



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE FARMÁCIA**

THAIS MARIANA BEZERRA TAVARES

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOEMULSÃO DE ÓLEO DE
CANOLA CONTENDO MIRCENO COM POTENCIAL ANTIMICROBIANO E
ANTIOXIDANTE**

**NATAL
2023**

THAIS MARIANA BEZERRA TAVARES

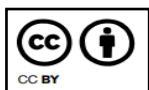
DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOEMULSÃO DE ÓLEO DE
CANOLA CONTENDO MIRCENO COM POTENCIAL ANTIMICROBIANO E
ANTIOXIDANTE

Monografia apresentada ao curso de graduação em Farmácia, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Arnóbio Antônio da Silva Júnior
Coorientadora: Ma. Renata de Carvalho Feitosa.

NATAL

2023



Esta obra está licenciada com uma licença *Creative Commons* Atribuição 4.0 Internacional. Permite que outros distribuam, remixem, adaptem e desenvolvam seu trabalho, mesmo comercialmente, desde que creditem a você pela criação original. Link dessa licença: creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN
Sistema de Bibliotecas - SISBI
Catalogação de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Setorial do Centro Ciências da Saúde - CCS

Tavares, Thais Mariana Bezerra.

Desenvolvimento e caracterização de nanoemulsão de óleo de canola contendo mirceno com potencial antimicrobiano e antioxidante / Thais Mariana Bezerra Tavares. - Natal, 2023. 57f.: il.

Trabalho de Conclusão de Curso - TCC (graduação) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Farmácia. Natal, RN, 2023.

Orientação: Arnóbio Antônio da Silva Júnior.

Coorientação: Renata de Carvalho Feitosa.

1. Sistema de liberação - TCC. 2. Nanoemulsão - TCC. 3. Antimicrobiano - TCC. 4. Antioxidante - TCC. I. Silva Júnior, Arnóbio Antônio da. II. Feitosa, Renata de Carvalho. III. Título.

RN/UF/BSCCS

CDU 615.011

THAIS MARIANA BEZERRA TAVARES

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOEMULSÃO DE ÓLEO DE
CANOLA CONTENDO MIRCENO COM POTENCIAL ANTIMICROBIANO E
ANTIOXIDANTE

Monografia apresentada ao curso de graduação em Farmácia, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovada em: 29/12/23

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Arnóbio Antônio da Silva Júnior

Orientador(a)

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE

Ma. Mariana Alves Farias

Membro interno

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE

Ma. Thayse Silva Medeiros

Membro externo

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, cuja graça iluminou meu caminho, fortaleceu minha fé e me deu a força necessária para enfrentar os desafios.

Gostaria de expressar minha profunda gratidão ao Prof. Dr. Arnóbio Antônio da Silva Júnior, sua orientação, paciência e expertise foram cruciais para o desenvolvimento deste trabalho.

Quero agradecer a Renata de Carvalho, obrigada por compartilhar seu conhecimento e por ser uma inspiração constante na minha jornada acadêmica.

À Héliida Maravilha, não tenho palavras para descrever quão grata eu sou a você, obrigada por todo o conhecimento compartilhado.

À minha família, meu porto seguro, em especial ao meu pai, João Maria Tavares, e à minha mãe, Cristiane Márcia, expresso minha eterna gratidão. Vocês foram minha fonte de inspiração, me incentivando a persistir mesmo diante das maiores dificuldades.

Ao meu marido, Douglas de Paula Gobi, quero agradecer por ser meu parceiro incansável, sua compreensão, apoio emocional e incentivo constante foram meu principal apoio nos momentos desafiadores.

Um enorme agradecimento ao CNPq, pela oportunidade de ganhar um conhecimento científico imensurável.

Sou eternamente grata a equipe do laboratório Tecbiofar, agradeço por todo o aprendizado e por ter conquistado amigos para vida toda.

" We have nothing to lose, nothing to gain, nothing we desired anymore- except to make our lives into a work of art".

RESUMO

Com o aumento da expectativa de vida da população mundial e o crescimento no número de idosos, tornam-se cada vez mais frequentes os casos de lesões cutâneas. Um dos principais fatores que agrava esse quadro clínico e prolonga o tempo de cicatrização das feridas é a infecção bacteriana local, tornando necessário um tratamento eficaz para essas situações. Entretanto, a falta de produtos com eficácia cientificamente validada dificulta o tratamento dessas lesões. Nesse contexto, a utilização de óleos vegetais, que possuem propriedades antibacterianas e cicatrizantes intrínsecas, mostra-se como uma alternativa promissora para o tratamento de feridas, potencializando a eficácia de ativos que podem atuar de forma sinérgica. O óleo vegetal de canola possui atividade antibacteriana, anti-inflamatória e acelera a cicatrização e regeneração dos tecidos, enquanto o mirceno, é um terpeno que tem potencial antibacteriano, anti-inflamatório e antioxidante. O objetivo desse estudo foi desenvolver nanoemulsões (NEs) a base de óleo de canola para incorporação do mirceno e analisar as suas características físico-químicas. As formulações foram obtidas por técnicas de baixo cisalhamento à temperatura ambiente, realizando-se testes de variação para estabelecer as melhores concentrações de óleo de canola e tensoativos Tween80 e Span80. As NEs contendo 2,5% de óleo de canola e 0,5% de mirceno obtidas ao final do estudo de otimização, apresentaram tamanho de gotícula de aproximadamente 75 nm; índice de polidispersão de 0,217; potencial zeta de - 16,0 mV e pH de 5,4. A formulação se mostrou estável durante todo o estudo de estabilidade (28 dias), mantendo seu aspecto macroscópico homogêneo e um perfil monomodal de distribuição de diâmetro das gotículas. A formulação obtida se mostrou promissora e tem potencial para ser testada em relação a sua atividade antimicrobiana e antioxidante.

Palavras-chave: Sistema de liberação. Nanoemulsão. Antimicrobiano. Antioxidante.

ABSTRACT

With the increase in life expectancy of the world population and the growth in the number of elderly people, cases of skin lesions are becoming increasingly frequent. One of the main factors that worsens this clinical picture and prolongs the healing time of wounds is local bacterial infection, making effective treatment necessary for these situations. However, the lack of products with scientifically validated efficacy makes the treatment of these injuries difficult. In this context, the use of vegetable oils, which have intrinsic antibacterial and healing properties, appears to be a promising alternative for treating wounds, enhancing the effectiveness of active ingredients that can act synergistically. Canola vegetable oil has antibacterial, anti-inflammatory activity and accelerates tissue healing and regeneration, while myrcene is a terpene that has antibacterial, anti-inflammatory and antioxidant potential. The objective of this study was to develop nanoemulsions (NEs) based on canola oil to incorporate myrcene and analyze its physicochemical characteristics. The formulations were obtained using low shear techniques at room temperature, carrying out variation tests to establish the best concentrations of canola oil and Tween80 and Span80 surfactants. The NEs containing 2.5% canola oil and 0.5% myrcene obtained at the end of the optimization study had a droplet size of approximately 75 nm; polydispersity index of 0.217; zeta potential of - 16.0 mV and pH of 5.4. The formulation proved to be stable throughout the stability study (28 days), maintaining its homogeneous macroscopic appearance and a monomodal profile of droplet diameter distribution. The formulation obtained shows promise and has the potential to be tested in relation to its antimicrobial and antioxidant activity.

Keywords: Release system. Nanoemulsion. Antimicrobial. Antioxidant

Sumário

1.	INTRODUÇÃO	1
2.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	3
2.1	Cicatrização de feridas	3
2.2	Feridas crônicas e agudas	4
2.3	Infecções cutâneas e formação de biofilme antibacteriano	5
2.4	Características gerais da <i>Brassica napus L.</i>	6
2.5	Composição química do óleo de canola e propriedades	7
2.6	Mirceno.....	8
2.7	Nanoemulsões.....	9
2.8	Método de emulsificação por inversão de fases	11
2.9	Nanoemulsões de óleo de canola presentes na literatura científica	12
3.	OBJETIVOS.....	13
3.1	Objetivo geral.....	13
3.2	Objetivos específicos	13
4.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
4.1	Materiais.....	14
4.2	Preparo das nanoemulsões por agitação magnética.....	14
4.3	Preparo das nanoemulsões por agitação mecânica	14
4.4	Diâmetro das partículas e Índice de Polidispersão (IPd).....	15
4.5	Potencial Zeta (PZ).....	15
4.6	Potencial hidrogeniônico	16
4.7	Variação da proporção de tensoativos.....	16
4.8	Variação da concentração de óleo de canola	17
4.9	Variação da concentração de Mirceno	17
4.10	Estabilidade físico-química das NEs	17
4.11	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	17
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	19
5.1	Desenvolvimento da nanoemulsão.....	19
5.2	Variação da proporção de tensoativos.....	20
5.3	Variação da concentração da mistura de tensoativos.....	22
5.4	Variação da concentração do óleo de canola	24
5.5	Variação da concentração do mirceno	26
5.6	Escalonamento da formulação	27
5.7	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	28
5.8	Estabilidade das nanoemulsões de óleo de canola contendo mirceno	29

6. CONCLUSÃO.....	31
REFERÊNCIAS.....	32
ANEXO 1.....	38

1. INTRODUÇÃO

A pele é o maior órgão do corpo e é a principal barreira de defesa contra fatores externos (Tottoli et al.,2020).Portanto, a conservação da integridade dessa barreira protetora é de extrema importância.Nesse contexto, feridas são descritas como interrupções na continuidade do tecido do corpo, podendo variar em extensão e sendo causadas por traumas físicos, químicos, mecânicos ou desencadeadas por condições médicas. Constata-se que quando a fase inflamatória de cicatrização é prolongada, a ferida pode se tornar crônica, afetando a qualidade de vida de muitos indivíduos. Assim, entende-se que diante da presença de uma lesão, é essencial realizar tratamentos que têm como objetivos a ferida contra a entrada de micro-organismos, que podem causar infecções e estimular o processo de recuperação (Potter,Perry et al 2014)

De acordo com declaração feita pela Organização Mundial da Saúde (OMS),nos últimos anos, as infecções bacterianas tornaram-se uma grande preocupação global, atingindo inclusive os indivíduos vítimas de lesões cutâneas .Todavia, de acordo com o relatório anual da OMS ,o desenvolvimento e a comercialização de novos medicamentos tópicos antibacterianos e cicatrizantes para tratamento de infecções cutâneas têm sido lentos, enquanto os patógenos continuam a se adaptar e evoluir rapidamente (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE ,2022).

Os tratamentos convencionais de feridas se limitam apenas a reparação da ferida e não na restauração do tecido lesionado, técnicas conhecidas como “restitutio ad integrum”(Borena et al., 2015). Nesse sentido, a higienização da ferida, o desbridamento e a aplicação de curativos tem sido a forma principal de tratamento de feridas.Além disso outros métodos convencionais de tratamento são o uso de antibióticos realizado por meio da aplicação de pomadas antibióticas locais ,terapias celular e de enxertos na pele (Díaz et al., 2021). No entanto, todas estas terapias acima mencionadas não são satisfatórias para todos os tipos de feridas, concluindo dessa maneira que existe uma necessidade urgente de desenvolvimento de novas terapias(Kolimi et al., 2022).

Na busca por tratamentos eficazes, a nanotecnologia aparece como alternativa ,otimizando as propriedades dos ativos presentes em óleos vegetais e essenciais, com o objetivo de produzir medicamentos tópicos cicatrizantes e antibacterianos

(Ferreira et al., 2021). Por sua vez, o processo de preparo de nanoemulsão revela-se como uma alternativa para aprimorar as propriedades de óleos selecionados, esta técnica permite a incorporação estratégica de ativos, desencadeando uma revolução no tratamento de diversas condições de saúde. Diante disso, torna-se plausível o desenvolvimento de nano nanoemulsões para tratar feridas cutâneas e prevenir infecções (Maurya et al., 2021).

Tendo em vista que os produtos naturais são fontes potentes de uma ampla gama de substâncias com atividade biológica, a inclusão de óleos de origem vegetal com propriedades antioxidantes e cicatrizantes em nano emulsões representa uma abordagem promissora para o desenvolvimento de novos medicamentos para tratar lesões (Oliveira, 2020).Dentre os óleos vegetais, o óleo de canola, obtido a partir das sementes da planta *Brassica napus* L., é conhecido por suas propriedades químicas e biológicas notáveis (Tolentino et al., 2014).

O tratamento de feridas pode ser realizado com aplicação tópica de nanoformulações contendo ativos cicatrizantes, que proporcionem a redução da inflamação, efeito antioxidante, e efeito antimicrobiano. Nesse âmbito, o β -mirceno é um monoterpene com propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anti-inflamatórias (Paduch et al., 2007).Dessa forma, devido as propriedades benéficas do óleo de canola e do mirceno, torna-se interessante a produção de uma nanoemulsão cicatrizante que una as propriedades do óleo vegetal e do terpeno com objetivo de prevenir infecções em feridas e melhorar a cicatrização.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Cicatrização de feridas

A hemostasia é o primeiro estágio e pode durar até dois dias, nesse estágio ocorre o fechamento da ferida por coagulação devido a constrição dos vasos sanguíneos e a formação de um tampão plaquetário e a liberação de fatores de crescimento que iniciam o próximo estágio que é a inflamação. Em seguida, o estágio da inflamação envolve a migração de células imunes, como neutrófilos e macrófagos, que removem bactérias e detritos da ferida e também envolve a liberação de citocinas e fatores de crescimento que estimulam a angiogênese e a proliferação celular. Necessariamente, a proliferação celular é o estágio em que ocorre reconstrução da ferida com novos tecidos por meio da granulação, epitelização, contração da ferida e síntese de colágeno. Por conseguinte ocorre o estágio da remodelação, que é o processo de maturação e reorganização do tecido cicatricial. Portanto, Naturalmente, o processo cicatricial de feridas é didaticamente dividido em quatro fases: hemostasia, inflamação, proliferação ou granulação e transformação ou maturação (Carlos et al., 2007).

O tratamento de feridas em pacientes necessita da aplicação de um ativo, ou da ação sinérgica de ativos que promovam a cicatrização dessas lesões, proporcionando principalmente, redução da inflamação, efeito antioxidante, e efeito antimicrobiano (Comino-sanz et al., 2021). Os tocoferóis presentes no óleo de canola são formas de vitamina E com propriedades antioxidantes que tem potencial protetor de feridas contra os radicais livres incluindo espécies reativas de oxigênio que podem prejudicar as células e retardar o processo de cicatrização (Skowron et al., 2018). Por sua vez, a vitamina E é um antioxidante lipofílico formado por um grupo de 8 moléculas lipídicas isoméricas, com estrutura caracterizada por anel 6 cromano polar e cadeia lateral prenil. Essa estrutura da vitamina E possibilita a doação de um hidrogênio do grupo hidroxila do anel aos radicais lipídicos dando origem ao tocoferil. A fração alfa presente no tocoferol é antioxidante e anti-inflamatório (Keller; Fenske, 1998). Os ácidos graxos ômega 3 (ácido linolênico) e ômega 6 (ácido oleico) presentes no óleo de canola, são bem conhecidos por suas propriedades anti-inflamatórias e de regeneração tecidual (GIL, 2002; ISHAK et al., 2019a). Além disso, também atuam

como uma barreira de proteção dos tecidos mais internos, mantendo a hidratação da pele ao impedir a perda de água transepidermal (MANHEZI; BACHION; PEREIRA, 2008). Concomitantemente, os ácidos graxos também inibem a produção de eicosanóides pró-inflamatórios, espécies reativas de oxigênio e citocinas, influenciando assim a resposta inflamatória e possivelmente a cicatrização de feridas (PERINI et al., 2010).

Atualmente, já existem testes de efeito protetor dos ácidos graxos, como observou Declair V; A aplicação tópica de ácido linoleico 1,6g resultou em sucesso ao ser utilizada para prevenir úlceras de pressão em pacientes hospitalizados (Declair, V et al; 1997). Ademais, as atividades antioxidantes associadas ao óleo de canola, também está associada a presença de ácido sináptico e seus derivados (Zacchi; Eggers, 2008). De modo geral, o óleo de canola possui compostos que tem potencial cicatrizante, antioxidante e protetor, que podem ser benéficos para tratamento tópico em feridas; O ativo que atuará em sinergia com o óleo de canola, é o mirceno, um monoterpene volátil, com propriedades anti-inflamatórias e analgésicas (Rao; Menezes; Viana, 1990). Como foi abordado posteriormente na literatura, o mirceno atua reduzindo a produção de óxido nítrico produzido por polissacarídeos em macrófagos e realizando a supressão de genes inflamatórios (Basu; Hazra, 2006). Assim, o efeito anti-inflamatório e analgésico na ferida, diminuirá o desconforto do paciente, enquanto a cicatrização está em andamento.

2.2 Feridas crônicas e agudas

Feridas agudas e crônicas são distinguidas principalmente pela sua duração e processo de cicatrização. As feridas agudas são tipicamente causadas por eventos traumáticos, como cortes ou queimaduras, e têm uma duração limitada. Elas seguem um processo de cicatrização bem definido e costumam cicatrizar em um período relativamente curto (Rokosik; Dwiecki; Siger, 2019). Por outro lado, as feridas crônicas persistem por um longo período de tempo, muitas vezes devido a condições médicas subjacentes, como diabetes ou doenças vasculares. O processo de cicatrização nessas feridas fica comprometido, resultando em uma duração prolongada e cicatrização incompleta (Al-Mubarak; Al-Haddab, 2013). As feridas crônicas são caracterizadas pelo acúmulo de macrófagos pró-inflamatórios, consequentes de uma

resposta inflamatória desregulada. Além disso, também ocorre excesso de metaloproteíases (Caley; Martins; O'toole, 2015). Algumas metaloproteíases podem retardar a cicatrização de feridas ao inibir a proliferação celular. Portanto o acúmulo de metaloproteíases liberadas por macrófagos pode dificultar o processo da cicatrização, retardando o fechamento da ferida crônica (Mohan et al., 2002).

2.3 Infecções cutâneas e formação de biofilme antibacteriano

As infecções de feridas representam uma preocupação significativa na área da saúde, pois podem levar a complicações sérias, como a cronificação da ferida e infecção com criação de biofilme bacteriano. O tempo alongado de cicatrização, acontece principalmente devido a desregulação imunológica, que consequente de problemas de saúde enfrentados pelo indivíduo. A desregulação causa um acúmulo de macrófagos e liberação de metaloproteíases que impedem o início da fase proliferativa da (Raziyevaraz et al., 2021). Então acontece uma inflamação contínua que impede a finalização da cicatrização, gerando um ciclo de inflamação contínua e risco infeccioso (Apolinário et al., 2023).

Quando o período de cicatrização sofre um prolongamento as feridas tornam-se crônicas. Um principal óbice nesse cenário é a formação de biofilmes bacterianos, películas microbianas que aderem à superfície da ferida, causando infecções e dificultando o progresso da cicatrização (Raziyevaraz et al., 2021). Há um conjunto crescente de evidências que sugerem que os agregados de biofilme bacteriano desempenham um papel no atraso na cicatrização de feridas crônicas (Malone et al., 2017).

O biofilme bacteriano, por sua vez, é formado por um conjunto de microorganismos complexos como bactérias e fungos, que se agrupam e secretam matriz extracelular que cria um ambiente protetor que torna difícil a eliminação dessas bactérias por meio de antimicrobianos (Cowan, 2011). Além disso, os tipos de feridas cutâneas mais associadas ao biofilme incluem queimaduras, úlceras de pressão, infecções de sítio cirúrgico e úlceras de pé diabético (Borojeny et al., 2020). Nesse sentido, uma das bactérias mais associadas a infecções de feridas é o *Staphylococcus aureus*, uma espécie de bactéria Gram-positiva conhecida por sua capacidade de colonizar a pele e mucosas humanas (Tong et al., 2015). Quando ocorre um ferimento

na pele, especialmente se houver contaminação, o *S. aureus* pode invadir os tecidos subjacentes e causar infecção.

O tratamento de feridas infectadas é um desafio clínico e o manejo inclui a drenagem adequada do conteúdo purulento da ferida, a cultura e sensibilidade aos antibióticos para orientar a terapia antimicrobiana, e o uso de antibióticos eficazes (Kwak et al., 2017). O atraso na cicatrização da ferida a torna vulnerável a infecções e aparecimento de biofilmes bacterianos. Biofilmes bacterianos são um tecido composto por microorganismos que se forma em cima da ferida aberta. Os microorganismos que compõem o biofilme produzem matriz extracelular, tornando difícil sua eliminação (Clinton; Carter; Frykberg; Banks, 2015). O tratamento preventivo contra infecções e formação de biofilmes em feridas é de enorme importância. Por conseguinte, as infecções de feridas representam um desafio significativo para a prática clínica. Dessa forma, a pesquisa contínua é necessária para entender melhor os mecanismos de infecção em feridas e desenvolver novas estratégias terapêuticas.

2.4 Características gerais da *Brassica napus* L.

A planta canola, *Brassica napus*, é uma espécie pertencente ao gênero *Brassica*. Ela é comumente conhecida como canola ou colza e faz parte da família *Brassicaceae*, também conhecida como *Cruciferae*, família botânica caracterizada por flores de quatro pétalas que se assemelham a uma cruz, daí o nome "*Cruciferae*" (Embrapa Brasil, 2021). A canola é uma oleaginosa desenvolvida a partir do meio do cruzamento interespecífico que ocorreu de forma espontânea entre a *Brassica rapa* L., syn. *Campestris* e a *Brassica oleracea* (Embrapa Brasil, 2021). A canola era originalmente cultivada na Europa e na Ásia há séculos, para produção de óleo. No entanto, no passado, o seu alto teor de ácido erúico era potencialmente tóxico para o consumo humano e animal, limitando seu uso (Aukema; Campbell, 2011; Maheshwari; Kovalchuk, 2016). Então ocorreram hibridizações e melhorias genéticas específicas com objetivo de reduzir os níveis de ácido erúico e glucosinolatos que eram considerados indesejáveis (Aukema; Campbell, 2011).

A *Brassica napus* L. apresenta raiz do tipo pivotante, caule ereto, folhas carnudas, lisas e de coloração verde-azulada, sendo que as folhas inferiores apresentam pecíolos, já as superiores estão ligadas diretamente ao caule. A inflorescência é do

tipo rácimo, ou seja, os pedicelos das flores ficam distribuídos em diferentes alturas na mesma haste floral. Tem flores de quatro pétalas e coloração amarela, o fruto é uma vagem deiscente do tipo síliqua, que pode medir entre 5 e 10 cm, a síliqua (seca) apresenta uma ponta curta de formato cônico (Canola Growers Manual [Manitoba Canola Growers]).Atualmente, o óleo de canola é amplamente utilizado na culinária devido à sua composição saudável de ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados. É utilizado para fritar, refogar, cozinhar e preparar saladas, e também é utilizado na produção de alimentos processados e de biocombustíveis (Aukema;Campbell, 2011).A extração do óleo de canola é um processo que possibilita a obtenção do óleo vegetal a partir das sementes de canola. Primeiro, as sementes são colhidas e limpas para remover impurezas, depois elas são trituradas para obtenção do óleo, o aquecimento é aplicado para facilitar a extração, também podem ser utilizados solventes para ajudar na extração (Portillo-López et al., 2021). Então, o óleo é refinado por precipitação com água e ácido orgânico para remover gomas e ácidos graxos livres. Por fim, o óleo é então separado da massa de sementes e refinado para obter um produto final de alta qualidade (Kouba; Mhemdi;Vorobiev, 2016).

2.5 Composição química do óleo de canola e propriedades

O óleo de canola é um componente, utilizado principalmente no setor alimentício. Um dos principais componentes do óleo de canola é o ácido α -linolênico, que varia em concentração de 6% a 14% (Nandasiri et al., 2020) .Outro componente significativo é o ácido oleico, que compreende de 50% a 65% do óleo de canola (Kouba; Mhemdi; Vorobiev, 2016).O óleo de canola também se destaca por conter baixos níveis de ácidos graxos saturados, sua quantidade de ácidos graxos saturados é inferior a 7%.Além disso, a proporção de α - γ -tocoferóis no óleo de canola é geralmente de 1:2.Os tocoferóis presentes no óleo de canola são formas de vitamina E com propriedades antioxidantes que ajudam a proteger as células do corpo contra danos causados pelos radicais livres (Skowron et al., 2018). Outro destaque é a proporção de formas livres para esterificadas de fitoesteróis, que é de 1:1 no óleo de canola. Ademais, o óleo de canola apresenta uma proporção de dois para um (2,1) entre os ácidos graxos linoleico e linolênico(Nandasiri et al., 2020).Além das propriedades antioxidantes do óleo de canola,os ácidos graxos presentes são bem

conhecidos por suas propriedades antiinflamatórias e de facilitação da regeneração tecidual (Ishak et al.; Paik; Tong; Smolenski, 2023).

Um estudo foi realizado para avaliar as propriedades físico-químicas e testar a atividade antibacteriana do óleo de canola pelo método de difusão em disco, e após a medição do diâmetro da zona de inibição ao redor do disco impregnado com o óleo, foi possível comprovar que o óleo de canola possui potencial atividade antimicrobiana contra os quatro microrganismos testados, sendo mais eficaz contra *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* (Batoool et al., 2018). Ademais, o estudo concluiu que o óleo de canola tem boas qualidades físico-química, como baixo índice de acidez, baixo índice de peróxido, alto índice de iodo, alto índice de saponificação, baixa densidade, baixa viscosidade e alto ponto de fumaça (Batoool et al., 2018).

2.6 Mirceno

Ultimamente, tem-se observado que o vasto "domínio químico" de compostos presentes em fontes naturais, como óleos essenciais e extratos de plantas tem ganhado destaque em pesquisas atuais. Nesse contexto, os metabólitos secundários, estão sendo estudados como candidatos promissores para produção de novos medicamentos agentes antimicrobianos, antioxidantes e anti-inflamatórios (Jalal et al., 2021). Nesse sentido, podemos caracterizar o β mirceno como um monoterpene, substância orgânica volátil e natural originada a partir de plantas e frutas como tomilho, manga, cannabis e em algumas ervas aromáticas, como o alecrim e a erva-cidreira (Gomes-Carneiro et al., 2005). Atualmente, variadas linhas de pesquisa tem estudado as potenciais propriedades do β -mirceno como antioxidante, anti-inflamatório e antimicrobiano. Nesse sentido, vários resultados que comprovam essas atividades medicinais foram encontrados, apesar de serem necessários mais estudos aprofundados para confirmação.

Primeiramente, foi concluído que o Mirceno possui propriedades analgésicas significativas (Rao; Menezes; Viana, 1990) e também atua como protetor das mucosas gástricas ao desencadear a ativação de antioxidantes essenciais, incluindo GSH, NO, SH, GPX e GR, inibindo a formação de úlceras (Bonamin; Rocha; Tavares, 2020). Além disso, a literatura científica sustenta as propriedades anti-inflamatórias do mirceno, destacando significativa redução na

produção de óxido nítrico induzida por lipopolissacarídeos (LPS) em macrófagos (Tavares et al., 2010). O efeito é acompanhado pela redução da ativação de NF- κ B, JNK e p38 induzida por IL-1 β , assim como pela supressão da expressão de genes inflamatórios, como iNOS, e catabólicos (Rufino et al., 2015). Além dessas descobertas, o β -mirceno também revelou propriedades antibacterianas notáveis demonstrando eficácia contra as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella entérica* (Wang; Chen; Hou, 2019). Apesar dos estudos citados, ainda são necessárias mais pesquisas a respeito das propriedades medicinais do beta mirceno.

A atuação dos terpenos melhora a permeação de tensoativos na ao alterar a permeabilidade através de ligações de hidrogênio entre as (Amin et al., 2008). (Schafer et al., 2023). Portanto, espera-se que uma nanoemulsão de óleo incorporada com terpeno tenha um efeito de aumento de permeação durante o uso tópico. Por fim, além de eficazes potenciadores da permeação de ativos na pele, os terpenos também são considerados seguros para uso (GRAS) pela Food and Drug Administration (Chen et al., 2016).

2.7 Nanoemulsões

As Nanoemulsões (NEs) são sistemas coloidais com gotículas de tamanhos variáveis de 20 a 400 nm, compostos por duas fases distintas, a externa ou meio de dispersão, e a interna ou meio disperso (Rai et al., 2018). Portanto fundamentalmente, as nanoemulsões consistem em sistemas compostos por três elementos: fase aquosa, fase oleosa e uma combinação de emulsificantes (emulsionante/co-emulsionante). As nanoemulsões do tipo O/A possuem água em maior quantidade, atuando como meio de dispersão, enquanto o óleo estará disperso nesse meio aquoso, em contrapartida as nanoemulsões A/O tem óleo em maior quantidade, como meio de dispersão e água dispersa no meio. Já, nos sistemas múltiplos, são encontrados os dois tipos de nanoemulsões no sistema, podendo ser A/O/A ou O/A/O, dessa forma as gotículas das diferentes fases coexistem no meio (He; Wang; Zhang, 2003).

Devido a fatores devido a fatores termodinâmicos e cinéticos, a nanoemulsão pode desestabilizar e sofrer fenômenos como, agregação de gotas, amadurecimento de Ostwald e coalescência. Nesse sentido, a agregação de gotículas tem como

consequência a separação de fases (BouchemaL et al., 2004). No entanto, para manter a estabilidade e prevenir a ação desses fenômenos é necessário selecionar o tensoativo eficaz por meio do sistema de Griffin, também conhecido como Sistema de Classificação de Hidrofobicidade de Griffin. A escolha é feita com base nas características hidrofílicas e lipofílicas do tensoativo em relação à fase dispersa (geralmente uma fase oleosa) e à fase contínua (geralmente uma fase aquosa) da emulsão (Rocha,et al; 2010).No sistema Griffin, substâncias prioritariamente mais polares, com maior afinidade pela água, possuem valores de Equilíbrio Hidrófilo Lipófilo (EHL) mais elevados, próximo a vinte, enquanto substâncias mais apolares, com características lipofílicas, possuem EHL mais baixo, próximo a zero. Nesse sentido, NEs do tipo O/A são formadas pela adição de tensoativos com EHL na faixa de 8-14; enquanto em sistemas A/O são utilizados tensoativos com EHL entre 3-8. Dessa forma, utilizando o sistema, é possível atribuir um valor de EHL específico ao óleo e é feita uma mistura de tensoativos com objetivo de obter o EHL aproximado da fase oleosa (BAJERSKI et al., 2016).

Diversos métodos de produção de nanoemulsões podem ser empregados,esses métodos são classificados como alta energia e baixa energia. Como métodos de alta energia podemos citar: Os métodos que utilizam homogeneizadores de alta pressão, microfluidizadores ou homogeneizadores ultrassônicos para produzir as nanoemulsões,enquanto que os métodos de baixa energia,como emulsificação espontânea e método por inversão de fases tem como mecanismo de produção a alteração dos componentes ,como água,óleo e tensoativos (McClements;Rao,2011). Podemos concluir que independentemente de seus métodos de produção, as nanoemulsões possuem inúmeras vantagens, como permitir a biodisponibilidade de substâncias bioativas lipofílicas (Marsuki; Wahab; Hamid, 2019).Além disso, as nanoemulsões possibilitam a encapsulação de bioativos para proteger contra a oxidação e volatilização (McClements; Rao; 2011). O desenvolvimento de medicamentos em escala nanométrica, tem capacidade de melhorar a solubilidade, estabilidade e direcionamento de ativos cicatrizantes e antimicrobianos (Patra et al., 2018).

Nesse contexto, está sendo elaborado um estudo revisão com o propósito de documentar a prevalência de nanoemulsões antimicrobianas na literatura, com enfoque em nanoemulsões derivadas de óleos essenciais e vegetais, que tem sido

destaque em pesquisas atuais. A tabela elaborada para o estudo de revisão encontra-se como ANEXO 1 desse trabalho. A partir da análise dos dados da revisão, nota-se que existem diversos óleos com atividade antibacteriana que podem ser utilizados como matriz de nanosistemas. Predominantemente, as cepas testadas foram *S.aureus*, *S.epidermidis* e *E.coli*; enquanto os testes realizados foram em grande maioria por ágar difusão(TAVARES et al., 2023a).

Assim, as NEs podem ser uma rota promissora para o desenvolvimento de medicamentos antibacterianos, incluindo aqueles focados em cepas resistentes. Porém, são necessários mais estudos quanto a associação de ativos antibacterianos à essas NEs, bem como uma análise mais aprofundada quanto à relação entre o tamanho de gotícula e ação antimicrobiana, dependendo da via de administração. A partir desse levantamento de dados preliminar, foi elaborado um resumo expandido para o evento “3rd International Electronic Conference on Antibiotics” que foi publicado (Tavares et al., 2023).

2.8 Método de emulsificação por inversão de fases

As nanoemulsões produzidas por inversão de fases podem ser feitas pelo método de fase transicional ou pelo método catastrófico. O método de inversão de fase de tipo transicional ocorre por mudanças na formulação, como alteração de parâmetros físico-químicos do tensoativo, na fase oleosa ou na fase aquosa, as quais podem alterar a afinidade do tensoativo pelas fases, enquanto o método catastrófico acontece após alteração nos compostos presente, mantendo-se constante os tensoativos (McClements;Rao, 2011).

Vale destacar que o método de formação da nanoemulsão por método de inversão de fases pode variar; por exemplo, a composição pode ser mantida constante enquanto a temperatura é alterada (temperatura de inversão de fase ou método PIC) ou a temperatura pode ser mantida constante e a composição pode ser alterada (McClements;Rao, 2011). Durante o processo de produção de NEs por inversão de fases do tipo catastrófica, inicialmente ocorre a adição da fase aquosa em uma fase orgânica contendo óleo e tensoativos. A partir disso, gotículas de água são formadas no interior da fase oleosa e após o aumento no número dessas

gotículas, ocorre a formação de emulsões múltiplas e depois a inversão de fases, resultando em uma nanoemulsão (Brooks; Richmond, 1994).

2.9 Nanoemulsões de óleo de canola presentes na literatura científica

O desenvolvimento de nanoemulsões de óleo de canola já é presente na literatura científica. Em um estudo conduzido Smolenski e colaboradores (2023), nanoemulsões de óleo de canola foram preparadas por um método de alta energia, utilizando um sonicador. Em contrapartida, o preparo de nanoemulsões por métodos de baixa energia são considerados mais econômicos. No estudo supracitado, utilizou-se as razões de 18% de surfactante Tween 80 e 8% de concentração de óleo de canola. Em comparação com o desenvolvimento da nanoemulsão de óleo de canola contendo mirceno, pode-se perceber que necessitou-se de uma menor quantidade de Tween80 para produzir a nanoemulsão. Contudo, foi necessário utilizar uma associação de Tween80 e Span80 para atingir os resultados esperados.

Outro artigo produzido por Khalid e colaboradores (2023), buscou incorporar a vitamina D em nanoemulsões de óleo de canola, as nanoemulsões foram preparadas após a criação de um diagrama de fases pseudo-ternário para seleção das concentrações dos tensoativos e de óleo. Nesse sentido, em comparação com as concentrações selecionadas no artigo supracitado, neste estudo foi necessário uma quantidade menor de tensoativos e de óleo para atingir a formação de nanoemulsões estáveis.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Obter e caracterizar um sistema nanoemulsionado de óleo de canola com mirreno por técnica de baixo cisalhamento determinando a composição adequada das fases aquosa, oleosa e surfactantes que possibilitem uma formulação otimizada.

3.2 Objetivos específicos

- Desenvolvimento da nanoemulsão branca de óleo de canola para incorporar o mirreno
 - Variação da proporção de tensoativos;
 - Variação da concentração da mistura de tensoativos;
 - Variação da concentração do óleo de canola;
 - Variação da concentração e incorporação do mirreno.
- Escalonamento da formulação.
- Caracterização físico-química das formulações:
 - Análise do diâmetro hidrodinâmico de gotícula pelo espalhamento dinâmico de luz (Dynamic Light Scattering);
 - Análise do índice de polidispersão (IPd);
 - Análise do potencial zeta por mobilidade eletroforética;
 - Análise do pH das formulações;
 - Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).
- Estudo da estabilidade das nanoemulsões desenvolvidas.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Os insumos utilizados no estudo foram o óleo de canola (Cargill), Polisorbato 80 (Tween 80®, Sigma Aldrich - São Paulo, Brasil), Monooleato de Sorbitano (Span 80®, Sigma Aldrich - São Paulo, Brasil), Mirceno (Sigma Aldrich - São Paulo, Brasil), Glicerina (Dinâmica – São Paulo, Brasil) e água purificada ($> 0,1 \mu\text{S}$, $\text{COT} \leq 0,50 \text{ mg/L}$) pelo aparelho de osmose reversa, modelo OS50 LX (Gehaka, São Paulo, Brasil).

4.2 Preparo das nanoemulsões por agitação magnética

As nanoemulsões foram obtidas por meio do método de inversão de fase (MIF) com gotejamento da fase aquosa (FA), composta por água purificada, utilizando seringa de 10 mL. A fase oleosa foi composta por: óleo de canola, glicerina, Polisorbato 80 (Tween 80®) e Monooleato de Sorbitano (Span 80®). Tween 80® e Span 80® são tensoativos não iônicos e possuem, respectivamente, EHL 15 e EHL 4,3 (Rêgo, 2019). Os tensoativos selecionados, Tween 80 e Span 80 tem capacidade de formar um filme interfacial estável, otimizando os processos de produção de nanoemulsões (Hou; Papadopoulos, 1997). A fase oleosa da formulação foi pesada em balança analítica utilizando béqueres padronizados de 25 LI. Foram adicionadas barras magnéticas aos béqueres para homogeneização das fases durante 3 minutos em agitador magnético (Gehaka, Brasil). Depois, foi realizado o gotejamento da FA no béquer contendo a FO. Esse gotejamento acontece sob agitação em velocidade de 1500 rpm e após fim do gotejamento a agitação continua durante 30 minutos.

4.3 Preparo das nanoemulsões por agitação mecânica

A formulação otimizada da nanoemulsão foi escalonada para 100 g, produzida em um agitador mecânico de hélice RW 20 digital (IKA, Alemanha) equipado com propulsor de 4 lâminas (R1342). Durante o preparo, a fase oleosa foi homogeneizada

inicialmente por 10 minutos a 600 rpm, depois a fase aquosa foi gotejada sob a fase oleosa enquanto a agitação estava a 1.200 rpm com auxílio de uma bureta por 10 minutos. Após a finalização do gotejamento, as formulações continuaram sob agitação por 30 minutos. O mirceno foi adicionado a 0,5% após o preparo da nanoemulsão branca, que sofreu agitação mecânica por 10 minutos para incorporação do terpeno.

4.4 Diâmetro das partículas e Índice de Polidispersão (IPd)

Os valores do IPD, indicam homogeneidade da distribuição de tamanhos, podendo variar de 0 a 1. Então, os valores próximos de 0 pressupõem um sistema monodisperso, e valores maiores que 0,7 indicando uma distribuição com tamanhos de gotas muito variados (Nemem et al. 2011). Os valores de IPD das nanoemulsões brancas foram de $0,195 \pm 0,014$ e após incorporação do mirceno o IPD resultou em $0,217 \pm 0,040$. As amostras foram diluídas em proporções variáveis usando água purificada e em temperatura de 25 °C. Então, o aparelho Malvern Zetasizer Nano ZS (Malvern Ins. Ltd, Reino Unido) do Laboratório de Sistemas Dispersos – LaSiD, do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) foi utilizado para obtenção do diâmetro médio das partículas e do índice de polidispersão por meio da técnica de espalhamento dinâmico de luz (EDL), utilizando um comprimento de onda de 659 nm e ângulo de detecção de 173° das nanoemulsões. Então, os resultados da análise foram disponibilizados no software Zeta Plus® Particle Sizing.

4.5 Potencial Zeta (PZ)

O potencial zeta (ζ) é definido como a distância medida a partir da superfície da partícula. Na superfície de uma partícula existe uma camada fortemente ligada ao núcleo, a camada de Stern e outra mais difusa, a camada de Goy-Chapman. Ao se movimentar, as cargas das partículas vão se separar da camada de Goy-chapman e a força que torna possível essa remoção das partículas é definida como potencial zeta (Komaiko; McClements, 2016). O potencial zeta possui grande importância na estabilidade das nanoemulsões, pois influencia as interações eletrostáticas entre as partículas dispersas e é influenciado por uma combinação de fatores relacionados às

partículas coloidais e às condições do meio dispersante, como a temperatura, o surfactante, a carga das partículas, pH e a concentração de íons (Shakeel et al., 2013) Pode-se concluir que um alto potencial zeta está associado a uma maior estabilidade coloidal, enquanto um baixo potencial zeta pode levar à instabilidade da nanoemulsão, com aglomeração e separação de fases (De Clermont-Gallerande., 2001)

A análise do potencial zeta pode prever a estabilidade de nanoemulsões. Dessa forma, é importante avaliar o resultado da análise do PZ para descobrir se existem demasiadas forças repulsivas, pois estas têm potencial para evitar fenômenos de separação de fases (Fronza; Campos; Teixeira, 2004). A leitura do potencial zeta foi realizada pelo aparelho Malvern Zetasizer Nano ZS (Malvern Ins. Ltd, Reino Unido) com avaliação da mobilidade eletroforética das gotículas com a aplicação de uma força de campo de $5,9 \text{ V cm}^{-1}$ de acordo com a equação de Helmholtz-Smoluchowski (Equação 2) Nesse sentido, em triplicata, as amostras sofreram diluição de 1 de nanoemulsão para 99 de água e posteriormente foram lidas em temperatura ambiente ($25 \text{ }^\circ\text{C}$) e os valores foram expressos em média \pm desvio padrão ($n = 3$).

4.6 Potencial hidrogeniônico

A leitura do pH, foi realizada com o pHmetro de modelo Gehaka PG 2000, em temperatura ambiente ($25 \text{ }^\circ\text{C}$), no Laboratório de Tecnologia e Biotecnologia Farmacêutica - Tecbiofar, do departamento de Farmácia da UFRN.

4.7 Variação da proporção de tensoativos

A formulação foi produzida em duplicata contendo 5% do óleo de canola, 10% de glicerina e 5% da mistura de tensoativos, foi utilizada para esse teste variações de Tween 80® e Span 80® nas seguintes proporções: 0:100, 25:75, 50:50, 75:25 e 100:0. Durante a formação das nanoemulsões o tween 80, apesar de ser um tensoativo hidrofílico, estava presente inicialmente na fase oleosa, e após a adição da fase aquosa, suas moléculas sofreram migração para a fase mais favorável.

Todavia, é importante destacar que a migração do tween 80 para a fase aquosa deve ocorrer em tempo ideal para evitar uma desordem na interface das emulsões internas (McClements; Decker; Weiss, 2007). Após 24 horas, o aspecto visual das amostras foi analisado encontrando cremagem em todas as duplicatas, porém um halo menor na proporção de 75:25 e 85:15. Então as leituras de diâmetro e IPd foram realizadas para essas amostras para detectar a melhor entre as duas duplicatas, por fim selecionando a proporção de 75:25 para dar continuidade aos experimentos.

4.8 Variação da concentração de óleo de canola

A variação da concentração de óleo de canola foi de 1%, 2,5%, 3,5%, 7% e 10% usando a formulação composta por 10% de glicerina e 5% da mistura de tensoativos, desta 75% de Tween 80® e 25% de Span80®. Depois, todas as amostras em duplicata foram analisadas visualmente, após 24 horas da produção e foram avaliados o IPD e o diâmetro das partículas das formulações preparadas.

4.9 Variação da concentração de Mirceno

A variação da concentração de Mirceno foi de 1% e 0,5% usando a formulação composta por 10% de glicerina e 5% da mistura de tensoativos, desta 75% de Tween 80® e 25% de Span80®, e 2,5% de óleo de canola. Foram feitas 4 duplicatas, pois quatro foram colocadas na geladeira e 4 deixadas em temperatura ambiente, sendo cada duplicata em concentrações diferentes de mirceno.

4.10 Estabilidade físico-química das NEs

As formulações preparadas por agitação mecânica foram observadas durante um período de 4 semanas em que foi realizada a análise macroscópica e a leitura do diâmetro hidrodinâmico, IPd e potencial zeta no equipamento Malvern Zetasizer Nano ZS (Malvern Ins. Ltd, Reino Unido). Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados são apresentados como média \pm desvio padrão.

4.11 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

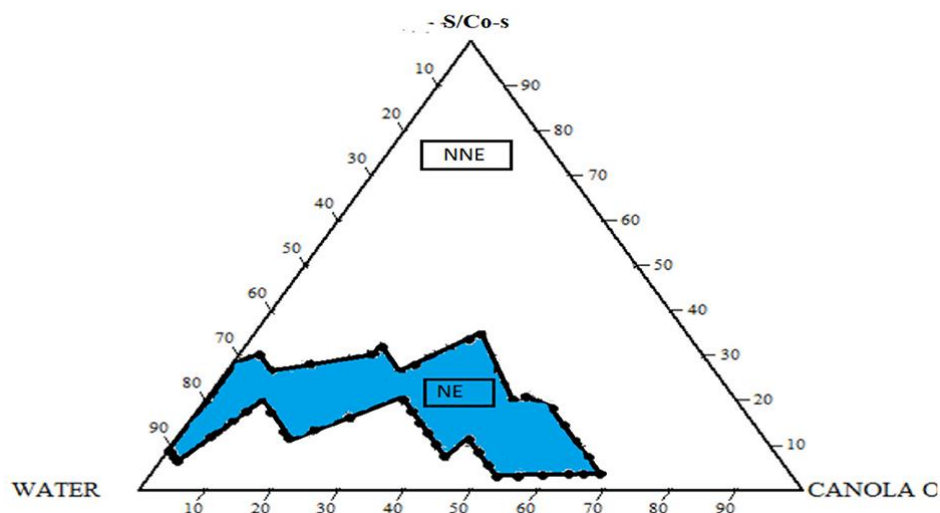
A técnica de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier foi utilizada para analisar e identificar os compostos químicos da nanoemulsão com base na absorção da luz infravermelha. O feixe de luz infravermelha passa através da amostra e gera um espectro, do qual pode-se criar um gráfico que vai representar picos de absorção de compostos, fornecendo informações sobre a interação química dos compostos (Coates, 2000). Nesse sentido, a região de infravermelho do espectro eletromagnético encontra-se no comprimento de onda entre 2.500 nm e 25.000 nm (número de onda entre 4.000 cm^{-1} a 400 cm^{-1}). As frequências das radiações nesta região correspondem em energia às frequências vibracionais naturais das ligações nas moléculas orgânicas, tornando possível comparar os espectros conhecidos e desconhecidos, com objetivo de identificar os compostos presentes na amostra (Hong et al., 2021).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Desenvolvimento da nanoemulsão

As nanoemulsões óleo em água (O/A) foram formuladas mediante o método de inversão de fases, método de baixa energia por agitação magnética. Os tensoativos escolhidos para esse processo foram o Polisorbato 80 e o monooleato de sorbitano, enquanto a glicerina foi selecionada como cossolvente. A seleção de glicerina como cossolvente tem como objetivo evitar a separação de fases e aprimorar a integridade da formulação. Como evidenciado em estudos anteriores, o cossolvente desempenha um papel crucial na redução da tensão interfacial óleo/água e na diminuição do grau de segregação entre os compostos apolares. Isso resulta em uma melhoria na taxa de difusão dos tensoativos para a fase aquosa durante o processo de inversão de fase (De Medeiros et al., 2020; Streck et al., 2016). Para encontrar as concentrações de óleo, co-surfactantes e surfactante que resultassem na otimização da formação da nanoemulsão, pode ser utilizado um diagrama de fases pseudoternário, semelhante ao elaborado por Khalid et al., 2023 (Figura 1). Todavia, não foi preciso utilizar na formulação da nanoemulsão de óleo de canola contendo mirceno, pois as concentrações selecionadas foram de acordo com experiências anteriores desenvolvidas em pesquisas sobre nanoemulsões.

Figura 1. Diagrama de fases pseudoternárias.



Fonte: Khalid et al., 2023.

Embora várias formulações pudessem ser escolhidas a partir da região de formação de nanoemulsão presente no diagrama de fases, apenas algumas

concentrações de óleo e tensoativos foram selecionadas para teste durante o desenvolvimento da nanoemulsão no presente trabalho. A seleção das concentrações testadas se baseou em nanoemulsões de óleo de canola presentes na literatura e no diagrama de fases. Após a seleção das concentrações, iniciou-se a produção das NEs pelo método de inversão de fases. A inversão de fases acontece, de início pela difusão da fase aquosa em uma fase oleosa, formando em seguida emulsões múltiplas O/A/O pela difusão da fase oleosa em gotículas de água estas gotículas começam a sofrer coalescência, causando a inversão de fases e formação da nanoemulsão final (De Medeiros et al., 2020). Em seguida, após os resultados satisfatórios dos testes, foi utilizado um agitador mecânico com impelidor tipo hélice com finalidade de aumentando a sua reprodutibilidade.

O agitador em hélice tem um melhor cisalhamento que o oferecido pelo agitador magnético, além disso, as concentrações após o escalonamento foram fatores que contribuíram para otimização da nanoemulsão; A formação da nanoemulsão é composição-dependente e se forma por auto-associação, então ao utilizar o agitador mecânico em hélice pode-se obter vantagens, devido a maior taxa de cisalhamento durante a agitação, o que leva a redução do tamanho de gotícula e do IPD, além de uma melhor reprodutibilidade e facilidade de padronização dos processos.

5.2 Variação da proporção de tensoativos

Os testes de variação de proporção foram realizados com concentração de óleo fixada em 5% e de glicerina 10%. Como critério de seleção, para a determinação da proporção de mistura de tensoativos para obtenção das nanoemulsões a serem produzidas, não foram selecionadas as concentrações de óleo de canola e tensoativos que promoveram a separações de fases nas nanoemulsões. A cremagem resultante da instabilidade físico-química ocorre quando a mistura de tensoativos não conseguem estabilizar o sistema nanoemulsionado e as gotículas de óleo sobem, devido sua menor densidade (Asadinezhad et al., 2019). Devido a isso, foi escolhida como proporção de tensoativos a que apresentou visualmente um menor halo de cremagem: a de 75 de Tween 80® para 25 de Span 80® (**Figura 2**). Em seguida, essa proporção foi fixada para realização dos testes de concentração dos tensoativos.

Na **tabela 1**, é possível visualizar os dados relacionados aos testes de proporção de tensoativos.

Tabela 1. Características físico-químicas das formulações de nanoemulsão de óleo de canola obtidas a partir da variação da razão entre Tween 80® e Span 80®, mantendo fixas as porcentagens de óleo (5%), mistura de tensoativos (5%) e glicerina (10%).

Notas : Tween ®: polisorbato 80; Span ® : Monooleato de sorbitano; DP: desvio padrão; IPD : índice de polidispersão; NR : Não realizado. Todas as análises foram realizadas 24 horas após o preparo das amostras. Os valores obtidos são expressos em média \pm desvio padrão (n = 2).

Figura 2. Aspecto macroscópico das formulações após variação da proporção de tensoativos.



Autoria própria (2023).

5.3 Variação da concentração da mistura de tensoativos

Visando encontrar a melhor concentração de tensoativos capazes de

Amostra	Razão Tween: Span	Aspecto Visual	Diâmetro (nm) ± DP	IPD ± DP
A	100:0	Cremagem	NR	NR
B	85:15	Cremagem	142,3±24,7	0,285±0,033
C	75:25	Cremagem	129,7±2,7	0,267±0,050
D	50:50	Cremagem	NR	NR
E	25:75	Cremagem	NR	NR
F	15:85	Cremagem	NR	NR
G	0:100	Cremagem	NR	NR

estabilizar as nanoemulsões que seriam produzidas pelo método EIP, foram realizados testes de variação da concentração de tensoativos. Inicialmente, a concentração de óleo foi fixada em 5% e os tensoativos testados foram Tween 80 e Span 80. Os resultados apresentados foram obtidos 24 horas após produção das nanoemulsões. Observou-se instabilidade nas formulações em que foram utilizadas concentrações de tensoativos muito abaixo ou muito elevado em relação à concentração de óleo de canola.

Vale salientar que os tensoativos são responsáveis por estabilizar a nanoemulsão, reduzindo a tendência de agregação entre moléculas e aumentando a dispersibilidade (Chong et al., 2018; Komaiko; Mcclements, 2016). Então é indispensável encontrar a concentração de tensoativo mais apropriada para estabilizar a nanoemulsão. Os tensoativos não-iônicos como Tween 80, são surfactantes com capacidade de realizar adsorção nas superfícies das gotículas, resultando em uma proteção contra a agregação das gotas (Kralova; Sjoblom, 2009).

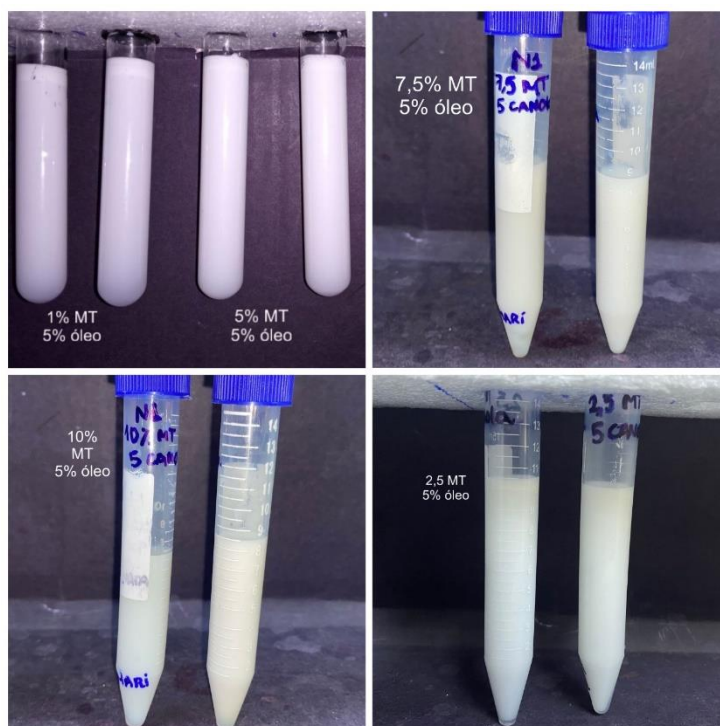
Como critério de seleção, para a determinação da faixa de concentração de tensoativo para obtenção das nanoemulsões a serem produzidas nos estudos posteriores, não foram selecionadas as concentrações de tensoativos que

promoveram cremagem nas nanoemulsões. Então foram feitos testes fixando a proporção de tensoativos a 75:25 e utilizando a mistura de tensoativos nas concentrações de 1%, 2,5%, 3,5%, 5%, 7,5% e 10%.

É importante realizar a variação de concentração de tensoativos por que os tensoativos são os compostos responsáveis pela estabilidade das nanoemulsões, esses compostos anfífilos criam uma película interfacial que estabiliza o sistema (Fernandez et al., 2004). Além disso, a variação da concentração possibilita encontrar o melhor valor de EHL (Nagy et al., 2022).

Todas as nanoformulações sofreram cremagem. Por sua vez, a cremagem é resultado das diferenças de densidade entre as fases aquosa e oleosa, que conseqüentemente faz as gotículas de menor tamanho da fase oleosa subirem, em relação a fase aquosa (Cassol et al; 2016). Por fim, observou-se um menor halo de cremagem e estabilidade na nanoemulsão branca contendo 5% de mistura de tensoativos e 75:25 de proporção (**Figura 3**). Assim, corrobora-se que a seleção do tensoativo e sua concentração ideal tem grande importância na estabilidade das nanoemulsões. Na **tabela 2** pode-se observar a caracterização físico-química das nanoemulsões durante os testes de variação da concentração de mistura tensoativos.

Figura 3. Aspecto macroscópico das formulações após variação da concentração da mistura de tensoativos.



Fonte: Autoria própria (2023).

Tabela 2. Características físico-químicas das formulações de nanoemulsão de óleo de canola obtidas a partir da variação da concentração da mistura tensoativos, mantendo fixas a proporção de tensoativos sendo a proporção entre Tween 80[®]: Span 80[®] (75:25) e glicerina (10%) .

Amostra	MT (%)	Aspecto visual
H	1,0	Cremagem
I	3,5	Cremagem
J	5,0	Cremagem
K	7,5	Cremagem
L	10	Cremagem

Notas: MT: mistura de tensoativos. Todas as análises foram realizadas 24 horas após o preparo das amostras. Os valores obtidos são expressos em média \pm desvio padrão (n = 3).

5.4 Variação da concentração do óleo de canola

Objetivando as melhores condições para obtenção de nanoemulsões estáveis, formulações de nanoemulsões O/A foram produzidas, variando-se a concentração de óleo de canola. Vale destacar que a concentração de óleo de canola tem fundamental importância, pois altera diretamente o tamanho de gotícula e seu IPD. Durante o teste da variação da concentração de óleo de canola, foi observado que, o tamanho de partícula na proporção de 2,5% de óleo de canola e 5% da mistura de tensoativos é a ideal, apresentando o menor índice de polidispersão e menor tamanho de gotícula.

Então, foram fixadas a proporção de 75:25 de Tween80 e Span80, 5% de concentração da mistura de tensoativos e 10% de glicerina. Durante os testes de variação da concentração de óleo de canola as concentrações de óleo testadas 1%; 2,5%; 5%; 7,5%; 10% resultaram em cremagem. Obteve-se apenas uma amostra estável na concentração de 2,5% de óleo de canola, enquanto as outras concentrações sofreram cremagem. As cremagens resultantes no teste da concentração do óleo aconteceram porque as concentrações utilizadas eram inadequadas para estabilizar o sistema nanoemulsionado. A qualidade de uma nanoformulação depende de muitos fatores, como a viscosidade do óleo, o equilíbrio lipófilo-hidrófilo do tensoativo e a miscibilidade do óleo (Enger; Ferreira ; Koester, 2008).

A maioria dos óleos comestíveis tem densidade menor que a da água, motivo de possíveis cremagens. Todavia, esse fenômeno deve ser evitado para não causar floculação ou coalescência, resultando na separação de fases (McClements; Decker; Weiss, 2007). Dessa forma, o teste da variação da concentração do óleo de canola possibilita descobrir quais concentrações de óleo podem ser usadas sem que ocorra instabilidade físico-química na formulação, o que é imprescindível no desenvolvimento de uma nanoemulsão. Pode-se analisar visualmente a variação da concentração de óleo de canola após 24 horas na **Figura 4** e na **Tabela 3** podemos observar as características das nanoemulsões após 24 horas.

Figura 4. Aspecto macroscópico das formulações após variação da concentração de óleo de canola.



Fonte: Autoria própria (2023).

Tabela 3. Características físico-químicas das formulações de nanoemulsão de óleo de canola obtidas a partir da variação da concentração de óleo, mantendo fixas a mistura de tensoativos (5%), sendo a proporção entre Tween 80[®]:Span 80[®] (75:25) e glicerina(10%) .

Amostra	Óleo de canola (%)	Aspecto visual	Diâmetro (nm) ± DP	IPD ± DP
H	1,0	Cremagem	NR	NR
I	2,5	Homogêneo	64,8±0,9	0,258±0,017
J	5,0	Cremagem	NR	NR
K	10,0	Cremagem	NR	NR

Notas: DP: desvio padrão; IPD: índice de polidispersão; NR : Não realizado. Todas as análises foram realizadas 24 horas após o preparo das amostras. Os valores obtidos são expressos em média ± desvio padrão (n = 3).

5.5 Variação da concentração do mirceno

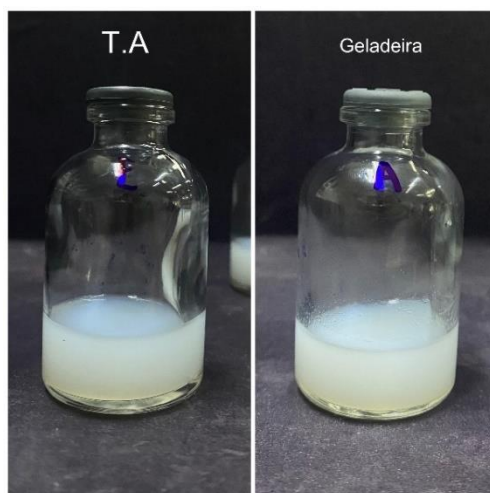
Os terpenos possuem uma gama de propriedades biológicas, incluindo as ações antimicrobiana, fungicida, antiviral, antihiperlipidêmica, anti-inflamatória e antiparasitária. Apesar disso, apresentam desafios durante sua incorporação, devido sua volatilidade e hidrofobicidade. Todavia, os tensoativos podem ajudar na solubilização dos terpenos, possibilitando sua incorporação (Liu;Chang;Hung, 2011). Sendo assim, com as concentrações fixas de 2,5% de óleo de canola e 5% de mistura de tensoativos e 10% de glicerina, foram feitos testes de incorporação do mirceno. O método de incorporação se procedeu com a adição dos terpenos após a formação da nanoemulsão, seguida por agitação por 10 minutos. Então foram preparadas triplicatas com 1% de mirceno e com 0,05% para análise após 24 horas. Como resultado percebe-se que a nanoemulsão que continuou estável foi a que continha a concentração inicial de 0,05% de mirceno.

O mirceno é um terpeno volátil em altas temperaturas, então foi realizado um teste comparativo onde uma amostra foi colocada na geladeira e outra em temperatura ambiente para analisar os efeitos da temperatura na nanoemulsão de óleo de canola com mirceno. As amostras que ficaram em temperatura ambiente continuaram com estabilidade. Todavia, as amostras da geladeira sofreram com a cremagem.

De acordo com a análise visual, é aceitável constatar que a temperatura exerce algum impacto para a estabilidade das amostras. A temperatura baixa pode afetar a viscosidade da fase aquosa da nanoemulsão, podendo ocorrer separação de fases devido à imiscibilidade de fases com diferentes viscosidades (Sun et al., 2023). Além disso, em temperaturas mais baixas, a solubilidade de alguns compostos lipídicos ou emulsionantes pode diminuir, levando à separação de fases (Yang et al.,

2021). Portanto, é de grande importância estudar a influência da temperatura na estabilidade da nanoemulsão. Abaixo, na figura 5, podemos perceber as características visuais da nanoemulsão contendo mirceno. Ademais, a análise do tamanho do IPD das formulações podem ser observados na tabela 4.

Figura 5. Teste de armazenamento da NEMIR a temperatura ambiente (esquerda) e em geladeira (2 a 4°C) (direita).



Fonte: autoria própria (2023).

A análise físico-química das nanoemulsões preparadas variando a concentração de mirceno está detalhada na tabela 4:

Tabela 4. Características físico-químicas das formulações de nanoemulsão de óleo de canola obtidas a partir da variação da concentração de mirceno, mantendo fixas a mistura de tensoativos (5%), sendo a proporção entre Tween 80[®]:Span 80[®] (75:25) e glicerina(10%) e de óleo de canola (2,5%).

Amostra	Mirceno (%)	Aspecto visual	Diâmetro (nm) ± DP	IPD ± DP	PZ (mV) ±DP	pH
H	1,0	Cremagem	NR	NR	NR	NR
I	0,5	Homogêneo	75,40± 4,89	0,217 ±0,040	-16,0± 0,8	5,39

Notas: DP: desvio padrão; IPD: índice de polidispersão; PZ : potencial zeta; pH : potencial hidrogeniônico; NR : Não realizado. Todas as análises foram realizadas 24 horas após o preparo das amostras. Os valores obtidos são expressos em média ± desvio padrão (n = 3).

5.6 Escalonamento da formulação

Com o objetivo de melhorar a reprodutibilidade do preparo das NEs foi realizado um escalonamento de 10 g para 100 gramas.

As características físico-químicas das formulações obtidas no agitador mecânico estão presentes na **tabela 5**.

Tabela 5. Características físico-químicas das formulações de nanoemulsão de óleo de canola branca e com mirceno obtidas por agitação mecânica.

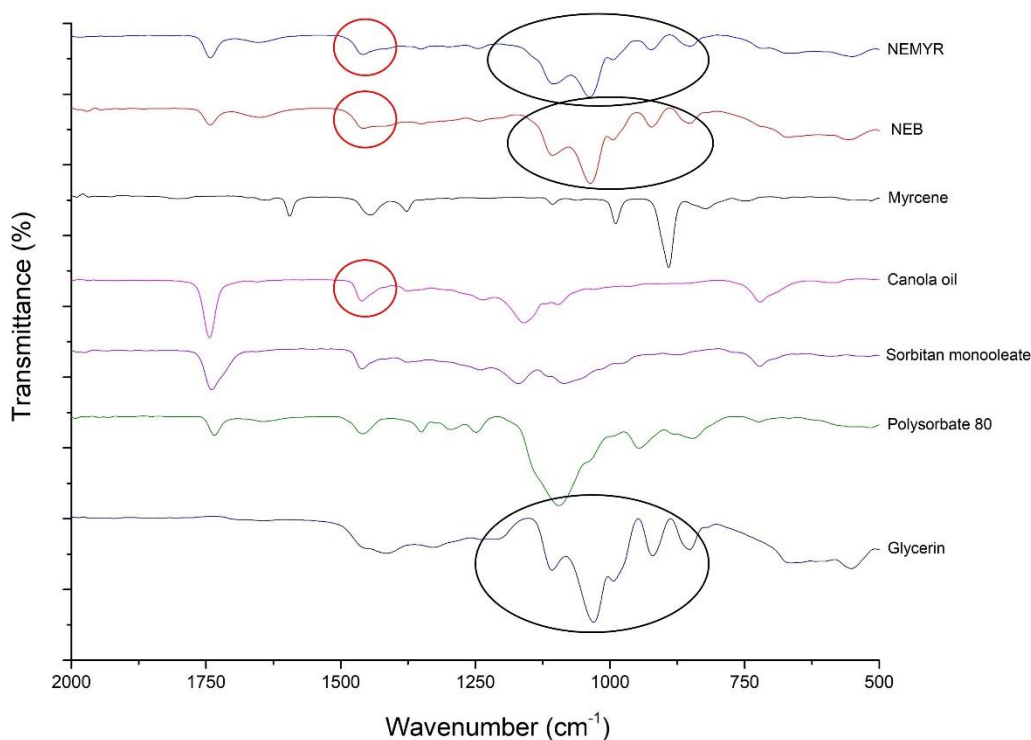
Formulação	Diâmetro (nm) ± DP	IPd ± DP	PZ (mV) ± DP	pH ± DP
NEB	70,83 ± 1,09	0,195 ± 0,014	-15,2 ± 2,0	5,30 ± 0,02
NEMIR	75,40 ± 4,89	0,217 ± 0,040	-16,0 ± 0,8	5,39 ± 0,01

Notas: DP: desvio padrão; IPd: índice de polidispersão; PZ : potencial zeta; pH : potencial hidrogeniônico. Todas as análises foram realizadas 24 horas após o preparo das amostras. Os valores obtidos são expressos em média ± desvio padrão (n = 3).

5.7 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A análise da amostra por técnica de espectroscopia FTIR possui desafios como a limitação de análise de misturas. Dessa forma, quanto mais complexo for a composição da amostra, maior é a dificuldade de interpretação do espectro e atribuição das bandas (Hong et al., 2021). De acordo com os resultados obtidos (**Figura 6**), não é possível afirmar a presença do composto mirceno, pois o seu pico pode estar sobreposto pelo pico dos compostos constituintes da glicerina e do óleo de canola. Dessa forma, como perspectiva futura, serão feitas análises por cromatografia gasosa para determinar a presença do mirceno.

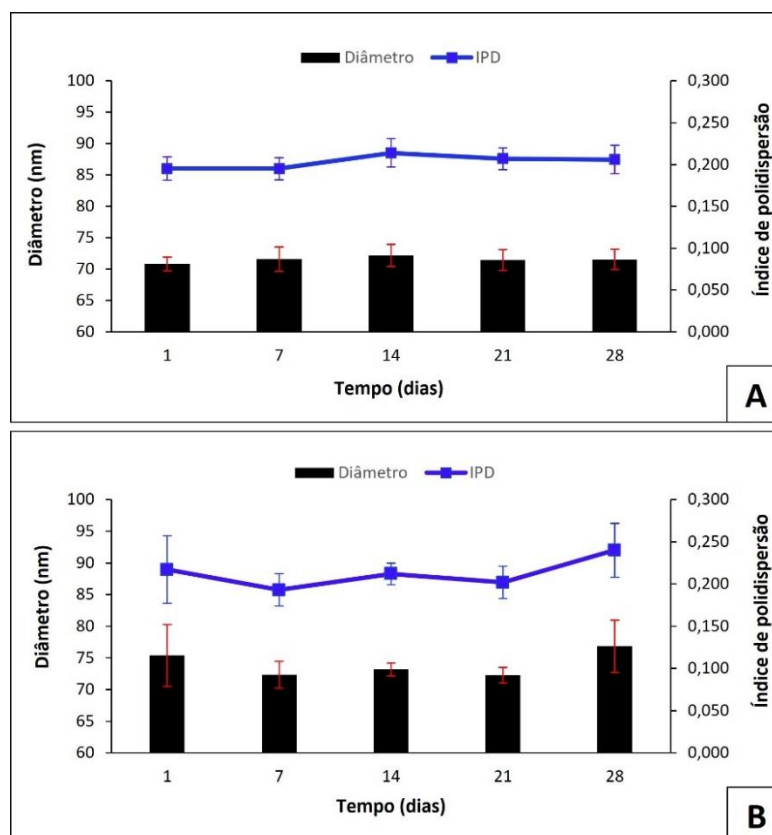
Figura 6. Gráfico de FTIR dos insumos presentes na composição das nanoemulsões e das nanoemulsões branca (NEB) e com mirceno (NEMYR).



5.8 Estabilidade das nanoemulsões de óleo de canola contendo mirceno

Foram produzidas duas triplicatas com 100 gramas, sendo 3 NEs brancas e 3 NEs contendo mirceno. As nanoemulsões foram analisadas após 24 horas no equipamento Zetasizer. As nanoemulsões com Tween 80 e Span 80 obtiveram diâmetro por volta de 74 nm, adequando-se assim os padrões de nanoemulsão. O potencial zeta de todas as amostras foi negativo, sendo de $-15,2 \pm 0,014$ o da NE Branca e de $-16,0 \pm 0,8$ o da NE com mirceno.. Todas as nanoemulsões formadas se mantiveram visualmente estáveis após 4 semanas (**Figura 7**). Um estudo publicado anteriormente por A Khalid e contribuintes, realizou o desenvolvimento de nanoemulsões de óleo de canola brancas resultou em tamanhos de gotículas entre 60,12 a 62,27, porém, as nanoemulsões incorporadas com vitamina D obtiveram tamanhos de gotículas de 93,92 a 185,5, que foram analisados por 28 dias.

Figura 7. Diâmetro de gotícula e índice de polidispersão das nanoemulsões brancas (A) e nanoemulsões com micerno (B) ao longo de 28 dias de estudo.



Fonte: Autoria própria (2023).

Sabendo-se que o tamanho das gotículas em escala nanométrica influencia a estabilidade, sendo o tamanho menor o mais estável (Baril et al., 2012). Em contraste, os resultados obtidos durante a análise da estabilidade da nanoemulsão de óleo de canola contendo mirceno manteve a mesma faixa de tamanho das NEs brancas 74 nm. As diferentes necessidades de quantidades de tensoativos para estabilizar as nanoemulsões de óleo de canola podem estar associadas ao cossolvente. A glicerina foi adicionada apenas no sistema da nanoemulsão de óleo de canola com mirceno. Em comparação com a nanoemulsão desenvolvida por Al Khalid, a produção da nanoemulsão contendo vitamina D prosseguiu sem a adição de um cossolvente. Vale ressaltar que o cossolvente desempenha um papel crucial na redução da tensão interfacial óleo/água, tornando o sistema mais estável e melhorando a taxa de difusão dos tensoativos para a fase aquosa durante o processo de inversão de fase (De Medeiros et al., 2020; STRECK et al., 2016). Ao longo das semanas de estudo da estabilidade, o potencial zeta de ambas as nanoemulsões em questão permaneceram negativos.

6. CONCLUSÃO

Nesse estudo, formulações de nanoemulsões de óleo de canola para incorporação do terpeno mirceno foram analisadas por vários parâmetros. O uso de 5% de mistura de tensoativos, 2,5% de óleo de canola e 10% de glicerina resultou em uma nanoemulsão estável e com propriedades nanométricas bem definidas, obtida a partir de uma técnica de baixo cisalhamento. A incorporação do mirceno na concentração de 0,5% apresentou-se potencial para como alternativa para o tratamento de feridas. Como perspectivas futuras, pretende-se realizar a quantificação do mirceno através de cromatografia gasosa, analisar a morfologia das nanoemulsões através de microscopia eletrônica de transmissão e realizar os testes antioxidante e antimicrobianos *in vitro*.

REFERÊNCIAS

- AL-MUBARAK, L.; AL-HADDAB, M. Cutaneous wound closure materials: an overview and update. **Journal of cutaneous and aesthetic surgery**, v. 6, n. 4, p. 178, 2013.
- AMIN, S. et al. Mechanism of in vitro percutaneous absorption enhancement of carvedilol by penetration enhancers. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 13, n. 6, p. 533–539, nov. 2008.
- APOLINÁRIO, P. P. et al. Anti-inflammatory, procollagen, and wound repair properties of topical insulin gel. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 56, p. e12640, 15 maio 2023.
- ASADINEZHAD, S. et al. Effect of different parameters on orange oil nanoemulsion particle size: combination of low energy and high energy methods. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 13, n. 4, p. 2501–2509, 1 dez. 2019.
- AUKEMA, H.; CAMPBELL, L. Oil Nutrition and Utilization. **Canola: Chemistry, Production, Processing, and Utilization**, p. 245–280, 30 abr. 2011.
- BAJERSKI, L. et al. The use of Brazilian vegetable oils in nanoemulsions: an update on preparation and biological applications. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 52, n. 3, p. 347–363, 1 jul. 2016.
- BARIL, M. B. et al. NANOTECNOLOGIA APLICADA AOS COSMÉTICOS. **Visão Acadêmica**, v. 13, n. 1, 28 nov. 2012.
- BASU, S.; HAZRA, B. Evaluation of nitric oxide scavenging activity, in vitro and ex vivo, of selected medicinal plants traditionally used in inflammatory diseases. **Phytotherapy research : PTR**, v. 20, n. 10, p. 896–900, out. 2006.
- BORENA, B. M. et al. Regenerative Skin Wound Healing in Mammals: State-of-the-Art on Growth Factor and Stem Cell Based Treatments. **Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology**, v. 36, n. 1, p. 1–23, 26 maio 2015.
- BOROJENY, L. A. et al. The Incidence of Pressure Ulcers and its Associations in Different Wards of the Hospital: A Systematic Review and Meta-Analysis. **International Journal of Preventive Medicine**, v. 11, p. 171, 2020.
- BOUCHEMAL, K. et al. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: Solvent, oil and surfactant optimisation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 280, n. 1–2, p. 241–251, 6 ago. 2004.
- BROOKS, B. W.; RICHMOND, H. N. Phase inversion in non-ionic surfactant—oil—water systems—I. The effect of transitional inversion on emulsion drop sizes. **Chemical Engineering Science**, v. 49, n. 7, p. 1053–1064, 1 abr. 1994.
- CALEY, M. P.; MARTINS, V. L. C.; O'TOOLE, E. A. Metalloproteinases and Wound Healing. **Advances in Wound Care**, v. 4, n. 4, p. 225, 4 abr. 2015.
- Canola Growers Manual – Manitoba Canola Growers**. Disponível em: <<https://canolagrowers.com/resource/canola-growers-manual/>>. Acesso em: 1 nov. 2023.

CARLOS, A. et al. Cicatrização de feridas. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 20, n. 1, p. 51–58, mar. 2007.

CASSOL, G. S. Estudo da aplicação do ultrassom e de um agitador de alta velocidade no desenvolvimento de protetores solares. 2016.

CHEN, J. et al. Natural Terpenes as Penetration Enhancers for Transdermal Drug Delivery. **Molecules**, v. 21, n. 12, 1 dez. 2016.

CHONG, W. T. et al. Optimization of process parameters in preparation of tocotrienol-rich red palm oil-based nanoemulsion stabilized by Tween80-Span 80 using response surface methodology. **PLoS one**, v. 13, n. 8, 1 ago. 2018.

CLINTON, A.; CARTER, T. Chronic Wound Biofilms: Pathogenesis and Potential Therapies. **Laboratory medicine**, v. 46, n. 4, p. 277–284, 1 nov. 2015.

COATES, J. Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach. **Encyclopedia of Analytical Chemistry**, 30 out. 2000.

COMINO-SANZ, I. M. et al. The Role of Antioxidants on Wound Healing: A Review of the Current Evidence. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 16, 2 ago. 2021.

COWAN, T. Biofilms and their management: from concept to clinical reality. **Journal of wound care**, v. 20, n. 5, p. 220–226, 2011.

DE CLERMONT-GALLERANDE, H. et al. Formulation and interest of a decorative emulsifier-free O/W emulsion with a positive zeta potential. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 23, n. 1, p. 15–24, 2001.

DE MEDEIROS, A. S. A. et al. Self-Assembled Cationic-Covered Nanoemulsion as A Novel Biocompatible Immunoadjuvant for Antiserum Production Against Tityus serrulatus Scorpion Venom. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 10, p. 1–23, 1 out. 2020.

DÍAZ-GARCÍA, D. et al. A beginner's introduction to skin stem cells and wound healing. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 20, 2 out. 2021.

ENGER ALMEIDA, M.; FERREIRA TEIXEIRA, H.; SCHERER KOESTER, L. Preparação de Emulsões Submicrométricas: Aspectos Teóricos sobre os Métodos Empregados na Atualidade. **Am. J. Pharm**, v. 27, n. 5, p. 780–788, 2008.

Extração de Óleos - Portal Embrapa. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/tecnologia-de-alimentos/processos/tipos-de-processos/extracao/extracao-de-oleos>>. Acesso em: 1 nov. 2023.

FERNANDEZ, P. et al. Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 251, n. 1–3, p. 53–58, 20 dez. 2004.

FERREIRA, M. A. et al. Annatto Oil Loaded Nanostructured Lipid Carriers: A Potential New Treatment for Cutaneous Leishmaniasis. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 11, 1 nov. 2021.

FRONZA, T.; CAMPOS, A.; TEIXEIRA, H. Nanoemulsões como Sistemas de Liberação para Fármacos Oftálmicos. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 23, n. 4, p. 558–66, 2004.

FRYKBERG, R. G.; BANKS, J. Challenges in the Treatment of Chronic Wounds. **Advances in Wound Care**, v. 4, n. 9, p. 560, 9 set. 2015.

- GIL, Á. Polyunsaturated fatty acids and inflammatory diseases. **Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie**, v. 56, n. 8, p. 388–396, out. 2002.
- GOMES-CARNEIRO, M. R. et al. Evaluation of β -myrcene, α -terpinene and (+)- and (-)- α -pinene in the Salmonella/microsome assay. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, n. 2, p. 247–252, 1 fev. 2005.
- HE, L.; WANG, G. L.; ZHANG, Q. An alternative paclitaxel microemulsion formulation: Hypersensitivity evaluation and pharmacokinetic profile. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 250, n. 1, p. 45–50, 2 jan. 2003.
- HONG, T. et al. Applications of infrared spectroscopy in polysaccharide structural analysis: Progress, challenge and perspective. **Food Chemistry: X**, v. 12, 12 dez. 2021.
- HOU, W.; PAPADOPOULOS, K. D. W1/O/W2 and O1/W/O2 globules stabilized with Span 80 and Tween 80. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 125, n. 2–3, p. 181–187, 2 jun. 1997.
- ISHAK, W. M. W. et al. Topical application of omega-3-, omega-6-, and omega-9-rich oil emulsions for cutaneous wound healing in rats. **Drug delivery and translational research**, v. 9, n. 2, p. 418–433, 15 abr. 2019a.
- ISHAK, W. M. W. et al. Topical application of omega-3-, omega-6-, and omega-9-rich oil emulsions for cutaneous wound healing in rats. **Drug delivery and translational research**, v. 9, n. 2, p. 418–433, 15 abr. 2019b.
- JALAL, K. et al. Identification of a Novel Therapeutic Target against XDR Salmonella Typhi H58 Using Genomics Driven Approach Followed Up by Natural Products Virtual Screening. **Microorganisms**, v. 9, n. 12, 1 dez. 2021.
- KELLER, K. L.; FENSKE, N. A. Uses of vitamins A, C, and E and related compounds in dermatology: a review. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 39, n. 4 Pt 1, p. 611–625, 1998.
- KOLIMI, P. et al. Innovative Treatment Strategies to Accelerate Wound Healing: Trajectory and Recent Advancements. **Cells**, v. 11, n. 15, 1 ago. 2022.
- KOMAIKO, J. S.; MCCLEMENTS, D. J. Formation of Food-Grade Nanoemulsions Using Low-Energy Preparation Methods: A Review of Available Methods. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 15, n. 2, p. 331–352, 1 mar. 2016.
- KOUBAA, M.; MHEMDI, H.; VOROBIEV, E. Influence of canola seed dehulling on the oil recovery by cold pressing and supercritical CO₂ extraction. **Journal of Food Engineering**, v. 182, p. 18–25, 1 ago. 2016.
- KRALOVA, I.; SJÖBLÖM, J. Surfactants Used in Food Industry: A Review. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 30, n. 9, p. 1363–1383, out. 2009.
- KWAK, Y. G. et al. Clinical Guidelines for the Antibiotic Treatment for Community-Acquired Skin and Soft Tissue Infection. **Infection & Chemotherapy**, v. 49, n. 4, p. 301, 1 dez. 2017.
- LIU, C. H.; CHANG, F. Y.; HUNG, D. K. Terpene microemulsions for transdermal curcumin delivery: effects of terpenes and cosurfactants. **Colloids and surfaces. B, Biointerfaces**, v. 82, n. 1, p. 63–70, 1 jan. 2011.

MAHESHWARI, P.; KOVALCHUK, I. Genetic transformation of crops for oil production. **Industrial Oil Crops**, p. 379–412, 23 fev. 2016.

MALONE, M. et al. The prevalence of biofilms in chronic wounds: a systematic review and meta-analysis of published data. **Journal of wound care**, v. 26, n. 1, p. 20–25, 1 jan. 2017.

MANHEZI, A. C.; BACHION, M. M.; PEREIRA, A. L. Utilização de ácidos graxos essenciais no tratamento de feridas. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 61, n. 5, p. 620–628, 2008.

MARZUKI, N. H. C.; WAHAB, R. A.; HAMID, M. A. An overview of nanoemulsion: concepts of development and cosmeceutical applications. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 33, n. 1, p. 779–797, 2019.

MAURYA, A. et al. Essential Oil Nanoemulsion as Eco-Friendly and Safe Preservative: Bioefficacy Against Microbial Food Deterioration and Toxin Secretion, Mode of Action, and Future Opportunities. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 751062, 29 nov. 2021.

MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A.; WEISS, J. Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. **Journal of food science**, v. 72, n. 8, out. 2007a.

MCCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A.; WEISS, J. Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. **Journal of food science**, v. 72, n. 8, out. 2007b.

MCCLEMENTS, D. J.; RAO, J. Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 51, n. 4, p. 285–330, abr. 2011.

MOHAN, R. et al. Matrix metalloproteinase gelatinase B (MMP-9) coordinates and effects epithelial regeneration. **The Journal of biological chemistry**, v. 277, n. 3, p. 2065–2072, 18 jan. 2002.

NANDASIRI, R. et al. Application of green technology on extraction of phenolic compounds in oilseeds (Canola). **Cold Pressed Oils: Green Technology, Bioactive Compounds, Functionality, and Applications**, p. 81–96, 1 jan. 2020.

OLIVEIRA, C. N. P. DE. Desenvolvimento de nanoemulsão lipídica a base de extratos vegetais e avaliação da atividade cicatrizante em modelo de pele humana ex-vivo. 2020.

PADUCH, R. et al. Terpenes: substances useful in human healthcare. **Archivum immunologiae et therapiae experimentalis**, v. 55, n. 5, p. 315–327, out. 2007.

PAIK, B.; TONG, L. Topical Omega-3 Fatty Acids Eyedrops in the Treatment of Dry Eye and Ocular Surface Disease: A Systematic Review. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 21, 1 nov. 2022.

PATRA, J. K. et al. Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. **Journal of nanobiotechnology**, v. 16, n. 1, 19 set. 2018.

PERINI, J. Â. DE L. et al. Ácidos graxos poli-insaturados n-3 e n-6: metabolismo em mamíferos e resposta imune. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 6, p. 1075–1086, nov. 2010.

PORTILLO-LÓPEZ, R. et al. Vegetable oils as green solvents for carotenoid extraction from pumpkin (*Cucurbita argyrosperma* Huber) byproducts: Optimization of extraction parameters. **Journal of food science**, v. 86, n. 7, p. 3122–3136, 1 jul. 2021.

RAI, V. K. et al. Nanoemulsion as pharmaceutical carrier for dermal and transdermal drug delivery: Formulation development, stability issues, basic considerations and applications. **Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society**, v. 270, p. 203–225, 28 jan. 2018.

RAO, J.; MCCLEMENTS, D. J. Formation of flavor oil microemulsions, nanoemulsions and emulsions: influence of composition and preparation method. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 9, p. 5026–5035, 11 maio 2011.

RAO, V. S. N.; MENEZES, A. M. S.; VIANA, G. S. B. Effect of myrcene on nociception in mice. **The Journal of pharmacy and pharmacology**, v. 42, n. 12, p. 877–878, 1990.

RAZIYEVA, K. et al. Immunology of Acute and Chronic Wound Healing. **Biomolecules**, v. 11, n. 5, 1 maio 2021.

ROCHA, M. DA. Flávia Bonamin ATIVIDADE ANTI-ULCEROGÊNICA E AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS DE AÇÃO ANTIULCEROGÊNICOS DO β -MIRCENO ORIENTADORA: PROFA. DRA. CLÉLIA AKIKO HIRUMA-LIMA CO-ORIENTADORA: PROFA. DRA. LÚCIA REGINA. 2010.

ROKOSIK, E.; DWIECKI, K.; SIGER, A. The quality of cold-pressed rapeseed oil obtained from seeds of *Brassica napus* L. with increased moisture content. **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**, v. 18, n. 2, p. 205–218, 1 jul. 2019.

RUFINO, A. T. et al. Evaluation of the anti-inflammatory, anti-catabolic and pro-anabolic effects of E-caryophyllene, myrcene and limonene in a cell model of osteoarthritis. **European journal of pharmacology**, v. 750, p. 141–150, 5 mar. 2015.

SCHAFER, N. et al. Natural Ingredients of Transdermal Drug Delivery Systems as Permeation Enhancers of Active Substances through the Stratum Corneum. **Molecular Pharmaceutics**, v. 20, n. 7, p. 3278, 7 jul. 2023.

SHAKEEL, F. et al. Impact of Viscosity and Refractive Index on Droplet Size and Zeta Potential of Model O/W and W/O Nanoemulsion. **Current Nanoscience**, v. 9, n. 2, p. 248–253, 25 abr. 2013.

SKOWRON, M. et al. Pro-Health Properties of Rapeseed and Olive Oil. **Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej**, v. 72, p. 1104–1113, 28 dez. 2018.

SMOLEŃSKI, M. et al. Nanoemulsion Loaded with Clotrimazole Based on Rapeseed Oil for Potential Vaginal Application—Development, Initial Assessment, and Pilot Release Studies. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 5, 1 maio 2023.

STRECK, L. et al. Phase Transitions of Isotropic to Anisotropic Biocompatible Lipid-Based Drug Delivery Systems Overcoming Insoluble Benzimidazole Loading. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 7, 1 jul. 2016.

SUN, H. et al. Stabilization of flaxseed oil nanoemulsions based on flaxseed gum: Effects of temperature, pH and NaCl on stability. **LWT**, v. 176, p. 114512, 15 fev. 2023.

TAVARES, A. C. et al. Essential oils from *Distichoselinum tenuifolium*: Chemical composition, cytotoxicity, antifungal and anti-inflammatory properties. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, n. 3, p. 593–598, ago. 2010.

TAVARES, T. M. et al. Nanoemulsions: a promising strategy in the fight against bacterial infections. 30 nov. 2023a.

TAVARES, T. M. et al. Nanoemulsions: a promising strategy in the fight against bacterial infections. 30 nov. 2023b.

TOLENTINO, M. C. et al. Avaliação da estabilidade foto-oxidativa dos óleos de canola e de milho em presença de antioxidantes sintéticos. **Ciência Rural**, v. 44, n. 4, p. 728–733, 2014.

TONG, S. Y. C. et al. Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Clinical microbiology reviews**, v. 28, n. 3, p. 603–661, 2015.

TOTTOLI, E. M. et al. Skin Wound Healing Process and New Emerging Technologies for Skin Wound Care and Regeneration. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 8, p. 1–30, 1 ago. 2020.

WANG, C. Y.; CHEN, Y. W.; HOU, C. Y. Antioxidant and antibacterial activity of seven predominant terpenoids. **International Journal of Food Properties**, v. 22, n. 1, p. 230–238, 1 jan. 2019.

YANG, J. et al. Effect of temperature, pH, and ionic strength on the structure and physical stability of double emulsions prepared with starch. **LWT**, v. 141, p. 111086, 1 abr. 2021.

ZACCHI, P.; EGGERS, R. High-temperature pre-conditioning of rapeseed: A polyphenol-enriched oil and the effect of refining. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 110, n. 2, p. 111–119, 1 fev. 2008.

ANEXO 1

Table 2. Main findings from the articles consulted.

Agente antibacteriano	Método Nanotecnológico	Cepas	Método microbiológico	Resultados	Tamanho (nm)	Ref.*
Óleo essencial e cravo	Emulsificação espontânea	<i>S.aureus</i>	Agar difusão	Clove essential oil: 15.45 ± 0.05 mm Clove bud emulsion: 21.83 ± 0.05 mm	11.73 ± 0.32	[18]
Óleo essencial de Segurelha	Sonicador	<i>Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Staphylococcus hemolyticus, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa and Serratia</i>	Microdiluição	Óleo essencial de segurelha <i>L. monocytogenes</i> : MIC 0.78 mg/mL MBC 1.56 mg/mL <i>S. aureus</i> and <i>S. haemolyticus</i> : MIC and MBC 1.56 mg/mL <i>E. coli</i> and <i>P. aeruginosa</i> : MIC and MBC 3.12 mg/mL <i>K. pneumoniae</i> and <i>S. marcescens</i> : MIC MBC 0.78 mg/mL NE: <i>L. monocytogene, S. aureus</i> : MIC 0.78 MBC 1.56 mg/mL <i>S. haemolyticus</i> : MIC 1.56 mg/mL and MBC 2.30 mg/mL <i>E. coli</i> : MIC 0.39 mg/mL and MBC 0.78 mg/mL <i>K. pneumoniae</i> and <i>S. marcescens</i> : MIC and MBC 0.78 mg/mL <i>P. aeruginosa</i> : MIC and MBC 4.6 mg/mL	118.40 ± 0.61	[19]

Óleo essencial de tomilho e (TV) <i>Syzygium aromaticum</i> (SA)	Sonication	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Macrodiluição	SA-NE (mg/mL): Methicillin-sensitive <i>S. aureus</i> : MIC/MBC = 0.125 Methicillin-resistant <i>S. aureus</i> : MIC/MBC > 0.125 Carbapenem-resistant <i>A. baumannii</i> : MIC/MBC = 0.03 Carbapenem-resistant <i>K. pneumoniae</i> : MIC/MBC = 0.03 Carbapenem-resistant <i>P. aeruginosa</i> : MIC/MBC > 0.125 <i>E. Coli</i> : MIC/MBC > 0.125	SA-NE: 106.0 ± 0.2	[20]
				TV-NE (mg/mL): Methicillin-sensitive <i>S. aureus</i> : MIC/MBC = 0.125 Methicillin-resistant <i>S. aureus</i> : MIC/MBC > 0.125 Carbapenem-resistant <i>A. baumannii</i> : MIC/MBC = 0.03 Carbapenem-resistant <i>K. pneumoniae</i> : MIC/MBC = 0.03 Carbapenem-resistant <i>P. aeruginosa</i> : MIC/MBC > 0.125 <i>E. Coli</i> : MIC/MBC = 0.125	TV-NE: 110.0 ± 2.9	
Óleo essencial de canela (CEO)	Sonicador	<i>Klebsiella pneumonia</i>	Agar difusão	CEO: MIC = 0.05% and MBC = 0.1%. NE: MIC = 0.025% and MBC = 0.05%	221.8 ± 11.95	[21]
Óleo essencial de tomilho	Emulsificação por inversão de fases	<i>S. epidermidis</i> <i>C. acnes</i>	Óleo de tomilho microdiluição NE: <i>in vivo</i> (orelha de rato)– contagem de colônias(CFU)	Óleo de tomilho: 0.026 g/mL (<i>C. acnes</i>) and 0.053 g/mL (<i>S.epidermidis</i>) (2 MIC of the selected EO) NE tomilho: ~10 ⁸ CFU/mL NEB: 10 ⁸ CFU/mL	77.32	[22]

Óleo essencial de Alho e gengibre	Sonicador	<i>Bacillus spizizenii, S. aureus, E. coli and Salmonella enterica</i>	Agar difusão	<p>Neomycin ointment: No zone of inhibition</p> <p>NE 0.1% garlic oil + 0.005% neomycin sulphate:</p> <p><i>B. spizizenii:</i> 30.33 mm <i>S. enterica:</i> 25.33 mm <i>E. coli:</i> 22.33 mm <i>S. aureus:</i> 28.00 mm</p> <p>NE 0.1% ginger oil + 0.001% neomycin sulphate:</p> <p><i>B. spizizenii:</i> 29.00 mm <i>S. enterica:</i> 24.33 mm <i>E. coli:</i> 21.00 mm <i>S. aureus:</i> 29.66 mm</p>	NE garlic oil: 297.9 NE ginger oil: 304.1	[23]
Extrato de curcumina	Emulsificação espontânea	<i>S. epidermidis and E. Coli</i>	Agar difusão	<p>Chloramphenicol: 16-18 mm</p> <p>Curcuminoid NE (0.03 g): <i>E. coli</i> = 9 – 10 mm</p> <p>Curcuminoid NE (0.04 g): <i>S. Epidermidis</i> = 9 – 10 mm</p>	19.5 - 32.1	[24]
Óleo essencial de tomilho	Sonicador	<i>E. coli and S. aureus</i>	Viable counting method	<p>NE:</p> <p><i>E. coli:</i> ± 7.7 cells/ml <i>S. aureus:</i> ± 6.5 cells/ml</p>	68 ± 10	[25]
Óleo essencial de curcumina	Sonicador	<i>Staphylococcus aureus</i>	Agar difusão	<p>Essential oil: 18.6 ± 0.11 mm</p> <p>NE: 20.3 ± 0.11 mm</p>	10.4 ± 0.51	[26]

Cetylpyridinium chloride (CPC)	Sonicador	<i>S. aureus</i> (ATCC 6538), <i>Escherichia coli</i> (ATCC 8739)	Agar difusão	<p>CPC NE: <i>S.aureus</i>: MIC = 0.49 µg/mL and MBC = 0.98 ~ 1.95 µg/mL <i>E. coli</i>: MIC = 3.91~7.81 µg/mL and MBC = 7.81~15.63 µg/mL</p>	54.54 ± 1.93 164.73 ± 1.44 244.70 ± 2.36	[27]
Tarragon (<i>Artemisia dracuncululus</i> L.) essential oil	Sonicador	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213), <i>Listeria monocytogenes</i> (PTCC 1298), <i>Salmonella enteritidis</i> (ATCC 14028), <i>Shigella dysenteriae</i> (ATCC 13313), and <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	Microdiluição	<p>Óleo de Tarragon : <i>E. coli</i>: MIC: 7.25 ± 0.20 and MBC 8.00 ± 0.15 µg/mL <i>L. monocytogenes</i>: MIC 4.75 ± 0.1 - MBC 5.50 ± 0.30 µg/mL <i>S. enteritidis</i>: MIC 6.75 ± 0.26 - MBC 7.25 ± 0.22 µg/mL <i>S. dysenteriae</i>: MIC 5.30 ± 0.33 - MBC 6.10 ± 0.35 µg/mL <i>S. aureus</i>: MIC 4.25 ± 0.10 - MBC 5.00 ± 0.18 µg/mL</p> <p>NE de óleo de tarragon : <i>E.coli</i>: MIC: 5.75 ± 0.23 - MBC 6.25 ± 0.19µg/mL <i>L. monocytogenes</i>: MIC 3.25 ± 0.09 - MBC 3.75 ± 0.14 µg/mL <i>S. enteritidis</i>: MIC 4.75 ± 0.13 - MBC 5.75 ± 0.25 µg/mL <i>S. dysenteriae</i>: MIC 3.80 ± 0.15 - MBC 4.45 ± 0.20 µg/mL <i>S. aureus</i>: MIC 2.5 ± 0.10 - MBC 3.25 ± 0.27 µg/mL</p>	50.00	[28]

Linezolida, Clindamicina Doxiciclina	Emulsificação por inversão de fases	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. lugdunensis</i> , and <i>S. haemolyticus</i>	Microdiluição/ Biofilme	<p>Porcentagem de inibição de biofilme</p> <p>Clindamicina NE ($\geq 4 \mu\text{g/mL}$): All strains were resistant.</p> <p>Linezolida NE ($\leq 4 \mu\text{g/mL}$): <i>S. aureus</i>: 87.09%; <i>S. epidermidis</i>: 57.14%; <i>S. haemolyticus</i>: 100%; <i>S. lugdunensis</i>: 100%</p> <p>Doxiciclina NE ($\leq 4 \mu\text{g/mL}$): <i>S. aureus</i>: 25.8%; <i>S. epidermidis</i>: 9.52%; <i>S. haemolyticus</i>: 0%; <i>S. lugdunensis</i>: 0%.</p>	<p>Clindamycin NE: 13.93 \pm 0.62</p> <p>Linezolid NE: 11.52 \pm 0.96</p> <p>Doxycycline NE: 10.66 \pm 0.11</p>	[29]
Chá verde catequinas	Sonicador	<i>Biofilme de E. coli</i>	Microdiluição	<p>NEPolyfenol 60 + cranberry nanoemulsion: 82.46% inibição</p> <p>Cranberry solution: 80.88% inibição</p> <p>NEPolifenol 60 + curcumina: 96.36% inibição</p> <p>Curcumina solução: 50.13%</p>	<p>NE cranberry: 58</p> <p>NE curcumina: 211.2</p>	[30]
Extrato Café feijão verde	Emulsificação espontânea	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) <i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC12228) <i>Escherichia coli</i> (ATCC 8739)	Microdiluição	<p><i>F7</i> <i>S. aureus</i> (ATCC 25923) (10 $\mu\text{L/mL}$): MIC = 25%</p> <p><i>S. epidermidis</i> (ATCC12228): (10 $\mu\text{L/mL}$) MIC = 12%</p> <p><i>E. coli</i> (ATCC 8739): (10 $\mu\text{L/mL}$) MIC = 50%</p>	<p><i>F7</i> - 224 \pm 0.98</p> <p><i>F16</i> - 280.9 \pm 0.20</p>	[31]
				<p><i>F16</i> <i>S. aureus</i> (ATCC 25923) (10 $\mu\text{L/mL}$): MIC = 12%</p>		

				<p><i>S. epidermidis</i> (ATCC12228): (10 μL/mL) MIC = 12%</p> <p><i>E. coli</i> (ATCC 8739): (10 μL/mL) MIC = 50%</p>		
<i>Cymbopogon pendulus</i> essential oil	Sonicador	<i>Escherichia coli</i> (MTCC-40), <i>Bacillus subtilis</i> (MTCC-121), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (MTCC-424) and <i>Staphylococcus aureus</i> (MTCC-3160)	Agar difusão	<p><i>Cymbopogon pendulus</i> NE: inhibition zone of 3.5 cm for <i>S. aureus</i> (MTCC-3160), and complete inhibition for <i>E. coli</i> (MTCC-40), <i>B. subtilis</i> (MTCC-121), and <i>P. aeruginosa</i> (MTCC-424)</p>	327 - 511	[32]
1,8-eucalípto	Emulsificação espontânea	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> and <i>Streptococcus pyogenes</i>	Microdiluição	<p>Eucalípto puro: <i>S. aureus</i>, <i>E. faecalis</i>, <i>S. pyogenes</i> = 28.6 mg/mL</p> <p>NE de eucalípto: <i>S. pyogenes</i> = 24 mg/mL <i>S. aureus</i> and <i>E. faecalis</i> = 14 mg/mL</p>	111.5 - 264.5	[33]

Óleo essencial de camomila	Sonicador	<i>E. coli, P. aeruginosa, B. subtilis, S. aureus, and S. pyogenes</i>	Microdiluição	Chamomile Pickering NE: <i>E. coli</i> : 2.19 µg/mL <i>P. aeruginosa</i> : 1.02 µg/mL <i>B.subtilis</i> : 1.13 µg/mL <i>S. aureus</i> : 1.06 µg/mL <i>S. pyogenes</i> : 2.45 µg/mL	290 ± 4.5	[34]
Óleo de Oregano	Emulsificação por Inversão de fases	<i>Streptococcus mutans</i>	Agar difusão	NE: 19 mm	150 - 500	[35]
Óleo essencial de gengibre (<i>Zingiber officinale</i>)	Emulsificação espontânea	<i>Streptococcus mutans</i>	Agar difusão	NE: 25 ± 1.0 mm; MIC: 62.5 µL/mL	151.40	[36]
Óleo essencial de cereal	Sonicador	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213)	Agar difusão	Celery oil : 17.1 ± 0.76 mm Celery NE : 22.6 ± 0.57 mm	23.4 ± 1.80	[37]

Source: Research data. *Reference.

Referências:

18. Nirmala, M. J., Durai, L., Gopakumar, V., & Nagarajan, R. Anticancer and antibacterial effects of a clove bud essential oil-based nanoscale emulsion system. *International journal of nanomedicine*. 2019. 14, 6439–6450. <https://doi.org/10.2147/IJN.S211047>
19. Maccelli, A.; Vitanza, L.; Imbriano, A.; Frascchetti, C.; Filippi, A.; Goldoni, P.; Maurizi, L.; Ammendolia, M.G.; Crestoni, M.E.; Fornarini, S.; et al. Satureja montana L. Essential Oils: Chemical Profiles/Phytochemical Screening, Antimicrobial Activity and O/W NanoEmulsion Formulations. *Pharmaceutics* 2020, 12, 7. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12010007>
20. Rinaldi, F., Oliva, A., Sabatino, M., Imbriano, A., Hanieh, P. N., Garzoli, S., Mastroianni, C. M., De Angelis, M., Miele, M. C., Arnaut, M., Di Timoteo, F., Marianecchi, C., Ragno, R., & Carafa, M. (2020). Antimicrobial Essential Oil Formulation: Chitosan Coated Nanoemulsions for Nose to Brain Delivery. *Pharmaceutics*, 2020. 12(7), 678. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12070678>
21. Alam, A.; Ansari, M.J.; Alqarni, M.H.; Salkini, M.A.; Raish, M. Antioxidant, Antibacterial, and Anticancer Activity of Ultrasonic Nanoemulsion of Cinnamomum Cassia L. Essential Oil. *Plants* 2023, 12, 834. <https://doi.org/10.3390/plants12040834>
22. Abdelhamed, F. M., Abdeltawab, N. F., ElRakaiby, M. T., Shamma, R. N., & Moneib, N. A. Antibacterial and Anti-Inflammatory Activities of Thymus vulgaris Essential Oil Nanoemulsion on Acne Vulgaris. *Microorganisms*, 2022. 10(9), 1874. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091874>
23. Abrar M, Ayub Y, Nazir R, Irshad M, Hussain N, Saleem Y. Garlic and ginger essential oil-based neomycin nanoemulsions as effective and accelerated treatment for skin wounds' healing and inflammation: in vivo and in vitro studies. *Saudi Pharm J*. 2022 Dec;30(12):1700-9. doi: 10.1016/j.jsps.2022.09.015.
24. Atun, S., Sinardekawati, A., Purpratama, A. C., Aznam, N., & Sangal, A. Curcuminoid Nanoemulsion from Curcuma xanthorrhiza Extract and Its Activity as Antioxidant, Antibacterial and Antifungal. *RASAYAN Journal of Chemistry*. 2022. 15(2), 907–913. DOI:10.31788/RJC.2022.1526690

25. Hamed, H.; Moradi, S.; Tonelli, A.E.; Hudson, S.M. Preparation and Characterization of Chitosan–Alginate Polyelectrolyte Complexes Loaded with Antibacterial Thyme Oil Nanoemulsions. *Appl. Sci.* 2019, 9, 3933. <https://doi.org/10.3390/app9183933>
26. Nirmala MJ, Durai L, Rao KA, Nagarajan R. Ultrasonic Nanoemulsification of Cuminum cyminum Essential Oil and Its Applications in Medicine. *Int J Nanomedicine.* 2020;15:795-807. <https://doi.org/10.2147/IJN.S230893>
27. Fang, J. Y., Lin, Y. K., Wang, P. W., Alalaiwe, A., Yang, Y. C., & Yang, S. C. The Droplet-Size Effect Of Squalene@cetylpyridinium Chloride Nanoemulsions On Antimicrobial Potency Against Planktonic And Biofilm MRSA. *International journal of nanome-dicine*, 2019. 14, 8133–8147. <https://doi.org/10.2147/IJN.S221663>
28. Azizkhani, M., Jafari Kiasari, F., Tooryan, F., Shahavi, M. H., & Partovi, R. Preparation and evaluation of food-grade nanoemulsion of tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) essential oil: antioxidant and antibacterial properties. *Journal of food science and technology.* 2021. 58(4), 1341–1348. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04645-6>
29. Mohamed, M. A., Nasr, M., Elkhatib, W. F., & Eltayeb, W. N. (2018). In Vitro Evaluation of Antimicrobial Activity and Cyto-toxicity of Different Nanobiotics Targeting Multidrug Resistant and Biofilm Forming Staphylococci. *BioMed research international*, 2018, 7658238. <https://doi.org/10.1155/2018/7658238>
30. Kaur, A., Gabrani, R., & Dang, S. (2019). Nanoemulsions of Green Tea Catechins and Other Natural Compounds for the Treatment of Urinary Tract Infection: Antibacterial Analysis. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 2019 9(3), 401–408. <https://doi.org/10.15171/apb.2019.047>
31. Buzanello E.B., Pinheiro Machado G.T.B., Kuhnen S., Mazzarino L., Maraschin M. Nanoemulsions containing oil and aqueous extract of green coffee beans with antioxidant and antimicrobial activities. *Nano Express.* 2020;1:010058. doi: 10.1088/2632-959X/ab9c47.
32. Agnish, S., Sharma, A.D. & Kaur, I. Nanoemulsions (O/W) containing *Cymbopogon pendulus* essential oil: development, char-acterization, stability study,

and evaluation of in vitro anti-bacterial, anti-inflammatory, anti-diabetic activities. *BioNanoSci.* 2022. 12, 540–554. <https://doi.org/10.1007/s12668-022-00964-4>

33. Lima, T.S., Silva, M.F.S., Nunes, X.P., Colombo, A.V., Oliveira, H.P., Goto, P.L., Blanzat, M., Piva, H.L., Tedesco, A.C., Si-queira-Moura, M.P. Cineole containing nanoemulsion: development, stability, and antibacterial activity. *Chem. Phys. Lipids* 2021. 239, 105113. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2021.105113>.

34. Das S, Horváth B, Šafranko S, Jokić S, Széchenyi A, Kőszegi T. Antimicrobial Activity of Chamomile Essential Oil: Effect of Different Formulations. *Molecules.* 2019 Nov 26;24(23):4321. doi: 10.3390/molecules24234321.

35. Hosny K, Asfour H, Rizg W, Alhakamy NA, Sindi A, Alkhalidi H, Abualsunun W, Bakhaidar R, Almehmady AM, Akeel S, Ali S, Alghaith A, Alshehri S, Khallaf R. Formulation, Optimization, and Evaluation of Oregano Oil Nanoemulsions for the Treatment of Infections Due to Oral Microbiota. *Int J Nanomedicine.* 2021;16:5465-5478. <https://doi.org/10.2147/IJN.S325625>

36. Mostafa NM. Antibacterial Activity of Ginger (*Zingiber officinale*) Leaves Essential Oil Nanoemulsion against the Cariogenic *Streptococcus mutans*. *J App Pharm Sci,* 2018; 8(09): 034-041.

37. Nirmala, M. J., Durai, L., Gopakumar, V., & Nagarajan, R. Preparation of Celery Essential Oil-Based Nanoemulsion by Ul-trasonication and Evaluation of Its Potential Anticancer and Antibacterial Activity. *International journal of nanomedicine,* 2020. 7651–7666. <https://doi.org/10.2147/IJN.S252640>.