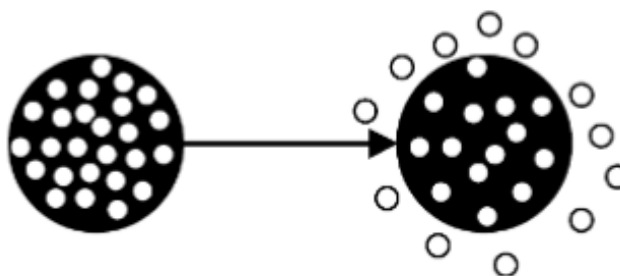
O encapsulamento é feito com o objetivo de proteger um material ativo; no entanto, em dado momento, é necessário liberá-lo. Essa liberação deve ser controlada, ou seja, os materiais do núcleo devem ser disponibilizados em um local e em uma taxa específica (BAKRY *et al.*, 2016c; BEZERRA *et al.*, 2016).

Essa liberação pode possuir duas perspectivas, a liberação retardada, designada por sistemas em que a liberação não aumenta o efeito do ativo, mas o preserva de ambientes adversos, apenas o disponibilizando no local específico de absorção, ou a liberação sustentada, em que o sistema é projetado para prolongar a liberação do ativo e seu potencial de absorção (RODRÍGUEZ *et al.*, 2016).

O agente encapsulado pode ser liberado por vários mecanismos, como ação mecânica, calor, difusão, pH, biodegradação e dissolução. A literatura reporta três métodos de liberação controlada: difusão, liberação por ativação e desagregação/erosão polimérica (COSTA, PAULO, LOBO, 2001).

A difusão é o mecanismo de liberação mais comum, em que a molécula se desloca impulsionada por um gradiente de concentração, da região mais concentrada para a menos concentrada. A capacidade de atravessar uma membrana é conhecida como difusividade e depende da molécula e do meio (RODRÍGUEZ *et al.*, 2016). O mecanismo de difusão pode ser visto na Figura 18.

Figura 18 - Materiais de parede de origem natural



Fonte: Prata *et al.* (2008)

Os principais modelos aplicados na difusão se baseiam na Lei de Fick, conforme expresso na equação 1:

$$\frac{dQ}{dt} = -D \frac{dC}{dx} \quad (1)$$

Em que:

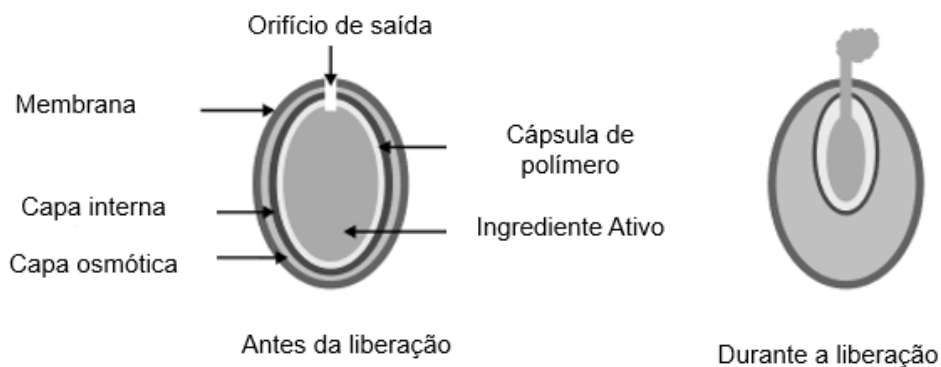
$\frac{dQ}{dt}$ = taxa de difusão do ativo;

D = Coeficiente de difusão;

$\frac{dC}{dx}$ = Gradiente de concentração da substância que se difunde.

Em um sistema de ativação, dentro da cápsula encontra-se um agente osmótico, que com o uso de uma bomba osmótica, permite a entrada de água para que o ativo seja obrigado a sair (MANADAS *et al.*, 2002). O processo ocorre conforme mostrado na Figura 19.

Figura 19 - Mecanismo de liberação por ativação



Fonte: Adaptado de Baena *et al.* (2006)

No processo de erosão ocorre a liberação do ativo por meio da desintegração do material de parede. Neste caso, primeiramente ocorre a difusão do ativo para o polímero, fazendo que o núcleo seco dilate, promovendo o rompimento da camada exterior (LOPES *et al.*, 2005), conforme Figura 20.



Fonte: Silk (2013).

3.6 HIDROXIAPATITA

A hidroxiapatita (HA) é um mineral fosfato de cálcio, composto basicamente por fósforo e cálcio de fórmula química $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, com relação molar Ca/P 1,67, e ocorre naturalmente nos ossos e dentes humanos. Este material possui grande importância na tecnologia de biocerâmicas, basicamente devido às suas propriedades como alta capacidade de adsorção, biocompatibilidade, e estabilidade, sendo aplicado na substituição de tecidos duros danificados, revestimento de próteses ortopédicas e de implantes e reparo de tecidos ósseos (BIEDRZYCKA; SKWAREK; HANNA, 2021; BONAN *et al.*, 2014).

Uma das propriedades mais interessantes das apatitas é a sua capacidade de aceitar substituintes iônicos nas vacâncias. Por esse motivo, a hidroxiapatita é um adsorvente eficiente bem conhecido e amplamente utilizado para remoção de íons metálicos de águas residuais (IVANETS *et al.*, 2019; STÖTZEL *et al.*, 2009).

Quanto menor a cristalinidade da hidroxiapatita, maior a porosidade e maior a área superficial, favorecendo a adsorção de íons metálicos na superfície. Ivanets *et al.* (2019) estudaram a adsorção de íons metálicos em hidroxiapatita com diferentes porosidades, os autores obtiveram resultados satisfatórios, em

que a concentração residual alcançada de íons Pb^{2+} , Zn^{2+} e Cu^{2+} ficou abaixo do limite máximo utilizando uma HA com área superficial de 200 a 240 m^2/g .

Devido à sua capacidade adsortiva, a hidroxiapatita tem potencial de adsorção de algumas substâncias, como óleos essenciais. Predoi *et al.* (2018) estudaram a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de manjeriço e lavanda adsorvidos em hidroxiapatita (com área superficial de 98,45 m^2/g), em que foi realizada uma mistura do pó com o óleo essencial, seguida de prensagem em pastilhas com um diâmetro de 6 mm. Os autores perceberam que o óleo essencial de lavanda foi bem adsorvido na superfície da hidroxiapatita e exibiu uma atividade inibitória de crescimento bacteriano muito boa, enquanto o óleo essencial de manjeriço apresentou uma adsorção fraca e baixa inibição de células bacterianas.

Esse comportamento pode ser explicado pela diferença de afinidade química dos óleos essenciais com a hidroxiapatita, evidenciando que a lavanda possui uma afinidade superior ao manjeriço, visto que o procedimento de formação das pastilhas foi o mesmo para ambos os óleos. Com isto, ela foi apresentada melhor adsorção na hidroxiapatita, do que o óleo de manjeriço.

Badea *et al.* (2019) estudaram a atividade antimicrobiana de hidroxiapatita com óleo essencial de hortelã-pimenta, em que este foi adicionado a uma solução de hidroxiapatita. Os resultados do estudo revelaram que a atividade antimicrobiana da hidroxiapatita com óleo essencial aumentou significativamente.

O uso da hidroxiapatita para avaliar o potencial de adsorção de óleos essenciais em aplicações de encapsulamento de micropartículas representa uma inovação promissora. A hidroxiapatita, conhecida por sua biocompatibilidade, não só melhora a eficácia da encapsulação, como também abre portas para futuras aplicações em seres humanos.

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Nesta etapa estão descritos os processos utilizados para desenvolvimento e caracterização das microcápsulas de óleo essencial.

4.1 MATERIAIS

Nesse trabalho foram utilizados os seguintes produtos químicos: óleo essencial (OE) de citronela (Aromalife, pureza 100% e 26,9 g/L), extraído pelo método de destilação por arraste de vapor; Alginato de sódio ($\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_6$ - Êxodo, 90,8%); surfactante Polisorbato 80 (Tween 80, Oxiteno, 99%); Glicerina como plastificante (Glicerina BCA Bidestilada USP, 99,5%, 21 Química); Acetona (CH_3COCH_3 , P.A., Química Moderna) e Cloreto de Cálcio (CaCl_2 , Êxodo, 96%).

A hidroxiapatita nanoestruturada utilizada é proveniente de material orgânico de origem animal (espinhas de tilápia *Oreochromis niloticus*) e foi obtida em estudo anterior do grupo de pesquisa. O material possui área superficial de 41,373 m²/g e cristalinidade de 39,36%. Mais informações sobre o material podem ser encontradas em (MODOLON *et al.*, 2021).

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

Nesta etapa estão descritos os processos para avaliação e caracterização do óleo essencial.

4.2.1 Caracterização química

Inicialmente foi realizada a caracterização do óleo essencial utilizado no processo, a fim de confirmar a pureza informada pelo fornecedor. Para isso, foi realizada a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (EMAR), realizada, em um sistema de cromatografia (Shimadzu®, UFLCXR) com detector de arranjo de diodo modelo SPD-M20A, acoplado à sistema de espectrometria de massas microTOF-Q™ III da Bruker Corporation®. Esta técnica permite maior confiabilidade das análises cromatográficas, confirmando a identidade de cada pico (PINTO, 2022).

Para identificar os modos vibracionais dos grupamentos funcionais existentes no óleo, foi utilizada a técnica de espectroscopia de infravermelho por Transformada de Fourier (espectrômetro Bruker acoplado com o software OPUS 7.5 modelo Tensor II), utilizando o sensor de Reflectância Total Atenuada (ATR).

4.2.2 Caracterização óptica

Os óleos essenciais são normalmente ativos opticamente. A análise do comportamento óptico é útil para, posteriormente, identificar o processo de liberação controlada deste óleo por meio da técnica de espectroscopia de UV-Vis.

Para que fosse possível encontrar uma relação entre a concentração de óleo essencial com a absorbância óptica, foi realizada a varredura de 250 a 550 nm, do óleo essencial em solução de acetona no espectrofotômetro UV-Vis (UV-M5-1, BEL EQUIPAMENTOS), a fim de se encontrar o comprimento de onda que produz a banda máxima de absorbância característica do óleo de citronela indicado por (BEZERRA *et al.*, 2016).

Posteriormente, foi preparada uma curva de calibração a partir da diluição do OE em acetona em diferentes concentrações e realizada a leitura em espectrofotômetro UV-Vis nos comprimentos de onda de 250 a 550 nm. A curva de calibração foi obtida a partir da relação entre as áreas das curvas de absorbância e a sua concentração. Essa curva foi utilizada para quantificar o óleo essencial em cada experimento realizado.

4.2.3 Caracterização térmica

Para se avaliar a temperatura de degradação do óleo essencial, uma amostra foi submetida à análise térmica DSC/TG (SDT-Q600, TA instruments).

A análise foi realizada em uma taxa de aquecimento de 10 °C/min até 600 °C usando atmosfera de ar sintético e cadinho de alumina.

4.2.4 Caracterização microbiológica

Para avaliar a atividade bacteriostática, que é a capacidade de um agente inibir o crescimento de bactérias, foi realizado o ensaio de diluição para encontrar a concentração inibitória mínima (CIM). A bactéria *Escherichia coli* (ATCC 25922) foi utilizada para avaliar a atividade do óleo de citronela. Todos os materiais utilizados no ensaio foram esterilizados a 121 °C por 15 min em autoclave vertical (Phoenix).

Para realização dos ensaios, os meios de cultura líquido foram produzidos adicionando-se 3,70 g de caldo BHI (Brain Heart Infusion) a 100 mL de água, conforme recomendação do fornecedor. O ensaio de diluição foi realizado em microplacas estéreis de 96 cavidades, com fundo em forma de "U", contendo 100 µL de caldo BHI, conforme orientações do manual de testes de susceptibilidade de antimicrobianos (COYLE, 2005), adaptados para este trabalho.

O óleo essencial foi diluído em dimetilsulfóxido 10% (DMSO) a uma concentração de 10000 µg/mL. Posteriormente, 900 µL desta solução foram misturadas a 450 µL de caldo BHI; essa mistura foi chamada de M1. O ensaio foi conduzido em triplicata, em que cada coluna da placa é uma réplica e cada linha representa uma concentração de óleo.

Posteriormente, 150 µL da mistura M1 foram adicionadas nos poços das colunas A1, A2 e A3. Após isso, 50 µL de BHI foram adicionados nos poços das linhas B até H, colunas 1 a 3 (réplicas). Foi adicionado também nas colunas 5, 6, e 7, para controle do experimento.

Para criar diluições da mistura ativa, alíquotas de 50 µL foram transferidas da linha A para a linha B, e assim sucessivamente, para obter soluções com diferentes concentrações, conforme mostrado na Tabela 4.

Após realizar a homogeneização com o auxílio da pipeta, foram adicionado 5 µL de inóculos bacterianos de *Escherichia coli* ATCC 25922 com uma concentração de 10⁴ UFC/mL, submetidos à diluição seriada de 10⁻⁴ em solução salina 0,9%.

Tabela 4 - Concentração de óleo essencial

Linha	Concentração de óleo essencial ($\mu\text{g/mL}$)
A	10000
B	5000
C	2500
D	1300
E	700
F	400
G	200
H	100

Os poços 6, 7 e 8 foram utilizados como controle, em que, no poço 6, foi adicionado apenas BHI para controle e esterilidade da placa, no poço 7 foi adicionado BHI + DMSO + inóculo para controle negativo do óleo, e no poço 8 foi adicionado BHI + inóculo para controle positivo.

A placa foi incubada por 24 h a 37 °C. Após esse tempo, foram adicionados 10 μL de Cloreto de tetrazólio (TTC) a 0,5% em cada poço. A placa foi incubada novamente a 37 °C por 4 h. Após esta última incubação, a presença de uma coloração vermelha nos poços indica crescimento bacteriano, enquanto a ausência da coloração vermelha indica atividade inibitória das concentrações de óleo essencial.


4.3 PRODUÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS

As micropartículas de óleo essencial foram produzidas pelo método de extrusão, baseados na metodologia utilizada por Niero e Arcaro, (2022), adaptada para as condições deste trabalho, no qual são preparadas emulsões que são gotejadas em um meio reticulante.

Para produção das micropartículas, foram avaliadas as variáveis razão de alginato/óleo essencial nas proporções 1:1, 1:2,5 e 1:4 e razão alginato/hidroxiapatita variando entre 2:0, 2:0,045, 2:0,07 e 2:0,15, conforme indica a Figura 21.

Figura 21 - Variáveis avaliadas na produção das micropartículas

Razão Alginato/óleo essencial			
1:1	1:2,5	1:4	



Razão Alginato/Hidroxiapatita			
2:0	2:0,045	2:0,07	2:0,15

Fonte: A autora (2024).

Nas partículas com variação alginato/óleo essencial, foi avaliada sua influência na perda de massa e a cinética de liberação de óleo das partículas.

Nas emulsões com variação de alginato/hidroxiapatita, foi avaliada a sua influência na reologia.

Nas partículas com variação de alginato/hidroxiapatita, foi avaliada a perda de massa, morfologia e tamanho, densidade, porosidade, análise de grupos funcionais e cinética de liberação do óleo das partículas.

As proporções que foram adotadas no desenvolvimento deste trabalho, foram definidas baseadas em ensaios preliminares, que buscaram a produção de partículas esféricas e com aspecto resistente à manipulação. As condições avaliadas foram: Relação Óleo essencial de Citronela/Alginato 1:1; Relação Alginato/Hidroxiapatita 2:1; Relação óleo essencial de Citronela/Tween/Glicerina 1:1:1 e Concentração de Cloreto de Cálcio 1,5 M.

4.3.1 Influência da razão Alginato/Óleo essencial

Para avaliar a influência da razão alginato de sódio/óleo essencial na perda de massa e cinética de liberação de óleo essencial, as micropartículas, foram obtidas a partir de emulsões preparadas, variando-se as razões de alginato/óleo essencial, mantendo-se os demais componentes em proporções fixas, como apresentado na Tabela 5.

Tabela 5 - Variáveis avaliadas na produção das micropartículas

Amostra	Alginato (%)	Óleo essencial puro (%)	Tween (%)	Glicerina (%)	Hidroxiapatita (%)	Água (%)
A - Alg 1:1	2,3	2,3	2,3	2,3	0,075	90,7
B - Alg 1:2,5	1,9	4,7	2,3	2,3	0,075	88,73
C - Alg 1:4	1,9	7,6	2,3	2,3	0,075	85,83

Inicialmente, foi preparada uma suspensão aquosa de hidroxiapatita (HA) na concentração de 10 g/L. Para fazer essa suspensão, 0,5 g de hidroxiapatita foram adicionados lentamente a 50 mL de água deionizada e dispersado durante 10 min a 860 rpm sob agitação mecânica (Fisatom 713D). Após isso, a mistura foi submetida a 2 min de ultrassom, usando-se um sonificador de ponteira ultrassônico (Ultronique), sob agitação magnética para manter a homogeneização constante (Fisatom 752).

Para preparar a emulsão, o alginato, o óleo essencial, o tween, a glicerina e a água foram adicionados a um béquer e submetidos à agitação vigorosa por 10 min a 900 rpm. Após isso, a suspensão de HA foi adicionada e a emulsão foi submetida à homogeneização por mais 5 min a 890 rpm.

As emulsões produzidas foram gotejadas com a bomba de seringa (DBM Eletrotech), com tamanho 22G com abertura de 0,70 mm e vazão 0,25 mL/min em solução de CaCl_2 1,5 M e deixadas por 30 min. Após esse tempo, elas foram lavadas com água destilada e transferidas para um vidro de relógio e submetidas à etapa de secagem, que será detalhada posteriormente.

4.3.2 Influência da razão Alginato/Hidroxiapatita

A partir da definição da razão alginato/óleo essencial ideal, foram avaliadas as formulações com variação alginato/hidroxiapatita. As formulações são apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6 - Formulações com variação entre alginato e hidroxiapatita

Amostra	Alginato (%)	Óleo essencial puro (%)	Tween (%)	Glicerina (%)	Hidroxiapatita (%)	Água (%)
D - Alg 2:0	2	5,08	2,54	2,5	0	87,88
E - Alg 2:0,045	2	5,08	2,56	2,52	0,04	87,80
F - Alg 2:0,075	2	5,08	2,54	2,54	0,075	87,77
G - Alg 2:0,15	2	5,08	2,5	2,53	0,15	87,74

O processo de homogeneização, preparação das emulsões e fabricação das micropartículas foi realizado de acordo com as etapas descritas na seção 4.3.2. Para fins de comparação com as emulsões, foram fabricadas partículas utilizando-se apenas alginato (H) e partículas sem adição de óleo essencial (I), de acordo com as formulações mostradas na Tabela 7.

Tabela 7 - Formulações de emulsões para comparação– amostra H (somente alginato e água) e amostra I, (contendo alginato, hidroxiapatita, tween, glicerina e água)

Amostra (%)	Alginato (%)	Óleo essencial puro (%)	Tween (%)	Glicerina (%)	Hidroxiapatita (%)	Água (%)
H	2	0	0	0	0	98
I	2,09	0	2,69	2,67	0,079	92,53

4.3.3 Análise reológica das emulsões

O estudo do comportamento reológico das emulsões foi realizado em um reômetro rotacional Thermo Scientific™ HAAKE™ MARS™ IQ, com configuração de sensor duplo cone/prato que requer um volume de amostra entre 1 e 3 mL. Esse método de medida consiste em três etapas no modo de velocidade (cisalhamento) a uma temperatura constante de 25 °C. Inicialmente, produziu-se um incremento linear de velocidade de cisalhamento de 0 a 400 s⁻¹ em 3 min. Em uma segunda etapa, estabeleceu-se um patamar de velocidade de cisalhamento de 400 s⁻¹ durante 120 s e, então, em uma terceira etapa, promoveu-se uma diminuição da velocidade de cisalhamento de 400 até 0 s⁻¹ em

300 s. Assim, curvas de escoamento foram obtidas para avaliação da estabilidade das emulsões, tixotropia e viscosidade.

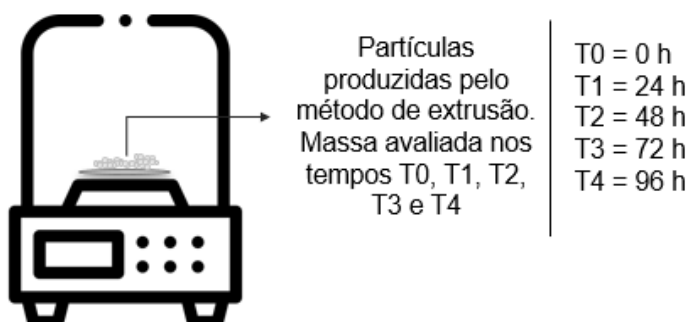
4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS MICROPARTÍCULAS

As partículas produzidas foram submetidas a ensaios de caracterização, que são descritos nessa seção. As partículas obtidas a partir da variação de Alginato/óleo essencial (amostras A, B e C) foram avaliadas quanto à perda de massa e liberação de óleo essencial. As partículas com variação de alginato/hidroxiapatita (D, E, F, G, H e I) foram avaliadas quanto à perda de massa, influência na liberação de óleo, morfologia e tamanho, densidade, porosidade, análise de grupos funcionais e cinética de liberação de óleo essencial.

4.4.1 Perda de massa total

A perda total de massa das partículas, que engloba tanto a perda de água quanto de óleo essencial, foi avaliada ao longo de 96 h, utilizando-se uma balança analítica (Shimadzu, modelo AUY-220), conforme esquema apresentado na Figura 22. A massa das partículas foi registrada em intervalos de tempo específicos, variando de 0 a 96 h.

Figura 22 - Avaliação de perda de massa



O cálculo de perda de massa foi realizado conforme equação 2:

$$\% \text{ Perda a cada intervalo de tempo} = \frac{T_n - T_{(n+1)}}{T_0} \times 100 \quad (2)$$

Em que:

T_n = massa no tempo n , em que $n = 0, 1, 2, 3$ ou 4 .

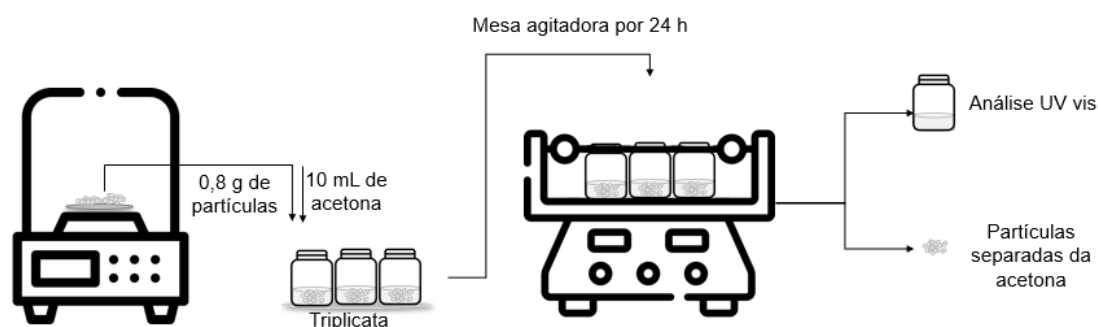
T_0 = massa no tempo zero.

A perda de massa acumulada ao longo das 96 h também foi calculada para cada amostra analisada.

4.4.2 Cinética de liberação de óleo essencial

Para se avaliar a quantidade de óleo essencial liberada em ambiente, amostras de 0,8 g de partículas foram mantidas expostas ao ambiente a temperatura de 25 °C e, após determinado intervalo de tempo (entre 0 e 96 h), as amostras foram adicionadas a 10 mL de acetona para finalizar a extração do óleo essencial ainda presente na partícula. A mistura foi submetida à homogeneização durante 24 h em mesa agitadora (Quimis, modelo Q225MT) e o ensaio foi realizado em triplicata. Após, as partículas foram separadas da acetona por decantação e a amostra líquida foi submetida à análise em modo varredura no espectrofotômetro UV vis (Shimadzu, modelo UV 1800), a fim de identificar a quantidade presente de óleo essencial de citronela. O esquema apresentado na Figura 23 ilustra essa etapa.

Figura 23 - Ensaio para avaliação da cinética de liberação do óleo essencial



4.4.3 Morfologia, distribuição de tamanho e razão de aspecto

O tamanho e a forma das micropartículas produzidas foram determinados por meio do software Image J. A análise detalhada da morfologia das micropartículas foi conduzida utilizando-se um microscópio eletrônico de varredura (MEV, EVO10, Zeiss). Amostras das superfícies de fratura foram recobertas com um fino filme de ouro (Au) e, então, levados ao MEV para análise da microestrutura e foram identificadas características como a formação de cápsulas ou esferas.

Para este ensaio, duas séries de partículas (D, E, F e G) foram submetidas a dois métodos de secagem distintos. O primeiro grupo foi liofilizado imediatamente após a produção. Para efeito de comparação morfológica, o segundo grupo das mesmas amostras foi exposto ao ambiente por 96 h antes de ser submetido a uma secagem de 24 h a 100 °C em estufa. Tanto as partículas liofilizadas quanto aquelas secas em estufa foram submetidas a uma análise das suas microestruturas, tanto externas quanto internas, incluindo um corte transversal para a avaliação da metade resultante.

4.4.4. Porosidade

A porosidade foi estimada a partir do cálculo das densidades das micropartículas. Para se avaliar a densidade real das micropartículas, foi realizada a análise de picnometria em gás hélio (Anton Paar, Ultrapyc 5000). Com base nessa informação e na densidade aparente da amostra (ρ_{ap}), determinada pela relação massa/volume (onde a massa foi medida utilizando-se uma balança analítica e o volume foi calculado a partir das medidas de tamanho obtidas por meio de imagens capturadas com um microscópio estereoscópio Biotika, modelo L60), foi possível calcular a densidade relativa e, por conseguinte, a porosidade das micropartículas, conforme descrito pela Equação 3:

$$\% \text{ Porosidade} = 1 - \rho_{relativa} \quad (3)$$

4.4.5 Análise dos grupos funcionais

Para identificar os modos vibracionais dos grupamentos de ligações químicas existentes nas micropartículas, foi utilizada a técnica de espectroscopia de infravermelho por Transformada de Fourier (modelo Tensor II); para isto, os espectros foram registrados de 4.000 a 400 cm^{-1} e escaneados no modo absorvância. Esse ensaio é importante para se identificar os grupos funcionais, bem como a composição química presente na estrutura da micropartícula.

4.5 ENSAIO ANTIMICROBIANO

As micropartículas produzidas com diferentes concentrações de hidroxiapatita foram submetidas ao método de difusão em ágar, com bactérias *gran-negativas Escherichia coli*, por meio da cultura em caldo, para verificar o potencial inibitório, conforme método proposto por Bauer *et al.* (1966). Todos os materiais utilizados no ensaio foram esterilizados a 121 °C por 15 min em autoclave vertical (Phoenix).

Para realização dos ensaios, o meio de cultura sólido foi produzido utilizando-se 38 g ágar Mueller Hinton, para 1 L de água destilada. Para a produção do meio de cultura líquido, foram utilizados 3,70 g de caldo BHI para 100 mL de água destilada.

Para se avaliar a pureza da amostra, foi adicionado o microorganismo à placas de petri e realizado o esgotamento do microorganismo em meio de cultura sólido. Após 24 h, foi retirada uma unidade formadora de colônia da bactéria, identificada como pura, e inserida em um tubo de vidro contendo 5 mL de meio de cultura líquido, e incubado por 24 h a 37 °C em estufa (FANEM).

Então, foi realizada a diluição de 1:10 do microorganismo em tubo contendo 9 mL de solução salina 0,9%. A bactéria foi inoculada às placas de petri com a alça inoculadora. Para se avaliar o potencial inibitório das amostras, foi adicionada a massa de 0,8 g de amostra em cada placa. Essa massa de partículas contém teoricamente a quantidade de óleo suficiente para inibir o crescimento das bactérias. O ensaio foi realizado em duplicata.

Foram avaliadas as amostras D, E, F, G, H, I e também a hidroxiapatita pura.

As placas foram incubadas por 24 h a 37 °C em estufa (FANEM) e, após esse tempo, foi realizada a avaliação do diâmetro e área do halo de inibição de cada amostra para se avaliar o potencial antimicrobiano de cada formulação.

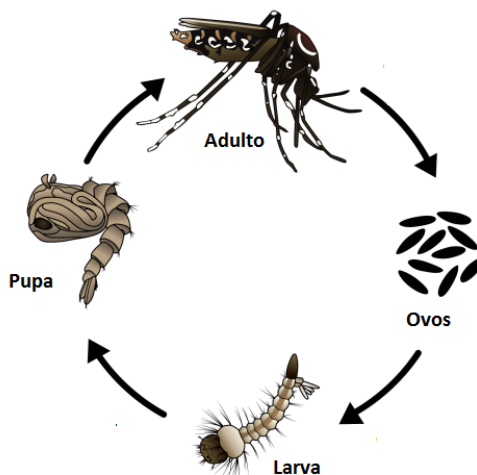
4.6 ENSAIO DE EFICÁCIA REPELENTE

4.6.1 Manutenção das Colônias de *Aedes aegypti*

Para conduzir os experimentos, foram utilizadas fêmeas de *Aedes aegypti* com cerca de 7 dias de vida, livres de qualquer infecção por arbovírus, provenientes da linhagem Rockefeller, mantidas há mais de 10 anos no laboratório de Imunoparasitologia (IMPAR) na Universidade do Sul de Santa Catarina.

Para isso, ovos de *Aedes aegypti* foram depositados em bandejas com 2 L de água mineral à espera da eclosão de larvas. Posteriormente, as larvas receberam como alimentação ração para gatos Purina® Cat 22 Chow® triturada até o estágio de pupa. Em seguida, as pupas foram transferidas para recipientes com água mineral e colocadas em gaiolas, desenvolvendo-se para mosquitos adultos. Para a manutenção das colônias, os adultos foram mantidos em gaiolas de criação 30 cm X 30 cm X 30 cm, em temperatura de 28 ± 2 °C e 70-85% de umidade, com fotoperíodo de 14:10 claro:escuro, e alimentados com uma solução de glicose (10% v/v).

Uma imagem do ciclo de vida do mosquito é mostrada na Figura 24.

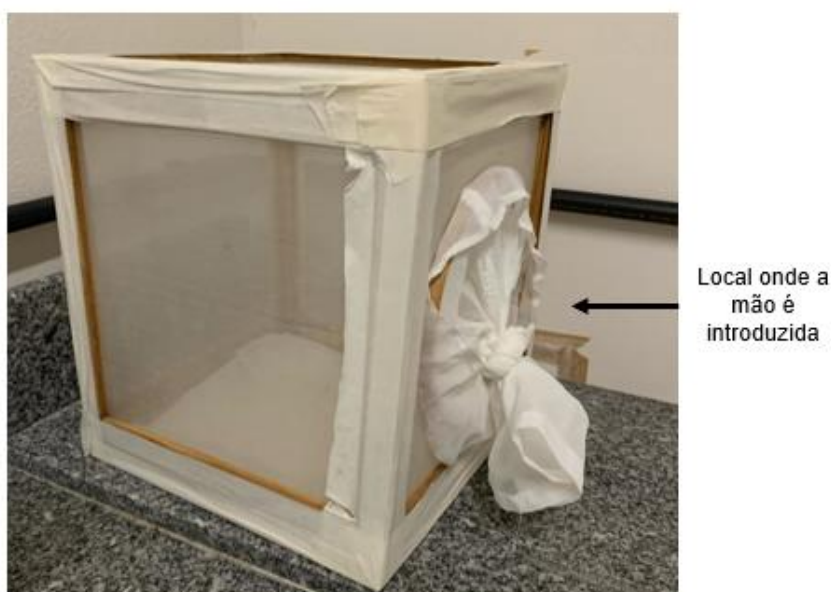
Figura 24 - Ciclo de vida do mosquito *Aedes aegypti*

Fonte: Centro Nacional Para Enfermedades Infecciosas Emergentes Y Zoonóticas (2022)

4.6.2 Bioensaio de Repelente de Ambiente

As micropartículas que demonstraram os melhores resultados nos ensaios anteriores e maior potencial de repelência foram selecionadas para o bioensaio. Para isso, cinco gaiolas de criação de 30 cm³, conforme mostrado na Figura 25, com 30 fêmeas de *Aedes aegypti* foram separadas e mantidas em temperatura de 28 ± 2 °C e 70-85% de umidade.

Figura 25 - Gaiola para o ensaio de repelente



Fonte: A autora (2024).

Os bioensaios foram conduzidos com 05 voluntários (02 homens e 03 mulheres), que se abstiveram de bebida alcoólica por pelo menos 48 h antes do bioensaio, que não possuem hábito de fumar, não utilizaram perfumes ou cremes perfumados.

Para a execução do experimento, os voluntários utilizaram uma luva de látex descartável com uma abertura no dorso de não cobertura de 4cm x 4 cm. A avaliação da ação de repelência deu-se em 2 momentos distintos.

Primeiro, realizou-se o teste de controle, onde os participantes inseriram uma das mãos na gaiola por 5 min e observaram a tentativa de picadas que foram contabilizadas, na medida que as fêmeas pousam e permanecem por alguns segundos na abertura no dorso da mão.

Posteriormente, de forma cega, os participantes testaram a ação repelente de ambiente da amostra F e I. Em paralelo, foram analisadas a ação repelente do óleo essencial puro, da hidroxiapatita pura e alginato puro.

Para isso, os materiais foram depositados em placas de petri esterilizadas; as quantidades de cada material dentro da gaiola estão descritas na Tabela 8.

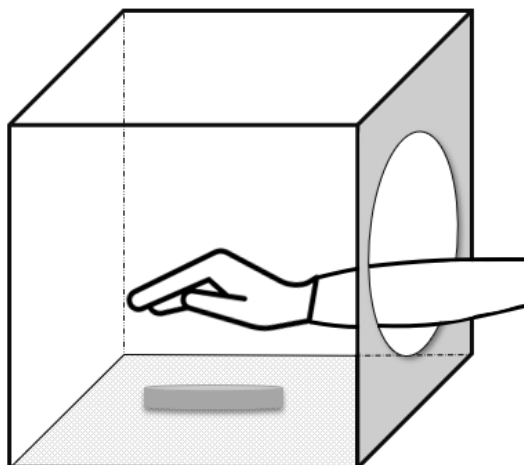
Tabela 8 - Amostras e quantidades utilizadas no ensaio de repelência

Amostra	Quantidade
F	20 g
I	20 g
Hidroxiapatita	0,015 g
Alginato	0,4 g
Óleo essencial puro	1 g

Foi definida a massa de 20 g de partículas, pois essa é a massa comercialmente utilizada em sachês aromáticos e anti-traças. As quantidades dos demais componentes são correspondentes ao quanto de cada material há na composição de 20 g de partículas.

Para esse ensaio, a mão do participante se encontrava há alguns centímetros acima do material avaliado, e então contabilizada a quantidade de tentativas de picadas, conforme mostrado na Figura 26.

Figura 26 - Avaliação da repelência



Fonte: A autora (2024).

Após o tempo de contagem de 5 min, as fêmeas foram mantidas em descanso por 10 min, e então feita uma nova rodada do ensaio. Foram realizadas 5 rodadas, o ensaio foi realizado em triplicata.

Os ensaios foram realizados em três ocasiões diferentes para todas as condições experimentais. Cada amostra, mais o controle negativo (CN), foi considerada como um tratamento (T1 – T6) e cada exposição da mão pelo tempo de 5 min foi considerada como repetição. A realização do experimento em cada dia como uma réplica. Os resultados são apresentados como média \pm 1SD e foram testados para diferenças significativas entre os tratamentos em relação à repelência dos mosquitos, usando-se o teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste post-hoc de Dunnett, no software PAST 4.03 e a significância estatística foi fixada em valor de $p \leq 5$.

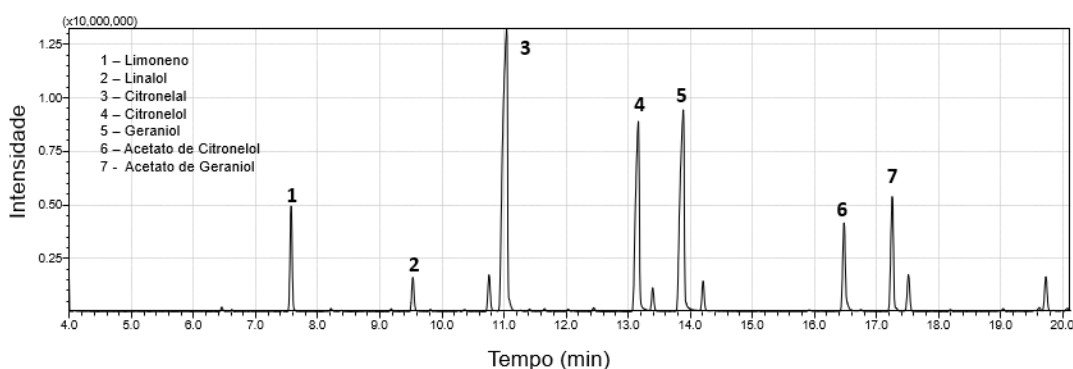
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

5.1.1 Caracterização química

O cromatograma de massas do óleo essencial de citronela é mostrado na Figura 27. É possível observar que o óleo possui, essencialmente, em sua composição, limoneno, linalol, citronelal, citronelol, geraniol e acetato de citronelol e acetato de geraniol. Destaque para os maiores picos identificados, que foram citronelal, geraniol e citronelol, que de acordo com a literatura, são os componentes majoritários do óleo essencial de citronela (KAUR; BHARDWAJ; KAUR, 2021).

Figura 27 - Cromatograma de óleo essencial de citronela

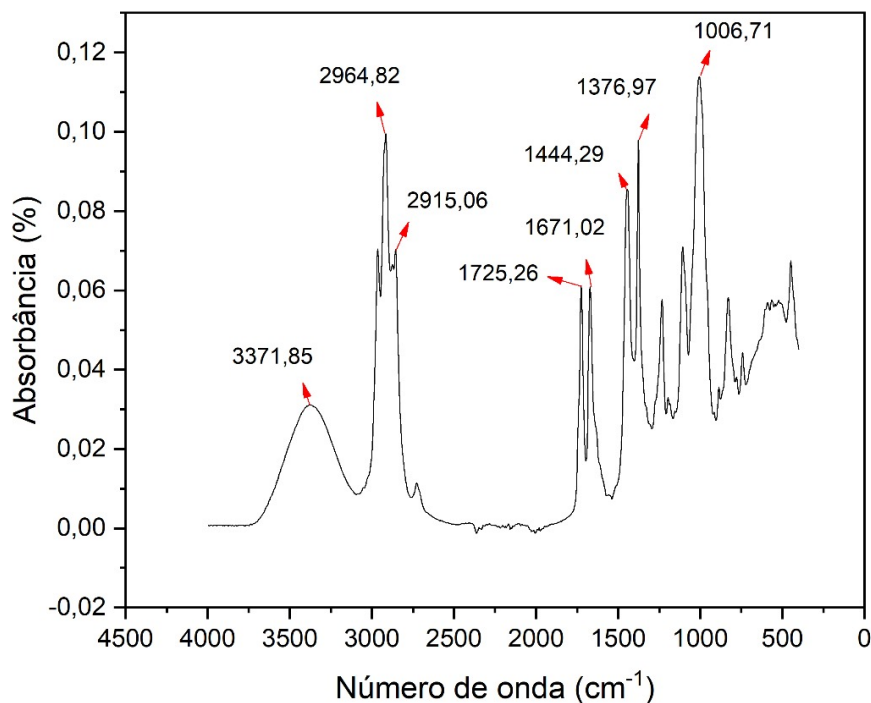


Fonte: A autora (2024).

O espectro FTIR do óleo essencial de citronela é apresentado na Figura 28. A presença do grupo CH_2 e CH_3 alifático é representada pelas bandas em $2964,82 \text{ cm}^{-1}$ e $2915,06 \text{ cm}^{-1}$. As bandas $1444,29 \text{ cm}^{-1}$ e $1376,97 \text{ cm}^{-1}$ são características da deformação angular do grupo C-H e do grupo O-H, respectivamente. A presença de absorção a $1725,26 \text{ cm}^{-1}$ é indicativo de função aldeído, característico da molécula de citronelal. A presença da banda $1006,71 \text{ cm}^{-1}$ representa o estiramento C-O, presente no álcool primário, assim como as bandas de absorção a $3371,85 \text{ cm}^{-1}$, característico das moléculas de citronelol e geraniol. A absorção em $1671,02 \text{ cm}^{-1}$ é característica da ligação insaturada

(C=C) presente nos componente majoritários do óleo (LOPES; FASCIO, 2004; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005).

Figura 28 - Espectros na região do infravermelho do óleo essencial de citronela

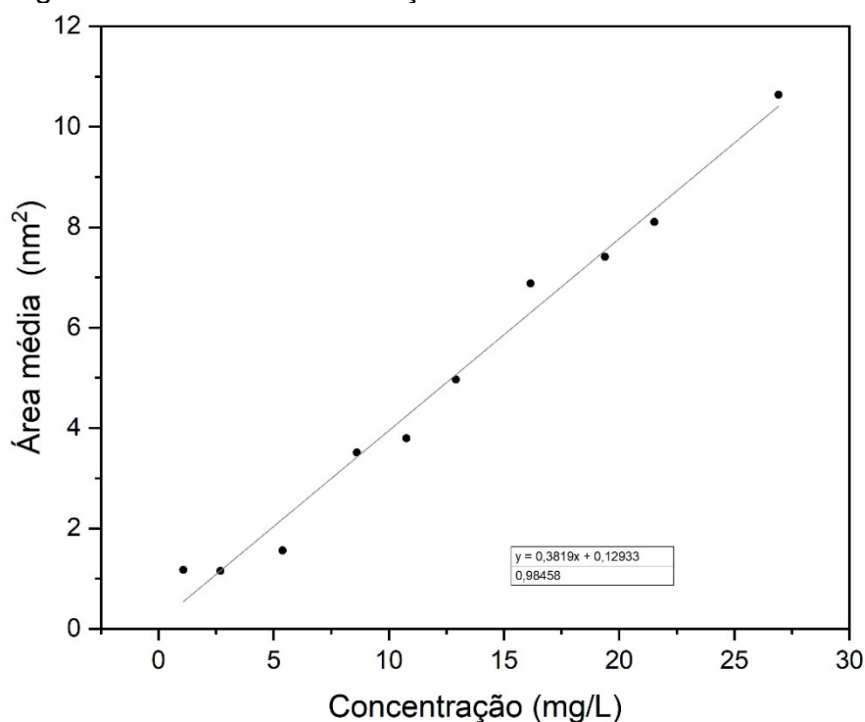


Fonte: A autora (2024).

5.1.2 Caracterização óptica

A curva analítica, ou curva de calibração do óleo essencial, foi obtida no intervalo de concentração entre 1,05 e 26,27 mg/L. A equação da reta de regressão estimada pelo método dos mínimos quadrados foi de $Abs = 0,3897C + 0,1293$. Para esta equação, foi obtido um valor de R^2 de 0,9846 com um desvio padrão de declive de 4,42%. Para a curva obtida, o limite de detecção da área é de 0,884 e da concentração é de 1,937 mg/L. A curva de calibração é mostrada na Figura 29.

Figura 29 - Curva de calibração do óleo essencial de citronela

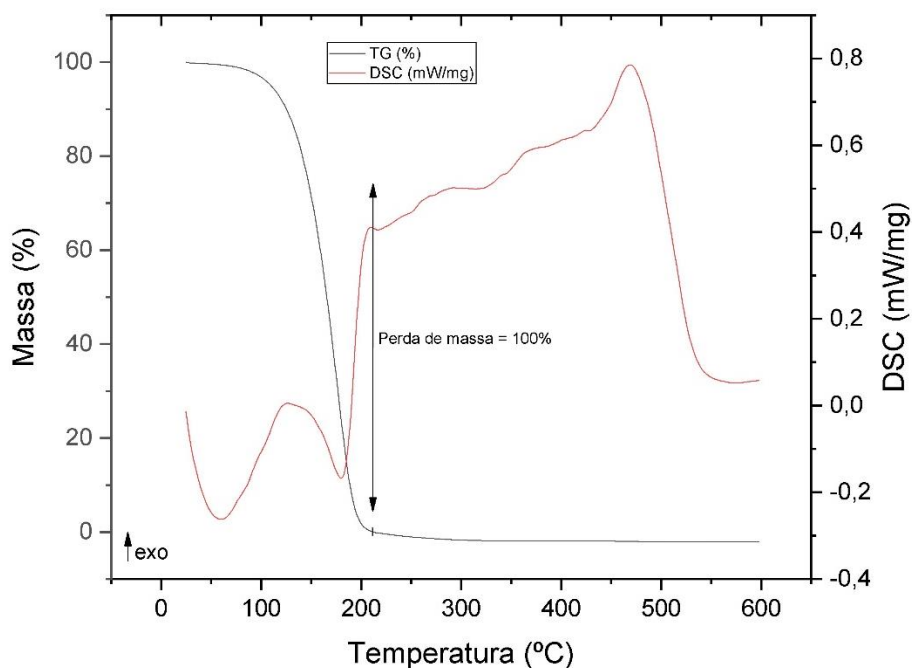


Fonte: A autora (2024).

5.1.2 Caracterização térmica

Para se verificar a temperatura de degradação térmica do óleo essencial de citronela, análises térmicas de DSC e TG foram realizadas e são mostradas na Figura 30. Os resultados de TG do óleo essencial de citronela mostram a perda total de massa em 212 °C. O DSC evidencia a perda de massa acompanhada de um evento endotérmico próximo aos 200 °C. Essa informação é coerente com os pontos de ebulição dos monoterpenos majoritários do óleo: citronela, citronelal e geraniol, que são 205, 224 e 230 °C, respectivamente (PUBCHEM, 2024). Após isso, em 480 °C, é possível identificar um pico exotérmico, que indica a degradação dos compostos do óleo. Esses resultados são semelhantes aos obtidos por Freire (2017) e Santos *et al.* (2015).

Figura 30 - Análise térmica por DSC/TG



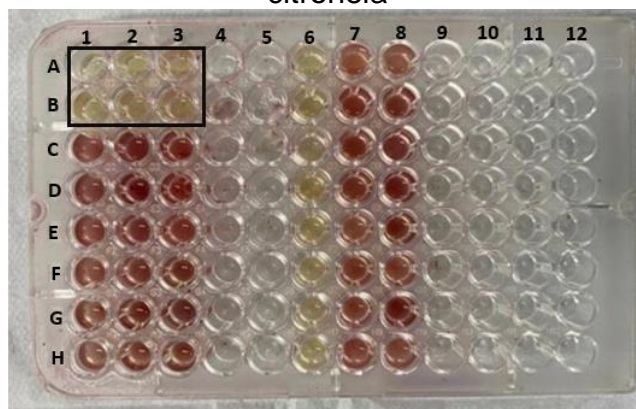
Fonte: A autora (2024).

5.1.3 Caracterização microbiológica

A fim de se determinar o potencial antibacteriano do óleo essencial de citronela, uma análise de concentração inibitória mínima (CIM) para a bactéria e *Escherichia coli* foi realizada. Essa informação permite não só se determinar a quantidade de óleo essencial necessária para que haja atividade antimicrobiana, mas também se estabelecer a relação entre a quantidade de partículas necessárias para alcançar uma concentração eficaz do óleo essencial. A Figura 31 mostra os resultados de CIM obtidos.

Para as diluições de óleo essencial de citronela nas colunas 1, 2 e 3, apresentaram coloração vermelha da linha C até a H e ausência de coloração nas linhas A e B. Esse resultado mostra que nas linhas A e B, com concentrações de 10000 e 5000 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, houve inibição do crescimento do microorganismo. Assim, a menor concentração que demonstrou atividade antimicrobiana, conhecida como CIM, foi de 5000 $\mu\text{g/mL}$, equivalente a 0,0005 mg de óleo essencial.

Figura 31 - Concentração inibitória mínima do óleo essencial de citronela



Fonte: A autora (2024).

Esse resultado é corroborado com os resultados apresentados por De Oliveira (2021), que obteve 5000 $\mu\text{g/mL}$, Zanotto *et al.* (2023) encontraram a CIM de 1000 $\mu\text{g/mL}$; Wibowo *et al.* (2018) obtiveram o resultado de 500 $\mu\text{g/mL}$. Essas variações são atribuídas às diferenças nos constituintes químicos dos óleos essenciais, influenciadas pela época de colheita, práticas de cultivo, métodos de extração e técnicas de produção (ANGANE *et al.*, 2022).

A coluna 6 é referente ao controle negativo do BHI frente à bactéria *Escherichia coli* e não apresentou crescimento bacteriano, confirmando assim a esterilidade da placa. Tanto na coluna 7 quanto na coluna 8, observou-se crescimento bacteriano conforme esperado, pois representam, respectivamente, o controle negativo do óleo e o controle positivo do inóculo.

5.2 INFLUÊNCIA DA RAZÃO ALGINATO/ÓLEO ESSENCIAL

As micropartículas foram produzidas com diferentes proporções de alginato e óleo essencial. Foram avaliadas a perda de massa e liberação de óleo essencial, visando se identificar a proporção de constituintes mais eficaz para a produção das micropartículas. Nesta etapa, a partícula a ser escolhida foi a que apresentou uma liberação controlada de óleo, isto é, menor variação da taxa de liberação de óleo ao longo do tempo, bem como uma análise dos parâmetros globais de formulação.

5.2.1 Perda de massa

A avaliação da perda de massa é importante para se determinar a estabilidade das partículas quando expostas às condições ambientais ao longo do tempo. Isso ocorre porque as partículas instáveis têm uma tendência a perder massa de forma rápida e significativa. Esse parâmetro é obtido por meio da análise dos materiais que são suscetíveis à evaporação para o ambiente durante o período de exposição das micropartículas, nesse caso o óleo essencial e a água. Os demais componentes da partícula não são substâncias com volatilidade significativa e, portanto, não foram consideradas no cálculo. A Figura 32 mostra a perda em massa total de cada amostra juntamente com o teor de água presente em cada formulação.

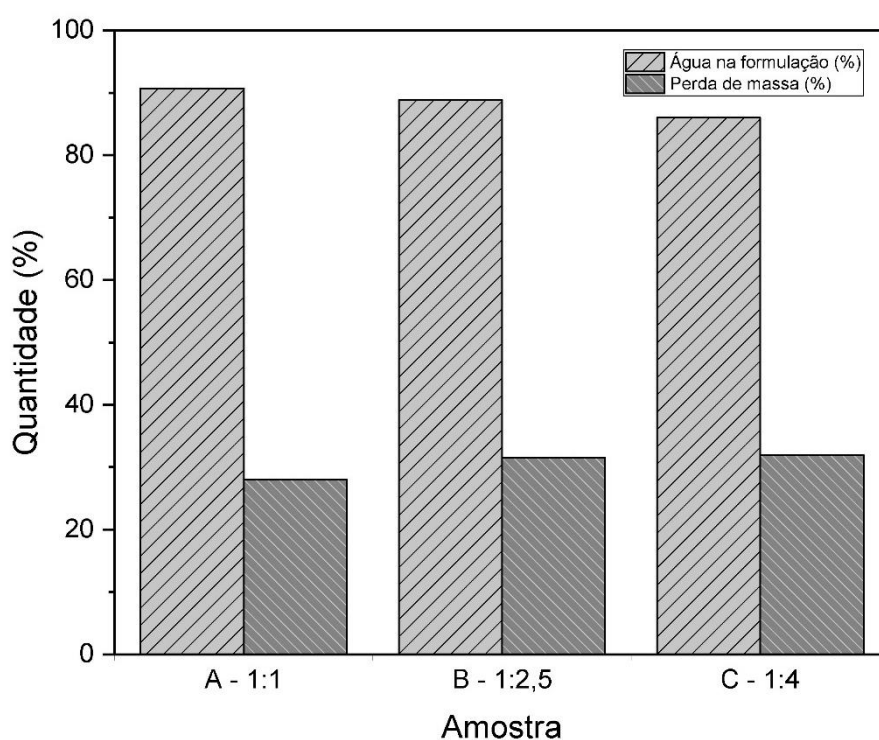
A presença da água nas micropartículas é significativamente maior em comparação com o óleo essencial. Enquanto o teor de óleo essencial é de 2,31%, 4,7% e 7,4% nas formulações A, B e C, respectivamente, o teor de água é de 90,7%, 88,82% e 86,02%. Portanto, é razoável inferir que a maior parte da perda de massa está diretamente relacionada à quantidade de água presente em cada formulação.

Pela análise dos resultados, observa-se que, para diferentes razões alginato/óleo essencial, não foram identificadas diferenças significativas na perda de massa entre as amostras, visto que foram de 28,06% para a amostra A, 31,49% para a amostra B e 31,96% para a amostra C. Além disso, a pequena variação no teor de água entre as amostras não influenciou de maneira substancial a quantidade de massa desprendida das partículas ao longo das 96 h de exposição ao ambiente. Isso sugere que a presença de biopolímeros, como o alginato, pode ter influenciado na retenção de água nas micropartículas, contribuindo para uma perda de massa similar em todas as formulações.

Esses resultados estão em conformidade com estudos anteriores, como o de Aguirre Calvo e Santagapita, (2016), que indicam que a presença de biopolímeros tende a reduzir a disponibilidade de água no meio. Como não houve variação na quantidade de biopolímero entre as amostras neste ensaio (todas foram 2%), o teor de água liberado para o ambiente foi semelhante em todas elas.

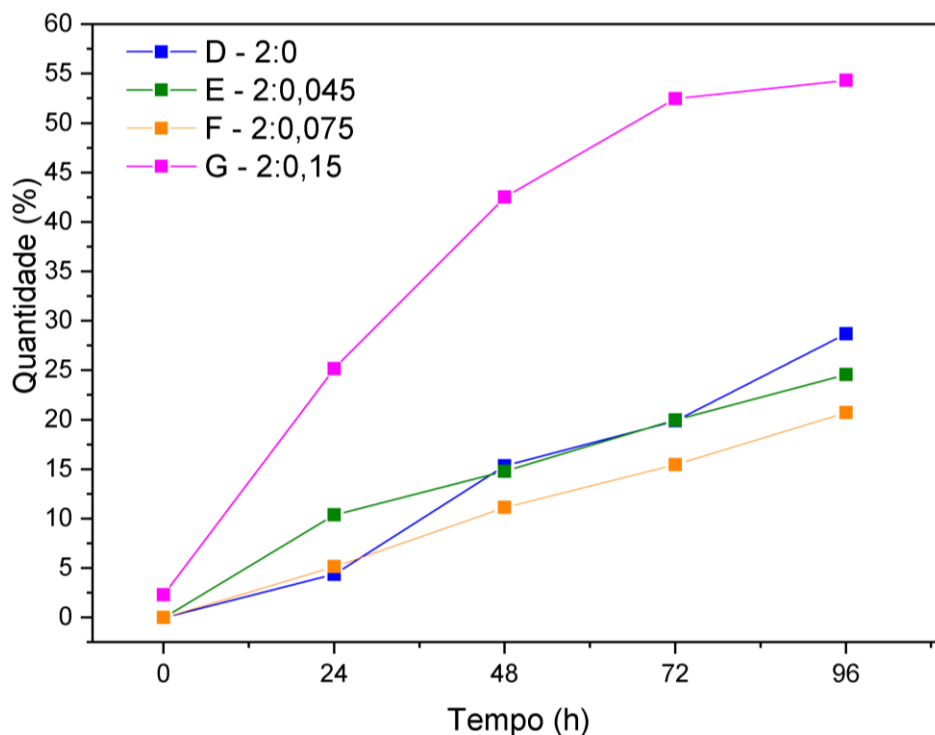
Essa informação está alinhada com o estudo realizado por Paris *et al.*, (2020), que investigaram a perda de massa de esferas contendo óleo essencial de canela encapsulado em alginato de sódio (1%) e cloreto de cálcio. Os resultados indicaram uma perda de massa em torno de 70% de água em 96 h de experimento. A alta quantidade de água perdida pode ser atribuída à menor concentração de alginato presente na formulação, evidenciando que o teor de 2% utilizado neste estudo é apropriado.

Figura 32 - Perda de massa e teor de água nas formulações



O perfil de perda de massa de todas as amostras é representado na Figura 33. As três amostras exibem um perfil quase linear, indicando uma liberação controlada e consistente ao longo do tempo. No entanto, a amostra A apresentou maior perda de massa em todos os tempos, indicando menor capacidade de armazenamento, enquanto a B e C apresentaram perda semelhante.

Figura 33 - Perda de massa cumulativa de massa das amostras A, B e C.

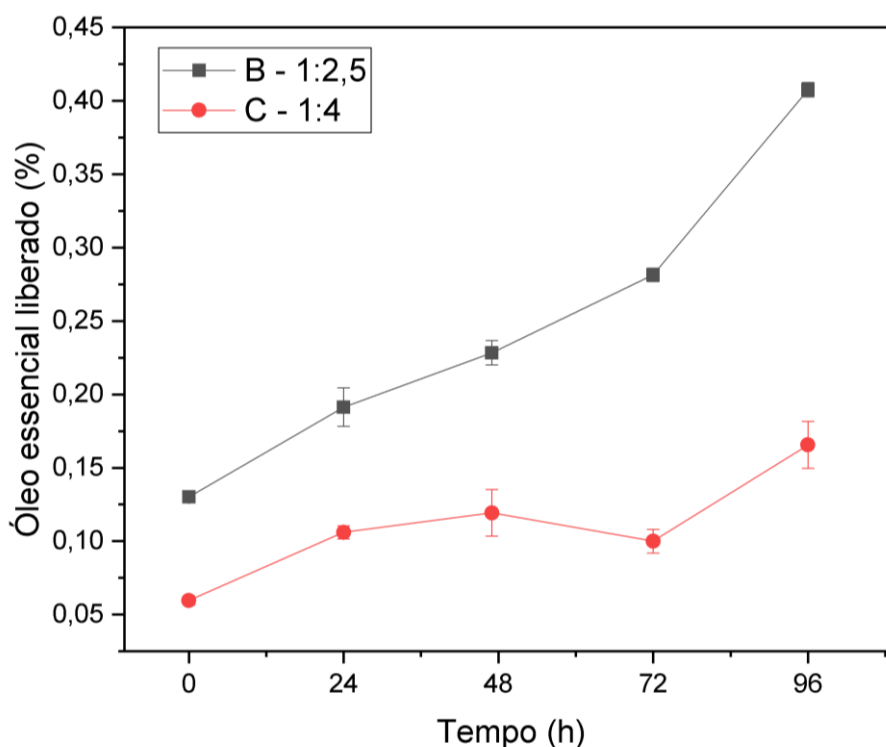


Fonte: A autora (2024).

5.2.2 Cinética de liberação de óleo essencial

A fim de se compreender o efeito do tempo na eficácia das micropartículas de alginato e hidroxiapatita contendo óleo essencial de citronela como agente antimicrobiano e repelente de mosquitos, a cinética de liberação do óleo foi avaliada. Embora seja reconhecido que a água é liberada durante o processo de liberação, é igualmente importante se investigar se há variação na quantidade de óleo liberada de acordo com a formulação. A quantidade de óleo liberada nos respectivos intervalos foi de extrema importância para se definir a relação ideal entre o componente ativo e o alginato, influenciando diretamente na eficácia das micropartículas. A cinética de liberação do óleo essencial foi realizada em acetona e é apresentada na Figura 34.

Figura 34 - Cinética de liberação do óleo essencial- amostras B e C



Fonte: A autora (2024).

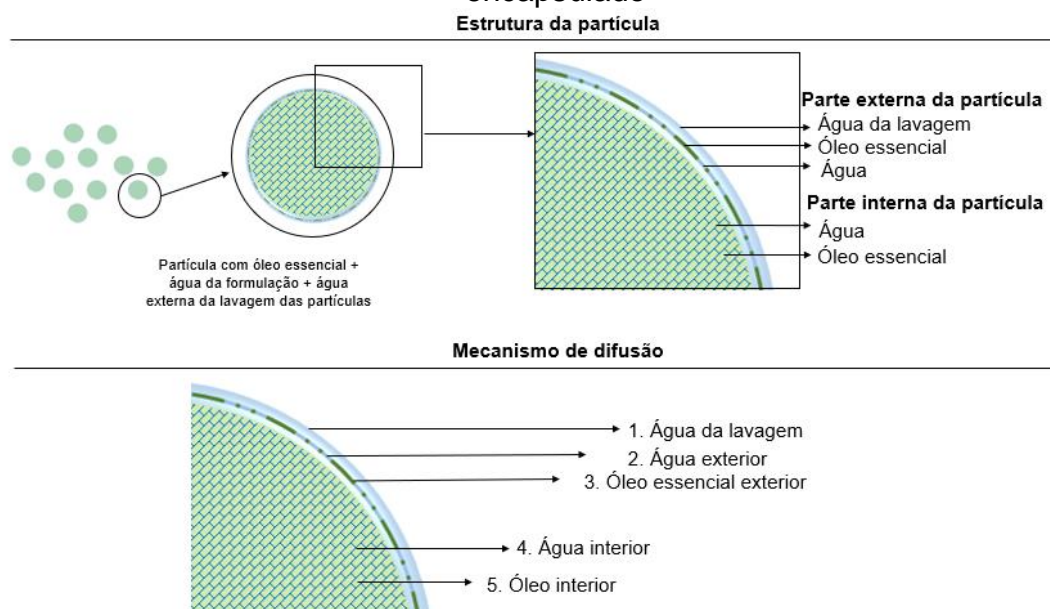
A massa de óleo essencial teórica máxima encapsulada para cada amostra é de 18,4 mg para a amostra A, 37,6 mg para a amostra B e 60,8 mg para a amostra C. Essas quantidades foram obtidas a partir do produto da massa de esferas usadas nos ensaios e do teor de óleo essencial usado na preparação da amostra.

A amostra A, com a relação 1:1 alginato/óleo, apresentou resultados de liberação de óleo essencial abaixo do limite de detecção da curva de calibração em 96 h de exposição à solução de acetona e, por esse motivo, a curva não é apresentada na Figura 34. A quantidade de óleo presente nas amostras é muito pequena, de forma que não foi possível identificar a quantidade liberada. A amostra A, portanto, se mostra inadequada para o uso em situações em que há necessidade de uma liberação controlada do óleo essencial.

Por outro lado, tanto a amostra B (com relação de 1:2,5 alginato/óleo) quanto a amostra C (com relação de 1:4 alginato/óleo) demonstraram uma liberação progressiva de óleo ao longo do tempo. Esse resultado se deve por

conta do mecanismo de difusão que promove a liberação do óleo essencial da partícula espontaneamente. Devido ao gradiente de concentração do óleo essencial e de água, existentes na fase sólida (partícula), e a solução de acetona, que está inicialmente isenta desses dois componentes, ocorre a difusão dessas substâncias ao longo da partícula para o exterior. Uma ilustração desse mecanismo é apresentada na Figura 35.

Figura 35 - Mecanismo de difusão da partícula de óleo essencial encapsulado



Fonte: A autora (2024).

Quando formada, a micropartícula contém internamente uma mistura de óleo essencial e água, enquanto externamente também apresenta uma combinação de óleo essencial e água. Parte dessa água é proveniente do processo de lavagem das partículas. Nas primeiras horas de exposição, a água da lavagem (1) é preferencialmente liberada para a acetona. Posteriormente, a água proveniente da formulação da superfície (2) é liberada, seguida pelo óleo presente na superfície (3). Por fim, a água interna é difundida pelos poros (4), enquanto o óleo é difundido com maior concentração nos estágios posteriores, quando ocorre a diminuição da quantidade de água dentro da partícula (5).

A liberação da água é preferencial nesse processo pela mobilidade da molécula. Segundo a lei de Fick, mostrada na equação 4, a velocidade de

difusão ($\frac{dQ}{dt}$) é proporcional ao gradiente de concentração da substância que se difunde ($\frac{dC}{dx}$) bem como o coeficiente de difusão (D), este que está relacionada a facilidade de a molécula se locomover e difundir (CREMASCO, 2019).

$$\frac{dQ}{dt} = -D \frac{dC}{dx} \quad (4)$$

O tamanho da molécula de água é de 2,8 Å, enquanto do óleo essencial é de 10 Å (D'ARRIGO, 1978; LINS *et al.*, 2019). Isto significa que a água, por ter menor tamanho e conseqüentemente, maior mobilidade, tende a difundir mais rapidamente pela partícula em comparação com o óleo essencial.

Processo similar foi descrito por Manadas *et al.*, (2002). Nele, a água da partícula difunde-se para a membrana externa e o fármaco dissolve-se e finalmente, difunde-se para fora do polímero.

A amostra C mantida em solução por 72 h apresentou uma concentração ligeiramente inferior de óleo essencial em acetona do que a amostra de 48 h. Isso indica que pode haver uma distribuição de óleo essencial na composição das partículas, visto que a massa de óleo liberada não aumentou de forma controlada e progressiva. Durante a produção dessas partículas, foi observado que ocorria diversas vezes a obstrução da seringa dosadora pela emulsão, o que dificultou a produção de partículas uniformes e esféricas. Esse problema pode indicar uma formação ineficiente de emulsão e a possível formação de micelas devido ao processo de emulsionamento, causado por uma agitação ineficiente, ou também excessiva quantidade de óleo presente, que pode ter excedido a concentração micelar crítica do tensoativo utilizado (LEITE DE MORAES; OLÍMPIA; REZENDE, 2004).

A viscosidade pode influenciar a liberação do óleo essencial, uma vez que o aumento da viscosidade da emulsão dificulta a circulação no interior das gotas, resultando em uma rápida formação da parede da micropartícula. Assim, o excesso de óleo essencial compromete o teor ideal de sólidos, afetando também a viscosidade da emulsão.

A partir dos dados obtidos, optou-se pela razão 1:2,5 alginato/óleo para os ensaios posteriores, visando otimizar a liberação controlada do óleo essencial e garantir a eficácia das micropartículas para aplicações futuras.

5.3 INFLUÊNCIA DA RAZÃO ALGINATO/HIDROXIAPATITA

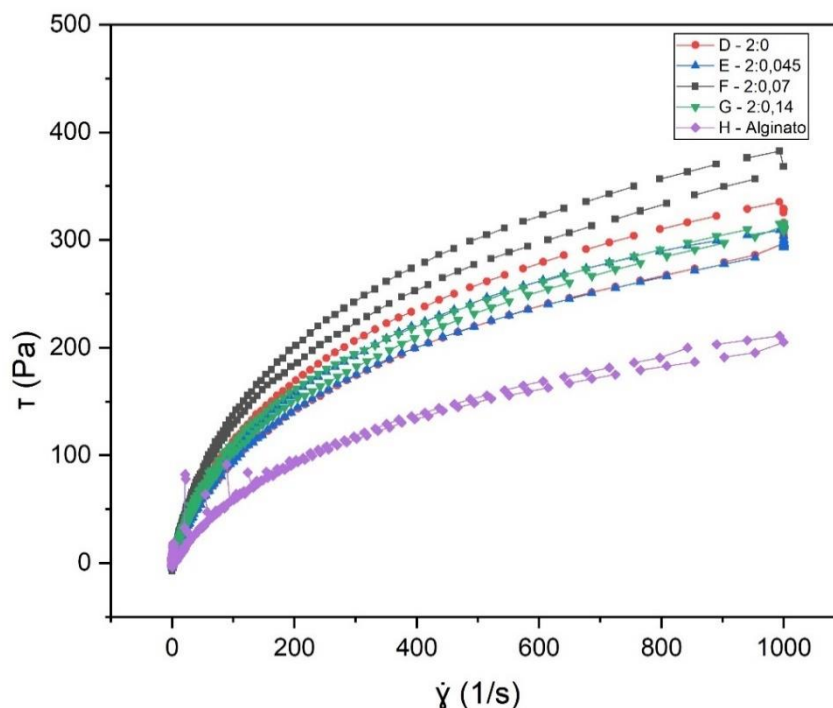
A introdução da hidroxiapatita na emulsão representa a incorporação de sólidos à matriz, o que pode ter implicações significativas na reologia do sistema. A adição de sólidos, como a hidroxiapatita, pode alterar a viscosidade e a tixotropia da emulsão, influenciando diretamente na sua aplicabilidade prática. Compreender como a razão desses sólidos impacta nas propriedades reológicas é crucial para garantir a estabilidade da emulsão, controlar a liberação de componentes ativos e otimizar o processo de obtenção das partículas. As curvas de fluxo para as amostras analisadas são mostradas na Figura 36.

De forma geral, pela observação das curvas de fluxo, percebe-se que não há sinais de aglomeração das partículas de hidroxiapatita ou de alginato. Isso sugere que a dispersão com ultrassom e agitação magnética foram eficazes para desfazer aglomerados fracos entre as partículas.

A amostra contendo apenas alginato é a que possui a menor resistência ao escoamento, como esperado, já que a inserção de partículas em um sistema como este tende a aumentar a resistência ao escoamento, principalmente para altas taxas de cisalhamento (JAFARI *et al.*, 2008; MENDES DA SILVA; LINS SILVA JR; MACÁRIO PINTO JR, 2019).

Pela análise das curvas, pode-se verificar que todas as emulsões estudadas apresentaram comportamento pseudoplástico, isto é, a viscosidade diminui conforme o fluido se deforma. Além disto, todas apresentaram tixotropia. De acordo com Corrêa *et al.* (2005), a obtenção de emulsões com caráter tixotrópico é vantajosa, pois elas se tornam mais fluidas ao longo do tempo, evitando que o produto escorra e facilitando a aplicação. Neste caso particular, esse comportamento auxilia no processo de encapsulamento das partículas, permitindo que mantenham sua forma após o gotejamento no agente reticulante.

Figura 36 - Curvas de escoamento amostras analisadas

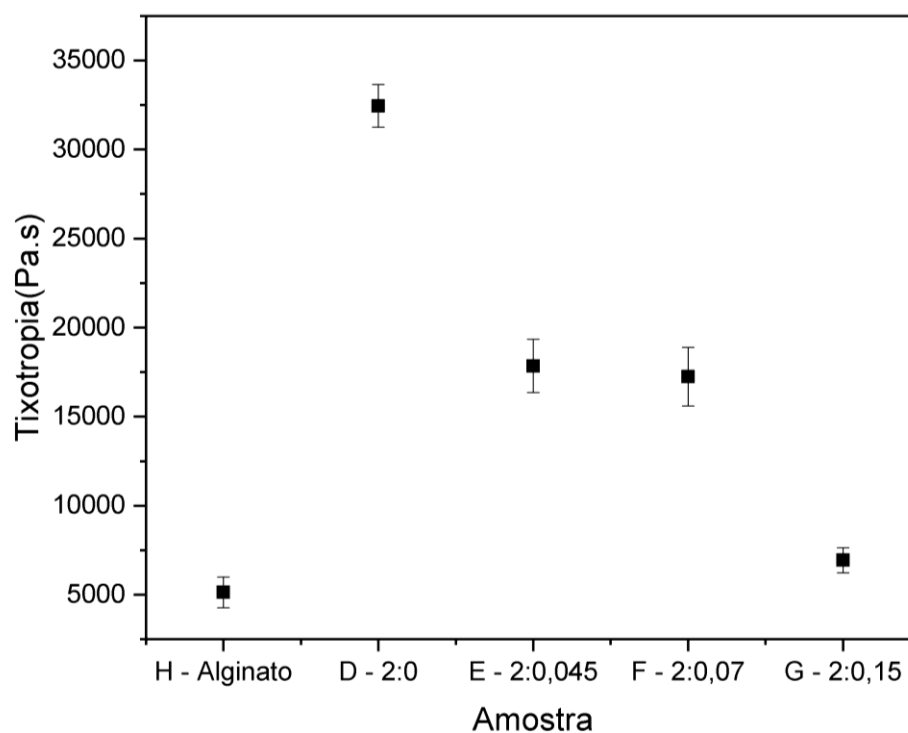


Fonte: A autora (2024).

Os valores de tixotropia de cada amostra é apresentada na Figura 37. É possível perceber que a amostra sem hidroxiapatita possui maior tixotropia entre todas as amostras analisadas, com valor de 32450 Pa.s, e o aumento da concentração da hidroxiapatita implica na redução da tixotropia. A amostra com maior quantidade de HA possui tixotropia semelhante à amostra somente com alginato, ou sejam, ambas apresentam maior tendência ao escorrimento.

Contudo, além da tixotropia, a viscosidade também desempenha um papel muito importante no processamento das partículas, afetando a estabilidade da emulsão ao longo do tempo, especialmente considerando a presença de sólidos como a hidroxiapatita.

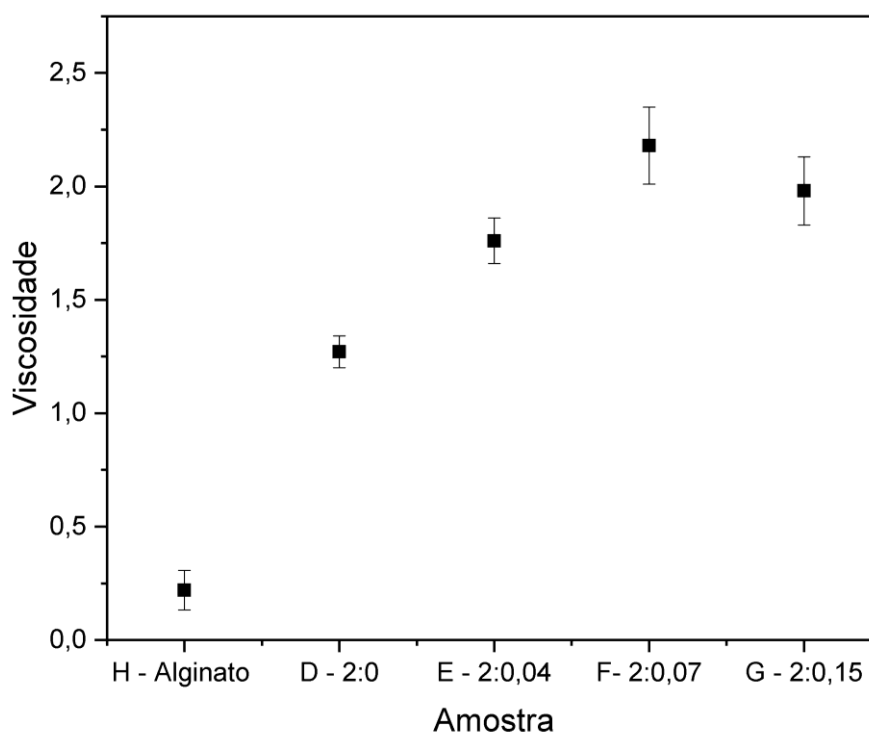
Figura 37 - Tixotropia das emulsões



Fonte: A autora (2024).

A Figura 38 apresenta os valores de viscosidade obtidos durante o processo de gotejamento das micropartículas. Esses valores foram determinados na mesma taxa de cisalhamento utilizada durante o gotejamento na seringa, refletindo as condições reais do processo de fabricação das micropartículas.

Figura 38 - Viscosidade das amostras



Fonte: A autora (2024).

É possível observar que o aumento da quantidade de hidroxiapatita implica no aumento da viscosidade, o que corrobora com a teoria de Jafari *et al.* (2008), em que o aumento do teor de sólidos aumenta a viscosidade do fluido. Isso é interessante, já que aumento da viscosidade da emulsão, impede o movimento de circulação no interior das gotas e, com isso, resulta em uma rápida formação da parede da micropartícula.

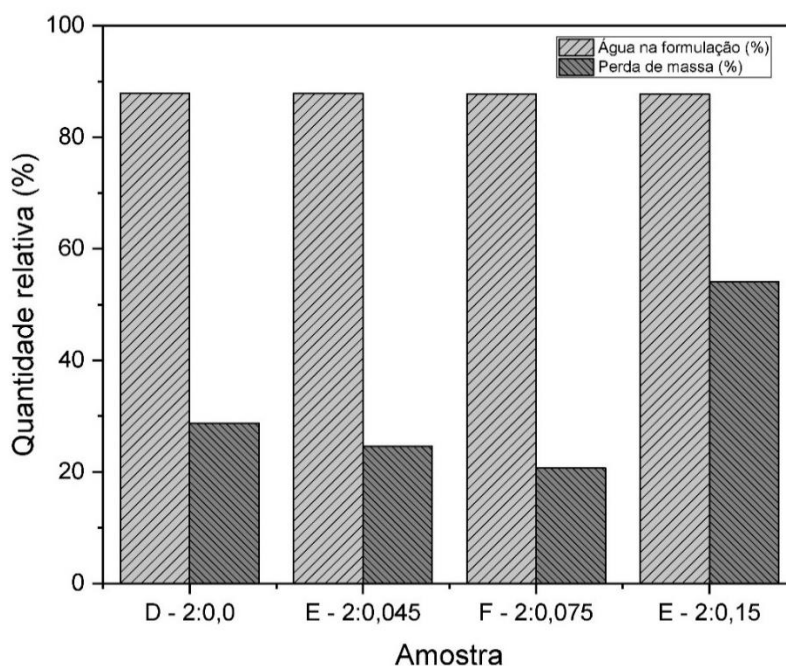
Entretanto, é importante destacar que a amostra com a maior concentração de HA (amostra G) apresentou uma redução na viscosidade em relação às amostras com menor teor de HA. Essa observação sugere a existência de um ponto de saturação, além do qual o aumento do teor de sólidos pode comprometer a estabilidade da emulsão e afetar negativamente o processo de encapsulamento. Esse fenômeno pode ser atribuído a uma possível fluidez excessiva do material de parede, que pode resultar em uma distribuição não uniforme dos componentes ativos durante a formação das microesferas, (ACHARYA *et al.*, 2021; REINECCIUS; BANGS, 1985).

Com esse resultado, a amostra F é a mais adequada para o processo de gotejamento de partículas, apresentando a viscosidade ideal para garantir a formação estável de micropartículas encapsuladas.

5.3.1 Perda de massa

A perda de massa está relacionada à perda de água e óleo essencial para o ambiente. A velocidade com que massa de óleo essencial e água é perdida é resultado da estrutura da partícula e da sua capacidade de manter o material por mais tempo. A representação da perda de massa de cada amostra é apresentada na Figura 39, juntamente com o teor de água em cada uma delas. O teor de água é o mesmo em todas as amostras, mas há variação de perda de massa, o que indica que perda de massa não está relacionada a esse parâmetro. A perda de massa nas amostras D, E e F demonstrou similaridade, 28,71, 24,57% e 20,72%, respectivamente. Notavelmente, a amostra F apresentou a menor perda. Por outro lado, a amostra G, com a maior concentração de hidroxiapatita, revelou a maior perda cumulativa de massa, atingindo valor de 54% do valor total. Este resultado sugere que a capacidade de liberação controlada dessa amostra é inadequada em comparação com as demais amostras.

Figura 39 - Perda de massa e teor de água nas formulações

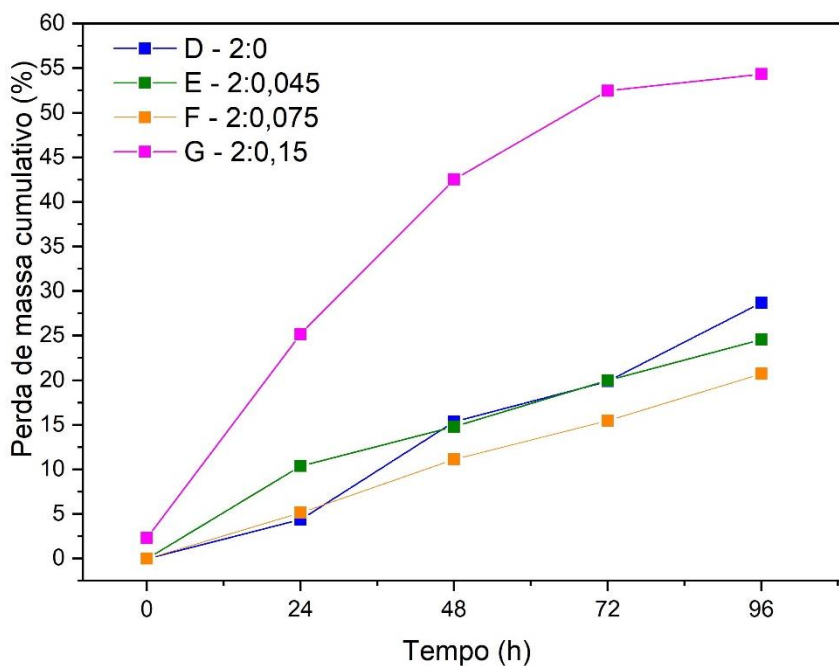


Fonte: A autora (2024)

O perfil de perda de massa de todas as amostras é representado na Figura 40. A amostra F exibe um perfil quase linear, indicando uma liberação controlada e consistente ao longo do tempo. Por outro lado, a amostra E demonstra uma liberação inicial elevada seguida por uma taxa mais constante. A amostra D apresenta um perfil variável, com oscilações na perda de massa ao longo do tempo. Quanto à amostra G, observa-se uma liberação inicial mais intensa, seguida de uma diminuição gradual, com uma inclinação mais acentuada no início da curva, destacando-se como a amostra com maior perda de massa.

Essa perda excessiva da amostra G é corroborada pelo resultado obtido na análise reológica das emulsões; ela excedeu a capacidade de dispersão do material de parede. Isso impactou na eficácia do encapsulamento e, conseqüentemente, à capacidade da amostra de armazenar o óleo essencial e a água de composição por mais tempo.

Figura 40 - Perda de massa cumulativa de massa das amostras (a) D, (b) E, (c) F e (d) G



Fonte: A autora (2024)

5.3.2. Porosidade e densidade

A porosidade das micropartículas está diretamente relacionada à sua capacidade de retenção de líquidos, incluindo o óleo essencial encapsulado. Partículas mais porosas tendem a ter uma maior área superficial disponível para a interação com o meio ambiente e, portanto, podem apresentar uma liberação mais eficiente dos compostos ativos. Além disso, a porosidade também afeta a taxa de difusão dos componentes encapsulados, podendo influenciar no perfil de liberação ao longo do tempo. A densidade real e porosidade das partículas secas foi analisada e os resultados são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Densidade e porosidade das amostras D, E, F e G

Amostra	Densidade real (g/cm ³)	Densidade aparente (g/cm ³)	Volume médio (cm ³)	Variância percentual	Porosidade (%)
2:0 - D	1,5606	0,7981	0,821	0,0412	20,19
2:0,045 - E	1,5761	0,7788	0,756	0,2382	22,12
2:0,07 - F	1,5402	0,7686	0,885	0,1901	23,14
2:0,14 - G	1,5302	0,6893	0,923	0,267	31,17

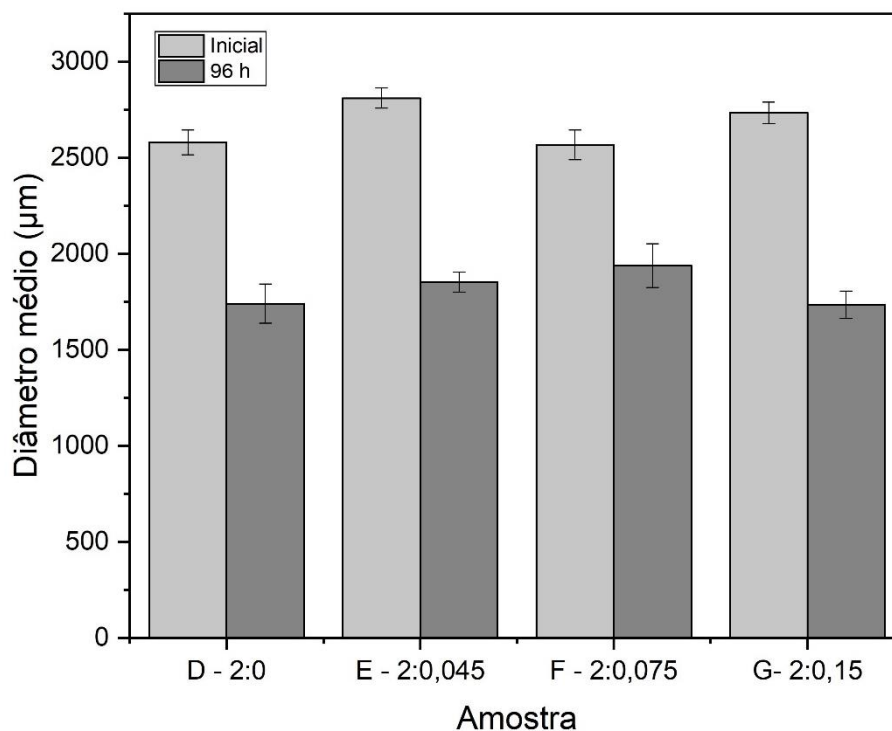
É possível verificar que a adição de hidroxiapatita não apresentou influência quanto a densidade das partículas. As amostras D, E, F e G apresentaram porosidades de 20,19%, 22,12%, 23,14% e 31,17%, respectivamente, o aumento da concentração de hidroxiapatita resultou em um aumento da porosidade. Esses resultados diferem de resultados obtidos em estudo anterior. Niero; Arcaro, (2022) obtiveram porcentagens de porosidade entre 69% e 78%; no entanto, esse valor foi alcançado utilizando uma proporção de alginato/hidroxiapatita de 1:15, e não havia óleo essencial na formulação.

5.3.3 Morfologia e distribuição de tamanho

As micropartículas produzidas com o objetivo de liberação controlada de óleo essencial representam uma importante abordagem para aplicações ao ar livre, visando eficácia contra vetores e agentes patogênicos. Entretanto, para uma caracterização completa e aprofundada dessas partículas, é essencial avaliar não apenas suas propriedades imediatamente após a formulação, mas também como elas se comportam ao longo do tempo, especialmente em condições ambientais adversas. Para isso, foram realizadas análises após 96 h de exposição ao ambiente, período durante o qual foi avaliada a redução de volume dessas partículas. No entanto, para uma análise mais detalhada, torna-se necessário secar essas partículas, removendo completamente a água e o óleo encapsulado.

Inicialmente, a análise do diâmetro das partículas das amostras D, E, F e G, foi conduzida após a formulação e após 96 h de exposição, com os resultados apresentados na Figura 41.

Figura 41 - Diâmetro médio das partículas, inicial e após 96 h

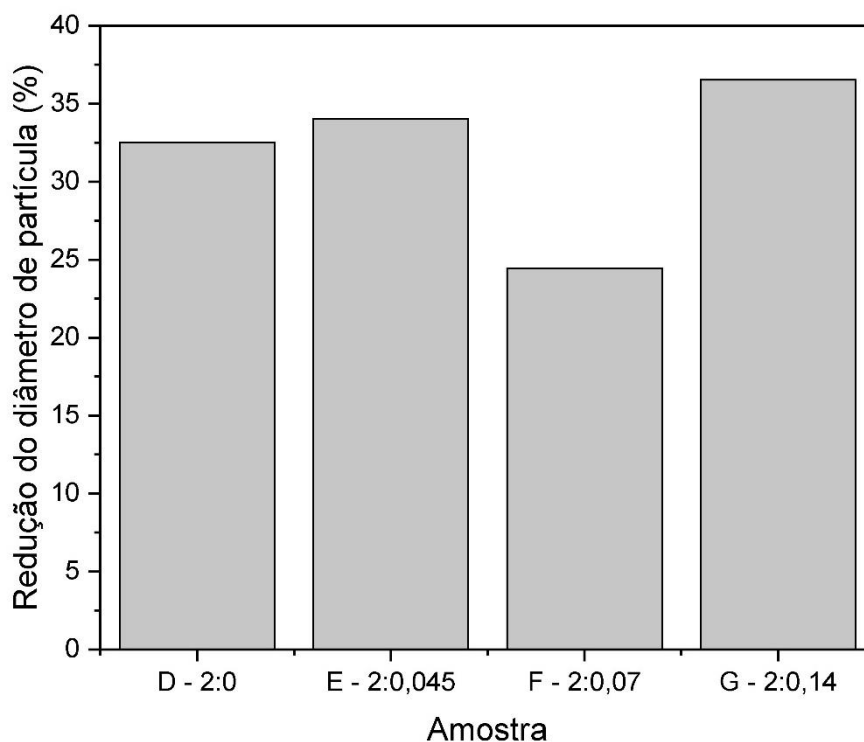


Fonte: A autora (2024).

Observa-se que as partículas apresentam diâmetro variando de 2567 a 2810 μm , indicando que pertencem ao grupo de micropartículas, uma vez que seus tamanhos estão dentro da faixa de 0,2 a 5000 μm (MONTEIRO; AZEREDO, 2005).

Com relação aos diâmetros iniciais, a amostra F registrou o menor diâmetro logo após a preparação, medindo $2567 \pm 77 \mu\text{m}$. Isso pode ser atribuído à maior viscosidade da emulsão, facilitando uma formação mais eficiente das partículas. Por outro lado, a amostra E apresentou o maior diâmetro médio, com tamanho de $2810 \pm 52 \mu\text{m}$, indicando uma formação de partículas menos eficiente devido à sua menor viscosidade em comparação com a amostra F. A redução no diâmetro após 96 h é ilustrado na Figura 42.

Figura 42 - Redução do diâmetro das partículas após 96 h



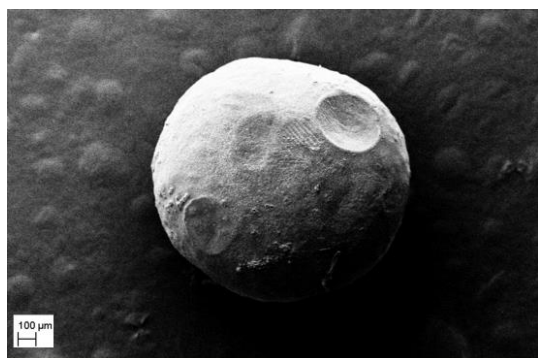
Fonte: A autora (2024)

Todas as amostras demonstraram uma redução no tamanho após 96 h de exposição, atribuível à perda de massa de cada uma delas. A redução no diâmetro das amostras ficou na faixa de 30% para as amostras D, E e G. Destaca-se a amostra F, que exibiu o menor diâmetro médio inicial após a preparação e, após 96 h de exposição, apresentou redução menor, atingindo 23,6%. Este resultado é consistente com a perda de massa das amostras, conforme discutido na seção 5.3.1. pois a amostra F foi a que experimentou a menor perda.

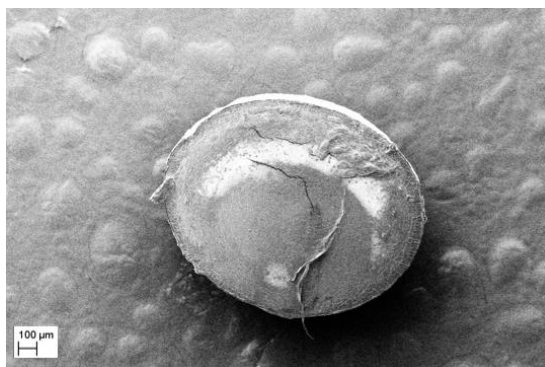
Então, para uma análise mais detalhada, as micropartículas foram submetidas a dois métodos de secagem distintos: liofilização e secagem em dessecador. Esses métodos permitem a remoção completa da água e do óleo encapsulado, preparando as partículas para análises morfológicas e de distribuição de tamanho mais precisas. As análises em MEV foram realizadas com o objetivo de avaliar a morfologia e microestrutura das partículas. Na

Figuras 43, 44, 45 e 46, são apresentadas as micrografias da amostra D, E, F e G, respectivamente..

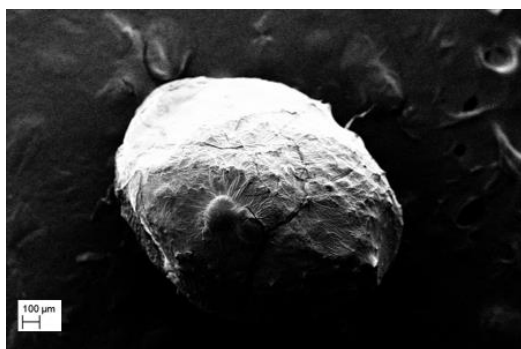
Figura 43 - Micrografias da amostra D, com ampliação de 100x, após secagem em estufa: (a) partícula inteira e (b) partícula cortada; e após secagem por liofilização: (c) partícula inteira e (d) partícula cortada.



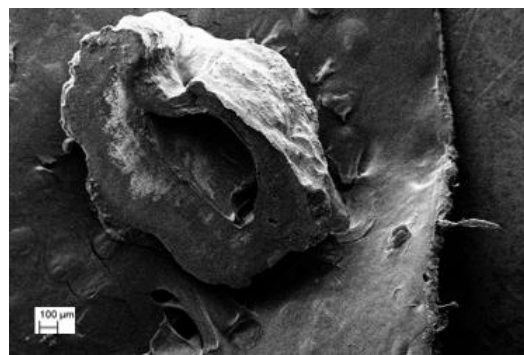
(a)



(b)



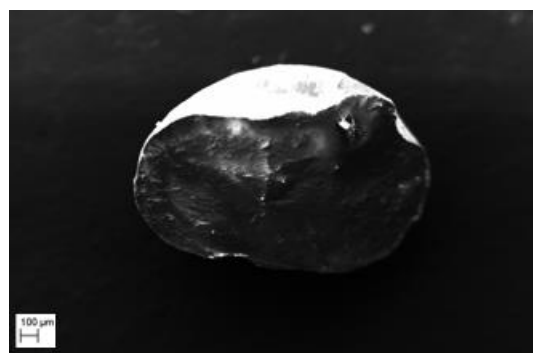
(c)

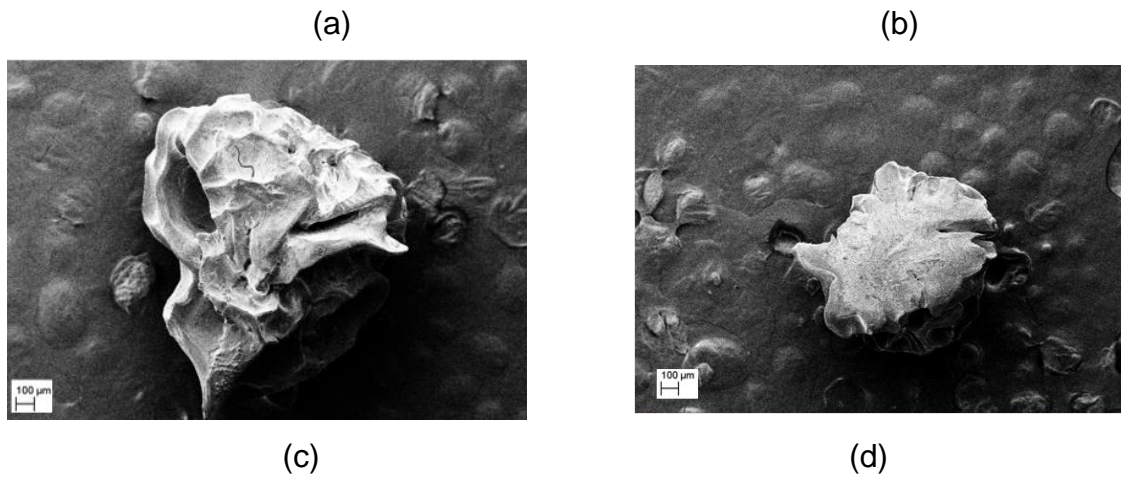


(d)

Fonte: A autora (2024).

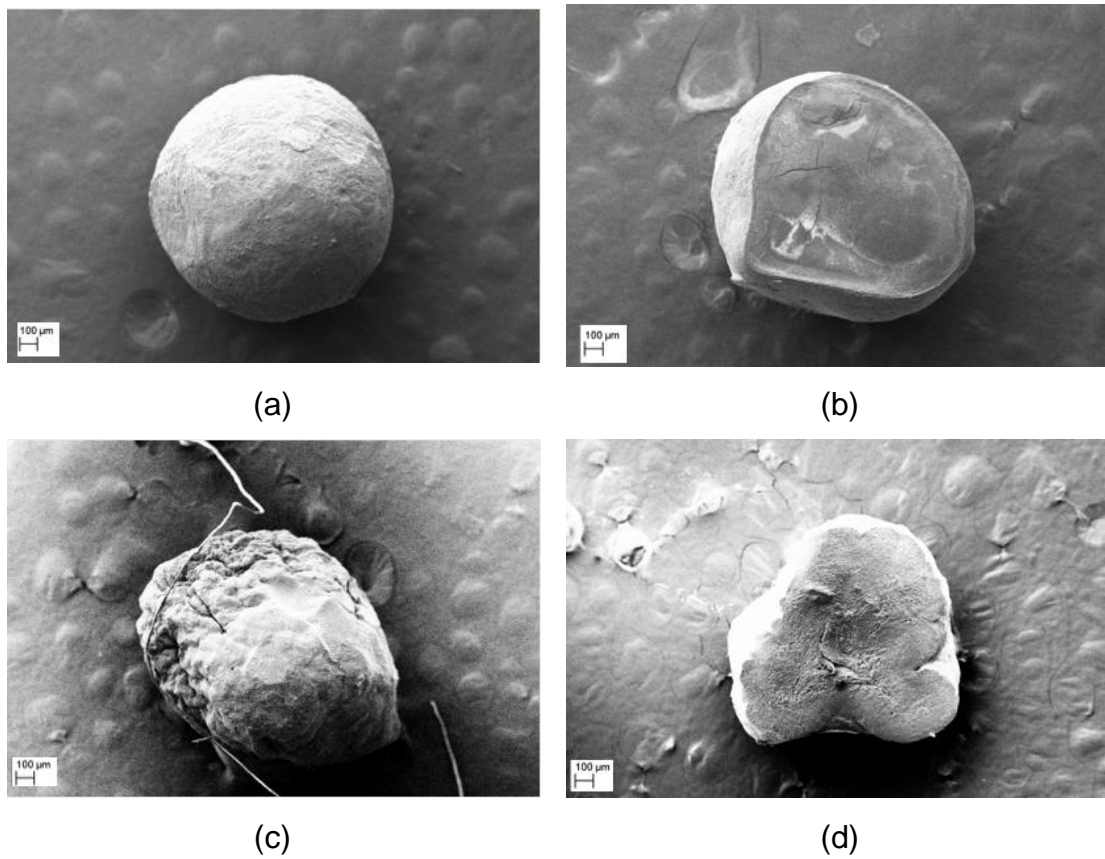
Figura 44 - Microscopias da morfologia obtidas por MEV das amostra E em 100x (a) Secagem estufa (b) secagem estufa – meia partícula, (c) secagem por liofilização e (d) secagem por liofilização – meia partícula





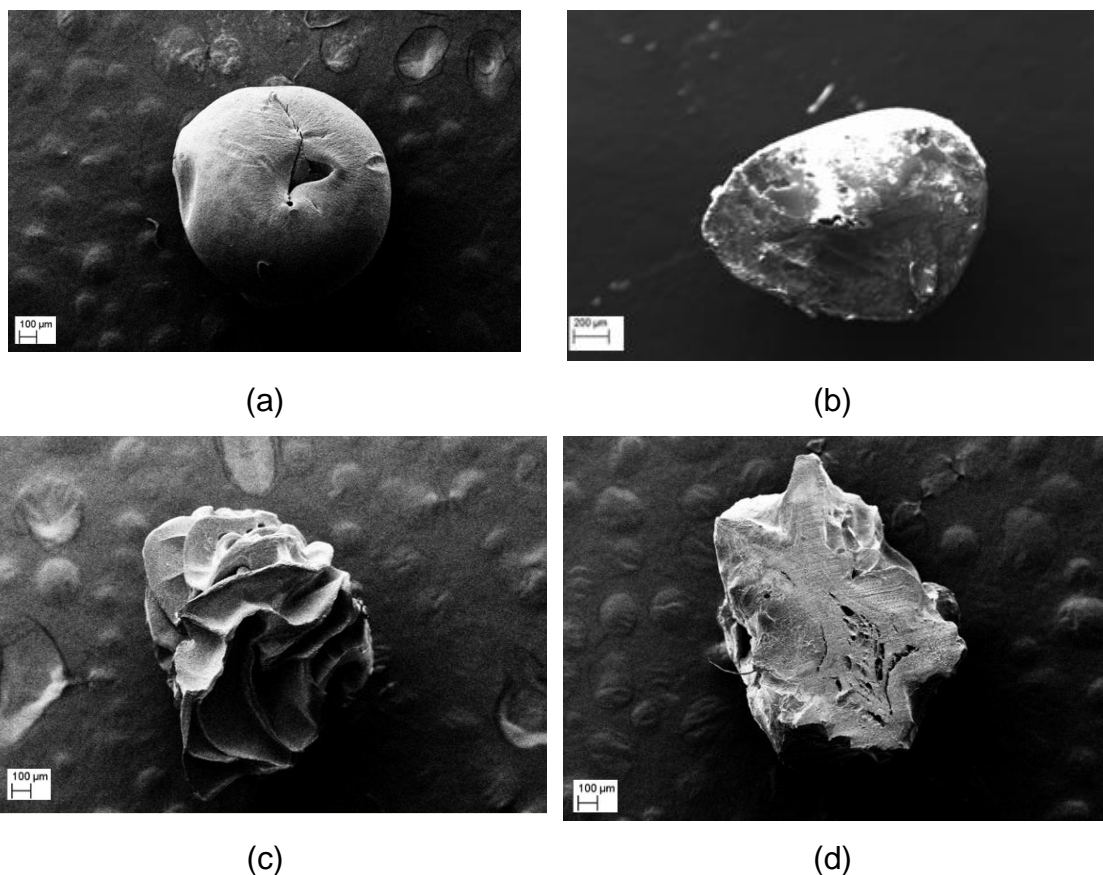
Fonte: A autora (2024)

Figura 45 - Microscopias da morfologia obtidas por MEV das amostra F em 100x (a) Secagem estufa (b) secagem estufa – meia partícula, (c) secagem por liofilização e (d) secagem por liofilização – meia partícula



Fonte: A autora (2024).

Figura 46 - Micrografias da morfologia obtidas por MEV das amostra G em 100x (a) Secagem estufa (b) secagem estufa – meia partícula, (c) secagem por liofilização e (d) secagem por liofilização – meia partícula



Fonte: A autora (2024)

Na análise da amostra D, observa-se que as amostras secas em estufa exibem uma superfície menos rugosa. Ao se analisar a superfície cortada da amostra, constata-se que se trata de uma estrutura semelhante a uma microesfera, evidenciada pela sua estrutura interna maciça. Em contraste, a amostra liofilizada apresenta uma superfície porosa e uma característica interna de cápsula, com a presença de uma cavidade vazia, anteriormente preenchida pela água e óleo, que foram retirados durante o processo de secagem.

Essas observações indicam que a partícula seca ao ar livre passa por uma difusão progressiva, resultando em uma estrutura interna maciça ao longo do tempo. Por outro lado, o processo de liofilização, onde ocorre a sublimação dos componentes líquidos, deixa a partícula com a característica de cápsula devido à sua rápida desidratação. Essa análise morfológica fornece *insights* valiosos

sobre os efeitos dos métodos de secagem na estrutura e propriedades das micropartículas.

A análise morfológica da amostra E, submetida à secagem em estufa, revela uma estrutura superficial mais rugosa em comparação com a amostra D, evidenciando o efeito da adição de hidroxiapatita. Ao se examinar a metade da partícula, observa-se que a amostra também possui uma estrutura semelhante a de microesfera. No contexto da liofilização, observa-se um aumento na rugosidade da superfície da partícula. Devido à rápida evaporação durante esse processo, há uma propensão à formação de interstícios na estrutura, que pode ser identificada na partícula como um todo. No corte da partícula, verifica-se que, apesar da superfície rugosa, a estrutura interna permanece maciça. Esse fenômeno mostra que a adição de hidroxiapatita à partícula favorece a formação de partículas mais regulares, mesmo quando a superfície apresenta maior rugosidade devido à liofilização.

A análise das micrografias da amostra F revela que a amostra exibe as mesmas características fundamentais da amostra E, apresentando uma estrutura maciça quando submetida à secagem em estufa. Além disso, evidencia-se uma maior rugosidade na amostra liofilizada, que, no entanto, também apresenta um aspecto maciço na quanto cortada ao meio e um aspecto menos regular.

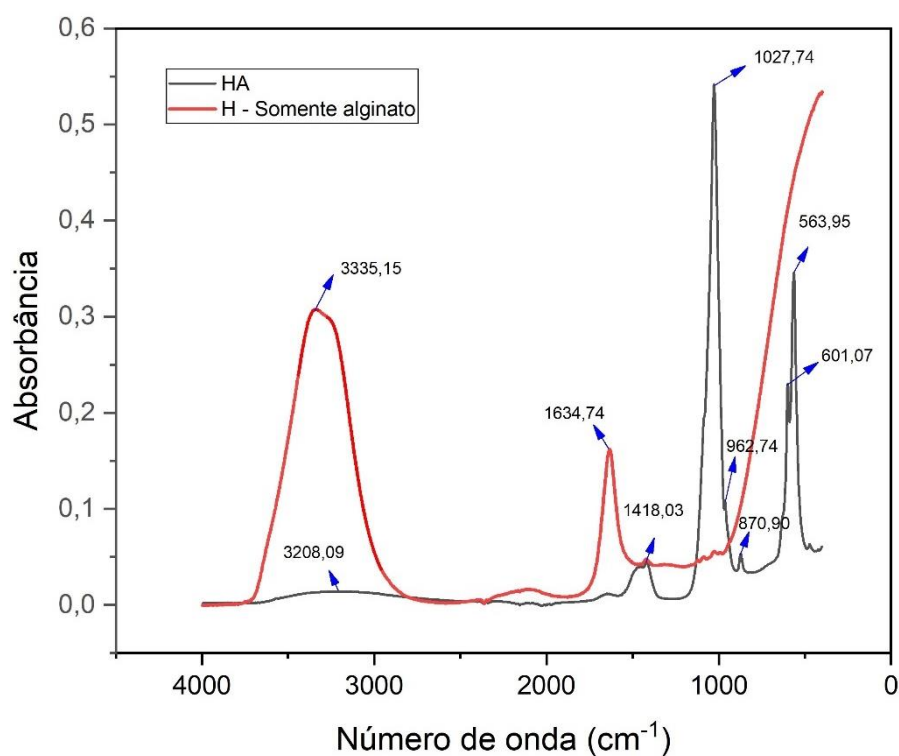
As micrografias da amostra G mostram que a amostra seca em estufa exibe um aspecto rugoso, com a parte interna da partícula sendo maciça e mais porosa que as amostras anteriores. Quando a amostra é liofilizada, a superfície exibe uma elevada rugosidade, enquanto a parte interna é maciça, com a presença de algumas cavidades. O aumento do teor de hidroxiapatita transforma a partícula em uma esfera; no entanto, nesse caso, os vãos existentes são atribuídos à dispersibilidade ineficiente do material de parede, resultante do excesso de sólidos na formulação.

Com base nos resultados da análise morfológica, sugere-se que a liofilização não seria a técnica ideal de secagem para essa aplicação, pois resulta na evaporação completa tanto da água quanto do óleo.

5.3.4 Análise dos grupos funcionais

A Figura 47 mostra o espectro de FTIR da amostra de hidroxiapatita (HA) e da amostra H - somente alginato e água, permitindo identificar as bandas de ligação entre os elementos. O espectro de FTIR da hidroxiapatita apresentou bandas correspondentes aos grupos funcionais fosfatos, nas bandas de 500 a 1100 cm^{-1} , hidroxilas e carbonatos, que compõem a HA.

Figura 47 - Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) Hidroxiapatita e da amostra H (somente alginato)



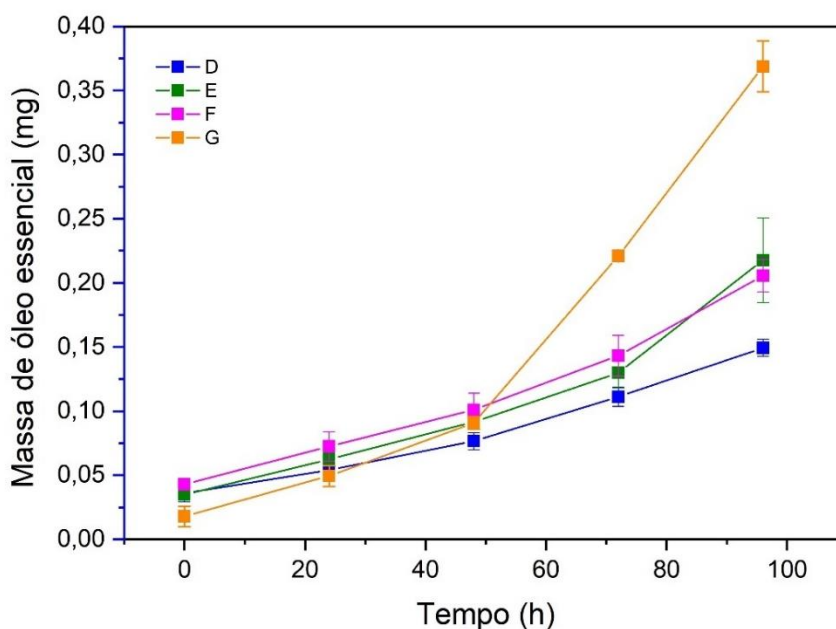
Fonte: A autora (2024)

Na banda de 3208 cm^{-1} , é possível identificar a presença de pontes de hidrogênio. Em 1418,03 cm^{-1} , observa-se a banda correspondente ao grupamento CO_3^{2-} . No espectrograma, também se constata os picos nas bandas 1027,74 e 962,64 cm^{-1} , além de outros picos entre as bandas de 500 a 900 cm^{-1} , que representam os agrupamentos (PO_4) (LOPES; FASCIO, 2004; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005).

5.3.5 Liberação de óleo essencial

A cinética de liberação do óleo essencial para as amostras D, E, F e G é apresentada na Figura 48. Observa-se que o perfil de liberação de todas as amostras é muito similar até 48 h, com o aumento na concentração de hidroxiapatita diretamente associado ao aumento progressivo da quantidade de óleo essencial liberada. Após 72 h, contudo, nota-se uma mudança nos padrões de liberação. A amostra E e a amostra F apresentam taxas de liberação semelhantes, enquanto a amostra G demonstra uma liberação significativamente maior de óleo, alcançando 0,36 mg, que corresponde a 0,88% do valor total teórico de óleo essencial na amostra. Em comparação, as amostras E e F tiveram 0,22 mg e 0,14 mg liberados. A amostra D teve o menor resultado de liberação, com 0,15 mg em 96 h, correspondendo a 0,57% do valor total que poderia ser liberado nesse período.

Figura 48 - Cinética de liberação do óleo essencial de citronela em acetona para as amostras D, E, F e G em função do tempo.



Fonte: A autora (2024).

Ao analisar o perfil de liberação, destaca-se que a amostra G não demonstrou eficiência para aplicação em liberação controlada, devido à liberação inicial limitada e subsequente liberação excessiva, sugerindo um

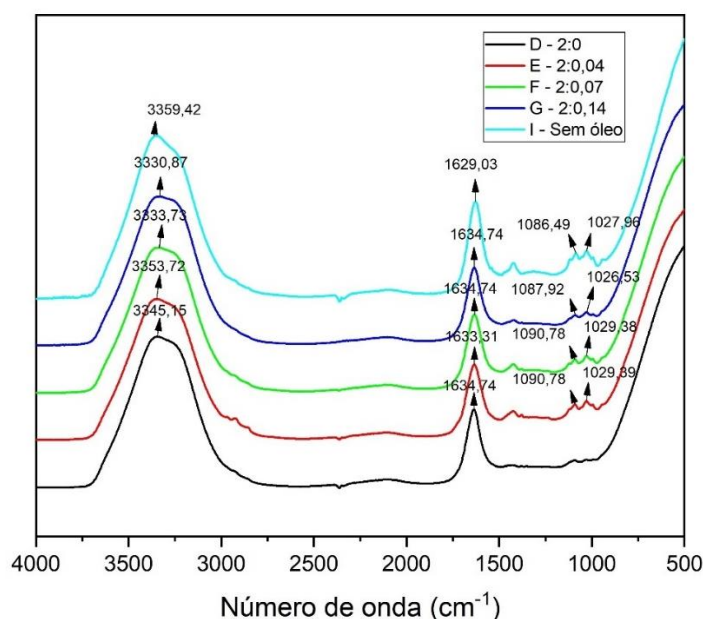
padrão de liberação não linear, ou seja, com taxas de liberação dependentes do tempo. Por outro lado, as amostras D, E e F apresentaram perfis de liberação semelhantes quase lineares, mostrando-se eficazes no controle da liberação de óleo essencial ao longo do tempo.

Essa constatação sugere que a amostra F é a mais indicada para aplicações que exigem uma liberação controlada e estável de óleo essencial, proporcionando uma eficácia superior em comparação com as demais amostras. Sua capacidade de manter um perfil de liberação linear e controlado, juntamente com uma perda de massa gradual e uniforme, a torna uma escolha promissora para diversas aplicações que requerem a entrega sustentada de óleo essencial, como em formulações antimicrobianas e repelentes de insetos.

No espectro da amostra H, que possui em sua composição água e alginato de sódio, é possível verificar a banda de $3335,15\text{ cm}^{-1}$, referente ao OH^- livre, e o pico característico em $1634,74\text{ cm}^{-1}$, característico do grupamento $\text{C}=\text{O}$. (SILVERSTEIN, M. WEBSTER, FRANCIS X. KIEMLE, 2005).

Os espectros de FTIR das amostras D, E, F, G e I são mostrados na Figura 49.

Figura 49 - Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) das amostras D, E, F, G e I



Fonte: A autora (2024)

É possível observar que todas as amostras possuem espectros similares, com as mesmas bandas características. Foi identificado o grupamento OH^- livre

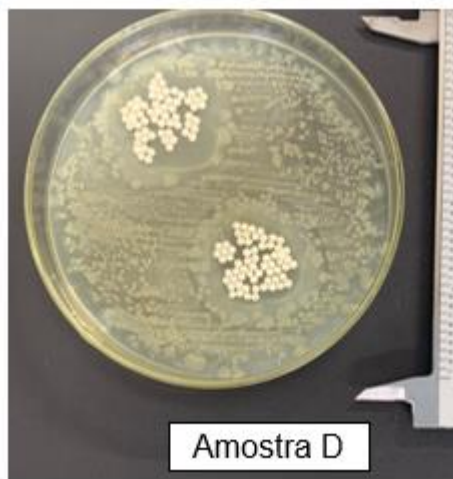
nas bandas próximas de 3300 cm^{-1} . Com exceção da amostra D - 2:0, também são observados os dubletes para as bandas entre 1000 e 1100 cm^{-1} , correspondentes aos agrupamentos (PO_4) da hidroxiapatita. A banda característica do grupamento C=O, oriundo do alginato de sódio, nas bandas de 1330 cm^{-1} , foi identificado em todas as amostras. É possível perceber que o óleo essencial interage com a hidroxiapatita, visto que em todas as amostras em que ele estava presente, o sinal das bandas entre 1000 e 1100 cm^{-1} foi atenuado, enquanto na amostra sem óleo essencial, o sinal nessas bandas foi mais intenso (LOPES; FASCIO, 2004; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005).

5.4 POTENCIAL ANTIMICROBIANO

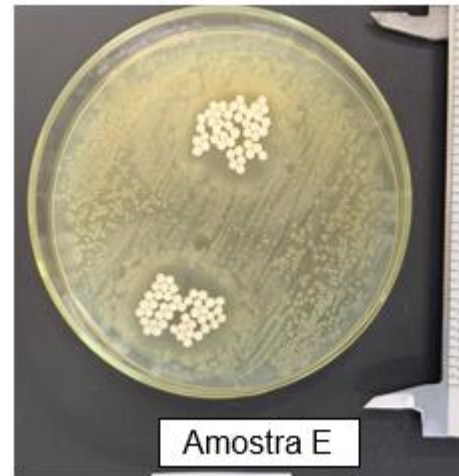
A incorporação do óleo essencial, reconhecido por suas propriedades antimicrobianas, confere a essas microesferas a capacidade de atuar como agentes antimicrobianos, podendo ser aplicadas em diversos setores, como saúde, cosméticos e embalagens alimentícias, para combater microrganismos indesejados. O ensaio de difusão em ágar é uma técnica amplamente utilizada para avaliar o potencial antimicrobiano de diferentes compostos. Esse ensaio é baseado na capacidade do composto antimicrobiano em difundir através do meio de cultura e inibir o crescimento microbiano ao redor do ponto de aplicação.

As amostras com variação na razão de alginato/hidroxiapatita (D – 2:0, E – 2:0,045, F – 2:0,07, G – 2:0,14 e H - somente alginato) foram submetidas ao ensaio de difusão em ágar para avaliar o potencial antimicrobiano de cada uma delas. Os resultados do teste de difusão em ágar para as amostras analisadas estão apresentados na Figura 50. Os diâmetros médios dos halos de inibição e a área para cada amostra são mostrados na Tabela 10.

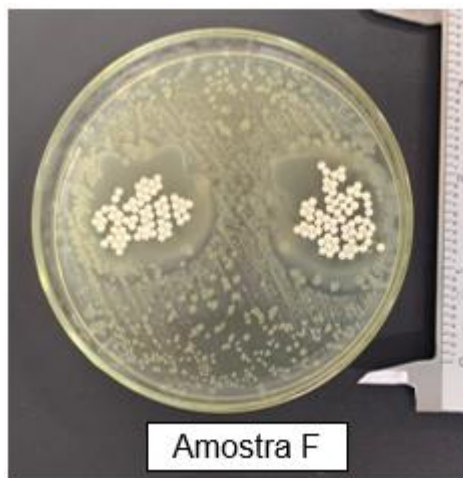
Figura 50 - Halo de inibição das amostras D (a), E (b), F (c), G (d), H (e), I (f) e Hidroxiapatita (g)



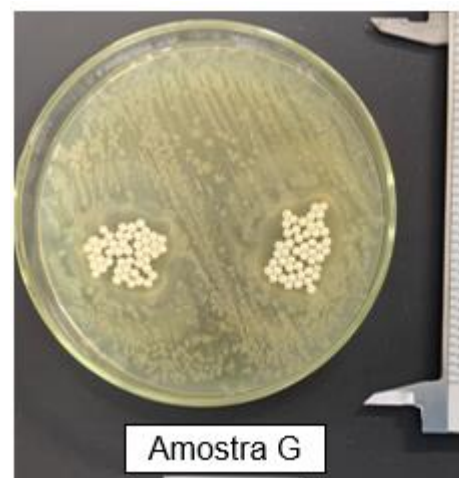
(a)



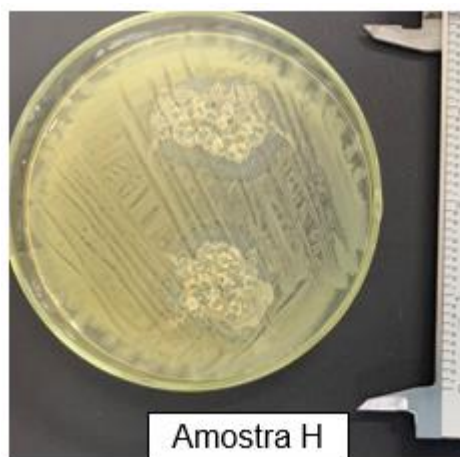
(b)



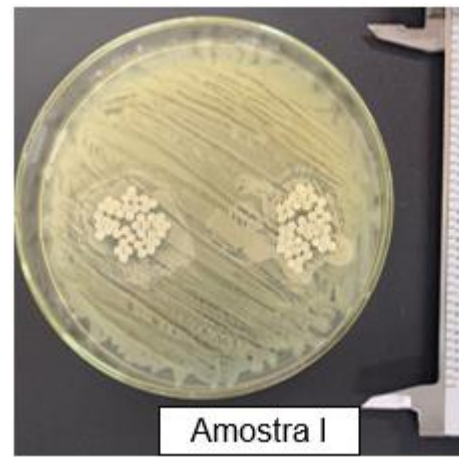
(c)



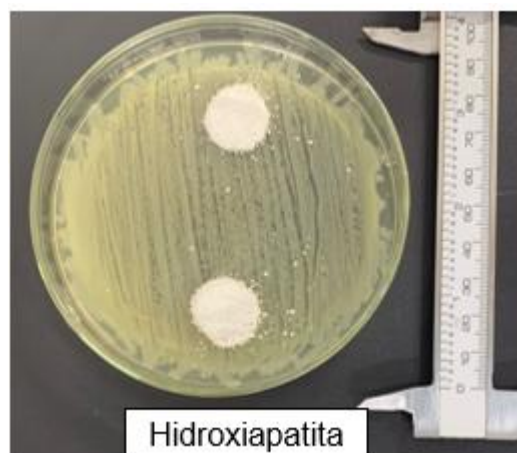
(d)



(e)



(f)



(g)

Fonte: A autora (2024).

Tabela 10 - Diâmetro médio e área dos halos de inibição

Amostra	Diâmetro médio (cm)	Área (cm²)
D - 2:0	3,0 ± 0,2	6,73
E - 0,045	2,7 ± 0,2	5,67
F - 0,07	3,4 ± 0,3	8,40
G - 0,14	2,6 ± 0,2	5,41
H - Somente Alginato	sem halo	
I - Partículas sem óleo	sem halo	
Somente hidroxiapatita	sem halo	

Os resultados mostraram que as amostras contendo óleo essencial apresentaram halos de inibição ao redor dos pontos de aplicação, indicando sua capacidade de inibir o crescimento microbiano. A área e diâmetro médio dos halos variaram de acordo com a formulação das micropartículas, sendo a amostra F a que apresentou maior potencial antimicrobiano, com um diâmetro médio de $3,4 \pm 0,3$ cm e área de $8,4$ cm². Importante notar que as partículas formuladas somente com alginato e água, amostra H, não apresentaram halo de inibição, assim como as partículas sem óleo, e a hidroxiapatita pura, o que comprova que a eficácia da inibição está unicamente relacionada a presença do óleo essencial.

A amostra F apresenta uma concentração de óleo de $44,5$ µL. Em estudos anteriores, Brugnera; Oliveira; Piccoli, (2011) observaram um diâmetro de inibição de $3,42 \pm 0,35$ mm com um volume de $31,25$ µL de óleo, enquanto El Kamari *et al.* (2018) obtiveram um diâmetro de $18 \pm 0,5$ mm com um volume de 15 µL de óleo. Com isto, a amostra F gerou halos de inibição aproximadamente

10 e 2 vezes maiores, respectivamente, em comparação com os estudos mencionados, que utilizaram apenas óleo essencial. A presença de água nas partículas facilita o processo, pois ela difunde para o ambiente, transportando o óleo e permitindo que este atinja uma área maior do que se estivesse presente apenas o óleo.

De fato, o ensaio de difusão em ágar demonstrou que as micropartículas encapsuladas com óleo essencial de citronela têm um forte potencial antimicrobiano, sendo a formulação quantidade intermediária de hidroxiapatita (amostra F) a mais eficaz nesse aspecto. Esses resultados são promissores para o desenvolvimento de novas formulações antimicrobianas para diversas aplicações industriais e médicas.

5.5 ENSAIO DE EFICÁCIA REPELENTE

A avaliação da eficácia repelente de produtos contra insetos é um passo fundamental no desenvolvimento e na validação de soluções que visam proteger as pessoas contra picadas de mosquitos e outros insetos transmissores do patógeno.

De acordo com a (ANVISA, 2024) os produtos utilizados comercialmente para repelir o mosquito *Aedes* podem ser classificados em duas categorias: repelentes para pele (cosméticos) e produtos para uso no ambiente (saneantes). Os repelentes comerciais podem ser naturais ou sintéticos.

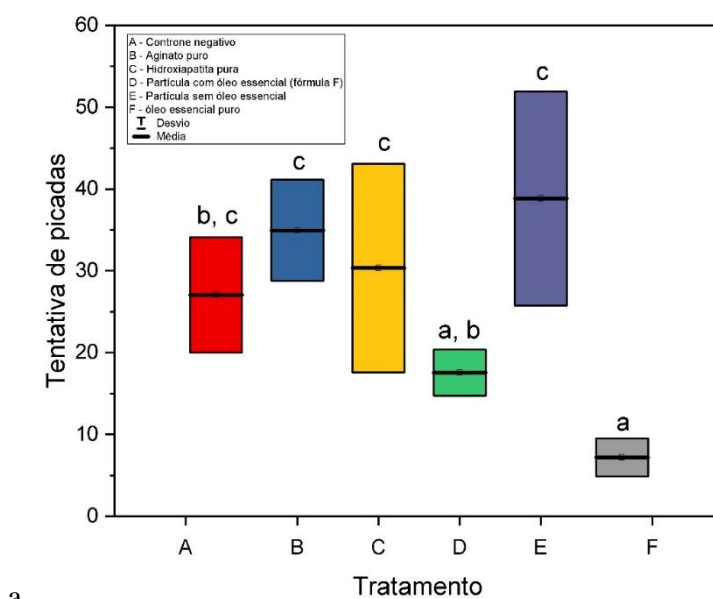
Os repelentes naturais, como o óleo de citronela, são atóxicos e facilmente biodegradáveis. No entanto, é necessário reaplicá-los com mais frequência em comparação aos repelentes sintéticos. Os repelentes sintéticos são os mais comuns no mercado e geralmente contêm piretróides como Icaridina, DEET e IR3535. O DEET é atualmente o repelente mais eficaz disponível. A Icaridina, um repelente promissor derivado da pimenta e recomendado pela OMS devido à sua baixa toxicidade e alta eficácia. O IR3535 é um biopesticida sintético que possui uma estrutura química similar à do aminoácido alanina. Presente no mercado europeu há mais de 20 anos, é considerado seguro para uso por gestantes devido ao seu excelente perfil de segurança. (RIBAS; CARREÑO, 2010; STEFANI *et al.*, 2009)

Sabendo que as micropartículas oferecem uma forma controlada de liberar compostos ativos, como óleos essenciais conhecidos por suas propriedades repelentes; ao se submeter essas micropartículas a testes de repelência, pode-se avaliar sua capacidade em manter os insetos afastados e, assim, oferecer proteção contra picadas e potenciais doenças transmitidas pelos patógenos.

As micropartículas da amostra F, que apresentaram melhores resultados nos ensaios anteriores, foram utilizadas para o bioensaio de repelência. A análise da contagem de tentativas de picadas entre as amostras revelou, de acordo com o teste de Kruskal-Wallis, uma diferença significativa ($p = 1,46 \times 10^{-7}$).

As médias de tentativas de picadas dos tratamentos A (controle negativo), B (alginato puro), C (hidroxiapatita pura), D (partículas com óleo essencial - amostra F), E (partículas sem óleo essencial) e F (óleo puro), com triplicata, juntamente com a significância estatística, são apresentadas na Figura 51. As letras localizadas sobre as barras representam as igualdades e diferenças estatísticas.

Figura 51 - Número médio de tentativas de picadas por tratamento e avaliação da significância estatística



Fonte: A autora (2024).

Os resultados indicam que as amostras de alginato puro, hidroxiapatita pura e partículas sem óleo essencial não demonstraram atividade repelente, apresentando um número médio de picadas de 41,13, 43,07 e 51,93, respectivamente. Estes valores são superiores ao controle negativo, que registrou uma média de 34,13 picadas.

Por outro lado, o óleo essencial puro mostrou-se como o tratamento mais eficaz em termos de repelência, com um número médio de picadas de 9,53, significativamente menor que o controle negativo. Esse resultado era esperado, uma vez que o óleo está presente de forma livre e pode difundir de maneira mais efetiva no meio.

As partículas contendo óleo essencial também apresentaram um efeito repelente positivo, com um número médio de picadas de 20,40, embora ainda superior ao óleo essencial puro. No entanto, sua eficácia é evidenciada e comprovada ao ser comparada com o controle negativo.

Apesar da variação considerável nos resultados, indicando a necessidade de um aumento no número de replicatas para reduzir o desvio padrão, é possível observar um potencial repelente consistente, corroborado pela média dos resultados em todas as amostras.

Além disso, observa-se que não há diferença estatisticamente significativa entre as partículas com óleo essencial e o óleo essencial puro (representado como a), conforme evidenciado pelo valor p obtido no teste *Dunn's post hoc* ($p=0,06444$). Da mesma forma, não há diferença significativa entre as partículas com óleo e o controle negativo ($p=0,07407$), apesar deste resultado inesperado ser atribuído ao elevado desvio padrão do controle negativo.

As amostras B, C e D não apresentam diferença estatística entre si e diferem tanto do óleo essencial puro (F) quanto das partículas com óleo (D). Este resultado é coerente, uma vez que nenhum desses tratamentos demonstrou potencial repelente.

Em resumo, os resultados do ensaio de eficácia repelente indicam que as micropartículas contendo óleo essencial de citronela têm um potencial repelente significativo, oferecendo uma alternativa viável ao óleo essencial puro para aplicações práticas, como repelentes de mosquitos.

6 CONCLUSÃO

Micropartículas de óleo essencial de citronela, alginato e hidroxiapatita de origem animal com propriedades antimicrobianas e repelentes foram produzidas com sucesso. A amostra que apresentou melhores resultados possui razão alginato e óleo essencial 1:2,5 e razão alginato hidroxiapatita 2:0,075.

Os resultados apontam que há um limite na adição de óleo essencial e hidroxiapatita, a fim de preservar a reologia e a eficiência de emulsificação do sistema. A análise dos grupos funcionais revelou interação entre o óleo essencial e a hidroxiapatita, evidenciada pela atenuação do sinal das bandas em todas as amostras contendo óleo. A caracterização morfológica confirmou a forma esférica das partículas, caracterizando-as como micropartículas.

Embora a porosidade das partículas seja menor que a relatada na literatura devido à quantidade de hidroxiapatita, a liberação do óleo essencial ocorreu de forma controlada por difusão do meio interno para o externo. Os resultados da liberação do óleo em acetona revelaram-se satisfatórios, alcançando até 96 h de exposição das partículas no ambiente.

Foi obtida uma liberação controlada tanto de óleo essencial, quanto de perda de massa para o ambiente; além do mais, foi obtido um halo de inibição com diâmetro de $3,3947 \pm 0,3125$ cm contra a bactéria *Escherichia coli*. Os resultados demonstram a eficiência das partículas contendo óleo essencial no potencial repelente contra o mosquito *Aedes aegypti*, resultando em uma redução média no número de tentativas de picadas comparado ao controle negativo de 34,13 para 20,40.

Portanto, os resultados obtidos mostram que partículas de óleo essencial de citronela encapsuladas com alginato e hidroxiapatita abrem novas perspectivas para pesquisas futuras no campo do encapsulamento de óleos essenciais para prevenção e controle de doenças infectocontagiosas.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Sugere-se, para trabalhos futuros:

- Avaliação do tempo de liberação do óleo no ambiente;
- Análise do coeficiente de difusão do óleo;
- Estudo de novos sistemas com distintas formulações para maior controle da liberação de óleo.

REFERÊNCIAS

- ABREU, F. O. M. S.; OLIVEIRA, E. F.; PAULA, H. C. B.; DE PAULA, R. C. M. Chitosan/cashew gum nanogels for essential oil encapsulation. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, n. 4, p. 1277–1282, 1 ago. 2012.
- ACHARYA, S.; JAKEER, S.; SHILPA, P.; ANDHALE, S. Review: Flavor encapsulation by spray drying technique. **International Journal of Chemical Studies**, v. 9, n. 1, p. 1836–1840, 1 jan. 2021.
- AFFONSO, R. S.; RENNÓ, M. N.; SLANA, G. B. C. A.; FRANÇA, T. C. C. Chemical and biological aspects of the essential oil of Indian cloves. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 2, p. 146–161, 2012.
- AGUIRRE CALVO, T.; SANTAGAPITA, P. Physicochemical Characterization of Alginate Beads Containing Sugars and Biopolymers. **Journal of Quality and Reliability Engineering**, v. 2016, 2016.
- AKSOYLU, Z.; GÜNÇ ERGÖNÜL, P. A Review on Encapsulation of Oils. **Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi**, 15 jun. 2017.
- ALBIERO, B.; FREIBERGER, G.; VANIN, A. B. Atividade inseticida e repelente de extrato e pó de sementes de *Anethum graveolens* e *Azadirachta indica* frente ao *Sitophilus zeamais*. **Scientia Plena**, v. 16, n. 4, 25 maio 2020.
- ALENCAR, D. D. de O. A. **Microencapsulação de óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon Citratus* (DC.) stapf) por spray drying**. 2020. UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE, Pombal, 2020. Disponível em:
<<http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/bitstream/riufcg/24176/3/DENISE%20DANTAS%20DE%20OLIVEIRA%20ALENCAR%20DISSERTA%c3%87%c3%83O%20PPGSA%20ACAD%c3%8aMICO-2020..pdf>>. Acesso em: 29 nov. 2022.
- ANGANE, M.; SWIFT, S.; HUANG, K.; BUTTS, C. A.; QUEK, S. Y. 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. 3, 1 fev. 2022.
- ANJANI, K.; KAILASAPATHY, K.; PHILLIPS, M. Microencapsulation of enzymes for potential application in acceleration of cheese ripening. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 1, p. 79–86, jan. 2007.
- ANVISA. **Produtos repelentes**. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/campanhas/dengue/produtos-repelentes>>. Acesso em: 7 maio. 2024.
- ASCHERI, D. P. R.; MARQUEZ, M. O. M.; MARTUCCI, E. T. Microencapsulação de óleo essencial de laranja: seleção de material de parede. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 1–6, dez. 2003. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612003000400002&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>.

ATKINS, P. W. **Físico-Química**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC , 1999. v. 1

BADEA, M. L.; ICONARU, S. L.; GROZA, A.; CHIFIRIUC, M. C.; BEURAN, M.; PREDOI, D. Peppermint essential oil-doped hydroxyapatite nanoparticles with antimicrobial properties. **Molecules**, v. 24, n. 11, 9 jun. 2019.

BAENA, Y.; ARAGÓN, M.; SANDOVAL, P. A.; ROSAS, J. E.; D´LEÓN, L. F. P. Sistemas osmóticos de administración oral. **Rev. Col. Cienc. Quím. Farm**, v. 35, n. 2, p. 192–211, 2006. Disponível em: <www.farmacia.unal.edu.coRevisión>.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, fev. 2008.

BAKRY, A. M.; ABBAS, S.; ALI, B.; MAJEED, H.; ABOUELWAFI, M. Y.; MOUSA, A.; LIANG, L. Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 1, p. 143–182, 1 jan. 2016a.

BAKRY, A. M.; ABBAS, S.; ALI, B.; MAJEED, H.; ABOUELWAFI, M. Y.; MOUSA, A.; LIANG, L. Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 1, p. 143–182, 1 jan. 2016b.

BAKRY, A. M.; ABBAS, S.; ALI, B.; MAJEED, H.; ABOUELWAFI, M. Y.; MOUSA, A.; LIANG, L. Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 1, p. 143–182, 1 jan. 2016c.

BARROS, D. de M.; MELO, M. de A.; MOURA, D. F. de; SILVA, J. H. L. da; SILVA, H. M. L. da; SANTOS, J. S. S. dos; ROCHA, T. A.; OLIVEIRA, G. B. de; FERREIRA, S. A. de O.; COSTA, M. da; DINIZ, M. A.; MELO, N. L. L. X.; SANTOS, R. C. B. dos; LEITE, D. R. da S.; PONTES, A. K. de A.; SILVA, R. F. da; LEITE, A. R. de F.; SOUZA, J. C. V. de; COSTA, M. P. da; SILVA, A. M. R.; GOMES, M. de V.; AGUIAR, G. B. de; FONTE, R. de A. B. da. Potencial Utilização de Sistemas Antimicrobianos Naturais como Conservantes Alimentares. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p. 40476–40491, 2020.

BASTOS, J. F. A.; MOREIRA, Í. J. A.; RIBEIRO, T. P.; MEDEIROS, I. A.; ANTONIOLLI, A. R.; DE SOUSA, D. P.; SANTOS, M. R. V. Hypotensive and Vasorelaxant Effects of Citronellol, a Monoterpene Alcohol, in Rats. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 106, n. 4, p. 331–337, 7 dez. 2009. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1742-7843.2009.00492.x>>.

BASTOS, L. P. H. **Encapsulação do óleo essencial de pimenta preta (Piper nigrum L.) por coacervação complexa, utilizando proteínas e alginato de**

sódio como materiais de parede. 2019. UFRRJ, Seropédica, 2019. Disponível em: <<https://tede.ufrj.br/jspui/handle/jspui/5319?mode=full>>. Acesso em: 30 jan. 2023.

BATALHA, L. S. **Encapsulamento De Bacteriófagos Em Diferentes Matrizes E Avaliação Do Potencial Para A Fagoterapia.** 2017. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2017.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, n. 4_ts, p. 493–496, 1 abr. 1966. Disponível em: <https://academic.oup.com/ajcp/article/45/4_ts/493/4821085>.

BERTOLINI, A. C.; SIANI, A. G.; GROSSO, C. R. F. Stability of monoterpenes encapsulated in gum arabic by spray-drying. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 2, p. 780–785, 2001.

BEZERRA, F. M.; CARMONA, O. G.; CARMONA, C. G.; LIS, M. J.; DE MORAES, F. F. Controlled release of microencapsulated citronella essential oil on cotton and polyester matrices. **Cellulose**, v. 23, n. 2, p. 1459–1470, 17 abr. 2016. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10570-016-0882-5>>.

BEZERRA, R. V.; DE OLIVEIRA, H. M. B. F.; LIMA, C. M. B. L.; DINIZ, M. de F. F. M.; PÊSSOA, H. de L. F.; ALVES DE OLIVEIRA FILHO, A. Atividade Antimicrobiana Dos Monoterpenos (R)-(+)-Citronelal, (S)-(-)-Citronelal E 7-Hidroxicitronelal Contra Cepa De Bacillus Subtilis. **Revista Uningá**, v. 56, n. 2, p. 62–69, 2 jun. 2019. Disponível em: <<https://revista.uninga.br/uninga/article/view/2132>>.

BIEDRZYCKA, A.; SKWAREK, E.; HANNA, U. M. Hydroxyapatite with magnetic core: Synthesis methods, properties, adsorption and medical applications. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 291, 1 maio 2021.

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

BIZZO, H.; REZENDE, C. O Mercado De Óleos Essenciais No Brasil E No Mundo Na Última Década. **Química Nova**, 2022. Disponível em: <http://quimicanova.sbq.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=9443&nomeArquivo=R V2022-0027.pdf>.

BIZZO HUMBERTO RIBEIRO. A Lavoura 699. **Óleos essenciais: uma fonte de divisas a ser mais explorada no Brasil**, p. 48–53, 2013. Disponível em: <https://issuu.com/sociedadenedacionaldeagricultura/docs/a_lavoura_699>. Acesso em: 13 nov. 2022.

BLANK, A. F.; OLIVEIRA, A. dos S.; BLANCK, M. D. F. A.; FAQUIN, V. Efeitos da adubação química e da calagem na nutrição de melissa e hor-telã-pimenta. **Hortic. bras**, v. 24, n. 2, p. 195–198, 2006.

BONAN, R. F.; BONAN, P. R. F.; BATISTA, A. U. D.; OLIVEIRA, J. E.; MENEZES, R. R.; MEDEIROS, E. S. Métodos de reforço microestrutural da hidroxiapatita. **Cerâmica**, v. 60, n. 355, p. 402–410, set. 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0366-69132014000300012&lng=pt&tlng=pt>.

BORBOREMA, D. P. de S.; SOUZA, C. N. de; CARVALHO, C. M. C.; AGUILAR, C. M.; MATOS JÚNIOR, F. E. de; PEREIRA, U. A.; XAVIER, E. D.; XAVIER, A. R. E. de O.; FARIA, J. T. de; ALMEIDA, A. C. de. Atividade antibacteriana e antibiofilme de óleo essencial de *Syzygium aromaticum* microencapsulado e não microencapsulado. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 6, p. e41111629076, 2 maio 2022.

BRUGNERA, D. F.; OLIVEIRA, M. M. M. de; PICCOLI, R. H. Essential oils of *Cymbopogon sp.* In the control of foodborne pathogenic bacteria*. **Alim. Nutr**, v. 22, n. 3, p. 339–343, 2011.

CARNEIRO, H. C. F. **Microencapsulação de óleo de linhaça por spray drying: influência da utilização de diferentes combinações de materiais de parede**. 2011. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

CASANOVA, F.; SANTOS, L. Encapsulation of cosmetic active ingredients for topical application-a review. **Journal of Microencapsulation**, v. 33, n. 1, p. 1–17, 2 jan. 2016.

CASTRO, H. G. de; PERINI, V. B. de M.; SANTOS, G. R. dos; LEAL, T. C. A. B. Evaluation of content and composition of the essential oil of *Cymbopogon nardus* (L.) in different harvest times. n. 2, p. 308–314, 2010. Disponível em: <www.ccarevista.ufc.br>.

CENTRO NACIONAL PARA ENFERMEDADES INFECCIOSAS EMERGENTES Y ZOONÓTICAS. **Ciclo de vida do mosquito *Aedes aegypti***. Disponível em: <file:///C:/Users/Janaina/Downloads/cdc_41424_DS1.pdf>. Acesso em: 7 fev. 2024.

CHEN, W.; VILJOEN, A. M. Geraniol — A review of a commercially important fragrance material. **South African Journal of Botany**, v. 76, n. 4, p. 643–651, out. 2010. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0254629910001559>>.

CHHABRA, R. P.; RICHARDSON, J. F. **Non Newtonian Flow And Applied Rheology: Engineering Applications**. 2. ed. Burlington : Butterworth-Heinemann, 2008. 536 p.

COLI, B. A.; VILELA, A. C. ; SILVÉRIO, R. F. ; BERNARDES, N. I. ; MACHADO, G. M. ; PINTO, P.; LILIANE, ; A Utilização Da Aromaterapia Na Estética-Revisão De Literatura. **Saúde em Foco**, v. 10, p. 172–176, 2018.

COMEX STAT. **Preço por kg de exportação de óleos essenciais**. Disponível em: <<http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral/72362>>. Acesso em: 11 dez. 2022a.

COMEX STAT. **Exportação Citronela.** Disponível em: <<http://comexstat.mdic.gov.br/pt/geral/73457>>. Acesso em: 8 jan. 2023b.

COMUNIAN, T. A.; GOMEZ-ESTACA, J.; FERRO-FURTADO, R.; CONCEIÇÃO, G. J. A.; MORAES, I. C. F.; DE CASTRO, I. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Effect of different polysaccharides and crosslinkers on echium oil microcapsules. **Carbohydrate Polymers**, v. 150, p. 319–329, 5 out. 2016.

CORRÊA, N. M.; BUENO, F.; JÚNIOR, C.; FERNANDA IGNÁCIO, R.; LEONARDI, G. R. Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, n. 1, 2005.

COSTA, Í. C.; AZEVEDO, S. G.; SANCHES, E. A.; FONSECA FILHO, H. D. da. Caracterização de nanopartículas poliméricas preenchidas com óleo essencial de Piper nigrum por microscopia de força atômica. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 26, n. 2, 2021. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-70762021000200327&tlng=pt>.

COSTA, P.; LOBO, J. M. S. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 2, p. 123–133, maio 2001. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928098701000951>>.

COYLE, M. B. Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. Em: 2005, Seattle. [...]. Seattle: Sociedade Americana de Microbiologia, 2005.

CREMASCO, M. Aurélio. **Difusão mássica**. São Paulo: Blucher, 2019.

DA SILVA, C. M.; SILVA JR, T. L.; PINTO JR, I. M. CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA DE FLUIDOS NÃO NEWTONIANOS E SUA APLICABILIDADE NA INDÚSTRIA Engenharia Civil ciências exatas e tecnológicas PALAVRAS-CHAVE. **Ciências exatas e tecnológicas**, v. 5, n. 2, p. 285–300, 2019.

DA SILVA, F. T. **Ação do óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale*) encapsulado em fibras ultrafinas de proteína isolada de soja, poli (óxido de etileno) e zeína no controle antimicrobiano in situ.** 2018. Universidade Federal De Pelotas, Pelotas, 2018.

DA SILVEIRA, E. S.; MACHADO, A. A.; FAVERO, S.; ROEL, A. R.; CEREDA, M. P. Cashew nut shell liquid (LCC) as bamboo bambusa vulgaris borer repellent. **Ciencia Florestal**, v. 29, n. 3, p. 1389–1397, 2019.

DAL POZZO, M.; VIÉGAS, J.; SANTURIO, D. F.; ROSSATTO, L.; SOARES, I. H.; ALVES, S. H.; COSTA, M. M. da. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a *Staphylococcus spp* isolados de mastite caprina. **Ciência Rural**, v. 41, n. 4, p. 667–672, 9 mar. 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782011000400019&lng=pt&tlng=pt>.

DĂNILĂ, E.; MOLDOVAN, Z.; POPA, M.; CHIFIRIUC, M. C.; KAYA, A. D.; KAYA, M. A. Chemical composition, antimicrobial and antibiofilm efficacy of *C. limon* and *L. angustifolia* EOs and of their mixtures against *Staphylococcus epidermidis* clinical strains. **Industrial Crops and Products**, v. 122, p. 483–492, 15 out. 2018.

D'ARRIGO, J. S. Screening of membrane surface charges by divalent cations: an atomic representation. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 235, n. 3, p. C109–C117, 1 set. 1978. Disponível em: <<https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpcell.1978.235.3.C109>>.

DE ARAUJO, J. C. L. V.; DE O. LIMA, E.; S. O. DE CEBALLOS, B.; R. DE L. FREIRE, K.; L. DE SOUZA, E.; SANTOS FILHO, L. Ação Antimicrobiana De Óleos Essenciais Sobre Microrganismos Potencialmente Causadores De Infecções Oportunistas. **Revista de Patologia Tropical**, v. 33, n. 1, 22 jan. 2008. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/iptsp/article/view/3189>>.

DE AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: Aplicação à Tecnologia De alimentos. 2005.

DE CARVALHO, J. S. R. **Encapsulamento de Óleo Essencial de Origanum virens L. em Matrizes de Gelatina e Gelatina/Sacarose Orientador: Professora**. 2009. Universidade técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.

DE OLIVEIRA, E. F.; PAULA, H. C. B.; PAULA, R. C. M. de. Alginate/cashew gum nanoparticles for essential oil encapsulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 113, p. 146–151, 1 jan. 2014.

DE OLIVEIRA, V. **Caracterização química e avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de <i>Cymbopogon nardus </i> I. (poaceae) e <i>Thymus vulgaris </i> I. (lamiaceae)**. 2021. Universidade Estadual Do Sudoeste Da Bahia, Itapetinga, 2021.

FELIPE, L. O.; BICAS, J. L. **Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais**. Disponível em: <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc39_2/04-QS-09-16.pdf>.

FERNANDES, I. J.; GONÇALVES KIELING, A.; AVILA, T. L.; ROCHA, C.; BREHM, A.; ALBERTO, C.; MORAES, M. Produção E Avaliação De Microcápsulas De Alginato Contendo Óleo Essencial De Casca De Laranja. **Eclética Química**, v. 39, p. 164–174, 2014.

FERREIRA, E. E.; BRANDÃO, P. R. G.; KLEIN, B.; PERES, A. E. C. Reologia de suspensões minerais: uma revisão. **Rem: Revista Escola de Minas**, v. 58, n. 1, p. 83–87, mar. 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-44672005000100014&lng=pt&tlng=pt>.

FIGUEIREDO, Y. G. G. **Encapsulamento de óleos essenciais em matriz biopolimérica a base de pcl/gelatina: fundamentos e aplicações**. 2020. Universidade Federal Do Amazonas, Manaus, 2020.

FONTOURA, J. T.; GUTTERRES, D. O. A. M. Performance of Antimicrobial Agents for the Preservation of Chrome Leather. **Antimicrobial Preservation Chrome Leather**, v. 111, p. 221–229, 2016.

FREIBERG, S.; ZHU, X. X. **Polymer microspheres for controlled drug release** *International Journal of Pharmaceutics* 10 set. 2004.

FREIRE, N. F. **Desenvolvimento De Nanopartículas Poliméricas contendo Óleo Essencial De Citronela (*Cymbopogon Winterianus*)**. 2017. Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2017.

GARCÍA, A. A.; LOTZIN, J. L. D. V.; TORRES, B. C. P.; HUATO, M. Á. D.; ARENAS, O. R.; OLGUÍN, J. F. L. Aceite de *Cymbopogon nardus* y *Pelargonium citrosum*, como repelentes de *Culex quinquefasciatus**. **Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas**, v. 5, p. 591–603, 2014.

GUILHON, H. de C.; PERINI, V. B. de M. S. G.; LEAL, T. C. A. B. Evaluation of content and composition of the essential oil of *Cymbopogon nardus* (L.) in different harvest times. n. 2, p. 308–314, 2010. Disponível em: <www.ccarevista.ufc.br>.

GÜRBÜZ, E.; KERESTECI, B.; GÜNNEÇ, C.; BAYSAL, G. Techniques in the Food Industry. **Journal of Nutrition and Health Sciences**, v. 7, n. 1, p. 1–6, 2020. Disponível em: <www.annexpublishers.com>.

HAMZAH, M. H.; CHE MAN, H.; ZAINAL ABIDIN, Z.; JAMALUDIN, H. Comparison of Citronella Oil Extraction Methods from *Cymbopogon nardus* Grass by Ohmic-heated Hydro-distillation, Hydro-Distillation, and Steam Distillation. **BioResources**, v. 9, n. 1, p. 256–272, 14 nov. 2013. Disponível em: <<http://ojs.cnr.ncsu.edu/index.php/BioRes/article/view/4497>>.

HAUDENSCHILD, C. D.; CROTEAU, R. B. Molecular Engineering of Monoterpene Production. *Em: Genetic Engineering*. Boston, MA: Springer US, 1998. p. 267–280.

HSIEH, W. C.; CHANG, C. P.; GAO, Y. L. Controlled release properties of Chitosan encapsulated volatile Citronella Oil microcapsules by thermal treatments. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 53, n. 2, p. 209–214, 1 dez. 2006.

HU, Q.; LUO, Y. **Chitosan-based nanocarriers for encapsulation and delivery of curcumin: A review** *International Journal of Biological Macromolecules* Elsevier B.V., 15 maio 2021.

IBGE. **Pesquisa Industrial Anual**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/6705>>. Acesso em: 13 nov. 2022.

ISHII, S. Ecology of pathogens and antibiotic-resistant bacteria in environments: Challenges and opportunities. **Microbes and Environments**, v. 34, n. 1, p. 1–4, 2019.

IVANETS, A. I.; KITIKOVA, N. V.; SHASHKOVA, I. L.; ROSHCHINA, M. Y.; SRIVASTAVA, V.; SILLANPÄÄ, M. Adsorption performance of hydroxyapatite with different crystalline and porous structure towards metal ions in multicomponent solution. **Journal of Water Process Engineering**, v. 32, 1 dez. 2019.

JAFARI, S. M.; ASSADPOOR, E.; HE, Y.; BHANDARI, B. Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. **Drying Technology**, v. 26, n. 7, p. 816–835, jul. 2008.

JATO, J. L. V. **Tecnologia Farmaceutica Volumen I: Aspectos fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciones básicas**. Madri: Sintesis, 2001. v. 1

KAUR, H.; BHARDWAJ, U.; KAUR, R. **Cymbopogon nardus essential oil: a comprehensive review on its chemistry and bioactivity** *Journal of Essential Oil Research* Bellwether Publishing, Ltd., 2021.

KODJOH, E. M. W. **Atividade Terapêutica De Óleo Essencial De Limão Siciliano (*Citrus Limon (L) Burn*): Uma Revisão Da Literatura**. 2022. UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE , Cuité, 2022.

KOPP, V. V. **Óleo essencial de cravo encapsulado como microbicida natural**. 2020. Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, 2020.

KRASAEKOOPT, W.; BHANDARI, B.; DEETH, H. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. **International Dairy Journal**, v. 13, n. 1, p. 3–13, jan. 2003. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694602001553>>.

LABA, D. **Rheological Properties of Cosmetics end toiletries**. New York: Marcel Dekker, 1993. v. 13

LEIMANN, F. V. **Microencapsulação De Óleo Essencial De Capim Limão Utilizando O Processo De Coacervação Simples**. 2008. Universidade Federal De Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

LEITE DE MORAES, S.; OLÍMPIA, M.; REZENDE, O. Determinação Da Concentração Micelar Crítica De Ácidos Húmicos Por Medidas De Condutividade E Espectroscopia. **Quim. Nova**, v. 27, n. 5, p. 701–705, 2004.

LEMOS, M. **Citronela: o que é, para que serve e como usar**.

LENGYEL, M.; KÁLLAI-SZABÓ, N.; ANTAL, V.; LAKI, A. J.; ANTAL, I. Microparticles, microspheres, and microcapsules for advanced drug delivery. **Scientia Pharmaceutica**, v. 87, n. 3, 1 set. 2019.

LIMA, D. S. de; PONTES, M. A. N. de; ANDRADE JÚNIOR, F. P. de; SANTOS, B. H. C. dos; OLIVEIRA, W. A. de; LIMA, I. O. Atividade antibacteriana de citronelal e citronelol contra cepas de *Escherichia coli* produtoras de ESBL. **Archives Of Health Investigation**, v. 9, n. 3, 25 ago. 2020.

LINS, L.; DAL MASO, S.; FONCOUX, B.; KAMILI, A.; LAURIN, Y.; GENVA, M.; JIJAKLI, M. H.; DE CLERCK, C.; FAUCONNIER, M. L.; DELEU, M. Insights into the relationships between herbicide activities, molecular structure and membrane interaction of cinnamon and citronella essential oils components. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 16, 2 ago. 2019.

LOPES, C. M.; MANUEL, J.; LOBO, S.; COSTA, P.; LOPES, C. M. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, n. 2, 2005.

LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema Para Interpretação De Espectros De Substâncias Orgânicas Na Região Do Infravermelho. **Quim. Nova**, v. 27, n. 4, p. 670–673, 2004.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F.; VEIGA, F. A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 38, 2002.

MANIECKA, M. T.; WARSZYŃSKA, L. S.; MANIECKI, Ł.; SZCZEŚNA, W.; WARSZYŃSKI, P.; WILK, K. A. Tailoring the composition of hydrogel particles for the controlled delivery of phytopharmaceuticals. **European Polymer Journal**, v. 151, 15 maio 2021.

DUARTE, M. I. S.; AMARO N. DUARTE NETO; CARLA PAGLIARI; CLEUSA FUMICA HIRATA TAKAKURA; LUCIANE KANASHIRO-GALO. **Doenças Infeciosas: Visão Integrada da Patologia, da Clínica e dos Mecanismos Patogênicos**. [s.l.] Artmed; 1ª edição, 2024.

MARTELLI, E. C.; CAMARGO, M. C. G. D.; VIEIRA, J.; GANDRA, R. F. Uso de substâncias bioativas como conservantes naturais em formas farmacêuticas: uma revisão / Use of bioactive substances as natural preservatives in pharmaceutical forms: a review. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 2, p. 8120–8133, 12 abr. 2021.

MATSUMOTO, T.; OKAZAKI, M.; INOUE, M.; YAMAGUCHI, S.; KUSUNOSE, T.; TOYONAGA, T.; HAMADA, Y.; TAKAHASHI, J. Hydroxyapatite particles as a controlled release carrier of protein. **Biomaterials**, v. 25, n. 17, p. 3807–3812, ago. 2004.

MATTÉ, G. M.; DA ROSA, S. A Tecnologia Da Microencapsulação Através Das Microesferas De Quitosana. **Rev. Iberoam. Polim**, v. 14, n. 5, p. 206–218, 2013. Disponível em: <<https://www.observatorioplastico.com/ficheros/articulos/120760257206030829.pdf>>. Acesso em: 15 jan. 2023.

MELO, A.; SILVA, E. O.; MARQUES, D. I. D.; SOUSA, S.; QUIRINO, M. R. Extração, Identificação E Estudo Do Potencial Antimicrobiano Do Óleo Essencial De Pimenta-Preta (*Piper nigrum* L.), biomonitorado por *Artemia salina* Leach. **Holos**, v. 1, p. 2021, dez. 2021.

MENDES DA SILVA, C.; LINS SILVA JR, T.; MACÁRIO PINTO JR, I. Caracterização reológica de fluidos não newtonianos e sua aplicabilidade na indústria. **Ciências exatas e tecnológicas**, v. 5, p. 285–300, 2019.

MIBIELLI, R. B. I. **Desenvolvimento De Nanoemulsão De Carvacrol Com Atividade Antimicrobiana**. 2019. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.

MILITELLO, M.; SETTANNI, L.; ALEO, A.; MAMMINA, C.; MOSCHETTI, G.; GIAMMANCO, G. M.; BLÀZQUEZ, M. A.; CARRUBBA, A. Chemical composition and antibacterial potential of *Artemisia arborescens* L. essential oil. **Current Microbiology**, v. 62, n. 4, p. 1274–1281, abr. 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Boletim Epidemiológico. nov. 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Atualização de Casos de Arboviroses**.

MODOLON, H. B.; INOCENTE, J.; BERNARDIN, A. M.; KLEGUES MONTEDO, O. R.; ARCARO, S. Nanostructured biological hydroxyapatite from *Tilapia* bone: A pathway to control crystallite size and crystallinity. **Ceramics International**, v. 47, n. 19, p. 27685–27693, 1 out. 2021.

MOHAMED, R. S. Extração E Fracionamento De Produtos De Ocorrência Natural Com Fluidos Supercriticos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 4, p. 344–353, dez. 1997. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20611997000400002&lng=pt&nrm=iso&tng=pt>.

MONTEIRO, A. A. D. S.; RICHTER, A. R.; MACIEL, J. D. S.; FEITOSA, J. P. A.; PAULA, H. C. B.; DE PAULA, R. C. M. Efeito da modificação química na solubilidade e intumescimento de microesferas à base de goma do cajueiro carboximetilada e quitosana. **Polimeros**, v. 25, p. 31–39, 1 dez. 2015.

MOTELICA, L.; FICAI, D.; OPREA, O.; FICAI, A.; TRUSCA, R. D.; ANDRONESCU, E.; HOLBAN, A. M. Biodegradable alginate films with zno nanoparticles and citronella essential oil-a novel antimicrobial structure. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 7, 1 jul. 2021.

MÜLLER, J. M.; SANTOS, R. L. dos; BRIGIDO, R. V. Produção de Alginato por Microrganismos. **Polímeros**, v. 21, n. 4, p. 305–310, 2011.

MÜLLER, P. S. **Microencapsulação de óleo Essencial De Laranja**. 2011. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

NAKAHARA, K.; ALZOREKY, N. S.; YOSHIHASHI, T.; NGUYEN, H. T. T.; TRAKOONTIVAKORN, G. Chemical Composition and Antifungal Activity of Essential Oil from *Cymbopogon nardus* (Citronella Grass). **Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ**, v. 37, n. 4, p. 249–252, 2013. Disponível em: <https://www.jstage.jst.go.jp/article/jarq/37/4/37_249/_article>.

NIERO, A. L. D. S.; ARCARO, S. **Esferas de alginato/nanohidroxiapatita obtida a partir de subprodutos da avicultura e da maricultura para reparo tecidual**. 2022. Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2022.

OLIVEIRA, D. A.; PESSOA, I. de L.; CESARINO, L. G. S.; VALLERINI, M. Y.; SILVA JUNIOR, V. A. **Desenvolvimento de matriz polimérica de quitosana e alginato com imobilização de íons ferro (II) para degradação do corante tipo azóico vermelho de metila via processo Foto-Fenton**. Disponível em: <<http://ric.cps.sp.gov.br/handle/123456789/6035>>. Acesso em: 14 jan. 2023.

PADUCH, R.; KANDEFER-SZERSZEŃ, M.; TRYTEK, M.; FIEDUREK, J. Terpenes: Substances useful in human healthcare. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 55, n. 5, p. 315–327, out. 2007.

PARIS, M. J.; RAMÍREZ-CORONA, N.; PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A. Modelling release mechanisms of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) essential oil encapsulated in alginate beads during vapor-phase application. **Journal of Food Engineering**, v. 282, p. 110024, out. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877420301229>>.

PASQUALIM, P.; CULPI, T. A.; KAMINSKI, G. T. A.; FIN, M. T.; SASSO, D. G. B.; COSTA, C. K.; MIGUEL, M. D.; FUJIWARA, G. M.; RODRIGUES, B. H.; ZANIN, S. M. W. Microcápsulas De Alginato De Cálcio E Óleo Vegetal Pela Técnica De Gelificação Iônica: Um Estudo Da Capacidade De Encapsulamento E Aplicação Dermatológica. **Visão Acadêmica**, v. 11, n. 1, 30 jun. 2010. Disponível em: <<http://revistas.ufpr.br/academica/article/view/21350>>.

PASSAGLIA, N. F. **Microensapsulação por liofilização do extrato de compostos fenólicos da torta de girassol**. 2019. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019.

PAULA, H. C. B.; OLIVEIRA, E. F.; ABREU, F. O. M. S.; PAULA, R. C. M. de; MORAIS, S. M. de; FORTE, M. M. C. Esferas (beads) de alginato como agente encapsulante de óleo de croton zehntneri Pax et Hoffm. **Polímeros**, v. 20, n. 2, p. 112–120, 14 maio 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-14282010000200007&lng=pt&tlng=pt>.

PAULUS, W. Introduction to microbicides. *Em*: **Directory Of Microbicides For The Protection Of Materials**. 1. ed. Philip Drive: Kluwer Academic Publishers, 2017.

PAVELA, R. Larvicidal effects of various Euro-Asiatic plants against *Culex quinquefasciatus* Say larvae (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 102, n. 3, p. 555–559, fev. 2008.

PEREIRA, K. C.; MOTA FERREIRA, D. C.; ALVARENGA, G. F.; SALVADOR PEREIRA, M. S.; SOUTO BARCELOS, M. C.; GOMES DA COSTA, J. M. Microencapsulation and release controlled by the diffusion of food ingredients produced by spray drying: A review. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, 2018.

PERES, M. C. **Nanoencapsulamento do óleo essencial das folhas e frutos de *xylopia aromatica* Lamm e sua atividade frente a oviposição de *Bemisia tabaci* (genn.) (hemiptera: aleroydidae) biótipo b.** 2015. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde, Rio Verde - GO, 2015.

PINHEIRO, H. N.; COSTA, E. F. da; ABREU, F. O. M. da S. Síntese e caracterização de nanoemulsões poliméricas de goma xantana e goma arábica encapsulantes de óleo essencial de *Eucalyptuscitriodora* I. **Ambiente: Gestão e Desenvolvimento**, 31 ago. 2021.

PINTO, G. M. F. **Quais as vantagens de utilizar o detector de espectrometria de massas acoplado à cromatografia líquida ou gasosa?** Disponível em: <<https://cromvallab.com/2022/01/10/quais-as-vantagens-de-utilizar-o-detector-de-espectrometria-de-massas-acoplado-a-cromatografia-liquida-ou-gasosa/>>. Acesso em: 9 jan. 2023.

PRATA, A. S.; ZANIN, M. H. A.; RÉ, M. I.; GROSSO, C. R. F. Release properties of chemical and enzymatic crosslinked gelatin-gum Arabic microparticles containing a fluorescent probe plus vetiver essential oil. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 67, n. 2, p. 171–178, 1 dez. 2008.

PREDOI, D.; GROZA, A.; ICONARU, S. L.; PREDOI, G.; BARBUCEANU, F.; GUEGAN, R.; MOTELICA-HEINO, M. S.; CIMPEANU, C. Properties of basil and lavender essential oils adsorbed on the surface of hydroxyapatite. **Materials**, v. 11, n. 5, 24 abr. 2018.

PUBCHEM. **Open Chemistry Database: National Center for Biotechnology Information (NCBI).** Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>>. Acesso em: 27 jan. 2024.

RAO, M. A. **Rheology of Fluid and Semisolid Foods: Principles and Applications.** 2. ed. [s.l.: s.n.]1–24 p.

RAZA, Z. A.; KHALIL, S.; AYUB, A.; BANAT, I. M. Recent developments in chitosan encapsulation of various active ingredients for multifunctional applications. **Carbohydrate Research**, v. 492, 1 jun. 2020.

REINECCIUS, G. A.; BANGS, W. E. Spray Drying of Food Flavors. III. Optimum Infeed Concentrations for the Retention of Artificial Flavors. . **Perfumer and Flavorist**, v. 9, p. 27–29, 1985.

RIBAS, J.; CARREÑO, A. M. Evaluation of the use of repellent against mosquito bite by military personnel in the Amazon Basin. **An Bras Dermatol**, v. 85, n. 1, p. 33–41, 2010.

RODRÍGUEZ, J.; MARTÍN, M. J.; RUIZ, M. A.; CLARES, B. Current encapsulation strategies for bioactive oils: From alimentary to pharmaceutical perspectives. **Food Research International**, v. 83, p. 41–59, 1 maio 2016.

ROMERO, A. L.; OLIVEIRA, R. R.; ROMERO, R. B.; ALMEIDA, A. L.; DINIZ, S. P. S. de S.; VIDA, J. B. **Efeito de monoterpenos naturais no crescimento**

micelial e germinação de conídios de *Corynespora cassiicola*. Disponível em: <<http://pap.emnuvens.com.br/pap/article/view/pap.2013.002>>.

SAKULKU, U.; NUCHUCHUA, O.; UAWONGYART, N.; PUTTIPIPATKHACHORN, S.; SOOTTITANTAWAT, A.; RUKTANONCHAI, U. Characterization and mosquito repellent activity of citronella oil nanoemulsion. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 372, n. 1–2, p. 105–111, 8 maio 2009.

SÁNCHEZ, M. F. O. Composición química de un aceite esencial. *Em: Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes*. 1. ed. Spain: Aiyana, 2006. p. 14–17.

SANTOS, P. L.; ARAUJO, A. A. S.; QUINTANS, J. S. S.; OLIVEIRA, M. G. B.; BRITO, R. G.; SERAFINI, M. R.; MENEZES, P. P.; SANTOS, M. R. V.; ALVES, P. B.; DE LUCCA JUNIOR, W.; BLANK, A. F.; LA ROCCA, V.; ALMEIDA, R. N.; QUINTANS, L. J. Preparation, Characterization, and Pharmacological Activity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor (Poaceae) Leaf Essential Oil of β -Cyclodextrin Inclusion Complexes. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, 2015.

SANTURIO, J. M.; SANTURIO, D. F.; POZZATTI, P.; MORAES, C.; FRANCHIN, P. R.; ALVES, S. H. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 803–808, jun. 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782007000300031&lng=pt&tlng=pt>.

SARAIVA FILHO, D. E.; SOUSA, J. B. de; SANTOS, H. S. dos; FONTENELLE, R. O. dos S. Compostos químicos isolados de extratos e óleos essenciais do gênero *Zanthoxylum* Linnaeus (C) e seu potencial antimicrobiano. **Hoehnea**, v. 47, 2020. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2236-89062020000100226&tlng=pt>.

SAXENA, A.; SACHIN, K.; BOHIDAR, H. B.; VERMA, A. K. Effect of molecular weight heterogeneity on drug encapsulation efficiency of gelatin nano-particles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 45, n. 1, p. 42–48, 25 set. 2005.

SCHERER, R.; WAGNER, ; DUARTE, ;; GODOY, ; Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. **Rev. Bras. Pl. Med**, p. 442–449, 2009.

SEIXAS, P. T. L.; CASTRO, ; SANTOS, ;; CARDOSO, ; Controle fitopatológico do *Fusarium subglutinans* pelo óleo essencial do capim-citronela (*Cymbopogon nardus* L.) e do composto citronelal. **Rev. Bras. Pl. Med**, p. 523–526, 2011.

SILK. **Microcápsulas**. Disponível em: <<http://drsilk.blogspot.com/2013/08/ler-com-o-nariz-o-novo-papel-do-papel.html>>. Acesso em: 28 nov. 2022.

SILVA, N.; OLIVEIRA, F. F.; COSTA, L. C. B.; BIZZO, H. R.; OLIVEIRA, R. A.; Caracterização química do óleo essencial da erva cidreira (*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.) cultivada em Ilhéus na Bahia. **53Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu**, v. 8, n. 3, p. 52–55, 2006.

SILVEIRA, A. M.; JOSÉ, V.; BRITO, O. **Óleo Essencial De Eucalipto**. Disponível em: <<https://www.ipef.br/publicacoes/acervohistoricoexterno/DocumentosFlorestaisNumero17.pdf>>. Acesso em: 15 jan. 2023.

SILVERIO, G. B.; SAKANAKA, L. S.; ALVIM, I. D.; SHIRAI, M. A.; GROSSO, C. R. F. Production and characterization of alginate microparticles obtained by ionic gelation and electrostatic adsorption of concentrated soy protein. **Ciencia Rural**, v. 48, n. 12, 2018.

SILVERSTEIN, M.; WEBSTER, F.; KIEMLE, D. J. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 7. ed. New York: John Wiley & Sons, Inc, 2005.

SILVERSTEIN, R.; WEBSTER, F.; KIEMLE, D. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. [s.l.] LTC, 2019.

SINAN. **Dados Epidemiológicos Sinan**. Disponível em: <<https://portalsinan.saude.gov.br/dados-epidemiologicos-sinan>>. Acesso em: 4 fev. 2024.

SOARES, B. **Microencapsulação do óleo de Sacha Inchi por coacervação complexa empregando biopolímeros**. 2018. UFRRJ, Seropédica, 2018.

SOLOMON, B.; SAHLE, F. F.; GEBRE-MARIAM, T.; ASRES, K.; NEUBERT, R. H. H. Microencapsulation of citronella oil for mosquito-repellent application: Formulation and in vitro permeation studies. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 80, n. 1, p. 61–66, jan. 2012.

STEFANI, G. P.; PASTORINO, A. C.; CASTRO, A. P. B. M.; FOMIN, A. B. F.; JACOB, C. M. A. Repelentes de insetos: recomendações para uso em crianças. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 27, n. 1, p. 81–89, mar. 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-05822009000100013&lng=pt&tlng=pt>.

STÖTZEL, C.; MÜLLER, F. A.; REINERT, F.; NIEDERDRAENK, F.; BARRALET, J. E.; GBURECK, U. Ion adsorption behaviour of hydroxyapatite with different crystallinities. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 74, n. 1, p. 91–95, 1 nov. 2009.

SUAVE, J.; DALL'AGNOL, E.; PEZZIN, A. P. T.; SILVA, D. A. K.; MEIER, M. M.; SOLDI, V. Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente**, v. 7, n. 2, p. 12–20, 2006.

SZEJTLI, J.; SZENTE, L. Molecular Encapsulation Of Volatile, Easily Oxidizable Labile Flavour Substances By Cyclodextrins. **Acta Chimica Academiae Scientiarum Hungaricae**, p. 27–46, 1979. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/283007806>>.

TIWARI, P. Recent advances and challenges in trichome research and essential oil biosynthesis in *Mentha arvensis* L. **Industrial Crops and Products**, v. 82, p. 141–148, 1 abr. 2016.

VALERIANO, C.; PICCOLI, R. H.; CARDOSO, M. G.; ALVES, E. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 1, p. 57–67, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722012000100009&lng=pt&tlng=pt>.

VANILSSEN, A. **Mikroorganisma patogen**. EUA: Cambridge Stanford Books, 2020. v. 1

VELLOSO, F. T. **Desenvolvimento e caracterização de microcápsulas de alginato/quitosana contendo ácido retinóico e óleo de babaçu**. 2008. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.

VIEIRA, A. F. **Obtenção E Caracterização De Beads Como Sistema Transportador Para O 5cn05-Lsvm**. 2014. Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2014.

VIEIRA, J. N.; GONÇALVES, C. L.; VILLARREAL, J. P. V.; GONÇALVES, V. M.; LUND, R. G.; FREITAG, R. A.; SILVA, A. F.; NASCENTE, P. S. Chemical composition of essential oils from the apiaceae family, cytotoxicity, and their antifungal activity in vitro against candida species from oral cavity. **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, n. 3, p. 432–437, 2019.

WANDREY, C.; BARTKOWIAK, A.; HARDING, S. E. **Materials for Encapsulation**. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4419-1008-0_3>.

WEZGOWIEC, J.; TSIRIGOTIS-MANIECKA, M.; SACZKO, J.; WIECKIEWICZ, M.; WILK, K. A. Microparticles vs. Macroparticles as curcumin delivery vehicles: Structural studies and cytotoxic effect in human adenocarcinoma cell line (Iovo). **Molecules**, v. 26, n. 19, 1 out. 2021.

WIBOWO, D. P.; FEBRIANI, Y.; RIASARI, H.; AULIFA, D. L. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils of medicinal plant *Cymbopogon nardus* from Lembang West Java. **Research Journal of Chemistry and Environment**, v. 22, jan. 2018.

WIŃSKA, K.; MAĆZKA, W.; ŁYCZKO, J.; GRABARCZYK, M.; CZUBASZEK, A.; SZUMNY, A. Essential Oils as Antimicrobial Agents—Myth or Real Alternative? **Molecules**, v. 24, n. 11, p. 2130, 5 jun. 2019. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/24/11/2130>>.

XU, Q.; CZERNUSZKA, J. T. Controlled release of amoxicillin from hydroxyapatite-coated poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres. **Journal of Controlled Release**, v. 127, n. 2, p. 146–153, 21 abr. 2008.

ZAEDDI, H. EI; TOMÉ, J. M.; SÁNCHEZ, Á. C.; BURLÓ, F.; BARRACHINA, Á. A. C. Volatile composition of essential oils from different aromatic herbs grown in mediterranean regions of Spain. **Foods**, v. 5, n. 2, p. 1–13, 1 jun. 2016.

ZANETTI, B. G. **Desenvolvimento de microesferas de carbamazepina cisando o prolongamento da liberação do fármaco**. 2001. UFSC, Florianópolis, 2001.

ZANOTTO, A. W.; KANEMARU, M. Y. S.; DE SOUZA, F. G.; DUARTE, M. C. T.; DE ANDRADE, C. J.; PASTORE, G. M. Enhanced antimicrobial and antioxidant capacity of *Thymus vulgaris*, *Lippia sidoides*, and *Cymbopogon citratus* emulsions when combined with mannosylerythritol a lipid biosurfactant. **Food Research International**, v. 163, 1 jan. 2023.

ZARA, A. L. de S. A.; SANTOS, S. M. Dos; FERNANDES-OLIVEIRA, E. S.; CARVALHO, R. G.; COELHO, G. E. Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiologia e serviços de saúde: revista do Sistema Unico de Saúde do Brasil**, v. 25, n. 2, p. 391–404, 1 abr. 2016.

ZHANG, J.; WANG, Q.; WANG, A. In situ generation of sodium alginate/hydroxyapatite nanocomposite beads as drug-controlled release matrices. **Acta Biomaterialia**, v. 6, n. 2, p. 445–454, 2010.