

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

THAIS LETICIA MOREIRA DA SILVA

**NANOENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM-LIMÃO POR NANO
SPRAY-DRYING PARA POTENCIAL USO COMO PÓS-SOL**

PONTA GROSSA

2026

THAIS LETICIA MOREIRA DA SILVA

**NANOENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM-LIMÃO POR NANO
SPRAY-DRYING PARA POTENCIAL USO COMO PÓS-SOL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Desenvolvimento e Controle de Fármacos, Medicamentos e Correlatos, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, em associação ampla com a Universidade Estadual do Centro-Oeste, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Priscileila Colerato Ferrari
Coorientador: Prof. Dr. Flávio Luís Beltrame

PONTA GROSSA

2026

S586 Silva, Thais Leticia Moreira da
Nanoencapsulação de óleo essencial de capim-limão por nano *spray-drying*
para potencial uso como pós-sol / Thais Leticia Moreira da Silva. Ponta Grossa,
2026.
145 f.

Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Área de Concentração:
Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia), Universidade
Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Priscileila Colerato Ferrari.
Coorientador: Prof. Dr. Flávio Luís Beltrame.

1. Óleo volátil. 2. Nanotecnologia. 3. Dermocosmético. 4. Queimadura solar.
I. Ferrari, Priscileila Colerato. II. Beltrame, Flávio Luís. III. Universidade Estadual
de Ponta Grossa. Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia.
IV.T.

CDD: 615

THAIS LETICIA MOREIRA DA SILVA

**NANOENCAPSULAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE
CAPIM-LIMÃO POR NANO SPRAY-DRYING PARA
POTENCIAL USO COMO PÓS-SOL**

Tese apresentada para obtenção do grau de
Doutor no Programa de Pós-Graduação em
Ciências Farmacêuticas, nível Doutorado,
Associação Ampla entre a Universidade Estadual
de Ponta Grossa (UEPG) e a Universidade do
Centro-Oeste (UNICENTRO).

Ponta Grossa, 05 de outubro de 2026.



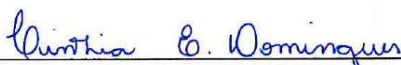
Prof. Dra. PRISCILEILA COLERATO FERRARI – UEPG – Presidente

Documento assinado digitalmente
gov.br BRUNO RODRIGO MINOZZO
Data: 06/10/2026 20:44:03-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. BRUNO RODRIGO MINOZZO – UNICENTRO – Membro titular externo



Prof. Dra. PATRÍCIA MATHIAS DOLL BOSCARDIN – UEPG – Membro titular interno



Prof. Dra. CINTHIA ELOISE DOMINGUES – UTFPR – Membro titular externo

Documento assinado digitalmente
gov.br RITA DE CASSIA RIBEIRO GONÇALVES
Data: 08/10/2026 09:27:58-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dra. RITA DE CASSIA RIBEIRO GONÇALVES – UFES – Membro titular externo

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGCF
Bloco M Sala 93 B – Campus Universitário – Fone (42) 2102-8937
Av. Carlos Cavalcanti, 4748 – CEP: 84030-900 – PONTA GROSSA – PR – BRASIL

Dedico ao meu irmão Thomas, que partiu cedo demais,
mas deixou em minha vida marcas que nem o tempo,
nem a distância, nem a ausência serão capazes de apagar.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Denise e Claudécir, que me deram suporte, amor e carinho durante toda minha jornada até aqui. Este momento simboliza uma conquista que também é de vocês. Que investiram na minha educação, me incentivaram a correr atrás dos meus sonhos, e comemoraram cada conquista, acreditando que eu sempre poderia mais. Vocês são meus exemplos de força, sabedoria e perseverança.

Ao meu marido, Allan, agradeço por acreditar em mim, me apoiar nos momentos de decisões importantes sobre minha vida profissional e compreender minhas ausências quando a rotina do doutorado tornava os dias mais difíceis. Agradeço por sempre me lembrar do meu potencial e confiar nele.

À minha orientadora, Profa. Dra. Priscileila Colerato Ferrari, que me acompanha desde a graduação, da iniciação científica ao doutorado. Agradeço pelo empenho, pela dedicação à pesquisa e por ser uma grande inspiração como professora. Sou e serei sempre grata por ter me dado a oportunidade de realizar este sonho.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Flávio Luís Beltrame, sou imensamente grata por todas as oportunidades que me proporcionou ao longo desses anos. Cada uma delas contribuiu não apenas para enriquecer minha trajetória acadêmica e profissional, mas também para me transformar como pessoa. Agradeço pela confiança e pela parceria que carregamos até mesmo fora da universidade.

Agradeço à minha amiga, Anna Claudia, que não largou minha mão durante todos estes anos. Tudo seria mais difícil sem você. Minha parceira de laboratório, de projetos, de empresas, de fofocas, de reclamações e muito mais. Obrigada por me acompanhar em todos os lugares (quando falo todos, são todos mesmo).

À Aparecida, técnica dos laboratórios de pesquisa; à Luciane, técnica do LABMU-SEBISA; à Michelle e ao Hudson, técnicos do C-LABMU; e aos meus colegas de laboratório, professores e pesquisadores colaboradores que participaram deste trabalho, minha sincera gratidão pela disponibilidade, pelo auxílio e pela contribuição fundamental para a realização dos experimentos desta tese.

Deixo um agradecimento especial aos professores membros da banca de qualificação e de defesa, pela disponibilidade, pelo tempo dedicado à leitura e à avaliação deste trabalho e, sobretudo, pelas valiosas contribuições ao longo desse processo.

Também agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do qual faço parte e à Universidade Estadual de Ponta Grossa pela oportunidade de formação e infraestrutura.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 88887.901239/2023-00.

RESUMO

A queimadura solar é uma reação inflamatória cutânea aguda desencadeada pela exposição excessiva à radiação ultravioleta, resultando em dano tecidual e estresse oxidativo. O óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) (OECL) apresenta propriedades de interesse para aplicação tópica, podendo ser uma alternativa para auxiliar no alívio dos sintomas associados à queimadura solar. Entretanto, sua elevada volatilidade e instabilidade físico-química pode limitar sua utilização. Portanto, o objetivo deste estudo foi desenvolver e caracterizar sistemas nanoencapsulados contendo OECL, na forma de nanoemulsão (NE) e de nanopartículas poliméricas (NPP) obtidas por nano *spray-drying*, e avaliar suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anti-inflamatórias, visando seu potencial uso como produto dermocosmético pós-sol. Inicialmente, seis formulações de NE foram desenvolvidas e caracterizadas. A NE6, composta por solução aquosa de goma arábica a 20% (m/v), OECL:polissorbato 80 na proporção 1:3 (m/m) e etanol, apresentou as melhores características físico-químicas, com tamanho de partícula de $86,53 \pm 1,53$ nm, índice de polidispersão de $0,248 \pm 0,026$, potencial zeta de $-19,03 \pm 0,30$ mV e pH de $5,55 \pm 0,04$. Também apresentou melhor estabilidade cinética, prolongada e acelerada, sendo selecionada como formulação de alimentação para o processo de nano *spray-drying*. As NPP obtidas apresentaram morfologia esférica e tamanho heterogêneo, predominantemente inferior a 200 nm, com rendimento entre 78,15% e 85,19%. As análises por espectroscopia no infravermelho e difração de raios X indicaram a incorporação do OECL à matriz de goma arábica e o caráter amorfo das NPP, respectivamente, enquanto a análise térmica demonstrou aumento da estabilidade térmica do OECL após a nanoencapsulação. O pó apresentou boa capacidade de dispersão em água (93,62%), com tempo de molhabilidade de $25,94 \pm 0,87$ s e, após redispersão, apresentou tamanho de partícula de $155,2 \pm 39,2$ nm e índice de polidispersão de $0,635 \pm 0,011$. A eficiência de encapsulação da NE6 ($94,39 \pm 0,25\%$) e das NPP ($46,14 \pm 0,56\%$), bem como a retenção de OECL nas NPP ($72,16\%$), foram determinadas com base na quantificação do citral, utilizado como marcador químico do OECL, por meio de um método validado de cromatografia líquida de ultra eficiência. O ensaio de permeação cutânea *in vitro* em pele suína demonstrou diferenças significativas entre o OECL livre, a NE6 e as NPP, evidenciando alteração da cinética de permeação e retenção do citral no estrato córneo e na derme após a nanoencapsulação. Quanto à bioatividade, a atividade anti-inflamatória, avaliada pela inibição da desnaturação proteica, foi mantida após a nanoencapsulação. A NE6 apresentou maior atividade antimicrobiana, especialmente frente às bactérias Gram-positivas, com destaque para *Staphylococcus epidermidis*, e maior atividade antioxidante em relação ao OECL livre. As NPP também mantiveram a bioatividade do OECL, porém apresentaram menor atividade antioxidante e antimicrobiana em comparação à NE6, o que pode estar relacionado à liberação controlada dos compostos ativos. Entretanto, as NPP se destacaram pela maior viabilidade celular, preservando elevada viabilidade de fibroblastos 3T3 mesmo nas maiores concentrações avaliadas. De modo geral, os resultados demonstram que a nanoencapsulação do OECL modificou suas características físico-químicas, estabilidade, comportamento de permeação e atividade biológica, evidenciando o potencial da NE e das NPP para aplicação em produtos dermocosméticos pós-sol.

Palavras-chave: óleo volátil; nanotecnologia; dermocosmético; queimadura solar.

ABSTRACT

Sunburn is an acute inflammatory skin reaction triggered by excessive exposure to ultraviolet radiation, resulting in tissue damage and oxidative stress. Lemongrass essential oil (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) (LEO) exhibits properties of interest for topical application and may be an alternative for assisting in the relief of sunburn-associated symptoms. However, its high volatility and physicochemical instability may limit its use. Therefore, this study aimed to develop and characterize nanoencapsulated systems containing LEO, in the form of a nanoemulsion (NE) and polymeric nanoparticles (NP) obtained by nano *spray-drying*, and to evaluate their antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory properties, aiming at their potential use as an after-sun dermocosmetic product. Initially, six NE formulations were developed and characterized. NE6, composed of a 20% (w/v) aqueous gum arabic solution, LEO:polysorbate 80 at a 1:3 (w/w) ratio, and ethanol, showed the most suitable physicochemical characteristics, with a particle size of 86.53 ± 1.53 nm, polydispersity index of 0.248 ± 0.026 , zeta potential of -19.03 ± 0.30 mV, and pH of 5.55 ± 0.04 . It also showed the best kinetic, prolonged, and accelerated stability and was therefore selected as the feed formulation for the nano *spray-drying* process. The resulting NP exhibited spherical morphology and heterogeneous size, predominantly below 200 nm, with a yield ranging from 78.15% to 85.19%. Fourier-transform infrared spectroscopy and X-ray diffraction analyses indicated the incorporation of LEO into the gum Arabic matrix and the amorphous nature of the NP, respectively, while thermal analysis demonstrated increased thermal stability of LEO after nanoencapsulation. The powder showed good dispersibility in water (93.62%), with a wettability time of 25.94 ± 0.87 s and, after redispersion, exhibited a particle size of 155.2 ± 39.2 nm and a polydispersity index of 0.635 ± 0.011 . The encapsulation efficiency of NE6 ($94.39 \pm 0.25\%$) and NP ($46.14 \pm 0.56\%$), as well as LEO retention in the NP (72.16%), were determined based on the quantification of citral, used as a chemical marker of LEO, by a validated ultra-high-performance liquid chromatography method. The *in vitro* skin permeation assay using porcine skin demonstrated significant differences among free LEO, NE6, and NPP, evidencing changes in the permeation and retention kinetics of citral in the stratum corneum and dermis following nanoencapsulation. Regarding bioactivity, the anti-inflammatory activity, evaluated by inhibition of protein denaturation, was maintained after nanoencapsulation. The NE6 showed greater antimicrobial activity, particularly against Gram-positive bacteria, with emphasis on *Staphylococcus epidermidis*, as well as greater antioxidant activity compared with free LEO. The NP also maintained the bioactivity of LEO but showed lower antioxidant and antimicrobial activity compared with the NE6, which may be related to the controlled release of the active compounds. However, the NP stood out for its higher cell viability, maintaining high viability of 3T3 fibroblasts even at the highest concentrations evaluated. Overall, the results demonstrate that nanoencapsulation of LEO modified its physicochemical characteristics, stability, permeation behavior, and biological activity, highlighting the potential of NE and NP for application in after-sun dermocosmetic products.

Keywords: volatile oil; nanotechnology; dermocosmetic; solar erythema.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Anatomia da pele.	22
Figura 2 - Camadas da epiderme.	23
Figura 3 - Efeito dos diferentes tipos de radiação ultravioleta na pele.	26
Figura 4 - Efeitos da radiação ultravioleta solar na pele. Representação simplificada dos efeitos das radiações UVA+UVB nos queratinócitos.	27
Figura 5 - Esquema geral da biossíntese de terpenos.	33
Figura 6 - Esquema geral da biossíntese de fenilpropanoides.	34
Figura 7 - Fotografia da planta capim-limão, espécie <i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf.	35
Figura 8 - Estrutura química dos isômeros geranial (α -citral) e neral (β -citral).	36
Figura 9 - Estrutura química de alguns constituintes encontrados no óleo essencial de capim-limão.	37
Figura 10 - Efeito antimicrobiano do óleo essencial de capim-limão: sugestão de mecanismo de ação em célula bacteriana.	38
Figura 11 - Representação esquemática dos principais sistemas nanoencapsulados.	43
Figura 12 - Representação ilustrativa dos tipos de nanopartículas poliméricas.	44
Figura 13 - Mecanismos de liberação controlada de nanopartículas poliméricas.	45
Figura 14 - Principais polímeros utilizados na produção de nanopartículas poliméricas.	46
Figura 15 - Vantagens da nanoencapsulação de óleos essenciais.	48
Figura 16 - Representação esquemática dos tipos de nanoemulsões.	50
Figura 17 - Representação esquemática do preparo de nanoemulsão pelo método de ultrassonicação.	52
Figura 18 - Representação esquemática do preparo de nanoemulsão pelo método de homogeneização de alta pressão.	52
Figura 19 - Representação esquemática do preparo de nanoemulsão pelo método de microfluidização.	53
Figura 20 - Representação esquemática da técnica de <i>spray-drying</i> utilizando um equipamento <i>spray-dryer</i> convencional.	54
Figura 21 - Imagem do Nano <i>Spray Dryer</i> B-90 e representação esquemático do seu funcionamento.	58

Figura 22 - Malha vibratória com nebulizadores do Nano <i>Spray Dryer</i> B-90, responsável pela atomização das gotículas.	59
Figura 23 - Princípio de funcionamento do coletor de partículas eletrostático.	59
Figura 24 - Mecanismos de penetração cutânea das nanopartículas.	61
Figura 25 - Método de preparo das nanoemulsões.	65
Figura 26 - Esquema representativo da placa de 96 poços para avaliação da atividade antimicrobiana pelo método de microdiluição em caldo.	75
Figura 27 - Cromatograma de citral obtido por cromatografia líquida de ultraeficiência (CLUE) com detector de arranjo de diodos (DAD), a 233 nm.	80
Figura 28 - Curva de calibração (áreas dos picos cromatográficos x concentração de citral) para avaliação da linearidade do método por CLUE.	81
Figura 29 - Distribuição dos resíduos em função da resposta analítica para a quantificação de citral por CLUE, demonstrando uma distribuição normal.	82
Figura 30 - Avaliação da robustez do método de CLUE para quantificação de citral sob pequenas variações nas condições cromatográficas, expressos pela média $\pm$ desvio padrão de três concentrações (baixa, média e alta).	84
Figura 31 - Cromatogramas demonstrando a seletividade do método analítico, comparando a NE6 (nanoemulsão contendo óleo essencial de capim-limão) com a NE0 (nanoemulsão branco, sem adição de óleo essencial).	85
Figura 32 - Análise macroscópica das nanoemulsões.	86
Figura 33 - Avaliação da estabilidade cinética das nanoemulsões NE2, NE3, NE5 e NE6 após centrifugação.	91
Figura 34 - Avaliação macroscópica das nanoemulsões NE3 e NE6 após estudo de estabilidade acelerada por ciclos de congelamento e descongelamento.	92
Figura 35 - Avaliação macroscópica das nanoemulsões NE3, NE6 e NE0 (nanoemulsão branco, sem adição de óleo essencial) durante estudo de estabilidade de 90 em diferentes condições: temperatura ambiente (20 ± 5 °C), refrigeração (5 ± 2 °C) e estufa (40 ± 1 °C). As imagens foram registradas em fundo preto, e em fundo branco no 90º dia para evidenciar a translucidez das amostras.	93
Figura 36 - Avaliação do tamanho médio de partícula, índice de polidispersão (IPD), potencial zeta e pH das nanoemulsões NE3, NE6 e NE0 (nanoemulsão branco, sem adição de óleo essencial) durante o período de estudo de estabilidade de 90 dias em diferentes condições de armazenamento.	95

Figura 37 - Avaliação da eficiência de encapsulação das nanoemulsões NE3 e NE6 durante o período de estudo de estabilidade de 90 dias em diferentes condições de armazenamento.	98
Figura 38 - Micrografia das nanopartículas poliméricas obtidas por nano <i>spray-drying</i>	100
Figura 39 - Espectros de FTIR (número de onda x transmitância) do óleo essencial de capim-limão (OECL) livre, da goma arábica (GA), do polissorbato 80 e das nanopartículas poliméricas (NPP).	102
Figura 40 - Difractogramas (2θ x intensidade) da goma arábica (GA) pura e das nanopartículas poliméricas (NPP).	103
Figura 41 - Curvas termogravimétricas (temperatura x massa) do óleo essencial de capim-limão (OECL) livre, da goma arábica (GA) e das nanopartículas poliméricas (NPP).	104
Figura 42 – Curvas de DSC (fluxo de calor x temperatura) do óleo essencial de capim-limão (OECL) livre, da goma arábica (GA) e das nanopartículas poliméricas (NPP).	105
Figura 43 - Perfil de permeação cutânea do citral através da pele suína, a partir do óleo essencial de capim-limão (OECL) livre e encapsulado na nanoemulsão (NE6) e nas nanopartículas poliméricas (NPP), em função do tempo.	109
Figura 44 - Quantidade de citral retido no estrato córneo e na derme após aplicação do óleo essencial de capim-limão (OECL) livre e encapsulado na nanoemulsão (NE6) e nas nanopartículas poliméricas (NPP), na pele abdominal suína.	109
Figura 45 - Atividade antioxidante expressa em porcentagem inibição do radical DPPH [*] para o óleo essencial de capim-limão (OECL) livre, nanoemulsão (NE6) e nanopartículas poliméricas (NPP) em diferentes concentrações, com os valores de Cl_{50} calculados a partir das curvas de cada amostra.	111
Figura 46 - Atividade antioxidante determinada pelo método FRAP, expressa em μM equivalentes de Trolox por μg de óleo essencial de capim-limão (OECL) na forma livre e nanoencapsulado em nanoemulsão (NE6) e nanopartículas poliméricas (NPP), em diferentes concentrações.	112
Figura 47 - Efeito inibitório do OECL (OECL) livre, nanoemulsão (NE6) e nanopartículas poliméricas (NPP) sobre cepas bacterianas em diferentes concentrações.	114

Figura 48 – Avaliação da atividade antimicrobiana das nanopartículas poliméricas (NPP) e da goma arábica (GA) contra <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i> , pelo método da zona de inibição.....	116
Figura 49 - Efeito do óleo essencial de capim-limão (OECL) livre, da nanoemulsão (NE6) e das nanopartículas poliméricas (NPP) sobre a desnaturação térmica da albumina sérica bovina, em comparação ao diclofenaco como controle positivo e da NE0 (nanoemulsão branco, sem adição de óleo essencial) como controle da formulação.....	118
Figura 50 - Viabilidade celular de fibroblastos 3T3-Swiss avaliada pelo ensaio de MTT após exposição ao óleo essencial de capim-limão (OECL) livre, à nanoemulsão (NE6) e às nanopartículas poliméricas (NPP) em diferentes concentrações.	120
Quadro 1 - Produtos naturais utilizados tradicionalmente no tratamento do eritema solar e as propriedades terapêuticas cientificamente comprovadas que fundamentam seu uso.....	29
Quadro 2 - Diferenças entre o <i>spray-dryer</i> convencional e nano <i>spray-dryer</i>	57
Quadro 3 - Resultado do teste F da Anova para determinação da significância do coeficiente angular.	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Proporções e quantidades dos componentes das formulações testadas para preparo das nanoemulsões.....	64
Tabela 2 - Tamanho médio das partículas, índice de polidispersão (IPD), e potencial zeta das nanoemulsões contendo óleo essencial de capim-limão.	87
Tabela 3 - Tamanho médio das partículas, Índice de polidispersão (IPD), potencial zeta, pH e eficiência de encapsulação (EE%) das nanoemulsões NE3 e NE6 no início e ao final dos ciclos de congelamento e descongelamento.	92

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A/O	Água em óleo
AP1	Proteína Ativadora 1
ASB	Albumina sérica bovina
CG	Cromatografia gasosa
CI ₅₀	Concentração inibitória de 50%
CIM	Concentração inibitória mínima
CLUE	Cromatografia líquida de ultra eficiência
DAD	Detector de arranjo de diodos
DMAPP	Dimetilalil pirofosfato
DMSO	Dimetilsulfóxido
DO	Densidade óptica
DP	Desvio padrão
DPPH [•]	(1,1-difenil-2-picrilhidrazil)
DPR	Desvio padrão relativo
DRX	Difração de raios-X
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
EDL	Espalhamento dinâmico de luz
EE%	Eficiência de encapsulação
ERO	Espécie reativa de oxigênio
FPP	Pirofosfato de farnesila
FRAP	Poder antioxidante de redução do ferro
FTIR	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier
GA	Goma arábica
GGPP	Pirofosfato de geranilgeranila
GPP	Geranil pirofosfato
IPD	Índice de polidispersão
IPP	Isopentenil pirofosfato
JNK	Quinase N-terminal de c-Jun
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
MEP	Metileritritol-fosfato
MEV-FEG	Microscopia eletrônica de varredura por efeito de campo
MPP	Metaloproteinases de matriz
MTT	3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio
MVA	Mevalonato
NE	Nanoemulsão
NF-κB	Fator Nuclear Kappa B
NP	Nanopartículas
NPP	Nanopartículas poliméricas

Nrf2	Fator Nuclear Relacionado ao Fator Eritroide 2
O/A	Óleo em água
OE	Óleo essencial
OECL	Óleo essencial de capim-limão
PBS	Tampão fosfato de sódio
RUV	Radiação ultravioleta
TE	Equivalentes de Trolox
TG	Análise termogravimétrica
TPTZ	2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS.....	20
2.1	OBJETIVO GERAL.....	20
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
3	REVISÃO DA LITERATURA	22
3.1	ERITEMA SOLAR.....	22
3.1.1	Fisiologia da Pele	22
3.1.2	Efeitos da Radiação Ultravioleta (RUV) sobre a Pele.....	25
3.1.3	Produtos Naturais para Tratamento do Eritema Solar	28
3.2	ÓLEOS ESSENCIAIS	30
3.2.1	Definição	30
3.2.2	Composição Química	31
3.3	ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM-LIMÃO	35
3.3.1	Características da Planta e Composição Química	35
3.3.2	Propriedades Farmacológicas	37
3.3.3	Uso Dermocosmético	39
3.4	NANOENCAPSULAÇÃO.....	42
3.4.1	Características Gerais	42
3.4.2	Nanopartículas Poliméricas.....	43
3.4.3	Nanoencapsulação de Óleos Essenciais	47
3.4.3.1	Nanoemulsões	49
3.4.3.2	Técnica de <i>Spray-Drying</i>	53
3.4.3.3	Nano <i>Spray-Drying</i>	56
3.4.4	Nanoencapsulação Aplicada a Cosméticos	61
4	MATERIAIS E MÉTODOS	63
4.1	MATERIAIS	63
4.2	DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DO CITRAL POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ULTRA EFICIÊNCIA (CLUE).....	63
4.3	DESENVOLVIMENTO DAS NANOEMULSÕES CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM-LIMÃO	64
4.3.1	Caracterização Físico-Química das Nanoemulsões.....	66
4.3.1.1	Tamanho médio de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta ..	66

4.3.1.2	pH.....	66
4.3.2	Estudo de Estabilidade das Nanoemulsões	66
4.4	OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS SÓLIDAS POR NANO <i>SPRAY-DRYING</i>	67
4.4.1	Caracterização Físico-Química das Nanopartículas.....	67
4.4.1.1	Morfologia e tamanho das partículas.....	67
4.4.1.2	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier	68
4.4.1.3	Difração de raios-X.....	68
4.4.1.4	Análise térmica	68
4.4.1.5	Molhabilidade e dispersibilidade das nanopartículas obtidas por nano <i>spray-drying</i>	68
4.5	DETERMINAÇÃO DA EFICIÊNCIA DOS PROCESSOS	69
4.5.1	Eficiência de Encapsulação das Nanoemulsões	69
4.5.2	Rendimento da Técnica de Nano <i>Spray-Drying</i>	70
4.5.3	Eficiência de Encapsulação e Retenção de Óleo Essencial de Capim-Limão Total das Nanopartículas Obtidas por Nano <i>Spray-Drying</i>	70
4.6	ENSAIO DE PERMEAÇÃO CUTÂNEA <i>IN VITRO</i> DO ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM-LIMÃO LIVRE E NANOENCAPSULADO.....	71
4.7	ANÁLISE DE ATIVIDADES <i>IN VITRO</i> DO ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM-LIMÃO LIVRE E NANOENCAPSULADO	72
4.7.1	Atividade Antioxidante	72
4.7.1.1	DPPH*.....	72
4.7.1.2	FRAP	73
4.7.2	Atividade Antimicrobiana	74
4.7.3	Ensaio de Inibição da Desnaturação Proteica Utilizando Albumina Sérica Bovina	75
4.7.4	Atividade sobre a viabilidade de fibroblastos 3T3-Swiss albino	76
4.8	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	77
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
5.1	DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DO CITRAL POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ULTRA EFICIÊNCIA (CLUE)	79
5.1.1	Linearidade.....	80
5.1.2	Limite de Detecção e de Quantificação	83

5.1.3	Precisão e Exatidão.....	83
5.1.4	Robustez	84
5.1.5	Seletividade.....	85
5.2	DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DAS NANOEMULSÕES.	85
5.2.1	Avaliação Macroscópica.....	85
5.2.2	Tamanho Médio de Partícula, Índice de Polidispersão e Potencial Zeta.	87
5.2.3	Estudo de Estabilidade.....	90
5.2.3.1	Estabilidade cinética.....	90
5.2.3.2	Estabilidade por ciclos de congelamento e descongelamento	91
5.2.3.3	Estabilidade acelerada por 90 dias	92
5.2.3.4	Estabilidade química: eficiência de encapsulação das nanoemulsões ...	98
5.3	OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS SÓLIDAS OBTIDAS POR NANO <i>SPRAY-DRYING</i>	99
5.3.1	Morfologia e Tamanho das Partículas	99
5.3.2	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	101
5.3.3	Difração de Raios-X (DRX)	103
5.3.4	Análise Termogravimétrica (TG).....	104
5.3.5	Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	105
5.3.6	Molhabilidade e Dispersibilidade	106
5.3.7	Eficiência do Processo de Nanoencapsulação por Nano <i>Spray-Drying</i>	107
5.4	ENSAIO DE PERMEAÇÃO CUTÂNEA <i>IN VITRO</i>	108
5.5	ANÁLISES <i>IN VITRO</i>	110
5.5.1	Atividade Antioxidante	110
5.5.2	Atividade Antimicrobiana	113
5.5.3	Ensaio de Inibição da Desnaturação Proteica	117
5.5.4	Atividade sobre a Viabilidade de Fibroblastos	119
6	CONCLUSÕES	123
	REFERÊNCIAS	126
	ANEXOS.....	141

1 INTRODUÇÃO

A pele é a camada mais externa do corpo humano e atua como uma barreira que recobre toda a superfície corporal, desempenhando funções essenciais de proteção das estruturas mais profundas contra agentes físicos, químicos e biológicos (Ranjbar *et al.*, 2025; Shah; McKnight; Hargest, 2024). Entre os principais fatores nocivos à pele está a radiação ultravioleta (UV), emitida principalmente pelo sol, cuja exposição excessiva desencadeia estresse oxidativo, inflamação, envelhecimento precoce e queimaduras, podendo ainda aumentar o risco do desenvolvimento de câncer de pele (Shah; McKnight; Hargest, 2024).

Queimaduras superficiais ou de primeiro grau, como as queimaduras solares, são as mais comuns na prática farmacêutica (Skowrońska; Bazylko, 2023). Sendo assim, produtos de cuidado pós-sol surgem como alternativas importantes para auxiliar na reparação cutânea, promovendo alívio e recuperação da pele após a exposição solar (Balkrishna *et al.*, 2023). O produto ideal para esta finalidade deve apresentar não apenas propriedades cicatrizantes, mas também propriedades antimicrobiana, analgésica, antioxidante e anti-inflamatória, estabilidade mecânica, promover o controle de umidade, ser economicamente viável, atóxico, biocompatível e biodegradável (Skowrońska; Bazylko, 2023).

Nesse contexto, produtos de origem natural se destacam como opções que atendem a esses requisitos. Nos últimos anos, observa-se um crescente interesse pelo uso de ativos naturais em cosméticos, em especial de origem vegetal (Ranjbar *et al.*, 2025). Os óleos essenciais (OEs) estão entre os extratos vegetais mais valorizados por apresentarem diversas atividades biológicas e boa aceitação dos consumidores devido ao seu odor agradável. Entre os OEs de interesse, destaca-se o de capim-limão (*Cymbopogon citratus* DC. Stapf), que possui o citral como componente majoritário, um aldeído monoterpênico com conhecidas propriedades relevantes para formulações pós-sol, incluindo antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral e antimicrobiana (Karami *et al.*, 2024).

Apesar de seu grande potencial, a incorporação direta de OEs em formulações cosméticas e farmacêuticas ainda enfrenta desafios relacionados à sua baixa estabilidade, alta volatilidade, baixa solubilidade em água e suscetibilidade à oxidação, o que pode comprometer sua eficácia (Karami *et al.*, 2024; Silva; Beltrame; Ferrari, 2024). Sendo assim, a nanotecnologia surge como uma estratégia promissora

para superar essas limitações, uma vez que o processo de nanoencapsulação pode proteger moléculas sensíveis de fatores ambientais, controlar a liberação, melhorar a solubilidade e aumentar a biodisponibilidade (Miastkowska *et al.*, 2023; Mssillou *et al.*, 2025; Silva; Beltrame; Ferrari, 2024).

A incorporação de OEs em diferentes sistemas nanoencapsulados já vem sendo amplamente estudada, com resultados promissores na área cosmética (Silva; Beltrame; Ferrari, 2024). Dentre os sistemas nanotecnológicos utilizados, destacam-se as nanoemulsões (NE) e as nanopartículas poliméricas (NPP).

As NE são sistemas coloidais formados pela combinação de dois líquidos imiscíveis, como água e óleo, estabilizado por um sistema tensoativo, formando micelas de tamanho nanométrico (Mssillou *et al.*, 2025; Yousefi *et al.*, 2024). Devido à redução do tamanho das partículas, as NE oferecem vantagens em comparação às emulsões convencionais, superando as limitação do uso dos OEs (Pandey; Bawiskar; Wagh, 2024; Yousefi *et al.*, 2024).

Já as NPP podem ser formadas pela secagem da NE por técnicas como o *nano spray-drying*, resultando na solidificação das micelas revestidas com um polímero, que atua como material encapsulante, também chamado material de parede (Yousefi *et al.*, 2024). O *spray-drying* é uma das técnicas mais aplicadas industrialmente para encapsulação de OEs, pois apresenta baixo custo operacional, é escalonável, possui a capacidade de retenção de compostos voláteis e permite a produção de partículas com tamanho uniforme (Silva; Beltrame; Ferrari, 2024).

Para isso, o uso de materiais de parede como a goma arábica (GA), um polissacarídeo altamente solúvel em água, contribui para a formação de partículas estáveis, protegendo o OE contra degradação e volatilização, além aumentar a solubilidade e permitir a liberação controlada dos ativos do OE (Silva; Beltrame; Ferrari, 2024).

Diante disso, a nanoencapsulação do OE de capim-limão apresenta-se como uma forma de melhorar suas características físico-químicas, preservando ou potencializando suas propriedades antioxidante, anti-inflamatória e antimicrobiana, possibilitando sua aplicação no desenvolvimento de produtos pós-sol capazes de aliviar os sintomas de queimaduras solares.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar sistemas nanoencapsulados contendo óleo essencial de capim-limão, na forma de nanoemulsão e de nanopartículas poliméricas obtidas por nano *spray-drying*, avaliando suas características físico-químicas e propriedades biológicas, visando seu potencial uso como produto dermocosmético pós-sol.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver e validar um método de cromatografia líquida de ultra eficiência para quantificar o óleo essencial de capim-limão nos sistemas nanoencapsulados utilizando o citral como marcador analítico;
- Desenvolver e caracterizar nanoemulsões contendo o óleo essencial de capim-limão quanto ao tamanho de partícula, índice de polidispersão, potencial zeta, pH e eficiência de encapsulação;
- Avaliar a estabilidade físico-química das nanoemulsões após centrifugação, ciclos de congelamento-descongelamento e estudo de estabilidade acelerada de 90 dias em diferentes temperaturas;
- Selecionar a nanoemulsão ideal para produzir nanopartículas poliméricas sólidas contendo o óleo essencial de capim-limão através da técnica de nano *spray-drying*;
- Caracterizar as propriedades físico-químicas das nanopartículas poliméricas, incluindo morfologia, tamanho de partícula, estrutura cristalina, compatibilidade química, estabilidade térmica e solubilidade;
- Determinar o rendimento, a eficiência de encapsulação e a retenção de óleo essencial nas nanopartículas poliméricas;
- Avaliar o perfil de permeação e retenção cutânea do citral, utilizado como marcador do óleo essencial de capim-limão, a partir do óleo essencial de capim-limão livre e nanoencapsulado, utilizando pele suína em células de Franz.
- Avaliar o potencial antioxidante (DPPH[•] e FRAP), anti-inflamatório (desnaturação de proteínas *in vitro*) e antimicrobiano (microdiluição em caldo e disco difusão contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* e

Pseudomonas aeruginosa) do óleo essencial de capim-limão livre e nanoencapsulado;

- Avaliar a citotoxicidade do óleo essencial de capim-limão livre e nanoencapsulado frente a fibroblastos 3T3 por MTT.

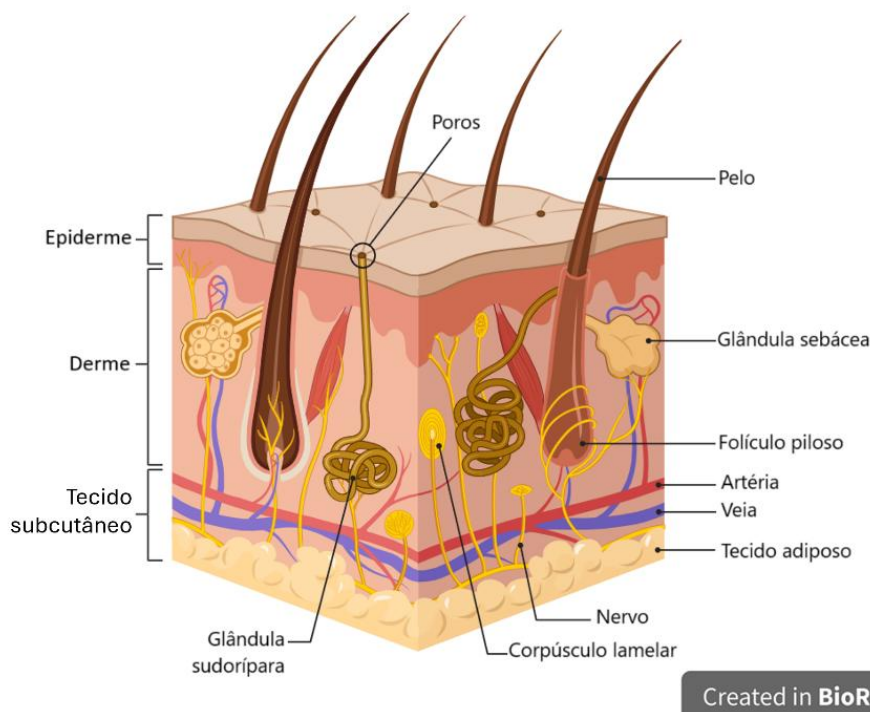
3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 ERITEMA SOLAR

3.1.1 Fisiologia da Pele

A pele (Figura 1) é maior órgão do corpo humano, representando aproximadamente 16% do peso corporal, e desempenha papel fundamental na proteção e na manutenção da homeostase do organismo. Este órgão recobre toda a superfície do corpo, formando uma barreira contra traumas físicos e químicos, micro-organismos e radiação ultravioleta, protegendo os tecidos mais profundos. Além disso, ajuda a prevenir a desidratação, armazenando e retendo água. Em certas áreas do corpo, a pele contém estruturas acessórias, como glândulas, pelos e unhas. Desempenha também outras diversas funções fisiológicas essenciais, como: termorregulação, percepção tátil, absorção, síntese de vitamina D e cicatrização de feridas (Shah; Mcknight; Hargest, 2024).

Figura 1 - Anatomia da pele.



Created in BioRender.com bio

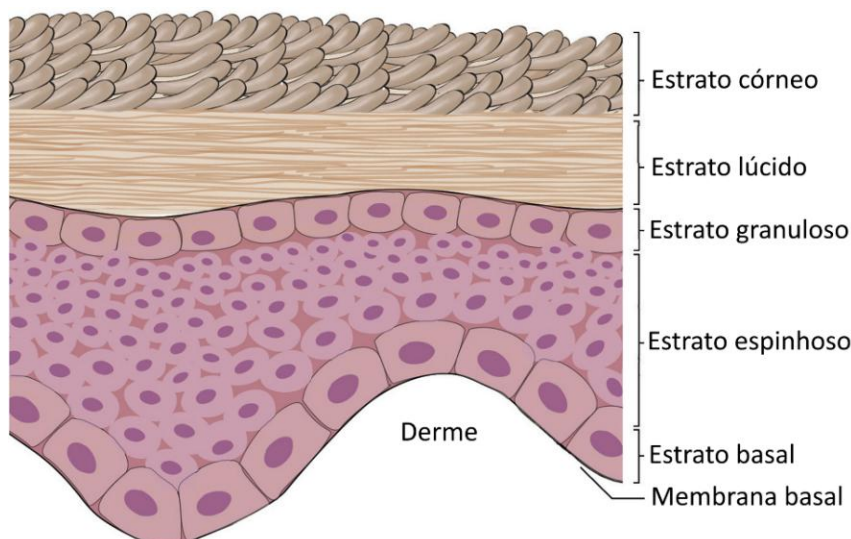
Fonte: A autora via BioRender Templates.

A pele é composta por duas camadas de tecidos cutâneos, a epiderme e a derme, que desempenham diferentes funções e são formadas por diversos tipos

celulares. A epiderme é a camada mais superficial, responsável pela maior parte da proteção física do órgão. Possui um epitélio estratificado formado por queratinócitos, células que produzem queratina, uma proteína fibrosa altamente estável e resistente, que tornam esta camada semipermeável. Os queratinócitos se originam nas células-tronco epidérmicas, que migram de baixo para cima e se diferenciam nas várias camadas (Shah; Mcknight; Hargest, 2024). Quando os queratinócitos alcançam a camada mais superficial, eles são desprendidos (descamados). Todo o processo de diferenciação celular leva aproximadamente 30 a 40 dias (Mohamed; Hargest, 2021).

As camadas da epiderme são divididas em 5: estrato basal, estrato espinhoso, estrato granuloso, estrato lúcido e estrato córneo (Figura 2).

Figura 2 - Camadas da epiderme.



Fonte: Adaptado de Mohamed; Hargest (2021).

O estrato basal é também conhecido como estrato germinativo, pois é onde ocorre a mitose dos queratinócitos. Nesta camada, as células são colunares, com núcleos ovais ou alongados e unidas por pontes intercelulares formadas por desmossomos. No estrato basal também se encontram os melanócitos, células que produzem e secretam um pigmento escuro chamado melanina que protege a pele contra a radiação ultravioleta (RUV) e é responsável pelos vários tons de pele (Dunaway *et al.*, 2018; Mohamed; Hargest, 2021; Junqueira; Carneiro, 2023).

À medida que os queratinócitos migram para o estrato espinhoso, eles desidratam e tornam-se poliédricos. O estrato granuloso recebe esse nome pois as células contêm grânulos basofílicos, também chamados de grânulos de querato-

hialina, que se transformam em queratina e lipídios epidérmicos (Mohamed; Hargest, 2021).

Logo acima, encontra-se o estrato lúcido, composto por células achatadas e anucleadas, que formam uma camada fina e transparente, mais perceptível nas palmas das mãos e solas dos pés. Na camada mais superficial, chamada de estrato córneo, os queratinócitos já sofreram apoptose e passaram por um processo de queratinização (Junqueira; Carneiro, 2023; Mohamed; Hargest, 2021).

Além da queratinização, os espaços intercelulares da epiderme são preenchidos com um fluido rico em lipídios que protege contra a perda de água e eletrólitos. Esta característica garante que a pele seja relativamente impermeável a compostos hidrofílicos, porém permeável a compostos lipofílicos (Shah; Mcknight; Hargest, 2024).

A derme fornece suporte e nutrição à epiderme, sendo composta principalmente por fibroblastos, vasos linfáticos e sanguíneos, terminações nervosas, folículos pilosos e glândulas. Essa camada é subdividida em duas: camada papilar e camada reticular (Junqueira; Carneiro, 2023).

A camada papilar é constituída de tecido conjuntivo frouxo que forma as papilas dérmicas, sua matriz extracelular apresenta um arcabouço delicado de fibras colágenas e elásticas que contribuem para prender a derme à epiderme, além de possuir pequenos vasos sanguíneos responsáveis pela nutrição e oxigenação da epiderme. A camada reticular é constituída de tecido conjuntivo denso, composta principalmente por fibras de colágeno e elastina, sendo a parte mais profunda e substancial da derme, onde encontram-se vasos sanguíneos maiores, vasos linfáticos, nervos e receptores sensoriais, além dos anexos cutâneos (folículos pilosos e glândulas) (Assis *et al.*, 2021; Junqueira; Carneiro, 2023).

Uma terceira camada chamada hipoderme foi, durante muito tempo, considerada parte da pele, embora atualmente seja vista como parte de um tecido subcutâneo que participa da fisiologia da pele (Assis *et al.*, 2021). É uma camada altamente vascularizada, formada por tecido conjuntivo frouxo, que confere flexibilidade e permite o deslizamento da pele sobre as estruturas subjacentes, e por tecido adiposo, responsável pela reserva de energia, termorregulação e absorção de choque. Dependendo da região e do grau de nutrição do organismo, a hipoderme pode ter uma camada variável de tecido adiposo (Junqueira; Carneiro, 2023; Mohamed; Hargest, 2021).

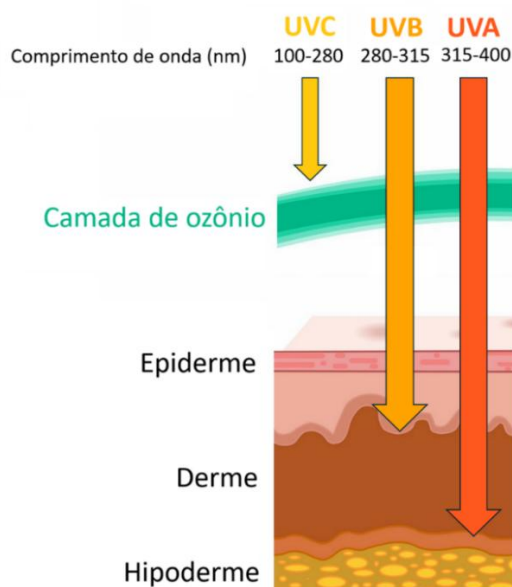
3.1.2 Efeitos da Radiação Ultravioleta (RUV) sobre a Pele

A epiderme é a camada mais importante para proteção contra danos causados pela radiação ultravioleta (RUV). Isso se deve, principalmente, pela presença de melanócitos no estrato basal, que produzem e secretam a melanina em resposta à exposição à RUV. A melanina age como um captador de espécies reativas de oxigênio (EROs), protege o DNA e bloqueia a penetração da RUV em camadas mais profundas da pele (Dunaway *et al.*, 2018).

A síntese de melanina é mediada pela enzima tirosinase sintetizada nos polirribossomos dos melanócitos, posteriormente introduzida nas cisternas do retículo endoplasmático granuloso e acumulada em vesículas formadas no complexo de Golgi chamadas melanossomos I, onde inicia-se a síntese da melanina. Por um momento, a tirosinase e a melanina coexistem nas vesículas melanossomos II e III. Quando a síntese de melanina acaba, o melanossomo III, agora chamado grânulo de melanina, migra pelos prolongamentos dos melanócitos e é fagocitado pelos queratinócitos, que irão funcionar como depósitos de melanina. A RUV acelera este processo de síntese de melanina e a sua transferência para os queratinócitos, fazendo com que a pele escureça (Junqueira; Carneiro, 2023).

A RUV faz parte de um espectro eletromagnético com diferentes comprimentos de onda (λ), que afetam a pele de maneiras variadas (Figura 3). A radiação eletromagnética é constituída por fótons, que correspondem a unidades de energia. Ao atingir o tecido cutâneo, os fótons podem ser refletidos, transmitidos para camadas mais profundas ou convertidos em energia térmica, dependendo principalmente do comprimento de onda. A penetração da radiação ocorre na epiderme e na derme, onde cromóforos e opsinas presentes em queratinócitos, melanócitos e fibroblastos atuam como importantes sensores da luz, desencadeando diferentes respostas fisiológicas na pele (Assis *et al.*, 2021).

Figura 3 - Efeito dos diferentes tipos de radiação ultravioleta na pele.



Legenda: UVA = Radiação ultravioleta A; UVB = Radiação ultravioleta B; UVC = Radiação ultravioleta C.

Fonte: Adaptado de Adobe Stock.

De forma geral, a RUV é capaz de gerar EROs e nitrogênio, que induzem a inflamação, além de causar mutações ao DNA. A radiação UVC (λ entre 100 e 280 nm) é a mais carcinogênica, porém é quase totalmente filtrada pela camada de ozônio. A radiação UVB (λ entre 280 e 315 nm) é parcialmente filtrada e é a responsável pelas queimaduras solares. A radiação UVA (λ entre 315 e 400 nm) é a mais abundante na luz solar e causa o fotoenvelhecimento cutâneo, devido à sua capacidade de penetrar até a derme, onde promove alterações estruturais nas fibras de colágeno e elastina. No entanto, causa menos danos evidentes do que a UVB e está associada ao bronzeado imediato, mas de curta duração, ocasionado pela foto-oxidação da melanina já existente (Assis *et al.*, 2021; Dupont; Gomez; Bilodeau, 2013; Shah; Mcknight; Hargest, 2024).

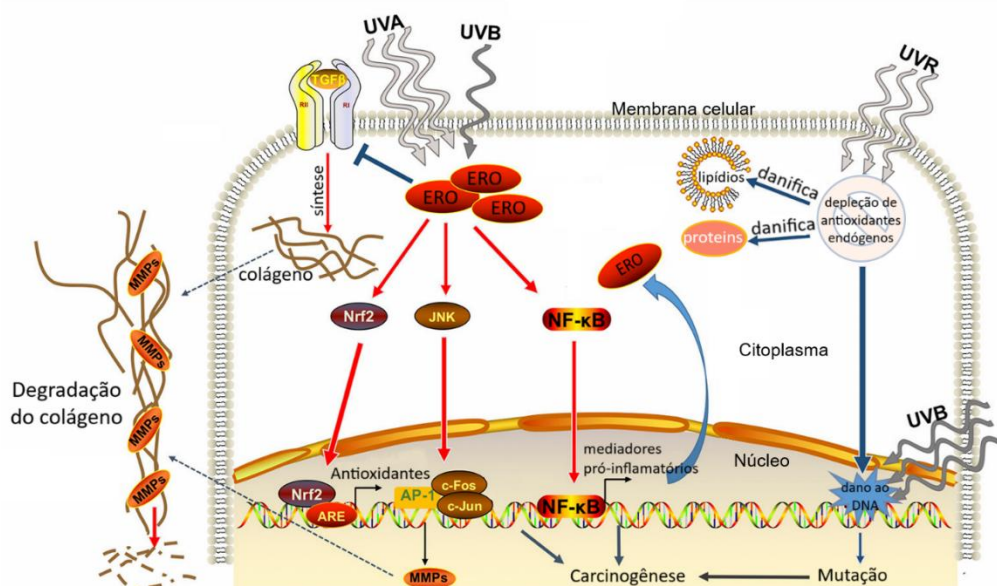
Porém, é a combinação de ambas que gera danos graves ao DNA, podendo aumentar o risco de certos tipos de câncer de pele, como melanoma maligno. Também reduz as funções protetoras da pele pela inibição da atividade imunológica, resultando em vários efeitos agudos e crônicos, incluindo morte celular, supressão da síntese de DNA, elastose solar e eritema solar (Shah; Mcknight; Hargest, 2024).

As queimaduras solares, também denominadas eritema solar, afetam uma grande porcentagem da população. A maioria são superficiais ou de primeiro grau,

entretanto, já são suficientes para causar alterações epidérmicas devido à formação de EROs nas membranas celulares (Balkrishna *et al.*, 2023).

O aumento das EROs causa um desequilíbrio entre os agentes pró-oxidantes e antioxidantes, gerando estresse oxidativo, que por sua vez danifica lipídios, proteínas e DNA. Também causa a ativação de fatores de transcrição como Nrf2, JNK e NF-κB, que se ligam às suas sequências de DNA específicas como elemento responsivo a antioxidantes (ARE), AP-1 e NF-κB, respectivamente. Entre os alvos desses fatores de transcrição estão os genes associados à síntese de mediadores pró-inflamatórios, como ciclooxigenase-2 (COX-2), prostaglandina E2, interleucinas. Além disso, o estresse oxidativo estimula a síntese e a liberação de metaloproteinases de matriz (MMPs), que degradam o colágeno, contribuindo para o fotoenvelhecimento, como mostra a Figura 4 (Dunaway *et al.*, 2018).

Figura 4 - Efeitos da radiação ultravioleta solar na pele. Representação simplificada dos efeitos das radiações UVA+UVB nos queratinócitos.



Legenda: AP1 = Proteína Ativadora 1; ARE = Elemento responsivo a antioxidantes; c-Fos e c-Jun = Proteínas; ERO = Espécie reativa e oxigênio; JNK = quinase N-terminal de c-Jun; MMPs = Metaloproteinases de matriz; NF-κB = Fator Nuclear Kappa B; Nrf2 = Fator Nuclear Relacionado ao Fator Eritroide 2; UVA = Radiação ultravioleta A; UVB = Radiação ultravioleta B; UVR = Radiação ultravioleta.

Fonte: Adaptado de Dunaway *et al.* (2018).

A queimadura solar desencadeia um processo inflamatório e uma cascata de ativação celular que leva à vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular e migração celular. Qualquer grau de eritema solar está ligado a uma quebra transitória

da barreira imunológica da pele. Acredita-se que os macrófagos tenham um dos papéis mais críticos na imunomodulação e regulação do processo inflamatório (Balkrishna *et al.*, 2023; Shah; Mcknight; Hargest, 2024). A alteração induzida por ERO em lipídios e proteínas também leva à sinalização celular anormal, o que potencialmente pode promover a carcinogênese (Dunaway *et al.*, 2018).

O eritema solar tardio, geralmente precedido por eritema térmico, inclui a produção de histamina seguida pela liberação de prostaglandinas, embora as alterações bioquímicas sejam semelhantes às encontradas em processos inflamatórios inespecíficos (Balkrishna *et al.*, 2023).

Apesar dos avanços no conhecimento sobre os processos teciduais, celulares e moleculares que ocorrem na pele durante o eritema solar, a compreensão dos mecanismos por trás dos danos induzidos pela RUV permanece insuficiente, assim como as terapias disponíveis para seu tratamento (Balkrishna *et al.*, 2023). Como mencionado anteriormente, RUV de diferentes comprimentos de onda interagem de maneiras distintas com a pele, definindo seus efeitos biológicos. Ao absorver a RUV, as bases nitrogenadas do DNA das células epidérmicas entram em um estado excitado e liberam rapidamente a energia absorvida como calor, retornando ao seu estado fundamental (Assis *et al.*, 2021).

No entanto, uma pequena fração permanece excitada e participa de uma reação fotoquímica direta chamada de reação de cicloadição, que forma dímeros de pirimidina ciclobutano ou, em menor grau, (6-4)-pirimidina-pirimidona, fotoprodutos que afetam a transcrição, replicação, transcrição e reparo do DNA (Assis *et al.*, 2021; Balkrishna *et al.*, 2023). O efeito agudo dessas alterações ao DNA é uma forte resposta inflamatória: o eritema solar (Assis *et al.*, 2021).

3.1.3 Produtos Naturais para Tratamento do Eritema Solar

O eritema solar desencadeia vários estágios de alterações cutâneas, incluindo inflamação, reepitelização, granulação e neovascularização, mediados pelo envolvimento de inúmeras substâncias bioquímicas, como antioxidantes, citocinas e biomarcadores (Al-Samydai *et al.*, 2023). Apesar de existirem diversos métodos de tratamento para queimaduras, ainda existem poucas formulações eficazes que podem ser utilizadas em terapias não invasivas. Sendo assim, há um interesse crescente no desenvolvimento de agentes terapêuticos seguros, como compostos de origem vegetal (Miastkowska *et al.*, 2023).

Diversas plantas medicinais são usadas na medicina tradicional e foram avaliadas cientificamente para aliviar os sintomas de queimaduras por via tópica, como mostra o Quadro 1.

Quadro 1 - Produtos naturais utilizados tradicionalmente no tratamento do eritema solar e as propriedades terapêuticas cientificamente comprovadas que fundamentam seu uso.

Produto natural	Propriedades
Óleo de gergelim	Protege as células da pele da RUV, é antioxidante e anti-inflamatório.
Óleo de coco	Contém ativos antioxidantes.
Óleo de semente de uva	Alto poder antioxidante.
Óleo de girassol	Retém a umidade na pele e protege as células da RUV.
Óleo de amêndoas	Proteção contra radiação UVB e redução da peroxidação lipídica.
Óleo de rícino	Mantém a microbiota da pele saudável.
Manteiga de karité	Melhora a circulação sanguínea sob a pele e promove a renovação celular.
Óleo essencial de lavanda	Promove a reepitelização, é anti-inflamatório e analgésico.
Óleo essencial de capim-limão	Ajuda a reduzir a inflamação, acalmar e aliviar a irritação da pele.
Suco de tomate	Neutraliza as espécies reativas de oxigênio presentes na pele, reduz a peroxidação lipídica e previne o eritema solar. Diminui os efeitos nocivos da RUV na pele a curto prazo (como queimaduras solares) e cumulativos (como melanoma).
Suco de romã	Demonstrou efeito significativo em queimaduras solares graves.
Chá verde	Proteção contra carcinogênese e respostas inflamatórias induzidas pela radiação UVB.
Gel de babosa	Hidrata e revitaliza a pele, bloqueia as radiações UVA/UVB e fortalece a resposta do sistema imunológico.
Pepino	Promove a renovação do estrato córneo, acalma irritações e previne a desidratação.

Fonte: Balkrishna *et al.*, 2023.

Compostos com efeitos antibacterianos, antioxidantes e anti-inflamatórios são particularmente interessantes para tratar queimaduras solares (Skowrońska; Bazyłko, 2023). Por isso, destacam-se diversos metabólitos secundários como alcaloides, óleos essenciais (OEs), flavonoides, taninos, terpenoides, saponinas, ácidos graxos e polifenóis. O mecanismo de ação desses constituintes pode envolver a redução da carga microbiana, propriedades antissépticas, anti-inflamatórias, antioxidantes, favorecimento da síntese de colágeno, proliferação celular, oxigenação e hidratação tecidual, proliferação de fibroblastos, angiogênese, reconstituição dérmica ou a combinação de mais de um mecanismo (Al-Samydai *et al.*, 2023).

Recentemente, os OEs estão sendo explorados por seu potencial uso tópico, devido ao seu papel já bem estabelecido na cicatrização de feridas por melhorar a inflamação e diminuir a contaminação microbiana e o estresse oxidativo (Siddique *et al.*, 2023).

3.2 ÓLEOS ESSENCIAIS

3.2.1 Definição

Criado no século XVI, o termo ‘óleo essencial’ se refere à teoria da “Quinta essentia” proposta pelo famoso alquimista e médico Paracelsus (1493-1541), que definiu o papel da alquimia desenvolvendo extratos vegetais e medicamentos fitoterápicos. Ele acreditava que o processo de destilação extraía a parte mais significativa da planta, ou seja, a sua essência (Sousa *et al.*, 2023).

A Farmacopeia Brasileira (8ª edição, 2026) define óleos voláteis, sinônimo de OEs, como:

Óleo obtido de plantas, que evapora à temperatura ambiente sem deixar resíduo. É constituído por mistura complexa de substâncias de baixa massa molecular, que determinam seu odor e sabor. Pode se apresentar isoladamente ou misturado entre si, retificado, desterpenado ou concentrado.

Diversas espécies de plantas, chamadas plantas aromáticas, produzem OEs através do seu metabolismo (Pezantes-Orellana *et al.*, 2024). O papel ecológico dos OEs é atuar como sinais químicos que permitem que a planta controle e regule seu ambiente, repelindo predadores, atraindo insetos para polinização, inibindo a germinação de sementes, permitindo a comunicação entre diferentes plantas e possuindo atividades inseticidas, dissuasivas e antifúngicas. Os OEs podem ser extraídos de diferentes partes das plantas aromáticas, como flores (rosa, laranja,

lavanda), botões florais (cravo), brácteas (ylang-ylang), folhas (capim-limão, hortelã, eucalipto, louro, tomilho, sálvia), rizomas (gengibre, cúrcuma), raízes (vetiver), sementes (coentro), frutos (anis, erva-doce e epicarpos cítricos) e casca (sândalo, canela e pau-rosa) (Bunse *et al.*, 2022; Hanif *et al.*, 2019).

A maioria dos OEs são incolores ou amarelo-claros, líquidos à temperatura ambiente e menos densos que a água, com pouquíssimas exceções (canela, sassafrás e vetiver). Além disso, são solúveis na maioria dos solventes orgânicos (éter, álcool, acetona) e insolúvel em água (Hanif *et al.*, 2019; Sousa *et al.*, 2023). As propriedades físicas, sensoriais e bioativas dos OEs resultam de sua composição química complexa, que consiste em misturas de metabólitos secundários de baixo peso molecular, altamente voláteis e que geralmente exibem um odor forte e agradável (Bunse *et al.*, 2022).

3.2.2 Composição Química

Por serem metabólitos secundários, os OEs podem variar em qualidade, quantidade e composição, mesmo quando extraídos de uma mesma espécie vegetal. Estima-se que mais de 200 compostos podem ser encontrados em OEs (Hanif *et al.*, 2019; Pezantes-Orellana *et al.*, 2024). Fatores extrínsecos como clima, condições do solo, infestação de pragas, idade, genética, estação do ano e estágio do ciclo de desenvolvimento, desempenham um papel decisivo na composição química final dos OEs, consequentemente, alterando suas propriedades aromáticas e bioativas. Ainda, o órgão vegetal e o método de extração utilizados também contribuem para alterações na sua composição (Bunse *et al.*, 2022; Sharmeen *et al.*, 2021).

Em geral, os OEs podem ser compostos por cerca de 20 a 60 componentes em diferentes concentrações, com dois ou três presentes em maiores concentrações (20 a 70% da composição total), denominados componentes majoritários. Normalmente, são esses os principais responsáveis pelo aroma característico daquela planta aromática e suas propriedades biológicas. Entretanto, os demais componentes, mesmo em baixas concentrações, impactam significativamente na qualidade do aroma e na atividade biológica, seja potencializando a ação (efeito sinérgico) ou por meio de efeitos antagônicos (Sharmeen *et al.*, 2021; Sousa *et al.*, 2023).

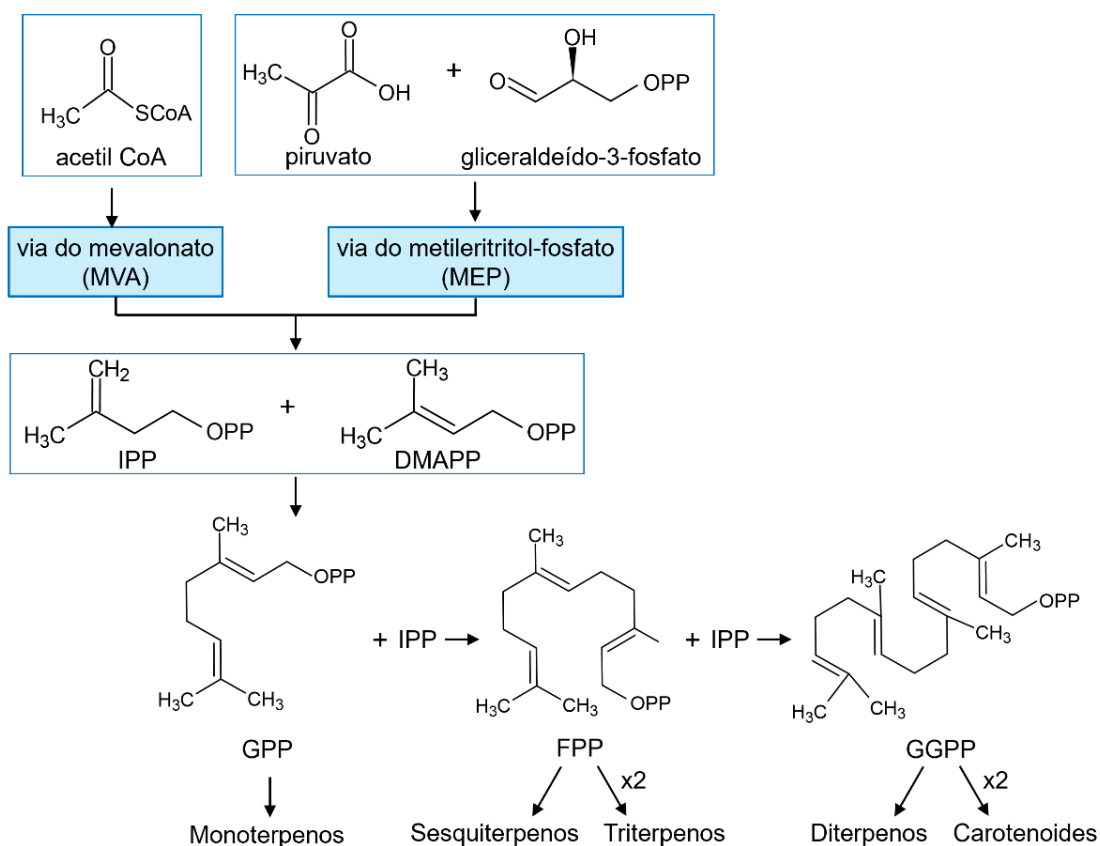
Os componentes químicos dos OEs possuem precursores metabólicos distintos e são gerados por meio de diferentes vias biossintéticas. A grande maioria se origina de compostos fenólicos através da via do chiquimato e do acetatomalonato,

derivados de ácidos graxos e isoprenoides, e podem ser divididos em dois grupos: terpenoides (grupo principal) e não terpenoides (principalmente fenilpropanoides). Todos eles são hidrocarbonetos e seus derivados oxigenados, encontrados na forma de várias classes químicas, incluindo aldeídos, cetonas, álcoois, óxidos, ésteres, aminas, amidas, fenóis, compostos de nitrogênio e enxofre e heterociclos (Bunse *et al.*, 2022; Sousa *et al.*, 2023).

Os terpenos são hidrocarbonetos com estruturas químicas que variam de compostos lineares a mono ou policíclicos e constituem uma das maiores e mais diversas famílias estruturalmente de produtos naturais. Os terpenoides (ou isoprenoides) são terpenos oxigenados, ou seja, apresentam grupos funcionais contendo oxigênio como cetona, aldeído, éter ou frações carboxílicas. Seu esqueleto é formado pela condensação de unidades de isopreno (2-metilbutadieno), moléculas constituídas de cinco carbonos, sintetizadas a partir do isopentenil pirofosfato (IPP) e seu isômero alílico dimetilalil pirofosfato (DMAPP) (Bunse *et al.*, 2022; Sousa *et al.*, 2023).

De forma geral, duas rotas bioquímicas distintas e independentes estão envolvidas na biossíntese de isoprenoides: a via do mevalonato (MVA), a primeira e classicamente reconhecida rota para a biossíntese de DMAPP e IPP a partir do acetil-CoA, e a via do metileritritol-fosfato (MEP) (via não mevalonato) derivada de piruvato e gliceraldeído-3-fosfato (Figura 5). A via MVA ocorre no citosol, enquanto a via MEP ocorre em plastídios (organelas responsáveis pela realização da fotossíntese, armazenamento de substâncias e síntese de aminoácidos e ácidos graxos). Além disso, a biossíntese pode envolver uma combinação das rotas MVA e MEP (Bunse *et al.*, 2022; Karunanithi; Zerbe, 2019; Sousa *et al.*, 2023).

Figura 5 - Esquema geral da biossíntese de terpenos.



Legenda: DMAPP = dimetilalil pirofosfato; IPP = isopentenil pirofosfato; MVA = via do mevalonato; MEP = via do metileritritol-fosfato.

Fonte: A autora.

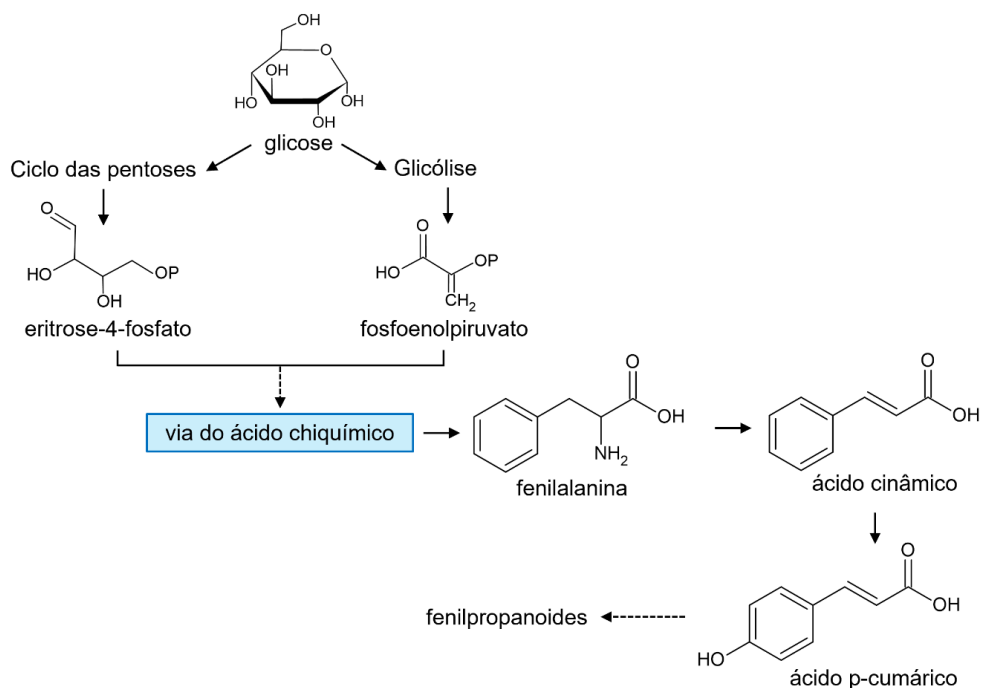
Os terpenos são classificados de acordo com o número de unidades de isopreno (C5) presentes em sua estrutura: hemiterpenos (C5), monoterpênicos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), triterpenos (C30), tetraterpenos ou carotenoides (C40) e politerpenos [(C5)*n*]. Entre eles, os mono- e sesquiterpenos são os mais abundantes nos OEs (Masyita *et al.*, 2022; Sharmeen *et al.*, 2021). Diterpenos, triterpenos e tetraterpenos com seus derivados oxigenados também podem ser detectados, porém em pequenas quantidades (Masyita *et al.*, 2022).

Os monoterpênicos constituem cerca de 90% da composição dos OEs e apresenta uma variedade de mais de 1000 estruturas químicas. Como mostra a Figura 5, eles são geralmente formados pela fusão cabeça-cauda do IPP com DMAPP, resultando em geranil pirofosfato (GPP) (Bunse *et al.*, 2022; Sousa *et al.*, 2023). A adição de outro IPP ao GPP origina o pirofosfato de farnesila (FPP), precursor dos sesquiterpenos, que apresentam uma diversidade ainda maior. Depois, a fusão de FPP com IPP gera o pirofosfato de geranilgeranila (GGPP), precursor dos diterpenos

e a condensação de dois FPP ou dois GGPP participam da biossíntese de triterpenos e carotenoides, respectivamente. A extensão da cadeia de carbonos e as possibilidades de ciclizações, podendo assumir estruturas acíclicas (lineares), monocíclicas, bicíclicas ou tricíclicas, bem como as modificações bioquímicas (rearranjo ou oxidação), permitem essa grande diversidade estrutural (Karunanithi; Zerbe, 2019; Sousa *et al.*, 2023).

Além dos terpenoides, outro grupo químico encontrado nos OEs são os fenilpropanoides. Biogeneticamente, os terpenoides e fenilpropanoides têm diferentes precursores metabólicos e são gerados por diferentes rotas biossintéticas (Sharmeen *et al.*, 2021). Os fenilpropanoides são sintetizados pela via do ácido chiquímico (Figura 6), tendo como precursor biogenético o aminoácido L-fenilalanina. A partir disso, originam-se os ácidos cinâmico e p-cumárico, que sofrem diversas reações de degradação, produzindo propenilbenzenos e/ou alilbenzenos e, posteriormente, aldeídos aromáticos por oxidação (Heinzmann; Spitzer; Simões, 2017). Esta via biossintética produz precursores comuns de fenilpropanoides, como flavonoides, ligninas, ácidos fenólicos, estilbenos e cumarinas (Deng; Lu, 2017).

Figura 6 - Esquema geral da biossíntese de fenilpropanoides.



Fonte: A autora

Todas as famílias de plantas aromáticas são ricas em terpenoides, enquanto os fenilpropanoides são mais comumente encontrados em famílias de plantas específicas, incluindo Apiaceae, Lamiaceae, Myrtaceae, Piperaceae e Rutaceae. Atualmente, cerca de 3000 plantas aromáticas são conhecidas por produzir OE como uma parte importante de seu metabolismo secundário, 300 das quais são comercialmente significativas devido aos seus valores medicinais e industriais. Elas são empregadas em diferentes áreas, como farmácia, agronomia, sanitizantes, cosméticos, perfumes e alimentos (Sousa *et al.*, 2023).

3.3 ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM-LIMÃO

3.3.1 Características da Planta e Composição Química

Capim-limão, capim-santo ou erva-cidreira são os nomes populares de algumas espécies do gênero *Cymbopogon*, pertencente à família Poaceae, que compreende cerca de 180 espécies, subespécies e variedades. O óleo essencial de capim-limão (OECL) é normalmente extraído das espécies *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf., *Cymbopogon flexuosus* (Steud.) e *Cymbopogon pendulus* (Nees ex Steud.) Wats.), plantas nativas de regiões tropicais e subtropicais da Ásia, África e América do Sul (Kusuma *et al.*, 2024). A espécie *C. citratus* (Figura 7) é a mais importante economicamente, sendo amplamente cultivada em todo o mundo devido às suas propriedades aromáticas e medicinais (Dangol *et al.*, 2023).

Figura 7 - Fotografia da planta capim-limão, espécie *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.

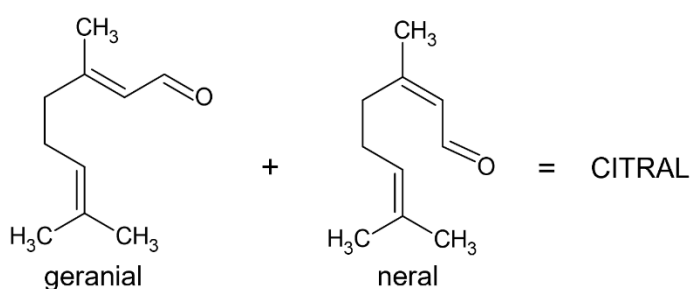


Fonte: Plants of the World Online (POWO, 2024).

Segundo a Farmacopeia Brasileira (8ª edição, 2026), as folhas de *C. citratus*, utilizadas para extração do OE, são constituídas por bainha alargada em direção à base, com 4 a 26 cm de comprimento, 0,6 a 6,5 cm de largura na região basal, 1,0 a 3,5 cm na região mediana e 0,9 a 2,1 cm na região apical. A lâmina possui 60 a 85 cm de comprimento, cor verde-grisácea quando seca, formato linear lanceolada, acuminada no ápice, plana na porção expandida, canaliculada e estreitada na porção basal, áspera devido aos tricomas curtos e silicosos e com margem inteira, com tricomas rígidos e cortantes. Microscopicamente, apresentam células secretoras, células fundamentais ricas em gotas lipídicas e células especializadas. As folhas dessecadas de *C. citratus* devem conter, no mínimo, 0,5% de OE quando extraído por hidrodestilação (Brasil, 2024), podendo alcançar rendimentos de até 2% devido à ampla variação da composição química em função da diversidade genética, habitat e tratamento agrônomo da cultura (Abdulazeez; Abdullahi; James, 2015).

Em relação à composição química, o OECL contém principalmente mono- e sesquiterpenoides. Os componentes majoritários são p geranial (ou trans-citral, α -citral, citral A) e o isômero Z denominado neral (ou cis-citral, β -citral, citral B), isômeros geométricos distintos, mas geralmente denominadas em conjunto como citral nos estudos que descrevem suas atividades biológicas (Figura 8). O citral compreende 60 a 80% da composição total do OECL (Adhikary *et al.*, 2024; Kusuma *et al.*, 2024).

Figura 8 - Estrutura química dos isômeros geranial (α -citral) e neral (β -citral).

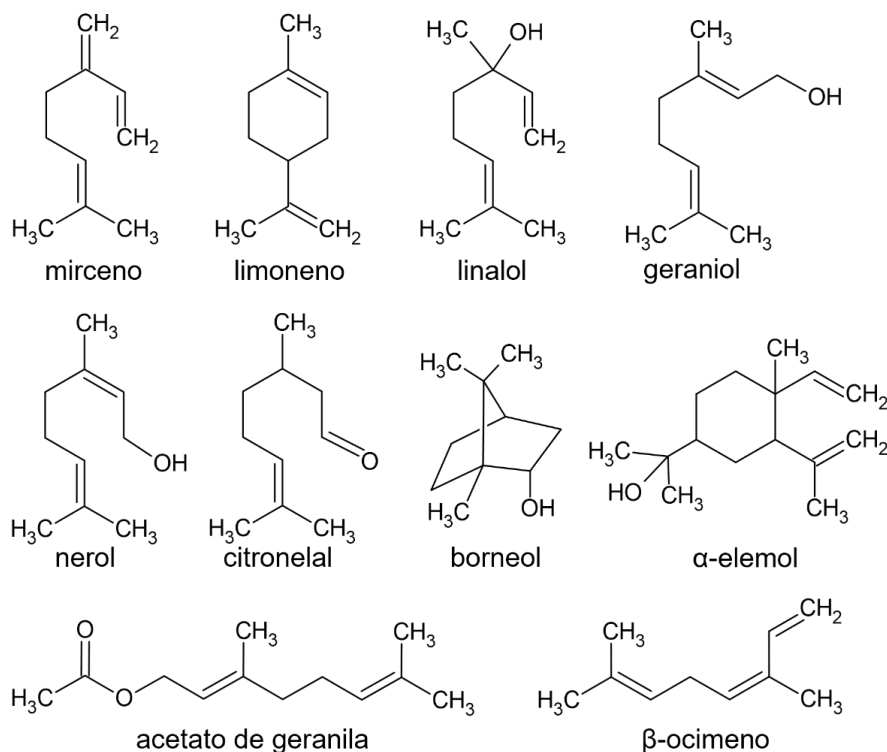


Fonte: A autora

O segundo componente em maior concentração é o mirceno, cuja produção está fortemente relacionada à origem geográfica da planta, podendo chegar a 25%. Entretanto, diversos constituintes químicos em menores concentrações já foram identificados no OECL (Figura 9). Dentre eles, borneol, geraniol, acetato de geranila,

linalol, nerol, α -elemol, β -ocimeno, limoneno e citronelal (Dangol *et al.*, 2023; Du *et al.*, 2024; Kusuma *et al.*, 2024).

Figura 9 - Estrutura química de alguns constituintes encontrados no óleo essencial de capim-limão.



Fonte: A autora.

3.3.2 Propriedades Farmacológicas

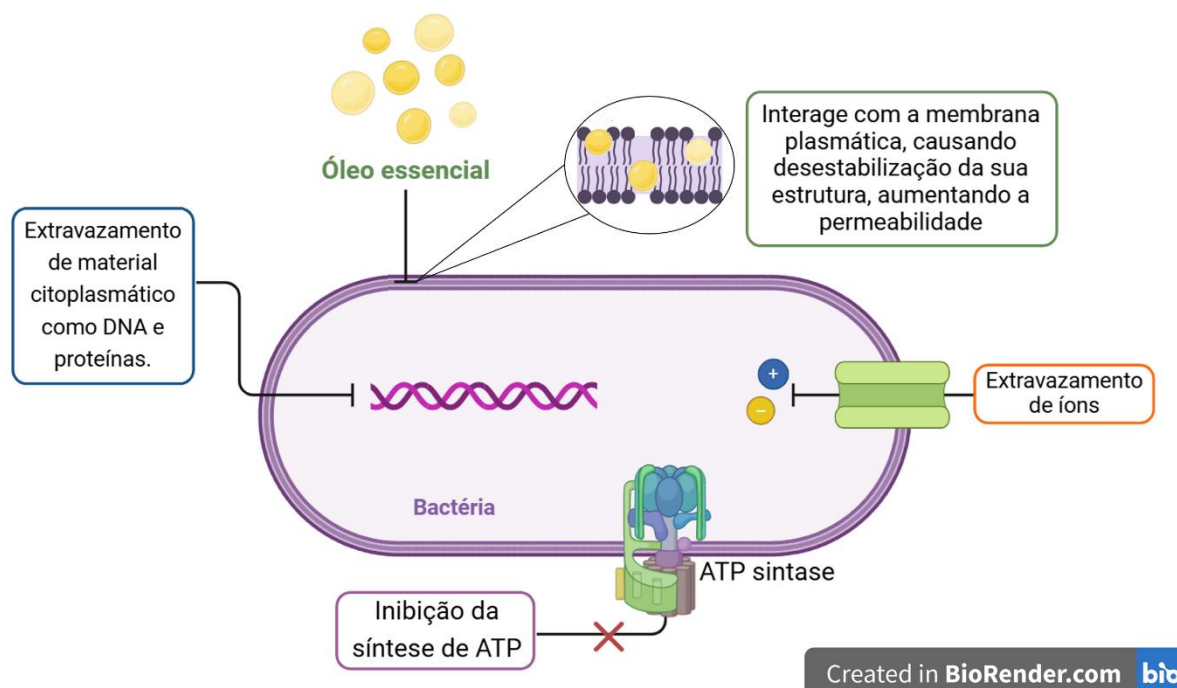
O capim-limão tem um longo histórico de uso como tempero e aromatizante em alimentos, sobretudo em países do sudeste Asiático, China e Caribe, devido ao seu aroma cítrico característico (Du *et al.*, 2024; Kusuma *et al.*, 2024). Já em países como Brasil, Cuba e Índia, é utilizado popularmente para preparação de chá medicinal. No Ayurveda, sistema de tratamento tradicional da Índia, o OECL é empregado no tratamento da hipertensão, febre, doenças estomacais, inflamações relacionadas a reumatismo, resfriados, gripes e afecções cutâneas. Em países tropicais e subtropicais, a infusão das folhas de capim-limão é amplamente utilizada para regular a glicemia e lipídios séricos para prevenir diabetes, hipertensão e obesidade (Du *et al.*, 2024; Kusuma *et al.*, 2024).

Outras aplicações etnofarmacológicas do extrato de capim-limão incluem: tratamento de picada de insetos, tosse, cefaleia, anti-inflamatório, antioxidante,

analgésico, anticancerígeno, ansiolítico, hipnótico, anticonvulsivante, diurético, antibacteriano, antifúngico e antimalárico. Muitos desses efeitos terapêuticos já foram estudados e documentados, dando suporte às suas aplicações tradicionais em cosméticos, produtos farmacêuticos, repelentes, inseticidas e perfumaria, principalmente atribuídos ao alto teor de OE (Kiani *et al.*, 2022; Kusuma *et al.*, 2024; Tibenda *et al.*, 2022).

O citral, composto majoritário do OECL, é amplamente responsável pelas propriedades antibacterianas e antifúngicas. Entretanto, isoladamente, possui menos efeito comparado ao óleo como um todo, devido ao efeito sinérgico dos demais monoterpenoides (Kusuma *et al.*, 2024; Mukarram *et al.*, 2022). De forma geral, os terpenoides presentes no OECL causam desestabilização da membrana celular bacteriana e induzem efeitos tóxicos no citoplasma, resultando na degradação e lise celular (Figura 10). Sugere-se que uma baixa concentração de OECL inibe o crescimento e o desenvolvimento microbiano, enquanto uma concentração mais alta torna a destruição irreversível, levando à morte celular (Faheem *et al.*, 2022; Mukarram *et al.*, 2022).

Figura 10 - Efeito antimicrobiano do óleo essencial de capim-limão: sugestão de mecanismo de ação em célula bacteriana.



Fonte: A autora via BioRender Templates.

Em relação aos fungos, o OECL pode atuar diretamente na bicamada lipídica, formar um complexo de transferência de cargas, desestabilizando a membrana e retardando a formação de esporos. Alguns constituintes do OECL apresentam atividade antifúngica significativa, como o geraniol e linalol (Mukarram *et al.*, 2022).

Alguns microrganismos relevantes sensíveis aos OECL são *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* (incluindo cepas resistentes a meticilina), *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Candida albicans* e *Aspergillus niger* (Dangol *et al.*, 2023; Mukarram *et al.*, 2022).

Além de antimicrobiano, o citral demonstrou ser um antioxidante eficaz tanto *in vivo* quanto *in vitro* (Kusuma *et al.*, 2024). No OECL, a atividade antioxidante é ainda mais evidenciada devido ao efeito sinérgico de seus constituintes (Adhikary *et al.*, 2024).

Ainda, o OECL se destaca por suas propriedades anti-inflamatórias, também atribuídas principalmente ao citral, que se mostrou capaz de reduzir significativamente vários biomarcadores inflamatórios em células da pele humana e suprimir de forma evidente a inflamação cutânea induzida por agentes químicos, tanto por via tópica quanto oral, em modelos de camundongos (Tibenda *et al.*, 2022). A ação anti-inflamatória está diretamente relacionada às propriedades analgésicas e antipiréticas do OECL, reconhecidas pelo uso popular (Kiani *et al.*, 2022).

3.3.3 Uso Dermocosmético

Cosméticos são formulações tipicamente usadas externamente, ou seja, aplicadas na pele, e destinadas para limpeza, embelezamento, promoção da atratividade ou alteração da aparência sem afetar a estrutura ou funções do corpo. Dermocosméticos ou cosmecêuticos são produtos cosméticos que contêm na formulação ingredientes terapeuticamente ativos desenvolvidos para restaurar, corrigir e tratar a saúde da pele e seus anexos (Gupta *et al.*, 2022).

O OECL possui grande relevância na indústria de cosméticos, especialmente como aromatizante, devido à sua fragrância cítrica característica. Mas além de agregar características organolépticas aos produtos, as propriedades bioativas do OECL como antimicrobiano, antioxidante e anti-inflamatório, também o tornam um promissor candidato para utilização como agente ativo em produtos dermocosméticos (Kusuma *et al.*, 2024).

Observações recentes mostram que uma das principais razões para o processo de envelhecimento e desenvolvimento de doenças cutâneas é a destruição celular causada pelo excesso de EROs (Kiani *et al.*, 2022). Por meio de sua atividade antioxidante, o OECL protege a pele contra os danos oxidativos aos componentes celulares, atenuando a formação de rugas, o fotoenvelhecimento, a elastose, o ressecamento e os processos de hiperpigmentação. Ainda, é capaz de inibir enzimas como a colagenase, elastase e hialuronidase, que estão envolvidas na quebra de estruturas importantes da pele para manutenção da hidratação e elasticidade (Kusuma *et al.*, 2024).

Ativos com atividade anti-inflamatória também despertam atenção da indústria dermocosmética, devido ao seu potencial de aliviar sintomas como vermelhidão, edema e irritações decorrentes de condições inflamatórias da pele. Em 2014, Boukhatem e colaboradores conduziram o primeiro estudo *in vivo* para avaliar o potencial anti-inflamatório do OECL por via tópica, através do teste de edema de orelha induzido por óleo de cróton. No total, 16 camundongos albinos suíços foram divididos em 4 grupos: veículo (controle negativo), 5 mg de gel tópico de diclofenaco sódico 1% (controle positivo) e OECL nas doses de 5 e 10 µL por orelha. A reação inflamatória cutânea foi avaliada pela diferença de peso entre a orelha tratada (esquerda) e não tratada (direita) de cada animal e pela análise morfológica de biópsias das orelhas. O OECL apresentou uma atividade anti-inflamatória superior ao controle positivo, pois reduziu o edema em 62,5% com 5 µL e em 75% com 10 µL, enquanto o controle positivo reduziu em 56,2%. Em concordância, a microscopia dos tecidos revelou uma redução na espessura da orelha tratada com OECL, similar ao uso de diclofenaco, confirmando seu efeito anti-inflamatório por via tópica.

Reforçando esses dados, Han e Parker (2017) avaliaram a atividade anti-inflamatória do OECL em fibroblastos dérmicos humanos pré-inflamados. Foram avaliados 17 biomarcadores que estão intimamente relacionados aos processos de inflamação e remodelação de tecidos e o OECL inibiu significativamente 11 deles. Observou-se também a inibição da produção do fator estimulante de colônias de macrófagos, um biomarcador imunomodulador. Esses resultados sugerem que o OECL é um bom candidato terapêutico para tratar inflamação cutâneas.

Posteriormente, Andrade e colaboradores (2023) desenvolveram um modelo experimental humano para testar e avaliar as propriedades anti-inflamatórias do OECL, utilizando o metilnicotinato como agente indutor de inflamação. O ensaio

contou com 14 participantes, que fizeram aplicações diárias (manhã e noite) no antebraço, de duas formulações em gel: uma contendo OECL e outra branco. A intervenção foi realizada de forma simples-cega, com o local não tratado servindo como controle negativo. As respostas cutâneas foram medidas no dia da aplicação e após 14 dias, utilizando tecnologias não invasivas, como perfusão local por laser, medida de edema e perda de água transepidérmica. Os resultados mostraram que os locais tratados com OECL apresentaram um aumento significativo da hidratação epidérmica superficial e profunda, além de uma resposta inflamatória reduzida à exposição ao metilnicotinato, quando comparado ao branco. Os autores atribuem esses efeitos a diminuição da produção de EROs e mediadores pró-inflamatórios, fornecendo evidências claras de um efeito protetor do OECL aplicado topicamente.

Apesar das descobertas promissoras de alguns estudos, a aplicação de OEs por via tópica continua sendo um tema de debate, devido às preocupações sobre a segurança e eficácia desses produtos. Um estudo conduzido por Lulekal e colaboradores (2019) avaliou o potencial irritativo *in vivo* do OECL em pele de coelho. Para isso, foi aplicada uma pomada à base de vaselina contendo 10% (p/p) de OECL no dorso do animal e as características dos locais foram observadas após 24 h, 48 h, 72 h, 7 dias e 15 dias da aplicação, comparando com o controle (apenas vaselina). Nenhuma evidência de irritação (edema, eritema) ou inflamação foram visualizadas durante o período de avaliação.

Em outro estudo, conduzido por Gandhi e colaboradores (2019), a irritação cutânea do OECL também foi avaliada através da observação visual da formação de eritema após 1 h, 24 h, 48 h e 72 h de aplicação de um gel contendo microemulsão de OECL na pele de ratos Wistar. Os resultados do estudo indicaram que a formulação não provocou nenhum tipo de resposta irritativa na pele.

Além disso, o citral, composto majoritário do OECL, é considerado uma substância segura para ser utilizado como fragrância em cosméticos, pois não apresenta genotoxicidade, fototoxicidade ou fotoalergenicidade e não provoca sensibilização cutânea em concentrações inferiores a 1400 µg/cm². Também, não é considerado persistente, bioacumulativo e nem tóxico, de acordo com os padrões da Associação Internacional de Fragrâncias (Api *et al.*, 2020). Assim, tais dados apresentados confirmam a segurança do OECL para uso dermocosmético.

Embora promissores, os OEs possuem algumas características físico-químicas desafiadoras para a indústria, como alta volatilidade, a baixa estabilidade química

(principalmente na presença de ar, luz, calor e umidade) e baixa solubilidade em água. Ainda, o alto teor de hidrocarbonetos insaturados, como monoterpenos e sesquiterpenos, o torna suscetível à oxidação, reduzindo suas propriedades funcionais e causando variações de aroma, o que diminui a vida útil e qualidade dos produtos. Deste modo, torna-se essencial a busca por soluções estratégicas que facilitem o uso dos OEs (Achagar *et al.*, 2024; Silva; Beltrame; Ferrari, 2024).

3.4 NANOENCAPSULAÇÃO

3.4.1 Características Gerais

A crescente aplicação da nanotecnologia em produtos de consumo, especialmente cosméticos, está impulsionando de maneira significativa as inovações no cuidado da pele (Achagar *et al.*, 2024). Atualmente, a nanoencapsulação tem se destacado como a nanotecnologia mais adequada para melhorar a estabilidade, solubilidade e biodisponibilidade de produtos naturais (Taouzin *et al.*, 2023).

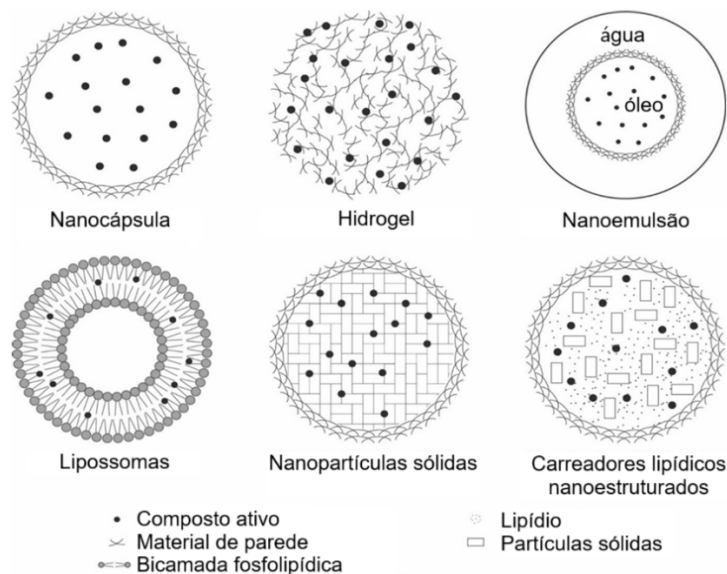
A encapsulação é uma tecnologia que consiste no revestimento de componentes líquidos, sólidos ou gasosos, utilizando um material encapsulante, também conhecido como material de parede, formando assim partículas sólidas. No caso da nanoencapsulação, essas partículas possuem tamanho na ordem dos nanômetros, sendo chamadas nanopartículas (NP) (Silva; Beltrame; Ferrari, 2024).

Alguns estudos confirmam que sistemas nanoencapsulados podem ser mais eficazes do que os sistemas convencionais (Skowrońska; Bazylo, 2023). Na maioria dos estudos, observa-se que a formação de NP garante que o ativo alcance níveis basais adequados para exercer seu efeito terapêutico, devido ao seu tamanho reduzido, que aumenta a área superficial (Nhani *et al.*, 2024). Outra grande vantagem da nanoencapsulação é a liberação controlada dos ativos, que prolonga sua interação com o tecido-alvo, maximizando os efeitos terapêuticos (Achagar *et al.*, 2024). O mecanismo de liberação controlada desses ativos consiste no seu deslocamento de dentro das NP para o meio de aplicação. Esse processo ocorre de forma gradual, trazendo benefícios como a menor evaporação de ativos voláteis, facilidade de manuseio, redução da fitotoxicidade e aumento da bioatividade (Albuquerque *et al.*, 2022).

Várias tecnologias de nanoencapsulação estão sendo exploradas e aplicadas, como: emulsificação, coacervação, complexo de inclusão, evaporação de solvente,

nanoprecipitação e extração (Taouzin *et al.*, 2023). Também, vários sistemas nanoencapsulados podem ser produzidos, incluindo nanocápsulas, hidrogéis, nanoemulsões, lipossomas, carreadores lipídicos nanoestruturados e diferentes tipos de NP sólidas como as inorgânicas, lipídicas e poliméricas (Figura 11).

Figura 11 - Representação esquemática dos principais sistemas nanoencapsulados.



Fonte: Adaptado de Yammine *et al.*, 2024.

Dentre elas, as nanopartículas poliméricas (NPP) oferecem maiores vantagens, pois são mais acessíveis, versáteis (ou seja, permitem a adaptação de suas propriedades biológicas, físicas e químicas), são capazes de liberar compostos de forma controlada e é possível manipular suas características (Adeyemi *et al.*, 2023).

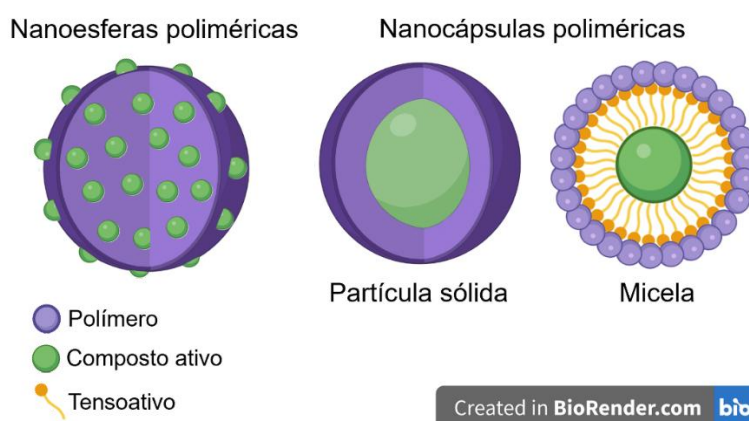
3.4.2 Nanopartículas Poliméricas

As NPP podem ser classificadas como nanoesferas ou nanocápsulas (Figura 12), dependendo do método de obtenção, tipo de polímero utilizado, características do material a ser encapsulado e objetivo desejado (Adeyemi *et al.*, 2023; Dubey *et al.*, 2022). Nanoesferas são sistemas contínuos nos quais o ativo encontra-se disperso uniformemente na matriz polimérica (Dubey *et al.*, 2022). Nanocápsulas são formadas por uma membrana polimérica que reveste um núcleo contendo o ativo, protegendo-o de fatores externos. As NPP possuem tamanho médio entre 10 e 1000 nm e permitem a administração tópica ou sistêmica. Além disso, são amplamente utilizadas,

pois permitem encapsular ativos com tamanhos maiores e mais complexos, como os OEs (Nhani *et al.*, 2024).

As micelas poliméricas (Figura 12) também são exemplos de NPP do tipo nanocápsulas, altamente tecnológicas e eficazes, que tem revolucionado a aplicação de ativos pela via tópica. Consistem em estruturas anfifílicas formadas por um núcleo contendo o ativo lipossolúvel e envolto por uma mistura de tensoativo e polímero hidrofílico. Podem variar em tamanho de 10 a 200 nm e permitem a utilização de uma ampla gama de ativos, pois possibilita a incorporação de compostos oleosos na porção interna, enquanto a porção externa estabiliza o interior, protegendo do ambiente hidrofílico. Dentre as vantagens das micelas podem ser citadas a alta eficiência de encapsulação, custo de produção razoavelmente baixo e tamanho de partícula reduzido (Nhani *et al.*, 2024; Taouzin *et al.*, 2023).

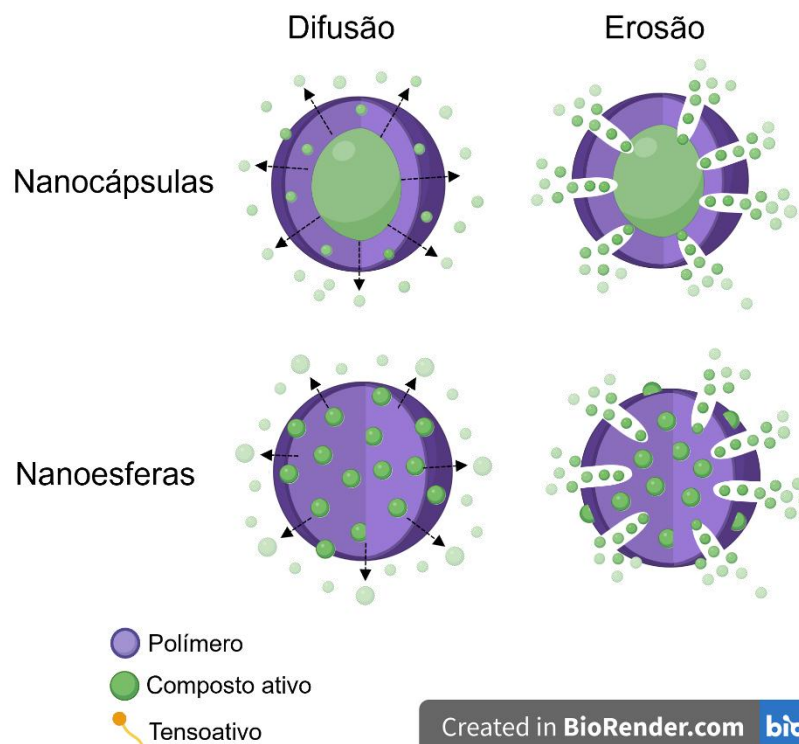
Figura 12 - Representação ilustrativa dos tipos de nanopartículas poliméricas.



Fonte: A autora via BioRender Templates.

Tanto nanocápsulas como nanoesferas são sistemas que controlam a liberação do ativo no tecido-alvo por uma combinação de mecanismos de difusão e erosão (Figura 13). Essa liberação controlada depende de vários fatores, como tamanho de partícula, solubilidade, taxa de difusão e taxa de biodegradação do revestimento ou matriz polimérica (Yousefi *et al.*, 2024).

Figura 13 - Mecanismos de liberação controlada de nanopartículas poliméricas.



Fonte: A autora via BioRender Templates.

A difusão é o mecanismo de liberação mais comum, na qual as moléculas do ativo se movimentam de acordo com o gradiente de concentração, deslocando-se do meio mais concentrado para o meio menos concentrado. Geralmente, quando ocorre a difusão, há uma grande liberação inicial do ativo, que diminui à medida que os compostos ficam mais distantes da superfície das NP. A taxa de difusão diminui no caso de partículas e moléculas maiores, revestimento espesso e meio viscoso, retardando ainda mais a liberação (Yammine *et al.*, 2024; Yousefi *et al.*, 2024).

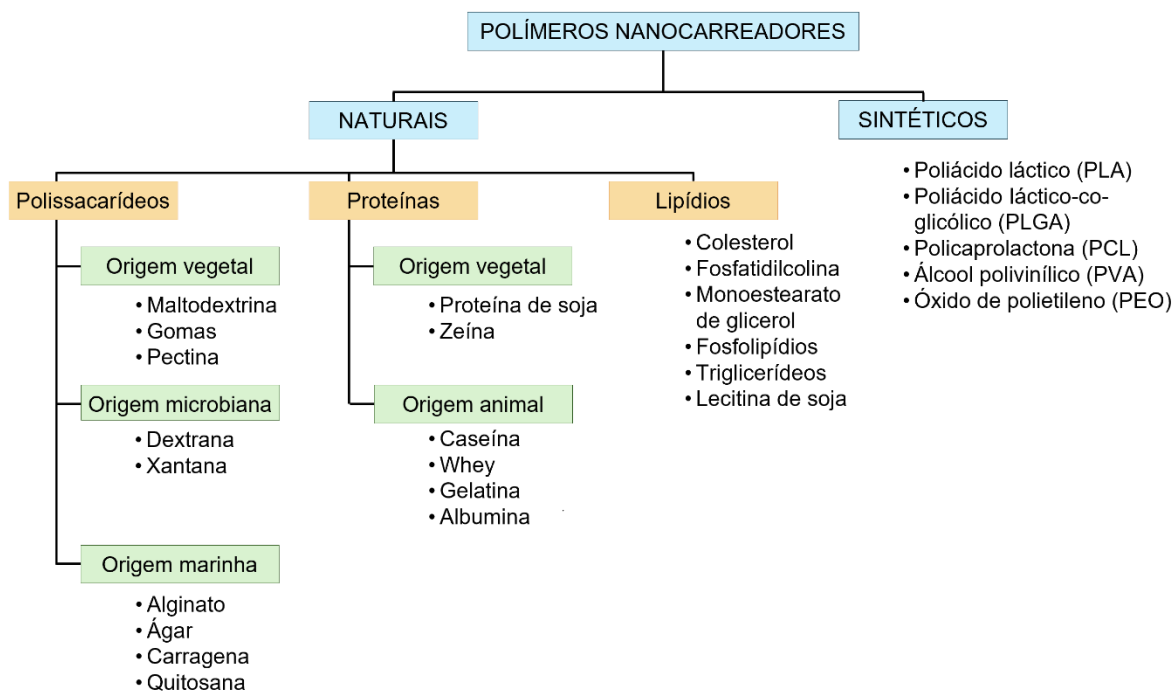
O mecanismo de erosão ocorre quando o polímero sofre degradação ou é solubilizado no local de ação, criando poros por onde extravasa o ativo. Esse processo pode começar na parte externa da partícula (erosão superficial) ou de uma forma geral (erosão em massa), frequentemente causada por enzimas ou hidrólise química (Weisany *et al.*, 2022; Yousefi *et al.*, 2024).

Em ambos os mecanismos, a taxa de liberação pode ser controlada de acordo com o polímero utilizado. Assim, para produção de NPP, é fundamental a seleção do polímero ou sistema de polímeros mais adequado, que garanta uma boa eficiência de encapsulação, taxa de liberação desejada, manutenção da bioatividade, alta biodisponibilidade, biocompatibilidade e segurança, além de baixa toxicidade e baixo

custo (Adeyemi *et al.*, 2023). Esses polímeros podem ter diferentes composições, tamanhos, formas, porosidades e cargas, o que permite que suas propriedades funcionais sejam adaptadas para aplicações específicas (Weisany *et al.*, 2022).

Os polímeros utilizados podem ser biodegradáveis (naturais ou sintéticos) e não biodegradáveis (como poliacrilatos, poliestireno, poliacrilamida, polimetacrilato de metila etc.). Entretanto, polímeros não biodegradáveis apresentam algumas limitações e riscos, como baixa absorvidade e baixa compatibilidade com tecidos corporais, toxicidade crônica, baixa capacidade de excreção e indução de reação inflamatória. Assim, os polímeros biodegradáveis, sobretudo de origem natural, vêm sendo mais atrativos para as indústrias. Eles são ainda classificados como polissacarídeos, proteínas ou lipídios (Figura 14) (Adeyemi *et al.*, 2023; Yammine *et al.*, 2024).

Figura 14 - Principais polímeros utilizados na produção de nanopartículas poliméricas.



Fonte: A autora.

As proteínas derivadas de fontes vegetais e animais são consideradas boas opções como materiais de parede devido à sua ampla disponibilidade, facilidade de modificação, biodegradabilidade, biocompatibilidade e, geralmente, solúveis em água. No entanto, a maioria são facilmente suscetíveis a mudanças de pH, força iônica ou temperatura, o que limita suas aplicações. Em sistemas de liberação controlada essas

características podem ser consideradas vantajosas, devido à capacidade de reter as substâncias ativas encapsuladas até serem liberadas por estímulos específicos, como alterações de pH ou calor (Adeyemi *et al.*, 2023; Yamine *et al.*, 2024).

Os polissacarídeos podem ser de origem vegetal, marinha ou microbiana. Esses devem ser seguros, não tóxicos, solúveis em água e pouco viscosos em altas concentrações. Comparadas às proteínas, as NPP à base de polissacarídeos apresentam melhor estabilidade térmica e são menos sensíveis a modificações ambientais como pH ou força iônica (Yamine *et al.*, 2024).

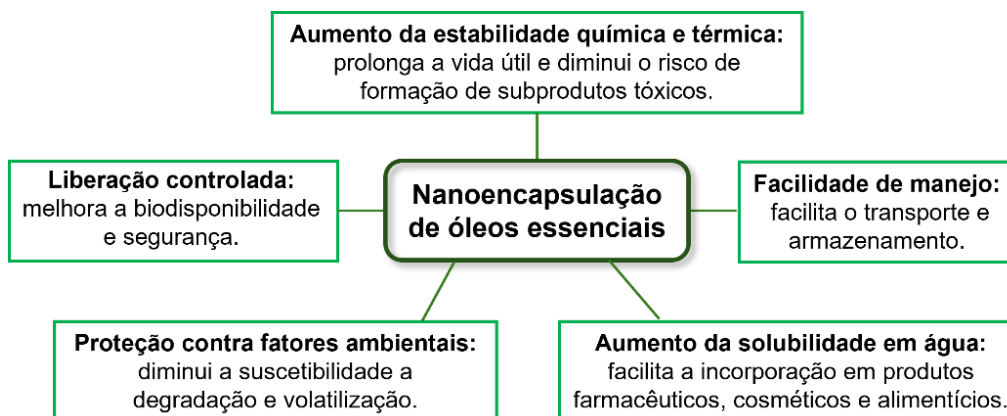
Além dos polímeros, tensoativos e co-tensoativos, também chamados de estabilizadores ou emulsificantes, podem ser necessários para garantir maior eficiência de encapsulação, pois eles reduzem a tensão interfacial entre as fases óleo e água, formando emulsões mais estáveis, e contribuem para diminuição do tamanho das partículas (Yamine *et al.*, 2024).

Os métodos de nanoencapsulação são categorizados em dois tipos: aqueles baseados na polimerização de monômeros (que compreendem emulsões, radical controlado e técnicas de polimerização interfacial) e aqueles baseados na dispersão de polímeros pré-formados (que incluem emulsificação-evaporação de solvente, nanoprecipitação, diálise, *salting out* e tecnologia de fluido supercrítico) (Adeyemi *et al.*, 2023). A nanoencapsulação de substâncias lipofílicas (como os OEs) é comumente obtido por técnicas como coacervação e emulsificação, seguido por técnicas de secagem como *spray-drying* e liofilização (Yousefi *et al.*, 2024).

3.4.3 Nanoencapsulação de Óleos Essenciais

Embora a nanoencapsulação não seja mais considerada uma técnica inovadora na comunidade científica, o avanço significativo do uso dos OEs tem contribuído para o desenvolvimento de NP contendo este ativo, como forma de melhorar suas características físico-químicas e o potencial terapêutico. A nanoencapsulação é uma estratégia promissora para facilitar e aprimorar o uso de OE pela indústria, oferecendo inúmeras vantagens como mostra a Figura 15 (Mssillou *et al.*, 2025; Yousefi *et al.*, 2024).

Figura 15 - Vantagens da nanoencapsulação de óleos essenciais.



Fonte: A autora.

Frequentemente são utilizados polímeros hidrofílicos para encapsular OEs, pois facilita sua solubilidade em água, superando assim uma de suas limitações. Além disso, melhora a biodisponibilidade e possibilita o uso de doses menores para atingir as propriedades terapêuticas desejadas (Yousefi *et al.*, 2024). Dentre eles, os polissacarídeos são preferíveis, por serem geralmente seguros, não tóxicos, biodegradáveis, solúveis em água, pouco viscosos em altas concentrações e de baixo custo devido à sua abundância na natureza. Também apresentam melhor estabilidade térmica e menor sensibilidade a mudanças ambientais. Analisando os estudos já publicados, os polissacarídeos como maltodextrina, quitosana, pectina, alginato e goma arábica são os polímeros mais utilizados e com resultados mais promissores na nanoencapsulação de OEs, pois atendem as características mencionadas para formação de uma NP ideal (Yammine *et al.*, 2024).

As proteínas também são consideradas boas candidatas para nanoencapsular compostos lipofílicos, pois são amplamente disponíveis, facilmente modificáveis, de baixo custo, biodegradáveis, biocompatíveis e solúveis em água. No entanto, são mais suscetíveis a mudanças no pH, força iônica ou temperatura, o que limita sua aplicação no caso dos OEs (Yammine *et al.*, 2024).

Geralmente, o processo de nanoencapsulação de compostos líquidos e lipofílicos, como os OEs, consiste em duas etapas: uma técnica de incorporação/retenção do óleo em nanocarreadores poliméricos dispersos em água (ex.: nanoemulsificação, coacervação, polimerização interfacial, nanoprecipitação, extrusão e gelificação iônica), seguido de uma técnica de secagem para converter a

dispersão (líquida) em NP sólidas (ex.: liofilização, evaporação de solvente, tecnologia de fluido supercrítico e *spray-drying*) (Adeyemi *et al.*, 2023; Weisany *et al.*, 2022).

3.4.3.1 Nanoemulsões

A emulsificação é uma técnica eficiente para obter nanocápsulas do tipo micelas, com diferentes tamanhos e características físico-químicas. Esses sistemas emulsificados, que formam micelas de tamanho geralmente inferior a 200 nm, são denominados nanoemulsões (NEs) (Mssillou *et al.*, 2025; Pandey; Bawiskar; Wagh, 2024; Preeti *et al.*, 2023). Nos últimos anos, o uso de sistemas baseados em NEs para a entrega de ingredientes bioativos lipofílicos na pele tem atraído grande interesse, pois melhora sua estabilidade físico-química, aumenta a biodisponibilidade, bem como a permeabilidade transdérmica (Nasr *et al.*, 2022).

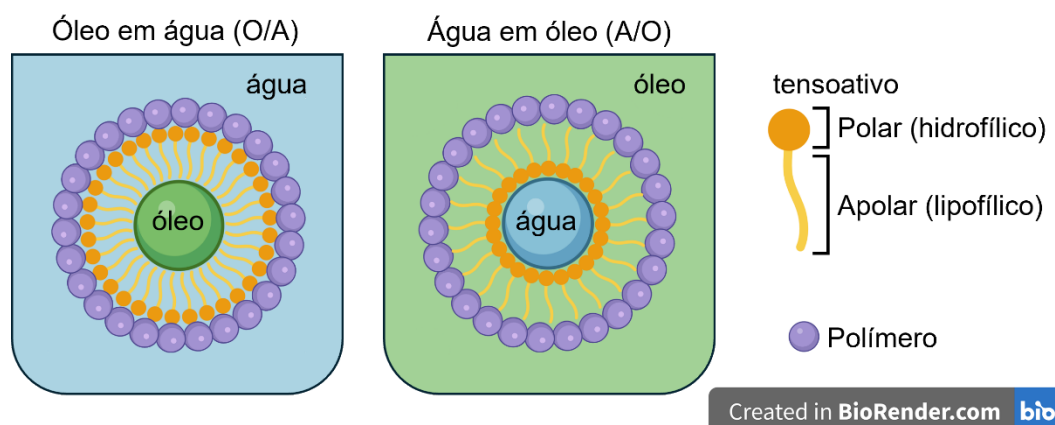
Através de NEs, é possível encapsular substâncias lipofílicas ou hidrofílicas, possibilitando o emprego desta tecnologia para uma ampla gama de ingredientes ativos (Mssillou *et al.*, 2025; Pandey; Bawiskar; Wagh, 2024). Além disso, o tamanho reduzido das micelas reduz as forças gravitacionais e o movimento browniano, prevenindo a floculação, cremação ou sedimentação das partículas durante o armazenamento, fazendo com que o sistema permaneça estável por mais tempo em comparação com as emulsões convencionais (Preeti *et al.*, 2023).

NEs são dispersões coloidais, transparentes ou translúcidas, compostas por uma combinação ideal de tensoativo/co-tensoativo, óleo e água (Chavda *et al.*, 2024; Nhani *et al.*, 2024). Consistem em duas fases imiscíveis, com uma fase dispersa que fica distribuída em uma fase contínua, e um agente emulsificante na interface dentre elas (Yammine *et al.*, 2024). A fase dispersa pode ser oleosa, formando assim uma emulsão do tipo óleo em água (O/A), ou pode ser uma solução aquosa, formando uma emulsão do tipo água em óleo (A/O). Emulsão do tipo O/A é mais adequada para a encapsulação de OEs, pois as gotículas de óleo ficam incorporadas na fase dispersa, protegidas de fatores externos pela fase contínua (Yammine *et al.*, 2024).

Embora as NEs sejam estabilizadas por tensoativos, sua estabilidade pode diminuir com o tempo de armazenamento, o que consequentemente limita seu potencial funcional. Uma estratégia para aumentar a estabilidade e melhorar a aplicabilidade das NEs é modificar as propriedades superficiais das micelas empregando um revestimento polimérico (proteínas, lipídios ou polissacarídeos). Ao utilizar essa abordagem, são formadas emulsões de dupla camada, nas quais um

tensoativo é inicialmente empregado para criar um núcleo “primário”, seguido pela adsorção do polímero na superfície das gotículas, formando uma camada emulsificante “secundária” (Figura 16) (Nasr *et al.*, 2022).

Figura 16 - Representação esquemática dos tipos de nanoemulsões.



Fonte: A autora via BioRender Templates.

Para o desenvolvimento de uma NE, combinações muito específicas de ingredientes e condições de preparo produzem sistemas eficientes e estáveis. Deve-se considerar diversos fatores como: tipo de mistura de óleo-tensoativo, concentração dos ingredientes, proporção de tensoativo:óleo ou tensoativo:água, e as condições ou temperatura exigidas para emulsificação (Preeti *et al.*, 2023).

O uso de componentes biocompatíveis e biodegradáveis reduz a possibilidade de toxicidade e imunogenicidade, tornando as NEs seguras para uso humano (Chavda *et al.*, 2024). Como tensoativos, são preferíveis os não iônicos como Tween® (polissorbato), Span® (éster de sorbitano), lecitina ou saponinas, devido à sua menor toxicidade em relação aos seus equivalentes aniônicos e catiônicos. Também, a adição de um co-tensoativo (como álcoois de cadeia curta e polióis), pode ser empregado para melhorar as características da NE, pois eles ajudam a reduzir a tensão interfacial, aumentando a difusão e a miscibilidade entre as fases. Já os polímeros mais utilizados em NEs contendo OEs incluem polissacarídeos com alta solubilidade em água e propriedades emulsificantes, como alginato de sódio e goma arábica (Jamir *et al.*, 2024; Preeti *et al.*, 2023; Yammine *et al.*, 2024).

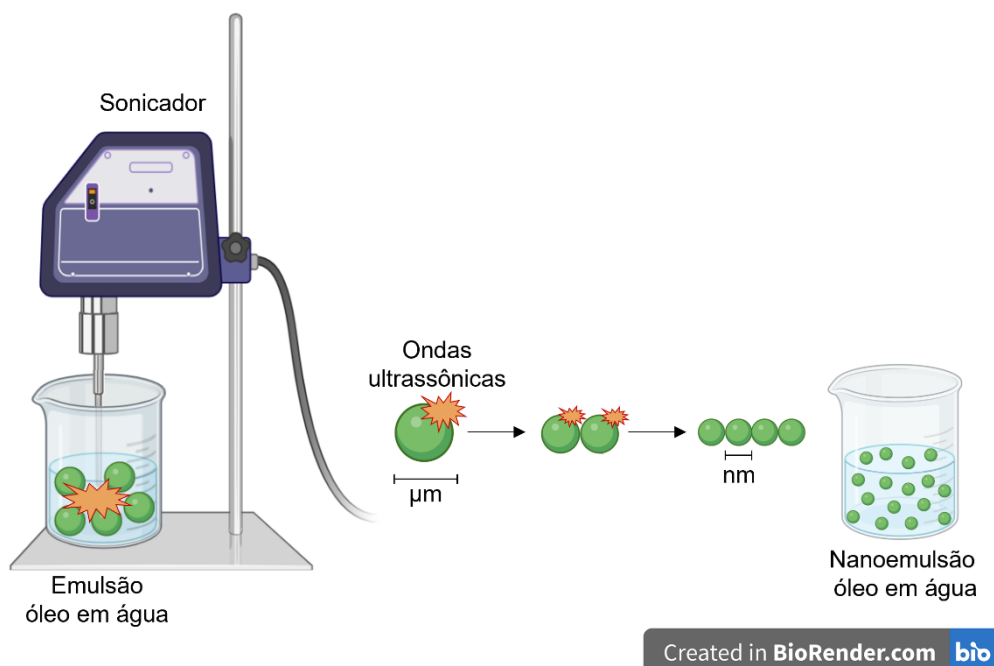
Além da composição, o método de preparo é essencial para se obter uma NE estável. O tamanho extremamente pequeno das micelas confere alta estabilidade cinética ao sistema. Entretanto, a formação de NEs não ocorre de forma espontânea,

sendo necessário o emprego de energia (Mohd-Setapar *et al.*, 2022; Preeti *et al.*, 2023). Para isso, podem ser utilizados métodos de emulsificação de baixa ou alta energias. Os métodos de baixa energia incluem temperatura de inversão de fase, composição de inversão de fase, ponto de inversão de emulsão, autoemulsificação nanoestruturada e emulsificação por deslocamento de solvente. Já os métodos de alta energia incluem homogeneização de alta pressão, ultrassonicação e microfluidização (Jamir *et al.*, 2024; Preeti *et al.*, 2023).

Os métodos de alta energia têm como vantagem a possibilidade de usar concentrações menores de tensoativo. Estudos têm mostrado que o uso de tensoativos em maiores concentrações favorecem a formação de micelas de tamanho reduzido. No entanto, eles podem causar toxicidade e reações de hipersensibilidade. Por isso, tem-se favorecido o uso mínimo de tensoativos para garantir o perfil de segurança de NP para uso humano (Jamir *et al.*, 2024).

Em comparação com os demais métodos de alta energia, a ultrassonicação é a que utiliza menos energia e exige menor concentração de tensoativo. Nesse método, utiliza-se um equipamento chamado sonicador, que possui uma sonda que emite ondas ultrassônicas de alta frequência (> 20 kHz) ao ser imersa em um meio líquido. Essas ondas causam intensas forças de cisalhamento disruptivas devido à cavitação contínua, que consiste na formação seguida do colapso de microbolhas de ar formadas durante o processo. Como resultado, as gotículas de óleo se fragmentam, diminuindo de tamanho para a faixa nanométrica (Figura 17). Com a manipulação da amplitude, do tempo de sonicação, da frequência e da composição da emulsão, diferentes tamanhos de gotículas podem ser obtidos (Jamir *et al.*, 2024; Preeti *et al.*, 2023; Yammine *et al.*, 2024).

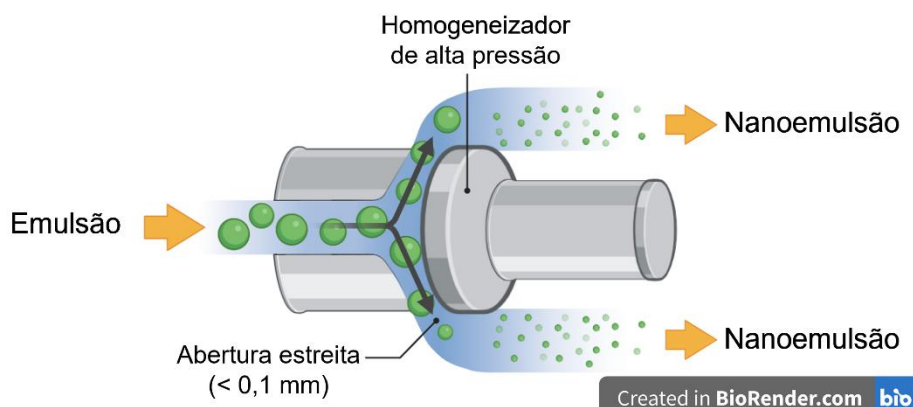
Figura 17 - Representação esquemática do preparo de nanoemulsão pelo método de ultrassonicação.



Fonte: A autora via BioRender Templates.

Por homogeneização de alta pressão, a NE é formada através de um homogeneizador de alto cisalhamento, que força a emulsão a passar através de uma abertura estreita, em alta velocidade e pressão (100–2000 bar ou 500-5000 psi), diminuindo o tamanho das gotículas (Figura 18) (Yammine *et al.*, 2024). Essa tecnologia permite a preparação de grandes volumes de NEs. No entanto, a principal limitação é o aquecimento rápido das amostras devido à alta pressão aplicada e ao uso de entrada de energia elevadas, limitando o uso para formulações com ativos voláteis ou termossensíveis, como os OE (Jamir *et al.*, 2024).

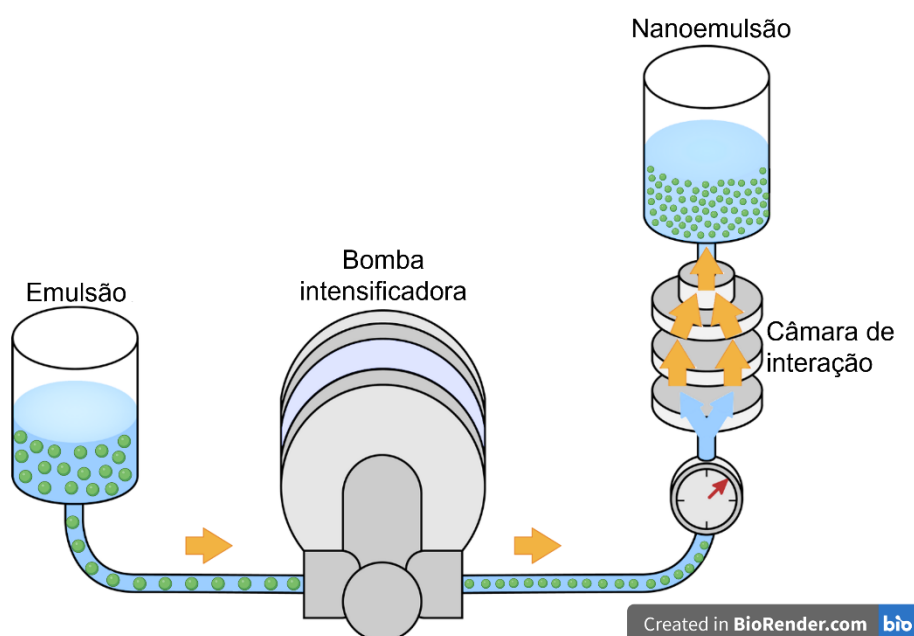
Figura 18 - Representação esquemática do preparo de nanoemulsão pelo método de homogeneização de alta pressão.



Fonte: A autora via BioRender Templates.

Na microfluidização, utiliza-se um equipamento chamado microfluidizador, onde a emulsão passa sob alta pressão através da bomba intensificadora e é direcionada para uma câmara de interações composta por microcanais com forças disruptivas intensas. A redução do tamanho das gotículas ocorre por atrito, impacto, cisalhamento hidráulico, choque, cavitação e turbulência, simultaneamente (Figura 19). Para se obter NEs com tamanho de partículas homogêneo, o procedimento é repetido várias vezes até alcançar o tamanho desejado (Jamir *et al.*, 2024; Yammine *et al.*, 2024).

Figura 19 - Representação esquemática do preparo de nanoemulsão pelo método de microfluidização.



Fonte: adaptado de Microfluidics (Disponível em: <https://www.microfluidics.fr/homogeneisateurs-hautes-pressions-versus-microfluidizer/> Acesso em: 05 jan. 2024).

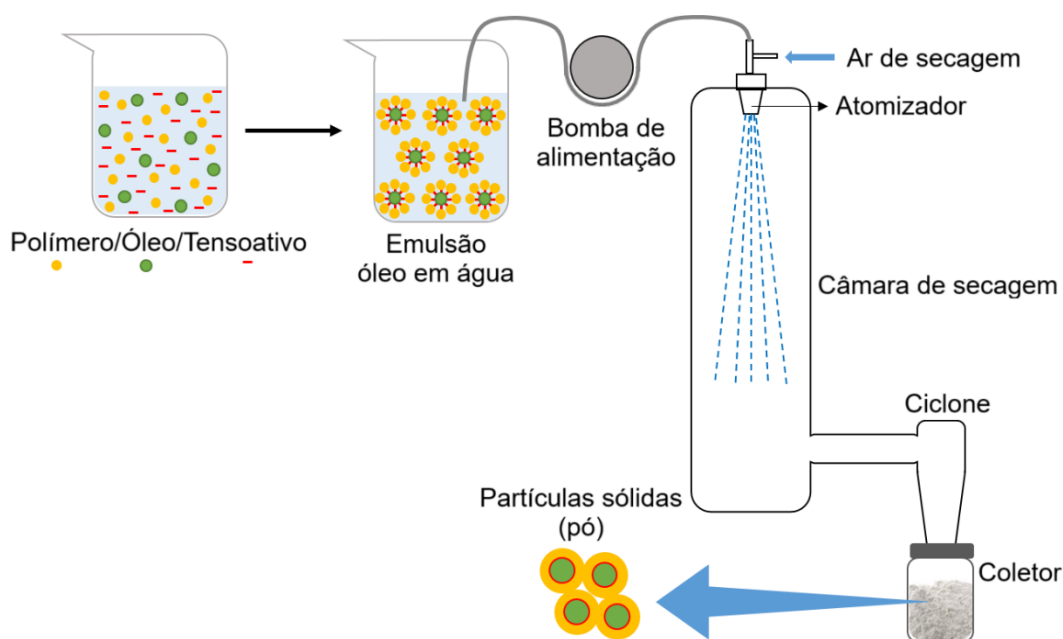
3.4.3.2 Técnica de *Spray-Drying*

Após a emulsificação, são frequentemente empregadas técnicas de secagem, como liofilização, *spray-drying*, leito fluidizado e *spray-cooling*, para produzir NP na forma de pó (Mohd-Setapar *et al.*, 2022). A escolha da técnica é uma etapa importante, pois depende das propriedades do material de parede e do composto ativo, bem como do tamanho, formato e características físico-químicas desejadas no produto final (Yousefi *et al.*, 2024).

A técnica de *spray-drying*, ou secagem por atomização, se destaca entre as demais técnicas de secagem, sendo a mais escolhida para encapsulação de OEs (Silva; Beltrame; Ferrari, 2024; Weisany *et al.*, 2022; Yammine *et al.*, 2024). Isso se deve à sua alta capacidade de retenção de compostos voláteis, baixo custo operacional e facilidade de obtenção e escalonamento, pois é um processo contínuo de uma única etapa que utiliza um equipamento de fácil manuseio chamado *spray-dryer* (Silva; Beltrame; Ferrari, 2024; Strojewski; Krupa, 2022; Yousefi *et al.*, 2024).

Para isso, uma emulsão ou suspensão é aspirada por uma bomba peristáltica e injetada em uma câmara aquecida por um fluxo de ar quente, através de um bico atomizador que forma pequenas gotículas. Ao entrar em contato com o ar quente, a fase contínua das gotículas da emulsão (geralmente água) evapora rapidamente, solidificando o revestimento polimérico das micelas e formando partículas sólidas com o agente ativo aprisionado no núcleo. Essas partículas passam por uma região do *spray-dryer* chamada ciclone, onde uma corrente de ar circular empurra-as em direção as paredes do equipamento devido à força centrífuga, e se depositam no fundo da câmara de secagem ou no receptor, onde são coletadas na forma de um pó fino (Figura 20) (Piñón-Balderrama *et al.*, 2020; Silva; Beltrame; Ferrari, 2024; Yammine *et al.*, 2024).

Figura 20 - Representação esquemática da técnica de *spray-drying* utilizando um equipamento *spray-dryer* convencional.



Fonte: Adaptado de Silva; Beltrame; Ferrari, 2024.

A principal desvantagem do *spray-drying* é a alta temperatura aplicada. Por isso, os estudos investigam a composição adequada da emulsão (tipo de polímero, proporção polímero:ativo, solvente, sistema tensoativo) e os parâmetros operacionais (temperaturas de entrada e saída de ar, fluxo de ar, fluxo de alimentação, velocidade ou pressão de atomização, concentração da formulação de alimentação, geometria da câmara) que devem ser utilizados, a fim de proteger compostos voláteis e sensíveis ao calor, como os OEs (Plati; Paraskevopoulou, 2022; Silva; Beltrame; Ferrari, 2024).

Em relação à composição da emulsão, algumas características como distribuição do tamanho das gotículas e viscosidade são parâmetros importantes e, geralmente, determinadas pelo polímero e tensoativo empregados. Como discutido anteriormente, durante a formulação da emulsão, deve-se priorizar a escolha de polímeros biodegradáveis, com alta solubilidade em água, ação emulsificante, baixa viscosidade em altas concentrações, capacidade de retenção de compostos voláteis e propriedade formadora de filme (Plati; Paraskevopoulou, 2022).

Uma emulsão viscosa dificulta a formação das gotículas, exigindo mais energia para atomização e maior temperatura para secagem. A adição de tensoativos apropriados auxiliam na redução da tensão superficial, resultando em gotículas menores. Também, estima-se que para uma atomização adequada, a formulação deve conter menos que 30% de sólidos (Strojewski; Krupa, 2022).

Sobre os parâmetros operacionais, é necessário otimizar as condições de secagem. A temperatura de entrada na câmara de secagem é a condição mais importante por ser a única que pode ser controlada diretamente pelo operador. Em geral, temperaturas de entrada abaixo de 100 °C não são suficientes para secagem total, enquanto que acima de 170 °C podem causar uma secagem mais rápida do material da parede em comparação ao núcleo, o que pode produzir fissuras e poros nas superfícies das partículas, levando ao extravasamento do núcleo (Silva; Beltrame; Ferrari, 2024; Yammine *et al.*, 2024).

Além disso, partículas formadas em temperaturas elevadas tendem a ser maiores que àquelas formadas em temperaturas mais baixas, pois a evaporação imediata do solvente leva à aglomeração e coalescência das partículas (Strojewski; Krupa, 2022). Mas apesar das altas temperaturas requeridas, o núcleo permanece abaixo de 40 °C devido ao curto tempo de exposição e à rápida solidificação das partículas (Premjit *et al.*, 2022).

Também, uma maneira de prevenir ou minimizar o superaquecimento das partículas dentro da câmara de secagem e garantir a encapsulação eficiente, é atomizar a emulsão usando um bico de alta pressão, que quebra rapidamente o fluxo líquido em gotículas esféricas finas, enquanto o ar de atomização é introduzido separadamente no injetor (Yousefi *et al.*, 2024).

Geralmente, as partículas obtidas pela técnica de *spray-drying* apresentam estrutura amorfa, formato esférico e grande área superficial devido ao pequeno tamanho. Essas características estão relacionadas com uma melhor solubilidade e aumento da biodisponibilidade. Assim, permite a obtenção de sistemas complexos de liberação controlada e estáveis por um longo período (Strojewski; Krupa, 2022).

3.4.3.3 Nano *Spray-Drying*

Mais recentemente, foi desenvolvida uma nova geração de equipamentos, chamados de *nano spray-dryers*. Em 2009, a Büchi Labortechnik AG (Flawil, Suíça) lançou o primeiro *nano spray-dryer* (B-90) capaz de produzir NP, ou seja, partículas com diâmetro inferior a 1 μm (Li *et al.*, 2010; Strojewski; Krupa, 2022).

A formação de partículas em escala nanométrica é particularmente interessante no caso da encapsulação de OEs, pois pode melhorar a solubilidade, biodisponibilidade e as características de liberação. Outros benefícios da técnica de *nano spray-drying* incluem sua alta eficiência de encapsulação, ótimo rendimento, simplicidade de operação e produção de partículas altamente estáveis, além da facilidade de escalonamento e produção em massa (Ghosh, Vijayalakshmi; Mukherjee; Chandrasekaran, 2013; Weisany *et al.*, 2022).

Na nanoencapsulação por *nano spray-drying*, a seleção do material de parede adequado é tão importante quanto para o *spray-drying* convencional, pois o polímero escolhido vai garantir a formação de partículas com diâmetro nanométrico. Para isso, polissacarídeos como goma arábica, ciclodextrinas e maltodextrinas, assim como proteínas como *whey*, caseinato de sódio e proteína de soja, têm sido empregados (Ghosh, Vijayalakshmi; Mukherjee; Chandrasekaran, 2013; Weisany *et al.*, 2022).

O princípio da técnica de *nano spray-drying* é semelhante à técnica convencional. Entretanto, algumas diferenças entre os equipamentos utilizados estão listadas no Quadro 2.

Quadro 2 - Diferenças entre o *spray-dryer* convencional e nano *spray-dryer*.

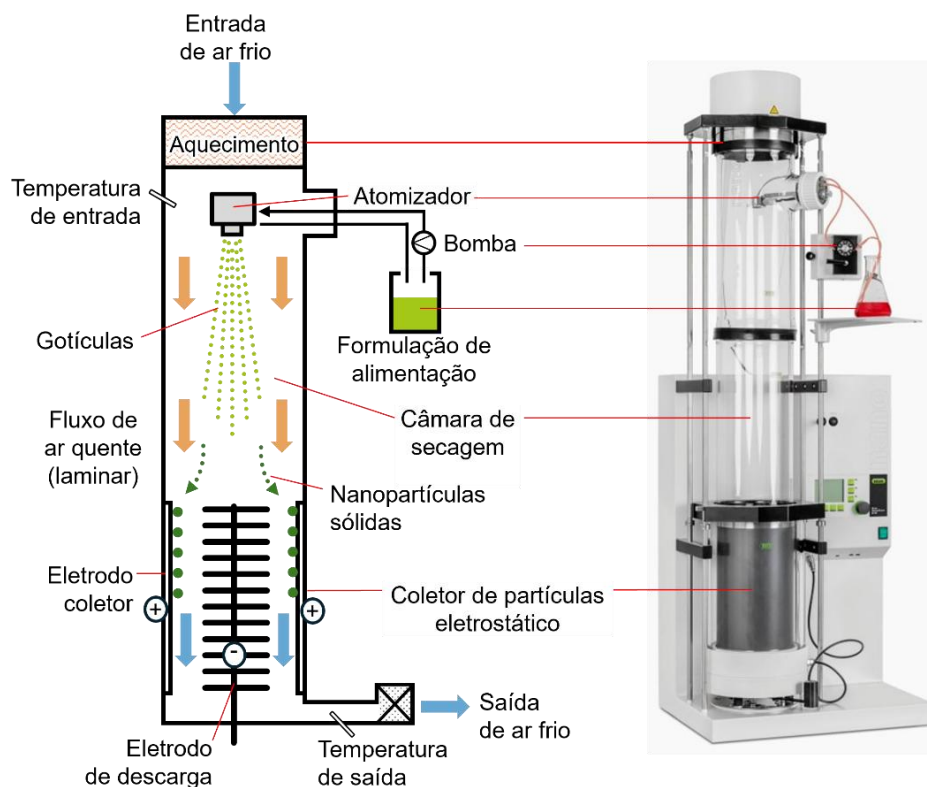
Características	<i>Spray-dryer</i>	Nano <i>spray-dryer</i>
Formulação de alimentação	Solução Suspensão Emulsão	Solução Nanosuspensão Nanoemulsão
Solventes	Água, solventes orgânicos, soluções água-solvente orgânico	
Volume mínimo	30 mL	2 mL
Temperatura máxima	220 °C	120 °C
Tamanho de partícula	2-100 µm	0,2-5 µm
Distribuição de tamanho das partículas	Ampla	Estreita
Fluxo do ar de secagem	Turbulento	Laminar
Atomizador	Hidráulico, pneumático, ultrassônico	Piezoelétrico
Coleta das partículas	Ciclone	Coletor eletrostático
Rendimento	50-70%	70-90%

Fonte: adaptado de Strojewski; Krupa, 2022.

Para preparação de NP por nano *spray-drying*, vale destacar que, inicialmente, deve-se preparar uma NE (descrita no item 3.4.3.1) ou uma nanosuspensão para a alimentação do equipamento, o que difere do *spray-drying* convencional, em que podem ser utilizadas emulsões e suspensões convencionais. Além disso, durante o processo de atomização, o tamanho das partículas vai depender principalmente da formação de gotículas de tamanho reduzido (Arpagaus *et al.*, 2018; Strojewski; Krupa, 2022).

A Figura 21 apresenta o equipamento Nano *Spray Dryer* B-90 HP, da Büchi Labortechnik, e um esquema geral do seu funcionamento. Os detalhes do processo estão minuciosamente detalhados a seguir.

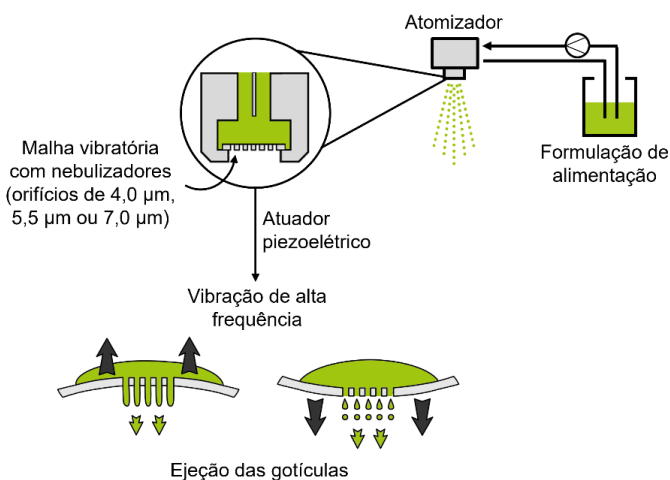
Figura 21 - Imagem do Nano *Spray Dryer* B-90 e representação esquemático do seu funcionamento.



Fonte: Adaptado de Büchi Labortechnik Nano *Spray Dryer* B-90 HP *Operation manual* (2016). Disponível em: <https://www.buchi.com/pt/produtos/instrumentos/nano-spray-dryer-b-90-hp> Acesso em: 10 jan. 2025.

Para produzir gotículas menores, o nano *spray-dryer* possui uma malha vibratória com nebulizadores e um coletor de partículas eletrostático, que permite a obtenção de partículas em escala nanométrica. Essa malha (Figura 22), contém diversos orifícios de 4,0 μm , 5,5 μm ou 7,0 μm de diâmetro e um atuador piezoelétrico que gera vibrações de alta frequência, variando de 80 a 140 kHz. Essas vibrações deformam a malha, fazendo-a se mover rapidamente para cima e para baixo, preenchendo os orifícios com fluido e ejetando as gotículas para dentro da câmara de secagem. Isso resulta na formação de aproximadamente 100 milhões de gotículas por segundo que, depois de secas, formam partículas com diâmetro de 0,2 a 5 μm (Arpagaus *et al.*, 2018; Jayaprakash *et al.*, 2023; Strojewski; Krupa, 2022).

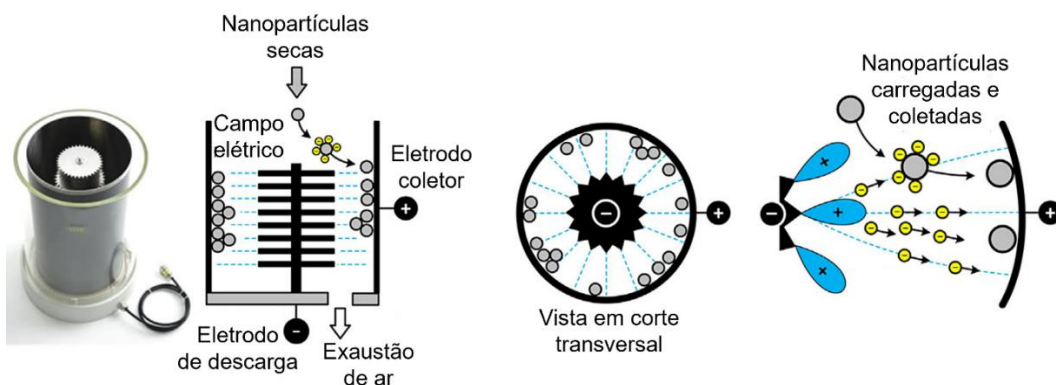
Figura 22 - Malha vibratória com nebulizadores do Nano *Spray Dryer* B-90, responsável pela atomização das gotículas.



Fonte: Adaptado de Arpagaus *et al.*, 2018.

A câmara de secagem se encontra na vertical, onde percorre o ar quente em fluxo laminar, com uma velocidade de cerca de 0,05 a 0,1 m/s ou 80 a 160 L/min, que direciona as NP para o coletor eletrostático localizado no fundo da câmara de secagem. O coletor de partículas eletrostático (Figura 23) consiste em um eletrodo de descarga em forma de estrela (cátodo) e um eletrodo coletor cilíndrico (ânodo). Uma alta tensão (15 - 17 kV) no eletrodo coletor garante uma alta eficiência de separação das partículas do ar de secagem (até 99%), mesmo para pequenas amostras. Isso minimiza a adesão das partículas às paredes laterais e garante uma maior eficiência na coleta das NP na superfície do eletrodo coletor (Arpagaus *et al.*, 2018; Jayaprakash *et al.*, 2023; Strojewski; Krupa, 2022).

Figura 23 - Princípio de funcionamento do coletor de partículas eletrostático.



Fonte: Adaptado de Arpagaus *et al.*, 2017.

Pela técnica de nano *spray-drying*, também é possível manipular as características das NP através da otimização da formulação de alimentação e dos parâmetros críticos do processo. Assim como o *spray-drying* convencional, a viscosidade da formulação deve ser considerada, pois líquidos viscosos têm dificuldade em passar pela malha, causando formação irregular de gotículas ou até mesmo bloqueando sua passagem. O uso de solventes orgânicos, como etanol, pode auxiliar na redução do tamanho das gotículas por reduzir a tensão superficial, viscosidade e densidade, e ainda facilitar a secagem devido à maior volatilidade em comparação com a água. Além disso, a concentração de sólidos na formulação utilizada no nano *spray-drying* deve ser inferior a 1% (m/v). Por isso, em alguns casos, pode ser necessário diluir a formulação antes passar no equipamento (Arpagaus *et al.*, 2018; Jayaprakash *et al.*, 2023; Strojewski; Krupa, 2022).

Em relação aos parâmetros críticos, esses influenciam diretamente na morfologia, estabilidade e eficiência de encapsulação, que incluem:

- 1) Tamanho da malha: o diâmetro dos orifícios da malha impacta no tamanho das NP sólidas de forma diretamente proporcional.
- 2) Intensidade da taxa de atomização: o aumento na taxa de pulverização causa uma maior frequência de oscilação, formando mais gotículas por unidade de tempo.
- 3) Taxa de fluxo de ar: o aumento no fluxo de ar leva ao aumento da temperatura de saída, o que pode diminuir o rendimento na nanoencapsulação de ativos voláteis e termossensíveis.
- 4) Temperatura do ar de secagem: baixas temperaturas resultam em NP mais compactas, enquanto a secagem rápida gera NP ocas. A temperatura de entrada (selecionada pelo operador), também influencia diretamente na temperatura de saída. O nano *spray-dryer* apresenta uma ampla faixa de temperatura de saída, variando entre 28 e 59 °C, comparativamente mais baixas que o *spray-dryer* convencional, uma vantagem para a encapsulação de OEs (Arpagaus *et al.*, 2018; Jayaprakash *et al.*, 2023; Strojewski; Krupa, 2022).

Em resumo, o nano *spray-drying* é uma tecnologia mais inovadora para produção de NP com alta eficiência de encapsulação (devido à formação de gotículas através da malha vibratória), alta estabilidade (requer temperaturas menores) e alto rendimento (maior recuperação do pó com o coletor de partículas eletrostático). Sendo assim, torna-se uma técnica muito promissora e mais atrativa que o *spray-drying* convencional para encapsular compostos ativos mais sensíveis, como os OEs.

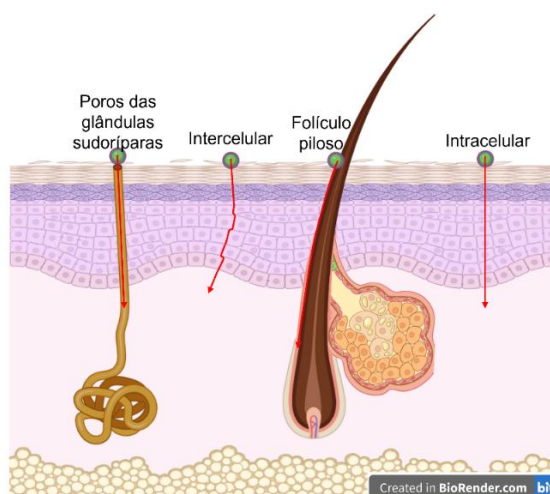
Em nível industrial, a viabilidade de produção em larga escala tem despertado interesse, especialmente nos setores farmacêutico, alimentício e cosmético.

3.4.4 Nanoencapsulação Aplicada a Cosméticos

A nanotecnologia revolucionou o desenvolvimento de produtos em várias áreas, especialmente nas indústrias cosmética e farmacêutica (Pandey; Bawiskar; Wagh, 2024). Diversos tipos de sistemas nanoencapsulados têm sido propostos para utilização em produtos de uso tópico, com objetivo de superar o principal desafio na entrega de ativos através da pele: atingir camadas cutâneas mais profundas. As formulações convencionais de uso tópico (suspensões, soluções, géis, aerossóis, pó e emulsões), embora bem aceitas, atuam de forma mais superficial, o que pode prejudicar a eficácia de certos tratamentos (Achagar *et al.*, 2024; Mohd-Setapar *et al.*, 2022).

O tamanho reduzido das NP e a possibilidade de manipular as características de produtos com propriedades terapêuticas, possibilitam que esses ativos alcancem a camada cutânea desejada, tenham um efeito mais prolongado e diminua os efeitos adversos, mantendo a eficácia (Pandey; Bawiskar; Wagh, 2024). As NP conseguem penetrar na pele através dos anexos cutâneos, ou seja, pelas glândulas e pelos folículos pilosos, e por penetração direta através da camada córnea (Figura 24). Além disso, a encapsulação de ativos hidrofóbicos com polímeros hidrofílicos, facilitam a penetração tanto da camada córnea (hidrofóbica) quanto das glândulas sudoríparas (hidrofílicas) (Mohd-Setapar *et al.*, 2022).

Figura 24 - Mecanismos de penetração cutânea das nanopartículas.



Fonte: A autora via BioRender Templates.

Devido à essas características, o uso de ativos nanoencapsulados proporcionam o desenvolvimento de cosméticos multifuncionais e de alto desempenho (Nhani *et al.*, 2024). Um exemplo do emprego da nanotecnologia em cosméticos, é a produção de protetores solares com melhor textura e visualmente transparentes, mas que bloqueiam efetivamente a RUV. O uso de NP de óxido de zinco ou dióxido de titânio fornecem proteção UV de amplo espectro sem deixar aquele aspecto branco na pele, melhorando a aceitabilidade do consumidor (Pandey; Bawiskar; Wagh, 2024).

Outros exemplos são as formulações dermocosméticas, que além de melhorar a estética, também possuem propriedades terapêuticas, como a prevenção do câncer de pele, tratamento de feridas e queimaduras, combate ao fotoenvelhecimento, antiacne e clareamento de manchas. O uso de NP permite administração de doses menores e mais seguras dos ativos, sem alterar seu efeito, garantindo a segurança do consumidor. Isso se deve a outra grande vantagem da nanoencapsulação de ativos, que é a liberação controlada (Nhani *et al.*, 2024).

Embora a incorporação da nanotecnologia em produtos cosméticos apresente diversos benefícios, ainda há preocupações sobre a segurança das NP. A possível toxicidade dos tensoativos e dos polímeros utilizados para revestimento das NP, bem como seu tamanho nanométrico, levantam questões de possível absorção sistêmica e potenciais interações biológicas inesperadas no corpo humano. Por isso, tem-se dado prioridade ao uso de NP compostas por produtos naturais e biocompatíveis (Nhani *et al.*, 2024; Pandey; Bawiskar; Wagh, 2024).

Diante desse contexto, a nanoencapsulação do OECL apresenta-se como uma estratégia promissora para contornar limitações relacionadas à sua elevada volatilidade e instabilidade físico-química, além de possibilitar maior controle sobre a liberação de seus compostos bioativos. Embora o OECL apresente propriedades biológicas de interesse para aplicação tópica, ainda são necessários estudos que avaliem sua utilização em sistemas nanoestruturados destinados à aplicação dermocosmética, considerando não apenas suas características físico-químicas e estabilidade, mas também seu comportamento de permeação cutânea, atividade biológica e segurança celular. Nesse sentido, a obtenção de uma nanoemulsão contendo OECL, seguida da produção de nanopartículas poliméricas por nano-spray drying, pode constituir uma abordagem capaz de associar as vantagens dos sistemas nanoestruturados à proteção proporcionada pela matriz polimérica.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

O composto ativo estudado foi o óleo essencial de capim-limão (OECL) (65,8% de citral) e o polímero empregado como material de parede foi a goma arábica (GA), ambos gentilmente doados pela Quinarí (Ponta Grossa, Paraná, Brasil). O polissorbato 80 (Tween® 80, Sigma Aldrich, EUA) foi utilizado como tensoativo. O padrão de citral foi fornecido pela Geroma do Brasil (Ponta Grossa, Paraná, Brasil). Para as análises por cromatografia líquida de ultra eficiência (CLUE), empregaram-se água ultrapura (Milli-Q®, Merck Millipore, Alemanha) e metanol grau HPLC (Merck, Alemanha). Para as análises *in vitro*, foram utilizados 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH*), 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina (TPTZ), ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico (Trolox) e albumina sérica bovina (ASB), adquiridos da Sigma-Aldrich (EUA). O diclofenaco sódico, utilizado como controle positivo no ensaio de desnaturação de proteínas, foi adquirido em uma farmácia local de Ponta Grossa, Paraná, Brasil. O brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio (MTT), o meio de cultura RPMI 1640 e os antibióticos penicilina e estreptomicina foram utilizados no ensaio de viabilidade celular. A pele suína utilizada nos ensaios de permeação cutânea foi gentilmente doada pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG, Brasil). Os demais reagentes e solventes utilizados apresentavam grau analítico.

4.2 DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DO CITRAL POR CROMATOGRAPHIA LÍQUIDA DE ULTRA EFICIÊNCIA (CLUE)

Para quantificação de OECL, o citral foi utilizado como um padrão/marcador para estimar a quantidade de OECL nas amostras. Para isso, foram realizadas análises de cromatografia líquida de ultra eficiência (CLUE) em cromatógrafo UHPLC (Shimadzu, Nexera X2, Japão), equipado com detector de arranjo de diodos (DAD) (SPD-M20A), bomba quaternária (LC-30AD), desgaseificador (DGU-20A5RA), injetor/amostrador automático (SIL-30AC, volume de injeção: 1 µl) e comunicador (CBM-20A), controlado pelo software Labsolution versão 5.73. Foi utilizada uma coluna analítica de fase reversa C18 (Acquity UPLC HSS T3, Waters, 1,8 µm, 2,1 mm

X 50 mm). A separação cromatográfica foi realizada em fluxo isocrático, com fase móvel composta por metanol:água (95:5, v/v), a um fluxo de 0,3 mL/min e temperatura de 26 °C. As amostras analisadas foram filtradas usando um filtro de seringa de nylon (0,22 µm, Filtrilo, Brasil). A detecção do citral foi feita na região do UV, no comprimento de onda de 233 nm. A concentração do citral foi calculado em relação à uma curva de calibração padrão em uma faixa de concentração de 9,3-33,48 µg/mL com seis níveis de concentração e injeções em triplicata para cada nível. Para isso, foi preparada uma solução estoque com 93 µg/mL de citral padrão em clorofórmio. As diluições subsequentes foram realizadas em metanol grau HPLC.

O método de CLUE desenvolvido foi validado de acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, nº 166, de 24 de julho de 2017 e International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH, 2023), por meio de testes de seletividade, precisão, exatidão e robustez. O tratamento estatístico da validação analítica foi realizado seguindo o Guia nº 10, de 30 de agosto de 2017.

4.3 DESENVOLVIMENTO DAS NANOEMULSÕES CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM-LIMÃO

As nanoemulsões (NEs) foram preparadas com base nos métodos descritos por Bashir *et al.*, 2024 e Taktak *et al.*, 2022. Foi aplicada uma otimização multivariada para determinar a condição ideal para produzir uma NE óleo em água (O/A) estável contendo OECL. As variáveis selecionadas foram: concentração de GA, proporção OECL:GA e proporção OECL:polissorbato 80 (Tabela 1).

Tabela 1 - Proporções e quantidades dos componentes das formulações testadas para preparo das nanoemulsões.

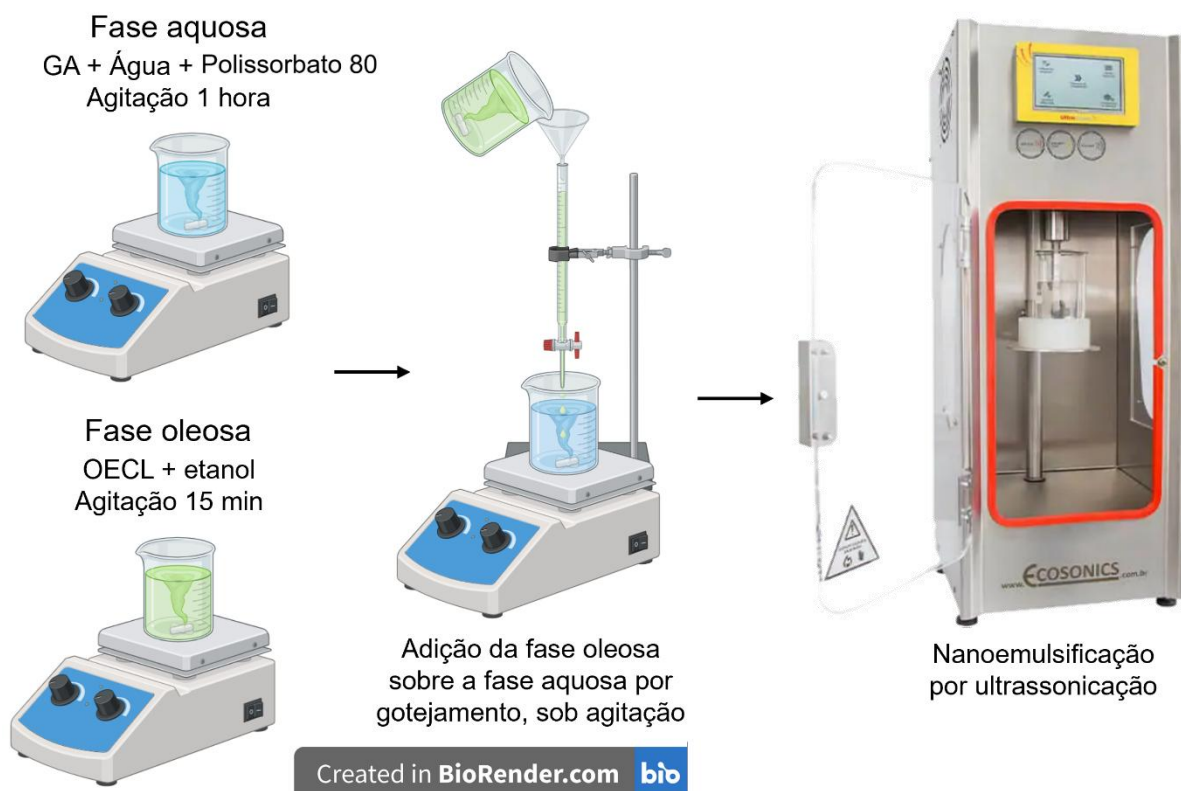
Amostra	OECL (g)	Etanol (mL)	GA (g)	Água (mL)	OECL:polissorbato 80 (m/m)
NE1	0,4	4	1	10	1:1
NE2	0,4	4	1	10	1:2
NE3	0,4	4	1	10	1:3
NE4	0,4	4	2	10	1:1
NE5	0,4	4	2	10	1:2
NE6	0,4	4	2	10	1:3

Fonte: A autora.

Inicialmente, a fase aquosa foi preparada, dissolvendo a GA em água nas concentrações de 10% ou 20% (m/v). O polissorbato 80 foi então incorporado à fase aquosa nas proporções de OECL:polissorbato 80 de 1:1, 1:2 ou 1:3 (m/m) e agitado em agitador magnético por 1 hora. Separadamente, a fase oleosa foi preparada, misturando o OECL com o etanol, que foi inserido na formulação como co-tensoativo, e mantido sob agitação magnética por 15 minutos. Em seguida, a fase oleosa foi adicionada por gotejamento à fase aquosa, sob constante agitação magnética. A redução do tamanho das micelas para formação das NEs ocorreu pelo método de ultrassonicação, com uso do sonicador ultrassônico (Eco-sonics, QR 550W, Ultronique, Brasil), por 5 minutos a 75% de potência e 3 pulsos/s (Figura 25).

Uma NE branco (NE0), foi preparada de forma idêntica à NE6, porém sem adição do OECL (10 mL de GA a 20% em água (m/v), 1,2 g de polissorbato 80 e 4 mL de etanol), para ser utilizada como controle da formulação.

Figura 25 - Método de preparo das nanoemulsões.



Legenda: GA = Goma arábica; OECL = óleo essencial de capim-limão.

Fonte: A autora via BioRender Templates; Eco-Sonics QR 550W. Disponível em: <https://www.ecosonics.com.br/produto/qr550/> Acesso em: 13 jan. 2025.

4.3.1 Caracterização Físico-Química das Nanoemulsões

4.3.1.1 Tamanho médio de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta

O tamanho médio de partícula e o índice de polidispersão (IPD) foram determinados por análise de espalhamento dinâmico de luz (EDL) e a determinação do potencial zeta foi realizada por mobilidade eletroforética. As análises foram feitas com as amostras diluídas em água ultrapura (1:50, v/v), em triplicata. As leituras foram realizadas a 25 °C, utilizando cubetas de poliestireno e eletrodos modelo DTS1070, do equipamento Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments, Reino Unido), com faixa de medição de tamanho de partícula de 0,3 nm a 5 µm, determinação de potencial zeta de até ± 500 mV e sistema de controle de temperatura operando entre 0 e 90 °C.

4.3.1.2 pH

O pH das formulações foi determinado a 25 ± 1 °C, utilizando medidor de pH de bancada microprocessado (Phox P1000, Brasil) previamente calibrado com soluções tampão padrão de pH 4, 6,86 e 9,18, de acordo com as especificações do fabricante.

4.3.2 Estudo de Estabilidade das Nanoemulsões

A estabilidade cinética das NEs foi inicialmente avaliada visualmente após armazenamento a 25 °C por 48 horas, para verificar a ocorrência de fenômenos como cremação ou coalescência. Em seguida, as NEs foram centrifugadas a 4000 rpm por 30 min (Kasvi, K14-0815P, Brasil).

As amostras que permaneceram estáveis seguiram para o estudo de estabilidade físico-química em diferentes condições de armazenamento e em diferentes intervalos de tempo. Como controle, foi utilizada a NE0 (10 mL de GA a 20% em água (m/v), 1,2 g de polissorbato 80 e 4 mL de etanol).

Inicialmente, foi realizado o estudo de estabilidade por ciclos de congelamento e descongelamento (*freeze-thaw*), onde as amostras foram submetidas a seis ciclos consecutivos, alternando entre -5 °C e 25 °C por 24 horas cada (Anvisa, 2004). Ao final dos ciclos, as formulações foram avaliadas quanto ao aspecto macroscópico, tamanho médio de partícula, IPD, potencial zeta e pH, bem como realizada a quantificação indireta do OECL encapsulado.

Posteriormente, foi conduzido o estudo de estabilidade acelerada segundo o Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (Anvisa, 2004). As formulações NE3, NE6 e NE0, foram acondicionadas em frascos de vidro vedados e armazenadas em três condições distintas: estufa (40 ± 2 °C; $70 \pm 5\%$ de umidade relativa), temperatura ambiente (20 ± 5 °C) e refrigeração (5 ± 2 °C). As análises foram realizadas nos tempos 0, 30, 60 e 90 dias. Em cada tempo de coleta, foram avaliados os aspectos macroscópicos (cor, odor, presença de precipitado ou separação de fases), tamanho médio de partícula, IPD, potencial zeta e pH. Também foi realizada a quantificação do OECL na fase externa (quantificação indireta), de acordo com o método descrito no item 4.5.

4.4 OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS SÓLIDAS POR NANO *SPRAY-DRYING*

A NE com as características ideais foi selecionada para passar pelo processo de nano *spray-drying*. Foi utilizado o equipamento Nano *Spray Dryer* B-90 HP (BÜCHI Labortechnik AG, Suíça), com as seguintes condições de secagem: temperatura de entrada de 110 °C, temperatura de saída de 40 ± 5 °C, fluxo de ar de 95 L/min, taxa de atomização relativa ajustada para 80% e pressão de 34 hPa. O tamanho do orifício do nebulizador da malha vibratória selecionada para este estudo foi de 5,5 µm. A amostra foi diluída 200 vezes com água deionizada imediatamente antes da secagem. O pó obtido foi coletado da superfície do eletrodo coletor utilizando uma espátula e armazenado em frasco de vidro âmbar à temperatura ambiente (25 °C), mantido em dessecador.

4.4.1 Caracterização Físico-Química das Nanopartículas

4.4.1.1 Morfologia e tamanho das partículas

A avaliação morfológica e de superfície das nanopartículas poliméricas (NPP) foi efetuada por microscopia eletrônica de varredura por efeito de campo (MEV-FEG), (Tescan, MIRA3, República Tcheca). O pó foi devidamente aderido em fita adesiva dupla-face e fixada em suporte próprio para a análise (*stubs*), então revestido com ouro-paládio (Au-Pd) por deposição (*sputtering*). A tensão de aceleração do microscópio foi de 10 kV, com leituras nos aumentos de 2000-5000 vezes. Além da visualização da escala microscópica, o tamanho médio das nanopartículas foi

determinado por análise de EDL (Zetasizer, Nano ZS90, Malvern Instruments, Reino Unido), após suspensão de 1 mg de pó em 5 mL de água destilada.

4.4.1.2 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier

A compatibilidade química entre os componentes das formulações foi observada por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Os espectros do OECL livre, do polissorbato 80, da GA, e das NPP foram obtidos pelo equipamento IR Prestige-21 (Shimadzu, Japão), utilizando uma pastilha com brometo de potássio, sob condições de análise de 32 *scans*.min⁻¹ e resolução de 4 cm⁻¹, escaneados na faixa de espectros de 4000-400 cm⁻¹.

4.4.1.3 Difração de raios-X

A cristalinidade da GA pura e das NPP foi avaliada por difração de raios-x (DRX), utilizando difratômetro (Rigaku, Ultima IV, Japão), com *scan* contínuo de 2°.min⁻¹, com varredura 2 θ em ângulos de 5° a 35°, radiação Cu-K α (λ = 1,5418 Å), corrente de 30 mA e voltagem de 40 kV.

4.4.1.4 Análise térmica

A estabilidade térmica do OECL livre, da GA e das NPP foi avaliada por análise termogravimétrica (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC), através do instrumento LabSys Evo (Setaram, França), sob fluxo de nitrogênio (50 mL.min⁻¹), a uma taxa de aquecimento constante de 10 °C.min⁻¹ e na faixa de temperatura de 20 °C a 300 °C.

4.4.1.5 Molhabilidade e dispersibilidade das nanopartículas obtidas por nano *spray-drying*

As propriedades de redispersão das nanopartículas foram determinadas de acordo com Stavra *et al.* (2022). Para medir a molhabilidade, foi registrado o tempo necessário para que todas as partículas de uma quantidade fixa de pó (0,05 g), espalhadas sobre a superfície da água (100 mL, 25 °C) em béquer de 250 mL, fossem completamente umedecidas. A dispersibilidade foi determinada a partir do resíduo restante após a redispersão em água, filtração e secagem do pó. Para isso, 0,5 g de pó foi misturado com 5 mL de água, em um béquer de 25 mL, e agitado com bastão

de vidro por 15 segundos. A suspensão foi então filtrada em papel filtro com poros de 22 µm, e o teor total de sólidos retido foi estimado por secagem em estufa por 24 horas (40 ± 2 °C). A dispersibilidade foi estimada utilizando a Equação 1:

$$\text{Dispersibilidade \%} = (1 - (m_{\text{seco}} / m_{\text{inicial}})) \times 100 \quad (1)$$

onde m_{seco} é a massa de resíduo seco e m_{inicial} é a massa de pó pesada (0,5 g).

O pó redisperso em água foi analisado por EDL para avaliação do tamanho médio de partícula e IPD.

4.5 DETERMINAÇÃO DA EFICIÊNCIA DOS PROCESSOS

Foram avaliados os seguintes parâmetros para determinar a eficiência dos processos de nanoemulsificação e nano *spray-drying*: eficiência de encapsulação do OECL nas NE e NPP, retenção de OECL total nas NPP e rendimento do processo de secagem por nano *spray-drying*.

4.5.1 Eficiência de Encapsulação das Nanoemulsões

A eficiência de encapsulação (EE%) das NE foi determinada pelo método indireto, com base no método descrito por Kakadia e Conway (2022), quantificando o OECL não encapsulado e subtraindo da quantidade total de OECL adicionado nas formulações. Para isso, 10 µL de NE foi misturado com 1 mL de clorofórmio em frasco de vidro com tampa e agitado em vórtex por 5 minutos, depois centrifugado (Kasvi, K14-1215P, Brasil) a 15000 rpm por 5 minutos. A fase clorofórmica foi diluída em metanol (1:1, v/v), filtrada em filtro de seringa de nylon (0,22 µm, Filtrilo, Brasil) e analisada por CLUE. A concentração de citral foi calculada com base na área do pico do cromatograma e na curva de calibração. A EE% foi calculada segundo a Equação 2.

$$EE\% = [(M_{\text{OECLt}} - M_{\text{OECLI}}) / M_{\text{OECLt}}] \times 100 \quad (2)$$

onde M_{OECLt} é a massa total de OECL usado para preparar a NE e M_{OECLI} é a massa de OECL não encapsulada.

4.5.2 Rendimento da Técnica de Nano *Spray-Drying*

O rendimento do processo de nanoencapsulação por nano *spray-drying* foi calculado de acordo com a Equação 3:

$$\text{Rendimento \%} = (M_{\text{final}} / M_{\text{inicial}}) \times 100 \quad (3)$$

onde M_{final} é a massa de pó coletado no nano *spray-dryer* e M_{inicial} é soma das massas do OECL, da GA e do polissorbato 80 utilizados no preparo da NE de alimentação.

4.5.3 Eficiência de Encapsulação e Retenção de Óleo Essencial de Capim-Limão Total das Nanopartículas Obtidas por Nano *Spray-Drying*

Para as NPP, a quantificação do OECL ocorreu pelos métodos indireto (para quantificar o citral adsorvido na superfície das NPP) e direto (para quantificar o citral aprisionado no núcleo das NPP), baseado nos métodos descritos por Ribeiro *et al.* (2020) e Su *et al.* (2023).

Para a quantificação indireta, 5 mL de clorofórmio foi adicionado em 0,1 g de pó e agitados em vórtex por 5 minutos, depois centrifugados a 15000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi diluído em metanol (1:1, v/v), filtrado em filtro de seringa de nylon (0,22 µm, Filtrilo, Brasil) e analisado por CLUE. Para a quantificação direta, o precipitado da quantificação indireta foi dissolvido em 10 mL de água destilada e agitado em vórtex por 5 minutos, para ruptura das NPP e liberação do OECL. Em seguida, 5 mL de clorofórmio foram adicionados e agitados por mais 5 minutos em vórtex para extração do OE. A amostra foi centrifugada a 15000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante foi diluído em metanol (1:1, v/v), filtrado em filtro de seringa de nylon (0,22 µm, Filtrilo, Brasil) e analisado por CLUE.

A EE% e a retenção de OECL foram calculadas de acordo com as Equações 4 e 5, respectivamente.

$$EE\% = (M_{\text{OECLd}} / M_{\text{OECLt}}) \times 100 \quad (4)$$

$$\text{Retenção \%} = [(M_{\text{OECLd}} + M_{\text{OECLi}}) / M_{\text{OECLt}}] \times 100 \quad (5)$$

onde M_{OECLd} é a massa de OECL encapsulada (quantificação direta), M_{OECLi} é a massa de OECL não encapsulada (quantificação indireta), M_{OECLt} é a massa total de OECL usado para preparar a NE de alimentação.

4.6 ENSAIO DE PERMEAÇÃO CUTÂNEA *IN VITRO* DO ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM-LIMÃO LIVRE E NANOENCAPSULADO

A permeação cutânea do OECL livre, da NE e das NPPs foi avaliada utilizando células de difusão vertical do tipo Franz, com área de difusão de 12,56 cm² e volume do compartimento receptor de 10 mL, operando sob condições de *sink*, com base no método descrito por Kakadia e Conway (2022). Pele abdominal suína, obtida da região ventral, foi utilizada como membrana biológica. Previamente ao ensaio, o tecido animal foi cuidadosamente limpo para a remoção do tecido adiposo subcutâneo e hidratada em solução fisiológica.

Posteriormente, a pele foi posicionada entre os compartimentos doador e receptor da célula de Franz, com o estrato córneo voltado para o compartimento doador e a derme em contato com a solução receptora. O compartimento receptor foi preenchido com solução tampão fosfato se sódio (PBS) (pH 7,4) contendo 10% (v/v) de etanol e mantido sob agitação constante com agitador magnético, à temperatura de 35 °C durante todo o experimento, a fim de simular condições fisiológicas da superfície cutânea.

No compartimento doador foram adicionados, separadamente, OECL livre, NE ou NPP, em quantidades equivalentes a 9300 µg de OECL, calculadas com base no teor de OECL encontrado na NE e nas NPP, garantindo a aplicação da mesma quantidade de óleo essencial em todos os tratamentos. O estudo foi conduzido durante 7 h, sendo retiradas alíquotas de 1 mL do compartimento receptor nos primeiros 30 minutos e a cada 1 hora. Após cada coleta, o volume retirado foi imediatamente repostado com igual volume de solução receptora, para manter constante o volume do compartimento receptor.

Ao término do ensaio, a retenção do OECL nas diferentes camadas da pele foi avaliada. Inicialmente, o estrato córneo foi removido pela técnica de *tape-stripping* (Kakadia; Conway, 2022), aplicando 10 tiras de fita adesiva sequencialmente sobre a área da pele exposta à amostra. As fitas foram adicionadas a 10 mL de metanol em tubo Falcon e submetidas à agitação em vórtex por 3 min a 2.800 rpm, para extração do OECL retido no estrato córneo. Após a remoção do estrato córneo, o tecido remanescente, correspondente à epiderme viável e derme, foi cortado em pequenos pedaços com auxílio de bisturi, adicionados a 5 mL de metanol e submetidos à

agitação em vórtex por 3 min a 2.800 rpm, para extração do OECL retido nessas camadas da pele.

As amostras coletadas e os extratos obtidos da pele foram posteriormente analisadas por CLUE, conforme metodologia analítica previamente descrita, utilizando o citral como marcador analítico. A quantidade cumulativa permeada foi calculada através da Equação 6, considerando-se a reposição da solução receptora após cada coleta e expressa em função da área de difusão ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$).

$$Q_n = C_n V_r + V_a \sum_{i=1}^{n-1} C_i \quad (6)$$

Onde Q_n é a quantidade cumulativa permeada até o tempo n (μg); C_n é a concentração determinada no compartimento receptor no tempo n ($\mu\text{g}/\text{mL}$); V_r é o volume total do compartimento receptor (10 mL); V_a é o volume retirado em cada coleta (1 mL); e C_i corresponde às concentrações determinadas nas coletas anteriores.

4.7 ANÁLISE DE ATIVIDADES *IN VITRO* DO ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM-LIMÃO LIVRE E NANOENCAPSULADO

4.7.1 Atividade Antioxidante

4.7.1.1 DPPH[•]

A atividade antioxidante do OECL livre, da NE6 e das NPP foi determinada adotando o método espectrofotométrico padrão (Brand-Williams; Cuvelier; Berset, 1995). Inicialmente, foi preparada uma solução de DPPH[•] (Sigma Aldrich, EUA) 60 μM (23,66 $\mu\text{g}/\text{mL}$ em etanol). Posteriormente, as amostras foram diluídas em etanol para obtenção de soluções com concentração equivalente a 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de OECL, calculadas com base no teor de OECL presente na NE e nas NPP. A partir dessas soluções, foram realizadas diluições seriadas em etanol para obtenção de concentrações entre 100 e 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, expressas em termos da quantidade de OECL. As misturas reacionais foram preparadas diretamente nos poços da microplaca de 96 poços, com 50 μL de cada diluição das amostras e 50 μL da solução de DPPH[•], em triplicata. Como controle, foi utilizada a NE0 (10 mL de GA a 20% em água (m/v), 1,2 g de polissorbato 80 e 4 mL de etanol). A mistura foi incubada por 30 min em

temperatura ambiente e ao abrigo da luz. A ação redutora do radical DPPH[•] foi observada pelo decréscimo da absorbância, lida em espectrofotômetro de placas (Synergy H1, BioTekHybrid Technology, EUA) no comprimento de onda de 517 nm. O valor de CI_{50} (concentração necessária para inibir 50% do radical DPPH[•]) foi calculado a partir da equação de regressão linear da curva plotada com os dados de porcentagem de inibição (Equação 7) em relação à absorbância de cada concentração.

$$Inibição \% = [(ABS_{controle} - ABS_{amostra}) / ABS_{controle}] \times 100 \quad (7)$$

onde a $ABS_{controle}$ é a absorbância da solução contendo apenas o DPPH[•] e $ABS_{amostra}$ é a absorbância da reação com as amostras.

4.7.1.2 FRAP

A atividade antioxidante do OECL livre, da NE6 e das NPP foi avaliada utilizando o ensaio de poder antioxidante de redução do ferro (FRAP). O reagente FRAP foi preparado por meio da mistura, na proporção de 10:1:1, de tampão acetato 300 mM (pH 3,6, composto por 3,1 g de acetato de sódio e 16 mL de ácido acético glacial dissolvidos em 1 litro de água destilada), cloreto férrico hexahidratado ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) 20 mM e 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) 10 mM em ácido clorídrico (HCl) 40 mM. Um volume de 2,5 mL do reagente foi misturado com 500 µL de cada amostra, diluídas em etanol para obtenção de soluções com concentrações equivalentes a 250 µg/mL, 31,25 µg/mL e 7,8 µg/mL de OECL, considerando-se a quantidade de OECL presente em cada formulação.

Como controle, foi utilizada a NE0 (10 mL de GA a 20% em água (m/v), 1,2 g de polissorbato 80 e 4 mL de etanol). A mistura reacional foi incubada a 37 °C em banho-maria por 15 minutos. A absorbância foi então lida a 593 nm em espectrofotômetro UV-Visível (BEL Engineering, UV-M51, Itália). O reagente FRAP foi utilizado como branco para calibrar o espectrofotômetro. A capacidade antioxidante foi calculada baseando-se em uma curva padrão de Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) (Sigma Aldrich, EUA), nas concentrações de 0 a 800 µM, e os resultados foram expressos em equivalentes de Trolox (TE) por miligrama de OECL (µM TE/µg). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.7.2 Atividade Antimicrobiana

A atividade antimicrobiana do OECL livre, da NE, das NPP foi determinada pelo método de microdiluição em caldo contra quatro cepas bacterianas, sendo duas representantes gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25392) e *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 35984) e duas representantes gram-negativas: *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). As cepas foram cultivadas em caldo Mueller-Hinton e incubadas em agitador orbital do tipo *shaker* a 100 rpm e 37 °C. O crescimento bacteriano foi monitorado por espectrofotometria, com leitura em 600 nm, até atingirem a densidade óptica (DO) de 0,400.

As amostras foram preparadas com concentração inicial equivalente a 27 mg/mL de OECL, com base no teor de OECL presente na NE e nas NPP. A NE e as NPP foram diluídas em água estéril, enquanto que o OECL livre foi diluído em água estéril com 1% de polissorbato 80. A partir dessas soluções estoque, foram feitas diluições em caldo Mueller-Hinton (1:1, v/v) diretamente em microplacas estéreis de 96 poços, totalizando 180 µL por poço, obtendo-se concentrações no intervalo de 9,85 a 0,077 mg/mL. Em cada poço foi adicionado 20 µL de suspensão bacteriana.

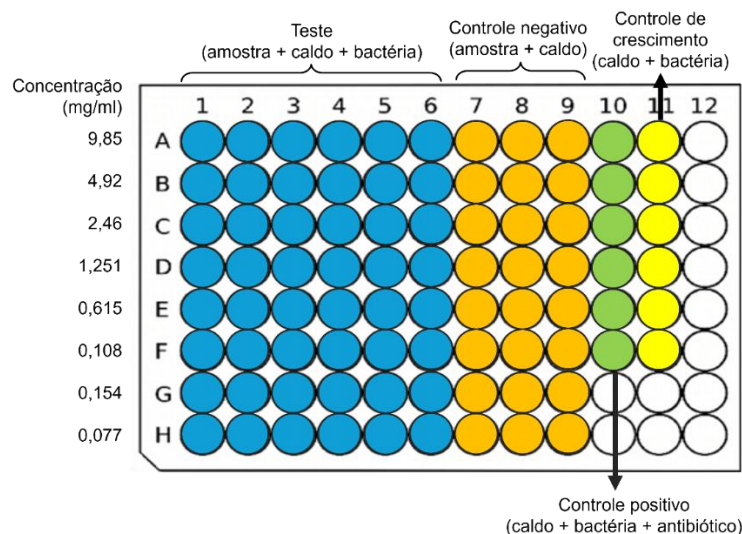
Como controle positivo, utilizou-se o antimicrobiano gentamicina. O controle do crescimento bacteriano foi realizado adicionando 20 µL da suspensão bacteriana em 180 µL de caldo, sem amostra. As diluições das amostras em caldo, porém sem inoculação de bactérias, foi utilizado como controle negativo. A Figura 26 apresenta esquematicamente o ensaio realizado nas microplacas.

As microplacas foram incubadas em estufa a 37 °C e, após 24 horas, a DO foi medida a 600 nm em espectrofotômetro de placas (Synergy H1, BioTekHybrid Technology, EUA). Os valores obtidos foram considerados para cálculo da Concentração Inibitória Mínima (CIM), a partir da porcentagem de inibição calculada pela Equação 8:

$$\text{Inibição \%} = [(DO_{CC} - DO_{amostra}) / DO_{CC}] \times 100 \quad (8)$$

onde a DO_{CC} é a absorbância do controle de crescimento bacteriano e $DO_{amostra}$ é a absorbância das amostras com inoculação da suspensão bacteriana.

Figura 26 - Esquema representativo da placa de 96 poços para avaliação da atividade antimicrobiana pelo método de microdiluição em caldo.



Fonte: A autora.

A atividade antimicrobiana das NPP também foi determinada qualitativamente por meio da técnica de difusão em ágar. Para isso, foram feitos poços de 5 mm de diâmetro sob condições estéreis em ágar Mueller-Hinton solidificado, e as bactérias *S. aureus* e *E. coli* foram semeadas com swab. Pesou-se 0,08 g de pó (equivalente a 10 mg de OECL) e adicionou-se diretamente no poço. Como controle, o mesmo processo foi realizado com a GA pura. Após o período de incubação (24 horas, 37°C), a atividade antibacteriana foi avaliada pela medição do diâmetro dos halos de inibição (mm) ao redor dos poços.

4.7.3 Ensaio de Inibição da Desnaturação Proteica Utilizando Albumina Sérica Bovina

A desnaturação proteica consiste na perda de estrutura e, conseqüentemente, da funcionalidade biológica de proteínas, em resposta à exposição a determinados compostos, estresse externo ou calor, o que pode também ser associado a processos envolvidos na resposta inflamatória (Truong *et al.*, 2019).

Nesse contexto, o ensaio de inibição da desnaturação proteica foi utilizado como um modelo de triagem para a avaliação indireta do potencial anti-inflamatório *in vitro* do OECL livre, da NE e das NPP, adaptado dos métodos descritos por Truong e colaboradores (2019) e por Muthulakshmi; Sundrarajan (2020).

Inicialmente, as amostras foram diluídas em uma solução composta por tampão fosfato (pH 6,3) e metanol, na proporção de 1:1 (v/v), de modo a obter concentrações finais equivalentes a 50, 100, 150, 200 e 250 µg/mL de OECL. Para a NE e as NPP, as diluições foram calculadas considerando-se a quantidade de OECL presente em cada formulação.

Para o preparo da mistura reacional, 1 mL de cada diluição das amostras foi adicionado a 1 mL de solução aquosa de ASB a 1% (m/v) (Sigma-Aldrich, EUA). As misturas foram inicialmente incubadas a 37 °C durante 15 min e, posteriormente, submetidas ao aquecimento em banho-maria a 70 °C durante 15 min para indução da desnaturação proteica. Após o aquecimento, as amostras foram resfriadas à temperatura ambiente e a absorbância foi determinada a 660 nm em espectrofotômetro UV-Vis (UV-M51, BEL Engineering, Itália).

Como controle positivo, foi utilizado diclofenaco sódico, preparado em solução de tampão fosfato (pH 6,3):metanol (1:1, v/v) para concentrações finais de 50, 100, 150, 200 e 250 µg/mL e submetido às mesmas condições experimentais empregadas para as amostras. Como controle negativo, foi incubada nas mesmas condições apenas a solução de tampão fosfato (pH 6,3):metanol (1:1, v/v) com ASB a 1% (m/v) na proporção 1:1 (v/v). Como controle da formulação, foi utilizada a NE0 (10 mL de GA a 20% em água (m/v), 1,2 g de polissorbato 80 e 4 mL de etanol). A capacidade das amostras em inibir a desnaturação térmica da albumina foi expressa como porcentagem de inibição da desnaturação proteica, calculada de acordo com a Equação 9:

$$\text{Inibição \%} = [(ABS_{\text{controle}} - ABS_{\text{amostra}}) / ABS_{\text{controle}}] \times 100 \quad (9)$$

onde a ABS_{controle} é a absorbância da solução contendo apenas a albumina e ABS_{amostra} é a absorbância da reação com as amostras.

Os resultados obtidos para o OECL livre, NE e NPP foram comparados com aqueles obtidos para o diclofenaco sódico, utilizado como fármaco anti-inflamatório de referência.

4.7.4 Atividade sobre a viabilidade de fibroblastos 3T3-Swiss albino

Os efeitos do OECL livre, da NE e das NPPs sobre a viabilidade de fibroblastos 3T3-Swiss albino foram avaliados por meio do ensaio de MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio], adaptado de Tumscitz et al. (2017). As células

foram cultivadas em meio RPMI 1640 suplementado com 5% de soro fetal bovino, penicilina (100 U/mL) e estreptomicina (100 µg/mL), e mantidas a 37 °C em atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂. Na sequência, foram semeadas em microplacas de 96 poços, na densidade de 1 x 10⁵ células/poço, e incubadas por 24 h para permitir a adesão celular. Após esse período, o meio de cultura foi removido e as células foram tratadas com as amostras.

Para cada tratamento, foram adicionados 100 µL de amostra em diferentes diluições e 100 µL de meio RPMI 1640, totalizando um volume de 200 µL por poço. As concentrações das amostras foram ajustadas de acordo com o teor de OECL presente em cada formulação, de forma a obter concentrações finais equivalentes a 15,625; 31,25; 62,5; 125 e 250 µg/mL de OECL. Células não tratadas, incubadas apenas com meio RPMI 1640, foram utilizadas como controle negativo e consideradas como correspondentes a 100% de viabilidade celular.

Após 24 h de incubação a 37 °C em atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂, a solução de MTT foi adicionada a cada poço, na concentração final de 1 mg/mL, e as placas foram incubadas por 30 min a 37 °C. Posteriormente, o meio contendo MTT foi removido e os cristais de formazan formados foram solubilizados com 200 µL de dimetilsulfóxido (DMSO). A absorbância foi determinada a 590 nm utilizando espectrofotômetro de microplacas (Synergy H1, BioTek Hybrid Technology, EUA).

A viabilidade celular foi expressa em porcentagem em e calculada de acordo com a Equação 10:

$$Inibição \% = (ABS_{amostra} / ABS_{controle}) \times 100 \quad (10)$$

onde ABS_{amostra} corresponde à absorbância das células expostas às amostras testadas e ABS_{controle} é a absorbância das células não tratadas. Todos os experimentos foram realizados com cinco replicatas (n = 5).

4.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises estatísticas foram realizadas utilizando os softwares GraphPad Prism 7 (GraphPad Software Inc., EUA) e Microsoft 365 Excel (Microsoft Corporation, EUA). Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão. As comparações entre dois grupos foram avaliadas pelo teste *t* de *Student*. Para experimentos envolvendo mais de dois grupos, utilizou-se análise de variância (ANOVA) de uma ou duas vias, seguida dos testes de Tukey ou Sidak, conforme o delineamento

experimental de cada ensaio. Foram consideradas estatisticamente significativas as diferenças com valores de $p < 0,05$.

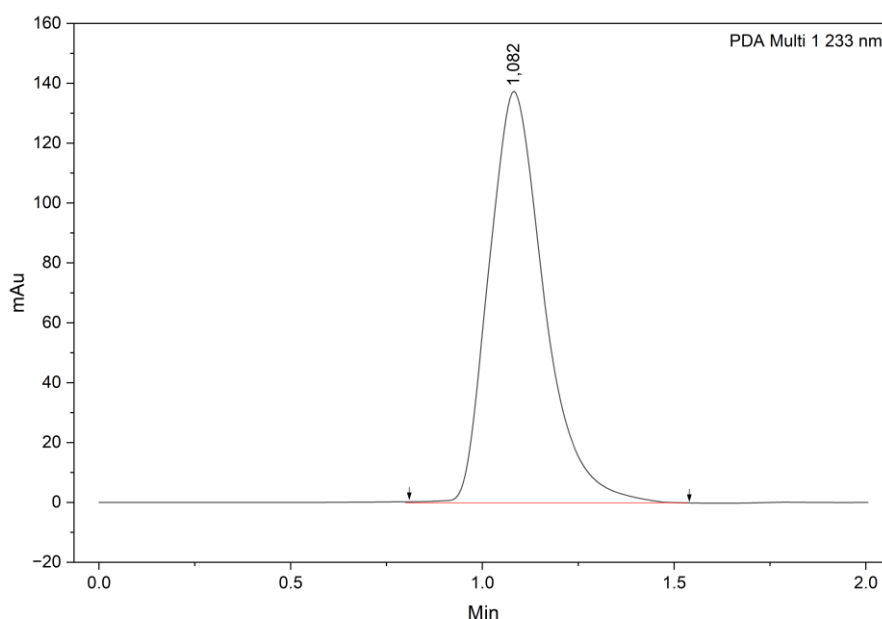
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DO CITRAL POR CROMATOLOGRAFIA LÍQUIDA DE ULTRA EFICIÊNCIA (CLUE)

A análise de OEs é geralmente realizada por cromatografia gasosa (CG) devido à volatilidade dos componentes presentes. No entanto, a análise por CG de produtos que contenham água é conhecida por enfrentar problemas na preparação das amostras, pois se a água não for removida, pode reduzir a vida útil da coluna cromatográfica (Gaonkar *et al.*, 2016). Por isto, o método validado de CLUE (cromatografia líquida de ultra eficiência) em fase reversa está se tornando uma técnica analítica amplamente utilizada para a identificação e quantificação de OEs e seus constituintes em formulações aquosas, sendo inclusive previamente desenvolvida e validada para a quantificação de citral, composto majoritário do óleo essencial de capim-limão (OECL), por Rauber, Guterres e Schapoval (2005) e Gaonkar *et al.* (2016).

Na etapa do método analítico, as melhores condições cromatográficas foram otimizadas para a determinação do citral a ser quantificado nas amostras. Para a escolha da fase móvel, foi utilizado um gradiente exploratório com diferentes proporções de metanol:água. A partir disso, a proporção metanol:água de 95:5 foi escolhida como fase móvel, pois apresentou uma melhor definição do pico de citral e uma corrida de 2 minutos, com tempo de retenção de aproximadamente 1,08 minutos (Figura 27).

Figura 27 - Cromatograma de citral obtido por cromatografia líquida de ultraeficiência (CLUE) com detector de arranjo de diodos (DAD), a 233 nm.



Fonte: A autora.

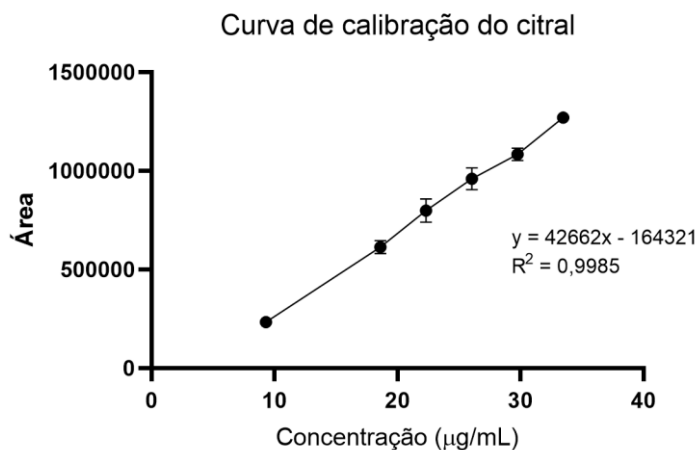
A adequação do sistema é um parâmetro importante que permite garantir que a resolução e a reprodutibilidade do sistema cromatográfico sejam adequadas para a análise e se o método utilizado é válido ou não (Kowalska *et al.*, 2022). O desvio padrão relativo (DPR) das áreas dos picos de seis injeções consecutivas da solução de citral padrão 18,6 µg/mL, ponto intermediário da curva de calibração proposta, foi $\leq 2,0\%$ (1,77%) sugerindo que as condições são adequadas e que o método pode ser utilizado para injeções repetidas (Kowalska *et al.*, 2022).

5.1.1 Linearidade

Para demonstrar que o método desenvolvido é adequado e confiável para a quantificação do citral nas amostras, foi realizada a validação analítica. Segundo a RDC nº 166 de 2017, “a linearidade de um método deve ser demonstrada por meio da sua capacidade de obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração de um analito em uma amostra”. Como resultado da análise de linearidade, construiu-se uma curva de calibração ($n=3$), relacionando as concentrações de citral (9,3 – 33,5 µg/mL) com as áreas dos picos cromatográficos, e

obteve-se um coeficiente de determinação superior a 0,990 ($R^2 = 0,9985$), atendendo ao critério estabelecido pela RDC nº 166/2017, Art. 27, § 3º (Figura 28).

Figura 28 - Curva de calibração (áreas dos picos cromatográficos x concentração de citral) para avaliação da linearidade do método por CLUE.



Fonte: A autora.

Nota: Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão ($n=3$, amostras independentes).

A homoscedasticidade, que avalia se as variâncias observadas em diferentes níveis de concentração são estatisticamente homogêneas, foi investigada por meio do teste de Cochran. Os resultados do teste indicaram que os dados são homocedásticos, ou seja, não houve diferença significativa entre as variâncias, confirmando que a dispersão dos valores em torno da linha de regressão é uniforme, o que reforça a confiabilidade do método aplicado. Sendo assim, a equação da reta ($y = 42662x - 164321$) foi estimada pelo método dos mínimos quadrados ordinários.

Outro requisito em relação à linearidade é demonstrar a significância do coeficiente angular, que pode ser realizada por meio do teste F da Anova, apresentado no Quadro 3. Observou-se que o F calculado foi 339,35 vezes maior que o F tabelado, assumindo assim que y efetivamente varia em função de x e que o método pode ser considerado linear. Também é possível concluir que o coeficiente angular é significativamente diferente de zero ($p < 0,01$), cumprindo com o preconizado pela RDC nº 166/2017, Art. 27, § 4º.

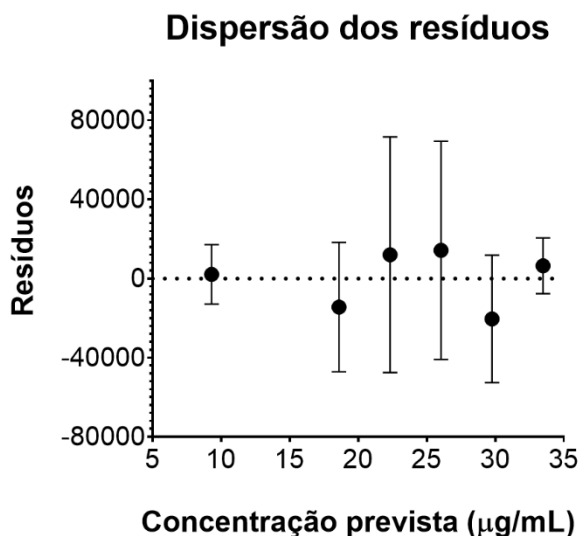
Quadro 3 - Resultado do teste F da Anova para determinação da significância do coeficiente angular.

Parâmetro	Valor	F calculado	F tabelado (95%)	p-valor
Regressão	$2,03.10^{12}$	1525	4,494	$2,66.10^{-17}$
Resíduo	$2,13.10^{10}$			
Total	$2,05.10^{12}$			

Fonte: A autora.

Com a avaliação da distribuição de resíduos (Figura 29), que corresponde a diferença entre o valor da área encontrada para determinada concentração e o valor estimado, é possível observar visualmente pelo gráfico que há uma distribuição de variância constante. Aplicando o teste estatístico Shapiro Wilk, confirma-se que os resíduos seguem uma distribuição normal e são independentes entre si, sugerindo que o erro do modelo é devido apenas às variações comuns de análise.

Figura 29 - Distribuição dos resíduos em função da resposta analítica para a quantificação de citral por CLUE, demonstrando uma distribuição normal.



Fonte: A autora.

A partir dos dados obtidos e das análises estatísticas aplicadas, evidenciou-se a linearidade do método desenvolvido, demonstrando a capacidade de obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração de citral nas amostras, a partir da equação da reta obtida.

5.1.2 Limite de Detecção e de Quantificação

O limite de detecção (LD) corresponde à menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém, não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas. O limite de quantificação (LQ) é a menor quantidade de analito que pode ser quantificada em uma amostra com precisão e exatidão aceitáveis. Para calcular LD e LQ, utiliza-se o valor de inclinação da curva de calibração (coeficiente angular), obtido pelo teste de linearidade, e o desvio padrão residual da linha de regressão (Brasil, 2017).

O LD do método desenvolvido foi calculado em 2,07 µg/mL, enquanto que o LQ foi de 6,29 µg/mL. Observa-se que ambos os valores estão próximos ao primeiro ponto da curva analítica, indicando que o método possui sensibilidade adequada para quantificação do analito dentro das concentrações estabelecidas, atendendo aos critérios de validação estabelecidos pelas diretrizes da Anvisa (Brasil, 2017).

5.1.3 Precisão e Exatidão

A precisão de um método refere-se à proximidade entre os resultados obtidos (grau de dispersão) através de análises da amostra nas condições desenvolvidas, considerando a repetibilidade (intradia) e precisão intermediária (interdia, dias consecutivos). Em contrapartida, a exatidão de um método analítico refere-se ao grau de concordância entre os valores individuais obtidos e um valor aceito como verdadeiro (Brasil, 2017; Kowalska *et al.*, 2022).

Para avaliação de ambos os parâmetros, foram realizadas nove determinações, contemplando o intervalo linear do método analítico, com três concentrações: baixa (13,95 µg/mL), média (23,25 µg/mL) e alta (32,55 µg/mL), cada uma em triplicata. A precisão foi determinada através do cálculo do DPR para os três níveis de concentração, sendo que os valores obtidos para a variação intradia e interdia não excederam 5%. A exatidão foi determinada pela porcentagem de recuperação, calculada pela relação percentual entre a concentração média obtida experimentalmente e a concentração teórica correspondente, que resultou em valores médios dentro da faixa de 95-105%.

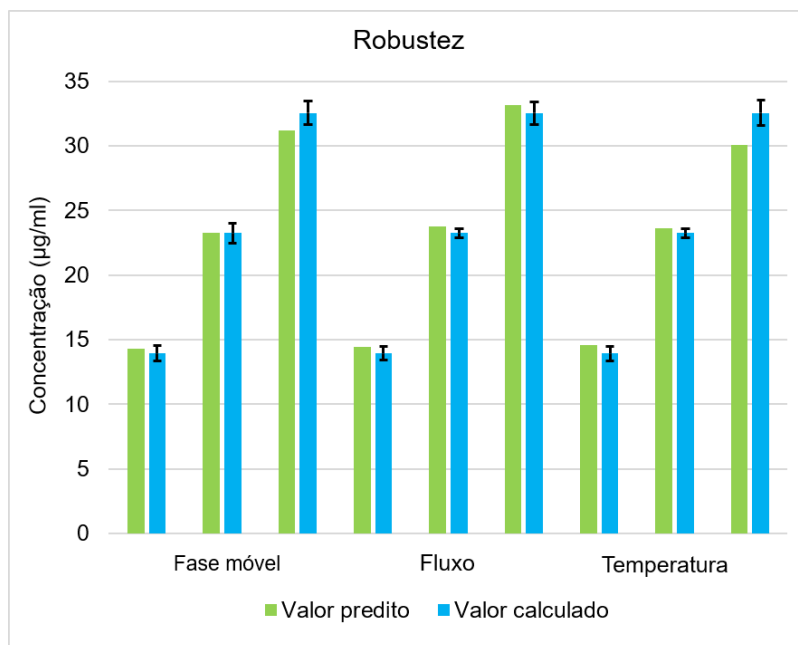
A aplicação do teste T de Student indicou que não houve diferença estatisticamente significativa entre as concentrações preditas e as concentrações determinadas experimentalmente ($p > 0,01$), tanto nas análises intradia quanto

interdia, evidenciando a consistência dos resultados. Dessa forma, o método pode ser considerado validado quanto aos parâmetros de precisão e exatidão.

5.1.4 Robustez

A robustez é um parâmetro que indica a capacidade do método em resistir a pequenas variações nas condições analíticas. Para validação quanto a robustez, foram realizadas corridas cromatográficas com três concentrações de citral (13,95 µg/mL, 23,25 µg/mL e 32,55 µg/mL), variando a temperatura (de 26 para 28 °C), a fase móvel (de 95:5 para 97:3, metanol:água) e o fluxo (de 0,3 para 0,2 mL/min), cada um em triplicata. Com base no cálculo do DPR e na aplicação do teste T de Student, verificou-se que os valores médios obtidos para cada concentração, mesmo sob as variações experimentais testadas, não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p > 0,01$). O método demonstrou ser robusto frente às alterações de método propostas (Figura 30).

Figura 30 - Avaliação da robustez do método de CLUE para quantificação de citral sob pequenas variações nas condições cromatográficas, expressos pela média $\pm$ desvio padrão de três concentrações (baixa, média e alta).



Fonte: A autora.

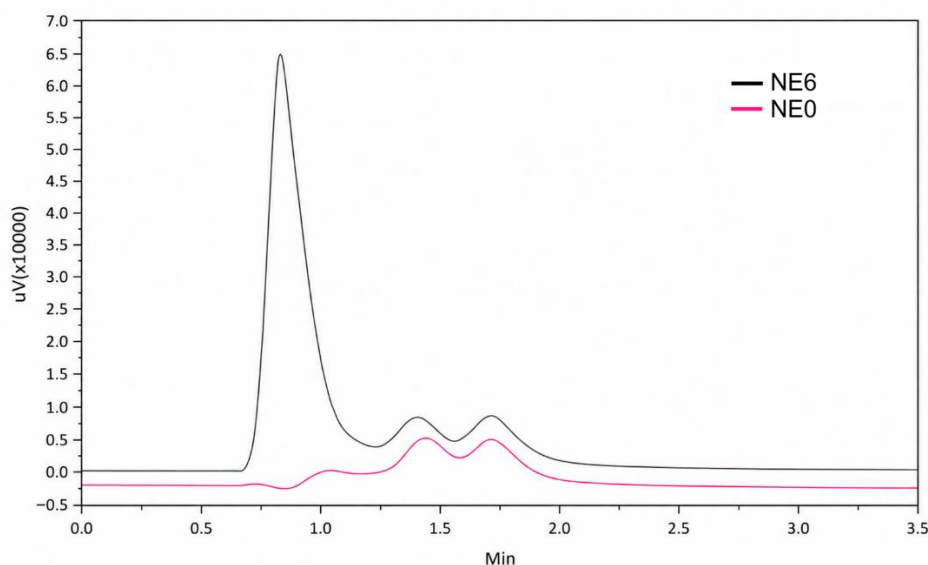
Nota: Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão ($n=3$, amostras independentes).

5.1.5 Seletividade

A seletividade é a capacidade de um método em identificar e quantificar o analito de interesse, mesmo na presença de outros componentes na amostra (ICH, 2023). Como o OECL é uma matriz complexa e as formulações sugeridas neste trabalho possuem também GA e polissorbato 80 em sua composição, este teste é essencial para garantir que os demais componentes não interferem na determinação do citral.

O cromatograma obtido de uma formulação sem a presença de OECL (NE0) confirmou a seletividade do método, pois não foram observados picos interferentes, provenientes dos demais componentes do OECL ou da formulação, no mesmo tempo de retenção e comprimento de onda do citral (Figura 31).

Figura 31 - Cromatogramas demonstrando a seletividade do método analítico, comparando a NE6 (nanoemulsão contendo óleo essencial de capim-limão) com a NE0 (nanoemulsão branca, sem adição de óleo essencial).



Fonte: A autora.

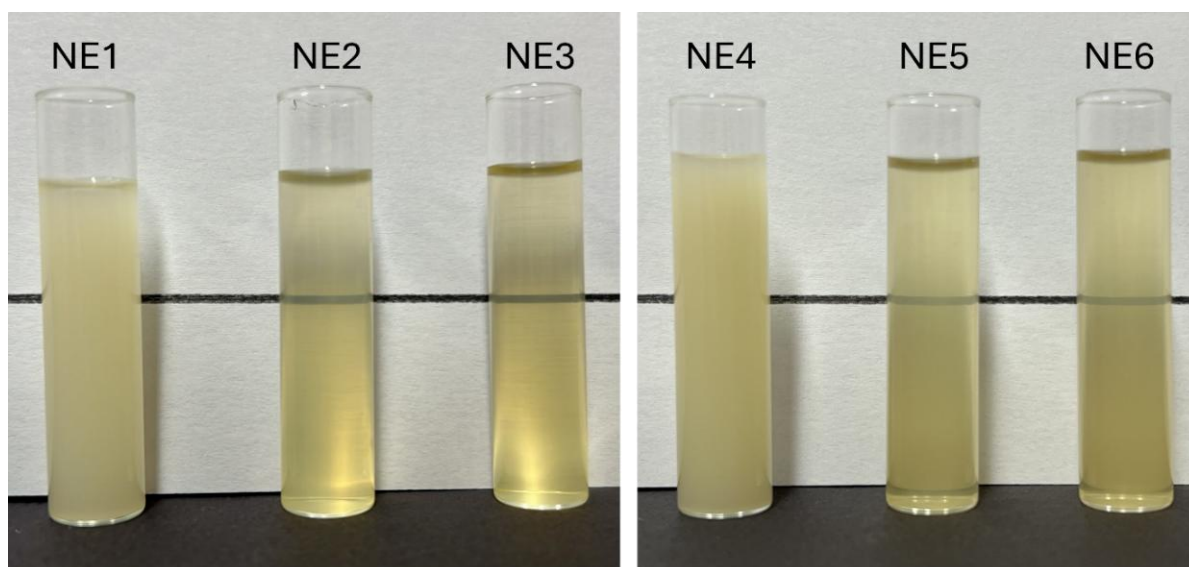
5.2 DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DAS NANOEMULSÕES

5.2.1 Avaliação Macroscópica

Para produção das nanoemulsões (NEs), a quantidade de óleo essencial de capim-limão (OECL) foi padronizada experimentalmente em 0,4 g, assim como a quantidade de etanol em 4 mL. As formulações foram otimizadas investigando suas

propriedades físico-químicas em relação à variação das proporções de GA na fase aquosa (10 mL de solução de GA 10% ou 20%, m/v) e a proporção entre OECL:polissorbato 80 (1:1, 1:2 ou 1:3, m/m). A primeira análise realizada foi a macroscópica, por avaliação visual (Figura 32).

Figura 32 - Análise macroscópica das nanoemulsões.



Fonte: A autora.

Todas as NEs apresentaram um sensorial não oleoso e de fácil espalhabilidade, característica interessante para aplicação em pele irritada e inflamada, como no caso das queimaduras solares. Sensorial semelhante foi observado por Tawfik *et al.* (2024), que produziram NEs de OE de *Artemisia monosperma* para tratamento de psoríase.

Uma das características que indicam a formulação de uma NE é a capacidade de formar um sistema transparente/translúcido, pois representa a formação de micelas menores dispersas por toda a fase aquosa, que permitem a passagem de luz com mínima dispersão (Aziz *et al.*, 2019). Assim, a partir desta análise visual, sugere-se que as amostras NE1 e NE4, que continham a menor proporção de tensoativo (OECL:polissorbato 80 = 1:1, m/m), não formaram NEs ideais, por se apresentarem opacas. Por outro lado, nota-se que o aumento da proporção de tensoativo contribuiu para a transparência das formulações, evidente nas amostras NE2, NE5 (OECL:polissorbato 80 = 1:2, m/m) e NE3, NE6 (OECL:polissorbato 80 = 1:3, m/m). Observa-se também que as amostras com solução de GA a 10% (NE2 e NE3) ficaram

mais translúcidas em comparação às amostras contendo solução de GA a 20% (NE5 e NE6).

Esses resultados estão alinhados com os encontrados anteriormente por Singh, Kaur e Singh (2023), que observaram certa turbidez em NEs contendo a proporção óleo de cravo:polissorbato 80 de 1:1, mas que reduziu com o aumento da concentração de tensoativo, tornando-se translúcidas nas proporções 1:2, 1:3 e 1:4. Periasamy, Athinarayanan e Alshatwi (2016) também obtiveram NEs mais translúcidas e estáveis utilizando uma proporção de 1:3 de óleo essencial de *Nigella sativa* L.:polissorbato 80.

Neste estudo, outro fator que colaborou para formação de NEs estáveis foi a adição de etanol como co-tensoativo. O etanol, por possuir uma cadeia curta de álcool, é mais lipofílico que alguns tensoativos, sendo altamente solúvel em água e ligeiramente solúvel nas micelas. Por essa razão, ele fica adsorvido na interface das micelas e forma ligações de hidrogênio com a água, o que reduz a tensão interfacial, melhora a penetração do tensoativo e cria uma barreira contra a desestabilização. Com isso, obtém-se micelas de menor tamanho e mais homogêneas, como observado por Hu *et al.* (2016) e Tawfik *et al.* (2024).

5.2.2 Tamanho Médio de Partícula, Índice de Polidispersão e Potencial Zeta

Os valores do tamanho médio das partículas, índice de polidispersão (IPD) e potencial zeta das NEs estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Tamanho médio das partículas, índice de polidispersão (IPD), e potencial zeta das nanoemulsões contendo óleo essencial de capim-limão.

Amostra	Tamanho de partícula (nm)	IPD	Potencial zeta (mV)
NE1	867,43 ± 75,15 ^a	0,549 ± 0,078 ^a	-3,07 ± 0,33 ^a
NE2	135,67 ± 26,42 ^b	0,632 ± 0,010 ^a	-10,00 ± 0,74 ^b
NE3	38,50 ± 1,27 ^{b,c}	0,810 ± 0,043 ^b	-14,10 ± 0,31 ^c
NE4	1050,57 ± 83,18 ^d	0,214 ± 0,083 ^c	-5,79 ± 0,69 ^d
NE5	196,63 ± 29,92 ^c	0,261 ± 0,030 ^c	-12,07 ± 0,68 ^{b,c}
NE6	86,53 ± 1,53 ^b	0,248 ± 0,026 ^c	-19,03 ± 0,30 ^e

Fonte: A autora.

Notas: Dados expressos como média ± desvio padrão (n=3, amostras independentes). ANOVA de uma via seguido de teste de Tukey. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre as amostras ($p < 0,05$).

O tamanho das micelas e sua distribuição determinam a estabilidade das NEs. Quanto menor o tamanho, maior a razão superfície/volume, o que aumenta a biodisponibilidade e bioatividade do OE encapsulado. Também reduz as forças atrativas entre as micelas, prevenindo a coalescência, e diminui a taxa de degradação do material de parede (Yammine *et al.*, 2024).

A análise de tamanho de partícula confirmou as observações feitas na análise macroscópica. As NE1 e NE4 (ambas com proporção OECL:polissorbato 80 de 1:1, m/m) apresentaram tamanho de partícula próximo a 1 μm , estatisticamente diferentes de todas as outras formulações, não podendo ser classificada como nanoemulsão. Já as demais formulações podem ser classificadas como nanoemulsões, pois o tamanho médio de partícula foi inferior a 200 nm, o que confere translucidez à preparação (Mssillou *et al.*, 2025; Pandey; Bawiskar; Wagh, 2024; Preeti *et al.*, 2023; Tawfik *et al.*, 2024), como observado macroscopicamente. Por outro lado, as formulações NE3 e NE6 (ambas com proporção OECL:polissorbato 80 de 1:3, m/m) não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si quanto ao tamanho de partículas ($p > 0,05$), indicando que, para este parâmetro de análise, a quantidade de tensoativo exerce maior influência que a concentração de GA.

O índice de polidispersão (IPD) é uma medida da distribuição do tamanho das partículas e está relacionado com a estabilidade das NEs. Os valores de IPD variam entre 0 e 1, sendo que valores mais próximos a zero indicam uma distribuição de tamanho estreita e homogênea das micelas (Yammine *et al.*, 2024). Sugere-se que valores de IPD inferiores a 0,3 são indicativos de alta estabilidade (Xiao *et al.*, 2021), enquanto que valores entre 0,3 e 0,5 podem ser aceitáveis dependendo da aplicação (Ibrar *et al.*, 2022; Mostafa *et al.*, 2015). Valores acima de 0,5 indicam distribuições de tamanho mais heterogêneas, o que pode refletir em uma menor estabilidade do sistema.

Observa-se na Tabela 2 que as amostras preparadas com solução de GA a 20% (NE4, NE5 e NE6) apresentaram valores de IPD estatisticamente semelhantes entre si ($p > 0,05$), porém significativamente diferentes das demais amostras contendo solução de GA a 10%. Em um estudo de Thuong Nhan *et al.* (2020), foi relatado que a GA aumentou a viscosidade do sistema emulsionado, devido ao elevado peso molecular, à natureza altamente ramificada e à composição rica em polissacarídeos ácidos. O aumento da viscosidade da fase contínua contribui para a redução na mobilidade das gotículas dispersas que, por sua vez, reduz a coalescência, mantendo

as gotículas com tamanho mais homogêneas (Flekka *et al.*, 2024; Singh, Y. *et al.*, 2017). Sendo assim, os resultados indicam maior influência da GA sobre o IPD das NEs do que a concentração do tensoativo.

O potencial zeta representa a diferença entre as cargas elétricas dos íons da fase contínua e dos íons em suspensão ao redor das micelas. Geralmente, valores de potencial zeta próximos a 30 mV (positivo ou negativo) indicam uma forte repulsão entre as micelas, o que previne a coalescência e floculação, garantindo maior estabilidade elétrica da NE (Jayari *et al.*, 2022; Yammine *et al.*, 2024). Entretanto, a aplicação dessa regra é limitada a dispersões com tensoativos iônicos. Tensoativos não iônicos, como o polissorbato 80, utiliza um mecanismo de repulsão estérica para estabilização, sem uma carga elétrica, mascarando qualquer carga presente nas gotículas de óleo (Tawfik *et al.*, 2024). Por isso, os valores de potencial zeta encontrados, mais próximos ao neutro (0 mV), podem ser atribuídos ao tensoativo utilizado (Jayari *et al.*, 2022).

Por outro lado, a GA é um polissacarídeo formado por unidades de arabinogalactano ligados a uma cadeia proteica, contendo aminoácidos como arginina, ácido aspártico e ácido glutâmico carregados negativamente (< 0 mV) (Bashir *et al.*, 2024). Também, emulsões estabilizadas com tensoativos não iônicos podem ser carregadas devido à presença de resíduos ionizáveis (por exemplo, ácidos graxos livres) (Morteza-Semnani *et al.*, 2022).

A análise estatística revelou diferença significativa entre as formulações, indicando que tanto a GA quanto o tensoativo influenciam no potencial zeta. Todas as NEs exibiram potencial zeta negativo, com o menor valor na amostra NE6 ($-19,03 \pm 0,30$), seguido pela amostra NE3 ($-14,10 \pm 0,31$). Assim, os resultados obtidos são esperados e considerados adequados, além de corroborarem com a literatura e outros estudos. Zamaniahari e colaboradores (2022) produziram uma NE de OE de *Mentha spicata* L. utilizando Polissorbato 80 e obtiveram um potencial zeta de -13,2 mV. Yakoubi e colaboradores (2023) avaliaram a estabilidade de NEs de tocoferol derivado de óleo de cominho encapsulado por GA e polissorbato 80 e obtiveram potencial zeta de -14,7 mV.

Alinhando todos os resultados obtidos, conclui-se que as amostras com maior proporção OECL:polissorbato 80 (1:3, m/m), denominadas NE3 e NE6, apresentaram as melhores características físico-químicas. Ambas exibiram tamanho de partícula reduzido (inferior a 100 nm) e valores de potencial zeta mais próximos de -30 mV.

Sobretudo, destaca-se a NE6 por também apresentar um IPD mais baixo, que sugere melhor estabilidade física do sistema durante o armazenamento e o processo de nano *spray-drying*.

5.2.3 Estudo de Estabilidade

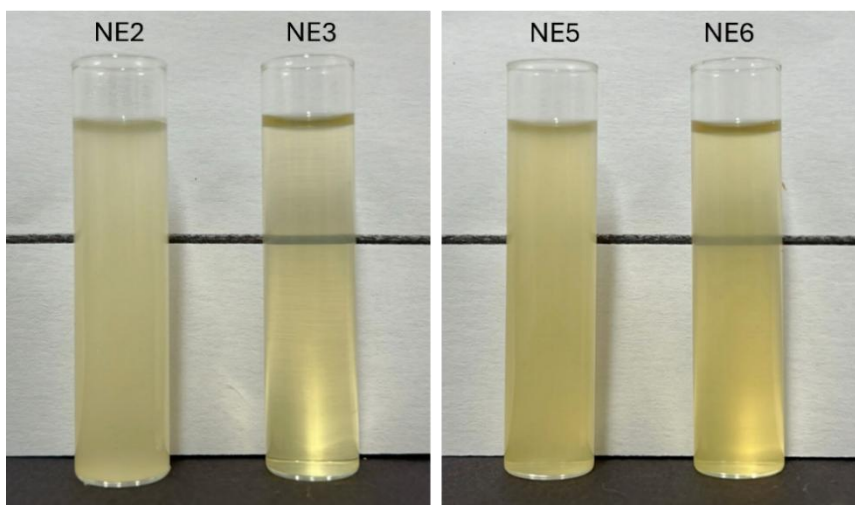
5.2.3.1 Estabilidade cinética

Apenas as amostras NE1 e NE4 apresentaram separação de fase e coalescência 48 horas após o preparo à temperatura ambiente. As demais amostras se mantiveram estáveis e, por isso, seguiram para avaliação da estabilidade cinética por centrifugação.

Uma NE mantém sua estabilidade física enquanto permanecer no estado disperso adequado. A separação gravitacional é um dos principais fenômenos de instabilidade de emulsões, que ocorre devido à diferença de densidade entre as partículas dispersas e a fase contínua. Assim, a estabilidade física de uma NE pode ser avaliada pela aplicação de força centrífuga, permitindo a verificação da resistência das micelas à coalescência, que resulta na separação de fases (Ganesan *et al.*, 2023).

Nas amostras NE2 e NE5, observa-se a turvação da emulsão, provavelmente devido à coalescência das micelas, fenômeno que resulta na formação de aglomerados e aumento no tamanho das gotículas dispersas. Esse fato indica a instabilidade física desses sistemas. Por outro lado, as amostras NE3 e NE6 demonstraram estabilidade significativa quando submetidas a uma força centrífuga de até 4000 rpm, pois não foram observadas separação de fases nem coalescência (Figura 33). Esses resultados sugerem que a proporção OECL:polissorbato 80 de 1:3 é adequada para a manutenção da estabilidade do sistema nanoemulsionado.

Figura 33 - Avaliação da estabilidade cinética das nanoemulsões NE2, NE3, NE5 e NE6 após centrifugação.



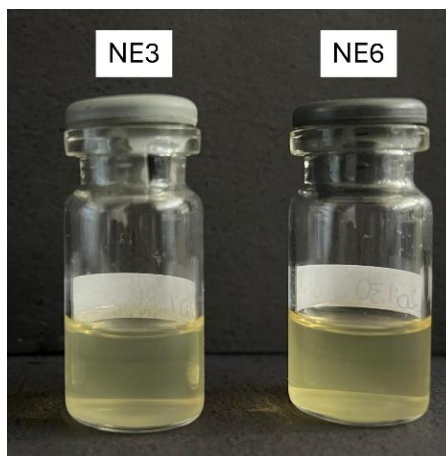
Fonte: A autora.

5.2.3.2 Estabilidade por ciclos de congelamento e descongelamento

Com base nos resultados da estabilidade cinética, as amostras NE3 e NE6 foram selecionadas para o teste de estabilidade acelerada por ciclos de congelamento e descongelamento.

Ambas as formulações mantiveram suas características organolépticas (Figura 34), sem ocorrência de separação de fases, e não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) nos parâmetros de IPD, potencial zeta, pH e eficiência de encapsulação (EE%) (Tabela 3), indicando boa estabilidade físico-química frente às variações extremas de temperatura. Em relação ao tamanho de partícula, ambas as amostras apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre o início e fim do ciclo, mas mantiveram o tamanho dentro do aceitável (< 100 nm).

Figura 34 - Avaliação macroscópica das nanoemulsões NE3 e NE6 após estudo de estabilidade acelerada por ciclos de congelamento e descongelamento.



Fonte: A autora.

Tabela 3 - Tamanho médio das partículas, Índice de polidispersão (IPD), potencial zeta, pH e eficiência de encapsulação (EE%) das nanoemulsões NE3 e NE6 no início e ao final dos ciclos de congelamento e descongelamento.

	NE3		NE6	
	Inicial	Final	Inicial	Final
Tamanho de partícula (nm)	40,69 ± 1,27	72,16 ± 6,56*	75,72 ± 2,14	93,71 ± 3,75*
IPD	0,782 ± 0,036	0,661 ± 0,035	0,256 ± 0,021	0,362 ± 0,059
Potencial zeta (mV)	-15,21 ± 0,37	-16,43 ± 0,43	-19,37 ± 0,41	-18,10 ± 0,20
pH	5,44 ± 0,07	5,34 ± 0,07	5,55 ± 0,04	5,18 ± 0,05
EE%	94,14 ± 0,17	93,98 ± 0,10	94,39 ± 0,13	94,04 ± 0,09

Fonte: A autora.

Notas: Dados expressos como média ± desvio padrão (n=3, amostras independentes). ANOVA de uma via seguido de teste de Sidak. Legenda: * significa $p < 0,05$, comparado ao tempo inicial.

5.2.3.3 Estabilidade acelerada por 90 dias

Em veículos coloidais, como as NEs, deve-se avaliar a estabilidade físico-química considerando a interação química do sistema ativo/veículo e a influência dos componentes da formulação em função do tempo de estocagem em condições apropriadas (Gobo, 2019). Sendo assim, as amostras NE3 e NE6 seguiram para o estudo de estabilidade acelerada de 90 dias, sob diferentes temperaturas de armazenamento, sendo utilizada uma NE branco (NE0, sem OECL) como controle comparativo.

Em relação às características macroscópicas (Figura 35), não houve separação de fases, formação de precipitado ou opalescência em nenhuma das condições ao longo dos 90 dias de estudo. Além disso, não foram observadas alterações expressivas nas NEs armazenadas à temperatura ambiente ou sob refrigeração. Entretanto, observa-se que tanto a NE3 quanto a NE6 apresentaram coloração amarelada no decorrer dos dias de armazenamento em estufa, fenômeno que não ocorreu nas demais temperaturas de armazenamento, nem com a NE0. Tal alteração sugere a ocorrência de oxidação ou degradação do OECL nesta temperatura, o que é consistente com a baixa estabilidade química conhecida dos OEs quando expostos ao calor. Sobre as características organolépticas, verificou-se alteração no odor do OECL apenas nas NEs mantidas em estufa, corroborando com a possível degradação térmica do óleo.

Figura 35 - Avaliação macroscópica das nanoemulsões NE3, NE6 e NE0 (nanoemulsão branco, sem adição de óleo essencial) durante estudo de estabilidade de 90 em diferentes condições: temperatura ambiente ($20 \pm 5^\circ\text{C}$), refrigeração ($5 \pm 2^\circ\text{C}$) e estufa ($40 \pm 1^\circ\text{C}$). As imagens foram registradas em fundo preto, e em fundo branco no 90º dia para evidenciar a translucidez das amostras.

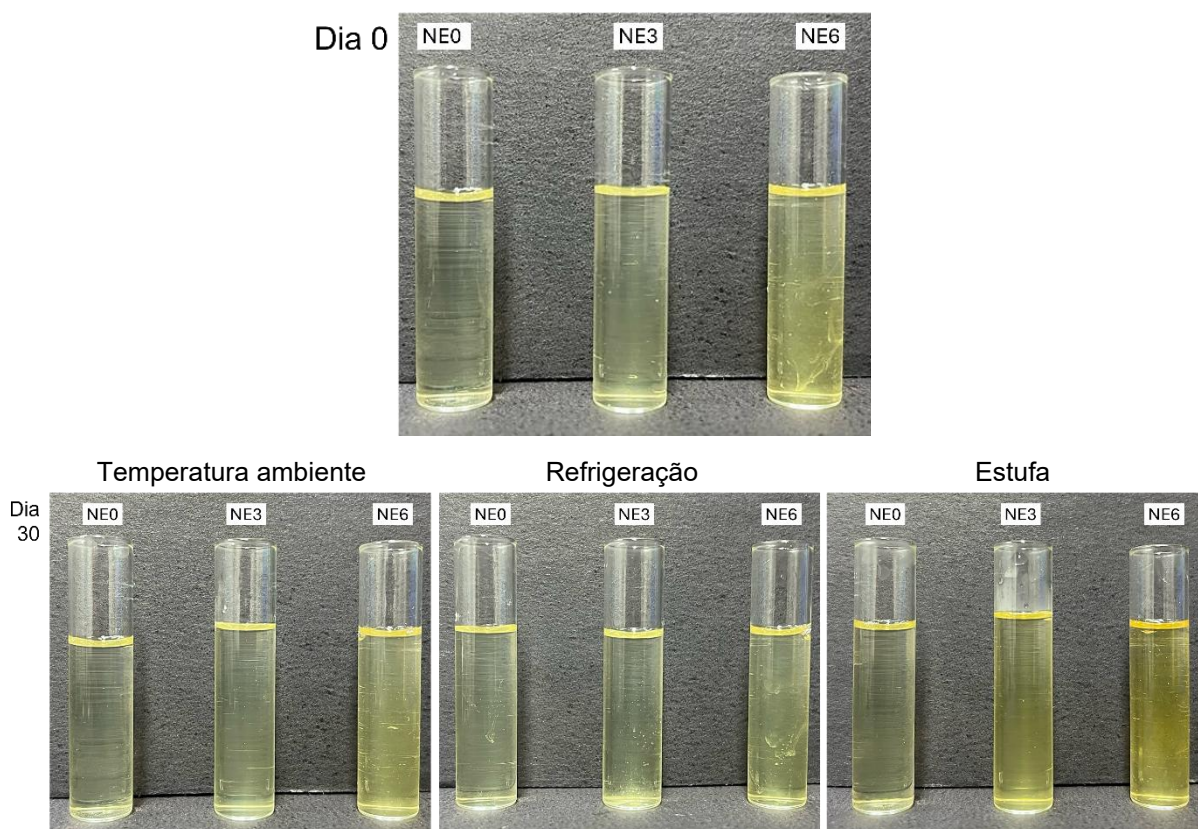
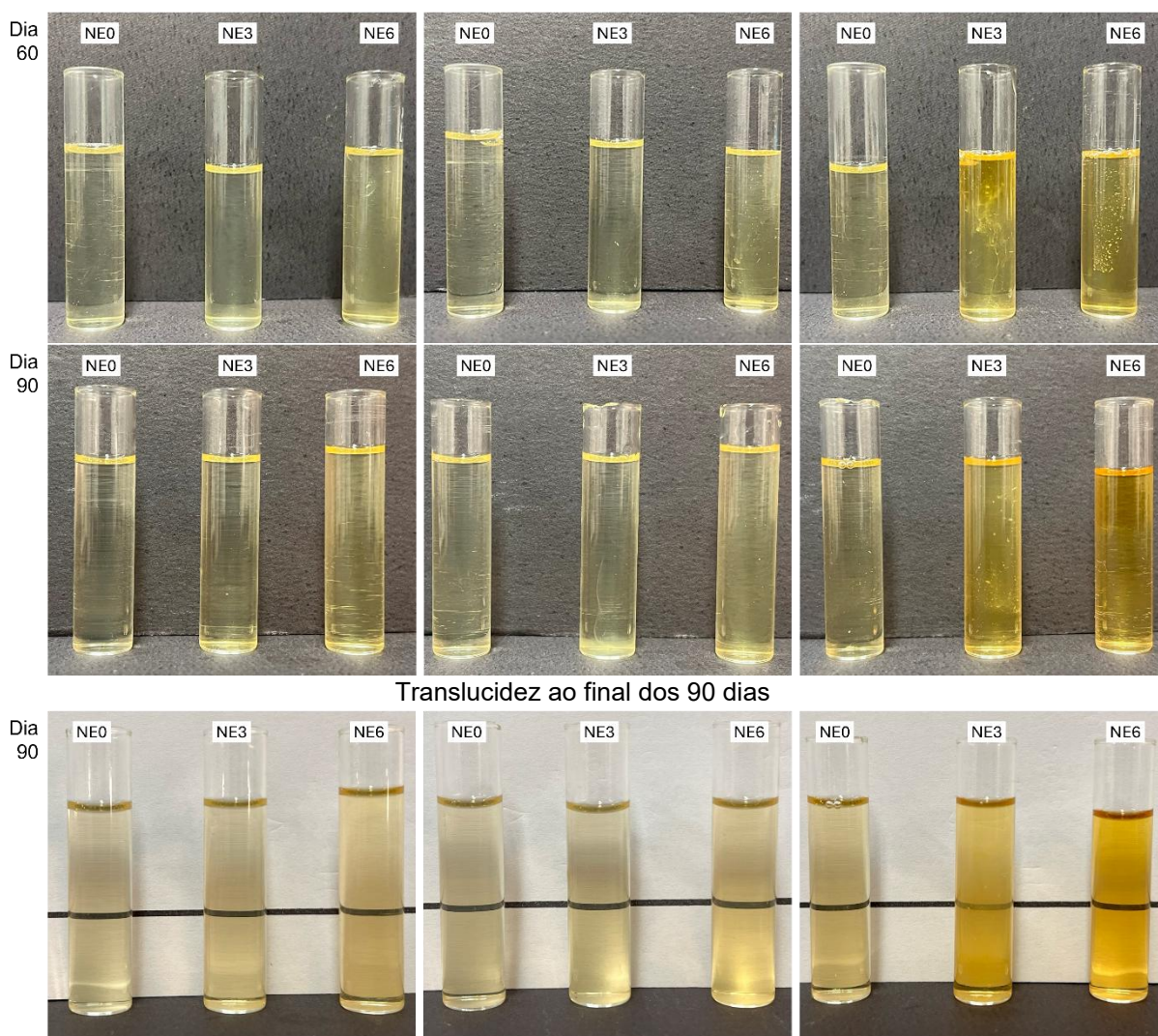


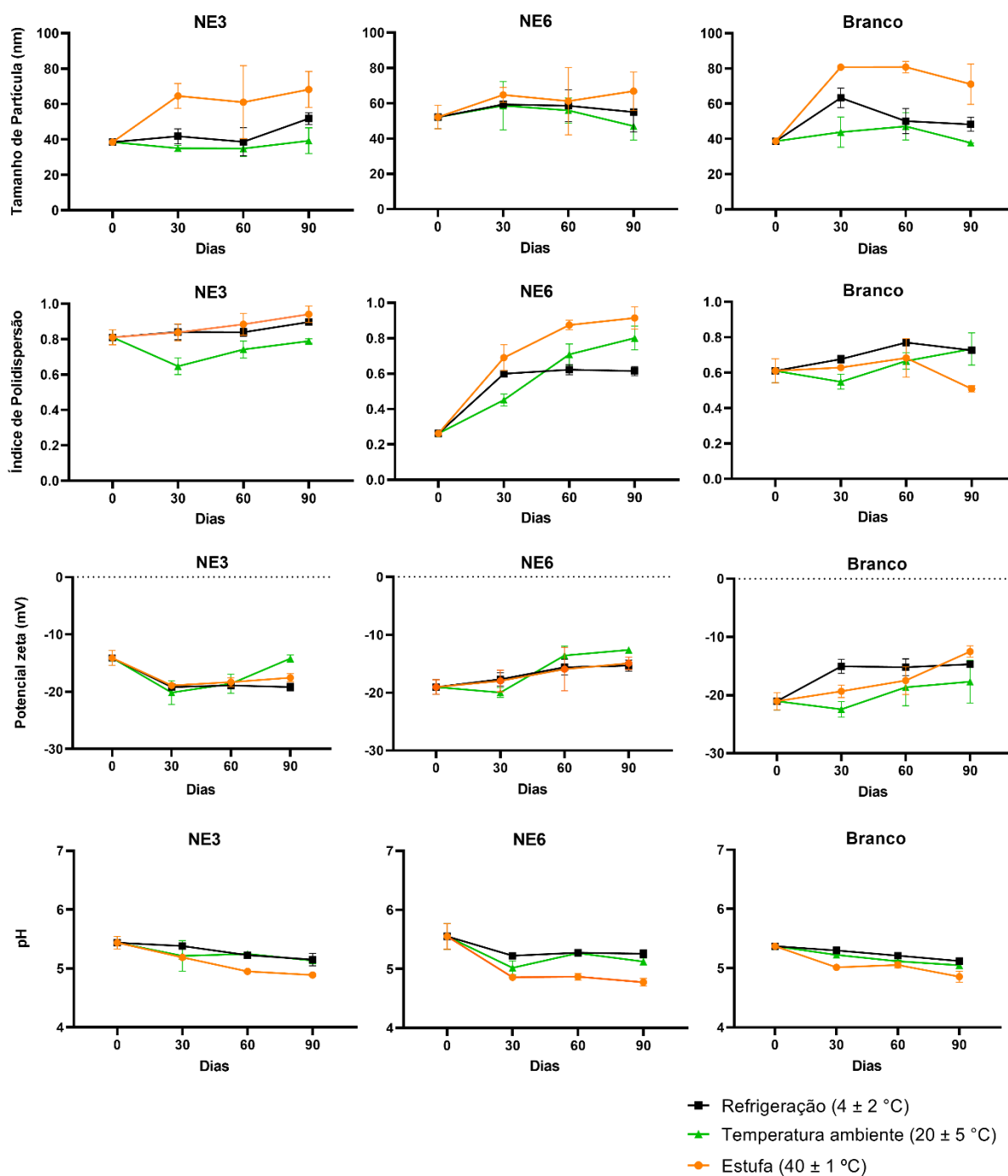
Figura 35 - (continuação).



Fonte: A autora.

A Figura 36 mostra os resultados da avaliação do tamanho de partícula, IPD, potencial zeta e pH em função do tempo durante o estudo de estabilidade.

Figura 36 - Avaliação do tamanho médio de partícula, índice de polidispersão (IPD), potencial zeta e pH das nanoemulsões NE3, NE6 e NE0 (nanoemulsão branco, sem adição de óleo essencial) durante o período de estudo de estabilidade de 90 dias em diferentes condições de armazenamento.



Fonte: A autora.

Nota: Dados expressos como média ± desvio padrão (n=3, amostras independentes).

Observa-se que o tamanho médio das partículas em todas as amostras testadas, independentemente da temperatura de armazenamento, manteve-se inferior a 100 nm, demonstrando estabilidade coloidal do sistema.

Entretanto, constatou-se um aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$) no tamanho de partícula das amostras NE3, NE6 e NE0 armazenadas em estufa, logo no início do estudo (30 dias) em comparação ao dia zero, o que pode ser atribuído à alta temperatura, que altera a viscosidade da fase contínua, aumentando a mobilidade das gotículas dispersas, favorecendo a coalescência ou amadurecimento de Ostwald (Flekka *et al.*, 2024; Singh, Kaur e Singh, 2023). Após esse aumento inicial, não houve diferença estatisticamente significativa no tamanho de partícula nos dias 60 e 90 ($p > 0,05$) em relação ao dia 30.

O amadurecimento de Ostwald (*Ostwald ripening*) é um fenômeno difusivo que leva ao aumento do tamanho das partículas ao longo do tempo devido à aderência de micelas menores na superfície de micelas maiores, causando o espessamento da formulação e eventual separação de fases. Esse processo é particularmente evidente em NEs, podendo ser considerado o principal mecanismo de desestabilização desses sistemas (Singh, Y. *et al.*, 2017).

Além disso, temperaturas altas podem comprometer a barreira estabilizante em torno das partículas, resultando na fusão parcial das gotículas, conforme também foi observado no estudo de estabilidade de NEs de OE de lavanda conduzido por Flekka e colaboradores (2024). Neste sentido, observa-se que na amostra NE6, não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) no tamanho de partícula entre as temperaturas, provavelmente devido à maior concentração de GA como material encapsulante, que conferiu maior proteção contra o estresse térmico, reforçando a barreira estérica ao redor das gotículas e reduzindo a interação entre elas, o que dificultou a ocorrência de coalescência e do amadurecimento de Ostwald.

Por outro lado, observa-se que, em refrigeração, houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) no tamanho de partícula apenas para a NE3 entre os tempos 0 e 90 dias, enquanto a NE6 não apresentou alterações significativas ($p > 0,05$) durante todo o período de armazenamento. Isto indica que, ao contrário do calor, o frio reduz a energia cinética e mobilidade das partículas, preservando seu tamanho durante o tempo em refrigeração. O armazenamento em temperatura ambiente não alterou significativamente o tamanho das partículas de nenhuma formulação ao longo do tempo.

Os valores de potencial zeta diferiram entre as amostras já no tempo zero, com valores absolutos significativamente menores ($p < 0,05$) para a NE3 ($-14,1 \pm 1,31$) em comparação a NE6 ($-19,0 \pm 1,26$) e a NE0 ($-21,1 \pm 1,48$). Logo nos primeiros 30 dias,

o potencial zeta da NE3 alterou significativamente ($p < 0,05$) em todas as condições de armazenamento, porém estabilizou nos dias de análise subsequentes. Quando submetido a baixas temperaturas, o polissorbato 80 sofre alterações em sua conformação espacial, tornando-se mais rígida, podendo até cristalizar. Essa reorganização estrutural do filme interfacial modifica a forma como o polímero encapsulante (nesse caso a GA) se acomoda ao redor da gotícula, expondo mais os grupos aniônicos, o que tende a diminuir o potencial zeta (Rosen; Kunjappu, 2012; Tadros, 2005).

Para a NE6, não houve diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) entre as condições de armazenamento em nenhum dos tempos analisados, indicando que o aumento da concentração de GA protege o polissorbato 80 das alterações estruturais promovidas pela temperatura. Isso corrobora com os dados de Sukhotu *et al.* (2016), que confirmou que as gotículas revestidas com GA apresentavam carga negativa suficiente para aumentar a repulsão eletrostática entre as partículas. Logo, sugere-se que o aumento da concentração de GA aumenta a estabilidade.

Entre os parâmetros avaliados, o IPD demonstrou maior sensibilidade às variações de temperatura. A obtenção de NEs com baixos valores de IPD é reconhecidamente desafiadora, em especial devido às limitações da análise por EDL, metodologia de avaliação utilizada. Isto inclui a necessidade de diluição da amostra, o que pode alterar o equilíbrio coloidal e modificar a organização das micelas, bem como a interpretação de pequenas gotículas ligeiramente agregadas como uma única partícula maior, aumentando o valor de IPD. Esse efeito é particularmente relevante em sistemas como as NEs, cujo tamanho reduzido das gotículas e sua elevada mobilidade tornam o IPD um parâmetro altamente sensível (Carvalho *et al.*, 2018; Danaei *et al.*, 2018).

Nesse contexto, embora o tamanho de partícula e o potencial zeta tenham se mantido relativamente estáveis, o aumento do IPD sugere maior heterogeneidade na distribuição dos tamanhos, possivelmente decorrente do surgimento de agregações de gotículas, mesmo que em baixa quantidade, durante a análise.

O pH é um parâmetro importante para avaliar tanto a estabilidade da formulação quanto sua compatibilidade com a pele, garantindo sua segurança e eficácia por uso tópico. Considera-se que o pH ideal da pele humana está na faixa de 4,5 a 6,5, assim, o equilíbrio adequado do pH da formulação minimiza a irritação,

melhora a entrega do fármaco e preserva a integridade da formulação durante o armazenamento e a aplicação (Bahloul *et al.*, 2024; Draï, 2023).

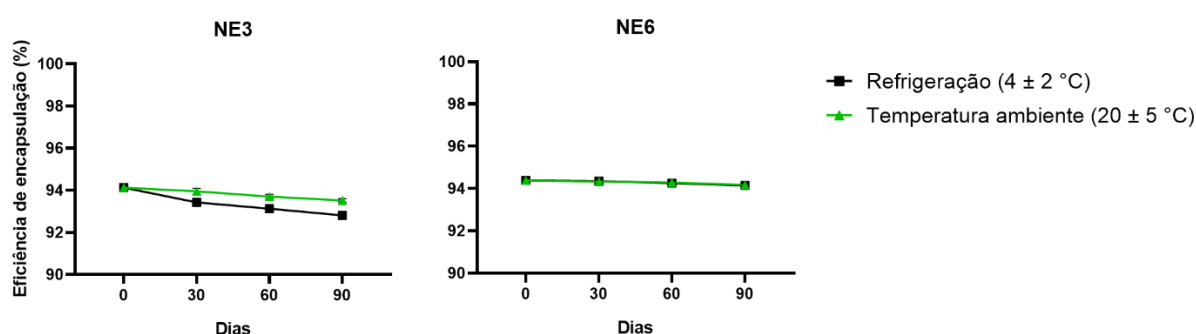
Verificou-se que o aumento da temperatura de armazenamento reduziu significativamente ($p < 0,05$) o pH das amostras contendo OECL (NE3 e NE6). Associando este resultado com as características organolépticas das formulações, pode-se sugerir que a estufa causou degradação de componentes do OECL sensíveis à temperatura, como terpenos e compostos fenólicos, levando a formação de ácidos orgânicos, como esperado para amostras como OEs (Bahloul *et al.*, 2024). Apesar desta redução, os valores de pH permaneceram dentro da faixa considerada adequada para aplicação tópica.

De modo geral, todas as amostras demonstraram melhor estabilidade em temperaturas mais baixas (temperatura ambiente e refrigeração) por períodos mais longos em comparação ao armazenamento em estufa.

5.2.3.4 Estabilidade química: eficiência de encapsulação das nanoemulsões

Diante desses resultados, foi avaliada a eficiência de encapsulação (EE%) do OECL nas NEs selecionadas (NE3 e NE6) e avaliada sua estabilidade química quando armazenadas sob refrigeração e temperatura ambiente por 90 dias (Figura 37).

Figura 37 - Avaliação da eficiência de encapsulação das nanoemulsões NE3 e NE6 durante o período de estudo de estabilidade de 90 dias em diferentes condições de armazenamento.



Fonte: A autora.

Nota: Dados expressos como média ± desvio padrão (n=3, amostras independentes).

A eficiência de encapsulação (EE%) foi determinada pelo método indireto, que consiste na quantificação do composto ativo que permaneceu livre na fase aquosa, ou seja, que não foi efetivamente encapsulado nas micelas. Para isso, foi determinado por CLUE o teor de citral livre, principal constituinte e marcador do OECL, visto que

sua quantificação permite estimar a proporção final de OECL. Considerando que o citral representa aproximadamente 65,8% do OECL (segundo relatório do fabricante, Quinari), a EE% da NE3 foi de $94,16 \pm 0,17\%$ e da NE6 foi de $94,39 \pm 0,25\%$, indicando elevada retenção do composto bioativo na formulação.

De acordo com a análise estatística, para a amostra NE6 não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as temperaturas de armazenamento, em nenhum tempo. Já para a amostra NE3, a refrigeração levou a uma diminuição estatisticamente significativa da EE% ($p < 0,05$), de 94,1% no dia 0 para 92,8% no dia 90, o que corrobora com os resultados de potencial zeta, que indicaram a ocorrência de reorganização estrutural e enrijecimento cinético do tensoativo em baixas temperaturas, resultando na desestabilização das micelas e difusão de pequenas quantidades do OECL para a fase externa.

Entre as formulações, a NE6 apresentou maior estabilidade físico-química durante, pelo menos, os 90 dias de armazenamento, tanto em temperatura ambiente quanto sob refrigeração. A maior concentração de GA foi fundamental para a estabilidade, por criar uma barreira estérica que protege o sistema emulsionado contra instabilidades interfaciais, e por aumentar a retenção do OECL nas nanopartículas, tornando esta formulação a candidata mais adequada para passar pelo nano *spray-drying*.

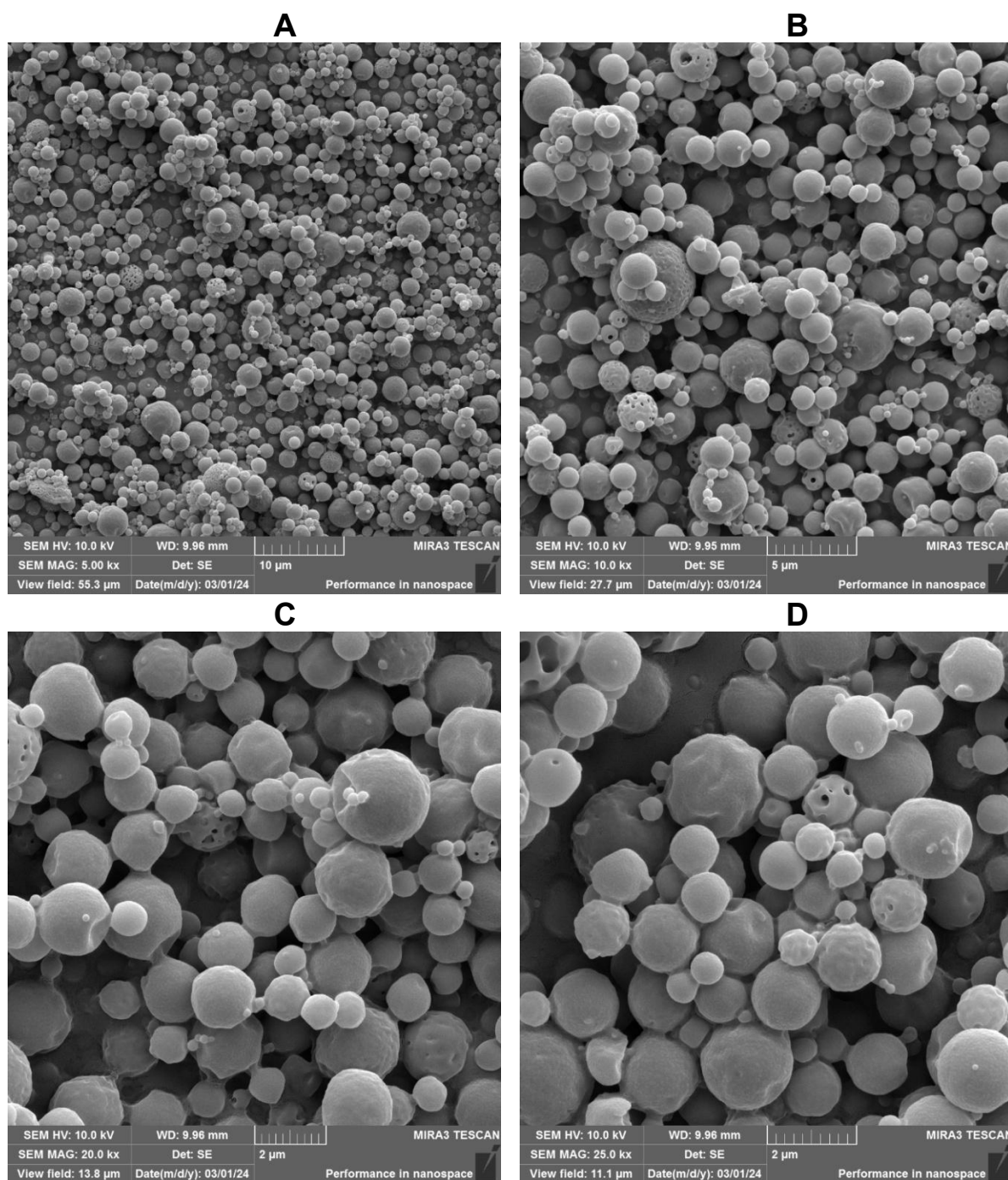
5.3 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS SÓLIDAS OBTIDAS POR NANO *SPRAY-DRYING*

Avaliando os resultados de caracterização e estudo de estabilidade das NEs, selecionou-se a amostra NE6 como formulação de alimentação do nano *spray-drying*, gerando um produto seco na forma de pó, como esperado, que seguiu para as análises de caracterização físico-químicas. O produto em pó foi denominado NPP.

5.3.1 Morfologia e Tamanho das Partículas

As micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura por efeito de campo (MEV-FEG) do pó produzido por nano *spray-drying* mostraram estruturas esféricas, com superfície lisa, sem rachaduras aparentes e com presença de poros em algumas partículas (Figura 38).

Figura 38 - Micrografia das nanopartículas poliméricas obtidas por nano *spray-drying*.



Fonte: A autora.

Notas: A = aumento 5000x, escala 10μm; B = aumento 1000x, escala 5 μm; C = aumento 20000x, escala 2 μm; D = aumento 25000x, escala 2 μm.

Essas partículas porosas são formadas devido às altas temperaturas e rápida evaporação, ou pelo excesso de material de parede na NE de alimentação em relação à quantidade de OE, levando à formação de partículas ocas (Arpagaus *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2010). Depressões foram raramente observadas na superfície, característica associada à técnica de nano *spray-drying*. Durante o resfriamento, pode ocorrer o

encolhimento das partículas, fato também observado em outros estudos, como na nanoencapsulação de OE de orégano por Plati, Papi e Paraskevopoulou (2021) e de suco de limão por Stavra *et al.* (2022).

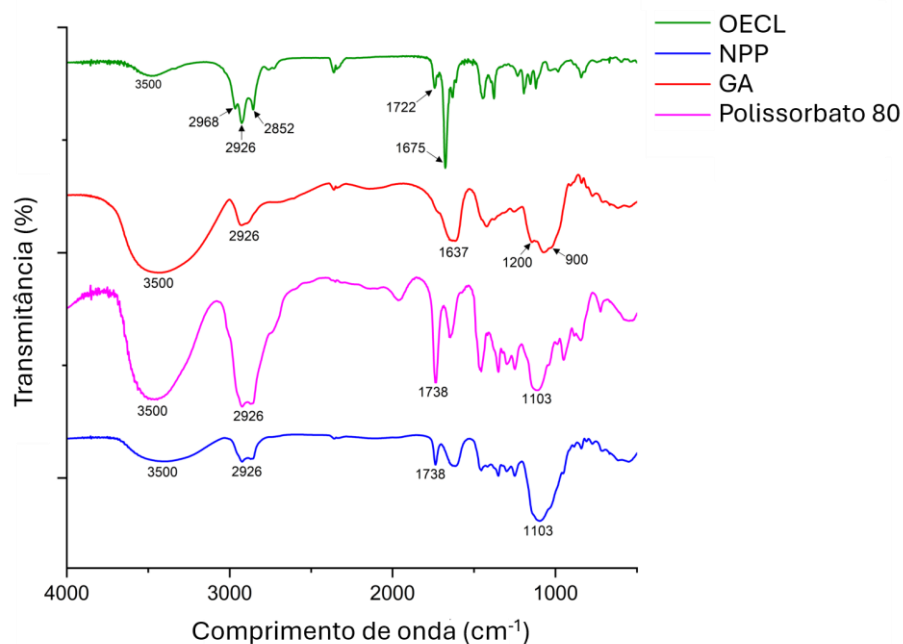
De acordo com a escala das micrografias, observa-se que foram formadas partículas de diferentes tamanhos, sendo a maioria com diâmetro inferior a 1 μm , podendo ser classificadas como nanopartículas poliméricas (NPP). Essa heterogeneidade no tamanho das partículas é uma característica típica dos produtos obtidos por *spray-drying* (Alencar *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2010).

Observam-se também algumas aglomerações, principalmente entre partículas menores aderidas à superfície de partículas maiores. No entanto, ainda é possível identificar a morfologia das NPP individuais, sugerindo que essas aglomerações foram formadas após o processo de secagem completo, provavelmente devido à presença de OECL livre na superfície da partícula ou pela retenção de umidade (Alencar *et al.*, 2022; Plati; Papi; Paraskevopoulou, 2021). Esse comportamento é comumente relatado na literatura (Hu *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2010; Plati *et al.*, 2019; Plati; Papi; Paraskevopoulou, 2021; Stavra *et al.*, 2022).

5.3.2 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A análise de FTIR foi realizada para investigar potenciais interações intermoleculares entre os componentes da formulação (Figura 39).

Figura 39 - Espectros de FTIR (número de onda x transmitância) do óleo essencial de capim-limão (OECL) livre, da goma arábica (GA), do polissorbato 80 e das nanopartículas poliméricas (NPP).



Fonte: A autora.

Todos os espectros apresentaram um pico largo semelhante em aproximadamente 3500 cm^{-1} , correspondente ao grupo hidroxila (O-H). A GA, o polissorbato 80 e as NPP exibiram um pico em 2926 cm^{-1} relacionado ao estiramento da ligação C-H, que também foi observado no espectro do OECL livre como um pico ramificado entre $2968\text{--}2852\text{ cm}^{-1}$.

O espectro do OECL livre demonstrou um pequeno pico em 1722 cm^{-1} , correspondente ao estiramento C=O de aldeídos, e uma banda intensa em 1675 cm^{-1} , indicando a presença de uma vibração de ligação C=C aromática (cis e trans), característica de monoterpenos acíclicos, como o citral (mistura dos isômeros neral e geranial) (Alsakhawy *et al.*, 2024; Martins *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2023).

No espectro do GA, foi observada uma banda de absorção em 1637 cm^{-1} atribuída à ligação de hidrogênio intra ou intermolecular. A região de impressão digital para carboidratos, que varia de $1200\text{ a }900\text{ cm}^{-1}$ (Bhushette; Annapure, 2017; Li *et al.*, 2021), também foi evidenciada. O espectro do polissorbato 80 apresentou bandas em 1738 cm^{-1} e 1103 cm^{-1} , atribuídas às vibrações de estiramento C=O e C-O assimétrico, respectivamente (Bide; Fashapoyeh; Shokrollahzadeh, 2021).

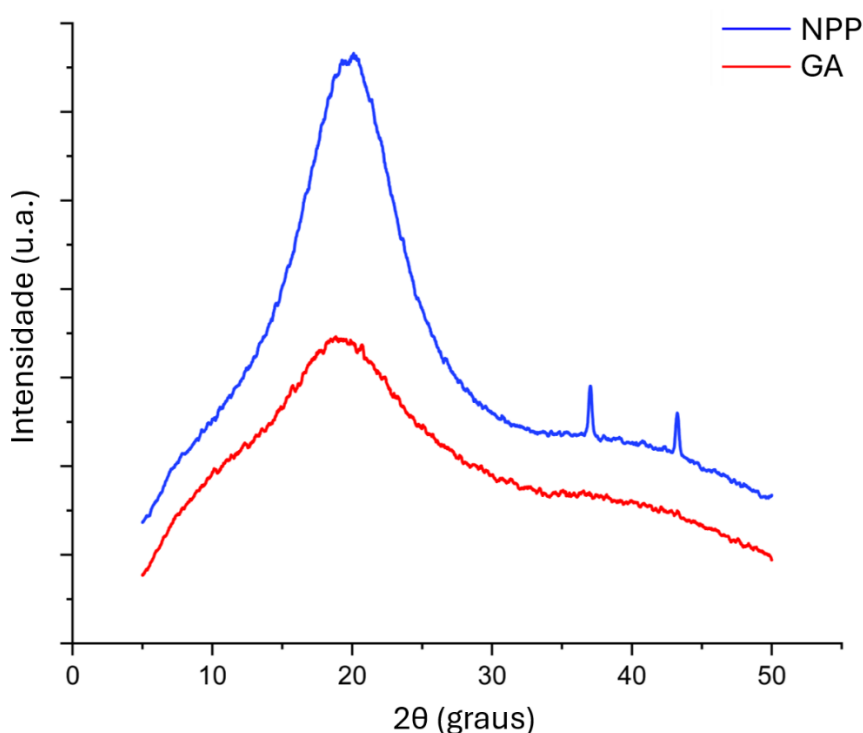
O espectro das NPP foi muito semelhante aos espectros da GA e polissorbato 80, sem formação de novas bandas ou picos, indicando que nenhuma reação química

ou interação ocorreu durante o processo de nanoencapsulação. Além disso, houve uma diminuição na intensidade ou desaparecimento dos picos do OECL no espectro das NPP, sugerindo o sucesso da encapsulação e a formação de nanocápsulas (Silva *et al.*, 2023).

5.3.3 Difração de Raios-X (DRX)

A difração de raios X foi utilizada para identificar as estruturas cristalinas ou amorfas das NPP, em comparação ao material de parede GA (Figura 40). Materiais cristalinos geralmente exibem uma série de picos nítidos e definidos, devido à sua estrutura bem ordenada, enquanto materiais amorfos produzem um pico largo, devido ao seu estado desordenado (Kang *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2023).

Figura 40 - Difratomogramas (2θ x intensidade) da goma arábica (GA) pura e das nanopartículas poliméricas (NPP).



Fonte: A autora.

O difratograma da GA apresentou um pico largo em 2θ de 18° , demonstrando sua estrutura amorfa. As NPP exibiram novos picos nítidos em 2θ de 37° e 43° , provavelmente devido à formação de um domínio semicristalino na sua estrutura. No entanto, a estrutura amorfa foi mantida após a secagem por *spray*, como evidenciado

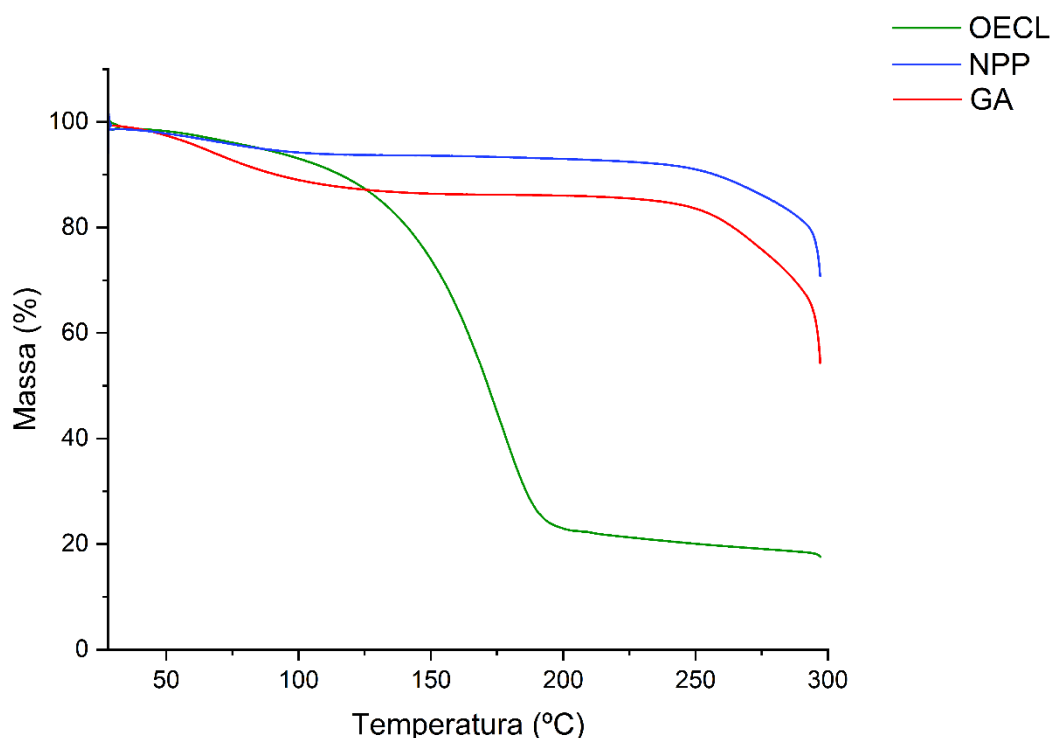
por um pico largo em 2θ de 18° relacionado à GA, indicando a encapsulação eficaz do OECL com o material de parede.

Os resultados obtidos são consistentes com estudos anteriores, que relataram estruturas amorfas em pós obtidos por *spray-drying* (Andrade *et al.*, 2018; Kang *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2023). Partículas amorfas são mais propensas a serem gerados durante a secagem de misturas complexas, como extratos vegetais, e geralmente são mais solúveis em água e estáveis, características desejáveis no caso da encapsulação de OEs (Fernandes *et al.*, 2014; Kang *et al.*, 2019).

5.3.4 Análise Termogravimétrica (TG)

As curvas termogravimétricas do OECL livre, da GA e das NPP, são apresentadas na Figura 41.

Figura 41 - Curvas termogravimétricas (temperatura x massa) do óleo essencial de capim-limão (OECL) livre, da goma arábica (GA) e das nanopartículas poliméricas (NPP).



Fonte: A autora.

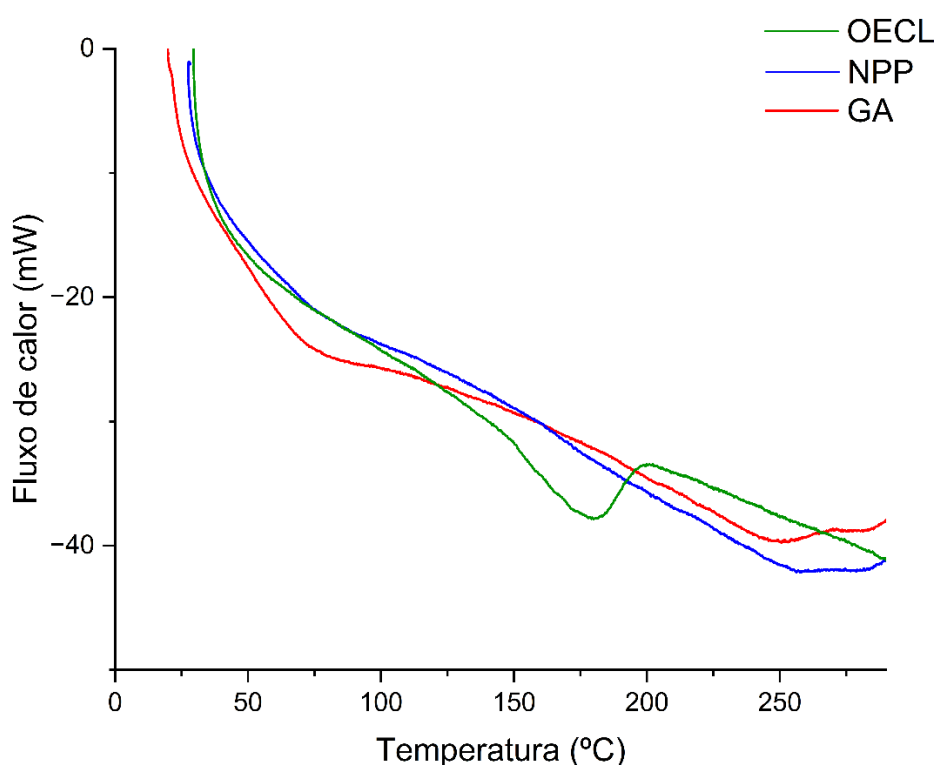
A curva TG do OECL livre mostrou uma única etapa de decomposição térmica, variando de 107°C a 195°C , com uma perda de massa de 81%, semelhante ao encontrado por Martins e colaboradores (2021). As curvas da GA e das NPP

apresentaram mais de uma etapa de decomposição. O primeiro evento pode ser relacionado com a perda de umidade (15% no GA e 11% nas NPP), e o segundo evento com a decomposição da GA, que ocorreu em aproximadamente 250 °C (Bhushette; Annapure, 2017). As NPP perderam 20% da massa em uma temperatura mais elevada (281,6 °C) comparado ao OECL livre (131,9 °C) e a GA pura (240,2 °C). Essas diferenças sugerem que a perda está predominantemente associada à água, e não ao óleo (Silva *et al.*, 2023). Portanto, é possível concluir que a nanoencapsulação do OECL utilizando a GA aumentou significativamente sua estabilidade térmica, confirmando a eficácia do processo e a escolha adequada do material de parede.

5.3.5 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Os termogramas de calorimetria diferencial de varredura (DSC) são apresentados na Figura 42.

Figura 42 – Curvas de DSC (fluxo de calor x temperatura) do óleo essencial de capim-limão (OECL) livre, da goma arábica (GA) e das nanopartículas poliméricas (NPP).



Fonte: A autora.

O OECL mostrou um evento de degradação a 180 °C, atribuído à degradação oxidativa (Martins *et al.*, 2021). A curva DSC da GA apresentou eventos a 81 °C e a

246 °C, correspondentes à perda de umidade e à decomposição térmica, respectivamente. O único evento encontrado para as NPP ocorreu em uma temperatura semelhante à observada para o GA, atribuído à perda de umidade. A degradação observada no OECL não foi observada na curva DSC das NPP, demonstrando uma maior estabilidade contra a degradação oxidativa, corroborando os resultados da análise TG.

5.3.6 Molhabilidade e Dispersibilidade

A fim de avaliar o comportamento de redispersão das NPP em água, foram realizados os testes de molhabilidade e dispersibilidade do pó. A molhabilidade corresponde ao tempo necessário para que todas as partículas sejam completamente umedecidas, sendo um parâmetro fundamental para avaliar as propriedades de dissolução, enquanto que a dispersibilidade é definida como a facilidade com que um pó se desagrega espontaneamente em partículas individuais quando em contato com um líquido (Budnimath *et al.*, 2023; Stavra *et al.*, 2022).

De modo geral, quanto menor o tempo necessário para o completo umedecimento das partículas, melhor é considerada a molhabilidade, sendo diretamente relacionada à dispersibilidade, isto é, quanto maior a molhabilidade, maior a dispersibilidade (Stavra *et al.*, 2022).

A avaliação da molhabilidade das NPP indicou que o tempo necessário para completo umedecimento das nanopartículas em meio aquoso foi $25,94 \pm 0,87$ segundos ($n=3$). Esse tempo relativamente curto sugere boa interação das nanopartículas com a água, o que está diretamente relacionado à capacidade de hidratação e, conseqüentemente, de redispersão do pó.

O resultado da molhabilidade está de acordo com a análise de dispersibilidade, na qual a massa de resíduo seco, ou seja, o resíduo de NPP que não foi disperso em água, foi de $0,0319 \pm 0,0091$ g ($n=3$). Considerando a massa inicial de 0,5 g de amostra, a dispersibilidade calculada foi de 93,62%. Esse elevado percentual pode ser atribuído as propriedades físico-químicas das NPP como o tamanho reduzido e a morfologia amorfa, evidenciada pela análise de DRX, fatores que favorecem a hidratação e a redispersão do pó. De forma geral, uma maior dispersibilidade resulta em menor formação de grumos e aglomerações no pó, garantindo sua dissolução adequada (Budnimath *et al.*, 2023). Assim, as NPP demonstraram comportamento

satisfatório quando em contato com a água, indicando uma melhora na hidrossolubilidade do OECL.

Após a redispersão do pó em meio aquoso, foi realizada a análise por EDL que mostrou um tamanho médio de partícula de $155,2 \pm 39,2$ nm e um IPD de $0,635 \pm 0,011$, confirmando a formação de NPP pelo processo de nano *spray-drying* (tamanho inferior de 200 nm). Além disso, esse resultado confirma as observações de microscopia, que evidenciaram heterogeneidade no tamanho das partículas.

5.3.7 Eficiência do Processo de Nanoencapsulação por Nano *Spray-Drying*

O primeiro parâmetro avaliado para verificar a eficiência de produção das NPP foi o rendimento do processo de nano *spray-drying* a partir da NE6, que variou entre 78,15% e 85,19%. A EE obtida foi de $46,14 \pm 0,56\%$, valor dentro do esperado para técnicas de secagem, que geralmente apresentam EE mais baixa devido à perda parcial de compostos voláteis durante o processo. Já a porcentagem de retenção do OECL, que considera tanto o OECL efetivamente encapsulado quanto aquele adsorvido na parede das NPP, ou seja, a soma da quantificação direta e indireta, foi de aproximadamente 72,16%.

Por se tratar de uma técnica de encapsulação relativamente recente, desenvolvida no final do ano de 2010, ainda há poucos estudos na literatura que determinaram a eficiência do processo de nano *spray-drying*. Mas de forma geral, o nano *spray-dryer* proporciona maior rendimento em comparação aos *spray-dryers* convencionais (Ghosh *et al.*, 2021). Apesar disso, o rendimento em escala laboratorial é geralmente baixo, podendo ser considerado satisfatório valores em torno de 50% a 70% (Li *et al.*, 2010; Silva; Beltrame; Ferrari, 2024).

Nesse contexto, os resultados obtidos no presente trabalho estão alinhados com outros estudos como de Kyriakoudi e Tsimidou (2018), que nanoencapsularam extratos de açafrão em maltodextrina, usando nano *spray-drying*, e obtiveram rendimentos de aproximadamente 71 a 87%, enquanto que Ligarda-Samanez e colaboradores (2023) alcançaram rendimentos de 66,28 a 74,28% ao nanoencapsular extratos fenólicos usando goma arábica e maltodextrina como materiais de parede.

Em relação à EE, valores semelhantes foram encontrados por Oliveira; Paula; Paula (2014), variando de 21% a 48%, ao produzir nanopartículas de alginato/goma de caju contendo óleo essencial de *Lippia sidoides*, e por Pedrozo e colaboradores (2020), cuja EE da rutina por nano *spray-drying* foi de aproximadamente 32%. A

porcentagem de retenção também apresentou concordância com os dados de Kyriakoudi e Tsimidou (2018), que demonstraram valores entre 54 e 81%, e com Ligarda-Samanez e colaboradores (2023), que encontraram valores de 68,93 a 89,26%.

5.4 ENSAIO DE PERMEAÇÃO CUTÂNEA *IN VITRO*

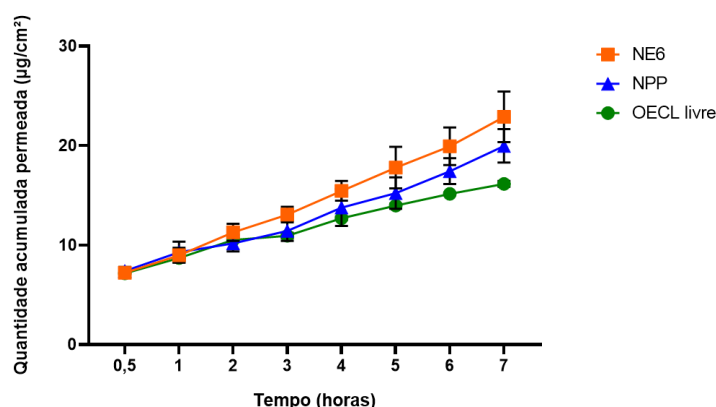
Foram realizados estudos de permeação cutânea em pele suína com o objetivo de comparar o comportamento do OECL em sua forma livre com aquele apresentado após a encapsulação, tanto na forma de NE quanto em NPP, a partir da quantificação da permeação e retenção cutânea do citral.

A quantidade acumulada de citral permeada aumentou ao longo do tempo em todas as formulações avaliadas. A análise de variância de duas vias, considerando formulação e tempo como fatores, com medidas repetidas no fator tempo, demonstrou efeito significativo do tempo ($p < 0,05$) para todas as amostras avaliadas, o que é esperado para um processo cumulativo de permeação cutânea.

Também foi observado efeito estatisticamente significativo da formulação (OECL livre, NE6 e NPP) e interação significativa entre formulação e tempo ($p < 0,05$), indicando que as formulações apresentaram comportamentos distintos de permeação ao longo do experimento.

Embora as curvas apresentassem comportamento semelhante nas primeiras horas, diferenças entre as formulações são observadas a partir de aproximadamente 2 a 3 horas de experimento, conforme observado na Figura 43. Porém, essa diferença entre as formulações (OECL livre, NE6 e NPP) não foi estatisticamente significativa nas comparações realizadas pelo pós-teste ($p > 0,05$).

Figura 43 - Perfil de permeação cutânea do citral através da pele suína, a partir do óleo essencial de capim-limão (OECL) livre e encapsulado na nanoemulsão (NE6) e nas nanopartículas poliméricas (NPP), em função do tempo.

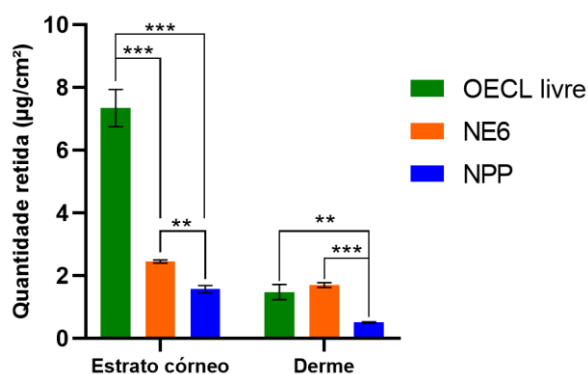


Fonte: A autora.

Nota: Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão (n=3, amostras independentes).

A avaliação da retenção cutânea (Figura 44) demonstrou comportamento distinto entre o OECL livre, a NE6 e as NPP, evidenciando que o sistema de nanoencapsulação influenciou a distribuição do ativo nas diferentes camadas da pele.

Figura 44 - Quantidade de citral retido no estrato córneo e na derme após aplicação do óleo essencial de capim-limão (OECL) livre e encapsulado na nanoemulsão (NE6) e nas nanopartículas poliméricas (NPP), na pele abdominal suína.



Fonte: A autora.

Nota: Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão (n=3, amostras independentes). ANOVA de duas vias seguido de teste de Tukey. Legenda: * significa $p < 0,05$, ** significa $p < 0,01$ e *** significa $p < 0,001$.

No estrato córneo, o OECL livre apresentou a maior quantidade retida, aproximadamente $7,3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, sendo significativamente superior ($p < 0,001$) à observada para a NE ($\sim 2,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) e para as NPP ($\sim 1,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$). A NE também apresentou retenção significativamente maior que as NPP ($p < 0,01$).

Os terpenos e terpenoides têm despertado interesse significativo como promotores de permeação cutânea (Lasoń, 2020). Os óleos essenciais ricos em terpenoides, como o OECL, facilitam a interação com as camadas lipídicas do estrato córneo, apresentando maior retenção nessa região (Silva *et al.*, 2026). Já a incorporação do OECL em uma nanoemulsão e, principalmente, em nanopartículas pode modificar a liberação e interação do citral com a superfície cutânea. Dessa forma, a encapsulação pode ter reduzido a disponibilidade imediata do citral para retenção no estrato córneo, promovendo uma liberação mais gradual do composto.

Entretanto, na derme, a quantidade retida após aplicação da NE ($\sim 1,7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) não diferiu significativamente ($p > 0,05$) daquela observada para o OECL livre ($\sim 1,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$). Por outro lado, as NPP apresentaram retenção significativamente menor ($\sim 0,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) em comparação tanto ao OECL livre ($p < 0,01$) quanto à NE ($p < 0,001$). Portanto, embora a NE tenha reduzido a retenção no estrato córneo, essa redução não foi acompanhada por uma diminuição significativa da quantidade retida na derme em relação ao OECL livre.

Esse resultado é particularmente relevante para a proposta de aplicação tópica, pois sugere que a NE promoveu uma alteração no perfil de distribuição cutânea do OECL, com menor acúmulo superficial e manutenção da quantidade retida na derme. Assim, a nanoemulsificação parece ter modificado a interação do OECL com a barreira cutânea, favorecendo sua disponibilidade nas camadas mais profundas da pele.

Em contrapartida, as NPP apresentaram as menores quantidades retidas tanto no estrato córneo quanto na derme. Esse resultado pode estar associado à liberação mais controlada do OECL a partir da matriz de GA, reduzindo a quantidade de citral imediatamente disponível para interação com a pele.

5.5 ANÁLISES *IN VITRO*

5.5.1 Atividade Antioxidante

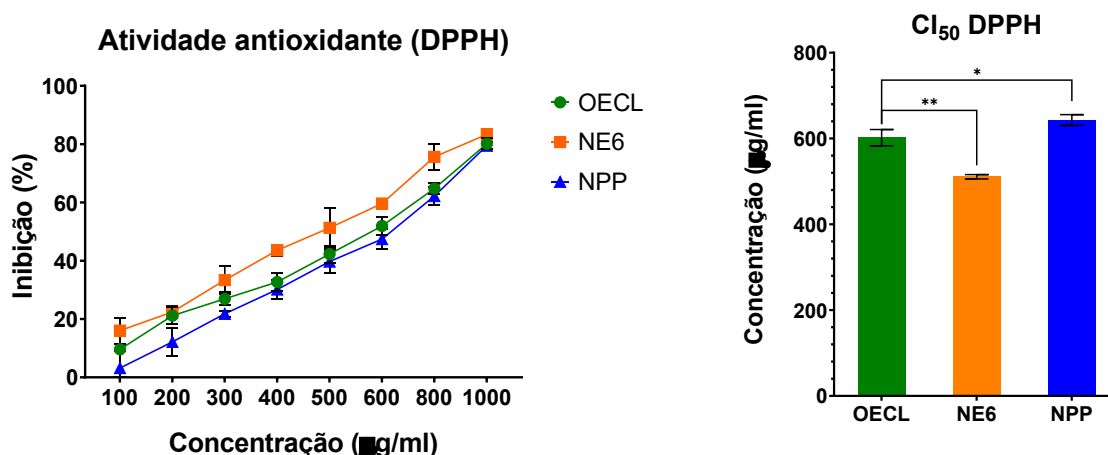
A regeneração da pele após uma queimadura é um processo complexo que envolve várias fases, incluindo inflamação, reepitelização, granulação e neovascularização. Esse processo é mediado por diversas substâncias bioquímicas, como antioxidantes, citocinas e biomarcadores (Al-Samydai *et al.*, 2023; Siddique *et al.*, 2023). Muitos ativos vegetais, incluindo os terpenoides que compõem os OEs,

além de alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, ácidos graxos e compostos fenólicos, apresentam a capacidade de estimular o processo de regeneração cutânea pós-queimaduras devido às suas propriedades antioxidantes, atuando como agente redutor e sequestrador de EROs, prevenindo o processo oxidativo que causa danos aos tecidos (Al-Samydai *et al.*, 2023).

No caso de queimaduras solares em particular, a intensa exposição à radiação UVA causa foto-oxidação da melanina e induz outros processos oxidativos que danificam o DNA, proteínas e lipídios, além de exercer efeito imunossupressor (Balkrishna *et al.*, 2023). Sendo assim, a avaliação da atividade antioxidante do OECL torna-se fundamental para verificar seu potencial como agente protetor e regenerador cutâneo em formulações pós-sol.

Conforme mostra a Figura 45, a atividade antioxidante do OECL, da NE e das NPP aumentou de forma dependente da concentração quando avaliada pelo método do DPPH[•], atingindo valores próximos a 80% de inibição na maior concentração avaliada (1000 µg/mL) para todas as amostras. A NE apresentou a maior capacidade antioxidante entre as amostras em todas as concentrações, com CI_{50} de $510,92 \pm 5,04$ µg/mL. As NPP, por sua vez, exibiram o maior valor de CI_{50} ($643,18 \pm 12,56$ µg/mL), indicando atividade antioxidante significativamente menor que o OECL livre (CI_{50} de $610,97 \pm 19,14$ µg/mL).

Figura 45 - Atividade antioxidante expressa em porcentagem inibição do radical DPPH[•] para o óleo essencial de capim-limão (OECL) livre, nanoemulsão (NE6) e nanopartículas poliméricas (NPP) em diferentes concentrações, com os valores de CI_{50} calculados a partir das curvas de cada amostra.

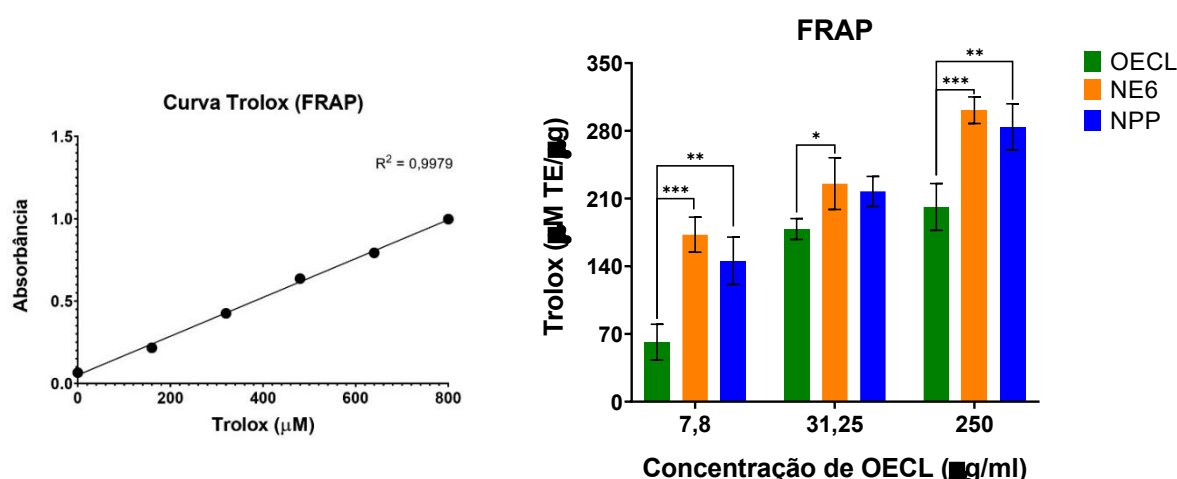


Fonte: A autora.

Nota: Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão ($n=3$, amostras independentes). ANOVA de duas vias seguido de teste de Tukey. Legenda: * significa $p < 0,05$ e ** significa $p < 0,01$, comparado ao óleo essencial de capim-limão livre.

Para avaliação da atividade antioxidante pelo método FRAP, utilizou-se o Trolox como padrão antioxidante, uma substância capaz de retardar a oxidação através da doação de elétrons. A Figura 46 apresenta a curva padrão do Trolox e os resultados do ensaio FRAP com as amostras, que mostram maior atividade antioxidante para a NE em todas as concentrações testadas, significativamente superior ao OECL livre, condizente com os resultados obtidos pelo ensaio DPPH*. Entretanto, o resultado das NPP diferiu entre os métodos. Por FRAP, as NPP mostraram atividade antioxidante superior ao OECL, exceto na concentração intermediária equivalente a 31,25 µg/mL de OECL, na qual não houve diferença significativa entre essas amostras.

Figura 46 - Atividade antioxidante determinada pelo método FRAP, expressa em µM equivalentes de Trolox por µg de óleo essencial de capim-limão (OECL) na forma livre e nanoencapsulado em nanoemulsão (NE6) e nanopartículas poliméricas (NPP), em diferentes concentrações.



Fonte: A autora.

Nota: Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão ($n=3$, amostras independentes). ANOVA de duas vias seguido de teste de Tukey. Legenda: * significa $p < 0,05$, ** significa $p < 0,01$ e *** significa $p < 0,001$, comparado ao óleo essencial de capim-limão livre.

As propriedades antioxidantes do OECL já foram relatadas em diversos estudos, sendo atribuídas principalmente à ação sinérgica de seus componentes monoterpenóides, como citral, mirceno e eugenol, e compostos fenólicos, que possuem capacidade sequestrantes de EROs (Adhikary *et al.*, 2024; Alencar *et al.*, 2022; Faheem *et al.*, 2022).

Observa-se neste estudo que a NE6 aumentou significativamente a atividade antioxidante do OECL em ambos os métodos avaliados. Resultados semelhantes foram relatados para NEs contendo OE de Limão (Liu, Ting *et al.*, 2022), de cravo (Rui

et al., 2024) e de hortelã (Zamaniahari *et al.*, 2022). Esse efeito pode ser atribuído à redução no tamanho das gotículas de OE para a escala nanométrica durante a formação da NE, o que aumenta a área superficial, favorecendo a captura eficiente e rápida dos radicais. Além disso, a NE aumenta a solubilidade do OE em água e sua estabilidade físico-química, preservando os compostos bioativos (Magri *et al.*, 2025; Rui *et al.*, 2024; Zamaniahari *et al.*, 2022).

Por outro lado, a aplicação da técnica de nano *spray-drying* resultou na redução da capacidade antioxidante do OECL, quando comparado a NE. No ensaio DPPH[•], as NPP apresentaram atividade antioxidante inferior inclusive ao OECL livre. A maior atividade do OECL frente ao DPPH[•], em relação às NPP, pode ser explicada pelo princípio do método e pelas características da amostra, uma vez que o ensaio DPPH[•] avalia a capacidade de captação de radicais e é mais frequentemente aplicado a substâncias solúveis em solventes orgânicos (Polez *et al.*, 2023). Assim, o OECL livre apresenta maior disponibilidade imediata de seus compostos ativos, como o citral, para interagir e capturar o radical DPPH[•], enquanto as NPP podem criar uma barreira física que limita essa interação direta. No entanto, a nanoencapsulação torna o OECL mais solúvel em água, facilitando sua dispersibilidade em meio aquoso, além de possibilitar uma liberação controlada, o que justifica o desempenho superior das NPP em relação ao OECL livre no ensaio FRAP (Magri *et al.*, 2025).

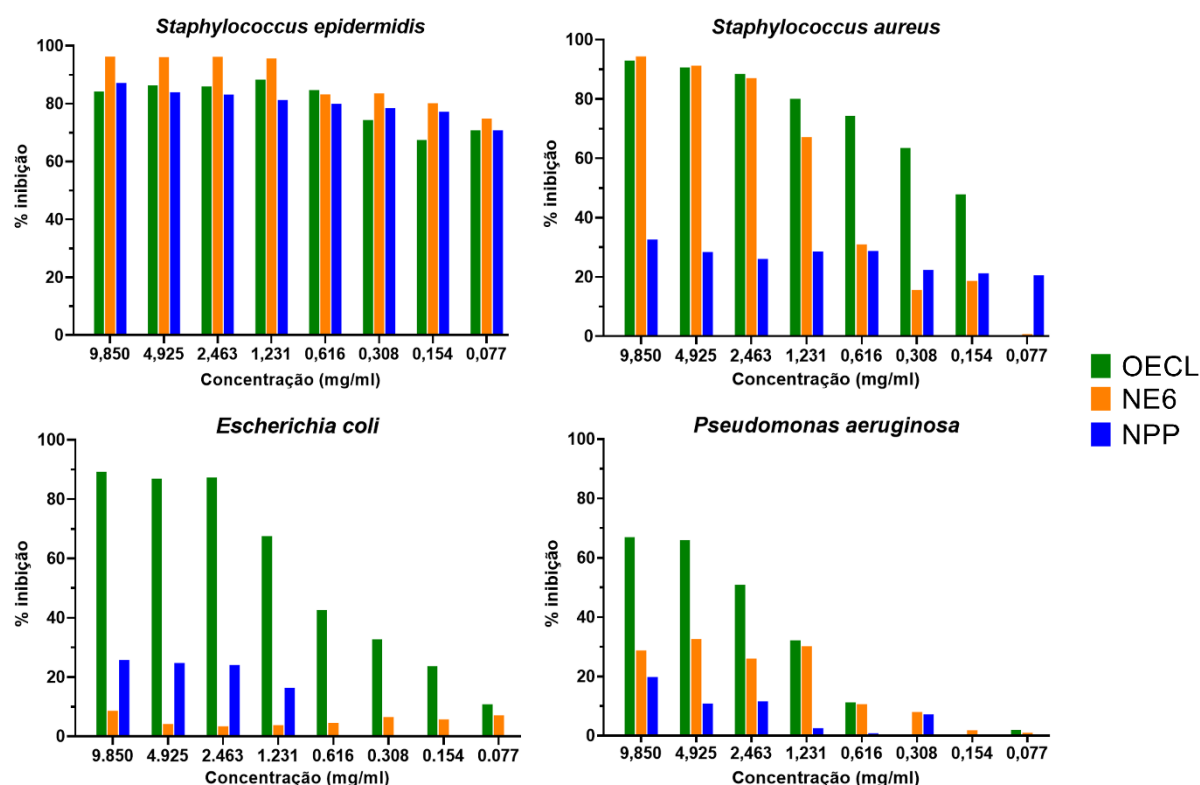
De forma semelhante, Alencar e colaboradores (2022) observaram redução da atividade antioxidante do OECL após a microencapsulação por *spray-drying*, atribuindo este efeito à temperatura de secagem, que causa perda de compostos voláteis e oxidação de compostos fenólicos, importantes para manutenção da atividade antioxidante. Entretanto, no presente estudo, a redução da atividade antioxidante das NPP foi menos pronunciada, diminuindo a CI₅₀ em apenas 6,84% em comparação ao OECL livre. Esse resultado se aproxima dos achados de Melo e colaboradores (2022), que também utilizaram GA como material encapsulante do OECL, sugerindo que a afinidade e compatibilidade entre os compostos bioativos do OECL e a GA conferem um efeito termoprotetor, minimizando as perdas durante o processo de *spray-drying* (Melo *et al.*, 2022; Silva *et al.*, 2023).

5.5.2 Atividade Antimicrobiana

A atividade antibacteriana do OECL livre, da NE6 e das NPP foi avaliada utilizando o ensaio de microdiluição em caldo contra *Staphylococcus epidermidis*,

Staphylococcus aureus, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (Figura 47). A principal razão para a seleção dessas cepas é que esses microrganismos são exigidos nos testes de controle de qualidade de cosméticos e, além disso, estão entre os mais comuns encontrados nesses produtos (Liu, Huimin *et al.*, 2023).

Figura 47 - Efeito inibitório do OECL (OECL) livre, nanoemulsão (NE6) e nanopartículas poliméricas (NPP) sobre cepas bacterianas em diferentes concentrações.



Fonte: A autora.

Nota: Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão (n=6, amostras independentes).

Os resultados revelaram que tanto o OECL livre quanto nanoencapsulado possui maior atividade contra bactérias Gram-positivas, corroborando com os dados da literatura (Alsakhawy *et al.*, 2024; Ashaq *et al.*, 2024). A cepa bacteriana mais sensível foi a *S. epidermidis*, alcançando 90% de inibição na maior concentração testada (9,85 mg/mL) para todas as amostras, sem diferença estatística ($p > 0,05$) entre o OECL e as NPP. Porém, a NE foi significativamente mais efetiva ($p < 0,05$), inibindo 90% do crescimento a uma concentração de 1,231 mg/mL.

Entretanto, o OECL livre apresentou atividade antimicrobiana significativamente superior ($p < 0,05$) contra *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*, quando comparado à sua forma nanoencapsulada (NPP). Por outro lado, não houve diferença

significativa ($p > 0,05$) entre a NE e o OECL para a *S. aureus* e *P. aeruginosa*, sugerindo que a nanoencapsulação do OECL na forma de NE manteve parcialmente a bioatividade.

O potencial antibacteriano do OECL é amplamente atribuído ao citral, seu principal constituinte, que já foi relatado como capaz de desestabilizar a fluidez da membrana em bactérias. Além disso, sua característica lipofílica facilita a interação tanto com a parede celular de bactérias Gram-positivas, composta por peptidoglicano, quanto com os lipopolissacarídeos da membrana externa de bactérias Gram-negativas (Alsakhawy *et al.*, 2024; Tang *et al.*, 2024).

Considerando que as NPP aumentam a hidrossolubilidade do OECL, esta característica pode reduzir sua afinidade pela membrana das células bacterianas, resultando em menor atividade inibitória. Achados semelhantes foram relatados em estudos anteriores como de Soltanzadeh e colaboradores (2021), cuja encapsulação do OE de outra espécie de capim-limão, *Cymbopogon commutatus*, utilizando o polímero quitosana como material de parede, resultou em atividade antimicrobiana significativamente menor em comparação ao OE livre contra diversas cepas, incluindo *S. aureus* e *E. coli*. Melo e colaboradores (2022) também relatou uma redução no efeito inibitório do OECL contra *S. aureus* e *E. coli* após microencapsulação por *spray-drying* empregando GA e maltodextrina como materiais de parede.

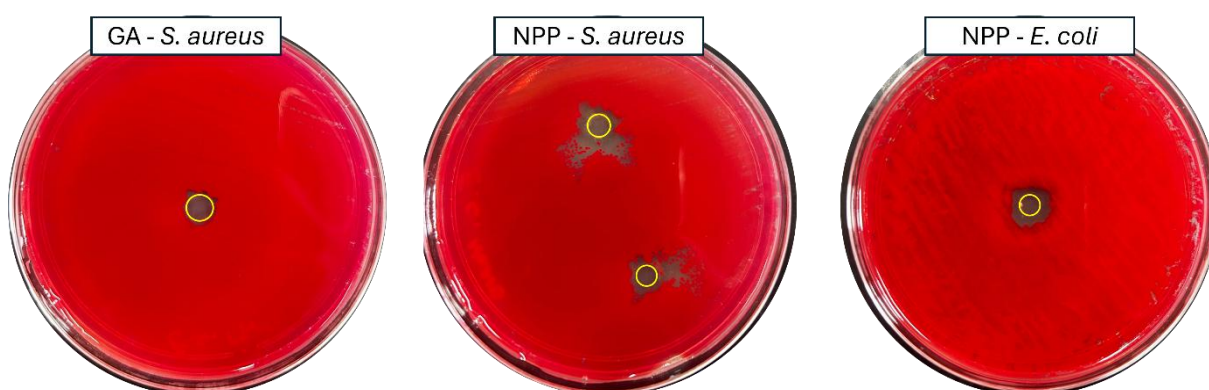
De acordo com Melo e colaboradores (2022), o material de parede das partículas pode ser responsável por essa redução na atividade antimicrobiana. Embora a GA seja amplamente utilizada para encapsulação por *spray-drying* devido à suas propriedades tecnológicas favoráveis, como solubilidade em água, baixa viscosidade, capacidade emulsificante e alta retenção de ativos voláteis, ela pode atuar como uma barreira física, controlando a liberação de compostos bioativos (Melo *et al.*, 2022; Hasani; Hasani, 2018). Assim, a liberação controlada promovida pela GA provavelmente reduziu o tempo de exposição dos microrganismos ao OECL, permitindo o crescimento bacteriano nas primeiras horas de incubação, antes da liberação de uma concentração suficiente para se ter um efeito antimicrobiano.

A atividade antibacteriana das NPP também foi avaliada pelo método de difusão em ágar (Figura 48). Ainda, avaliou-se a GA isoladamente como controle, a fim de confirmar que os efeitos observados eram atribuídos ao OECL e não ao material de revestimento. O critério para determinar o efeito bacteriostático por meio desse método se baseia no diâmetro da zona de inibição. Para valores entre 7 e 9 mm

considera-se baixa sensibilidade; entre 10 e 15 mm, sensibilidade moderada; e entre 15 e 20 mm, alta sensibilidade (Tang *et al.*, 2024).

Os resultados experimentais mostraram que a GA não possui efeito antibacteriano, enquanto as NPP com concentração de 10 mg de OECL apresentaram halo de inibição de 11 ± 1 mm para *S. aureus* e 8 ± 1 mm para *E. coli*, confirmando os resultados do método de microdiluição em caldo, em que houve maior efetividade contra bactérias gram-positivas.

Figura 48 – Avaliação da atividade antimicrobiana das nanopartículas poliméricas (NPP) e da goma arábica (GA) contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, pelo método da zona de inibição.



Fonte: A autora.

Embora o OECL livre tenha apresentado atividade antimicrobiana superior às formulações nanoencapsuladas, esse efeito foi mais evidente frente às bactérias Gram-positivas, enquanto a atividade contra as cepas Gram-negativas foi limitada. Esse resultado é particularmente relevante para a aplicação tópica proposta, considerando a importância de bactérias Gram-positivas, especialmente do gênero *Staphylococcus*, nas infecções bacterianas da pele.

A menor atividade observada para as formulações nanoencapsuladas pode estar relacionada à incorporação do OECL na matriz polimérica, que pode reduzir sua disponibilidade imediata no meio por promover uma liberação mais gradual dos compostos bioativos. Dessa forma, os resultados demonstram que a nanoencapsulação reduziu a atividade antimicrobiana do OECL. Entretanto, a atividade mantida frente às bactérias Gram-positivas, associada às vantagens da nanoencapsulação quanto à estabilidade e à possibilidade de liberação controlada dos compostos voláteis, reforça o potencial das formulações desenvolvidas para aplicações tópicas.

5.5.3 Ensaio de Inibição da Desnaturação Proteica

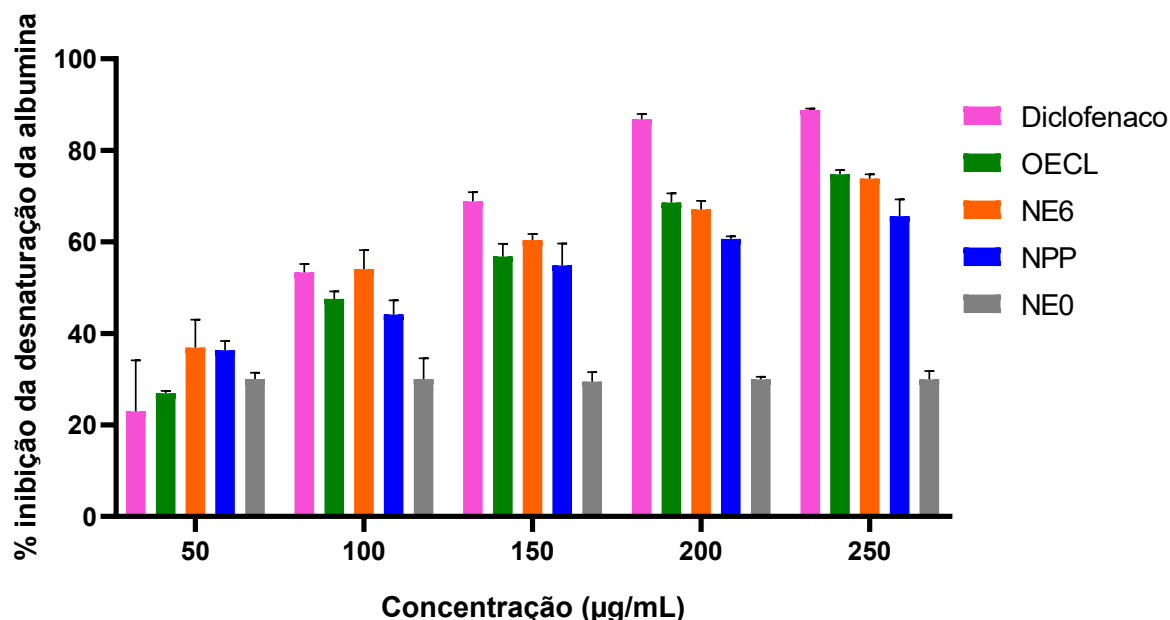
Segundo Mba *et al.* (2022), proteínas podem sofrer desnaturação quando submetidas a estresses externos, como o calor, com perda de suas estruturas secundária e terciária. Estudos anteriores demonstraram que diferentes anti-inflamatórios não esteroidais são capazes de prevenir a desnaturação de proteínas submetidas ao estresse térmico, exercendo efeito protetor sobre proteínas celulares (Gogoi *et al.*, 2020).

Antes da descoberta do mecanismo de inibição da síntese de prostaglandinas endógenas, a proteção contra a desnaturação proteica era considerada o principal mecanismo de ação proposto para esses anti-inflamatórios (Fayoumi *et al.*, 2022). Portanto, a capacidade de inibir a desnaturação proteica tem sido empregada como evidência de propriedades estabilizadoras de proteínas e como modelo de triagem para avaliação do potencial anti-inflamatório.

Estudos realizados com *Cymbopogon khasianus* Hack. (Gogoi *et al.*, 2020), *Lavandula stoechas* L. (Boukhatem *et al.*, 2020), *Serevenia buxifolia* (Bui *et al.*, 2023), *Drypetes gossweileri*, *Pentadiplandra brazzeana*, *Allium cepa* e *Allium sativum* (Bui *et al.*, 2023), *Trachyspermum ammi* L. (Dutta *et al.*, 2021) e de gerânio-rosa (um híbrido derivado de *Pelargonium graveolens* L'Hér., *P. radens* H.E. Moore e *P. capitatum* (L.) L'Hér (Fayoumi *et al.*, 2022), demonstraram capacidade de inibição da desnaturação proteica, sugerindo o potencial anti-inflamatório desses óleos essenciais.

Sendo assim, o OECL livre e as amostras NE6 e NPP foram testadas em diferentes concentrações expressas em quantidade equivalente de OECL e os resultados foram comparados ao diclofenaco sódico, um anti-inflamatório não esteroidal utilizado como controle positivo, e a NE0 usada como controle da formulação (Figura 49).

Figura 49 - Efeito do óleo essencial de capim-limão (OECL) livre, da nanoemulsão (NE6) e das nanopartículas poliméricas (NPP) sobre a desnaturação térmica da albumina sérica bovina, em comparação ao diclofenaco como controle positivo e da NE0 (nanoemulsão branco, sem adição de óleo essencial) como controle da formulação.



Fonte: A autora

Nota: Dados expressos como média ± desvio padrão (n=3, amostras independentes). ANOVA de duas vias seguido de teste de Tukey.

De modo geral, observou-se um aumento da porcentagem de inibição da desnaturação proteica de forma dependente da concentração para todas as amostras testadas, exceto para a NE0. Para o OECL livre, a inibição aumentou de $26,91 \pm 0,52\%$ em 50 µg/mL para $74,74 \pm 0,96\%$ em 250 µg/mL. De maneira semelhante, a NE apresentou aumento de $36,88 \pm 6,13\%$ para $73,81 \pm 0,97\%$, enquanto a NPP apresentou valores de $36,33 \pm 1,98\%$ e $65,61 \pm 3,64\%$ nas mesmas concentrações. Esse comportamento sugere que o aumento da quantidade de OECL oferece maior capacidade de inibição da desnaturação proteica. Este efeito dose-dependente também foi observado por Ndoye Foe *et al.* (2016) e por Boukhatem *et al.* (2020).

Na menor concentração avaliada (50 µg/mL), o OECL livre, a NE e as NPP apresentaram percentuais de inibição semelhantes ao diclofenaco sódico (controle positivo), sugerindo possível atividade inibitória da desnaturação proteica mesmo em baixas concentrações. Em 100 µg/mL, o diclofenaco, o OECL livre e a NE apresentaram valores de inibição da desnaturação significativamente superior aos observados para a NE0 e em 150 µg/mL todas as amostras superaram a NE0.

À medida que a concentração aumentou, o diclofenaco passou a apresentar os maiores percentuais de inibição, atingindo $86,82 \pm 1,09\%$ e $88,85 \pm 0,26\%$ nas concentrações de 200 e 250 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, valores superiores aos observados para as demais amostras nessas mesmas concentrações.

Entre as formulações, a NE e as NPP não diferem estatisticamente entre si em nenhuma concentração testada. A NE e OECL livre apresentaram perfis de inibição bastante semelhantes ao longo de toda a faixa de concentração testada, enquanto as NPP apresentaram valores discretamente inferiores a partir de 100 $\mu\text{g/mL}$, sugerindo uma possível influência do processo de nanoencapsulação sobre a disponibilidade do ativo para interação com a proteína no meio reacional.

Enquanto que na NE o OECL encontra-se disperso em uma fase aquosa, nas NPP o OECL está associado à matriz de goma arábica, podendo apresentar menor disponibilidade imediata para interação com a albumina. Por outro lado, essa característica pode ser favorável a sistemas destinados à aplicação tópica, em que a liberação gradual dos compostos encapsulados pode contribuir para a manutenção do efeito no local de aplicação.

Por sua vez, a NE0, sem OECL, usado como controle da formulação, manteve-se estável em torno de 30% de inibição em todas as concentrações testadas, sugerindo que existe uma contribuição do sistema/veículo para o valor observado, porém sem ser concentração-dependente. Ainda assim, o fato de a NE e as NPP terem apresentado percentuais de inibição superiores aos da NE0 em todas as concentrações testadas reforça a contribuição efetiva do OECL para a inibição da desnaturação proteica observada nas formulações.

De forma conjunta, os resultados indicam que o OECL apresenta potencial para interferir na desnaturação proteica e que esse efeito é mantido após sua incorporação à nanoemulsão e às nanopartículas, fato também observado para os demais testes realizados neste estudo.

5.5.4 Atividade sobre a Viabilidade de Fibroblastos

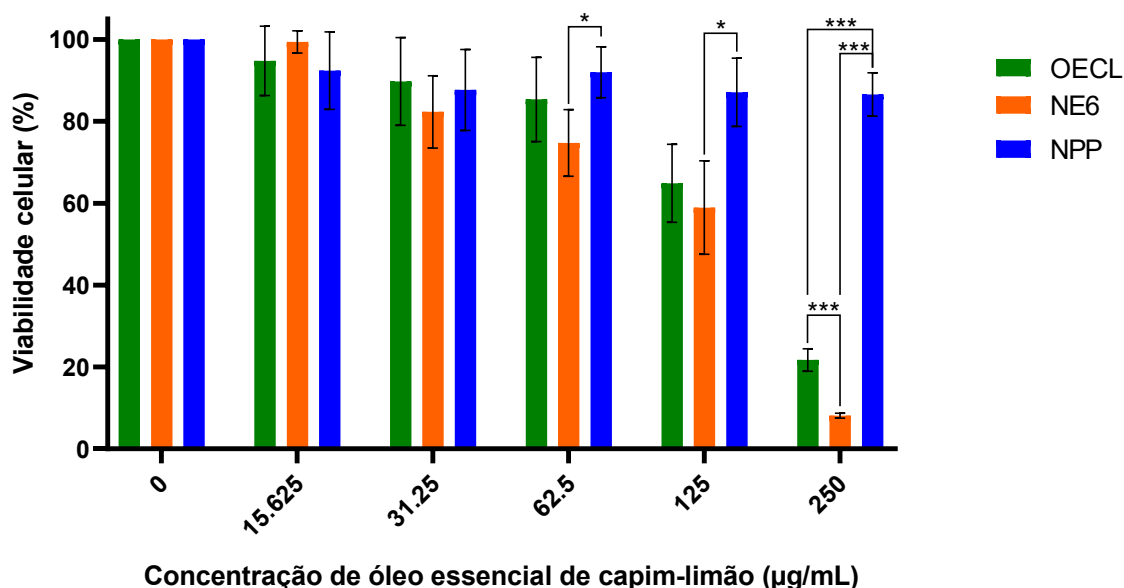
A avaliação da citotoxicidade é uma etapa fundamental na caracterização de produtos destinados à aplicação tópica. Os óleos essenciais, mesmo sendo de origem natural e com propriedades bioativas, podem apresentar efeitos citotóxicos dependendo da concentração e do tipo celular avaliado. Nesse contexto, o ensaio de MTT em fibroblastos 3T3-Swiss albino é amplamente empregado como modelo *in vitro*

para triagem de segurança de compostos com potencial uso dermocosmético, por se tratar de um método sensível, reprodutível e que utiliza células representativas do tecido cutâneo.

Considerando que estudos prévios já demonstraram a ausência de irritação cutânea associada ao OECL (Lulekal *et al.*, 2019; Gandhi *et al.*, 2019; Api *et al.*, 2020), avaliou-se, neste trabalho, se esse perfil de segurança se mantém após a incorporação do óleo à nanoemulsão e às nanopartículas poliméricas, bem como se o processo de nanoencapsulação é capaz de modular a resposta citotóxica frente aos fibroblastos.

A viabilidade de fibroblastos 3T3-Swiss albino foi avaliada pelo ensaio de MTT após exposição ao OECL livre, à NE e às NPP, em concentrações de 15,625 a 250 µg/mL de OECL equivalente. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 50.

Figura 50 - Viabilidade celular de fibroblastos 3T3-Swiss avaliada pelo ensaio de MTT após exposição ao óleo essencial de capim-limão (OECL) livre, à nanoemulsão (NE6) e às nanopartículas poliméricas (NPP) em diferentes concentrações.



Fonte: A autora.

Notas: Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão (n=6, amostras independentes). ANOVA de duas vias seguido de teste de Tukey. Legenda: * significa $p < 0,05$, ** significa $p < 0,01$ e *** significa $p < 0,001$.

Nas concentrações de 15,625 e 31,25 µg/mL, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as formulações ($p > 0,05$), e todas as amostras mantiveram viabilidade celular superior a 80%, indicando ausência de citotoxicidade

relevante nessa faixa de concentração. Em 62,5 µg/mL e 125 µg/mL, as NPP passaram a apresentar viabilidade celular significativamente superior à NE ($p < 0,05$), sem diferença estatística em relação ao OECL livre.

Na maior concentração testada (250 µg/mL), todas as formulações diferiram significativamente entre si ($p < 0,001$). As NPP apresentaram a maior viabilidade celular, de aproximadamente 87%, enquanto o OECL livre reduziu a viabilidade para cerca de 22%. A NE apresentou a menor viabilidade entre as formulações avaliadas, próxima a 8%, sendo significativamente inferior inclusive à observada para o OECL livre.

De modo geral, observou-se um comportamento dose-dependente de redução da viabilidade celular para as três amostras avaliadas. Esse comportamento pode estar relacionado à natureza lipofílica dos compostos majoritários do OECL, como o citral, que favorece sua passagem através da membrana citoplasmática. Ao penetrar na bicamada lipídica, esses compostos podem desestruturar as diferentes camadas de polissacarídeos, ácidos graxos e fosfolípidios que compõem a membrana celular, tornando-a mais permeável, mecanismo que tem sido associado à citotoxicidade observada para óleos essenciais ricos em compostos terpênicos (Chaves-Quirós *et al.*, 2020).

Comparando os resultados obtidos neste estudo com dados disponíveis na literatura, observa-se que o perfil de citotoxicidade do OECL livre em fibroblastos 3T3-Swiss albino foi compatível com o descrito por Salsabila *et al.* (2023), que relataram baixa atividade citotóxica ($IC_{50} > 40$ µg/mL) do óleo essencial de capim-limão, tendo o citral como marcador majoritário, em células NIH-3T3.

O principal resultado observado neste ensaio foi a manutenção da viabilidade celular pelas NPP em todas as concentrações avaliadas. Isso pode estar relacionado à associação dos constituintes do OECL à matriz de goma arábica durante o processo de nano *spray-drying*, o que pode reduzir sua disponibilidade imediata para interação com as células. Isto corrobora com a hipótese já discutida na avaliação das atividades antimicrobiana e anti-inflamatória.

Por outro lado, a NE se mostrou mais citotóxica que o OECL livre na maior concentração testada. Uma possível explicação seria a presença de tensoativo (polissorbato 80) livre na NE, uma vez que tensoativos podem aumentar a permeabilidade das membranas celulares, potencializando a penetração do óleo nas células, assim como foi observado por Contri *et al.* (2016) e Dirain; Karnani; Antonelli,

(2020). Ainda, a NE pode ter aumentado a dispersão e biodisponibilidade do OECL, consequentemente, seu potencial citotóxico.

Esses resultados, quando relacionados aos dados obtidos no ensaio de inibição da desnaturação proteica, mostram que na concentração de 250 µg/mL, onde se observou a maior atividade anti-inflamatória para o OECL livre e para a NE, ambas apresentaram citotoxicidade acentuada. Já as NPP, embora tenham apresentado percentual de inibição da desnaturação proteica ligeiramente inferior nessa mesma concentração, mantiveram elevada viabilidade celular (~87%). Dessa forma, os resultados sugerem que a nanoencapsulação do OECL em NPP proporciona a melhor relação entre atividade anti-inflamatória e segurança celular, enquanto o uso do OECL livre e, principalmente, da NE, para aplicação tópica, deve ser restrito a concentrações mais baixas, de forma a evitar efeitos citotóxicos indesejados.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho demonstraram a possibilidade de produzir sistemas nanoencapsulados contendo óleo essencial de capim-limão (OECL) por meio da técnica de nanoemulsão seguida de nano *spray-drying*. Dessa forma, foi possível atender ao objetivo proposto de desenvolver sistemas capazes de melhorar as características físico-químicas do OECL, preservando parte de suas propriedades biológicas e ampliando seu potencial de aplicação tópica como produto pós-sol.

O método de cromatografia líquida de ultra eficiência desenvolvido para a quantificação do citral, utilizado como marcador do OECL, foi validado quanto à linearidade, precisão, exatidão, robustez, seletividade e sensibilidade, permitindo a quantificação do OECL nos diferentes sistemas nanoencapsulados.

Dentre as seis formulações de nanoemulsão (NE) desenvolvidas, a NE6, composta por uma solução aquosa de goma arábica 20% (m/v) como material de parede, OECL:polissorbato 80 na proporção 1:3 (m/m) e etanol como co-tensoativo, apresentou o melhor desempenho físico-químico (tamanho de partícula de $86,53 \pm 1,53$ nm, índice de polidispersão de $0,248 \pm 0,011$, potencial zeta de $-19,03 \pm 0,30$ mV e pH $5,55 \pm 0,04$). Também apresentou elevada estabilidade cinética, estabilidade prolongada em diferentes temperaturas (refrigeração, temperatura ambiente e estufa) e aos ciclos de congelamento-descongelamento, bem como eficiência de encapsulação de aproximadamente 94%. Por essas razões, a NE6 foi selecionada como formulação de alimentação para o processo de nano *spray-drying*.

A técnica de nano *spray-drying* mostrou-se adequada para a obtenção de nanopartículas poliméricas (NPP) esféricas, de tamanho heterogêneo predominantemente inferior a 200 nm, com rendimento satisfatório (78,15%-85,19%) e retenção de 72,16% do óleo essencial. O caráter amorfo das NPP, evidenciado por difração de raios-X e corroborado pelos ensaios de molhabilidade e dispersibilidade, conferiu-lhes boa hidrossolubilidade. A incorporação do OECL à matriz de goma arábica foi confirmada por espectroscopia no infravermelho e quantificada por método de cromatografia líquida de ultra eficiência (CLUE) validado (eficiência de encapsulação de 46,14%). A análise térmica evidenciou melhora na estabilidade do óleo frente à degradação, com deslocamento da temperatura de estabilidade térmica de $131,9^{\circ}\text{C}$, no óleo livre, para $281,6^{\circ}\text{C}$, após a nanoencapsulação, indicando proteção dos compostos voláteis contra a degradação.

O ensaio de permeação cutânea *in vitro* em pele suína revelou diferenças estatisticamente significativas entre o OECL livre, a NE6 e as NPP ao longo do tempo, indicando que diferentes formas de nanoencapsulação alteram a cinética de liberação e permeação cutânea do ativo, uma característica a ser considerada para uma aplicação pós-sol, na qual se busca favorecer a permanência do ativo nas camadas cutâneas de interesse.

Quanto às atividades biológicas *in vitro*, tanto a NE6 quanto as NPP mantiveram a bioatividade do OECL frente aos ensaios antioxidantes (DPPH[•] e FRAP) e antimicrobiano (com destaque para a ação contra bactérias Gram-positivas: *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus aureus*). A NE6, de forma geral, superou o desempenho do OECL livre, demonstrando que a redução do tamanho das gotículas e a incorporação do óleo em um sistema nanoestruturado podem favorecer a disponibilidade dos compostos bioativos no meio de análise. Já as NPP, apesar de preservarem a bioatividade do OECL, apresentaram atividade ligeiramente inferior a NE6, possivelmente devido à liberação controlada proporcionada pela matriz de goma arábica.

A avaliação da viabilidade de fibroblastos 3T3 mostrou um resultado particularmente relevante para a aplicação tópica. Embora tenha sido observada uma redução da viabilidade celular de maneira dose-dependente para todas as amostras testadas, as NPP mantiveram elevada viabilidade celular em toda a faixa avaliada. Em contraste, a NE6 apresentou maior citotoxicidade em comparação ao OECL livre, provavelmente devido à ação do polissorbato 80 livre sobre a permeabilidade de membrana.

Relacionando os resultados obtidos, sugere-se que a nanoencapsulação, tanto na forma de NE como NPP, modificou de forma relevante as características físico-químicas, a estabilidade, o comportamento de liberação/permeação e a disponibilidade biológica do OECL. A NE6 apresentou melhor desempenho nas atividades antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória, enquanto as NPP se destacaram pela proteção do OECL, aumento da estabilidade térmica, manutenção da atividade biológica e maior segurança para aplicação tópica em concentrações mais elevadas.

Assim, ambos os sistemas nanoencapsulados desenvolvidos possuem características relevantes para auxiliar na recuperação cutânea após a exposição

solar excessiva, apresentando potencial para aplicação tópica em formulações pós-sol. Entretanto, como os testes neste estudo foram conduzidos *in vitro*, são necessários estudos adicionais para confirmar a segurança, eficácia e desempenho da formulação final em condições que reproduzam integralmente a complexidade da pele humana e as condições fisiopatológicas associadas à queimadura solar.

REFERÊNCIAS

- ABDULAZEEZ, M. A.; ABDULLAHI, A. S.; JAMES, B. D. Lemongrass (*Cymbopogon* spp.) oils. In: PREEDY, V. R. **Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety**. Londres: Elsevier, 2016. p. 509-516. DOI: 10.1016/B978-0-12-416641-7.00058-4.
- ABLA, K. K.; ALAMOUDI, M. K.; SOLIMAN, G. A.; ABDEL-KADER, M. S.; ALDAWSARI, M. F.; MEHANNA, M. M. Alopecia management potential of rosemary-based nanoemulgel loaded with metformin: approach combining active essential oil and repurposed drug. **International Journal of Nanomedicine**, v. 20, p. 605-624, 2025. DOI: 10.2147/IJN.S500487.
- ACHAGAR, R.; AIT-TOUCHENTE, Z.; EL ATI, R.; BOUJDI, K.; THOUME, A.; ABDOU, A.; TOUZANI, R. A comprehensive review of essential oil–Nanotechnology synergy for advanced dermocosmetic delivery. **Cosmetics**, v. 11, n. 2, 48, 2024. DOI: 10.3390/cosmetics11020048.
- ADEYEMI, S. B.; AKERE, A. M.; OREGI, J. I.; EJEROMEGHENE, O.; OREGI, O. B.; AKOLADE, J. O. Polymeric nanoparticles for enhanced delivery and improved bioactivity of essential oils. **Heliyon**, v. 9, n. 6, e16543, 2023. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e16543.
- ADHIKARY, K.; BANERJEE, P.; BARMAN, S.; BANDYOPADHYAY, B.; BAGCHI, D. Nutritional aspects, chemistry profile, extraction techniques of lemongrass essential oil and it's physiological benefits. **Journal of the American Nutrition Association**, v. 43, n. 2, p. 183-200, 2024. DOI: 10.1080/27697061.2023.2245435.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**, 1. ed., Brasília: ANVISA, 2004. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/cosmeticos/manuais-e-guias/guia-de-estabilidade-de-cosmeticos.pdf/view>. Acesso em: 30 out. 2025.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Guia para tratamento estatístico da validação analítica**: guia nº 10/2017 - versão 1. Brasília: ANVISA, 2017. Disponível em: <https://anexosportal.datalegis.net/arquivos/1860537.pdf>. Acesso em: 29 set. 2025.
- ALBUQUERQUE, P. M.; AZEVEDO, S. G.; ANDRADE, C. P. de; D'AMBROS, N. C. de S.; PÉREZ, M. T. M.; MANZATO, L. Biotechnological applications of nanoencapsulated essential oils: A review. **Polymers**, v. 14, n. 24, 5495, 2022. DOI: 10.3390/polym14245495.
- ALENCAR, D. D. de O.; SOUZA, E. L. de; ALMEIDA, E. T. da C.; SILVA, A. L. da; OLIVEIRA, H. M. L.; CAVALCANTI, M. T. Microencapsulation of *Cymbopogon citratus* D.C. Stapf essential oil with spray drying: development, characterization, and antioxidant and antibacterial activities. **Foods**, v. 11, n. 8, 1111, 2022. DOI: 10.3390/foods11081111.

ALSAKHAWY, S. A.; BAGHDADI, H. H.; EL-SHENAWY, M. A.; EL-HOSSEINY, L. S. Enhancement of lemongrass essential oil physicochemical properties and antibacterial activity by encapsulation in zein-caseinate nanocomposite. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, 17278, 2024. DOI: 10.1038/s41598-024-67273-6.

AL-SAMYDAI, A.; ABU HAJLEH, M. N.; MAYYAS, A.; AL-MAMOORI, F.; AL-TAWALBE, D. M.; ALQARALEH, M.; MOUSA, M. A.; ALADWAN, H.; ALAZAB, B.; SELWADI, D.; OTHMAN, F. A.; ZAAZOUUE, M. S.; RAGAB, K. M.; AL-HALASEH, L. Ethnopharmacological study of medicinal plants used in the treatment of skin burns in the arab world. **Journal of Burn Care & Research**, v. 44, n. 5, p. 1216-1222, 2023. DOI: 10.1093/jbcr/irad030.

ANDRADE, J. K. S.; DENADAI, M.; ANDRADE, G. R. S.; NASCIMENTO, C. da C.; BARBOSA, P. F.; JESUS, M. S.; NARAIN, N. Development and characterization of microencapsules containing spray dried powder obtained from Brazilian brown, green and red propolis. **Food Research International**, v. 109, p. 278-287, 2018. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.04.048.

ANDRADE, S. F. de; ROCHA, C.; PINHEIRO, E. J.; PEREIRA-LEITE, C.; COSTA, M. do C.; RODRIGUES, L. M. Revealing the protective effect of topically applied *Cymbopogon citratus* essential oil in human skin through a contact model. **Cosmetics**, v. 10, no.1, 29, 2023. DOI: 10.3390/cosmetics10010029.

API, A. M.; BELSITO, D.; BISERTA, S.; BOTELHO, D.; BRUZE, M.; BURTON, G. A.; BUSCHMANN, J.; CANCELLIERI, M. A.; DAGLI, M. L.; DATE, M.; DEKANT, W.; DEODHAR, C.; FRYER, A. D.; GADHIA, S.; JONES, L.; JOSHI, K.; LAPCZYNSKI, A.; LAVELLE, M.; LIEBLER, D. C.; NA, M.; O'BRIEN, D.; PATEL, A.; PENNING, T. M.; RITACCO, G.; RODRIGUEZ-ROPERO, F.; ROMINE, J.; SADEKAR, N.; SALVITO, D.; SCHULTZ, T. W.; SIDDIQI, F.; SIPES, I. G.; SULLIVAN, G.; THAKKAR, Y.; TOKURA, Y.; TSANG, S. RIFM fragrance ingredient safety assessment, citral, CAS Registry Number 5392-40-5. **Food and Chemical Toxicology**, v. 141, suppl. 1, 111339, 2020. DOI: 10.1016/j.fct.2020.111339.

ARPAGAUS, C.; COLLENBERG, A.; RÜTTI, D.; ASSADPOUR, E.; JAFARI, S. M. Nano spray drying for encapsulation of pharmaceuticals. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 546, n. 1-2, p. 194-214, 30 jul. 2018. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2018.05.037.

ARPAGAUS, C.; JOHN, P.; COLLENBERG, A.; RÜTTI, D. Nanocapsules formation by nano spray drying. In: JAFARI, S. M. **Nanoencapsulation Technologies for the Food and Nutraceutical Industries**. 1. ed. Londres: Elsevier, 2017. p. 346-401. DOI: 10.1016/B978-0-12-809436-5.00010-0.

ASHAQ, B.; RASOOL, K.; HABIB, S.; BASHIR, I.; NISAR, N.; MUSTAFA, S.; AYAZ, Q.; NAYIK, G. A.; UDDIN, J.; RAMNIWAS, S.; MUGABI, R.; WANI, S. M. Insights into chemistry, extraction and industrial application of lemon grass essential oil -A review of recent advances. **Food Chemistry: X**, v. 22, 101521, 2024. DOI: 10.1016/j.fochx.2024.101521.

ASSIS, L. V. M. de; TONOLLI, P. N.; MORAES, M. N.; BAPTISTA, M. S.; CASTRUCCI, A. M. de L. How does the skin sense sun light? An integrative view of

light sensing molecules. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 47, 100403, 2021. DOI: 10.1016/j.jphotochemrev.2021.100403.

AZIZ, Z. A. A.; NASIR, H. M.; AHMAD, A.; SETAPAR, S. H. M.; AHMAD, H.; NOOR, M. H. M.; RAFATULLAH, M.; KHATOON, A.; KAUSAR, M. A.; AHMAD, I.; KHAN, S.; AL-SHAERI, M.; ASHRAF, G. M. Enrichment of Eucalyptus oil nanoemulsion by micellar nanotechnology: transdermal analgesic activity using hot plate test in rats' assay. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, 13678, 2019. DOI: 10.1038/s41598-019-50134-y.

BAHLOUL, B.; BNINA, E. B.; HAMDİ, A.; HENRÍQUEZ, L. C.; BACCAR, D.; KALBOUSSI, N.; ABBASSI, A.; MIGNET, N.; FLAMINI, G.; VEGA-BAUDRIT, J. R. Investigating the wound-healing potential of a nanoemulsion-gel formulation of *Pituranthos tortuosus* essential oil. **Gels**, v. 10, n. 3, 155, 2024. DOI: 10.3390/gels10030155.

BALKRISHNA, A.; SINGH, S.; SRIVASTAVA, D.; MISHRA, S.; SHARMA, S.; MISHRA, R.; ARYA, V. A systematic review on traditional, ayurvedic, and herbal approaches to treat solar erythema. **International Journal of Dermatology**, v. 62, n. 3, p. 322-336, 2023. DOI: 10.1111/ijd.16231.

BASHIR, I.; WANI, S. M.; JAN, N.; ALI, A.; ROUF, A.; SIDIQ, H.; MASOOD, S.; MUSTAFA, S. Optimizing ultrasonic parameters for development of vitamin D3-loaded gum arabic nanoemulsions – An approach for vitamin D3 fortification. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 278, parte 3, 134894, 2024. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.134894.

BHUSHETTE, P. R.; ANNAPURE, U. S. Comparative study of *Acacia nilotica* exudate gum and acacia gum. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 102, p. 266-271, 2017. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.03.178.

BOUKHATEM, M. N.; FERHAT, M. A.; KAMELI, A.; SAIDI, F.; KEBIR, H. T. Lemon grass (*Cymbopogon citratus*) essential oil as a potent anti-inflammatory and antifungal drugs. **Libyan Journal of Medicine**, v. 9, n. 1, 25431, 2014. DOI: 10.3402/ljm.v9.25431.

BOUKHATEM, M. N.; SUDHA, T.; DARWISH, N. H. E.; CHADER, H.; BELKADI, A.; RAJABI, M.; HOUCHE, A.; BENKEBAILLI, F.; OUDJIDA, F.; MOUSA, S. A. A new eucalyptol-rich lavender (*Lavandula stoechas* L.) essential oil: Emerging potential for therapy against inflammation and cancer. **Molecules**, v. 25, n. 16, 2020. DOI: 10.3390/molecules25163671.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995. DOI: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**. 8. ed., v. 1 e v. 2. Brasília, DF: ANVISA, 2026.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 166, de 24 de julho de 2017**. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 25 jul. 2017.

BUDNIMATH, S. H.; BHUVANESHWARI, G.; GANIGER, V. M.; JAGADEESH, S. L. GOUDAR, G.; PATIL, S. N.; CHANDRASHEKAR, V. M. Physical, reconstitution and phenolic properties of instant drink mix prepared with *Moringa oleifera* leaf, raw banana and whey protein concentrate. **Measurement: Food**, v. 11, 100108, 2023. DOI: 10.1016/j.meafao.2023.100108.

BUI, A. V.; PHAM, T. V.; NGUYEN, K. N.; NGUYEN, N. T.; HUYNH, K. D.; DANG, V. S.; RUMI, T.; TRUONG, D. H. Chemical compositions and biological activities of *Serevenia buxifolia* essential oil leaves cultivated in Vietnam (Thua Thien Hue). **Food Science and Nutrition**, v. 11, n. 7, p. 4060–4072, 2023. DOI: 10.1002/fsn3.3395.

BUNSE, M.; DANIELS, R.; GRÜNDEMANN, C.; HEILMANN, J.; KAMMERER, D. R.; KEUSGEN, M.; LINDEQUIST, U.; MELZIG, M. F.; MORLOCK, G. E.; SCHULZ, H.; SCHWEIGGERT, R.; SIMON, M.; STINTZING, F. C.; WINK, M. Essential oils as multicomponent mixtures and their potential for human health and well-being. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, 956541, 2022. DOI: 10.3389/fphar.2022.956541.

CARVALHO, P. M.; FELÍCIO, M. R.; SANTOS, N. C.; GONÇALVES, S.; DOMINGUES, M. M. Application of light scattering techniques to nanoparticle characterization and development. **Frontiers in Chemistry**, v. 6, 237, 2018. DOI: 10.3389/fchem.2018.00237.

CHAVDA, V. P.; BALAR, P. C.; BEZBARUAH, R.; VAGHELA, D. A.; RYINJAH, D.; BHATTACHARJEE, B.; SUGANDHI, V. V.; PAIVA-SANTOS, A. C. Nanoemulsions: summary of a decade of research and recent advances. **Nanomedicine**, v. 19, n. 6, p. 519-536, 2024. DOI: 10.2217/nnm-2023-0199.

CHAVES-QUIRÓS, C.; USUGA-USUGA, J. S.; MORALES-UCHIMA, S. M.; TOFIÑO-RIVERA, A. P.; TOBÓN-ARROYAVE, S. I.; MARTÍNEZ-PABÓN, M. C. Assessment of cytotoxic and antimicrobial activities of two components of *Cymbopogon citratus* essential oil. **Journal of Clinical and Experimental Dentistry**, v. 12, n. 8, p. e749–e754, 2020. DOI: 10.4317/jced.56863.

CONTRI, R. V.; FIEL, L. A.; ALNASIF, N.; POHLMANN, A. R.; GUTERRES, S. S.; SCHÄFER-KORTING, M. Skin penetration and dermal tolerability of acrylic nanocapsules: Influence of the surface charge and a chitosan gel used as vehicle. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 507, n. 1–2, p. 12–20, 2016. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2016.03.046.

DANAEI, M.; DEHGHANKHOLD, M.; ATAIEI, S.; HASANZADEH DAVARANI, F.; JAVANMARD, R.; DOKHANI, A.; KHORASANI, S.; MOZAFARI, M. R. Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 2, 57, 2018. DOI: 10.3390/pharmaceutics10020057.

DANGOL, S.; POUDEL, D. K.; OJHA, P. K.; MAHARJAN, S.; POUDEL, A.; SATYAL, R.; ROKAYA, A.; TIMSINA, S.; DOSOKY, N. S.; SATYAL, P.; SETZER, W. N.

Essential oil composition analysis of *Cymbopogon* species from eastern nepal by GC-MS and chiral GC-MS, and antimicrobial activity of some major compounds. **Molecules**, v. 28, n. 2, 543, 2023. DOI: 10.3390/molecules28020543.

DENG, Y.; LU, S. Biosynthesis and regulation of phenylpropanoids in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 36, n. 4, p. 257-290, 2017. DOI: 10.1080/07352689.2017.1402852.

DIRAIN, C. O.; KARNANI, D. N.; ANTONELLI, P. J. Cytotoxicity of Ear Drop Excipients in Human and Mouse Tympanic Membrane Fibroblasts. **Otolaryngology - Head and Neck Surgery (United States)**, v. 162, n. 2, p. 204–210, 2020. DOI: 10.1177/0194599819889701.

DRAIS, H. K. Development and evaluation essential oils nanoemulgel as human skin sanitizer using novel method. **Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 21, n. 5, p. 456-462, 2023. DOI: 10.4274/tjps.galenos.2023.78006.

DU, X.; ZHANG, M.; WANG, S.; LI, J.; ZHANG, J.; LIU, D. Ethnopharmacology, chemical composition and functions of *Cymbopogon citratus*. **Chinese Herbal Medicines**, v. 16, n. 3, p. 358-374, 2024. DOI: 10.1016/j.chmed.2023.07.002.

DUBEY, S. K.; DEY, A.; SINGHVI, G.; PANDEY, M. M.; SINGH, V.; KESHARWANI, P. Emerging trends of nanotechnology in advanced cosmetics. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 214, 112440, 2022. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2022.112440.

DUNAWAY, S.; ODIN, R.; ZHOU, L.; JI, L.; ZHANG, Y.; KADEKARO, A. L. Natural antioxidants: Multiple mechanisms to protect skin from solar radiation. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, 392, 2018. DOI: 10.3389/fphar.2018.00392.

DUPONT, E.; GOMEZ, J.; BILODEAU, D. Beyond UV radiation: A skin under challenge. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 35, n. 3, p. 224-232, jun. 2013. DOI: 10.1111/ics.12036.

DUTTA, P.; SARMA, N.; SAIKIA, S.; GOGOI, R.; BEGUM, T.; LAL, M. Pharmacological activity of *Trachyspermum ammi* L. seeds essential oil grown from northeast India. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 24, n. 6, p. 1373-1388, 2022. DOI: 10.1080/0972060X.2022.2028681.

FAHEEM, F.; LIU, Z. W.; RABAIL, R.; HAQ, I. U.; GUL, M.; BRYŁA, M.; ROSZKO, M.; KIELISZEK, M.; DIN, A.; AADIL, R. M. Uncovering the industrial potentials of lemongrass essential oil as a food preservative: A Review. **Antioxidants**, v. 11, n. 4, 720, 2022. DOI: 10.3390/antiox11040720.

FAYOUMI, L.; KHALIL, M.; GHAREEB, D.; CHOKR, A.; BOUAZIZ, M.; EL-DAKDOUKI, M. H. Phytochemical constituents and therapeutic effects of the essential oil of rose geranium (*Pelargonium hybrid*) cultivated in Lebanon. **South African Journal of Botany**, v. 147, p. 894–902, 2022. DOI: 10.1016/j.sajb.2022.03.039.

FERNANDES, R. V. de B.; BORGES, S. V.; BOTREL, D. A.; OLIVEIRA, C. R. de. Physical and chemical properties of encapsulated rosemary essential oil by spray

drying using whey protein-inulin blends as carriers. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 49, n. 6, p. 1522-1529, 2014. DOI: 10.1111/ijfs.12449.

FLEKKA, K.; DIMAKI, V. D.; MOURELATOU, E.; AVGOUSTAKIS, K.; LAMARI, F. N.; HATZIANTONIOU, S. Stability and retention of nanoemulsion formulations incorporating lavender essential oil. **Cosmetics**, v. 11, n. 3, 65, 2024. DOI: 10.3390/cosmetics11030065.

GANDHI, J.; SUTHAR, D.; PATEL, H. K.; SHELAT, P.; PAREJIYA, P. Development and characterization of lemongrass oil loaded microemulsion based gel for treatment of superficial fungal infections. **The Pharma Innovation Journal**, v. 8, n.12, p. 401-410, 2019. Disponível em: <https://www.thepharmajournal.com/archives/2019/vol8issue12/PartG/8-11-85-595.pdf>. Acesso em: 29 set. 2025.

GANESAN, N. G.; MIASTKOWSKA, M. A.; PULIT-PROCIAK, J.; DEY, P.; RANGARAJAN, V. Formulation of a stable biocosmetic nanoemulsion using a Bacillus lipopeptide as the green-emulsifier for skin-care applications. **Journal of Dispersion Science and Technology**, v. 44, n. 11, p. 2045-2057, 2023. DOI: 10.1080/01932691.2022.2059502.

GAONKAR, R.; YALLAPPA, S.; DHANANJAYA, B. L.; HEGDE, G. Development and validation of reverse phase high performance liquid chromatography for citral analysis from essential oils. **Journal of Chromatography B**, v. 1036-1037, p. 50-56, 2016. DOI: 10.1016/j.jchromb.2016.10.001.

GHOSH, S.; SARKAR, T.; DAS, A.; CHAKRABORTY, R. Micro and nanoencapsulation of natural colors: A holistic view. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 193, n. 11, p. 3787-3811, 2021. DOI: 10.1007/s12010-021-03631-8.

GHOSH, V.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N. Ultrasonic emulsification of food-grade nanoemulsion formulation and evaluation of its bactericidal activity. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, n. 1, p. 338-344, 2013. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2012.08.010.

GOBO, G. G. **Desenvolvimento de nanopartículas poliméricas pelo método nano spray dryer para encapsulação de corantes fotossensíveis**. 2019. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos) - Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2019. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/entities/publication/39e41e73-0fe4-47eb-baff-607f32b1faec>. Acesso em: 29 set. 2025.

GOGOI, R.; LOYING, R.; SARMA, N.; BEGUM, T.; PANDEY, S. K.; LAL, M. Comparative Analysis of In-Vitro Biological Activities of Methyl Eugenol Rich *Cymbopogon khasianus* Hack., Leaf Essential Oil with Pure Methyl Eugenol Compound. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 21, n. 10, p. 927-938, 2020. DOI: 10.2174/1389201021666200217113921.

GUPTA, V.; MOHAPATRA, S.; MISHRA, H.; FAROOQ, U.; KUMAR, K.; ANSARI, M. J.; ALDAWSARI, M. F.; ALALAIWE, A. S.; MIRZA, M. A.; IQBAL, Z. Nanotechnology

in cosmetics and cosmeceuticals—A review of latest advancements. **Gels**, v. 8, n. 3, 173, 2022. DOI: 10.3390/gels8030173.

HAN, X.; PARKER, T. L. Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) essential oil demonstrated anti-inflammatory effect in pre-inflamed human dermal fibroblasts. **Biochimie Open**, v. 4, p. 107-111, 2017. DOI: 10.1016/j.biopen.2017.03.004.

HANIF, M. A.; NISAR, S.; KHAN, G. S.; MUSHTAQ, Z.; ZUBAIR, M. Essential Oils. In: MALIK, S. **Essential Oil Research**. Springer International Publishing, 2019. p. 3-17. DOI 10.1007/978-3-030-16546-8_1.

HASANI, M.; HASANI, S. Nano-encapsulation of thyme essential oil in chitosan-Arabic gum system: Evaluation of its antioxidant and antimicrobial properties. **Trends in Phytochemical Research**, v. 2, n. 2, p. 75-82, 2018. Disponível em: <https://oiccpres.com/tpr/article/view/11717>. Acesso em: 29 set. 2025.

HEINZMANN, B. M.; SPITZER, V.; SIMÕES, C. M. O. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P. de; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: Do Produto Natural ao Medicamento**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

HIEU, L. T. M.; DAO, D. T. A. Black pepper essential oil nanoemulsions formulation using EPI and PIT methods. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 3, 2020. DOI: 10.1111/jfpp.15216.

HU, Q.; GERHARD, H.; UPADHYAYA, I.; VENKITANARAYANAN, K.; LUO, Y. Antimicrobial eugenol nanoemulsion prepared by gum arabic and lecithin and evaluation of drying technologies. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 87, p. 130-140, 2016. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.02.051.

IBRAR, M.; AYUB, Y.; NAZIR, R.; IRSHAD, M.; HUSSAIN, N.; SALEEM, Y.; AHMAD, M. Garlic and ginger essential oil-based neomycin nano-emulsions as effective and accelerated treatment for skin wounds' healing and inflammation: In-vivo and in-vitro studies. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 30, n. 12, p. 1700-1709, 2022. DOI: 10.1016/j.jsps.2022.09.015.

INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE. **ICH Q2(R2) Guideline on Validation of Analytical Procedures**. Geneva: ICH, 2023. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q2r2-guideline-validation-analytical-procedures-step-5-revision-2_en.pdf. Acesso em: 16 ago. 2026.

JAMIR, Y.; BHUSHAN, M.; SANJUKTA, R.; SINGH, L. R. Plant-based essential oil encapsulated in nanoemulsions and their enhanced therapeutic applications: An overview. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 121, n. 2, p. 415-433, 2024. DOI: 10.1002/bit.28590.

JAYAPRAKASH, P.; MAUDHUIT, A.; GAIANI, C.; DESOBRY, S. Encapsulation of bioactive compounds using competitive emerging techniques: Electrospraying, nano spray drying, and electrostatic spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 339, 111260, 2023. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2022.111260.

- JAYARI, A.; DONSI, F.; FERRARI, G.; MAAROUFI, A. Nanoencapsulation of Thyme essential oils: Formulation, characterization, storage stability and biological activity. **Foods**, v. 11, n. 13, 1858, 2022. DOI: 10.3390/foods11131858.
- JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. Pele e Anexos. *In*: JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica: Texto e Atlas**. 14. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ltda., 2023. p. 387-402.
- KAKADIA, P. G.; CONWAY, B. R. Design and development of essential oil based nanoemulsion for topical application of triclosan for effective skin antiseptis. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 27, n 5, p. 554–564, 2022. DOI: 10.1080/10837450.2022.2087085.
- KANG, Y. R.; LEE, Y. K.; KIM, Y. J.; CHANG, Y. H. Characterization and storage stability of chlorophylls microencapsulated in different combination of gum Arabic and maltodextrin. **Food Chemistry**, v. 272, p. 337-346, 2019. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.08.063.
- KARAMI, F.; OSANLOO, M.; ALIPANAH, H.; ZARENEZHAD, E.; MOGHIMI, F.; GHANBARIASAD, A. Comparison of the efficacy of alginate nanoparticles containing *Cymbopogon citratus* essential oil and citral on melanoma and breast cancer cell lines under normoxic and hypoxic conditions. **BMC complementary medicine and therapies**, v. 24, n. 1, 372, 2024. DOI: 10.1186/s12906-024-04673-1.
- KARUNANITHI, P. S.; ZERBE, P. Terpene synthases as metabolic gatekeepers in the evolution of plant terpenoid chemical diversity. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, 1166, 2019. DOI: 10.3389/fpls.2019.01166.
- KIANI, H. S.; ALI, A.; ZAHRA, S.; HASSAN, Z. U.; KUBRA, K. T.; AZAM, M.; ZAHID, H. F. Phytochemical composition and pharmacological potential of lemongrass (*Cymbopogon*) and impact on gut microbiota. **AppliedChem**, v. 2, n. 4, p. 229-246, 2022. DOI: 10.3390/appliedchem2040016.
- KOWALSKA, M.; WOŹNIAK, M.; KIJEK, M.; MITROSZ, P.; SZAKIEL, J.; TUREK, P. Management of validation of HPLC method for determination of acetylsalicylic acid impurities in a new pharmaceutical product. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, 2022. DOI: 10.1038/s41598-021-99269-x.
- KUSUMA, I. Y.; PERDANA, M. I.; VÁGVÖLGYI, C.; CSUPOR, D.; TAKÓ, M. Exploring the clinical applications of lemongrass essential oil: A scoping review. **Pharmaceuticals**, v. 17, n. 2, 159, 2024. DOI: 10.3390/ph17020159.
- KYRIAKOUDI, A.; TSIMIDOU, M. Z. Properties of encapsulated saffron extracts in maltodextrin using the Büchi B-90 nano spray-dryer. **Food Chemistry**, v. 266, p. 458-465, 2018. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.06.038.
- LASOÑ, E. Topical administration of terpenes encapsulated in nanostructured lipid-based systems. **Molecules**, v. 25, n. 23, 2020. DOI: 10.3390/molecules25235758.
- LI, X.; ANTON, N.; ARPAGAUS, C.; BELLETEIX, F.; VANDAMME, T. F. Nanoparticles by spray drying using innovative new technology: The Büchi Nano

Spray Dryer B-90. **Journal of Controlled Release**, v. 147, n. 2, p. 304-310, 2010. DOI: 10.1016/j.jconrel.2010.07.113.

LIGARDA-SAMANEZ, C. A.; CHOQUE-QUISPE, D.; MOSCOSO-MOSCOSO, E.; PALOMINO-RINCÓN, H.; TAPE-PARDO, F.; LANDA, J. P. A.; ARÉVALO-QUIJANO, J. C.; MUÑOZ-SAENZ, J. C.; QUISPE-QUEZADA, U. R.; HUAMÁN-CARRIÓN, M. L.; GUTIÉRREZ-GÓMEZ, E.; SUCARI-LEÓN, R.; LUCIANO-ALÍPIO, R.; MUÑOZ-SAENZ, J. M.; GUZMÁN GUTIÉRREZ, R. J. Nanoencapsulation of phenolic extracts from native potato clones (*Solanum tuberosum* spp. *andigena*) by Spray Drying. **Molecules**, v. 28, n. 13, 4961, 2023. DOI: 10.3390/molecules28134961.

LIU, H.; ZHAO, Z.; XU, W.; CHENG, M.; CHEN, Y.; XUN, M.; LIU, Q.; WANG, W. Preparation, characterization, release and antibacterial properties of cinnamon essential oil microcapsules. **Coatings**, v. 13, n. 6, 973, 2023. DOI: 10.3390/coatings13060973.

LIU, T.; GAO, Z.; ZHONG, W.; FU, F.; LI, G.; GUO, J.; SHAN, Y. Preparation, characterization, and antioxidant activity of nanoemulsions incorporating lemon essential oil. **Antioxidants**, v. 11, n. 4, 650, 2022. DOI: 10.3390/antiox11040650.

LULEKAL, E.; TESFAYE, S.; GEBRECHRISTOS, S.; DİRES, K.; ZENEBE, T.; ZEGEYE, N.; FELEKE, G.; KASSAHUN, A.; SHIFERAW, Y.; MEKONNEN, A. Phytochemical analysis and evaluation of skin irritation, acute and sub-acute toxicity of *Cymbopogon citratus* essential oil in mice and rabbits. **Toxicology Reports**, v. 6, p. 1289-1294, 2019. DOI: 10.1016/j.toxrep.2019.11.002.

MAGRI, A.; RAMOS, M.; MELLINAS, C.; JIMÉNEZ, A.; GARRIGÓS, M. C. Encapsulation of lemongrass essential oil in cyclodextrins and maltodextrin: Antioxidant, antimicrobial and release studies. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications**, v. 10, 100749, 2025. DOI: 10.1016/j.carpta.2025.100749.

MARTINS, W. da S.; ARAÚJO, J. S. F. de; FEITOSA, B. F.; OLIVEIRA, J. R.; KOTZEBUE, L. R. V.; AGOSTINI, D. L. da S.; OLIVEIRA, D. L. V. de; MAZZETTO, S. E.; CAVALCANTI, M. T.; SILVA, A. L. da. Lemongrass (*Cymbopogon citratus* DC. Stapf) essential oil microparticles: Development, characterization, and antioxidant potential. **Food Chemistry**, v. 355, 2021. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.129644.

MASYITA, A.; MUSTIKA SARI, R.; DWI ASTUTI, A.; YASIR, B.; RAHMA RUMATA, N.; EMRAN, T. Bin; NAINU, F.; SIMAL-GANDARA, J. Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. **Food Chemistry: X**, v. 13, 100217, 2022. DOI: 10.1016/j.fochx.2022.100217.

MBA, J. R.; ZOUHEIRA, D.; DAIRAU, H.; YADANG, F. S. A.; GAEL, N. N.; AYONG, L.; KUIATE, J. R.; AGBOR, G. A. In Vitro Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Digestive Enzymes Inhibition Activities of Hydro-Ethanol Leaf and Bark Extracts of *Psychotria densinervia* (K. Krause) Verdc. **Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences**, v. 2022, 8459943, 2022. DOI: 10.1155/2022/8459943.

MELO, A. M. de; BARBI, R. C. T.; ALMEIDA, F. L. C.; SOUZA, W. F. C. de; CAVALCANTE, A. M. de M.; SOUZA, H. J. B. de; BOTREL, D. A.; BORGES, S. V.; COSTA, R. G.; QUIRINO, M. R.; SOUSA, S. de. Effect of microencapsulation on chemical composition and antimicrobial, antioxidant and cytotoxic properties of lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) essential oil. **Food Technology and Biotechnology**, v. 60, n. 3, p. 386-395, 2022. DOI: 10.17113/ftb.60.03.22.7470.

MASTKOWSKA, M.; SIKORA, E.; KULAWIK-PIÓRO, A.; KANTYKA, T.; BIELECKA, E.; KAŁUCKA, U.; KAMIŃSKA, M.; SZULC, J.; PIASECKA-ZELGA, J.; ZELGA, P.; STANISZEWSKA-ŚLĘZAK, E. Bioactive *Lavandula angustifolia* essential oil-loaded nanoemulsion dressing for burn wound healing. In vitro and in vivo studies. **Biomaterials Advances**, v. 148, 213362, 2023. DOI: 10.1016/j.bioadv.2023.213362.

MOHAMED, S. A.; HARGEST, R. Surgical anatomy of the skin. **Surgery (Oxford)**, v. 40, no 1, p. 1-7, 2021. DOI: 10.1016/j.mpsur.2021.11.021

MOHD-SETAPAR, S. H.; JOHN, C. P.; MOHD-NASIR, H.; AZIM, M. M.; AHMAD, A.; ALSHAMMARI, M. B. Application of nanotechnology incorporated with natural ingredients in natural cosmetics. **Cosmetics**, v. 9, n. 6, 110, 2022. DOI: 10.3390/cosmetics9060110.

MORTEZA-SEMNANI, K.; SAEEDI, M.; AKBARI, J.; EGHBALI, M.; BABAEI, A.; HASHEMI, S. M. H.; NOKHODCHI, A. Development of a novel nanoemulgel formulation containing cumin essential oil as skin permeation enhancer. **Drug Delivery and Translational Research**, v. 12, n. 6, p. 1455-1465, 2022. DOI: 10.1007/s13346-021-01025-1.

MOSTAFA, D. M.; KASSEM, A. A.; ASFOUR, M. H.; AL OKBI, S. Y.; MOHAMED, D. A.; HAMED, T. E. S. Transdermal cumin essential oil nanoemulsions with potent antioxidant and hepatoprotective activities: In-vitro and in-vivo evaluation. **Journal of Molecular Liquids**, v. 212, p. 6–15, 2015. DOI: 10.1016/j.molliq.2015.08.047.

MSSILLOU, I.; AMRATI, F. E.-Z.; SAGHROUCHNI, H.; EL ABDALI, Y.; LEFRIQUI, Y.; BATIHA, G. E.-S.; GIESY, J. P.; ABOUL-SOUD, M. A. M.; HASSANI, R.; KHALID, A.; BOUSTA, D. Recent advances in the use of essential oils and their nanoformulations for wound treatment. **Burns**, v. 51, n. 1, 107260, 2025. DOI: 10.1016/j.burns.2024.08.026.

MUKARRAM, M.; CHOUDHARY, S.; KHAN, M. A.; POLTRONIERI, P.; KHAN, M. M. A.; ALI, J.; KURJAK, D.; SHAHID, M. Lemongrass essential oil components with antimicrobial and anticancer activities. **Antioxidants**, v. 11, n. 1, 20, 2022. DOI: 10.3390/antiox11010020.

MUTHULAKSHMI, V.; SUNDRARAJAN, M. Green synthesis of ionic liquid assisted ytterbium oxide nanoparticles by *Couroupita guianensis* abul leaves extract for biological applications. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 8, n. 4, 2020. DOI: 10.1016/j.jece.2020.103992.

NASR, A. M.; MORTAGI, Y. I.; ABD ELWAHAB, N. H.; ALFAIFI, M. Y.; SHATI, A. A.; ELBEHAIRI, S. E. I.; ELSHAARAWY, R. F. M.; KAMAL, I. Upgrading the transdermal biomedical capabilities of thyme essential oil nanoemulsions using amphiphilic

oligochitosan vehicles. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 7, 1350, 2022. DOI: 10.3390/pharmaceutics14071350.

NDOYE FOE, F. M. C.; TCHINANG, T. F. K.; NYEGUE, A. M.; ABDOU, J. P.; YAYA, A. J. G.; TCHINDA, A. T.; ESSAME, J. L. O.; ETOA, F. X. Chemical composition, in vitro antioxidant and anti-inflammatory properties of essential oils of four dietary and medicinal plants from Cameroon. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, 2016. DOI: 10.1186/s12906-016-1096-y.

NHANI, G. B. B.; DI FILIPPO, L. D.; PAULA, G. A. de; MANTOVANELLI, V. R.; FONSECA, P. P. da; TASHIRO, F. M.; MONTEIRO, D. C.; FONSECA-SANTOS, B.; DUARTE, J. L.; CHORILLI, M. High-Tech sustainable beauty: Exploring Nanotechnology for the development of cosmetics using plant and animal by-products. **Cosmetics**, v. 11, n. 4, 112, 2024. DOI: 10.3390/cosmetics11040112.

OLIVEIRA, E. F. de; PAULA, H. C. B.; PAULA, R. C. M. de. Alginate/cashew gum nanoparticles for essential oil encapsulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 113, p. 146-151, 2014. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2013.08.038.

PANDEY, A. S.; BAWISKAR, D.; WAGH, V. Nanocosmetics and skin health: A comprehensive review of nanomaterials in cosmetic formulations. **Cureus**, v. 16, n. 1, e52754, 2024. DOI: 10.7759/cureus.52754.

PEDROZO, R. C.; ANTÔNIO, E.; KHALIL, N. M.; MAINARDES, R. M. Bovine serum albumin-based nanoparticles containing the flavonoid rutin produced by nano spray drying. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 56, e17692, 2020. DOI: 10.1590/s2175-97902019000317692.

PERIASAMY, V. S.; ATHINARAYANAN, J.; ALSHATWI, A. A. Anticancer activity of an ultrasonic nanoemulsion formulation of *Nigella sativa* L. essential oil on human breast cancer cells. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 31, p. 449-455, 2016. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2016.01.035.

PEZANTES-ORELLANA, C.; GERMAN BERMÚDEZ, F.; MATÍAS DE LA CRUZ, C.; MONTALVO, J. L.; ORELLANA-MANZANO, A. Essential oils: a systematic review on revolutionizing health, nutrition, and omics for optimal well-being. **Frontiers in Medicine**, v. 11, 1337785, 2024. DOI: 10.3389/fmed.2024.1337785.

PIÑÓN-BALDERRAMA, C. I.; LEYVA-PORRAS, C.; TERÁN-FIGUEROA, Y.; ESPINOSA-SOLÍS, V.; ÁLVAREZ-SALAS, C.; SAAVEDRA-LEOS, M. Z. Encapsulation of active ingredients in food industry by spray-drying and nano spray-drying technologies. **Processes**, v. 8, n. 8, 889, 2020. DOI: 10.3390/PR8080889.

PLATI, F.; MATSAKIDOU, A.; KIOSSEOGLOU, V.; PARASKEVOPOULOU, A. Development of a dehydrated dressing-type emulsion with instant powder characteristics. **Food Structure**, v. 20, 100110, 2019. DOI: 10.1016/j.foostr.2019.100110.

PLATI, F.; PAPI, R.; PARASKEVOPOULOU, A. Characterization of oregano essential oil (*Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum*) particles produced by the novel nano spray drying technique. **Foods**, v. 10, n. 12, 2923, 2021. DOI: 10.3390/foods10122923.

PLATI, F.; PARASKEVOPOULOU, A. Micro- and Nano-encapsulation as tools for essential oils advantages' exploitation in food applications: the case of Oregano essential oil. **Food and Bioprocess Technology**, v. 15, n. 5, p. 949-977, 2022. DOI: 10.1007/s11947-021-02746-4.

POLEZ, V. L. P.; DANTAS, K. C. de S.; DUARTE, A. de O.; MAGARELLI, G.; DA SILVA, L. P. **Método de avaliação antioxidante de material vegetal por DPPH em microplaca e controle de qualidade**. Brasília, DF: EMBRAPA, 2023.

PREETI; SAMBHAVAR, S.; MALIK, R.; BHATIA, S.; AL HARRASI, A.; RANI, C.; SAHARAN, R.; KUMAR, S.; GEETA; SEHRAWAT, R. Nanoemulsion: An emerging novel technology for improving the bioavailability of drugs. **Scientifica**, v. 2023, 2023. DOI: 10.1155/2023/6640103.

PREMJIT, Y.; PANDHI, S.; KUMAR, A.; RAI, D. C.; DUARY, R. K.; MAHATO, D. K. Current trends in flavor encapsulation: A comprehensive review of emerging encapsulation techniques, flavour release, and mathematical modelling. **Food Research International**, v. 151, 110879, 2022. DOI: 10.1016/j.foodres.2021.110879.

RANJBAR, N.; OSANLOO, M.; NASIRI-GHIRI, M.; ZARENEZHAD, A.; HEIRAN, R.; GHANBARIASAD, A.; NAMDAR, N.; ALIPANAH, H. Investigating the protective effect of *Rosa damascena* nanogel on collagenase and elastase activity and UVB-induced dermal damage: A rodent model approach to skin photoaging. **Photochemistry and Photobiology**, 2025. DOI: 10.1111/php.14072.

RAUBER, C. D. S.; GUTERRES, S. S.; SCHAPOVAL, E. E. S. LC determination of citral in *Cymbopogon citratus* volatile oil. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 37, n. 3, p. 597–601, 2005. DOI: 10.1016/j.jpba.2004.10.042.

RIBEIRO, M. L. F. F.; ROOS, Y. H.; RIBEIRO, A. P. B.; NICOLETTI, V. R. Effects of maltodextrin content in double-layer emulsion for production and storage of spray-dried carotenoid-rich microcapsules. **Food and Bioprocess Technology**, v. 124, p. 208–221, 2020. DOI: 10.1016/j.fbp.2020.09.004.

ROSEN, M. J.; KUNJAPPU, J. T. **Surfactants and Interfacial Phenomena**. 4. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2012. Online ISBN:9781118228920. DOI: 10.1002/9781118228920

RUI, L.; LI, Y.; WU, X.; WANG, Y.; XIA, X. Effect of clove essential oil nanoemulsion on physicochemical and antioxidant properties of chitosan film. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 263, parte 1, 130286, 2024. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.130286.

SALSABILA, D. U.; WARDANI, R. K.; HASANAH, N. U.; TAFRIHANI, A. S.; ZULFIN, U. M.; IKAWATI, M.; MEIYANTO, E. Cytoprotective Properties of Citronella Oil (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendl.) and Lemongrass Oil (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) through Attenuation of Senescent-Induced Chemotherapeutic Agent Doxorubicin on Vero and NIH-3T3 Cells. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 24, n. 5, p. 1667–1675, 2023. DOI: 10.31557/APJCP.2023.24.5.1667.

SHAH, J.; MCKNIGHT, G.; HARGEST, R. Physiology of the skin. **Surgery (Oxford)**, v. 42, n. 11, p. 788-792, 2024. DOI: 10.1016/j.mpsur.2024.09.008.

SHARMEEN, J. B.; MAHOMOODALLY, F. M.; ZENGİN, G.; MAGGI, F. Essential oils as natural sources of fragrance compounds for cosmetics and cosmeceuticals. **Molecules**, v. 26, n. 3, 666, 2021. DOI: 10.3390/molecules26030666.

SIDDIQUE, R.; MEHMOOD, M. H.; HUSSAIN, L.; MALIK, A.; SETHI, A.; FARRUKH, M.; KOUSAR, S. Role of medicinal herbs and phytochemicals in post burn management. **Inflammopharmacology**, v. 31, n. 4, p. 1695-1714, 2023. DOI: 10.1007/s10787-023-01246-5.

SILVA, T. L. M. da; BELTRAME, F. L.; FERRARI, P. C. Lemongrass essential oil micro- and nanoencapsulation for industrial application: Production techniques and potential applications. **Archiv der Pharmazie**, v. 357, n. 6, 2024. DOI: 10.1002/ardp.202300726.

SILVA, T. L. M. da; ROSA, G. I. da; SANTOS, M. A. L. dos; GRAF, S. L.; MAIA, B. H. L. de N. S.; BELTRAME, F. L.; FERRARI, P. C. Lemongrass essential oil (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.) seasonal evaluation and microencapsulation by spray-drying. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 66, 2023. DOI: 10.1590/1678-4324-ssbfar-2023230016.

SINGH, P.; KAUR, G.; SINGH, A. Physical, morphological and storage stability of clove oil nanoemulsion based delivery system. **Food Science and Technology International**, v. 29, n. 2, p. 156-167, 2023. DOI: 10.1177/10820132211069470.

SINGH, Y.; MEHER, J. G.; RAVAL, K.; KHAN, F. A.; CHAURASIA, M.; JAIN, N. K.; CHOURASIA, M. K. Nanoemulsion: Concepts, development and applications in drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 252, p. 28-49, 2017. DOI: 10.1016/j.jconrel.2017.03.008.

SKOWROŃSKA, W.; BAZYŁKO, A. The potential of medicinal plants and natural products in the treatment of burns and sunburn—A Review. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 2, 633, 2023. DOI: 10.3390/pharmaceutics15020633.

SOLTANZADEH, M.; PEIGHAMBARDoust, S. H.; GHANBARZADEH, B.; MOHAMMADI, M.; LORENZO, J. M. Chitosan nanoparticles encapsulating lemongrass (*Cymbopogon commutatus*) essential oil: Physicochemical, structural, antimicrobial and in-vitro release properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 192, p. 1084-1097, 2021. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.10.070.

SOUSA, D. P. de; DAMASCENO, R. O. S.; AMORATI, R.; ELSHABRAWY, H. A.; CASTRO, R. D. de; BEZERRA, D. P.; NUNES, V. R. V.; GOMES, R. C.; LIMA, T. C. Essential oils: Chemistry and pharmacological activities. **Biomolecules**, v. 13, n. 7, 1144, 2023. DOI: 10.3390/biom13071144.

STAVRA, K.; PLATI, F.; PAVLIDOU, E.; PARASKEVOPOULOU, A. Characterization of lemon juice powders produced by different drying techniques and carrier materials. **Drying Technology**, v. 40, n. 9, p. 1923-1934, 2022. DOI: 10.1080/07373937.2021.1894168.

STROJEWSKI, D.; KRUPA, A. Spray drying and nano spray drying as manufacturing methods of drug-loaded polymeric particles. **Polymers in Medicine**, v. 52, n. 2, p. 101-111, 2022. DOI: 10.17219/pim/152230.

SU, X.; XU, Y.; XU, Z.; HURLEY, K.; FENG, Y.; YIN, Y. Encapsulation of hop (*Humulus lupulus* L.) essential oil for controlled release in the non-alcoholic beverage application. **Food Hydrocolloids**, v. 134, 108039, 2023. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2022.108039.

SUKHOTU, R.; GUO, S.; XING, J.; HU, Q.; WANG, R.; SHI, X.; NISHINARI, K.; FANG, Y.; GUO, S. Changes in physiochemical properties and stability of peanut oil body emulsions by applying gum arabic. **LWT - Food Science and Technology**, vol. 68, p. 432–438, 2016. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.12.055.

TADROS, T. F. **Applied Surfactants: Principles and Applications**. Weinheim: Wiley-VCH, 2005. Online ISBN: 9783527604814. DOI: 10.1002/3527604812
TAKTAK, N. E. M.; BADAWEY, M. E. I.; AWAD, O. M.; ABOU EL-ELA, N. E. Nanoemulsions containing some plant essential oils as promising formulations against *Culex pipiens* (L.) larvae and their biochemical studies. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 185, 105151, 2022. DOI: 10.1016/j.pestbp.2022.105151.

TANG, Y.; GAO, C.; ZHANG, Y.; TANG, X. Structure and functionality of cinnamaldehyde/chitosan/gum Arabic complex particles. **Food Hydrocolloids**, v. 146, parte A, 109220, 2024. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2023.109220.

TAOUZINET, L.; DJAOUDENE, O.; FATMI, S.; BOUICHE, C.; AMRANE-ABIDER, M.; BOUGHERRA, H.; REZGUI, F.; MADANI, K. Trends of Nanoencapsulation Strategy for Natural Compounds in the Food Industry. **Processes**, v. 11, n. 5, 1459, 2023. DOI: 10.3390/pr11051459.

TAWFIK, N. F.; ABDEL-RASHID, R. S.; EL-SAYED, E. K.; ABDEL-MONEUM, R.; KHATTAB, M. A.; AHMED, A. A.; LAI, K. H.; HASHAD, N.; MOHARRAM, F. A. *Artemisia monosperma* essential oil nanoformulations alleviate imiquimod-induced psoriasis-like dermatitis in mice. **International Immunopharmacology**, v. 139, 112733, 2024. DOI: 10.1016/j.intimp.2024.112733.

THUONG NHAN, N. P.; THANH, V. T.; CANG, M. H.; LAM, T. D.; HUONG, N. C.; HONG NHAN, L. T.; TRUC, T. T.; TRAN, Q. T.; BACH, L. G. Microencapsulation of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil via spray drying: Effects of feed emulsion parameters. **Processes**, v. 8, n. 1, 2020. DOI: 10.3390/pr8010040.

TIBENDA, J. J.; YI, Q.; WANG, X.; ZHAO, Q. Review of phytomedicine, phytochemistry, ethnopharmacology, toxicology, and pharmacological activities of *Cymbopogon* genus. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, 997918, 2022. DOI: 10.3389/fphar.2022.997918.

TRUONG, D. H.; NGUYEN, D. H.; TA, N. T. A.; BUI, A. V.; DO, T. H.; NGUYEN, H. C. Evaluation of the use of different solvents for phytochemical constituents, antioxidants, and in vitro anti-inflammatory activities of *Severinia buxifolia*. **Journal of Food Quality**, v. 2019, 8178294, 2019. DOI: 10.1155/2019/8178294.

VENKATESH, D. P.; S, G.; RAMANI, P.; S, R.; RAMALINGAM, K. in vitro evaluation of antioxidant and anti-inflammatory potentials of herbal formulation containing marigold flower (*Calendula officinalis* L.) tea. **Cureus**, v. 15, n. 8, e43308, 2023. DOI: 10.7759/cureus.43308.

WEISANY, W.; YOUSEFI, S.; TAHIR, N. A. razzak; GOLESTANEHZADEH, N.; MCCLEMENTS, D. J.; ADHIKARI, B.; GHASEMLOU, M. Targeted delivery and controlled released of essential oils using nanoencapsulation: A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 303, 102655, 2022. DOI: 10.1016/j.cis.2022.102655.

XIAO, S.; YU, H.; XIE, Y.; GUO, Y.; FAN, J.; YAO, W. The anti-inflammatory potential of *Cinnamomum camphora* (L.) J.Presl essential oil in vitro and in vivo. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 267, 113516, 2021. DOI: 10.1016/j.jep.2020.113516.

YAKOUBI, S.; KOBAYASHI, I.; UEMURA, K.; HORCHANI-NAIFER, K.; SAIDANI-TOUNSI, M.; NAKAJIMA, M.; HIROKO, I.; NEVES, M. A. Development of a novel colloidal system enhancing the dispersibility of tocopherol nanoparticles in a nanoscale nutraceutical delivery system. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 668, 131348, 2023. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2023.131348.

YAMMINE, J.; CHIHIB, N. E.; GHARSALLAOUI, A.; ISMAIL, A.; KARAM, L. Advances in essential oils encapsulation: development, characterization and release mechanisms. **Polymer Bulletin**, v. 81, n. 5, p. 3837-3882, 2024. DOI: 10.1007/s00289-023-04916-0.

YOUSEFI, S.; WEISANY, W.; HOSSEINI, S. E.; GHASEMLOU, M. Mechanisms of nanoencapsulation to boost the antimicrobial efficacy of essential oils: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 150, 109655, 2024. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2023.109655.

ZAMANIAHARI, S.; JAMSHIDI, A.; MOOSAVY, M. H.; KHATIBI, S. A. Preparation and evaluation of *Mentha spicata* L. essential oil nanoemulsion: physicochemical properties, antibacterial activity against foodborne pathogens and antioxidant properties. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 16, n. 4, p. 3289-3300, 2022. DOI: 10.1007/s11694-022-01436-9.

ANEXOS

ANEXO A - Especificações do óleo essencial de capim-limão (Quinarí, Ponta Grossa, Paraná, Brasil).

<https://www.quinari.com.br/produto/oleo-essencial-de-capim-limao-quinari-10-ml-ou-100-ml/>

- **Nomenclatura INCI:** *Cymbopogon Citratus* (Lemongrass) Leaf Oil
- **Nome Botânico:** *Cymbopogon citratus*
- **Parte da Planta Utilizada:** Folhas
- **Método de Extração:** Arraste de vapor
- **Qualidade:** 100% puro e natural
- **Procedência:** Brasil
- **Registro na ANVISA:** 25351.179913/2017-23
- **Número CAS:** 8007-02-1 / Chemical Abstracts Service
- **Recomendações de uso:** Óleo natural concentrado que pode ser utilizado em aromaterapia, perfumaria botânica, cosméticos e formulações de cuidados pessoais de acordo com as diretrizes legais e da IFRA.

ANEXO B - ARTIGO PUBLICADO: Lemongrass essential oil micro- and nanoencapsulation for industrial application: Production techniques and potential applications. *Archiv der Pharmazie*, v. 357, n. 6, 28 mar. 2024. DOI: [10.1002/ardp.202300726](https://doi.org/10.1002/ardp.202300726)



Received: 11 December 2023 | Revised: 6 March 2024 | Accepted: 8 March 2024
DOI: 10.1002/ardp.202300726

REVIEW ARTICLE

ARCH PHARM DPhG
Archiv der Pharmazie

Lemongrass essential oil micro- and nanoencapsulation for industrial application: Production techniques and potential applications

Thais Letícia Moreira da Silva¹ | Flávio Luís Beltrame^{1,2} |
Priscileila Colerato Ferrari^{1,2}

¹Pharmaceutical Science Post-graduation Program, State University of Ponta Grossa, Ponta Grossa, Parana, Brazil

²Department of Pharmaceutical Sciences, State University of Ponta Grossa, Ponta Grossa, Parana, Brazil

Correspondence

Priscileila Colerato Ferrari, Department of Pharmaceutical Sciences, State University of Ponta Grossa, Av. General Carlos Cavalcanti, 4748, Ponta Grossa, Paraná, Brasil.
Email: priscileila@hotmail.com and pcferrari@uepg.br

Funding information

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior; Federal Agency for Support and Evaluation of Graduate Education (CAPES). Grant/Award Number: 88887.901239/2023-00

Abstract

Due to its characteristic aroma and diverse therapeutic properties, lemongrass essential oil (LEO) has garnered increased attention in the pharmaceutical, food, and cosmetic industries. However, LEO's volatile nature, low chemical stability, and limited solubility in water limits its applications in the industry. Micro- and nanoencapsulation technologies emerge as a promising solution to overcome these challenges. A systematic methodology involving keyword searches in databases was employed to gather relevant literature on LEO micro- and nanoencapsulation, providing an extensive overview of techniques, processes, encapsulating materials, and possible applications. Beyond established methods, emerging techniques were explored. This review highlights the critical role of encapsulation in enhancing the thermal and chemical stability, applicability, bioavailability, and controlled release of LEO.

KEYWORDS

aromatic plant, *Cymbopogon*, industrial application, pharmaceutical technology, volatile oils

1 | INTRODUCTION

Plants with aromatic and medicinal properties have gained renewed interest in the pharmaceutical, food, and cosmetic industries due to increasing consumer demand for natural products. Essential oils (EO) are products obtained from these natural raw materials with potential applications in several areas, especially as flavoring, antimicrobial, and antioxidant agents. Also called volatile oils, the EO is a complex vegetable matrix composed of a mixture of volatile, lipophilic, odoriferous, and liquid compounds produced by the secondary metabolism of plants.^[1-3]

The volatile nature and low chemical stability, mainly in the presence of air, light, heat, and humidity, are disadvantages that limit industries use of this matrix. The high content of unsaturated hydrocarbons, particularly monoterpenes, and sesquiterpenes, makes

the EO matrix susceptible to oxidation, reducing its functional properties and effectiveness as a natural preservative. This chemical change can cause color variations, increased viscosity, and changes in aroma, decreasing the EO shelf-life and quality of products formulated. Also, it is important to highlight that the EO presents very low solubility in water, limiting its application in several industrial processes.^[2,4]

Therefore, encapsulation is a promising approach to overcome the mentioned problems. Encapsulation is a coating technology that creates solid particles using an encapsulating/wall/coating material to protect an active agent. Consequently, this technique is one of the most efficient and widely employed approaches for reducing the degradation, enhancing the physicochemical and thermal stability, increasing bioavailability, masking flavor, and promoting the controlled release of the active agent while maintaining the functional

© 2024 Deutsche Pharmazeutische Gesellschaft.

Arch. Pharm. 2024;e2300726.
<https://doi.org/10.1002/ardp.202300726>

wileyonlinelibrary.com/journal/ardp

1 of 21

ANEXO C - ARTIGO PUBLICADO: Nanoemulsions for Skin Delivery of Essential Oils: A Systematic Review. *Phytotherapy Research*, v. 20, n. 3, p. 847-872, 10 jan. 2026.
DOI [10.1002/ptr.70184](https://doi.org/10.1002/ptr.70184)



Phytotherapy Research

WILEY

REVIEW OPEN ACCESS

Nanoemulsions for Skin Delivery of Essential Oils: A Systematic Review

Thais Letícia Moreira da Silva¹ | Anna Claudia Moraes de Oliveira Capote¹ | Flávio Luís Beltrame² | Priscileila Colerato Ferrari²

¹Pharmaceutical Science Post-Graduation Program, State University of Ponta Grossa, Ponta Grossa, Paraná, Brazil | ²Department of Pharmaceutical Sciences, State University of Ponta Grossa, Ponta Grossa, Paraná, Brazil

Correspondence: Priscileila Colerato Ferrari (priscileila@hotmail.com; pcferrari@uepg.br)

Received: 4 September 2025 | **Revised:** 10 November 2025 | **Accepted:** 2 January 2026

Keywords: dermatology | nanocarriers | nanoencapsulation | nanotechnology | skin permeation | volatile oil

ABSTRACT

Essential oils (EOs) are recognized for their multiple health benefits. However, their high volatility, low stability, and limited water solubility limit their effective application. This systematic review aims to assess the use of nanoemulsions as delivery systems for the topical administration of EOs, highlighting their efficacy, safety, and limitations. A literature search was conducted in the PubMed, Scopus, and Web of Science databases for studies published in English before February 2025, following the PRISMA 2020 guidelines. Studies limited to in vitro or ex vivo assays, using isolated EO components, or involving non-topical applications were excluded. Twenty-two articles were included in this review, comprising EOs from 18 plant species, and applied in animal or human in vivo models for wound healing ($n=6$), anti-inflammatory/analgesic effects ($n=5$), cosmetic ($n=6$), and transdermal delivery/permeation enhancer ($n=5$). Nanoemulsions improved EOs' bioactivities, particularly their anti-inflammatory, antioxidant, and antimicrobial effects, by enhancing skin permeation, bioavailability, and skin barrier function, reducing skin irritation, and allowing a controlled release. However, the overall risk of bias, assessed using the SYRCLE and RoB 2 tools, was considered high, and the studies' heterogeneity limited direct comparisons. Therefore, further well-designed preclinical and clinical trials are needed to validate these findings and assess the potential of the EOs nanoemulsions for topical use.

1 | Introduction

Plant species can produce a wide range of products that humans have historically utilized, with essential oils (EOs) being one of the most well-known. EOs are a complex mixture of volatile, lipophilic, and odoriferous substances (terpene hydrocarbons, simple alcohols, aldehydes, ketones, phenols, esters, furans, organic acids, lactones, coumarins, and others) commonly found in aromatic plants. These natural products are typically colorless or pale yellow, liquid at room temperature, and less dense

than water (Sousa et al. 2023). Their chemical constituents have a low molecular weight (< 300), and the specific composition of each EO varies in quality and quantity depending on the plant species from which they are extracted, plant part, growing conditions, and other environmental factors (Sousa et al. 2023; Bunse et al. 2022).

EOs have gained significant popularity in various industries, including aromatherapy, food flavoring, and natural pharmacological treatments, due to their primary compounds

Abbreviations: DNFB, 2,4-dinitrofluorobenzene; DPPH, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl; EO, essential oil; GRAS, generally recognized as safe; HaCaT, human keratinocyte cell line; IgE, immunoglobulin E; IL, interleukin; MIB, minimum bactericidal concentration; MIC, minimum inhibitory concentration; NF- κ B, nuclear factor-kappa B; NLCs, nanostructured lipid carriers; NO, nitric oxide; PASI, psoriasis area and severity index; PEG, polyethylene glycol; PGE2, prostaglandin E2; PVA, polyvinyl acetate; SLNs, solid lipid nanoparticles; SPF, sun protection factor; TEWL, transepidermal water loss; TNF, tumor necrosis factor-alpha; UVB, ultraviolet B; VEGF, vascular endothelial growth factor.

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2026 The Author(s). *Phytotherapy Research* published by John Wiley & Sons Ltd.

ANEXO D - PREMIAÇÃO: Melhor trabalho apresentado no III Congresso Brasileiro de Ciências Farmacêuticas (2024).



III Congresso Brasileiro de Ciências Farmacêuticas

World Pharma Connection: voices from every continent

Conexão Farmacêutica Mundial: vozes de todos os continentes

REALIZAÇÃO



Conselho Federal de Farmácia

1º LUGAR

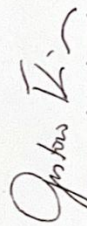
V Congresso Brasileiro de Farmácia Estética
Encontro de Inovações e Tendências em Cosmetologia
Mostra Mundial de Experiências Farmacêuticas
Meeting Novas Fronteiras da Canabidiol
Encontro Nacional de Especialização
Startup Health Summit
Empreendedorismo de Alto Impacto: Histórias que Inspiram
FarmacOnco: Inovação e Excelência na Farmácia Hospitalar e Oncológica
XI Encontro Nacional de Coordenadores de Curso de Farmácia

O Conselho Federal de Farmácia (CFF) parabeniza o trabalho científico intitulado **“Nanoencapsulation of lemongrass essential oil using nano spray drying technique”**, de autoria de Thais Letícia Moreira da Silva, Flávio Luís Beltram e Priscileila Colerato Ferrari, pela conquista do **1º lugar** entre os trabalhos apresentados no III Congresso Brasileiro de Ciências Farmacêuticas, realizado em Foz do Iguaçu/PR, de 6 a 8 de novembro de 2024.

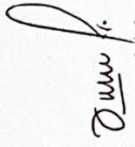
Foz do Iguaçu/PR, 8 de novembro de 2024.



Walter da Silva Jorge João
Presidente do III CBCF
Presidente do Conselho Federal de Farmácia



Luiz Gustavo de Freitas Pires
Coordenador-geral do III CBCF
Secretário-geral do Conselho Federal de Farmácia



Roberto Canquerini da Silva
Coordenador da Comissão Científica do III CBCF