



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

SARAH BRENDA FERREIRA DOS SANTOS

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS MULTIFUNCIONAIS
OBTIDOS DO ÓLEO DAS SEMENTES DE *ANNONA SQUAMOSA* L.**

FORTALEZA

2025

SARAH BRENDA FERREIRA DOS SANTOS

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS MULTIFUNCIONAIS OBTIDOS DO
ÓLEO DAS SEMENTES DE ANNONA SQUAMOSA L.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Química.
Área de concentração: Química.

Orientador: Profa. Dr^a. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo.

Coorientador (a): Dra. Tathilene Bezerra Mota Gomes Arruda.

FORTALEZA

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S238 Santos, Sarah Brenda Ferreira dos.
Síntese e caracterização de compostos multifuncionais obtidos do óleo das sementes de *Annona Squamosa* L. / Sarah Brenda Ferreira dos Santos. – 2025.
156 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2025.
Orientação: Profa. Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo.
Coorientação: Profa. Dra. Tathilene Bezerra Mota Gomes Arruda.
1. Óleo das sementes de *Annona squamosa*. 2. Lubrificantes de base biológica. 3. Nanoemulsões. 4. Carvacrol. I. Título.

CDD 540

SARAH BRENDA FERREIRA DOS SANTOS

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS MULTIFUNCIONAIS OBTIDOS DO
ÓLEO DAS SEMENTES DE ANNONA SQUAMOSA L.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Química.
Área de concentração: Química.

Orientador: Profa. Dr^a. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo.

Coorientador (a): Dra. Tathilene Bezerra Mota Gomes Arruda.

Aprovada em 28/11/2025.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Marcos Carlos de Mattos
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Livia Gurgel do Amaral Valente Sá
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Antônia Flavia Justino Uchoa
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Raimundo Rafael de Almeida
Instituto Federal do Ceará (IFCE)

A minha Maria (*in memoriam*), que dedicou sua
vida a educação dos seus filhos.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Maria Pereira dos Santos (*in memoriam*), minha *mainha*, que devo toda minha gratidão, amor e saudade infinita. Minha pequena foi a minha maior incentivadora nos estudos e trabalhou incansavelmente para que eu tivesse acesso à educação de qualidade. Devo a ela todos os valores que adquiri como pessoa, toda a minha gratidão e profunda admiração pelo ser humano incrível que sempre buscou ajudar a todos ao seu redor.

Sou imensamente grata ao meu companheiro Stéfano Arrais (Barbudinho), por todo amor, pela paciência extrema, por confiar sempre no meu potencial, por ser meu melhor amigo, por partilhar a vida ao meu lado e por ser o melhor pai que meus bebês peludos poderiam ter. E aos nossos gatos Waxy (pepetinho), Chimbilika (Tezinha) e Igor (meu bebezinho) que são a nossa alegria diária e trouxeram mais sentido às nossas vidas através de amor em forma de “ronrons”.

Agradeço imensamente a professora Nágila Maria Pontes Silva Ricardo pelo acolhimento, pela amizade, por tantos ensinamentos e conselhos dados durante toda essa jornada e pela oportunidade de trabalhar ao lado de um ser humano que busca o melhor dos seus alunos.

Agradeço ao Professor Eduardo pela colaboração dada durante o início do projeto.

À Tathilene, pela coorientação, pelas críticas construtivas e por ser uma pessoa que sempre busca procurar o lado positivo das situações.

Sou grata às maravilhosas Louhana Rebouças e Denise Ramos pela cooperação durante o desenvolvimento do trabalho, com ideias, ensinamentos, pela amizade e por sempre ajudar nas situações desafiadoras.

À Maria Júlia e Marlon Lemos por todo apoio concedido durante o desenvolvimento do projeto.

Agradeço especialmente ao Alessandro Marinho, que muitas vezes foi meu alicerce me trazendo conforto no momento mais difícil que enfrentei. Sou imensamente grata a vida pela nossa amizade e pelos momentos únicos que vivemos, pelo apoio durante a pesquisa, pelas inúmeras ideias e soluções nas situações complicadas, pelo companheirismo e por me incentivar sempre a ser melhor.

Sou imensamente grata aos meus amados companheiros de vida e pesquisa especialmente ao Elano Nery, meu *best friend forever*, que me impulsionou durante toda minha

carreira acadêmica, seja com conselhos, realização de análises e até mesmo com um ombro amigo. E a Karen Pâmela, uma irmã que a vida acadêmica me presenteou e que cedeu as portas da sua casa e família durante vários momentos de estudo sendo meu alicerce no momento mais desafiador que enfrentei na vida.

Estendo os meus agradecimentos à família LABPIM, especialmente aos meus queridíssimos David Alves, Aiêrta Cristina, Rafael, Neto, Matheus Campelo, Débora, Pedro e Deyse que também foram meu suporte em momentos desafiadores e que sempre me apoiam com a sua amizade, companheirismo e incentivo.

Ao meu irmão que ganhei após o nascimento, David de Paula, por todo apoio e companheirismo durante tantos anos de amizade, por sempre acreditar no meu potencial e por me trazer conforto nos momentos que mais precisei.

Agradeço aos membros da banca pelas valiosas contribuições neste trabalho.

Agradeço imensamente aos laboratórios parceiros que oportunizaram a realização das análises, sobretudo a Central Analítica da Universidade Federal do Ceará, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), o Parque de Desenvolvimento Tecnológico (PADETEC), o Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN), o Laboratório de Bioprospecção de Moléculas Antimicrobianas (LABIMAN), o Centro de Estudos Farmacêuticos e Cosméticos (CEFAC), o Núcleo de Pesquisas em Lubrificantes (NPL) e ao Grupo de Ligantes Asfálticos.

Sou grata ao Programa de Pós-graduação em química da Universidade Federal do Ceará por oportunizar a realização deste trabalho.

Ao departamento de química orgânica e Inorgânica pelas análises necessárias para o andamento do projeto.

E a todos que não foram citados, mas que me auxiliaram para a realização deste trabalho deixo minha profunda gratidão.

“Se estiver se sentindo desmotivado ou sentindo que não é bom o suficiente, incendeie seu coração, enxugue as lágrimas e siga em frente. Quando se entristecer ou se acovardar, lembre-se que o fluxo do tempo nunca para.” (Kyojuro Rengoku, 2016).

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo explorar o potencial do óleo extraído das sementes de *Annona squamosa* Linn. (ASSO), subproduto da indústria alimentícia, como matéria-prima para a obtenção de compostos multifuncionais de maior valor agregado. No primeiro capítulo, o ASSO foi submetido à modificação química visando à síntese de ésteres lubrificantes com potencial aplicação industrial. No segundo, o óleo foi empregado no desenvolvimento de nanoemulsões (NEs) destinadas ao encapsulamento de carvacrol, com o propósito de aprimorar seu efeito farmacológico. Os ésteres de poliol foram obtidos por rota de esterificação, precedida de hidrólise básica, empregando os polióis neopentilglicol (NPG), trimetilolpropano (TMP) e pentaeritritol (PE). A caracterização foi conduzida por Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN – ^1H), Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR), análises físico-químicas, térmicas (análise termogravimétrica – TGA e calorimetria exploratória diferencial – DSC) e reológicas. As análises estruturais confirmaram a modificação química do ASSO. Os ésteres de poliol sintetizados apresentaram elevadas taxas de conversão (>90%), baixos índices de acidez ($\sim 0,5 \text{ mg KOH g}^{-1}$) e elevados índices de viscosidade (>180). Além disso, de acordo com a viscosidade cinemática, os derivados do NPG, TMP e PE podem ser classificados nas categorias ISO VG 32, 46 e 68, e SAE 20, 30 e 40, respectivamente, demonstrando adequação para uso como lubrificantes hidráulicos e automotivos. As análises térmicas revelaram que os ésteres de poliol apresentaram maior estabilidade em comparação ao óleo não modificado, com destaque para o derivado do PE. A análise DSC revelou eventos de cristalização e fusão em faixas de temperatura positivas, demonstrando que os ésteres de poliol são adequados para aplicações em regiões de clima tropical. O perfil reológico indicou comportamento newtoniano até 40 °C e pseudoplástico acima de 60 °C. No segundo capítulo, as NEs à base de ASSO foram obtidas pelo método de emulsificação de alta energia pelo processo de irradiação ultrassônica. As formulações foram submetidas à caracterização físico-química e avaliação do potencial farmacológico. A citocompatibilidade foi verificada por meio do ensaio de liberação da enzima lactato desidrogenase (LDH), enquanto a atividade anti-inflamatória foi investigada por ensaios de degranulação de neutrófilos estimulados com forbol-12-miristato-13-acetato (PMA). Além disso, avaliou-se a atividade antifúngica das formulações frente a diferentes espécies do gênero *Candida*. As NEs apresentaram estabilidade coloidal, com diâmetro hidrodinâmico na faixa de 170 nm, valores de índice de polidispersividade (PDI) próximos 0,1 e potencial ζ superior a $|30 \text{ mV}|$. As formulações exibiram elevada eficiência de encapsulamento (%EE >99%) e capacidade de liberação sustentada do ativo, atingindo

liberação acumulada de 26% (745 μg) em 72 h, cuja cinética de liberação se adequou ao modelo de Korsmeyer–Peppas, com mecanismo de liberação denominado super caso II. Os ensaios de citocompatibilidade não indicaram efeito de toxicidade em neutrófilos humanos, tanto para o carvacrol livre (CARV) quanto para as NEs contendo carvacrol (CNE). Os testes microbiológicos evidenciaram que o potencial antifúngico da formulação CNE é consideravelmente superior ao ativo não encapsulado. Além disso, os ensaios anti-inflamatórios demonstraram que as NEs foram capazes de potencializar o efeito biológico carvacrol, com eficácia em concentrações dez vezes menores (5 $\mu\text{g mL}^{-1}$) em relação ao CARV livre (50 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Em conjunto, os resultados confirmam que tanto os ésteres de poliol derivados de ASSO quanto as NEs desenvolvidas representam alternativas promissoras para aplicações industriais e farmacológicas, ressaltando o elevado potencial deste recurso natural como base renovável para o desenvolvimento de produtos de alto valor agregado.

Palavras-chave: óleo das sementes de *Annona squamosa*; lubrificantes de base biológica; nanoemulsões; carvacrol, aplicações industriais e farmacológicas.

ABSTRACT

This research aimed to explore the utilization of oil extracted from *Annona squamosa* Linn. seeds (ASSO), a byproduct of the food industry, as a raw material for obtaining multifunctional compounds with higher added value. In the first chapter, ASSO was subjected to chemical modification aiming at the synthesis of lubricating esters with potential industrial application. In the second chapter, the oil was used in the development of nanoemulsions (NEs) intended for the encapsulation of carvacrol, with the purpose of improving its pharmacological effect. The polyol esters were obtained by an esterification route, preceded by basic hydrolysis, using the polyols neopentyl glycol (NPG), trimethylolpropane (TMP), and pentaerythritol (PE). Characterization was conducted by Hydrogen Nuclear Magnetic Resonance (^1H NMR), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), physicochemical, thermal (thermogravimetric analysis – TGA and differential scanning calorimetry – DSC), and rheological analyses. Structural analyses confirmed the chemical modification of ASSO. The synthesized polyol esters showed high conversion rates ($>90\%$), low acidity indices (~ 0.5 mg KOH g^{-1}), and high viscosity indices (>180). Furthermore, according to the kinematic viscosity, the NPG, TMP, and PE derivatives may be classified into ISO VG 32, 46, and 68, and SAE 20, 30, and 40 categories, respectively, demonstrating suitability for use as hydraulic and automotive lubricants. Thermal analyses revealed that the polyol esters showed greater stability compared to the unmodified oil, especially the PE derivative. DSC analysis revealed crystallization and melting events in positive temperature ranges, demonstrating that the polyesters are suitable for applications in tropical climates. The rheological properties obtained demonstrated that the samples exhibited Newtonian fluid behavior up to 40°C and pseudoplastic behavior above 60°C . In the second stage, ASSO-based nanoemulsions (NEs) were obtained by the high-energy emulsification method using the ultrasonic irradiation process. The formulations were subjected to physicochemical characterization and evaluation of their pharmacological potential. Cytocompatibility was verified by means of the lactate dehydrogenase (LDH) enzyme release assay, while anti-inflammatory activity was investigated by neutrophil degranulation assays stimulated with phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA). In addition, the antifungal activity of the formulations against different species of the *Candida* genus was evaluated. The NEs showed colloidal stability, with a hydrodynamic diameter in the range of 170 nm, polydispersity index (PDI) values close to 0.1, and a ζ potential greater than $|30\text{ mV}|$. The formulations exhibited high encapsulation efficiency (%EE $>99\%$) and sustained release capacity of the active ingredient, reaching a cumulative release of 26% (745 μg) in 72 h, whose release kinetics fit

the Korsmeyer-Peppas model, with a release mechanism denominated super case II. Cytocompatibility assays did not indicate a toxicity effect on human neutrophils, neither for free carvacrol (CARV) nor for the carvacrol-loaded nanoemulsion (CNE). Microbiological tests showed that the antifungal potential of the CNE formulation is considerably superior to the unencapsulated active ingredient. Furthermore, anti-inflammatory assays demonstrated that the NEs were able to potentiate the biological effect of carvacrol, with efficacy at concentrations ten times lower ($5 \mu\text{g mL}^{-1}$) compared to free CARV ($50 \mu\text{g mL}^{-1}$). Taken together, the results confirm that both the ASSO-derived polyesters and the developed NEs represent promising alternatives for industrial and pharmacological applications, highlighting the high potential of this natural resource as a renewable base for the development of high value-added products.

Keywords: *Annona squamosa* seed oil; bio-based lubricants; nanoemulsions; carvacrol; industrial and pharmacological applications.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Projeções do mercado global de biolubrificantes derivados de fontes animais e vegetais.....	30
Figura 2 –	Mercado global de biolubrificantes de acordo com os continentes.....	31
Figura 3 –	Representação dos frutos, sementes e estrutura química do óleo obtido das sementes de <i>Annona squamosa</i> L.	33
Figura 4 –	Esquema reacional da eliminação do hidrogênio β e produção do éster de poliol.....	35
Figura 5 –	Esquema reacional da reação de Fisher.....	36
Figura 6 –	Esquema representativo da rota sintética utilizada para produção dos ésteres lubrificantes derivados de ASSO.....	43
Figura 7 –	Espectros de absorção de FTIR do óleo das sementes de <i>Annona squamosa</i> e seus derivados.....	51
Figura 8 –	Espectros de RMN ^1H de ASSO e seus derivados.....	54
Figura 9 –	Análises termogravimétricas de ASSO e seus derivados sintetizados. (A) Curvas de TGA e (B) Curvas de DTG.....	60
Figura 10 –	Termogramas de DSC das amostras ANPGE (A), ATMPE (B) e APEE (C).....	64
Figura 11 –	Parâmetros cinéticos das amostras ANPGE, ATMPE e APEE. (a) Curvas de TGA das amostras ANPGE, ATMPE e APEE. (b) linhas de regressão das amostras ANPGE, ATMPE e APEE.....	68
Figura 12 –	Efeito da temperatura no comportamento da viscosidade das amostras ANPGE, ATMPE e APEE a uma taxa de cisalhamento constante de 10 s^{-1}	70
Figura 13 –	Energia de ativação de fluxo das amostras ANPGE, ATMPE e APEE.....	71
Figura 14 –	Tensão de cisalhamento versus taxa de cisalhamento e efeito da taxa de cisalhamento no comportamento da viscosidade de ANPGE, ATMPE e APEE em diferentes temperaturas.....	73
Figura 15 –	Curvas de regressão linear das amostras: ANPGE (A), ATMPE (B) e APEE (C).....	74

Figura 16 –	Estrutura química do carvacrol.....	86
Figura 17 –	Representação esquemática dos sistemas nanocarreadores de fármacos.....	89
Figura 18 –	Representação esquemática do sistema bifásico das emulsões.....	90
Figura 19 –	Representação dos principais mecanismos de desestabilização em emulsões	92
Figura 20 –	Representação do procedimento realizado para obtenção das nanoemulsões.....	98
Figura 21 –	Caracterizações realizadas para a formulação otimizada.....	99
Figura 22 –	Processo de extração e ensaios de citocompatibilidade do óleo de sementes de <i>Annona squamosa</i> . (a) extração de ASSO, (b) ensaio da atividade de LDH e (c) ensaio de liberação da MPO.....	108
Figura 23 –	Gráfico de distribuição dos diâmetros hidrodinâmicos das formulações CNE e BNE.....	113
Figura 24 –	Testes de estabilidade termodinâmica das formulações BNE e CNE..	115
Figura 25 –	Estudos de estabilidade de armazenamento da formulação CNE por 90 dias a 25°C.....	116
Figura 26 –	Ensaios morfológicos das formulações CNE e BNE.	117
Figura 27 –	Curvas de varredura e calibração do carvacrol.....	119
Figura 28 –	Espectros de varredura (a) e curva de calibração das soluções de carvacrol no meio receptor (b).....	123
Figura 29 –	Perfil de liberação do carvacrol em sua forma livre (CARV) e encapsulado na formulação CNE.....	124
Figura 30 –	Avaliação da citotoxicidade do CARV (carvacrol livre) e da formulação CNE em neutrófilos humanos (atividade da enzima lactato desidrogenase – LDH)	127
Figura 31 –	Efeito do carvacrol livre (CARV), nanoemulsão em branco (BNE) e nanoemulsão carregada com carvacrol (CNE) na degranulação de neutrófilos humanos avaliada pela liberação da enzima mieloperoxidase (MPO).....	128

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Classificação de óleos bases de acordo com a Classificação feita pelo <i>American Petroleum Institute</i>	25
Tabela 2 –	Graus de viscosidade estabelecidos pela norma ISO 3448.....	27
Tabela 3 –	Classificação de lubrificantes de acordo com a norma SAE J300.....	28
Tabela 4 –	Empresas que lideram o mercado global de biolubrificantes.....	29
Tabela 5 –	Perfil dos ácidos graxos presentes no óleo das sementes de <i>Annona squamosa</i>	49
Tabela 6 –	Atribuições das bandas do espectro na região do infravermelho para ASSO e seus derivados.....	52
Tabela 7 –	Análises físico-químicas do ASSO e seus derivados.....	56
Tabela 8 –	Eventos térmicos de ASSO e seus derivados (taxa de aquecimento de 10 °C min ⁻¹)	61
Tabela 9 –	Energia de ativação (E _a) e coeficiente de correlação (R ²) obtido pelo método de Flynn-Wall-Ozawa das amostras ANPGE, ATMPE e APEE em atmosfera oxidativa.....	69
Tabela 10 –	Curvas de regressão linear das amostras: ANPGE, ATMPE e APEE.....	75
Tabela 11 –	Descrição das formulações sintetizadas para estudo de otimização..	98
Tabela 12 –	Estudo de otimização das formulações desenvolvidas.....	111
Tabela 13 –	Análises de espalhamento de luz dinâmico das formulações CNE e BNE.....	112
Tabela 14 –	Eficiência de encapsulamento a partir do método indireto.....	120
Tabela 15 –	Eficiência de encapsulamento a partir do método direto.....	120
Tabela 16 –	Resultados dos testes de solubilidade e determinação das condições <i>sink</i>	121
Tabela 17 –	Modelos matemáticos aplicados para avaliar a cinética de liberação da formulação CNE.....	125
Tabela 18 –	Concentrações inibitórias mínimas (CIM ₅₀) das amostras frente às cepas isoladas de <i>Candida</i> spp.....	130

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACGs	Acetogenina anonácea
AFFA	Ácidos graxos livres
ANPGE	Ésteres de neopentilglicol de Annona
AOCS	American Oil Chemical Society
API	American Petroleum Institute
ASSO	Óleo extraído das sementes de Annona squamosa L.
ASTM	Sociedade Americana de Testes e Materiais
BNE	Nanoemulsão controle (branco)
CAGR	Taxa composta de crescimento anual
CARV	Carvacrol livre (composto não encapsulado)
CC%	Capacidade de carreamento
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLSM	Microscopia confocal de Varredura a Laser
CNE	Nanoemulsão contendo carvacrol encapsulado
DLS	Espalhamento de luz dinâmico
DMSO	Dimetilsulfóxido
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
DTG	Termogravimetria derivada
Ea	Energia de ativação
EE%	Eficiência de encapsulamento
EROs	Espécies reativas de oxigênio
EUA	Estados Unidos da América
FDA	Food and Drug Administration
FTIR	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho
FWO	Flynn-Wall-Ozawa
GRAS	Generally Recognized as safe
HBSS	Solução salina balanceada de Hanks
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IFIs	Infecções fúngicas invasivas
ISO	Organização Internacional de Padronização
IV	Índice de viscosidade

LD	Limite de detecção
LDH	Lactato desidrogenase
LQ	Limite de quantificação
MPO	Mieloperoxidase
NPG	Neopentilglicol
OEs	Óleos essenciais
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAG	Polialquilenoglicóis
PAO	Polialfaolefinas
PDI	Índice de polidispersividade
PE	Pentaeritritol
PKC	Proteína quinase C
PMA	Forbol 12-miristato 13-acetato
PMN	Granulócitos polimorfonucleares
POE	Polioléster
p-TSA	ácido <i>p</i> -toluenossulfônico
RMN	Ressonância magnética nuclear
SAE	Sociedade de engenheiros automotivos
STEM	Microscopia eletrônica de transmissão de varredura
TAI	Índice de acidez total
TGA	Análises termogravimétrica
TMB	3,3',3,5'-tetrametilbenzidina
TMP	Trimetilolpropano
TX	Triton X-100

SUMÁRIO

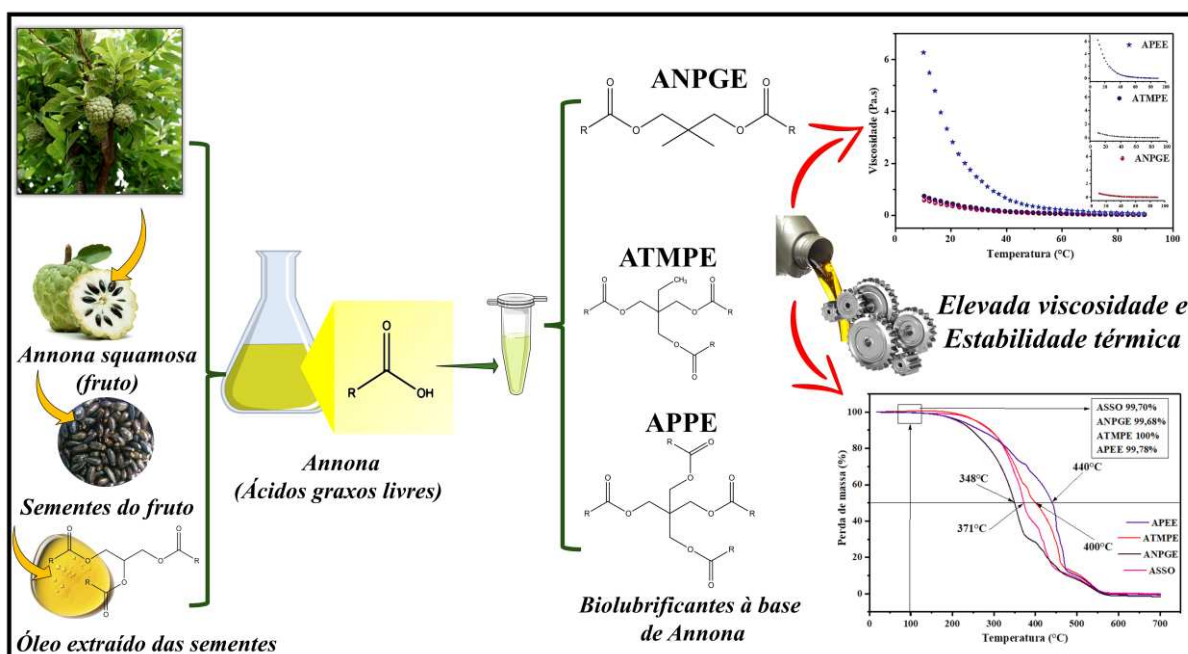
1	CAPÍTULO 1: SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE ÉSTERES LUBRIFICANTES A PARTIR DAS SEMENTES DE <i>ANNONA SQUAMOSA</i>: UM NOVO USO DE BIOMASSA TROPICAL PARA APLICAÇÕES INDUSTRIAIS.....	20
1.1	Introdução	21
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	24
2.1	Lubrificantes minerais.....	24
2.2	Biolubrificantes.....	29
2.3	<i>Annona squamosa</i> como matéria-prima para a síntese de lubrificantes de base biológica.....	32
2.4	Reações de modificação.....	34
2.5	Técnicas de caracterização para fluidos lubrificantes.....	37
3	OBJETIVOS.....	40
3.1	Objetivo geral.....	40
3.2	Objetivos específicos.....	40
4	METODOLOGIA.....	41
4.1	Materiais.....	41
4.2	Métodos.....	41
4.2.1	<i>Extração do óleo das sementes de Annona squamosa (ASSO)</i>	41
4.2.2	<i>Processo de obtenção dos ácidos graxos livres (AFFA)</i>	42
4.2.3	<i>Síntese dos ésteres lubrificantes</i>	42
4.2.4	<i>Caracterização Estrutural de ASSO e seus derivados</i>	44
4.2.4.1	<i>Determinação do perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (CG – EM)</i>	44
4.2.4.2	<i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN – ¹H)</i>	44
4.2.4.3	<i>Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</i>	45
4.2.5	<i>Análises físico-químicas</i>	45
4.2.5.1	<i>Massa Específica a 20°C</i>.....	45
4.2.5.2	<i>Viscosidade cinemática a 40 °C e a 100 °C</i>.....	45
4.2.5.3	<i>Determinação do índice de acidez total (TAI)</i>	46

4.2.6	<i>Análise Térmicas</i>	46
4.2.6.1	<i>Análise Termogravimétricas</i>	46
4.2.6.2	<i>Calorimetria exploratória diferencial (DSC)</i>	47
4.2.7	<i>Análises Reológicas</i>	48
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1	Caracterização Estrutural de ASSO e seus derivados	49
5.1.1	<i>Composição dos ácidos graxos presentes no óleo da semente de <i>Annona squamosa</i> L.</i>	49
5.1.2	<i>Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</i>	51
5.1.3	<i>Ressonância Magnética Nuclear (RMN¹H)</i>	53
5.2	Caracterização das propriedades físico-químicas	56
5.3	Análises Térmicas	58
5.3.1	<i>Análise Termogravimétrica</i>	58
5.3.2	<i>Calorimetria exploratória diferencial (DSC)</i>	64
5.3.3	<i>Determinação da Energia de Ativação</i>	66
5.4	Avaliação dos Parâmetros Reológicos	70
6	CONCLUSÃO	77
7	CAPÍTULO 2: DESENVOLVIMENTO DE NANOEMULSÕES À BASE DO ÓLEO DAS SEMENTES DE <i>ANNONA SQUAMOSA</i> LINN. E CARVACROL PARA APLICAÇÕES EM TERAPIAS ANTI-INFLAMATÓRIAS E ANTIFÚNGICAS	78
7.1	Introdução	79
8	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	82
8.1	Infecções Fúngicas Invasivas	82
8.2	Carvacrol como alternativa terapêutica	85
8.3	Potencial terapêutico do óleo extraído das sementes de <i>Annona squamosa</i> L. ..	87
8.4	Sistemas carreadores de fármacos	88
8.5	Nanoemulsões	90
8.6	Técnicas de caracterização para nanossistemas	93
9	OBJETIVOS	96
9.1	Objetivo geral	96
9.2	Objetivos específicos	96

10	METODOLOGIA	97
10.1	Materiais	97
10.2	Métodos	97
10.2.1	Preparo das nanoemulsões	97
10.2.2	Caracterização das formulações desenvolvidas	99
10.2.2.1	Espalhamento de luz dinâmico (DLS)	100
10.2.2.2	Estudos de estabilidade termodinâmica e de estocagem	100
10.2.2.3	Análises Morfológicas	101
10.2.2.4	Eficiência de Encapsulamento (EE%) e Capacidade de Carreamento (CC%)	102
10.2.5	Estudos de liberação <i>in vitro</i>	103
10.2.5.1	Determinação das condições sink	103
10.2.5.2	Ensaio de liberação	103
10.2.4	Avaliação pré-clínica de segurança e eficácia utilizando neutrófilos humanos	105
10.2.4.1	Amostras de sangue humano	105
10.2.4.2	Ensaio de lactato desidrogenase (LDH)	105
10.2.4.3	Ensaio de liberação da enzima mieloperoxidase (MPO)	106
10.2.5	Avaliação da atividade antifúngica	106
10.2.5.1	Espécies isoladas do gênero <i>Candida</i>	106
10.2.5.2	Ensaio antifúngico	107
11	RESULTADOS E DISCUSSÃO	108
11.1	Ensaio de citocompatibilidade de ASSO em neutrófilos humanos	108
11.2	Caracterização físico-química das formulações desenvolvidas	110
11.2.1	Estudo de otimização das formulações preparadas	110
11.2.2	Estudos de estabilidade da formulação otimizada	111
11.2.2.1	Espalhamento de luz dinâmico	111
11.2.2.2	Investigação da estabilidade termodinâmica estudos de estocagem	114
11.3	Análises Morfológicas	117
11.4	Eficiência de encapsulamento (EE%) e Capacidade de carreamento (CC%)	119
11.5	Estudos de liberação <i>in vitro</i>	121
11.6	Avaliação pré-clínica de segurança e eficácia utilizando neutrófilos humanos	126
11.7	Ensaio de atividade antifúngica	130
12	CONCLUSÃO	132

REFERÊNCIAS	133
APÊNDICE A – ARTIGO PUBLICADO NO “JOURNAL OF THE AMERICAN OIL CHEMISTS’ SOCIETY”	154
APÊNDICE B – PATENTE DEPOSITADA NO INSTITUTO NACIONAL DE PROPRIEDADE INDUSTRIAL.....	155
APÊNDICE C – ARTIGO PUBLICADO NO “ACS OMEGA”	156

1 CAPÍTULO 1 – SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE ÉSTERES LUBRIFICANTES A PARTIR DAS SEMENTES DE *ANNONA SQUAMOSA*: UM NOVO USO DE BIOMASSA TROPICAL PARA APLICAÇÕES INDUSTRIAIS



1.1 Introdução

Um dos principais desafios enfrentados nos processos industriais resulta do desgaste de equipamentos, causado principalmente pelo atrito entre componentes mecânicos em contato direto. Nesse contexto, os lubrificantes desempenham um papel crucial na operação e durabilidade desses sistemas, pois reduzem significativamente o atrito e o desgaste, promovendo uma maior eficiência operacional e menores perdas de energia (Ghosh, Gaurab Kumar *et al.*, 2025). Além de facilitar a movimentação entre superfícies, os lubrificantes também contribuem para a dissipação de calor, o controle da temperatura, a remoção de impurezas e a proteção contra a corrosão por processos oxidativos (Kurre; Yadav, 2023).

A produção mundial de lubrificantes é estimada em cerca de 30 a 40 milhões de toneladas anualmente. No que se refere aos meios de obtenção, grande parte dos lubrificantes empregados no mercado são produzidos a partir do óleo mineral, um recurso obtido a partir do petróleo bruto (Peng *et al.*, 2025). Em 2023, o mercado global de óleos minerais foi estimado em US\$ 4,25 bilhões, com crescimento anual esperado de 3,71%, atingindo US\$ 5,89 bilhões até 2032. Esse crescimento é impulsionado, sobretudo, pela crescente demanda do setor automotivo, no qual esses lubrificantes são amplamente utilizados em motores e equipamentos industriais, devido ao seu baixo custo e ampla aplicabilidade (Islam Sazzad *et al.*, 2024).

Apesar de sua ampla utilização no mercado global, a predominância de lubrificantes de origem petrolífera suscita relevantes preocupações ambientais, sobretudo frente à crescente escassez de recursos fósseis (Vemullapalli; Lakkoju, 2023). Estima-se que entre 50% e 70% desses produtos sejam descartados diretamente no meio ambiente, sem tratamento prévio, favorecendo a contaminação de solos e recursos hídricos e comprometendo a integridade dos ecossistemas (Muthurathinam; Perumal, 2023). Esse impacto é intensificado pelo processo de obtenção dos lubrificantes minerais, que envolve a adição de compostos tóxicos, partículas metálicas, vernizes, materiais asfálticos e solventes clorados, os quais, quando descartados de forma inadequada, intensificam significativamente os danos ambientais (Salimon; Salih; Yousif, 2010).

Diante desse cenário, torna-se essencial o desenvolvimento de alternativas energéticas sustentáveis que reduzam a dependência de recursos fósseis e seus impactos ambientais (Ude *et al.*, 2023). Nesse contexto, os biolubrificantes emergem como uma alternativa promissora, uma vez que apresentam propriedades comparáveis às dos lubrificantes minerais, aliadas às vantagens da biodegradabilidade e da baixa toxicidade, resultando em menor impacto ambiental (Karmakar *et al.*, 2020; Owuna, 2020).

Entre as diversas matérias-primas disponíveis, os lubrificantes derivados de fontes vegetais, como os óleos vegetais, destacam-se por sua elevada polaridade, característica que favorece uma melhor adesão às superfícies metálicas. Além disso, esses materiais apresentam elevada capacidade de lubrificação, baixa volatilidade, alto ponto de fulgor e elevado índice de viscosidade (Liu, Jianfang *et al.*, 2024). A literatura também aponta que, em comparação com lubrificantes de origem mineral, cerca de 95% dos lubrificantes de base vegetal exibem taxas de biodegradação aproximadamente 20% a 30% superiores às dos óleos minerais. Ademais, modificações químicas podem ser empregadas com o objetivo de aprimorar seu desempenho, especialmente no que se refere à estabilidade térmica e oxidativa, conferindo maior resistência sob diferentes condições operacionais (Vemullapalli; Lakkoju, 2023).

Dentre as promissoras fontes de oleaginosas, o óleo extraído das sementes de *Annona squamosa* Linn. (ASSO) tem se destacado por sua rica composição em ácidos graxos insaturados, particularmente os ácidos oleico e linoleico, além da presença de tocoferóis em sua composição (Mariod; Saeed Mirghani; Hussein, 2017). Trivialmente conhecida como ata, pinha, fruta-do-conde, atemóia ou cherimoia, essa espécie botânica pertencente à família Annonaceae é cultivada nas regiões tropicais das Índias Ocidentais, América Central e do Sul, Brasil, Índia, México, Taiwan e Egito (Moussa *et al.*, 2024). No Brasil, segundo dados do Censo Agropecuário realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010), o cultivo de *Annona squamosa* ocupa aproximadamente 10.500 hectares, com uma produção média anual de frutos de 21.000 toneladas. A região Nordeste responde por cerca de 70% desse total, sendo os estados da Bahia, Pernambuco e Ceará os principais produtores (Adelino De Melo *et al.*, 2023).

O cultivo dos frutos de pinha se concentra prioritariamente para aplicações na indústria alimentícia. Contudo, aproximadamente 30% da massa do fruto corresponde a sementes, que se localizam em sua porção central, as quais, com frequência, são descartadas, configurando um resíduo industrial (Parthiban; Pandian; Subramanian, 2021; Parthiban; Perumalsamy, 2016). A partir das sementes de *Annona squamosa* é possível extrair um óleo fixo de natureza não comestível, cuja composição apresenta cerca de 60% de ácidos graxos insaturados de cadeia longa, sendo o ácido oleico o seu constituinte majoritário (Mariod *et al.*, 2010). Diversos estudos sugerem que óleos vegetais ricos em ácido oleico despontam como alternativas promissoras aos lubrificantes convencionais produzidos a partir de óleos minerais e ésteres sintéticos, em razão das suas propriedades tais como elevada estabilidade térmica e oxidativa (Teh *et al.*, 2025).

Estudos prévios evidenciam o potencial do óleo extraído das sementes de *Annona squamosa* para aplicações industriais. No estudo publicado por Parthiban *et al.*, (2021) ASSO foi utilizado como matéria-prima para produção de um biodiesel que atendeu as especificações exigidas pela Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM). No estudo desenvolvido por Ashokkumar *et al.*, (2020), ASSO foi comparado ao lubrificante comercial SAE 20W40 que geralmente é utilizado em motores a diesel e a gasolina, nesse trabalho foram avaliadas as propriedades físico-química do óleo vegetal e do fluido lubrificante em que se constatou valores comparáveis entre as amostras analisadas, o que reforça o seu efeito promissor em processos industriais (Ashokkumar *et al.*, 2020; Parthiban; Pandian; Subramanian, 2021).

Contudo, a aplicação direta do óleo vegetal (ASSO) como fluido lubrificante torna-se limitada devido à sua estrutura molecular. A presença de um átomo de hidrogênio na posição β do glicerol resulta em uma maior suscetibilidade do óleo a sofrer reações de eliminação e oxidação, o que promove sua decomposição mais rápida (Ferreira et al., 2019; Rios et al., 2020)

Essa limitação pode ser contornada, por meio de modificações estruturais no óleo vegetal. Nesse contexto, as reações de esterificação podem ser empregadas para aumentar a estabilidade térmica de diferentes óleos vegetais (Marques *et al.*, 2019a). Nessas reações, a substituição do glicerol por álcoois de cadeia longa, como neopentilglicol (NPG), trimetilolpropano (TMP) e pentaeritritol (PE) promove a obtenção de moléculas de ésteres sem o hidrogênio na posição β , o que resulta em um aprimoramento significativo da estabilidade de compostos derivados dos polióis supracitados e potencializa à sua resistência contra processos de decomposição (Moreira *et al.*, 2022; Ramos Moreira *et al.*, 2025).

Nesse contexto, dada a escassez de pesquisas sobre a aplicação do óleo obtido a partir das sementes de *Annona squamosa* Linn como recurso para a produção de biolubrificantes, este estudo se concentra na síntese e caracterização de ésteres de poliálcool para potencial uso como lubrificantes. A pesquisa concentra-se especificamente na modificação química do óleo vegetal com os polióis NPG, TMP e PE para obter ésteres com propriedades lubrificantes, avaliando o seu potencial para aplicações industriais. As estruturas dos ésteres dos polióis foram confirmadas por Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FTIR) e Ressonância Magnética Nuclear de Prótons (RMN de ^1H). Além disso, as propriedades físico-químicas, reológicas e de decomposição térmica dos ésteres de polióis foram investigadas minuciosamente para avaliar o desempenho das amostras desenvolvidas.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Lubrificantes Minerais

Lubrificantes são materiais amplamente empregados na indústria com a finalidade de reduzir o atrito e facilitar o movimento relativo entre superfícies em contato. Quanto à sua classificação, esses materiais podem ser categorizados com base na origem do recurso básico, predominantemente o petróleo bruto, sendo tradicionalmente agrupados em três classes principais: óleos minerais, óleos de refino e óleos sintéticos (Vemullapalli; Lakkoju, 2023).

Os óleos minerais compreendem aqueles diretamente derivados de reservas petrolíferas, cuja obtenção apresenta baixo custo, uma vez que correspondem a frações lubrificantes obtidas durante o processo de destilação no refino do petróleo bruto (Vemullapalli; Lakkoju, 2023). Os óleos de refino, embora também originados do petróleo, são submetidos a etapas adicionais de purificação para a remoção de contaminantes; exemplos representativos incluem os óleos parafínicos, naftênicos e aromáticos (Singh, Yashvir *et al.*, 2017). Por sua vez, os óleos sintéticos são obtidos por meio da modificação química do óleo de petróleo ou de matérias-primas petroquímicas, apresentando, em geral, maior estabilidade térmica e oxidativa em comparação às bases minerais. Contudo, o processo de obtenção desses lubrificantes envolve custos mais elevados, destacando-se, nessa categoria, os ésteres sintéticos, os silicones e as polialfaolefinas (Nowak; Kucharska; Kamiński, 2019).

No início da década de 1990, o *American Petroleum Institute* (API) estabeleceu um sistema de classificação para óleos básicos lubrificantes, fundamentado na avaliação de três parâmetros essenciais: o teor de compostos saturados, associado à maior estabilidade térmica e oxidativa; o teor de enxofre, que influencia diretamente o desempenho do lubrificante, especialmente em ambientes de elevada acidez; e o índice de viscosidade, que descreve o comportamento reológico do fluido frente a variações de temperatura. Com base nesses critérios, o API organizou os óleos básicos em cinco grupos principais, apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Classificação de óleos bases de acordo com o *American Petroleum Institute*.

Classificação	Compostos saturados (%)	Índice de enxofre (%)	Índice de viscosidade
Grupo I	<90	>0,03	80 – 120
Grupo II	>90	<0,03	80 – 120
Grupo III	>90	<0,03	>120
Grupo IV	Polialfaolefinas – PAO: Lubrificantes preparados a partir de hidrocarbonetos sintéticos		>120
Grupo V	Todos os óleos básicos não incluídos nos Grupos I, II, III ou IV.		

Fonte: Adaptado de *Machnery Lubrication*, (2012).

De acordo com a classificação elaborada pelo instituto API, os grupos I, II e III podem ser classificados como óleos minerais, pois derivam do petróleo bruto. Pertencem ao Grupo I os óleos lubrificantes obtidos pelo refino do petróleo bruto com a utilização de solventes, processo que remove estruturas químicas instáveis, como compostos aromáticos e moléculas com duplas ligações. Esse método, amplamente adotado desde a década de 1940, destaca-se pela simplicidade, resultando em óleos de menor valor agregado no mercado (API, 2025).

Os Grupos II e III compreendem os óleos básicos obtidos pelo processo de hidrocrackeamento, processo no qual a remoção de impurezas ocorre por meio do gás hidrogênio, o que garante um melhor desempenho ao produto final. Embora estes grupos sejam submetidos a mesma técnica de purificação, o Grupo III é submetido a condições mais severas de pressão e temperatura em comparação ao Grupo II. Como resultado, os óleos minerais pertencentes a esse grupo apresentam índices de viscosidade mais elevados e maior resistência à oxidação quando comparados ao grupo II (Adhvaryu *et al.*, 2001).

O Grupo IV é composto pelas polialfaolefinas (PAOs), que são compostos formulados a partir de hidrocarbonetos sintéticos, o que resulta na obtenção de produtos com elevados índices de viscosidade (geralmente superior a 120), além disso, devido à complexidade de produção destes óleos, os custos de produção são consideravelmente superiores em relação aos lubrificantes pertencentes aos grupos I, II e III (Fang *et al.*, 2025).

O grupo V engloba todas as outras categorias que não se enquadram nos grupos anteriores, como ésteres sintéticos, silicones, óleos básicos naftênicos, polialquilenoglicóis

(PAGs), polioléster (POE), além de biolubrificantes. Os ésteres sintéticos desse grupo são frequentemente adicionados a formulações de óleos minerais para aprimorar suas propriedades. Um exemplo prático existente no mercado é o óleo lubrificante *Polyolester 32* (POE 32), um lubrificante empregado em sistemas de refrigeração. Esse produto é formulado pela adição de um éster sintetizado com poliol, que resulta na obtenção de um produto com melhor desempenho quando comparado ao óleo básico não modificado (API, 2025).

Além da classificação determinada pelo API, os lubrificantes também podem ser categorizados com base nos critérios: aparência física e aplicações industriais. Quanto a aparência física, os lubrificantes podem ser classificados como: sólidos, cuja composição geralmente é de materiais inorgânicos ou orgânicos tais como: grafite, dissulfeto de molibdênio e dissulfeto de cádmio; líquidos semissólidos com matrizes de espessantes, tais como a graxa. Os lubrificantes líquidos são compostos por dois constituintes principais: um óleo base, geralmente são derivados do petróleo bruto e aditivos (Singh, Yashvir *et al.*, 2017).

No contexto da aplicação de óleos lubrificantes em sistemas operacionais, a viscosidade é um dos principais parâmetros a ser considerado. Compreender esse atributo é essencial para avaliar o desempenho do fluido lubrificante (Kalam *et al.*, 2017). A viscosidade pode ser classificada em duas categorias distintas: dinâmica e cinemática. A viscosidade dinâmica refere-se à resistência interna do fluido ao escoamento, e representa forças de atrito inerentes as camadas internas de um fluido que se movem umas sobre as outras. Quanto maiores essas forças de atrito, mais viscoso será o fluido. Nesse sentido, a estrutura da cadeia carbônica presente no lubrificante exerce grande influência sobre seu comportamento de fluxo, pois cadeias mais longas favorecem interações moleculares mais intensas, aumentando a viscosidade (Zainal *et al.*, 2018).

Já a viscosidade cinemática é um parâmetro que representa a resistência ao fluxo de um líquido sob a gravidade, seu valor é medido pela razão entre a viscosidade dinâmica e a densidade do fluido a uma determinada temperatura. Este parâmetro é amplamente utilizado na classificação de lubrificantes, por estar diretamente relacionado à espessura do filme lubrificante formado entre superfícies em movimento (Mohamed Musthafa, 2016).

A aplicação dos óleos lubrificantes é orientada por padrões internacionais, como os definidos pela Organização Internacional de Padronização (ISO) e pela Sociedade de Engenheiros Automotivos (SAE). Esses órgãos estabelecem critérios de classificação para lubrificantes industriais e automotivos, respectivamente, com base em medições da viscosidade cinemática realizadas às temperaturas de 40 °C e 100 °C.

Os lubrificantes automotivos são amplamente utilizados na indústria automobilística e de transportes, incluindo óleos de motor, fluidos de transmissão, lubrificantes para caixas de engrenagens, além de fluidos de freio e hidráulicos. Já os lubrificantes industriais abrangem óleos para máquinas, compressores, fluidos de usinagem de metais e óleos hidráulicos (Kurre; Yadav, 2023).

Para fins industriais, os lubrificantes são classificados de acordo com o Grau de Viscosidade ISO (ISO VG), conforme estabelecido pela norma ISO 3448:1992. O termo "VG" refere-se ao grau de viscosidade, seguido de um número que indica a viscosidade média do fluido a 40 °C, com uma variação admissível de $\pm 10\%$. Essa temperatura é adotada como referência por refletir as condições típicas de operação dos sistemas industriais (ISO 3448). A Tabela 2 apresenta os diferentes graus de viscosidade segundo a norma ISO 3448.

Tabela 2 – Graus de viscosidade estabelecidos pela norma ISO 3448.

Grau de Viscosidade a 40°C	Viscosidade cinemática – valor médio (mm² s⁻¹)	Limites min – max (mm² s⁻¹)
ISO VG 10	10	9 – 11
ISO VG 100	100	90 – 110
ISO VG 1000	1000	900 – 1100
ISO VG 15	15	13,5 – 16,5
ISO VG 150	150	135 – 165
ISO VG 1500	1500	1350 – 1650
ISO VG 2	2,2	1,98 – 2,42
ISO VG 22	22	19,8 – 24,2
ISO VG 220	220	198 – 242
ISO VG 3	3,2	2,88– 3,52
ISO VG 32	32	28,8– 35,2
ISO VG 320	32	28,8– 35,2
ISO VG 46	46	41,4 – 50,6
ISO VG 460	460	414 – 506
ISO VG 5	4,6	4,14 – 5,06
ISO VG 68	68	61,2 – 74,8
ISO VG 680	680	612 – 748
ISO VG 7	6,8	6,12 – 7,48

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Para aplicações no setor automotivo a classificação de lubrificantes é feita de acordo com as normas estabelecidas pela Sociedade de Engenheiros Automotivos (SAE). O padrão SAE classifica óleos lubrificantes de acordo com a viscosidade cinemática avaliada a 100 °C (Islam Sazzad *et al.*, 2024). Este parâmetro avalia a capacidade de fluxo do fluido lubrificante quando submetido a condições operacionais de calor (temperaturas elevadas) e frio (temperaturas mais baixas). O grau de viscosidade obtido a partir das análises permite classificar óleos lubrificantes em dois diferentes grupos, óleos multiviscosos e monoviscosos. Sendo o primeiro grupo amplamente utilizado para sistemas operacionais pois apresentam fluxo ideal em baixas temperaturas e bom desempenho em temperaturas elevadas (Allmaier; Sander; Bastidas, 2023). A Tabela 3 exibe os valores relativos aos graus de viscosidade cinemática a 100 °C estabelecidos pelo padrão SAE.

Tabela 3 – Classificação de lubrificantes de acordo com a norma SAE J 300.

Grau de viscosidade -SAE*	Viscosidade mínima a	Viscosidade máxima a
	100 °C (mm ² /s)	100 °C (mm ² /s)
0W	3,8	--
10W	4,1	--
15W	5,6	--
20	5,6	<9,3
20W	5,6	--
25W	9,3	--
30	9,3	<12,5
40	12,5	<16,3
50	16,3	<21,9
5W	3,8	--
60	21,9	<26,1

*O sufixo W refere-se a lubrificantes que fluem a temperaturas negativas.

Fonte: Adaptado de *Engine Oil Viscosity Classification* (SAE J 300, 1999).

A ampla versatilidade de aplicação confere aos lubrificantes derivados do petróleo um papel de destaque no mercado global, apesar do crescente custo ambiental associado à exploração desses recursos. O setor automobilístico figura como o principal impulsionador

dessa demanda, em razão do uso extensivo desses lubrificantes em motores e equipamentos industriais (Islam Sazzad *et al.*, 2024; Wang; Huang; Guo, 2022). Entretanto, em resposta às crescentes preocupações ambientais, agências reguladoras têm atuado em conjunto com a comunidade científica no desenvolvimento de alternativas sustentáveis que apresentem desempenho industrial comparável ao dos lubrificantes minerais, aliando eficiência técnica e menor impacto ambiental (Rajak *et al.*, 2026).

2.2 Biolubrificantes

Os lubrificantes de base biológica representam alternativas sustentáveis quando comparados aos lubrificantes obtidos a partir de fontes minerais, pois apresentam propriedades similares às dos lubrificantes minerais, mas sem os impactos ambientais adversos (Ramos Moreira *et al.*, 2025). Por serem biodegradáveis e ambientalmente benignos, os biolubrificantes representam uma alternativa viável para reduzir os danos ecológicos causados pelo uso de derivados de fontes petrolíferas (Owuna *et al.*, 2020a).

Em um contexto de crescente preocupação ambiental, os critérios de sustentabilidade, saúde e segurança vêm adquirindo relevância na escolha e aplicação de lubrificantes. Dessa forma, projeta-se um aumento significativo na utilização de biolubrificantes nos próximos anos, especialmente nos setores automotivo e industrial. Atualmente, existem mais de 1.700 indústrias de produção de biolubrificantes em todo o mundo (Kurre; Yadav, 2023). A Tabela 4 apresenta empresas que lideram na atualidade o mercado de biolubrificantes no mercado mundial, assim como seus respectivos países de origem.

Tabela 4 – Empresas que lideram o mercado global de biolubrificantes.

Empresa/Companhia	Países de origem
<i>TotalEnergies</i>	França
<i>Exxon Mobil Corporation</i>	Estados Unidos da América (EUA)
<i>Shell plc</i>	Países baixos
<i>CASTROL Limited</i>	Reino Unido
<i>PETRONAS Lubricants International</i>	Malásia
<i>Klüber Lubrication</i>	Alemanha

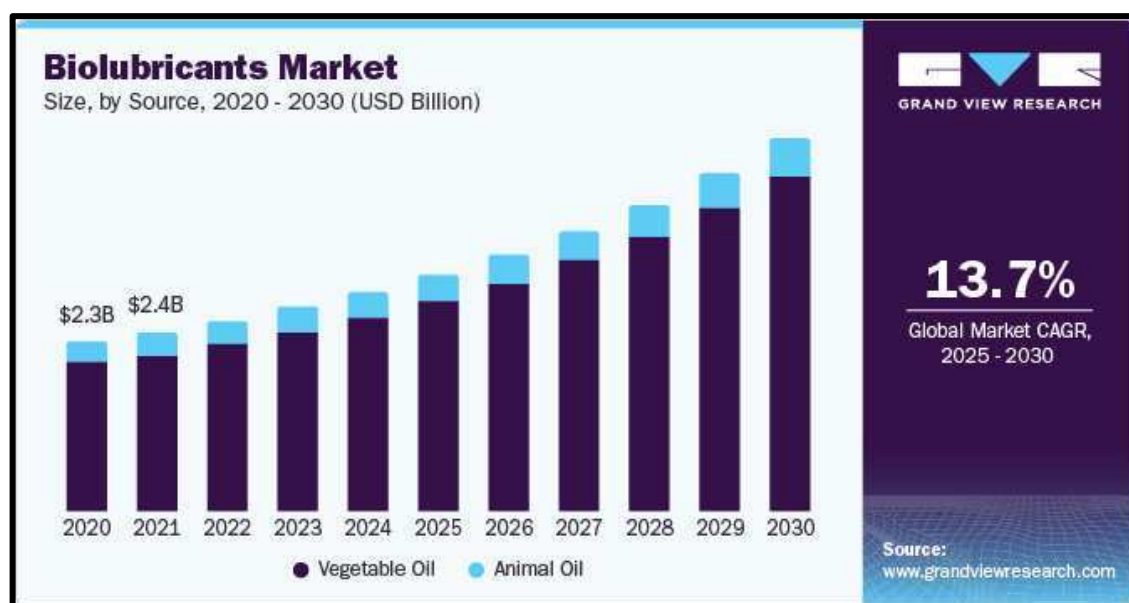
Emery Oleochemicals
Albemarle Corporation
Chevron Corporation
Fuchs Group

Estados Unidos da América (EUA)
 Estados Unidos da América (EUA)
 Estados Unidos da América (EUA)
 Alemanha

Fonte: Adaptado de *Grand View Research* (2024), acessado em (2025).

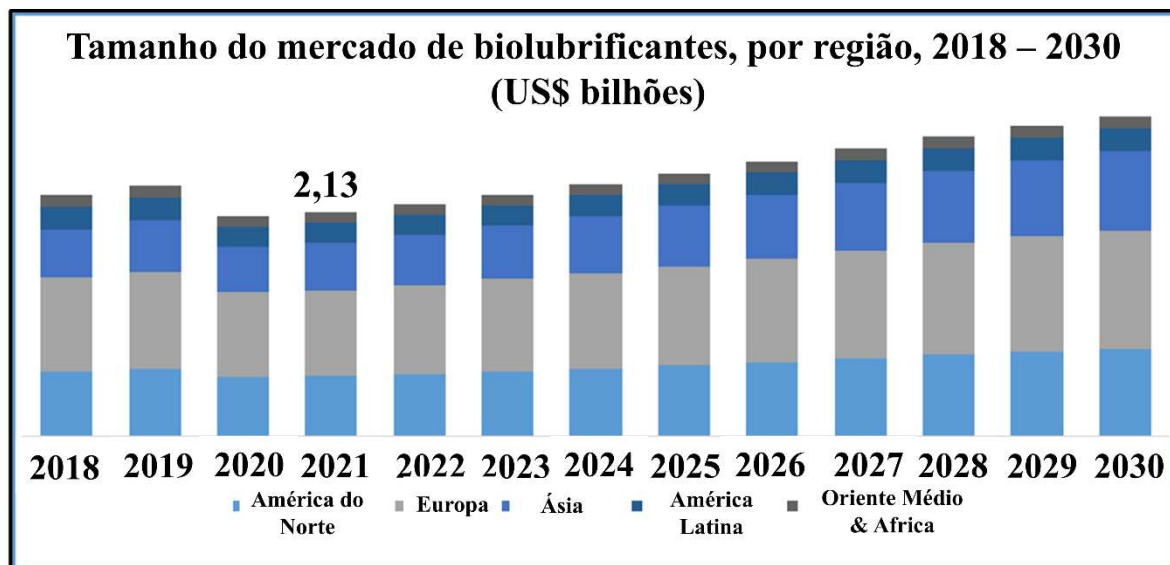
No que tange à aplicabilidade no mercado global, a Figura 1 exibe as projeções para o mercado de biolubrificantes provenientes de fontes vegetais e animais até 2030, enquanto a Figura 2 ilustra a evolução desse mercado entre os anos de 2018 e 2030, segmentado por continentes. De acordo com os dados demonstrados, verifica-se que o mercado global de biolubrificantes foi avaliado em 2,95 bilhões de dólares em 2024, com projeção de crescimento a uma taxa composta de crescimento anual (CAGR) de 13,7% entre 2025 e 2030 (*Grand View Research* – 2024). Esse crescimento é impulsionado principalmente pelo aumento da demanda por produtos ambientalmente sustentáveis e pela redução das reservas petrolíferas (Nogales-Delgado; Encinar; González, 2023).

Figura 1 – Projeções do mercado global de biolubrificantes derivados de fontes animais e vegetais.



Fonte: Adaptado de *Grand View Research* (2024) acessado em (2025).

Figura 2 – Mercado global de biolubrificantes de acordo com os continentes.



Fonte: Adaptado de *Polaris Market Research* (2022) acessado em (2025).

Diante das fontes naturais exploradas, os biolubrificantes derivados de fontes oleaginosas vegetais recebem destaque devido as suas propriedades potenciais, que incluem a baixa volatilidade, elevados índices de viscosidade, o que minimiza a sua suscetibilidade a variações de temperatura, além de apresentarem elevado ponto de fulgor e não apresentam toxicidade. Fontes oleaginosas vegetais também são abundantemente disponíveis, são de baixo custo e fáceis de descartar pois são biodegradáveis (Uppar; Dinesha; Kumar, 2023). No que se refere à biodegradabilidade, estudos indicam que os óleos lubrificantes de base vegetal apresentam um índice de degradação superior a 95%. Além disso, o processo de decomposição desses óleos ocorre a uma taxa de 20% a 30% mais rapidamente em comparação aos lubrificantes de base mineral (Hamnas; Unnikrishnan, 2023).

Quanto a composição, os óleos vegetais são constituídos majoritariamente por moléculas de triacilgliceróis (98%), cuja estrutura é formada por três grupos hidroxila esterificados com grupos carboxila de ácidos graxos. Nessa matriz estrutural, os ácidos graxos presentes na estrutura química dos óleos vegetais estão ligados a uma única estrutura de glicerol. Em menor proporção, também são encontrados digliceróis (0,5%), ácidos graxos livres (0,1%), esteróis (0,3%) e tocoferóis (0,1%) (Hamnas; Unnikrishnan, 2023).

A aplicabilidade dos óleos vegetais a processos de lubrificação está diretamente ligada a composição de ácidos graxos presentes na estrutura dos triacilgliceróis, como por exemplo o ácido oleico. Estudos demonstram que fontes vegetais contendo elevados teores de ácido oleico apresentam maior resistência contra degradação térmica (Teh *et al.*, 2025). Além

disso, a presença de ácidos graxos saturados na composição do óleo vegetal, pode favorecer na obtenção de produtos com elevados índices de viscosidade (Kim, Juyoung *et al.*, 2010a).

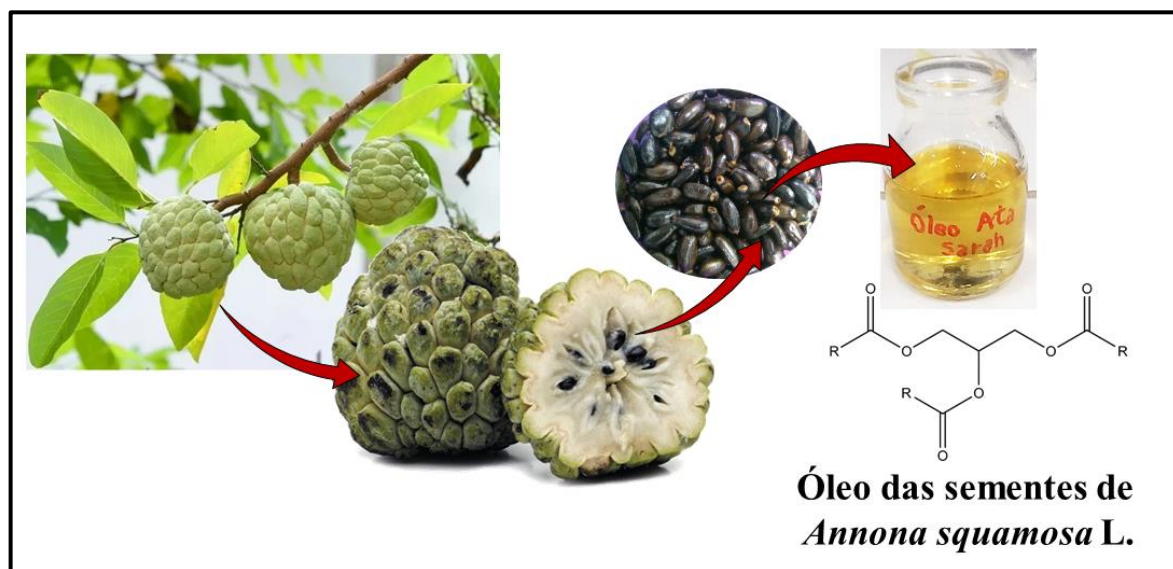
No entanto, apesar de suas propriedades promissoras, os óleos vegetais são suscetíveis a fenômenos de oxidação e polimerização, o que limita a sua aplicação direta em processos de lubrificação. Essa limitação pode estar relacionada a presença de um hidrogênio na posição β à carbonila na porção do glicerol (Kamalakar *et al.*, 2015). Tal limitação pode ser superada a partir de reações de modificação química desses óleos, que são feitas com intuito de melhorar os parâmetros de estabilidade térmica e oxidativa, permitindo assim, uma maior resistência a uma ampla gama de condições operacionais (Vemullapalli; Lakkoju, 2023).

2.3 *Annona squamosa* como matéria-prima para a síntese de lubrificantes de base biológica

Annona squamosa Linn., popularmente conhecida como pinha, ata, ou fruta do conde, é uma espécie botânica pertencente à família Annonaceae. A ata foi introduzida na Índia pelos portugueses no século XVI. As árvores frutíferas de *Annona squamosa* são cultivadas em países de clima tropical e são amplamente encontradas na África, Austrália, Índia, Indonésia, México, Polinésia e EUA (Parthiban; Pandian; Subramanian, 2021). No Brasil, é considerada uma fruta exótica cuja produção vem aumentando nos últimos anos. Atualmente, os maiores produtores de ata pertencem a região Nordeste, especialmente os estados da Bahia, Pernambuco e Ceará, que apresentam os maiores índices de produções deste fruto no país (Da Silva, André Alisson Rodrigues *et al.*, 2022).

As árvores frutíferas de *Annona squamosa* são de pequeno porte, atingindo no máximo 6 m de altura, são plantas caducifólias com muitos ramos laterais, e que se adaptam bem em regiões de clima tropical. Os frutos são verdes e apresentam protuberâncias carpelares, têm um formato ovoide e pesam cerca de 100 – 400 g, dependendo da forma e condições de cultivo. Sua polpa tem coloração branca, é comestível e possui sabor adocicado e aromático. Além disso, cada fruto possui aproximadamente 35 a 50 sementes (Mariod; Saeed Mirghani; Hussein, 2017). A Figura 3 apresenta um esquema representativo dos frutos, sementes, óleo vegetal e da estrutura química do óleo extraído das sementes de *Annona squamosa*.

Figura 3 – Representação dos frutos, sementes e estrutura química do óleo obtido das sementes de *Annona squamosa* L.



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

A partir das sementes de *Annona squamosa* pode ser extraído um óleo fixo cuja composição é predominantemente constituída por ácidos graxos insaturados, com destaque para os ácidos oleico e linoleico, que, em conjunto, correspondem a mais de 60% do total do óleo. Em relação à fração de ácidos graxos saturados, os ácidos palmítico e esteárico apresentam as maiores proporções (Mariod *et al.*, 2010). De acordo com a literatura, para a aplicação em biolubrificantes, óleos vegetais com alto teor de ácido oleico são considerados a melhor alternativa para substituir os óleos lubrificantes convencionais à base de óleos minerais e ésteres sintéticos (Ashokkumar *et al.*, 2020).

Estudos prévios indicam que o óleo das sementes de *Annona squamosa* L. (ASSO) apresenta propriedades favoráveis para aplicações industriais. No trabalho de Subramanian *et al.*, (2021), esse óleo vegetal foi empregado como matéria-prima para a produção de biodiesel, o qual atendeu aos padrões estabelecidos pela Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM). Adicionalmente, Ashokkumar *et al.*, (2020) realizaram um estudo comparativo entre as propriedades do óleo extraído das sementes de ata e o lubrificante comercial SAE 20W40, amplamente utilizado em motores a diesel e a gasolina. Nesse contexto, foram avaliados parâmetros físico-químicos, como densidade e viscosidade, sendo observado que o ASSO apresentou comportamento semelhante ao do lubrificante mineral de referência (Ashokkumar *et al.*, 2020; Parthiban; Pandian; Subramanian, 2021).

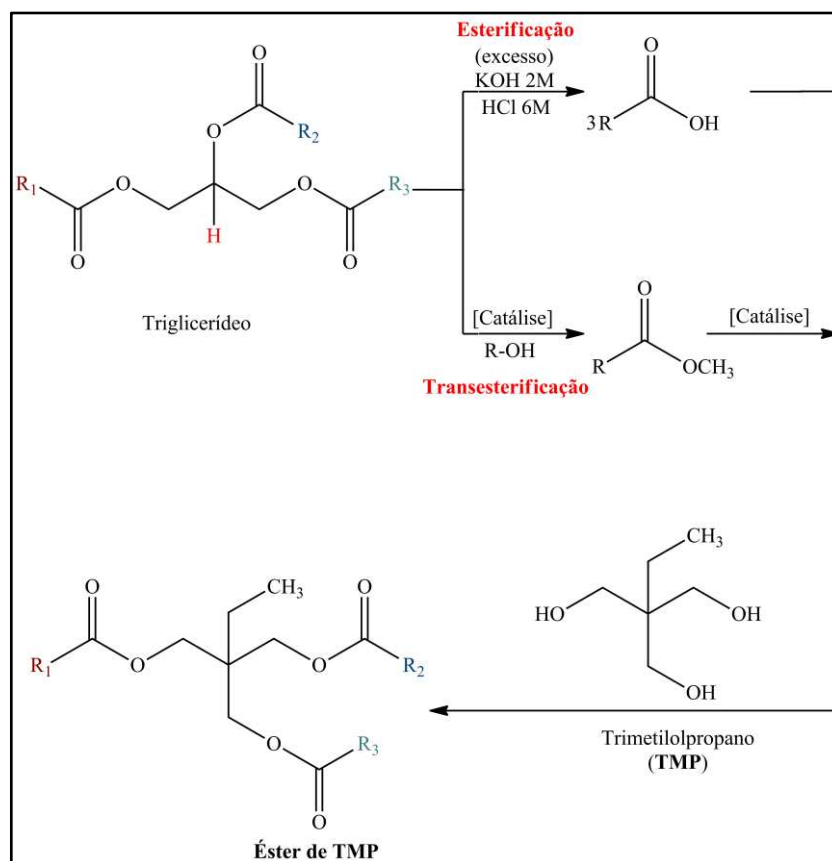
2.4 Reações de modificação

Conforme discutido anteriormente, os óleos vegetais apresentam elevado potencial para aplicações industriais quando comparados aos lubrificantes minerais. No entanto, a estrutura molecular dos triacilgliceróis que os compõem denota limitações ao seu desempenho, sobretudo devido à maior suscetibilidade à degradação térmica e oxidativa (McNutt; He, 2016). Para contornar essas restrições, diversas estratégias têm sido propostas, incluindo modificações genéticas da matéria-prima, adição de antioxidantes e modificadores de viscosidade, processos de emulsificação e reações de modificação química (Salimon; Salih; Yousif, 2010). Dentre essas abordagens, as modificações químicas destacam-se por conferirem maior estabilidade química aos óleos vegetais, uma vez que possibilitam a obtenção de novos materiais com propriedades adequadas para operação em amplas faixas de temperatura (Uppar; Dinesha; Kumar, 2023).

As reações de modificação química envolvem, de modo geral, alterações nos grupos funcionais acila ($C=O$) e alcóxi ($O-R$), bem como nas duplas ligações ($C=C$) presentes nas moléculas de triacilgliceróis. Essas transformações são realizadas principalmente por meio de processos de esterificação e transesterificação, formação de estolides, epoxidação seguida de abertura de anel e reações de acetilação (McNutt; He, 2016).

Entre os métodos mencionados, a transesterificação de óleos vegetais e a esterificação dos ácidos graxos livres correspondentes figuram como as técnicas mais amplamente empregadas, uma vez que promovem a eliminação do hidrogênio β em relação à carbonila na porção do glicerol, resultando em produtos com propriedades físico-químicas aprimoradas (Zainal *et al.*, 2018). Na transesterificação, os triacilgliceróis reagem com álcoois de cadeia curta, geralmente metanol ou etanol, na presença de catalisadores básicos, formando ésteres metílicos ou etílicos de ácidos graxos. Esses ésteres podem reagir subsequentemente com álcoois de cadeia longa, lineares ou ramificados, sob catálise ácida ou básica, originando triésteres modificados. Alternativamente, na rota de esterificação, o óleo vegetal é inicialmente convertido em ácidos graxos livres, os quais reagem diretamente com álcoois de cadeia longa para formar os respectivos ésteres (Hamnas; Unnikrishnan, 2023). A Figura 4 ilustra a eliminação do hidrogênio β e a subsequente obtenção de ésteres lubrificantes por meio das reações de esterificação e transesterificação.

Figura 4 – Esquema reacional da eliminação do hidrogênio β e produção do éster de polioli.



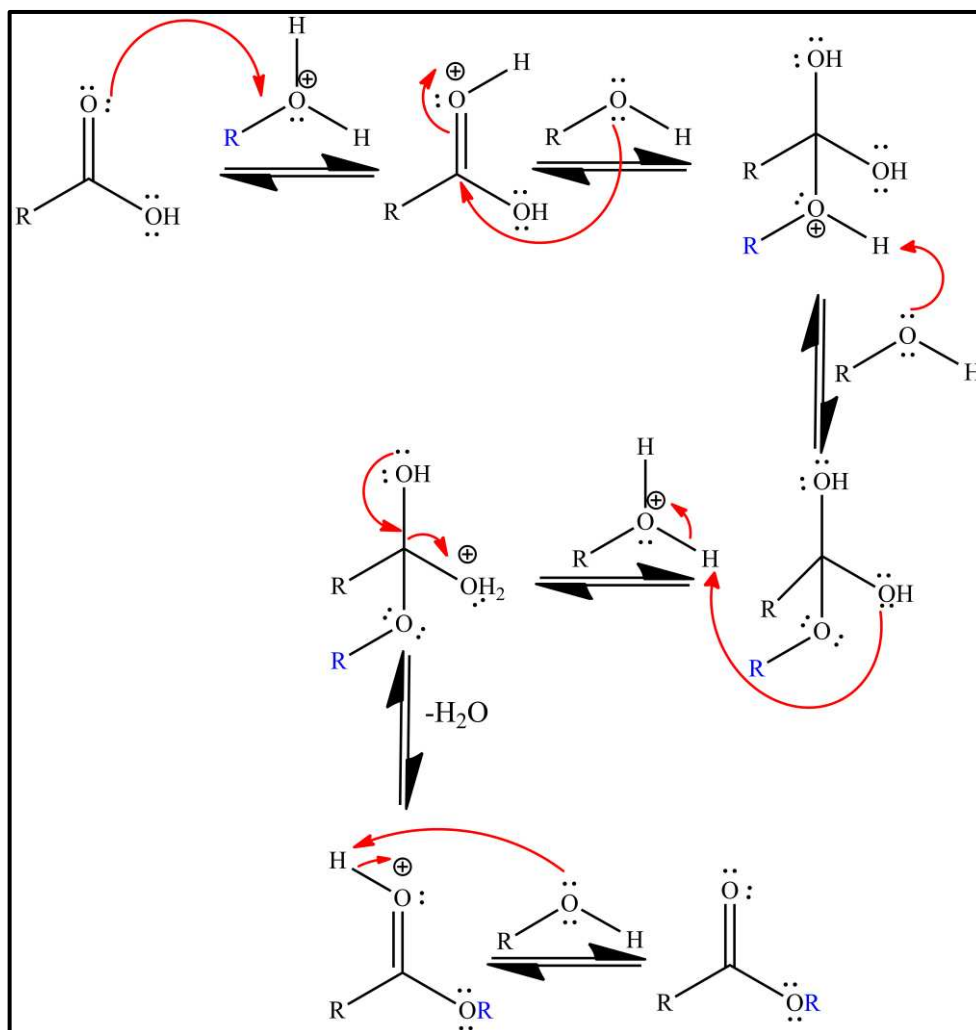
Fonte: Elaborado pela autora (2026).

O processo de transesterificação é mais adequado para matérias-primas com baixo teor de ácidos graxos livres. Fontes oleaginosas vegetais, por sua vez, apresentam frequentemente concentrações elevadas desses compostos, o que compromete o rendimento do processo, uma vez que a presença de ácidos graxos livres e água dificulta a eficácia da reação (Satyarthi; Srinivas; Ratnasamy, 2011). Uma estratégia eficiente utilizada para contornar essa limitação consiste na hidrólise inicial do óleo vegetal, visando à obtenção dos ácidos graxos livres, seguida de sua esterificação. Assim, no presente estudo, a síntese dos biolubrificantes foi realizada por meio da esterificação de Fischer, precedida por uma etapa inicial de hidrólise para a obtenção dos ácidos graxos livres.

As reações de esterificação, cujo esquema reacional é apresentado na Figura 5, são amplamente empregadas em processos industriais. Essas reações ocorrem sob aquecimento entre moléculas de ácidos carboxílicos e álcoois para a formação de ésteres, na presença de catalisadores adequados (Khan *et al.*, 2021). O equilíbrio químico dessas reações é governado pelo princípio de Le Châtelier, sendo alcançado após determinado período e influenciado pela

cinética do processo. Estratégias como o uso de excesso de um dos reagentes, geralmente o álcool, ou a remoção contínua da água formada podem deslocar o equilíbrio no sentido da formação dos produtos desejados (Marchetti; Errazu, 2008).

Figura 5 – Esquema reacional da reação de esterificação de Fischer.



Fonte: Elaborado pela autora (2026).

A conversão de ácidos graxos em ésteres resulta na formação de moléculas de éster e água, sendo esse processo amplamente explorado na literatura em razão da elevada versatilidade dos reagentes disponíveis, o que permite a obtenção de ésteres de poliol com propriedades diversificadas e ajustáveis às aplicações pretendidas (Appiah *et al.*, 2022). Dessa forma, parâmetros como o tipo de catalisador, a razão molar álcool/ácido graxo, a temperatura de reação e o teor de água exercem influência direta sobre a eficiência e o rendimento do processo de esterificação (Marchetti; Errazu, 2008).

Na produção de biolubrificantes, a esterificação dos ácidos graxos livres é

conduzida com álcoois de cadeia longa, lineares ou ramificados, na presença de catalisadores químicos homogêneos ou heterogêneos, preferencialmente em meio ácido, a fim de evitar a formação de sabões (reações de saponificação) associada ao uso de catalisadores alcalinos (Monteiro *et al.*, 2023).

Um catalisador ideal deve apresentar elevada atividade catalítica, cinética favorecida, facilidade de manuseio, mínima geração de resíduos e fácil separação da mistura reacional (Sert; Atalay, 2017). Entre os catalisadores homogêneos mais utilizados destacam-se os ácidos sulfúrico (H_2SO_4), clorídrico (HCl), *p*-toluenossulfônico (PTSA) e fosfórico (H_3PO_4). No grupo dos catalisadores heterogêneos, são frequentemente empregados óxidos metálicos, como o óxido de tungstênio (WO_3), e carvões ativados sulfonados (Monteiro *et al.*, 2023).

Quando comparados aos catalisadores heterogêneos, os catalisadores homogêneos apresentam maior disponibilidade de prótons livres em sistemas líquido-líquido, resultando em taxas reacionais superiores (Jyoti; Keshav; Anandkumar, 2016). Devido à sua elevada acidez, esses catalisadores promovem eficientemente a formação de íons hidrônio (H_3O^+), responsáveis pela protonação dos ácidos carboxílicos e pelo consequente aumento da taxa reacional. Ademais, esses ácidos favorecem a desidratação do meio reacional, aspecto relevante, uma vez que o teor de água influencia diretamente o rendimento e a velocidade da reação (Khan *et al.*, 2021).

2.5 Técnicas de caracterização para fluidos lubrificantes

Para aplicação no setor industrial, a avaliação do desempenho de fluidos lubrificantes baseia-se em parâmetros que determinam sua eficiência e viabilidade operacional. Dentre esses, destacam-se as propriedades reológicas, térmicas e físico-químicas, fundamentais para a definição de sua aplicabilidade no setor operacional (Kurre; Yadav, 2023).

As propriedades reológicas estão diretamente relacionadas ao comportamento de fluxo de fluidos lubrificantes e exercem papel determinante em seu desempenho operacional. Dentre elas, destacam-se a viscosidade e o índice de viscosidade. Viscosidade expressa a resistência do fluido ao escoamento e está diretamente relacionada à formação e à manutenção da película lubrificante entre as superfícies em contato. Esse parâmetro é fundamental para assegurar a separação adequada entre superfícies móveis, promovendo a redução do atrito e, consequentemente, do desgaste, o que resulta em maior eficiência do sistema lubrificado (Attia *et al.*, 2020).

A avaliação da viscosidade de um fluido lubrificante baseia-se na determinação das viscosidades cinemática e dinâmica. A viscosidade cinemática é mensurada de acordo com a

norma ASTM D445 da Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM), enquanto a viscosidade dinâmica é obtida por meio de ensaios reológicos realizados em reômetro, equipamento que permite analisar o comportamento de fluxo em função da taxa e da tensão de cisalhamento (Attia *et al.*, 2020; Mohamed Musthafa, 2016). O índice de viscosidade (IV) é calculado a partir dos valores de viscosidade cinemática a 40 °C e 100 °C, conforme a norma ASTM D2270, e expressa a estabilidade do fluido frente a variações de temperatura. Valores elevados de IV (> 120) indicam a capacidade do lubrificante de operar em uma ampla faixa térmica, mantendo variações mínimas de viscosidade (Hisham *et al.*, 2017).

O comportamento de fluxo de fluidos lubrificantes é avaliado por meio da análise da relação entre a tensão de cisalhamento e a taxa de cisalhamento, sob diferentes condições de temperatura, podendo ser descrito pela Equação (1):

$$\tau = \mu\gamma \quad (1)$$

Onde τ corresponde à tensão de cisalhamento (mPa), μ reflete a viscosidade do fluido em estudo (mPa.s) e γ representa a taxa de cisalhamento (s⁻¹). A taxa de cisalhamento expressa a velocidade relativa entre camadas adjacentes do fluido, enquanto a tensão de cisalhamento refere-se à força por unidade de área, predominantemente associada ao atrito entre as partículas (Attia *et al.*, 2020). A viscosidade dinâmica é definida pela razão entre a tensão e a taxa de cisalhamento. A avaliação desses parâmetros em diferentes temperaturas permite a caracterização do comportamento de fluxo dos fluidos em estudo. Fluidos são considerados newtonianos quando a viscosidade se mantém inalterada independente da taxa de cisalhamento aplicada, além disso observa-se uma relação linear na tensão de cisalhamento com o aumento da taxa de cisalhamento (Pawar; Hulwan; Mandale, 2022).

As propriedades físico-químicas estão diretamente relacionadas à composição química dos lubrificantes, incluindo parâmetros como acidez, comprimento da cadeia carbônica e grau de insaturação. A avaliação dessas propriedades é essencial para compreender a interação do fluido com as superfícies em contato, bem como para assegurar a eficiência do processo de lubrificação (Hamnas; Unnikrishnan, 2023).

A caracterização físico-química é conduzida conforme padrões internacionais, estabelecidos por normas europeias e norte-americanas, sendo os ensaios realizados de acordo com os métodos da *American Society for Testing and Materials* (ASTM) e da *American Oil Chemists' Society* (AOCS). Dentre esses, os métodos ASTM destacam-se como os mais amplamente empregados na avaliação de lubrificantes pela indústria em escala global (Pawar; Hulwan; Mandale, 2022).

Dentre os parâmetros avaliados, destaca-se o índice de acidez, utilizado para estimar a depleção de aditivos, a estabilidade oxidativa e a contaminação ácida dos fluidos lubrificantes. Esse parâmetro é determinado segundo a norma AOCS Ca 5a-40, na qual a acidez residual da amostra é quantificada pela quantidade de hidróxido de potássio (mg) necessária para neutralizar os ácidos graxos presentes em 1 g de amostra. Estudos prévios indicam que, para aplicações industriais, é desejável que o índice de acidez dos lubrificantes seja inferior a 4 mg KOH g⁻¹ (Cavalcanti *et al.*, 2018; Rios *et al.*, 2020a). Essa condição contribui para o prolongamento da vida útil do produto, uma vez que concentrações elevadas de compostos ácidos podem provocar corrosão de componentes mecânicos e a obstrução de filtros de óleo, em decorrência da formação de verniz e lama (Owuna *et al.*, 2020a).

Para a aplicação industrial, também é imprescindível avaliar o comportamento dos lubrificantes sob condições de altas temperaturas em atmosfera oxidativa. Nesse contexto, o perfil de decomposição térmica constitui um parâmetro relevante, sendo obtido por meio da submissão da amostra a elevadas temperaturas sob atmosfera controlada. A análise termogravimétrica (TGA) é amplamente empregada para essa finalidade, pois permite investigar a estabilidade térmica de materiais líquidos e sólidos. Nesse método, a temperatura de início da decomposição térmica é utilizada como indicativo da estabilidade do composto analisado (Yasa *et al.*, 2017).

Adicionalmente, a avaliação do desempenho de lubrificantes em baixas temperaturas é de fundamental importância para aplicações industriais, sendo o ponto de fluidez um dos principais parâmetros considerados, pois define a menor temperatura na qual o fluido mantém sua capacidade de escoamento (Cavalcante *et al.*, 2014; Marques *et al.*, 2019b). Tradicionalmente, esse parâmetro é determinado de acordo com a norma ASTM D97; contudo, estudos indicam que, para substâncias submetidas a processos de purificação, os pontos de fluidez e de fusão tendem a apresentar valores comparáveis (Ferreira *et al.*, 2022; Yao *et al.*, 2010). Nesse contexto, a calorimetria exploratória diferencial (DSC) surge como uma alternativa eficiente para a avaliação do parâmetro de fluidez de lubrificantes quando submetidos a temperaturas negativas, através desta técnica é possível determinar parâmetros precisos tais como os pontos de fusão e cristalização dos compostos analisados. Além disso, para a realização das análises é necessário uma apenas uma quantidade mínima de amostra (6 – 10 mg) (Rios *et al.*, 2020a).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Sintetizar ésteres a partir da modificação química do óleo extraído das sementes de *Annona squamosa* L. com diferentes polióis e avaliar seu potencial para aplicações industriais como lubrificantes.

3.2 Objetivos específicos

- ✓ Extrair e caracterizar estruturalmente o óleo das sementes de *Annona squamosa* Linn;
- ✓ Realizar reação de hidrólise do óleo das sementes de *Annona squamosa* para obtenção de ácidos graxos livres;
- ✓ Obter ésteres lubrificantes derivados do óleo das sementes de *Annona squamosa* a partir da reação de esterificação dos ácidos graxos livres na presença dos polióis neopentilglicol (NPG), trimetilolpropano (TMP) e pentaeritritol (PE);
- ✓ Realizar a caracterização estrutural os ésteres de poliol sintetizados;
- ✓ Determinar as propriedades físico-químicas dos ésteres de poliol sintetizados;
- ✓ Avaliar a estabilidade térmica dos ésteres de poliol produzidos;
- ✓ Determinar os parâmetros cinéticos dos ésteres de poliol sintetizados;
- ✓ Avaliar as propriedades reológicas dos ésteres de poliol produzidos.

4 METODOLOGIA

4.1 Materiais

As sementes de *Annona squamosa* L. foram coletadas no município de Pacoti – Ceará. O uso desta espécie foi registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o número de registro AF8D0A2. Os reagentes trimetilolpropano (TMP – CAS: 540-84-1), pentaeritritol (PE – CAS: 115-77-5), neopentilglicol (NPG – 126-30-7), ácido *p*-toluenossulfônico (*p*-TSA – CAS: 6192-52-5), hidróxido de sódio (NaOH – CAS: 310-73-2), ácido clorídrico (HCl – CAS: 7647-01-0), alumina básica (Al₂O₃ – CAS: 1344-28-1) e sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄ – CAS: 7757-82-6) foram fornecidos pela Sigma-Aldrich® (EUA). Os solventes utilizados no trabalho: hexano, acetato de etila, tolueno e éter dietílico (Et₂O) foram fornecidos pela Synth (Brasil). Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico.

4.2 Métodos

4.2.1 Extração do óleo das sementes de *Annona squamosa*

A extração dos ácidos graxos livres do óleo das sementes de *Annona squamosa* foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Kamalakar *et al.*, (2013). Inicialmente as sementes da *Annona squamosa* foram previamente limpas, secas e trituradas. O material triturado (aproximadamente 100 g) foi transferido para um envelope, feito de papel filtro, e inserido em um extrator *Soxhlet*. Ao sistema de extração foram adicionados 500 mL de hexano. O processo foi submetido a aquecimento (60 °C) com sistema de refluxo durante um período de 6 h. O material extraído foi submetido a um processo de filtração com auxílio de sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) para remoção de água residual presente na solução, em seguida, o material foi concentrado em evaporador rotativo a vácuo. O óleo obtido foi levado a estufa a 105 °C por 1h para a remoção de traços remanescentes de água. O procedimento foi realizado em triplicata para a obtenção do cálculo do rendimento médio de extração.

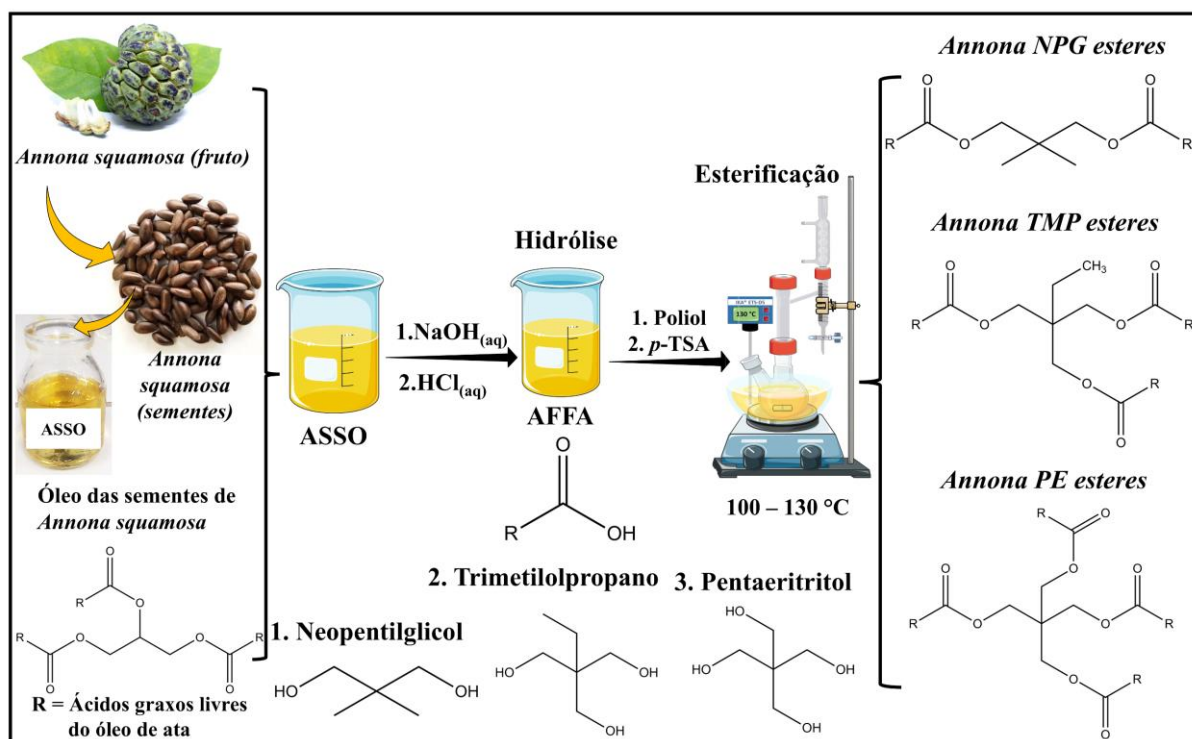
4.2.2 Processo de obtenção dos ácidos graxos livres

A extração dos ácidos graxos livres do óleo das sementes de *Annona squamosa* foi realizada de acordo com a metodologia proposta por (Kamalakar *et al.*, 2013). Para tal, o óleo vegetal (20 g; 0,022 mol) foi adicionado a uma solução alcalina de hidróxido de sódio (NaOH 0,2 mol L⁻¹). A mistura reacional foi aquecida na faixa de temperatura entre 80 e 90°C e submetida à agitação mecânica por 4 h. Decorrido o tempo reacional, a mistura foi resfriada a 50 °C e neutralizada com solução de ácido clorídrico (HCl – 6 mol L⁻¹). Após o processo de neutralização, o material foi transferido para um funil de separação onde se observaram duas fases distintas. A fase orgânica foi separada da fase aquosa e submetida a extrações sucessivas com acetato de etila, a fim de se obter a maior quantidade possível de ácidos graxos livres. O extrato orgânico foi então filtrado, seco sobre sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) e concentrado em evaporador rotativo sob pressão reduzida para remoção do solvente remanescente. O processo foi realizado em triplicata para o cálculo do rendimento médio.

4.2.3 Síntese dos ésteres lubrificantes

Os ésteres lubrificantes foram obtidos por meio de uma adaptação da metodologia proposta por Ferreira *et al.*, (2022), de acordo com o esquema de reação mostrado na Figura 6. Para isso, ácidos graxos livres (AFFA) e álcoois (neopentilglicol, trimetilolpropano e pentaeritritol) passaram por reações de esterificação separadas. Inicialmente, os AFFA e os polióis foram homogeneizados com tolueno (10 mL) em um balão de reação de dois gargalos de 125 mL equipado com termômetro, condensador e aparelho *Dean-Stark*. A mistura de reação foi submetida à agitação magnética e aquecimento na faixa de 100 – 130 °C por 6 h sob refluxo, utilizando ácido *p*-toluenossulfônico (*p*-TSA) como catalisador. Após a reação, o sistema foi submetido a um processo de arrefecimento à temperatura ambiente e neutralizado com água destilada. O produto obtido foi então transferido para um funil de separação, onde a camada orgânica foi separada da fase aquosa e seca utilizando sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄). O material resultante da síntese foi posteriormente filtrado e concentrado em um evaporador rotativo sob pressão reduzida para remover o solvente restante. Os ésteres lubrificantes foram purificados usando uma coluna cromatográfica com alumina básica (para remover ácidos graxos livres não reagidos), empregando uma mistura de hexano e acetato de etila na proporção de 80:20 v v⁻¹ como eluente.

Figura 6 – Esquema representativo da rota sintética utilizada para produção dos ésteres lubrificantes derivados de ASSO.



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Após o processo de purificação, os ésteres de poliol obtidos neste estudo foram caracterizados quanto à sua estrutura química por meio de técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H e FTIR. Suas propriedades físico-químicas também foram avaliadas. Além disso, os percentuais de conversão foram calculados com base nos valores do índice de acidez total (TAI) das amostras, levando em consideração a acidez residual do produto purificado.

As quantidades de reagentes utilizadas na síntese de ésteres lubrificantes à base de neopentilglicol (ésteres de neopentilglicol de *Annona* - ANPGE), trimetilolpropano (ésteres de trimetilolpropano de *Annona* - ATMPE) e pentaeritritol (ésteres de pentaeritritol de *Annona* - APPE) foram as seguintes:

(A) ANPGE: 20 g de ácidos graxos livres de *Annona* (AFFA – 0.071 mol), 1,85g de NPG (0,017 mol) na proporção molar 1:4 AFFA para álcool, catalisada com 0,2g de *p*-TSA (1% da massa de AFFA inicial);

(B) ATMPE: 20 g de ácidos graxos livres de *Annona* (AFFA – 0.071 mol), 1,62 g de TMP (0,012 mol) em uma proporção molar de 1:6 FFA para álcool, catalisado com 0,2 g de *p*-TSA (1% da massa inicial de AFFA);

(C) **APEE:** 20 g de ácidos graxos livres de *Annona* (AFFA – 0.071 mol), 1,21 g de PE (0,009 mol) em uma proporção molar de 1:8 AFFA para álcool, catalisado com 0,2 g de p-TSA (1% da massa inicial de AFFA).

4.2.4 Caracterização estrutural de ASSO e seus derivados

4.2.4.1 Determinação do perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (CG – EM)

A composição dos ácidos graxos presentes no ASSO foi determinada através da análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM). Para a análise, o óleo vegetal foi primeiramente submetido à hidrólise, seguida de derivatização para obtenção de ésteres metílicos. Os ésteres metílicos foram avaliados com um sistema Agilent 8890 GC acoplado a um cromatógrafo de gás / detector de espectrometria de massa (GC / MS, Modelo GCMS-QP2010 Ultra, Shimadzu) usando a coluna DB-5 (95% dimetilpolisiloxano, 5% fenilpolisiloxano, J&W Scientific, 18 m x 0,25 mm, espessura do filme dF = 0,1 µm, gradiente de temperatura: 80 °C (isoterma de 3 min), 10 °C.min⁻¹ a 320 °C, 320 °C (isoterma de 10 min); gás de arraste: He (1,1 mL.min⁻¹), temperatura de injeção 280 °C. O equipamento pertence ao Instituto Max Planck de Pesquisa em Polímeros, localizado na cidade de Mainz, Alemanha.

4.2.4.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN- ¹H)

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN ¹H) foram obtidos em um espectrômetro Bruker®, modelo DRX-500 operando na frequência de 500 MHz. Para a obtenção dos espectros, as amostras foram pesadas (20 mg) e solubilizadas em 0,6 mL de clorofórmio deuterado (CDCl₃). Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e os sinais referentes ao pico de hidrogênio inerente à fração residual não-deuterada do CDCl₃ δ 7,27 ppm. Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) foram obtidos em aparelhos do Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal do Ceará (CENAUREMN -UFC).

4.2.4.3 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos utilizando um espectrômetro da Perkin Elmer® modelo FTIR Spectrum 1000, pertencente ao Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará (DQOI – UFC). análises foram realizadas utilizando pastilhas de KBr e os espectros foram expressos pela relação número de onda (cm^{-1}) por transmitância (%) sendo a amostra analisada na faixa de número de onda de 4000 a 400 cm^{-1} .

4.2.5 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas foram conduzidas de acordo com os parâmetros estabelecidos pela *American Society for Testing and Materials* (ASTM) e pela *American Oil Chemical Society* (AOCS). Os ensaios foram realizados no Núcleo de Pesquisas em Lubrificantes Ícaro de Souza Moreira, que pertence ao Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal do Ceará.

4.2.5.1 Massa específica a 20°C

A determinação da massa específica das amostras foi feita a 20 °C e conduzida através do método ASTM D1298. Para a realização deste procedimento, utilizou-se um densímetro digital da marca ANTON PAAR modelo DMA 4500. A análise foi conduzida em triplicata, onde o valor da massa específica determinado, representa a média dos valores obtidos nas análises.

4.2.5.2 Viscosidade cinemática a 40 °C e a 100 °C

A análise de viscosidade cinemática das amostras feita de acordo com a norma ASTM D445. Para a realização deste procedimento, utilizou-se o viscosímetro digital ANTON PAAR, modelo DMA 4500. A partir dos dados obtidos de viscosidade cinemática foi possível determinar o índice de viscosidade de acordo com o método ASTM D2270.

4.2.5.3 Determinação do índice de acidez total (TAI)

Para determinar o índice de acidez total (TAI) das amostras, os ensaios foram realizados seguindo o método AOCS Cd 3d-63. O valor do TAI foi obtido pela técnica de titulação, utilizada para quantificar a conversão de ácidos carboxílicos em ésteres, conforme relatado por (Rios *et al.*, 2020a) e (Rios *et al.*, 2020a). Para esta análise, os valores de índice de acidez e percentual de conversão foram calculados de acordo com as Equações (2) e (3), respectivamente, de modo que:

$$TAI = \frac{V(mL) * F * M * 56,11}{m(mg)} \quad (2)$$

De acordo com a Equação 2, V representa o volume da solução de hidróxido de potássio (KOH) utilizada na titulação; F corresponde ao fator de correção desta solução; N refere-se à sua normalidade (0,10 N); 56,11 é a massa molar de hidróxido de potássio, expressa em $g\ mol^{-1}$; m representa a massa da amostra.

$$Conversão (\%) = \frac{FFA_i - FFA_f}{FFA_i} \quad (3)$$

A Equação 3 expressa a conversão da matéria-prima (AFFA) em ésteres de poliol com base nos valores de acidez total antes e depois da reação de esterificação dos ácidos graxos livres com os polióis NPG, TMP e PE. Onde, FFA_i e FFA_f representam os parâmetros que indicam o teor de ácidos graxos livres no substrato inicial (AFFA) e nas amostras coletadas após a reação de esterificação e processo de purificação, respectivamente.

4.2.6 Análises Térmicas

4.2.6.1 Análise Termogravimétrica

As análises termogravimétricas (TGA) e termogravimetria derivada (DTG) foram realizadas para investigar a estabilidade térmica de ASSO e de seus derivados: ANPGE, ATMPE e APEE, bem como os seus estágios de decomposição. Além disso, os dados obtidos

das curvas de TGA foram utilizados para determinação da energia de ativação das amostras. Para a realização dos ensaios, pesou-se aproximadamente 10 mg de cada substrato, o material pesado foi inserido em um cadinho de alumina (utilizado como suporte), os experimentos foram conduzidos utilizando um equipamento de análise térmica termogravimétrica/diferencial Shimadzu® DTG-60H, operando sob fluxo de ar sintético (40 mL min^{-1}) a uma taxa de aquecimento constante de $10 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, dentro de uma faixa de temperatura de 25 a $700 \text{ }^{\circ}\text{C}$, que localizado na Central Analítica, que pertence ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Ceará (PGQUIM-UFC).

Para determinar a energia de ativação dos ésteres de poliol ANPGE, ATMPE e APEE, as amostras foram analisadas em três diferentes taxas de aquecimento (10 , 20 e $30 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$). Para o cálculo deste parâmetro termodinâmico, utilizou-se o método isoconversional de Flynn-Wall-Ozawa, utilizando a aproximação de Doyle (Doyle, 1962; Opfermann; Kaisersberger, 1992). A energia de ativação foi determinada em diferentes graus de conversão através do gráfico do logaritmo natural da taxa de aquecimento em função do inverso da temperatura recíproca.

4.2.6.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As análises de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foram realizadas para determinar os pontos de fusão e cristalização dos ésteres de poliol obtidos. Para tal, os ensaios foram conduzidos utilizando um instrumento DSC Q2000 da TA Instruments sob uma atmosfera inerte de nitrogênio (N_2 , 50 mL min^{-1}) que pertence ao Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. As análises foram realizadas de acordo com a metodologia proposta por (Ferreira *et al.*, 2022), cada amostra foi submetida a três ciclos distintos: no primeiro ciclo, a amostra foi aquecida da temperatura ambiente (25°C) até 100°C a uma taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$; no segundo, a amostra foi submetida a um processo de resfriamento cuja temperatura sofreu uma variação de 100°C a -90°C a uma taxa de arrefecimento de $-10^{\circ}\text{C min}^{-1}$; e no terceiro ciclo a amostra analisada foi submetida a um novo processo de aquecimento cuja temperatura variou de -90°C a 100°C a uma taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$. O primeiro ciclo de aquecimento foi utilizado para limpar o histórico térmico da amostra. Portanto, a curva de aquecimento utilizada para discutir os dados refere-se ao terceiro ciclo de aquecimento.

4.2.7 Análises Reológicas

As análises reológicas foram conduzidas com intuito de se determinar o comportamento de fluxo e a viscosidade dinâmica dos ésteres de poliol produzidos. Os ensaios foram realizados utilizando um reômetro controlado por tensão (AR 2000, TA Instruments – Advanced Rheometer), equipado com uma geometria cone-placa consistindo em um cone de aço de 40 mm, um ângulo de 1° e uma folga de 47 µm, localizado no. Aproximadamente 0,5 mL de cada amostra foi usado para os testes. As análises foram realizadas em parceria com o Grupo de Ligantes Asfálticos, no Centro de Tecnologia em Asfalto Norte/Nordeste na Universidade Federal do Ceará.

A viscosidade dinâmica das amostras ANPGE, ATMPE e APEE foi determinada sob uma taxa de cisalhamento constante de 10 s⁻¹, com uma variação de temperatura variando de 10 a 90 °C. As propriedades reológicas de fluxo foram avaliadas aplicando-se taxas de cisalhamento variando de 0 a 1000 s⁻¹, registrando-se simultaneamente a tensão de cisalhamento correspondente em quatro temperaturas diferentes (20, 40, 60 e 80 °C). O comportamento de fluxo das amostras foi analisado por meio de curvas de tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento, ajustadas ao modelo newtoniano demonstrado na Equação 4 (Attia *et al.*, 2020):

$$\sigma = \eta\gamma \quad (4)$$

Onde σ representa a tensão de cisalhamento medida em Pa (Pascal); η significa a viscosidade da amostra analisada (Pa s) e γ descreve a taxa de cisalhamento (Pa s⁻¹).

Os gráficos relativos à variação da viscosidade das amostras em função da temperatura foram utilizados para determinar a energia de ativação de fluxo das amostras através da Equação de Arrhenius de acordo com as equações 5 e 6 (Kim, Juyoung *et al.*, 2010b):

$$\eta = A \exp\left(\frac{E_a}{RT}\right) \quad (5)$$

$$\ln(\eta) = \ln(A) - \left(\frac{E_a}{RT}\right) \quad (6)$$

Nas equações 4 e 5, η representa a viscosidade das amostras (Pa s), E_a corresponde a energia de ativação de fluxo dos ésteres de poliol sintetizados (J mol⁻¹), R representa a constante geral dos gases (8,314 J mol⁻¹ K⁻¹) e T indica a temperatura em Kelvin.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização Estrutural de ASSO e seus derivados

5.1.1 Composição dos ácidos graxos presentes no óleo da semente de *Annona squamosa* L.

O óleo vegetal utilizado como matéria-prima para o desenvolvimento dos biolubrificantes sintetizados neste estudo foi extraído das sementes de *Annona squamosa* e apresentou um rendimento em massa de $33 \pm 2,3\%$ (m m^{-1}) comparado à massa das sementes trituradas, o valor encontrado encontra-se em conformidade com estudos anteriormente publicados na literatura (Mariod; Saeed Mirghani; Hussein, 2017). A composição química dos ácidos graxos presentes nesse óleo foi determinada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), cujos dados obtidos na referida análise estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5 – Perfil dos ácidos graxos presentes no óleo das sementes de *Annona squamosa*.

Composição de ácidos graxos	Símbolo	Resultados obtidos (%)	Relatos da literatura	
			Parthiban <i>et al.</i> , (2021)	Omkaresh <i>et al.</i> , (2013)
Ácido palmítico	C 16:0	18,10	19,70	15,2
Ácido linoleico	C 18:2	21,10	24,94	24,7
Ácido oleico	C 18:1	43,60	40,45	48,5
Ácido esteárico	C 18:0	15,80	13,08	9,30
Ácido eicosanoico	C 20:0	1,40	-	-
$\sum$ saturado	-	35,30	33,50	24,50
$\sum$ insaturado	-	64,70	65,39	73,20
$\sum$ Total	-	100,0	98,89	97,70

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

A caracterização da composição do óleo vegetal revelou que o ASSO é composto por cinco ácidos graxos distintos. Na fração insaturada, predomina o ácido oleico, presente em maior proporção (43,60%), seguido pelo ácido linoleico (21,10%). Já na fração saturada, foram identificados os ácidos: palmítico (18,10%), esteárico (15,80%) e eicosanoico (1,40%). Os dados obtidos estão em conformidade com estudos prévios da literatura (Parthiban; Pandian; Subramanian, 2021; Yathish. K.V; Omkaresh. B. R; Dr. R. Suresh, 2013).

Contudo, as variações observadas na composição dos ácidos graxos presentes no ASSO em comparação aos estudos anteriores podem estar relacionadas a fatores como o período de coleta da matéria-prima, características físico-químicas e biológicas do solo (condições edáficas), além do clima da região de cultivo, os quais influenciam diretamente a composição lipídica dos óleos vegetais (Werteker *et al.*, 2010).

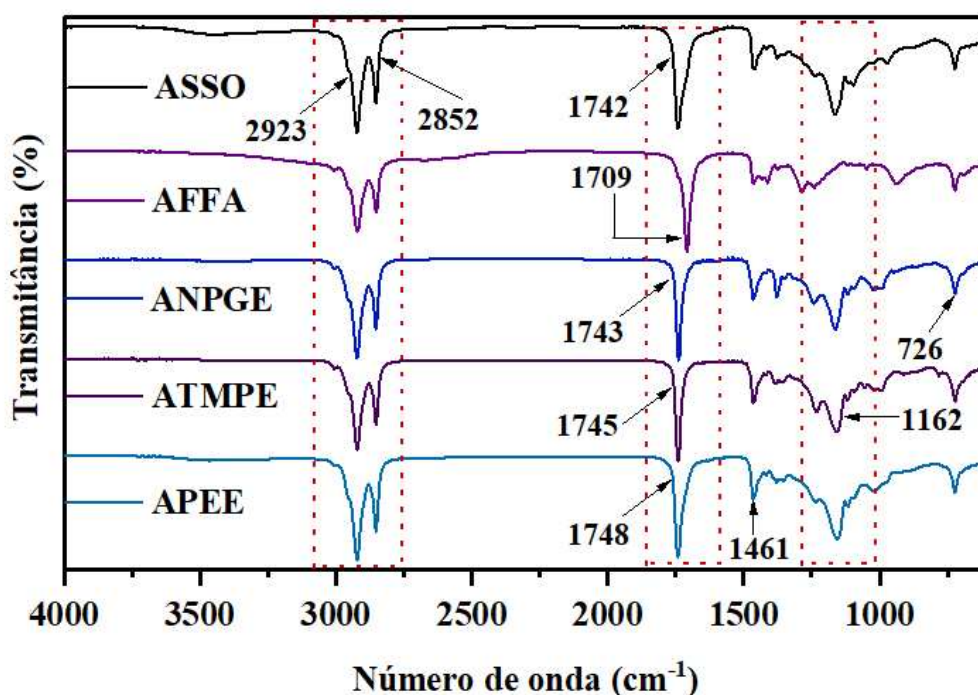
No presente estudo, o ASSO apresentou um elevado teor de ácidos graxos insaturados (64,70%), com predominância do ácido oleico (43,60%). Essa composição é particularmente relevante para a síntese de lubrificantes, uma vez que o grau de insaturação exerce influência direta sobre a qualidade do produto desenvolvido (Ferreira *et al.*, 2022). Embora um maior grau de insaturação possa sugerir uma maior suscetibilidade à oxidação, evidências sugerem que a presença de duplas ligações entre as cadeias carbônicas favorece a formação de filmes protetores mais coesos, resultantes das interações intermoleculares existentes entre as cadeias carbônicas (Murru; Badía-Laiño; Díaz-García, 2021; Owuna *et al.*, 2020b). Ademais, estudos indicam que óleos vegetais com elevado teor de ácido oleico tendem a gerar fluidos lubrificantes com maior resistência à decomposição térmica (Teh *et al.*, 2025).

Adicionalmente, o óleo extraído das sementes de ata apresenta em sua composição de ácidos graxos uma fração considerável de ácidos graxos saturados de cadeia longa, que totalizam um teor de 35,53%, com destaque para os ácidos palmítico e esteárico. A presença desses compostos impacta diretamente na viscosidade do fluido, podendo resultar em produtos com elevados índices de viscosidade, característica desejável para lubrificantes projetados para operar sob diferentes condições operacionais (Kim, Juyoung *et al.*, 2010a).

5.1.2 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier

A espectroscopia de absorção na região do infravermelho é uma técnica vibracional amplamente utilizada na caracterização de compostos químicos, através da qual é possível analisar as vibrações decorrentes das ligações químicas presentes na estrutura. Deste modo, a técnica de FTIR foi realizada com intuito de investigar, de modo qualitativo, as principais modificações estruturais inerentes ao óleo das sementes de *Annona squamosa* em comparação com os produtos obtidos durante a rota sintética, tais como: os ácidos graxos livres (AFFA) obtidos na reação de hidrólise básica, bem como, os ésteres de poliol sintetizados na reação de esterificação ANPGE, ATMPE e APEE, cujos espectros estão demonstrados na Figura 7.

Figura 7 – Espectros de absorção de FTIR do óleo das sementes de *Annona squamosa* e seus derivados.



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Os espectros de todas as amostras apresentam estiramentos na região de 3004 cm^{-1} , que representam as ligações alifáticas $\text{C}=\text{C}$ características em olefinas. As bandas na região de $2922 - 2925\text{ cm}^{-1}$ representam as vibrações de estiramento de grupos metila ($-\text{CH}_3$) e as bandas observadas em 2852 cm^{-1} referem-se as vibrações de estiramentos de ligações $-\text{CH}_2$.

Essas bandas foram identificadas nos espectros de ASSO, bem como em todos os seus derivados (Xu *et al.*, 2019).

O espectro inerente aos ácidos graxos livres (AFFAs) apresenta bandas de estiramento na região de 1709 cm^{-1} que são atribuídas às ligações C=O de carbonilas presentes nos ácidos graxos, tal comportamento sugere que a reação de hidrólise dos triacilgliceróis ocorreu de forma satisfatória. Esta banda não foi identificada em nenhum dos produtos esterificados, o que indica a utilização do grupo –COOH para formar a ligação éster (Dutta; Ghosh; Mitra, 2023). As demais atribuições para as estruturas em estudo podem ser observadas na Tabela 6.

Tabela 6 – Atribuições das bandas do espectro na região do infravermelho para ASSO e seus derivados.

Número de onda (cm^{-1})	Atribuições
3004	$\nu_{\text{ass}} \text{--C=C--}$ de cadeias alifáticas
2923	$\nu_{\text{ass}} \text{C--H}$ de carbono sp^3
2852	$\nu_{\text{sim}} \text{C--H}$ de carbono sp^3
1744	$\nu \text{C=O}$ (éster)
1709	$\nu \text{C=O}$ (ácido)
1461	δCH_2
1162	$\nu_{\text{ass}} \text{C--O--C}$ (éster)
1098	$\nu_{\text{sim}} \text{C--O--C}$ (éster)
726	δ fora do plano CH_2

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Com base nos espectros obtidos para as amostras ANPGE, ATMPE e APEE, é possível inferir que a reação de esterificação transcorreu de maneira satisfatória. Este fato se deve à ausência das bandas de absorção na região de 1709 cm^{-1} , atribuídas aos grupos de ácidos carboxílicos, indicando que as moléculas de AFFA (material de partida) foram consumidas durante a síntese dos ésteres de poliol. Além disso, a presença de bandas de absorção na faixa de $1743 - 1748\text{ cm}^{-1}$ nas amostras sintetizadas confirma a formação de grupos ésteres, pois tais bandas são características de estiramentos da ligação C=O, encontradas em grupos ésteres de cadeia alifática (Sarker *et al.*, 2023).

Nos espectros dos biolubrificantes obtidos, outras bandas de absorção reforçam a ocorrência da esterificação. A banda em 1461 cm^{-1} , por exemplo, corresponde às vibrações dos grupos α -metilênicos adjacentes ao grupo carbonila. Observa-se também uma banda em 1162 cm^{-1} , associada à deformação equatorial das ligações C–O–C presentes na estrutura dos ésteres. Por fim, a banda localizada em 726 cm^{-1} refere-se às deformações angulares das ligações $-\text{CH}_2$, típicas de cadeias alifáticas longas, corroborando com o resultado obtido pelas análises de CG-EM cujo perfil de ácidos graxos encontrados no ASSO é composto majoritariamente por ácidos de cadeia longa (Coates, 1986).

5.1.3 Ressonância Magnética Nuclear ($\text{RMN } ^1\text{H}$)

A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear ($^1\text{H RMN}$) foi empregada com intuito de investigar a eficiência da reação de esterificação pela análise da mudança no perfil espectral de ASSO em comparação com os seus derivados. Para isso, analisaram-se os espectros do óleo vegetal não modificado, dos ácidos graxos livres resultantes das reações de hidrólise (AFFA), bem como dos ésteres lubrificantes obtidos nas reações de esterificação —ANPGE, ATMPE e APEE— que estão representados na Figura 8. As estruturas químicas demonstradas nos perfis espectrais das amostras analisadas foram propostas de acordo com os componentes majoritários presentes em ASSO. A partir dos dados demonstrados nos espectros, obteve-se os seguintes dados espectroscópicos das amostras sintetizadas:

A) Dados espectroscópicos da amostra ANPGE:

$\text{RMN } ^1\text{H}$ (CDCl_3 , δ ppm): 0,89 (t, $-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_3$); 0,97 (s, $-\text{C}-\underline{\text{CH}}_3$); 1,25 – 1,34 (m, $-(\underline{\text{CH}}_2)_n$); 1,62 (m, $-\text{CO}-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 1,99 – 2,02 (m, $-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}=\text{CH}-$); 2,29 – 2,31 (t, $-\text{CO}-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-$); 3,89 (s, $-\text{C}-\underline{\text{CH}}_2-\text{O}-\text{CO}-\text{R}$); 5,35 (m, $-\underline{\text{CH}}=\underline{\text{CH}}-\text{CH}_2-$).

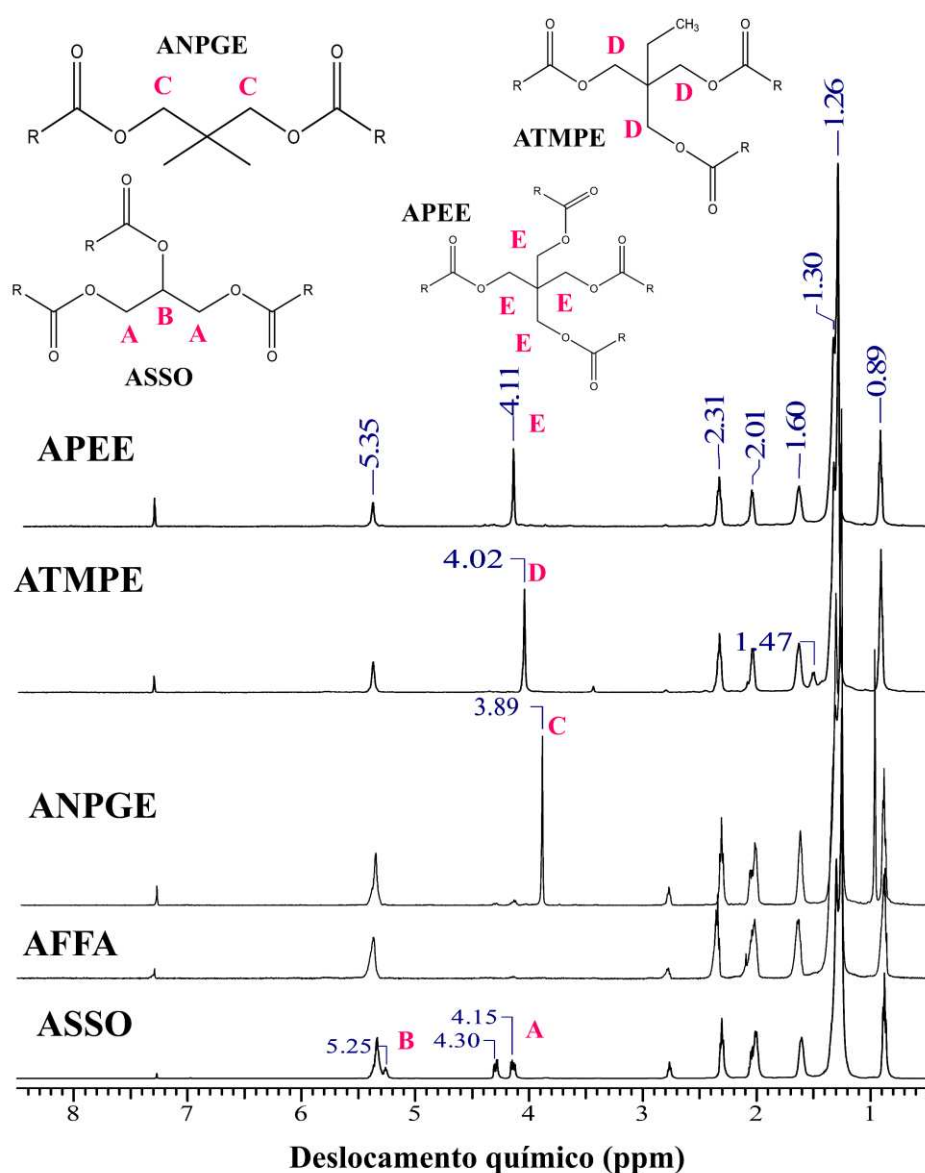
B) Dados espectroscópicos da amostra ATMPE:

$\text{RMN } ^1\text{H}$ (CDCl_3 , δ ppm): 0,86 – 0,89 (t, $-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_3$); 1,25 – 1,34 (m, $-(\underline{\text{CH}}_2)_n$); 1,46 – 1,48 (q, $-\text{C}-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_3$); 1,58 – 1,61 (m, $-\text{CO}-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 1,98 – 2,02 (m, $-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}=\text{CH}-$); 2,28 – 2,31 (t, $-\text{CO}-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-$); 4,02 (s, $-\text{C}-\underline{\text{CH}}_2-\text{O}-\text{CO}-\text{R}$); 5,32 – 5,35 (m, $-\underline{\text{CH}}=\underline{\text{CH}}-\text{CH}_2-$).

C) Dados espectroscópicos da amostra APEE:

RMN ^1H (CDCl_3 , δ ppm): 0,86 – 0,89 (t, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$); 1,25 – 1,34 (m, $-(\text{CH}_2)_n$); 1,58 – 1,62 (m, $-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 1,99 – 2,02 (m, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$); 2,28 – 2,31 (t, $-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 4,11 (s, $-\text{C}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-\text{R}$); 5,33 – 5,35 (m, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$).

Figura 8 – Espectros de RMN ^1H de ASSO e seus derivados.



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Através dos resultados alcançados é possível observar a presença de sinais característicos de glicerídeos em todos os espectros das amostras analisadas. O tripleto encontrado na região de 0,89 – 0,97 ppm refere-se aos hidrogênios do grupo metila terminal ($-\text{CH}_2-\text{CH}_3$).

CH₃) da cadeia de ácidos graxos. Os multipletos encontrados na região de 1,20 – 1,30 ppm são relativos aos prótons metilênicos característicos de cadeias lineares ($-\text{CH}_2$)_n presentes nas cadeias dos graxos. Os sinais encontrados na região de 1,60 ppm representam os prótons metilênicos β carbonila ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}=\text{O}$). Os sinais na região de 2,0 ppm referem-se aos multipletos característicos grupos ($-\text{CH}_2$) adjacentes às insaturações presentes na cadeia do ácido graxo. A região de 2,30 ppm compreende os multipletos de prótons metilênicos α carbonila ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}=\text{O}$) e os sinais encontrados na região de 2,70 ppm são relativos aos hidrogênios situados entre as duplas ligações ($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$), estes sinais são esperados, uma vez que os componentes majoritários encontrados no perfil cromatográfico do ASSO são os ácidos oleico e linoleico, que são ácidos graxos de cadeia longa e apresentam insaturações em sua estrutura química (Sundaramahalingam *et al.*, 2021).

Os espectros obtidos dos ácidos graxos livres (AFFA), revelaram que as reações de hidrólise ocorreram de forma eficiente. Essa confirmação se deu pela ausência dos sinais característicos de moléculas de ácidos graxos que são encontrados na região de 4,16 – 4,23 ppm e 5,26 ppm no espectro do óleo vegetal (ASSO), estes sinais são relativos aos prótons metilênicos ($-\text{CH}_2$) e metínicos ($-\text{CH}$) ligados a porção glicerol existente no óleo vegetal (Bhoir; Vishwapathi; Singh, 2019a). O desaparecimento dos sinais citados acima sugere que o processo de obtenção dos ácidos graxos livres ocorreu conforme esperado e que reação de hidrólise ocorreu de forma exitosa.

A análise espectroscópica das amostras dos ésteres de polioli, indica que as hidroxilas dos polióis empregados foram efetivamente esterificadas pelas cadeias de ácidos graxos presentes nas moléculas dos AFFA. No espectro da amostra ANPGE, o singlete em 3,89 ppm, atribuído aos prótons ($-\text{C}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}$) ligados ao esqueleto da molécula de neopentilglicol, atesta a incorporação de grupos ésteres à matriz molecular dos AFFA (Nor; Salih; Salimon, 2022).

Na amostra de ATMPE foram identificados dois sinais característicos: um multiplete em 1,47 ppm, atribuído aos prótons do grupo etila das moléculas de trimetilolpropano (TMP), e um singlete em 4,02 ppm, correspondente aos hidrogênios metilênicos ($-\text{C}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-\text{R}$) das cadeias de ésteres ligadas ao TMP (Nie *et al.*, 2020). Além disso, o espectro do derivado de TMP apresentou sinais de baixa intensidade na região de 3,30 – 3,40 ppm, possivelmente associados à presença de grupos hidroxila ($-\text{OH}$) não reagidos nas cadeias do TMP, apesar da baixa acidez residual observada no produto purificado (dos Santos *et al.*, 2025).

Por outro lado, o espectro da amostra de APEE não apresentou sinais indicativos da presença de grupos hidroxila livres, em contraste com o comportamento observado para o derivado de TMP. O perfil espectral revelou um singlete em 4,11 ppm, correspondente aos prótons metilênicos das cadeias de ésteres ligadas à molécula de pentaeritritol, evidenciando que a reação de esterificação ocorreu de forma completa. Tal resultado sugere que os grupos hidroxila foram eficientemente substituídos por cadeias de ácidos graxos (Ferreira *et al.*, 2022; Moreira *et al.*, 2020; Vemullapalli; Lakkoju, 2023).

5.2 Caracterização das propriedades físico-químicas

A avaliação das principais propriedades físico-químicas de um lubrificante é essencial para sua classificação adequada e potencial aplicação industrial. Parâmetros como viscosidade, índice de viscosidade e acidez desempenham um papel crucial na determinação do desempenho, estabilidade e adequação de lubrificantes para aplicações específicas.

Deste modo, as propriedades físico-químicas do óleo vegetal obtido das sementes de ata, bem como os seus derivados foram determinadas. Para tal, foram avaliados os parâmetros de acidez das amostras através da determinação do índice de acidez total, a partir do qual se calculou o percentual de conversão das amostras ANPGE, ATMPE e APEE. Além disso, foi determinada a massa específica a 20 °C, a viscosidade cinemática a 40 e 100 °C e, por fim, foi calculado o índice de viscosidade dos biolubrificantes sintetizados. Todos os ensaios seguiram os protocolos estabelecidos pelas normas vinculadas ao *American Society for Testing and Materials* (ASTM) e *American Oil Chemical Society* (AOCS). Os resultados obtidos encontram-se descritos na Tabela 7.

Tabela 7 – Análises físico-químicas do ASSO e seus derivados.

Propriedades	Normas	Amostras			
		ASSO	ANPGE	ATMPE	APEE
Massa específica a 20 °C (g cm ⁻³)	ASTM D1298	0,9004	0,9053	0,9258	0,9204
Índice de acidez total (mg KOH g ⁻¹)	AOCS Cd 3d- 63	-	0,37	0,56	0,46
Viscosidade cinemática a 40 °C (cSt)	ASTM D445	25,60	29,12	53,70	70,91

Viscosidade cinemática a 100 °C (cSt)	ASTM D445	6,07	6,55	10,21	12,95
Índice de viscosidade (VI)	ASTM D2270	198	182	186	190
ISO 3448 (40 °C—cSt)		ISO VG 22	ISO VG 32	ISO VG 46	ISO VG 68
SAE J300 (Motor oil)		SAE 8, 12, 16	SAE 20	SAE 30	SAE 40
Conversão (%)*	-	-	99,85	99,76	99,60

* O cálculo da conversão foi realizado através da comparação entre os valores do índice de acidez total (TAI) dos AFFA (obtidos por meio da hidrólise do ASSO) e o TAI dos ésteres de poliol sintetizadas neste estudo (ANPGE, ATMPE e APEE).

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

No presente estudo, os ésteres de poliol ANPGE, ATMPE e APEE foram obtidos por reações de esterificação entre os ácidos graxos livres (AFFA) e os polióis neopentilglicol (NPG), trimetilolpropano (TMP) e pentaeritritol (PE). A conversão das reações foi avaliada a partir da comparação entre os índices de acidez dos AFFA e dos ésteres de poliol sintetizados.

Para a obtenção dos AFFA, o óleo extraído das sementes de *Annona squamosa* foi inicialmente submetido à hidrólise básica, sendo os produtos resultantes purificados por extrações sucessivas com acetato de etila. Esse processo resultou em um rendimento médio de $93 \pm 3,1\%$. Os AFFA obtidos foram esterificados com os polióis supracitados e os substratos obtidos das reações foram purificados em coluna cromatográfica.

O valor inicial de acidez dos AFFA foi de $208 \text{ mg KOH g}^{-1}$. Para os ésteres de poliol, observaram-se valores consideravelmente reduzidos: $0,37 \text{ mg KOH g}^{-1}$ para o ANPGE; $0,56 \text{ mg KOH g}^{-1}$ para o ATMPE e $0,46 \text{ mg KOH g}^{-1}$ para o APEE. Com base nos valores de acidez obtidos, foram determinados os percentuais de conversão cujos valores corresponderam a 99,85% (ANPGE); 99,76% (ATMPE) e 99,60% (APEE). Esses resultados evidenciam o sucesso do processo de esterificação, alcançando taxas de conversão superiores a 99% em todos os casos.

Embora o índice de acidez não represente diretamente a conversão molar de grupos carboxílicos, esse parâmetro continua sendo uma métrica útil e acessível para avaliar a acidez residual do produto final, sobretudo em sistemas que envolvem excesso de ácido graxo e purificação subsequente (dos Santos *et al.*, 2025).

Os valores de conversão obtidos no presente estudo foram baseados nos valores de índice de acidez total das amostras de modo que para a realização dos cálculos de conversão foi analisada a dos materiais de partida (AFFA) e a acidez residual do produto purificado, em vez da conversão estequiométrica dos grupos funcionais. Os dados encontrados neste estudo estão

em conformidade com os relatos publicados por (Kamalakar *et al.*, 2013; Moreira *et al.*, 2020) que realizaram estudos sobre a síntese de ésteres lubrificantes derivados dos polióis TMP e PE.

Além dos parâmetros de acidez, os ésteres de poliol desenvolvidos foram avaliados segundo os critérios estabelecidos pelas normas ISO 3448 e SAE J300, referências amplamente reconhecidas para a classificação de fluidos lubrificantes destinados a aplicações industriais e automotivas. A classificação normativa supracitada é estabelecida de acordo com os valores da viscosidade cinemática quando submetida a 40 °C e a 100 °C, respectivamente. Assim, os valores obtidos para os ésteres de poliol sintetizados foram comparados às diretrizes da Organização Internacional de Padronização (ISO) e da Sociedade de Engenheiros Automotivos (SAE).

As amostras ANPGE, ATMPE e APEE apresentaram viscosidades cinemáticas a 40 °C de 29,12 cSt, 53,70 cSt e 70,91 cSt, respectivamente. De acordo com a norma ISO 3448, esses valores correspondem às classificações ISO VG 32, 46 e 68, categorias comumente aplicadas em sistemas hidráulicos, incluindo bombas, engrenagens e compressores de ar (Muthurathinam; Perumal, 2023b).

Nas análises a 100 °C, as amostras ANPGE, ATMPE e APEE exibiram viscosidades de 6,51 cSt, 10,21 cSt e 12,95 cSt, respectivamente. Com base nos critérios estabelecidos pela norma SAE J300, as amostras sintetizadas foram classificadas como SAE 20, SAE 30 e SAE 40. Lubrificantes com essas especificações atendem a diferentes aplicações: a amostra ANPGE pode ser empregada como óleo base automotivo; o derivado ATMPE pode ser utilizado para aplicações como fluidos de transmissão em equipamentos com motores de pequeno porte, como cortadores de grama e geradores; e a APEE é adequada para motores a gasolina de veículos leves, motores a diesel em veículos comerciais e equipamentos agrícolas (Guan; Feng; Xiong, 2008). Os resultados obtidos dos ésteres de poliol sintetizados são consistentes com estudos prévios de Ferreira *et al.*, (2022) e Moreira *et al.*, (2020), que desenvolveram ésteres derivados de trimetilolpropano (TMP) e pentaeritritol (PE) a partir de diferentes fontes vegetais por meio de reações de esterificação.

A análise de viscosidade também permitiu avaliar a influência da extensão da cadeia dos diferentes polióis utilizados na esterificação dos ácidos graxos livres. Observou-se que o tetraéster obtido a partir do pentaeritritol (APEE) apresentou os maiores valores de viscosidade tanto a 40 °C quanto a 100 °C. Este comportamento é esperado, pois o aumento das cadeias propicia um o maior número de interações intermoleculares, estas interações contribuem para obtenção de valores mais altos de viscosidade e índice de viscosidade (Rios *et al.*, 2020b).

Com base nos valores de viscosidade cinemática, foram determinados os índices de viscosidade (IV) das amostras, visto que são caracterizações utilizadas para avaliar a estabilidade dos lubrificantes frente às variações de temperatura. Valores de IV superiores a 120 são indicativos de menor sensibilidade da viscosidade às flutuações térmicas, assegurando a formação e a manutenção de uma película lubrificante eficaz em ampla faixa operacional. De modo geral, os óleos vegetais apresentam elevados índices de viscosidade, característica que os torna candidatos promissores para a síntese de biolubrificantes (Kurre; Yadav, 2023; U. Dabai *et al.*, 2018). Deste modo, os ésteres de poliol ANPGE, ATMPE e APEE apresentaram valores de IV de 182, 186 e 190, respectivamente, os quais podem ser considerados elevados e evidenciam que os derivados do óleo das sementes de *Annona squamosa* apresentam estabilidade adequada para aplicações em diferentes condições operacionais (Borugadda; Goud, 2014).

Considerando que a viscosidade é inversamente proporcional à temperatura, equipamentos que operam sob grandes variações térmicas requerem lubrificantes com altos índices de viscosidade. Isso se deve ao fato de que um IV elevado minimiza o impacto da temperatura sobre a viscosidade do lubrificante, otimizando o desempenho do fluido em condições operacionais extremas (Sundaramahalingam *et al.*, 2021).

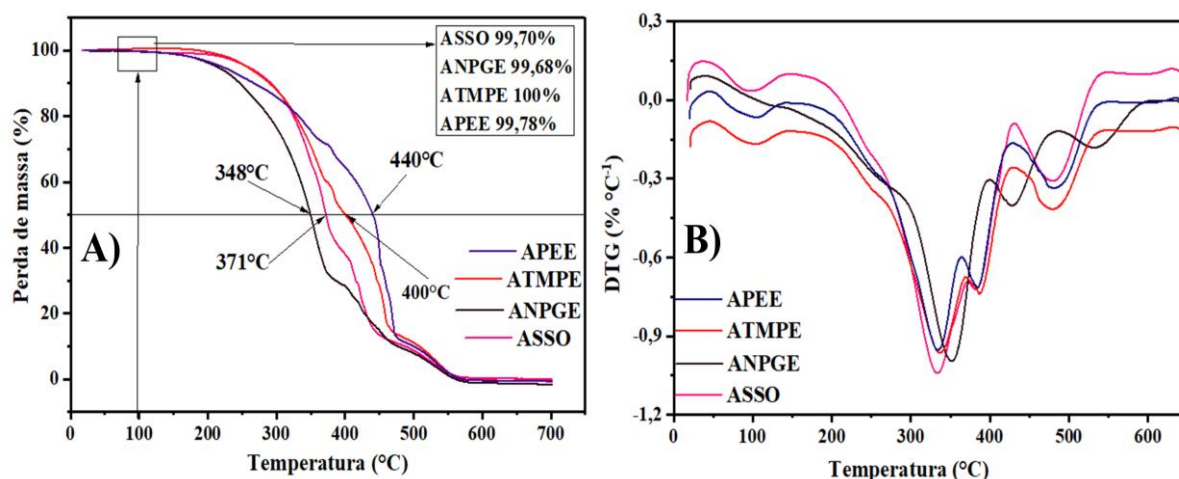
5.3 Análises Térmicas

5.3.1 Análise Termogravimétrica

As análises termogravimétricas das amostras de ASSO e seus derivados foram conduzidas em uma faixa de temperatura de 25°C a 700°C, a uma taxa de aquecimento de 10°C min⁻¹. A temperatura inicial de decomposição (T_{onset}) foi determinada a partir das curvas de TGA (Figura 9(A)), seguindo a metodologia proposta por Padmaja *et al.*, (2012). Este procedimento gráfico envolve a extrapolação da linha de base horizontal da curva, que corresponde à região onde a amostra permanece termicamente estável, e a construção de uma reta tangente à porção inicial do segmento descendente da curva, que reflete o início da perda de massa devido à decomposição. O ponto de interseção entre essas duas retas define a T_{onset} , que representa o início efetivo da decomposição térmica do material. Também foi identificada a temperatura onde ocorre decomposição máxima do material (T_{peak}) e, por fim, T_{endset} que revela o fim do processo de decomposição térmica. Os valores de T_{peak} e T_{endset} , bem como o

perfil de decomposição das amostras, foram obtidos a partir das curvas DTG (Figura 9(B)) e estão demonstrados na Tabela 8.

Figura 9 – Análises termogravimétricas de ASSO e seus derivados sintetizados. (A) Curvas de TGA e (B) Curvas de DTG.



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

De acordo com os dados obtidos através das curvas de TGA verifica-se que, à temperatura de 100 °C, as amostras analisadas não apresentam eventos significativos de decomposição, com exceção da possível presença de umidade residual nas amostras esse comportamento encontra-se em conformidade com estudos anteriormente publicados (Ferreira *et al.*, 2019). Os resultados indicam que a decomposição térmica do óleo extraído das sementes de *Annona squamosa* (ASSO) e de seus derivados — ANPGE, ATMPE e APEE — tem início em temperaturas superiores a 260 °C. Observa-se ainda, que o processo de esterificação contribuiu para o aumento da estabilidade térmica do óleo vegetal.

O comportamento observado pode ser atribuído às modificações estruturais resultantes das reações de esterificação. A literatura destaca que o uso direto de óleos vegetais como lubrificantes apresenta limitações devido à presença de hidrogênios em posição β em relação ao grupo carbonila nas estruturas de triacilgliceróis, os quais aumentam a suscetibilidade desses compostos a reações de polimerização e à decomposição térmica (Kamalakar *et al.*, 2015; Padmaja *et al.*, 2012). Os espectros de RMN de ¹H do ASSO confirmam a presença desses hidrogênios na composição do óleo vegetal, indicando uma estrutura menos estável termicamente, que pode ser evidenciada pelo menor valor de T_{onset} . Por outro lado, a análise dos espectros dos ésteres de poliol revela a ausência de sinais

correspondentes aos hidrogênios β , o que justifica a maior estabilidade térmica observada nas amostras ANPGE, ATMPE e APEE.

Os resultados obtidos evidenciam que a modificação química do ASSO, particularmente por meio da incorporação de polióis como NPG, TMP e PE, promoveu uma melhoria significativa na estabilidade térmica do óleo vegetal. Esse aprimoramento reforça o seu potencial de aplicação em ambientes que demandam maior resistência a fenômenos de decomposição térmica. Os dados obtidos neste estudo encontram-se em consonância com relatos previamente descritos na literatura acerca da obtenção de fluidos lubrificantes derivados de TMP e PE a partir da modificação química de fontes vegetais, utilizando a esterificação como rota sintética (Cavalcante *et al.*, 2014; Moreira *et al.*, 2022). A Tabela 8 apresenta, de forma detalhada, os eventos térmicos associados ao processo de decomposição do ASSO e de seus derivados, incluindo os valores de T_{onset} , T_{peak} e T_{endset} determinados para cada amostra analisada.

Tabela 8 – Eventos térmicos de ASSO e seus derivados (taxa de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$).

Amostra	Eventos térmicos	T_{onset}	T_{peak}	T_{endset}	Δ massa (%)
ASSO	I	260,7	332,9	371,2	24,3
	II	371,2	382,7	430,7	32,9
	III	430,7	478,5	547,6	32,7
ANPGE	I	291,1	353,1	400,6	52,1
	II	400,6	427,8	484,3	27,7
	III	484,3	532,4	604,3	16,8
ATMPE	I	275,4	335,3	369,3	23,6
	II	369,3	385,9	429,9	23,4
	III	429,9	480,5	552,6	40,7
APEE	I	276,8	334,2	363,5	20,8
	II	363,5	383,4	429,3	10,2
	III	429,3	490,4	552,6	59,3

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Com base nos valores de T_{onset} referentes ao primeiro evento de decomposição do ASSO e de seus derivados, a amostra de ANPGE apresentou valor relativamente superior em relação às amostras de ATMPE e APEE. Esse resultado poderia, à primeira vista, sugerir maior estabilidade térmica para o éster derivado do neopentilglicol (NPG). No entanto, verificou-se

que o primeiro evento térmico dessa amostra resultou em uma perda de massa considerável (52% do material), evidenciando um comportamento menos estável do que o inicialmente esperado.

Tal comportamento pode ser atribuído à estrutura molecular e à menor massa molar do NPG em comparação aos polióis TMP e PE. Conforme ilustrado na Figura 06, o neopentilglicol possui apenas dois grupos hidroxila reativos, enquanto as moléculas do trimetilolpropano e pentaeritritol apresentam três e quatro, respectivamente. Durante a formação dos ésteres de poliol, observa-se que um maior número de hidroxilas reativas favorece a formação de um maior número de grupos ésteres, conferindo ao material resultante maior resistência à decomposição térmica (Nor; Salih; Salimon, 2022).

Os perfis de decomposição térmica dos ésteres de poliol atribuídos à composição estrutural empregado nas reações de esterificação, que promove um aumento na resistência do material à decomposição. Segundo (Salimon *et al.*, 2014), a estabilidade térmica de ésteres lubrificantes aumenta com a presença de ésteres parciais, este fenômeno está diretamente relacionado a quantidade de grupos hidroxilas presentes nas cadeias dos polióis. Um maior número de hidroxilas reativas favorece a formação de uma maior quantidade de ésteres parciais, conferindo maior estabilidade térmica ao composto e resultando em lubrificantes com desempenho superior (Raof *et al.*, 2019).

Assim, embora os valores da temperatura inicial de decomposição (T_{onset}) da amostra de ANPGE sejam superiores aos observados os das amostras ATMPE e APEE, a análise das curvas de TGA revela que os maiores percentuais de perdas de massa nos derivados de TMP e PE ocorrem faixas de temperaturas mais elevadas (em torno de 429 °C) quando comparadas ao derivado do NPG. Esse resultado indica um perfil de decomposição térmica mais estável para esses materiais, ainda que os valores de T_{onset} desses compostos sejam inferiores ao observado para a amostra ANPGE.

No que se refere ao comportamento térmico do ASSO e seus derivados, as curvas de DTG, representadas na Figura 9 (B), indicam que a decomposição térmica das amostras ocorre em três estágios distintos. O primeiro evento térmico, registrado na faixa de temperatura de 260 °C a 291 °C, pode estar associado ao processo de volatilização tanto dos triglicerídeos presentes no óleo vegetal quanto nas amostras de lubrificante à base de éster. Esta etapa não envolve a quebra de ligações químicas, mas sim uma transição física dos compostos em estudo para o estado gasoso, conforme também relatado por (Ferreira *et al.*, 2019). Os dois eventos térmicos subsequentes, observados na faixa entre 360 °C a 480 °C e de 430 °C a 552 °C, estão em conformidade com os achados de (Marques *et al.*, 2019a) e são predominantemente

relacionados à combustão e oxidação das cadeias éster formadas durante a modificação química do ASSO.

Os dados apresentados na Tabela 8 evidenciam que a natureza dos compostos é o que determina seus padrões de decomposição térmica, apesar das diferenças observadas nos perfis da curva DTG para os compostos ASSO, ANPGE, ATMPE e APEE. Além disso, verifica-se que, com exceção do derivado do NPG, o terceiro evento térmico é responsável pelas perdas de massa mais significativas, indicando o estágio mais intenso de degradação do material.

Ao analisar as amostras separadamente, verifica-se que a amostra ANPGE apresentou início do processo de volatilização a 291 °C. Quanto aos processos de combustão e oxidação das cadeias de ácidos graxos ocorreram nas faixas de 400 e 484 °C, respectivamente, estes valores encontrados são superiores ao relatado por (Padmaja *et al.*, 2012), para ésteres lubrificantes sintetizados a partir do ácido undecilênico. No que se refere ao perfil de decomposição térmica das amostras derivadas do TMP e PE, as curvas termogravimétricas indicam que as amostras ATMPE e APEE apresentam perfis de decomposição em faixas de temperatura semelhantes, com valores de T_{onset} de 275,4 °C e 276,8 °C, respectivamente. No entanto, apesar dessa similaridade, a amostra APEE demonstra maior resistência à decomposição térmica, evidenciada pela maior temperatura na qual ocorre uma perda de massa de 50% (440 °C) em comparação com as demais amostras (Ferreira *et al.*, 2022; Moreira *et al.*, 2022).

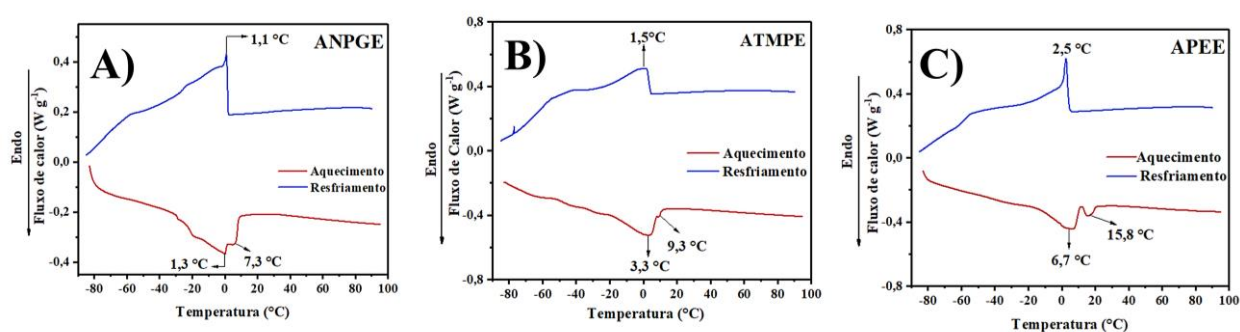
Esse comportamento pode ser atribuído ao alongamento da cadeia acila e à maior ramificação do poliol durante a esterificação, fatores que aumentam a resistência do material à degradação térmica. Na análise de decomposição térmica, a amostra APEE apresentou maior estabilidade quando comparada aos derivados de NPG e TMP, efeito associado à maior massa molar e à estrutura química do pentaeritritol (do Valle *et al.*, 2018). O perfil de decomposição observado está em concordância com estudos prévios que reportam a síntese de lubrificantes de base biológica a partir de diferentes fontes vegetais utilizando TMP e PE como polióis (Ferreira *et al.*, 2022; Ramos Moreira *et al.*, 2025; Sarker *et al.*, 2023).

De um modo geral, o comportamento térmico observado das amostras evidencia que a rota sintética adotada por meio das reações de esterificação dos AFFA propiciou a obtenção de à formação de compostos cujas estruturas moleculares são mais complexas e, consequentemente, termicamente estáveis, uma vez que os ésteres de poliol obtidos, sobretudo àqueles derivados do trimetilolpropano (TMP) e pentaeritritol (PE), apresentaram uma maior resistência à decomposição térmica em comparação com a amostra não modificada.

5.3.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial foi adotada nesse estudo com o intuito de avaliar o comportamento de fluxo dos ésteres de polioliol sintetizados quando submetidos a baixas temperaturas. Dessa forma, os termogramas das amostras ANPGE, ATMPE e APEE, obtidos através das análises de DSC durante os ciclos de resfriamento e aquecimento, estão demonstrados na Figura 10. Nestes gráficos, os picos exotérmicos correspondem a eventos de cristalização, enquanto os picos endotérmicos indicam eventos de fusão (Borugadda; Goud, 2014).

Figura 10 – Termogramas de DSC das amostras ANPGE (A), ATMPE (B) e APEE (C).



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Com base nos termogramas obtidos, verifica-se que as curvas de resfriamento por DSC dos ésteres de polioliol sintetizados apresentam um único pico máximo de cristalização. Para o derivado do neopentilglicol (Figura 10 (A)), observa-se um processo de cristalização amplo, com pico máximo a 1,1 °C, estendendo-se até aproximadamente -35 °C. Comportamento semelhante é encontrado na amostra ATMPE, cujo processo se inicia a 1,5 °C e se prolonga até cerca de -29 °C. Já a amostra APEE apresenta um pico de cristalização intenso a 2,5 °C. De modo geral, os ésteres de polioliol derivados do ASSO exibiram perfis cristalinos semelhantes, sendo as variações de temperatura dos picos de cristalização atribuídas à estrutura dos polióis empregados na reação de esterificação.

Em relação às curvas de aquecimento (2º aquecimento), os termogramas obtidos revelaram que o processo de fusão das amostras ocorre em dois estágios distintos e em uma ampla faixa de temperatura. Para o derivado do NPG o primeiro processo de fusão tem início em -29 °C com pico endotérmico em 1,3 °C, seguido por um segundo processo que inicia a 1,49 °C, e atinge seu pico a 7,3 °C. Resultado semelhante foi obtido no trabalho de Nor *et al.*,

(2022) que sintetizou ésteres de poliol derivados do NPG a partir do óleo de palma e obteve valores de temperatura de fluxo na faixa de 7°C (Nor; Salih; Salimon, 2022).

Em relação as curvas de aquecimento da amostra de ATMPE, demonstradas na Figura 10 (B), observa-se que o processo de fusão que ocorre em uma ampla faixa de temperatura, iniciando em -21,1°C. Dois picos endotérmicos são observados: um pico principal a 3,3°C e um ombro secundário próximo a 10°C, indicando um comportamento de fusão em dois estágios. Esse padrão é semelhante ao observado para a amostra de APEE, embora com intensidades e distribuições diferentes. No trabalho publicado por (Moreira *et al.*, 2022) os autores utilizaram a técnica de DSC para determinar o ponto de fusão de ésteres de TMP derivados do óleo de *Oreochromis niloticus* e observaram uma transição mais intensa e bem definida, com um pico a -0,1°C, bem como um ombro secundário em torno de 10°C.

Os resultados relativos ao derivado APEE estão demonstrados na Figura 10 (C). De acordo com os dados obtidos verifica-se que a curva de aquecimento (2º aquecimento) exibe dois picos endotérmicos, com o primeiro processo de fusão iniciando em -14,53 °C e atingindo seu pico em 6,7 °C, enquanto o segundo inicia em 11,8 °C, com pico em 15,8 °C. Esses resultados indicam que o processo de fusão ocorre em duas faixas de temperatura distintas, embora os picos endotérmicos tenham valores semelhantes. Comportamento semelhante foi relatado nos estudos de (Moreira *et al.*, 2020) (ponto de fusão: -5,7 °C e 30,1 °C) e (Ferreira *et al.*, 2022) (ponto de fusão: -33,28 °C e 8,02 °C), que analisaram ésteres de pentaeritritol derivados dos óleos de *Moringa oleifera* e *Caryocar brasilienses*, respectivamente.

Através das análises dos eventos de cristalização e fusão, torna-se possível avaliar o comportamento do fluxo dos ésteres de poliol sintetizados. Para aplicações em climas frios, é desejável que os biolubrificantes mantenham boa fluidez em baixas temperaturas. Neste estudo, os pontos de fusão dos derivados ANPGE, ATMPE e APEE foram superiores aos relatados em outros estudos prévios, indicando que esses materiais são mais adequados para uso em climas tropicais (Nor; Salih; Salimon, 2022). Além disso, com base nas faixas de temperatura observadas, os biolubrificantes desenvolvidos apresentam potencial para aplicações específicas, como lubrificantes para motosserras e supressores de poeira (Fernandes *et al.*, 2018; Papadaki *et al.*, 2018).

As propriedades de fluxo a frio dos derivados dos ésteres de poliol produzidos neste estudo estão intrinsecamente associadas à composição de ácidos graxos presentes no óleo extraído das sementes de *Annona squamosa*, particularmente ao seu grau de saturação. Este óleo contém 35,30% de ácidos graxos saturados, sendo o ácido palmítico (18,10%) e o ácido esteárico (15,80%) os mais proeminentes. Estudos de (Moreira *et al.*, 2022) e (Yuen May *et al.*,

2006) confirmam que o aumento da proporção de ácidos graxos saturados eleva consideravelmente os pontos de cristalização e fusão, frequentemente resultando em valores positivos para ésteres de poliol derivados de óleos vegetais.

O perfil de cristalização obtido no presente estudo está em concordância com os estudos anteriormente publicados por (Fernandes *et al.*, 2018) e (Nor; Salih; Salimon, 2022) que observaram comportamentos semelhantes em ésteres de TMP obtidos de óleos de palma e coco, que exibiram pontos de fluidez de 12°C e 7°C, respectivamente. Adicionalmente, resultados similares foram relatados por Padmaja *et al.*, (2012) e Mahmud e Salimon (2013) para ésteres de PE sintetizados a partir dos ácidos 10-undecanoico e láurico, com pontos de fluidez de 3°C e 25°C, respectivamente. Deste modo, verifica-se que os dados encontrados neste estudo estão alinhados com a literatura, que sugere que as propriedades de fluidos em baixas temperaturas são fortemente influenciadas pela presença de ácidos graxos saturados na composição do material de partida. Essa presença impacta diretamente as propriedades de fluxo, aumentando os pontos de fluxo e de fusão dos compostos sintetizados.

Ao avaliar o comportamento de fluxo dos derivados ANPGE, ATMPE e APEE, observa-se que os processos de cristalização e fusão da amostra de APEE ocorrem em temperaturas mais elevadas em comparação com as demais amostras. Este comportamento está diretamente relacionado à natureza estrutural do poliol utilizado na reação de esterificação. O pentaeritritol, devido à sua maior massa molar e à presença de quatro grupos hidroxila simetricamente dispostos, favorece a formação de quatro grupos éster igualmente simétricos, o que resulta em um empacotamento molecular mais eficiente, resultando na obtenção de pontos de fusão e cristalização em temperaturas mais elevadas.

Por outro lado, as estruturas moleculares dos polióis NPG e TMP possuem uma menor quantidade de hidroxilas reativas o que resulta na formação de uma menor quantidade de grupos ésteres durante as reações de esterificação. Além disso, nos derivados do TMP a disposição das hidroxilas não é simétrica, fator que dificulta o empacotamento das moléculas, resultando em pontos de cristalização e fusão ligeiramente inferiores aos observados dos ésteres de poliol derivados de PE.

5.3.3 Determinação da Energia de Ativação

O comportamento cinético dos ésteres dos ésteres de poliol foi avaliado através da obtenção da energia de ativação das amostras. Esse parâmetro foi determinado com base no perfil de decomposição térmica obtido a partir das curvas de TGA. Neste estudo, foi

considerada a faixa de decomposição em massa entre 95% e 55% durante o primeiro evento térmico dos ésteres de poliol sintetizados. Os eventos de decomposição subsequentes não foram avaliados, visto que o comportamento de combustão apresentou padrões semelhantes entre as amostras (ANPGE, ATMPE e APPE) (Giroussens *et al.*, 2022).

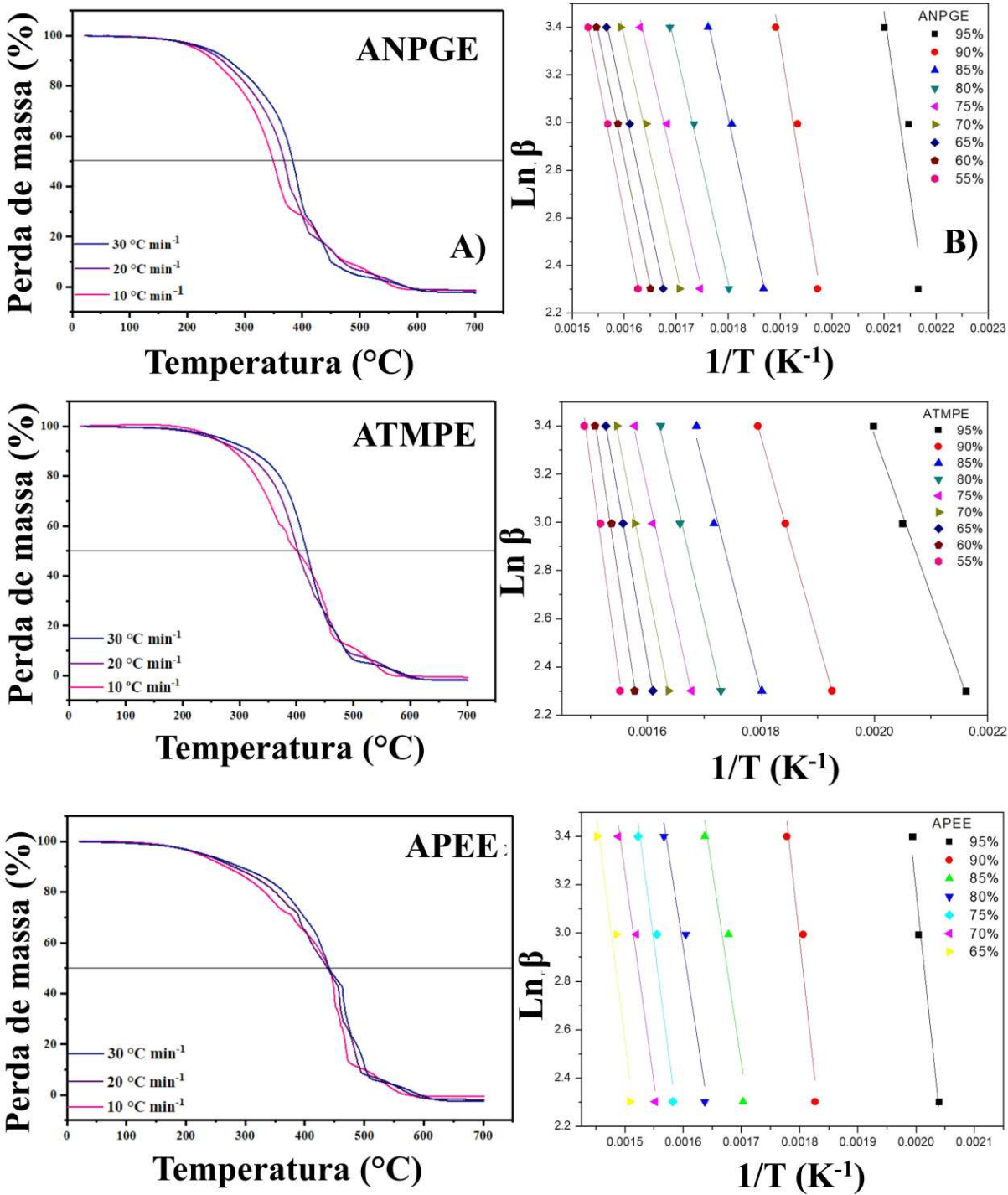
É possível calcular os parâmetros cinéticos a partir diferentes técnicas criando uma série de padrões em diferentes taxas de aquecimento. Vários métodos são conhecidos para calcular os parâmetros cinéticos, neste sentido, destaca-se o método isoconversional de Flynn-Wall-Ozawa, com adaptações baseadas nas contribuições de Doyle (1962) e Opfermann e Kaisersberger (1992). Esse método não requer conhecimento do mecanismo cinético envolvido no processo em estudo e é denominado isoconversional, pois pressupõe que o processo segue a mesma cinética dentro da faixa de conversão considerada (Opfermann; Kaisersberger, 1992).

A energia de ativação foi determinada por regressão linear entre o logaritmo natural da taxa de aquecimento $\ln(\beta)$ e a temperatura recíproca correspondente à conversão analisada. A inclinação obtida a partir dessa análise permite o cálculo da energia de ativação, conforme descrito na Equação (7).

$$\ln(\beta) = \ln\left(\frac{AE_a}{Rg(\alpha)}\right) - 5,331 - 1,052\left(\frac{E_a}{RT}\right) \quad (7)$$

As linhas de regressão de $\ln(\beta)$ versus $1/T$, com base na conversão em diferentes taxas de aquecimento de temperatura, fornecem a energia de ativação obtida a partir da inclinação. No presente estudo, as análises termogravimétricas foram conduzidas sob três taxas de aquecimento de temperatura de 10, 20 e 30 °C min⁻¹, e as linhas de regressão, bem como as curvas de TGA de cada amostra sintetizada estão representadas na Figura 11.

Figura 11 – Parâmetros cinéticos das amostras ANPGE, ATMPE e APEE. (a) Curvas de TGA das amostras ANPGE, ATMPE e APEE. (b) linhas de regressão das amostras ANPGE, ATMPE e APEE.



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

De acordo com os gráficos obtidos, verifica-se que as linhas de regressão são paralelas indicando que a energia de ativação nas diferentes conversões segue um único mecanismo ou unificação de múltiplos mecanismos de reação (Li, Hui; Niu; Lu, 2017) Para uma melhor interpretação dos dados, os valores de energia de ativação (E_a) e coeficiente de correlação (R^2) no intervalo de decomposição de 55% a 95% das amostras ANPGE, ATMPE e APEE estão listados na Tabela 9.

Tabela 9 – Energia de ativação (E_a) e coeficiente de correlação (R^2) obtido pelo método de Flynn-Wall-Ozawa das amostras ANPGE, ATMPE e APEE em atmosfera oxidativa.

Conversão (%)	ATMPE		APEE		ANPGE	
	R^2	E_a (kJ mol ⁻¹)	R^2	E_a (kJ mol ⁻¹)	R^2	E_a (kJ mol ⁻¹)
95	0,9931	52,6	0,7028	120,6	0,9465	181,5
90	0,9999	66,6	0,9397	107,04	0,8889	175,7
85	0,9738	73,3	0,9910	81,9	0,8361	126,7
80	0,9939	80,9	0,9958	76,9	0,9289	122,9
75	0,9941	85,9	0,9834	75,9	0,9237	143,6
70	0,9988	94,7	0,9886	77,2	0,9622	137,8
65	0,9999	105,1	0,9952	79,9	0,8779	149,9
60	0,9938	124,9	0,9977	84,03	-	-
55	0,9822	138,5	0,9819	90,6	-	-
Média dos		91,4 ±		88,2 ±		148,3 ±
valores de E_a		27,7		15,5		22,7

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

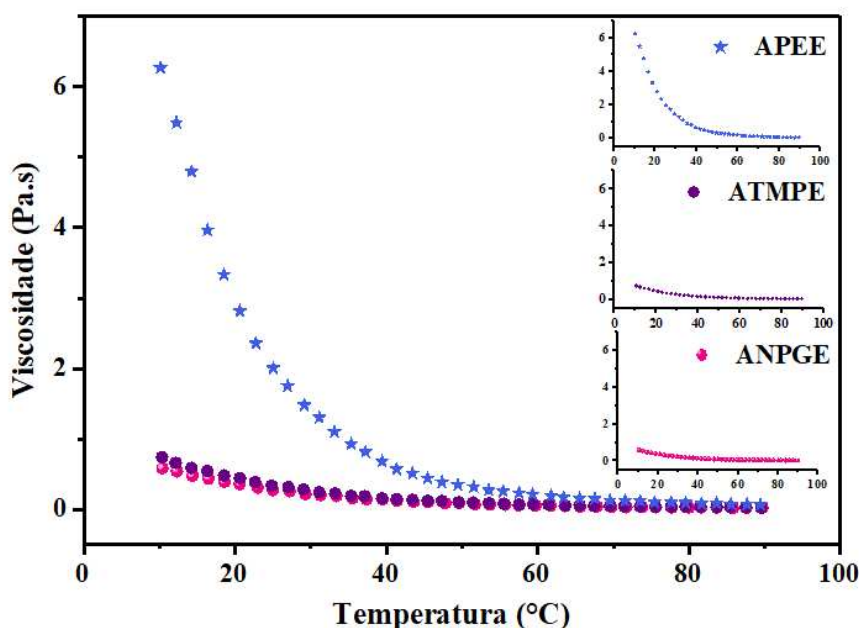
De acordo com a literatura, a energia de ativação representa a energia mínima necessária para que ocorra a quebra das ligações químicas e determina a reatividade a uma taxa de reação estabelecida (Pereira *et al.*, 2023). Os valores de E_a são importantes e contribuem para mensurar a estabilidade térmica, bem como, a qualidade do fluido para fins de aplicação industrial. Conforme dados ilustrados na Tabela 09, verifica-se que as médias da energia de ativação das amostras ANPGE, ATMPE e APEE foram de: 148,3 ± 22,7; 88,2 ± 15,5; 91,4 ± 27,7 kJ.mol⁻¹ respectivamente. Verifica-se que a amostra ANPGE apresentou maiores valores de E_a quando comparado aos valores de E_a das amostras ATMPE e APEE, o que é esperado tendo em vista que parâmetros cinéticos foram determinados de acordo com a primeira T_{onset} .

Para os derivados de TMP e PE, os valores da energia de ativação foram semelhantes, condizente com o comportamento observado através das curvas de TGA. Os resultados alcançados neste estudo são comparáveis a estudos previamente publicados na literatura (Ferreira *et al.*, 2019; Rios *et al.*, 2020a).

5.4 Avaliação dos Parâmetros Reológicos

As análises reológicas foram conduzidas para avaliar a viscosidade e as propriedades de fluxo das amostras ANPGE, ATMPE e APEE. O comportamento da viscosidade dos ésteres de poliol sintetizados foi avaliado em função da temperatura, que sofreu variação na faixa de 10 °C a 90 °C a uma taxa de cisalhamento constante de 10 s^{-1} . Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 12.

Figura 12 – Efeito da temperatura no comportamento da viscosidade das amostras ANPGE, ATMPE e APEE a uma taxa de cisalhamento constante de 10 s^{-1} .



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

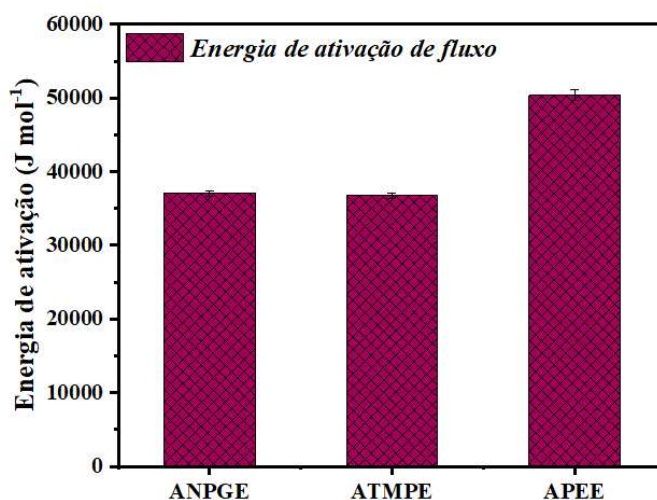
Os dados experimentais de fluxo reológico, apresentados na Figura 12, demonstraram que a amostra APEE apresentou maior viscosidade, nas temperaturas iniciais de análise quando comparada às amostras ANPGE e ATMPE. Estes dados concordam com os resultados obtidos na análise de viscosidade cinemática. O fenômeno observado pode ser

atribuído à estrutura molecular dos polióis utilizados nas reações de esterificação. As moléculas do pentaeritritol permitem um maior número de substituições por cadeias de ácidos graxos, intensificando as interações intermoleculares e, consequentemente, aumentando a viscosidade dos seus derivados.

O perfil gráfico das amostras ANPGE, ATMPE e APEE revela ainda uma relação inversa entre viscosidade e temperatura, indicando que o aumento da temperatura resulta em uma redução não linear na viscosidade dos ésteres de polioli sintetizados. Esse comportamento é esperado e ocorre devido a redução das interações intermoleculares entre os componentes químicos presentes nos ésteres de polioli. O aumento na temperatura intensifica o grau de agitação molecular entre os substratos, o que provoca em um aumento na energia cinética das partículas, resultando no enfraquecimento entre as interações intramoleculares e, consequentemente, reduz a viscosidade. Este efeito já foi observado em estudos anteriores com biolubrificantes derivados de fontes vegetais, corroborando os achados do presente estudo (Ferreira *et al.*, 2022; Kim, Juyoung *et al.*, 2010a).

A influência da temperatura na viscosidade dos ésteres de polioli sintetizados foi avaliada através da Equação de Arrhenius (6) para determinar a energia de ativação em fluxo (EAF) das amostras, demonstrada na Figura 13. No contexto da análise de fluidos lubrificantes, a EAF reflete a sensibilidade do fluido frente a variações térmicas em nível molecular. Lubrificantes com altos valores de EAF apresentam maior estabilidade, pois mantêm sua viscosidade em uma ampla faixa de temperatura (Saka *et al.*, 2025).

Figura 13 – Energia de ativação de fluxo das amostras ANPGE, ATMPE e APEE.



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

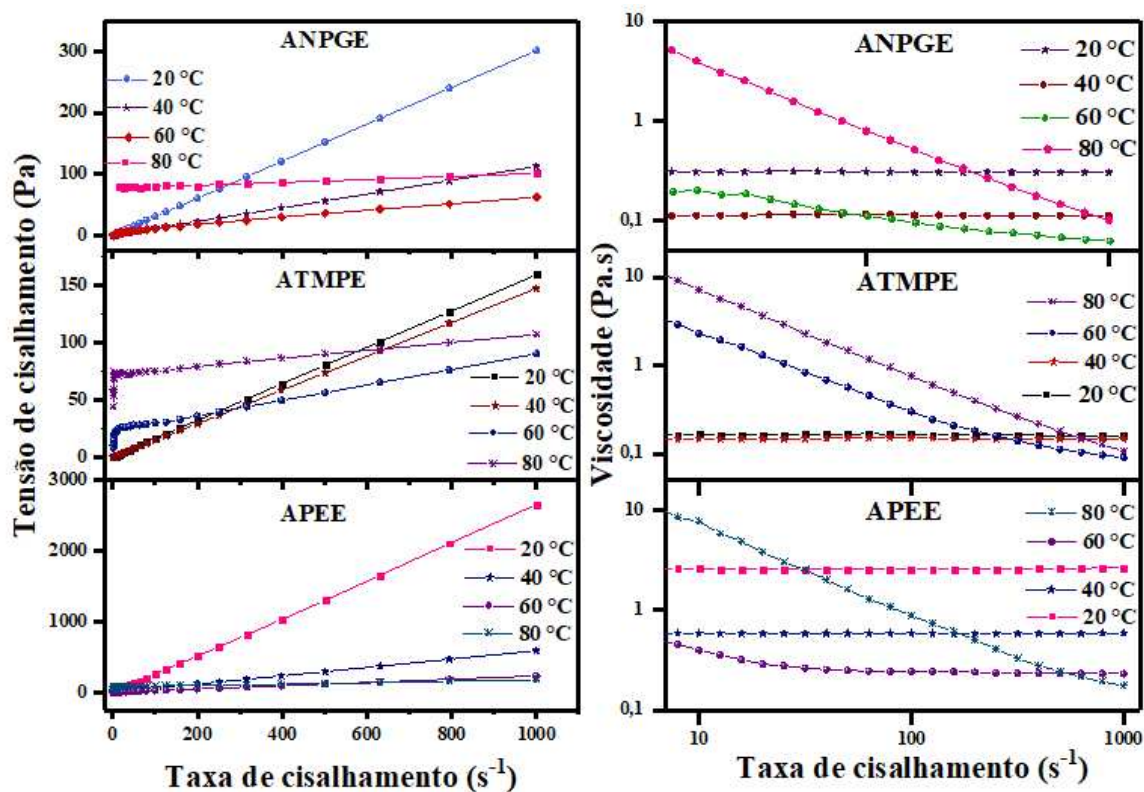
Os valores de energia de ativação de fluxo das amostras ANPGE, ATMPE e APEE foram de 37,040; 36,725 e 50,343 kJ mol⁻¹, respectivamente. O resultado encontrado está em consonância com os dados de viscosidade obtidos no presente estudo, conforme demonstrado na Figura 12, uma vez que amostra derivada do pentaeritritol apresentou valores de EAF superiores das demais amostras, o que se justifica devido a composição estrutural do poliol empregado.

Além disso, verifica-se que os valores de EAF obtidos dos ésteres de poliol sintetizados neste estudo podem ser comparáveis aos lubrificantes comerciais. No estudo conduzido por Saka *et al.*, (2025), a análise das propriedades reológicas do lubrificante LB-2000 revelou um valor de EAF de aproximadamente 24 kJ mol⁻¹. Na pesquisa conduzida por (Ghannam *et al.*, 2021), que investigou o comportamento reológico de quatro tipos diferentes de óleos lubrificantes utilizados para aplicações em óleos de motor os valores de EAF variaram na faixa de 24 a 37 kJ mol⁻¹.

A energia de ativação de fluxo obtida das amostras preparadas neste estudo está diretamente ligada a composição de ácidos graxos presentes no óleo vegetal. De fato, a composição de ácidos graxos presentes na estrutura de ASSO revela um teor majoritário de ácido oleico. Em estudos direcionados por (Fasina, 2006) elevados teores de ácido oleico em óleos vegetais são desejáveis para a obtenção de amostras com maior viscosidade e, consequentemente, maiores valores de energia de ativação em fluxo. Os valores encontrados neste estudo demonstram que, com base nos parâmetros reológicos analisados, o óleo vegetal extraído das sementes de *Annona squamosa* apresenta características promissoras para aplicações em lubrificantes, tendo em vista que os seus derivados obtiveram valores de EAF próximos a lubrificantes comercialmente utilizados.

As análises reológicas também foram utilizadas para investigar o comportamento em fluxo das amostras sintetizadas, a avaliação foi conduzida de acordo com a Equação 4. A Figura 14 apresenta as curvas de tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento, destacando seu impacto na viscosidade dos biolubrificantes obtidos do ASSO. Os dados experimentais revelam que as amostras ANPGE, ATMPE e APEE exibem comportamentos de fluxo distintos nas temperaturas testadas.

Figura 14 – Tensão de cisalhamento *versus* taxa de cisalhamento e efeito da taxa de cisalhamento no comportamento da viscosidade de ANPGE, ATMPE e APEE em diferentes temperaturas.



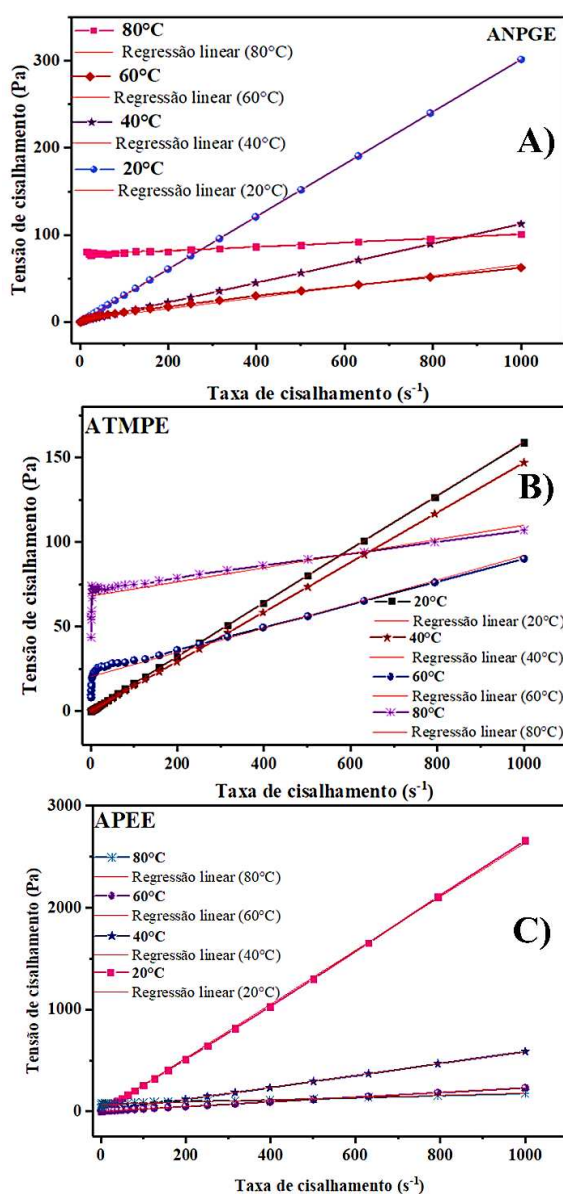
Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Os parâmetros reológicos dos ésteres de polioli produzidos neste estudo foram avaliados de acordo com impacto na viscosidade e na tensão de cisalhamento em função do aumento na taxa de cisalhamento nas temperaturas de 20 °C, 40 °C, 60 °C e 80 °C. Esse ensaio foi realizado com intuito de se avaliar se as amostras desenvolvidas apresentam o comportamento de fluido newtoniano ou pseudoplástico. Sabe-se que um fluido pode apresentar um comportamento de fluxo newtoniano quando a sua viscosidade se mantém inalterada independente da taxa de cisalhamento aplicada, além disso, é observado um aumento linear na tensão de cisalhamento em função do aumento da taxa de cisalhamento (Jabbari *et al.*, 2016).

Diante do exposto, verifica-se que nas temperaturas de 20 °C e 40 °C as amostras ANPGE, ATMPE e APEE apresentaram um comportamento de fluxo para fluidos newtoniano, uma vez que o aumento na taxa de cisalhamento promove um acréscimo linear na tensão de cisalhamento e a viscosidade se mantém inalterada. A 60°C verifica-se que os derivados do NPG e TMP apresentam um comportamento de fluidos não newtonianos ou pseudoplásticos,

pois ocorre um decréscimo considerável na viscosidade com o aumento na taxa de cisalhamento. Para o derivado do PE, nesta temperatura a amostra apresenta comportamentos distintos, no início do processo observa-se uma queda na viscosidade, contudo, com o aumento da taxa de cisalhamento, o fluido retoma o comportamento newtoniano. A 80 °C as amostras ANPGE, ATMPE e APEE apresentaram um comportamento não newtoniano ou pseudoplástico. Além da análise gráfica, foram realizadas análises de regressão linear para validar os perfis de fluxo das amostras demonstrados a partir das curvas de tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento. Os resultados estão detalhados na Figura 15 e na Tabela 10.

Figura 15 – Curvas de regressão linear das amostras: ANPGE (A), ATMPE (B) e APEE (C).



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Tabela 10 – Curvas de regressão linear das amostras: ANPGE, ATMPE e APEE.

ANPGE					
Temperatura (°C)	Coefficiente de determinação (R ²)	Inclinação	Desvio padrão	Intercepto	Desvio padrão
20	0,99999	0,15936	1,81E-4	0,1977	0,04545
40	0,99998	0,11231	8,741121E-5	0,04518	0,02584
60	0,9851	0,06326	0,00142	2,5317	0,41982
80	0,9758	0,0228	8,45919E-4	77,50375	0,31932
ATMPE					
20	0,99996	0,15936	1,81E-4	0,1973	0,05351
40	0,99999	0,14685	9,12491E-5	0,04664	0,02698
60	0,94649	0,07144	0,0031	20,51289	0,91607
80	0,72188	0,04183	0,00471	68,1521	1,39276
APEE					
20	0,99981	2,63864	0,00658	-4,6002	1,94505
40	0,99998	0,58599	4,8086E-4	-0,30284	0,14217
60	0,99997	0,22885	2,15565E-4	1,51573	0,06373
80	0,83469	0,11004	0,00891	68,20101	2,6347

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

As análises de regressão linear foram realizadas para validar o comportamento reológico observado na Figura 14. De acordo com os dados, verifica-se que para a amostra ANPGE o coeficiente de determinação (R²) excedeu o valor de 0,99 a 20 °C e 40 °C, o que confirma o comportamento newtoniano demonstrado nos gráficos. Todavia, nas temperaturas de 60 °C e 80 °C, os valores de R² diminuíram para 0,98 (60 °C) e 0,97 (80 °C), indicando uma transição para um fluxo não newtoniano ou pseudoplástico, conforme indicado anteriormente pelas mudanças na viscosidade com o aumento na taxa de cisalhamento. Um comportamento similar é observado para o derivado do TMP, visto que nas temperaturas de 20 °C e 40 °C, os valores de R² foram superiores a 0,99. Contudo, verifica-se que nas temperaturas de 60 °C e 80 °C o coeficiente de determinação varia de 0,94 (60 °C) e 0,72 (80 °C).

Para o derivado do pentaeritritol, verifica-se que o fluido apresenta um comportamento newtoniano nas temperaturas de 20 °C e 40 °C, uma vez que os valores de R^2 permaneceram acima de 0,99 nessas temperaturas. Contudo, é importante ressaltar que a 60 °C, apesar do coeficiente de determinação apresentar valores superiores a 0,99 o fluido em questão apresenta um comportamento de fluxo que ocorre em duas faixas distintas. Os gráficos demonstrados na Figura 14 evidenciam um desvio da linearidade em taxas de cisalhamento inferiores a 32 s^{-1} , sugerindo um comportamento não newtoniano transitório que passou para newtoniano em taxas de cisalhamento mais altas. Esse comportamento observado na amostra APEE pode ser justificado atribuído a presença de ácidos graxos remanescentes que se decompõem com o aumento da taxa de cisalhamento (Ferreira *et al.*, 2022). A 80 °C, o valor de R^2 diminuiu para 0,72, confirmando o comportamento não newtoniano ou pseudoplástico atribuído pela redução da viscosidade com o aumento na taxa de cisalhamento.

6 CONCLUSÃO

No presente estudo, diferentes ésteres de poliol foram sintetizados a partir da modificação química do óleo extraído das sementes de *Annona squamosa* (ASSO), espécie amplamente consumida em países da América Latina. Embora seus frutos sejam utilizados predominantemente na indústria alimentícia, as sementes são usualmente descartadas como resíduo industrial. Assim, este trabalho propõe o aproveitamento dessa biomassa residual para a produção de materiais de maior valor agregado.

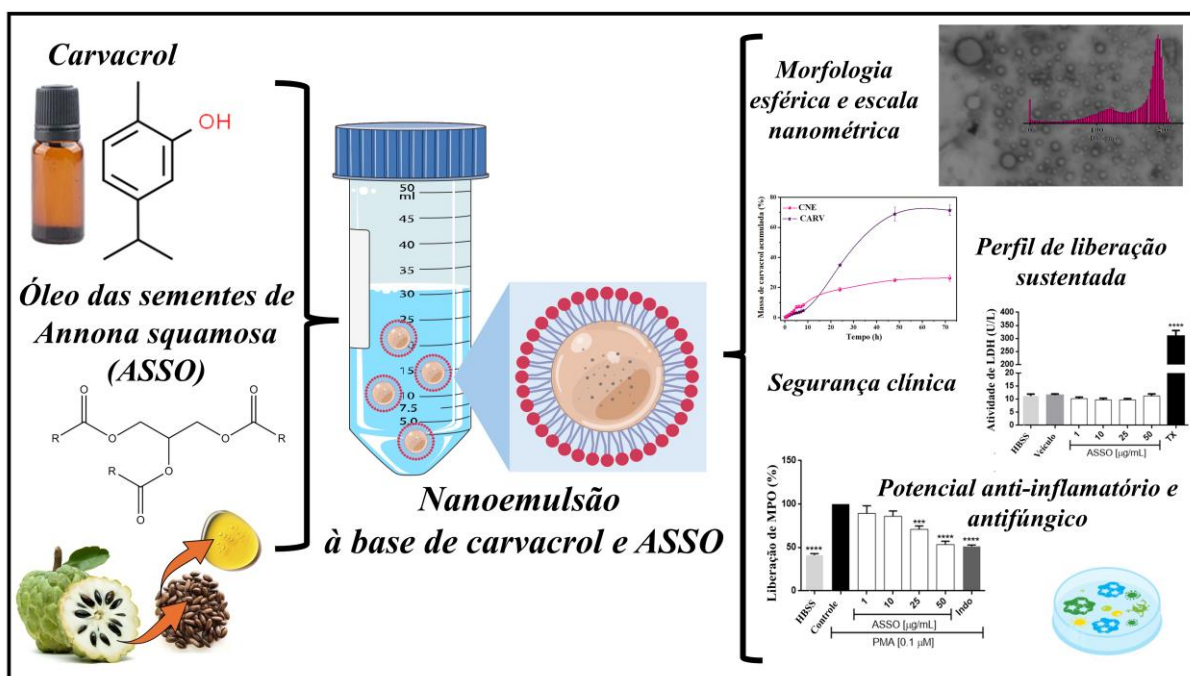
O óleo vegetal extraído apresentou rendimento de aproximadamente 33% (m m^{-1}) e foi submetido à hidrólise básica para obtenção dos ácidos graxos livres (AFFA). Posteriormente, os AFFA foram esterificados com os polióis neopentilglicol, trimetilolpropano e pentaeritritol, resultando nos derivados ANPGE, ATMPE e APEE, respectivamente. As modificações químicas no ASSO foram confirmadas por análises estruturais. Os ésteres de poliol sintetizados alcançaram taxas de conversão superior a 90%, indicando a eficácia da rota sintética empregada na produção dos ésteres de poliol.

Os ésteres de poliol obtidos apresentaram elevados índices de viscosidade (>180) e energias de ativação de fluxo entre 36 e 50 kJ mol^{-1} , refletindo boa estabilidade frente a variações de temperatura. De acordo com os parâmetros estabelecidos pelas normas ISO e SAE, os ésteres sintetizados se enquadram nas especificações exigidas para aplicações industriais e automotivas, demonstrando a versatilidade dos derivados sintetizados.

As análises térmicas revelaram que os ésteres de poliol sintetizados exibem estabilidade térmica superior em relação ao óleo vegetal não modificado (ASSO), confirmando que a remoção do átomo de hidrogênio em posição β contribui para a maior resistência térmica do material. Entre os compostos avaliados, o derivado de pentaeritritol (APEE) destacou-se por apresentar maior resistência à decomposição térmica. As análises de fluxo obtidas por DSC indicaram que os ésteres de poliol obtidos possuem características adequadas para uso em regiões de clima tropical.

Os resultados demonstram que os ésteres de poliol derivados do óleo de *Annona squamosa* apresentam propriedades lubrificantes promissoras, configurando-se como candidatos viáveis para aplicações industriais. Por se tratar de um estudo pioneiro envolvendo esta espécie e sua modificação com os polióis neopentilglicol, trimetilolpropano e pentaeritritol, os dados obtidos fornecem evidências inéditas do potencial desse óleo como fonte renovável para formulação de bases lubrificantes.

7 CAPÍTULO 2 – DESENVOLVIMENTO DE NANOEMULSÕES À BASE DO ÓLEO DAS SEMENTES DE *ANNONA SQUAMOSA* LINN. E CARVACROL PARA APLICAÇÕES EM TERAPIAS ANTI-INFLAMATÓRIAS E ANTIFÚNGICAS



7.1 Introdução

As infecções fúngicas têm se tornado uma preocupação crescente em saúde pública global, especialmente entre pacientes imunocomprometidos e neonatos, nos quais a disseminação sistêmica está associada a elevados índices de morbidade e mortalidade (Lohani *et al.*, 2025; Tiseo *et al.*, 2025). Dentre essas infecções, a candidemia, caracterizada pela presença de patógenos fúngicos na corrente sanguínea, destaca-se como uma condição clinicamente relevante devido à sua elevada incidência em unidades de terapia intensiva (Kazancioglu *et al.*, 2024). Essa condição está frequentemente associada ao prolongamento das internações hospitalares e ao aumento dos custos relacionados à assistência em saúde (Salmanton-García *et al.*, 2024).

As infecções fúngicas invasivas (IFIs) são causadas, em sua maioria, por espécies pertencentes ao gênero *Candida*, de particular importância clínica. Esses patógenos possuem a capacidade de colonizar dispositivos médicos por meio da formação de biofilmes, o que favorece a sua disseminação através da corrente sanguínea, contribuindo para o desenvolvimento de infecções nosocomiais graves (Feng, Yanru *et al.*, 2023).

Em infecções sistêmicas, os processos inflamatórios constituem um mecanismo de defesa intrínseco do organismo, ativado para neutralizar os efeitos nocivos que causam danos celulares e teciduais. Nesse contexto, a inflamação se manifesta como uma resposta fisiológica que envolve o recrutamento de neutrófilos, os primeiros leucócitos ativados no processo imunológico (Riaz; Sohn, 2023).

No entanto, a ativação inadequada de neutrófilos pode desencadear inflamação crônica, causando danos à matriz estrutural dos tecidos e promovendo o desenvolvimento de diversas doenças inflamatórias (Liao *et al.*, 2015). Dentre estas destaca-se a sepse, uma resposta inflamatória sistêmica que pode progredir para disfunção orgânica aguda (Hünniger *et al.*, 2014). A ocorrência de sepse em decorrência de IFIs tem aumentado nos últimos anos e representa uma ameaça à saúde a nível mundial, devido aos elevados índices de letalidade entre os hospedeiros (Bedaso *et al.*, 2025).

O manejo terapêutico de infecções fúngicas sistêmicas atualmente é limitado ao tratamento de cinco principais classes de medicamentos antifúngicos, sendo estes os polienos, as equinocandinas, as alilaminas, os antimetabólitos e os azóis, cada uma apresentando limitações críticas, como baixa biodisponibilidade, espectro de atividade estreito e toxicidade para o hospedeiro (Iyer; Robbins; Cowen, 2022; Robbins; Caplan; Cowen, 2017). O amplo uso

clínico desses medicamentos acelerou ainda mais o surgimento da resistência de espécies fúngicas frente ao tratamento convencional, o que ressalta a necessidade do desenvolvimento de novas estratégias que combinem eficácia terapêutica com baixa toxicidade (Berman; Krysan, 2020).

Nesse contexto, os produtos naturais representam uma alternativa promissora devido à sua diversidade estrutural e amplo potencial farmacológico (Subudhi; Thatoi; Banerjee, 2025). Neste grupo de compostos, pode-se destacar os óleos essenciais (OEs) e seus derivados, pois apresentam propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas e antitumorais bem documentadas (Zhao, Qian *et al.*, 2023).

Dentre os diferentes OEs destaca-se o carvacrol (5-isopropil-2-metilfenol), um monoterpreno fenólico encontrado em espécies pertencentes à família Lamiaceae, como *Origanum*, *Thymus* e *Satureja* (Cui *et al.*, 2024). O carvacrol apresenta uma ampla gama de atividades biológicas, que incluem ação antioxidante, propriedades antibacterianas, antifúngicas, antivirais, anticancerígenas, hepatoprotetoras e anti-inflamatórias (Joshi *et al.*, 2023). Além disso, o carvacrol é reconhecido pela *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA como *Generally Recognized as safe* (Geralmente Reconhecido como seguro – GRAS) (Maccelli *et al.*, 2020). Apesar de seu potencial terapêutico, a baixa solubilidade em meio aquoso e a elevada volatilidade do carvacrol restringem significativamente suas aplicações no meio fisiológico (Moghimi *et al.*, 2016).

Deste modo, para superar essas limitações, sistemas nanoestruturados de liberação de fármacos têm sido empregados para aumentar a estabilidade, a biodisponibilidade e o desempenho terapêutico de diferentes compostos (Galvão *et al.*, 2020). Dentre as diversas plataformas de encapsulamento de ativos, as nanoemulsões (NEs) têm atraído cada vez mais atenção devido à sua elevada capacidade de carregamento de ativos, perfil de liberação sustentada e proteção contra processos de volatilização, resultando em uma melhor estabilidade físico-química do composto ativo (Cardoso *et al.*, 2023; Souza *et al.*, 2022a).

As NEs promovem a obtenção de gotículas em escala nanométrica, o que proporciona estabilidade cinética ao sistema de carregamento, frente à processos de desestabilização. Além disso, a utilização de surfactantes iônicos e não iônicos no preparo desses sistemas favorece a estabilização eletrostática e estérica (Dumortier *et al.*, 2006). No presente estudo, o Pluronic® F127 — poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno)-poli(óxido de etileno) — foi utilizado como agente estabilizador. Este copolímero tribloco, anfifílico e biocompatível, tem a capacidade de prolongar a circulação das nanopartículas na corrente sanguínea e prevenir a rápida captação por macrófagos no organismo (Rebouças *et al.*, 2022).

Embora amplamente aplicáveis, NEs contendo óleos essenciais podem sofrer processos de desestabilização, com o amadurecimento de Ostwald. Estratégias como o uso de triglicerídeos de cadeia média ou longa na fase dispersa contribuem para mitigar essa problemática, pois tais moléculas tem a capacidade de atuar como inibidores do amadurecimento de Ostwald (Ryu *et al.*, 2018).

No presente estudo, o óleo extraído das sementes de *Annona squamosa* L. foi utilizado para compor a fase lipídica das NEs desenvolvidas devido à sua composição rica em ácidos graxos, principalmente os ácidos oleico e linoleico, ambos classificados como de cadeia longa, que são menos suscetíveis à degradação (Mariod; Saeed Mirghani; Hussein, 2017). Além disso, diversos estudos reconhecem o potencial terapêutico deste óleo vegetal, que inclui atividades antitumorais (Chen, Yong *et al.*, 2016), propriedades antioxidantes (Ma *et al.*, 2017) e anti-inflamatórias (Bhoir; Vishwapathi; Singh, 2019b). Contudo, pesquisas focadas em sua aplicação para o desenvolvimento de formulações nanoestruturadas ainda são escassas.

Diante do exposto, a presente pesquisa teve como objetivo preparar e caracterizar nanoemulsões estabilizadas com Pluronic® F127 à base do óleo vegetal extraído das sementes de *Annona squamosa* L. com intuito de encapsular o carvacrol. As formulações desenvolvidas foram avaliadas quanto à sua estabilidade físico-química, eficiência de encapsulamento e perfil de liberação do ativo. Além disso, foram realizados ensaios de segurança clínica e atividade anti-inflamatória em neutrófilos humanos. Por fim, foi avaliada a eficácia antifúngica das formulações contra diferentes patógenos fúngicos pertencentes ao gênero *Candida* spp. O sistema proposto visa oferecer uma nanoplataforma biocompatível capaz de aprimorar o desempenho terapêutico do carvacrol ao reduzir as limitações associadas à sua instabilidade físico-química do composto ativo.

8 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

8.1 Infecções Fúngicas Invasivas

As Infecções Fúngicas Invasivas (IFIs) representam atualmente uma ameaça emergente à saúde global, devido ao aumento na incidência de casos, o que demanda o desenvolvimento de diagnósticos com maior agilidade e tratamentos mais eficientes, uma vez que as IFIs podem resultar em morbidade e mortalidade significativas, especialmente entre pacientes imunocomprometidos (Giannella *et al.*, 2025). A incidência de casos relativos a doenças fúngicas invasivas foi estimada em cerca de 6,5 milhões por ano, resultando em 3,8 milhões de mortes anuais em nível global (Liu, Shuai *et al.*, 2025).

Devido ao aumento na incidência anual de casos e ao elevado índice de mortalidade, em 2022 a Organização Mundial da Saúde (OMS) apresentou a primeira Lista de Patógenos Prioritários Fúngicos (Gressens *et al.*, 2025). Essa lista foi criada com intuito de orientar sobre a necessidade de pesquisas e o desenvolvimento de ações na saúde pública que visem mitigar os efeitos e as problemáticas vinculadas às IFIs (Pappas *et al.*, 2018). Além disso, o surgimento de patógenos resistentes e o aumento da população de hospedeiros imunocomprometidos, tais como pacientes que apresentam em seu histórico clínico múltiplas comorbidades, representam um desafio na medicina clínica (Drewniak *et al.*, 2013).

Dentre os diferentes patógenos fúngicos, as espécies pertencentes ao gênero *Candida* spp, representam desafios substanciais na medicina clínica, pois são os principais agentes patogênicos causadores de infecções fúngicas relacionadas à assistência à saúde, causando infecções da corrente sanguínea, e um dos principais fatores associados à elevada incidência de mortalidade entre pacientes hospitalizados (Sarkar; Praetorius; Figge, 2024).

Em infecções sistêmicas, os neutrófilos (granulócitos polimorfonucleares, PMN) desempenham papel central na resposta imune inata, especialmente contra patógenos fúngicos. A inflamação, nesse contexto, representa um mecanismo fisiológico essencial de defesa, caracterizado pelo rápido recrutamento de neutrófilos, os primeiros leucócitos ativados durante a resposta imunológica (Riaz; Sohn, 2023). Essas células exercem suas funções por meio da geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), mecanismos de fagocitose e da secreção de enzimas proteolíticas. Após a eliminação dos microrganismos, inicia-se o processo de reparo tecidual, restabelecendo a homeostase no organismo do hospedeiro (Brinkmann *et al.*, 2004).

No entanto, a ativação desregulada dos neutrófilos pode induzir inflamação crônica, o que pode comprometer a integridade da matriz extracelular além de favorecer o surgimento de respostas inflamatórias sistêmicas, como a sepse, uma das principais causas de letalidade em unidades hospitalares (Hünniger *et al.*, 2014; Liao *et al.*, 2015). Nos últimos anos, o aumento de casos de sepse fúngica tem sido atribuído, sobretudo, a espécies patogênicas do gênero *Candida* (Yang, Jin *et al.*, 2025). Entre estas espécies, a *Candida albicans* destaca-se como o principal agente etiológico, sendo um comensal humano oportunista capaz de se tornar invasivo em indivíduos imunocomprometidos, com disfunção da barreira epitelial ou pela disseminação a partir de biofilmes formados em dispositivos clínicos (Hünniger *et al.*, 2014).

Atualmente, a terapia antifúngica baseia-se em cinco classes principais de medicamentos: polienos, azóis, alilaminas, antimetabólitos e equinocandinas (Shoham *et al.*, 2017). Quanto ao mecanismo de ação, os polienos, os azóis e as alilaminas atuam na inibição da síntese de ergosterol. Em espécies fúngicas, o ergosterol se configura por ser um componente essencial presente na membrana celular fúngica que auxilia na manutenção da estrutura, função, fluidez e permeabilidade da membrana plasmática (Giannella *et al.*, 2025).

Nos antifúngicos pertencentes à classe dos polienos, como a anfotericina B, o tratamento é feito prioritariamente em casos mais graves de infecções fúngicas sistêmicas. Nessa classe de medicamentos, o mecanismo de ação envolve a formação de complexos com o ergosterol, o que resulta na formação de poros na membrana celular e promove um processo de ruptura e consequentemente o vazamento do conteúdo presente no citoplasma levando a morte celular (Robbins; Caplan; Cowen, 2017).

Para a classe de fármacos azólicos, que inclui os imidazóis (miconazol e cetoconazol) e triazóis (fluconazol e variconazol), o mecanismo de ação ocorre pela inibição da enzima lanosterol 14 α -desmetilase, essa enzima atua na conversão de lanosterol em ergosterol, o que leva ao aumento da permeabilidade da membrana celular e, por fim, à morte das células fúngicas. Essa classe de antifúngicos são amplamente utilizadas devido ao seu elevado espectro de atuação e pela aplicação que pode ser cutânea ou via oral (Chen, Yiyuan *et al.*, 2025).

Quanto aos fármacos pertencentes à classe das alilaminas, como a terbinafina, o mecanismo de ação envolve a inibição da biossíntese do ergosterol pelo bloqueio da enzima esqualeno epoxidase. Devido a tal característica, esses fármacos são mais recomendados para o tratamento contra patógenos classificados como dermatófitos, que afetam principalmente áreas superficiais, como cabelos, a pele e unhas (Hamed *et al.*, 2025; Yadav *et al.*, 2025).

Nos medicamentos classificados como antimetabólitos, o efeito antifúngico está relacionado com alterações presentes nos processos metabólicos das células fúngicas. Um dos principais medicamentos pertencentes a esta classe é a 5-flucitosina, um análogo sintético da pirimidina fluorada. Esse medicamento é absorvido no interior das células fúngicas por uma enzima específica denominada citosina permease e convertido no citoplasma, através da enzima citosina desaminase em 5-fluoracil, que interrompe a síntese de DNA e RNA e, eventualmente, a síntese de proteínas (Phan-Canh *et al.*, 2025; Vermes A, 2000).

Os antimicóticos pertencentes à classe das equinocandinas são classificados como lipopeptídeos semissintéticos, cuja atividade fungicida está relacionada com a capacidade desses medicamentos de bloquear a ação da enzima β -1,3-D-glucano sintase, necessária para a produção de β -1,3-D-glucano, um polissacarídeo essencial presente na estrutura da parede celular fúngica (Hu *et al.*, 2023). Este efeito altera a composição estrutural da parede celular fúngica, tornando-a menos resistente ao ambiente externo, o que resulta na instabilidade osmótica e, conseqüentemente, leva a lise celular através do rompimento da sua camada externa (Lang *et al.*, 2025).

Apesar de sua vasta aplicabilidade clínica, as terapias antifúngicas atuais enfrentam diversas limitações. A baixa solubilidade em meio aquoso de muitos agentes antifúngicos resulta em baixa biodisponibilidade e concentrações subterapêuticas nos locais de infecção (Iyer; Robbins; Cowen, 2022). Além disso, a administração frequente destes fármacos contribui para o acometimento efeitos colaterais graves, tais como nefrotoxicidade, hepatotoxicidade e baixa adesão do paciente (Berman; Krysan, 2020).

Outro fator alarmante no tratamento de infecções fúngicas se deve ao surgimento contínuo de cepas fúngicas multirresistentes, que se desenvolvem principalmente por mecanismos moleculares, tais como mutações nos genes *ERG11* ou *Cyp51* para produzir enzimas-alvo alteradas com baixa ou nenhuma afinidade por fármacos azólicos (Feng, Wenli *et al.*, 2017), ativação de vias de resposta ao estresse (Yadav *et al.*, 2025), superexpressão dos transportadores ABC (cassete de ligação de ATP) (Feng, Yanru *et al.*, 2023), a classe MFS (superfamília dos principais facilitadores) de bombas de efluxo (Engle; Kumar, 2024), além da produção de biofilmes, sobretudo para espécies de *Candida* spp. em dispositivos invasivos, utilizados em tratamentos clínicos (Desai; Mitchell, 2015).

Diante desses desafios, verifica-se que os procedimentos terapêuticos convencionalmente aplicados para o tratamento de infecções fúngicas necessitam do desenvolvimento de novas estratégias eficazes, que atuem sob índice terapêutico seguros, com efeitos colaterais mínimos ou nulos. Nessa perspectiva, a utilização de compostos ativos derivados de produtos naturais surge como uma estratégia promissora.

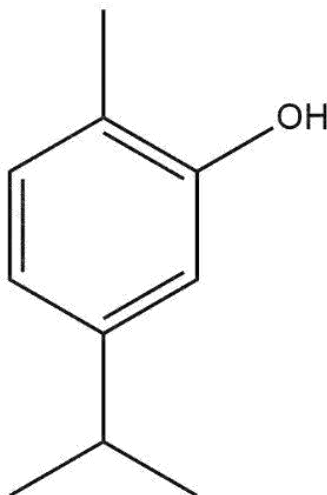
Dentre estes, pode-se destacar os óleos vegetais derivados de metabólitos secundários de plantas. Tais compostos apresentam ação antimicrobiana comprovada, pois atuam na inibição do metabolismo respiratório de células fúngicas, desorganização de estruturas celulares e na interferência na síntese de ácidos nucleicos e proteínas (Madrid *et al.*, 2025). Além disso, estes compostos apresentam a capacidade promover a ruptura da parede e membrana celular fúngica, induzindo a desequilíbrios osmóticos, o que evidencia a sua ação antimicrobiana de amplo espectro e reforça o seu potencial como candidatos eficazes para o desenvolvimento de novas terapias antifúngicas (Bigi *et al.*, 2025).

8.2 Carvacrol como alternativa terapêutica

Os compostos derivados de fontes naturais são amplamente reconhecidos na fitomedicina devido à sua capacidade antimicrobiana. Na perspectiva de tratamento para infecções fúngicas sistêmicas os compostos derivados de plantas têm sido relatados como agentes antifúngicos, pois apresentam a capacidade de induzir especificamente o estresse oxidativo em células fúngicas (Ru *et al.*, 2025).

Dentro desse grupo de compostos, o carvacrol (5-isopropil-2-metilfenol) destaca-se como um monoterpeno fenólico encontrado em plantas aromáticas da família Lamiaceae, sendo principal constituinte dos óleos essenciais extraídos dos gêneros *Origanum*, *Thymus*, *Satureja*, *Thymbra* e *Corydorthymus* (Souza *et al.*, 2022b). O carvacrol, cuja estrutura está demonstrada na Figura 16, apresenta uma ampla gama de aplicações farmacológicas devido às suas propriedades terapêuticas, incluindo atividades antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas, antivirais, anticancerígenas, antiplaquetárias, hepatoprotetoras e anti-inflamatórias (Joshi *et al.*, 2023; Mazarei; Rafati, 2019). Além disso, foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para uso alimentar e classificado como GRAS (*Generally Recognized as safe*), que significa “Geralmente Reconhecido como seguro” (Maccelli *et al.*, 2020).

Figura 16 – Estrutura química do carvacrol.



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Quanto às suas características físico-químicas, o carvacrol apresenta uma coloração que pode variar do incolor a amarelo claro, odor pungente; densidade relativa ($0,974 - 0,9790 \text{ g cm}^{-3}$), índice de refração ($1,5210 - 1,5260$), ponto de fusão igual a 1°C , ponto de ebulição na faixa de 237°C a 238°C . A solubilidade desse composto ocorre preferencialmente em solventes orgânicos, tais como o etanol e éter. Além disso a solubilidade do carvacrol em solução aquosa aumenta substancialmente em pH alcalino (Gandova *et al.*, 2023).

Quanto a sua aplicação no campo farmacológico, a atividade antimicrobiana do carvacrol pode estar associada com os seguintes eventos: rompimento da membrana celular microbiana, redução da formação de biofilme, inibição da motilidade microbiana, inibição de ATPases microbianas, inibição da bomba de efluxo (Rathod *et al.*, 2021). Além disso, no contexto de processos inflamatórios, estudos demonstraram que o carvacrol tem um efeito modulador sobre citocinas pró-inflamatórias (Mahata *et al.*, 2025).

No que se refere à aplicabilidade do carvacrol no tratamento de infecções fúngicas, estudos ressaltam o efeito biológico do composto fenólico contra microrganismos patogênicos resistentes a antibióticos (Molaeitabari; Dahms, 2025). Além disso, estudos prévios revelaram que o carvacrol apresentou efeito fungicida comprovado contra biofilmes formados por *Candida albicans*, *Candida rata* e *Candida parapsilosis* (Hajiaghaalizadeh *et al.*, 2025). O efeito antifúngico do composto ocorre devido a indução do apoptose nas células fúngicas, por meio de mecanismos de inibição de síntese de ergosterol e desencadeia o estresse do retículo endoplasmático em várias espécies de *Candida* (Ismail *et al.*, 2022; Miranda-Cadena *et al.*, 2021).

Contudo, a baixa solubilidade em meio aquoso e a alta volatilidade do carvacrol são fatores que limitam o seu potencial farmacológico (Cardoso *et al.*, 2023). Tais limitações podem ser superadas através do desenvolvimento de estratégias de encapsulamento de bioativos, como o uso de sistemas de carregamento de fármacos desenvolvidos em escala nanométrica, esses sistemas são projetados com intuito de melhorar a estabilidade do composto ativo e maximizar sua eficácia terapêutica (Liu, Qi *et al.*, 2022; Moghimi *et al.*, 2016).

8.3 Potencial terapêutico do óleo extraído das sementes de *Annona squamosa* L.

As árvores frutíferas que dão origem as espécies *Annona squamosa* L. popularmente conhecida como pinha, ata ou fruta do conde, pertencem a família Annonaceae e compreendem cerca de 135 gêneros com 2300 espécies ao redor do mundo (Jagtap; Bapat, 2018). São plantas nativas da Índia Ocidental, mas que podem ser facilmente encontradas em países com climas tropicais e subtropicais, especialmente no continente sul-americano (Ma *et al.*, 2017).

Annona squamosa é um fruto com alto teor nutritivo e é considerada a mais doce das frutas pertencentes à família Annonaceae, devido a estas características, a ata é um fruto amplamente estudado na indústria alimentícia (Mariod; Saeed Mirghani; Hussein, 2017). Além disso, existem numerosos estudos que evidenciam diversas ações terapêuticas e medicinais inerentes à espécie botânica, tais como ação antioxidante (Chen, Jianwei; Chen; Li, 2011a), antitumoral (Chen, Yong *et al.*, 2016), antimicrobiana (Harahap *et al.*, 2022) e ação anti-inflamatória (Yang, Yu Liang *et al.*, 2008). De acordo com a literatura, o potencial farmacológico da espécie botânica é devido a presença de alcaloides, terpenos, flavonoides e acetogeninas anonáceas, na composição da sua estrutura.

De acordo com os resultados publicados por (Ma *et al.*, 2017), as sementes de *Annona squamosa* constituem fontes significativas de lipídios, proteínas e carboidratos, além de oferecer relevante atividade antioxidante devido a presença de compostos fenólicos em sua composição. Além disso, essas fontes oleaginosas presentes nos frutos de *Annona squamosa* L. são uma boa fonte de ácidos graxos insaturados, especialmente ácidos oleico e linoleico, além da presença de quantidades consideráveis de tocoferóis e acetogeninas anonáceas em sua composição (Mariod; Saeed Mirghani; Hussein, 2017)

Dentre os compostos listados, as acetogeninas anonáceas (ACGs) são amplamente consideradas pelo seu potencial farmacológico, com atividades já demonstradas na literatura, como a sua forte ação anti-inflamatória e antimicrobiana (Chen, Jianwei; Chen; Li, 2011a).

Geralmente as ACGs são isoladas a partir das sementes e o óleo é separado durante o processo de extração, que geralmente é descartado.

No entanto, estudos prévios revelaram que o óleo extraído das sementes de *Annona squamosa* (ASSO) possui atividade antioxidante (Zahid *et al.*, 2018), atividade antipsoriática (Bhoir; Vishwapathi; Singh, 2019b), além de atividade antineoplásica contra diversas células tumorais, tais como: SMMC-7721 (carcinoma hepatocelular), HepG2 (câncer de fígado), HeLa (câncer cervical), A-549 (câncer de pulmão) e MCF-7 (câncer de mama) (Chen, Yong *et al.*, 2016).

Com base nos estudos acima relatados, verifica-se que óleo extraído das sementes de *Annona squamosa* L, tem potencial para ser utilizado tanto para o tratamento de infecções causadas por agentes microbiológicos, como também em doenças que causem processos inflamatórios. Todavia, a aplicação direta de ASSO no meio fisiológico se torna limitada devido a sua baixa solubilidade em meio aquoso. Para superar esta limitação, este óleo vegetal pode ser incorporado a sistemas nanoestruturados de carregamento de bioativos, que visam potencializar a ação farmacológica de diversos compostos ativos por meio da melhoria biodisponibilidade de tais compostos de modo a alcançar uma faixa terapêutica adequada no organismo.

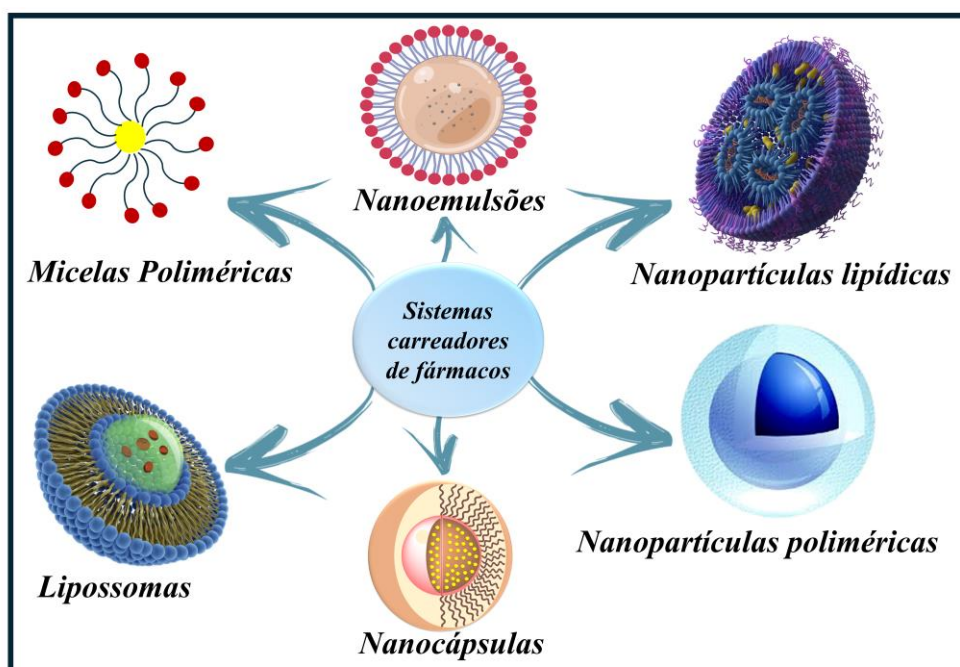
8.4 Sistemas carreadores de fármacos

Durante anos, os medicamentos têm sido desenvolvidos com o intuito de atender a demanda populacional, além disso, há um crescente interesse pela segurança e qualidade dos medicamentos e produtos farmacológicos, juntamente com a diminuição dos custos de produção, através da aplicação de métodos de fabricação, baseados no desenvolvimento da pesquisa científica. O nanocarreamento de fármacos surge com o intuito de viabilizar a produção de sistemas multifuncionais que atuem no fornecimento de medicamentos, aprimorando, assim, a adequada administração e entrega eficiente de fármacos (Harwansh; Deshmukh; Rahman, 2019a).

O carvacrol é um monoterpreno natural que apresenta diversas atividades biológicas, como citado anteriormente. Entretanto a baixa solubilidade em água, fácil suscetibilidade à oxidação e volatilização são algumas das limitações do carvacrol que podem comprometer na sua aplicação biológica (Niza *et al.*, 2020).

Neste sentido, o desenvolvimento de sistemas carreadores de fármacos surge como uma alternativa que pode contornar estas limitações. Os nanocarreadores podem potencializar a biodisponibilidade do ativo, além de prevenir a degradação térmica e/ou fotodegradação. Dentre os diferentes sistemas de carregamento de fármacos, se destacam as nanoplateformas elucidadas na Figura 17, tais como: as nanoemulsões, os sistemas micelares, as nanopartículas poliméricas, os carreadores lipídicos nanoestruturados e os lipossomas (Engel *et al.*, 2017; Souza *et al.*, 2022a).

Figura 17 – Representação esquemática dos sistemas nanocarreadores de fármacos.



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Dentre os nanocarreadores elucidados, as nanoemulsões (NEs) têm atraído grande atenção devido à sua alta capacidade de carregamento e proteção eficiente de compostos bioativos. Quando comparadas aos outros sistemas de carregamento, as NEs exibem características que tornam esses sistemas mais vantajosos para aplicação biológica, tais como: o processo de obtenção simples que não necessita da utilização de equipamentos especiais; tamanhos de gotícula em escala nanométrica (20 – 500 nm) o que demonstra elevada estabilidade coloidal destes sistemas (Kumar, Narendra; Verma; Mandal, 2021).

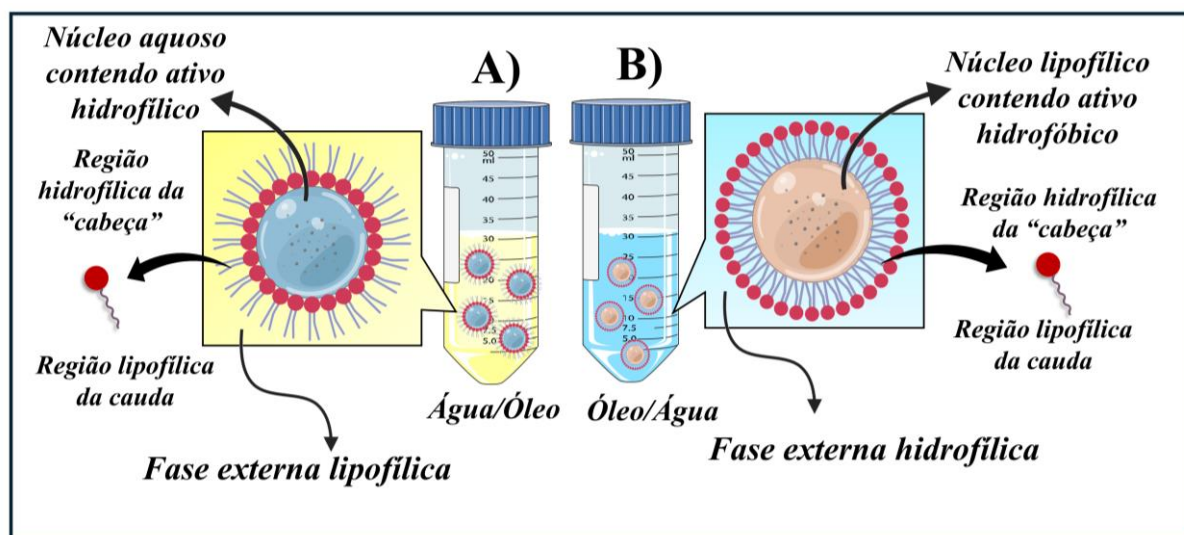
Além disso, as NEs podem atuar no aprimoramento da solubilidade e biodisponibilidade de compostos ativos. Em estudos publicados por Moura e colaboradores

(2021), verifica-se que para o encapsulamento de compostos voláteis, como os óleos essenciais (OEs), as nanoemulsões podem reduzir o processo de volatilização, podendo assim, melhorar a estabilidade destes compostos a longo prazo e prolongar o seu potencial terapêutico (Lima *et al.*, 2021).

8.5 Nanoemulsões

Nanoemulsões são emulsões caracterizadas pela presença de uma fase dispersa composta por gotículas em escala nanométrica. Esses sistemas de carregamento consistem em dispersões coloidais termodinamicamente instáveis, resultantes da mistura heterogênea de duas fases líquidas imiscíveis, cuja estabilidade é conferida pela adição de surfactantes. As nanoemulsões têm a capacidade de formar nanogotículas com diâmetros hidrodinâmicos que variam na faixa de 20 a 500 nm (Karami *et al.*, 2019). Emulsões são classificadas basicamente em duas categorias principais, sendo estas: emulsões diretas (óleo em água – O/A) e emulsões inversas (água em óleo – A/O) cuja representação esquemática encontra-se ilustrada na Figura 18.

Figura 18 – Representação esquemática do sistema bifásico das emulsões.



A) Representa uma emulsão direta; B) Representa uma emulsão inversa.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Emulsões diretas (óleo/água) consistem em um núcleo composto pela presença de pequenas gotículas de óleo, estabilizadas por surfactantes, dispersas em meio aquoso e são geralmente usadas para incorporar moléculas lipofílicas. Enquanto emulsões inversas

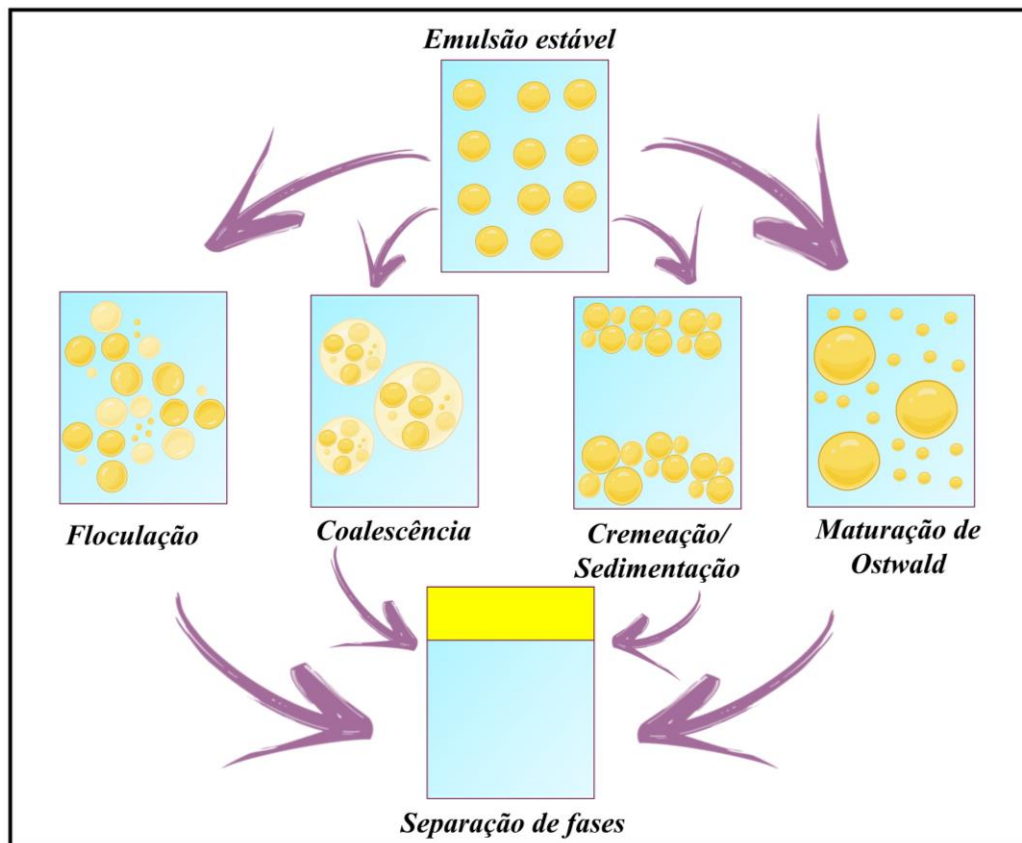
(água/óleo) consistem em pequenas gotículas de água dispersas em meio lipofílico, utilizadas para o aprisionamento de compostos ativos de caráter hidrofílico. Existem as emulsões múltiplas, também conhecidas como bi-contínuas, sendo estas formadas quando óleo e água são intercalados em um mesmo sistema (Singh, Yuvraj *et al.*, 2017)

Devido à presença de gotículas em escala nanométrica, as nanoemulsões são sistemas coloidais que apresentam estabilidade cinética, uma vez que o movimento browniano entre as partículas supera as forças gravitacionais, conferindo maior resistência aos fenômenos de agregação das gotículas (Karami *et al.*, 2019). Além disso, tensoativos iônicos e não iônicos são amplamente empregados durante o processo de preparação, atuando na prevenção contra os processos de aglomeração por meio de mecanismos de estabilização eletrostática e estérica (Naseema *et al.*, 2021).

Durante o preparo das NEs, a energia livre de Gibbs assume valores positivos, indicando que o sistema é termodinamicamente instável e que o processo de formação das gotículas ocorre de maneira não espontânea (Kumar, Amit; Kanwar; Mehta, 2025). Deste modo, além do uso de surfactantes no preparo, a estabilização dessas dispersões coloidais requer a aplicação de energia externa. As metodologias utilizadas para suprir tal necessidade são classificadas em processos de emulsificação de baixa e alta energia, sendo destacada esta última, por promover, simultaneamente, a redução do tamanho das partículas e a formação de nanogotas. Essa técnica baseia-se no uso de dispositivos mecânicos capazes de gerar forças disruptivas que fragmentam a fase interna, dispersando-a na fase contínua (Harwansh; Deshmukh; Rahman, 2019b). Entre os principais homogeneizadores empregados, verifica-se que o processo de alta energia gerado por irradiação ultrassônica se destaca pois apresenta a capacidade de aumentar a eficiência da formação das emulsões, uma vez que a cavitação acústica gerada durante o processo favorece a produção de nanopartículas sob altas taxas de cisalhamento (Luo, 2016).

Apesar da versatilidade destes sistemas, as nanoemulsões são propensas a processos de desestabilização que resultam na separação de fases, entre os principais mecanismos de desestabilização destacam-se a coalescência, floculação, cremação, sedimentação e amadurecimento de Ostwald (Kumar, Amit; Kanwar; Mehta, 2025; Wilson *et al.*, 2022). A Figura 19 ilustra os principais fenômenos de desestabilização de nanoemulsões.

Figura 19 – Representação esquemática dos principais mecanismos de desestabilização em emulsões.



Fonte: Elaborado pela autora (2025) adaptado de (Wilson *et al.*, 2022).

Devido a estabilidade cinética presente nas nanoemulsões resultante dos movimentos brownianos, a sua taxa de difusão é superior à sedimentação provocada pela gravidade (Kumar, Amit; Kanwar; Mehta, 2025). Deste modo, esses sistemas coloidais tendem a ser estáveis frente aos fenômenos de sedimentação e cremação. Contudo, em emulsões diretas estabilidade coloidal pode ser comprometida caso a densidade da fase orgânica supere a da fase aquosa (Tadros *et al.*, 2004).

Os mecanismos de floculação e coalescência apresentam natureza semelhante, e decorrem do processo de aproximação entre as gotículas presentes na fase dispersa (Wilson *et al.*, 2022). A floculação consiste na agregação dessas gotículas, mantidas próximas umas das outras por uma fina película da fase contínua, formando aglomerados sem fusão completa (Tadros *et al.*, 2004). A coalescência, por sua vez, ocorre quando duas ou mais gotículas se fundem, originando uma única gotícula de maior diâmetro. Esse fenômeno é uma etapa subsequente à floculação e envolve a deformação das gotículas na interface, o que resulta em

sua ruptura redução da área superficial total do sistema (Gupta *et al.*, 2016).

Em nanoemulsões à base de óleos essenciais, o amadurecimento de Ostwald é geralmente o mecanismo de desestabilização mais dominante, este processo é descrito pelo crescimento do raio das gotículas e na diminuição do total de gotículas dispersas, este fenômeno é decorrente pelas diferenças na pressão de Laplace, que é maior nas gotículas menores em comparação com as maiores (Kumar, Amit; Kanwar; Mehta, 2025).

Algumas estratégias podem ser utilizadas para evitar essa problemática, como processamento de alta energia (homogeneização através de rotor-estator, ultrassom, alta pressão e microfluidização) e concentração adequada de surfactantes (Chircov; Grumezescu, 2019). Além disso, vale salientar que a utilização de triglicerídeos de cadeia média e/ou longa na fase orgânica é fundamental para a obtenção de nanoemulsões estáveis (Cardoso *et al.*, 2023). No presente estudo, o óleo das sementes de *Annona squamosa* foi utilizado para compor a fase orgânica, uma vez que a sua estrutura é formada majoritariamente pelos ácidos oleico e linoleico, que se enquadram no perfil desejado para obter NEs estáveis.

8.6 Técnicas de caracterização para nanossistemas

No desenvolvimento de nanoemulsões, a caracterização das propriedades físico-químicas e interfaciais é fundamental para compreender o comportamento desses sistemas coloidais no meio fisiológico visando a sua aplicação para formulações terapêuticas (Bolgen *et al.*, 2025). Quanto ao aspecto físico, as nanoemulsões podem apresentar-se transparentes, semitransparentes ou com aparência branco-leitosa, características que dependem principalmente do tamanho das gotículas, do tipo e da concentração do surfactante empregado e da natureza da fase dispersa (Singh, Mahendra *et al.*, 2020).

A estabilidade coloidal está diretamente relacionada à estabilidade cinética das dispersões, a qual pode ser avaliada por meio do tamanho médio das gotículas e de sua distribuição. O espalhamento de luz dinâmico (DLS) é uma das técnicas mais utilizadas para essa finalidade, pois permite a determinação do diâmetro hidrodinâmico médio e do índice de polidispersividade (PDI) com base na equação de Stokes-Einstein (George; Shah; Shrivastav, 2019). A manutenção desses valores com variações mínimas ao longo do tempo é indicativa de estabilidade física das nanoemulsões.

Gotículas de menor tamanho apresentam movimento browniano mais intenso em relação às forças gravitacionais, o que confere maior resistência a processos de desestabilização, como a separação de fases (Kim, Geon Woong *et al.*, 2023). Além disso, o tamanho das

partículas influencia diretamente a absorção e a biocompatibilidade de sistemas carreadores de fármacos, uma vez que gotículas menores apresentam maior área superficial específica, favorecendo a interação com o meio fisiológico e a absorção dos ativos encapsulados (Kumar, Narendra; Verma; Mandal, 2021).

Quanto ao índice de polidispersividade (PDI), este parâmetro expressa o grau de heterogeneidade do sistema, sendo definido pela razão entre o desvio padrão e o tamanho médio das gotículas. Valores elevados de PDI indicam ampla distribuição de tamanhos, refletindo sistemas menos homogêneos e, portanto, mais suscetíveis a processos de desestabilização que podem culminar na separação de fases (Kumar, Narendra; Verma; Mandal, 2021). O PDI é geralmente interpretado em uma faixa típica entre 0,1 e 0,4. Valores entre 0 e 0,1 caracterizam sistemas monodispersos, com gotículas de tamanho e forma homogêneos. Dispersões com PDI entre 0,1 e 0,4 são consideradas moderadamente polidispersas, enquanto valores superiores a 0,4 indicam sistemas polidispersos, mais propensos a instabilidades físicas (Sharma *et al.*, 2018).

Outro parâmetro essencial na caracterização da estabilidade coloidal é o potencial ζ ($P\zeta$), que atua como um indicador eletrocinético da estabilidade de partículas em suspensão sob a ação de um campo elétrico. Esse parâmetro reflete a magnitude das forças de repulsão eletrostática decorrentes das cargas superficiais das gotículas e de suas interações interfaciais (Elim *et al.*, 2024). Valores de potencial ζ próximos de zero indicam baixa repulsão eletrostática, favorecendo interações intermoleculares e aumentando a propensão a fenômenos de floculação e agregação. Em contrapartida, valores elevados de $P\zeta$ indicam forças repulsivas mais intensas entre as gotículas, contribuindo para a estabilidade do sistema (Seibert *et al.*, 2019).

Estudos prévios indicam que a estabilidade eletrocinética de dispersões coloidais pode ser classificada em diferentes faixas de potencial ζ : valores entre ± 0 e ± 10 mV correspondem a sistemas instáveis; entre ± 10 e ± 20 mV, a sistemas relativamente estáveis; entre ± 20 e ± 30 mV, a sistemas moderadamente estáveis; e valores superiores a ± 30 mV caracterizam sistemas altamente estáveis, nos quais as forças de repulsão eletrostática superam as interações atrativas de Van der Waals, assegurando maior resistência à desestabilização e estabilidade prolongada da dispersão (Elim *et al.*, 2024; Majeed *et al.*, 2016; Viveros-Contreras *et al.*, 2018).

Para a confirmação da estabilidade coloidal das nanoemulsões, torna-se igualmente relevante a avaliação da morfologia do nanossistema. Nesse contexto, destacam-se as técnicas de microscopia eletrônica, que permitem a análise da estrutura, do tamanho e da distribuição das gotículas (Tayeb *et al.*, 2021). A microscopia eletrônica de transmissão (MET) possibilita a caracterização da estrutura interna da fase dispersa, enquanto a microscopia varredura fornece

informações topográficas da superfície do nanossistema. Na análise de sistemas coloidais, a microscopia eletrônica de transmissão é amplamente empregada pois permite a visualização de estruturas internas coexistentes e as transições microestruturais dos compostos em análise (Klang *et al.*, 2012).

Para o desenvolvimento de dispersões coloidais estáveis, a realização de ensaios de estabilidade termodinâmica é essencial para assegurar a robustez das formulações. Para esse fim, os sistemas são submetidos a diferentes testes de estresse térmico e mecânico, incluindo ciclos de aquecimento e resfriamento, ciclos de congelamento e descongelamento, bem como ensaios de centrifugação (Bolgen *et al.*, 2025). Esses procedimentos permitem avaliar a resistência das dispersões a variações estruturais, por meio da análise do aspecto físico das formulações antes e após a aplicação dos testes. Tais ensaios visam simular condições reais de transporte e armazenamento, sendo, portanto, fundamentais para a determinação da estabilidade e da vida útil de sistemas nanoestruturados (Singh, Mahendra *et al.*, 2020).

9 OBJETIVOS

9.1 Objetivo geral

Desenvolver nanoemulsões estáveis à base do óleo extraído das sementes de *Annona squamosa* L. para a encapsulação do carvacrol e avaliar o potencial farmacológico da formulação obtida para aplicações no tratamento de infecções fúngicas.

9.2 Objetivos específicos

- ✓ Avaliar a segurança clínica e o potencial anti-inflamatório do óleo extraído das sementes de *Annona squamosa*;
- ✓ Preparar nanoemulsões contendo o óleo das sementes de *Annona squamosa* como fase orgânica e Pluronic® F127 como estabilizante;
- ✓ Realizar um estudo de otimização para a obtenção da formulação mais estável;
- ✓ Preparar nanoemulsões contendo o carvacrol como princípio ativo;
- ✓ Avaliar a estabilidade coloidal das formulações desenvolvidas;
- ✓ Realizar um estudo de estabilidade termodinâmica das emulsões preparadas;
- ✓ Avaliar a morfologia dos sistemas de carreamento produzidos;
- ✓ Determinar a eficiência de encapsulamento e capacidade de carreamento das formulações desenvolvidas;
- ✓ Realizar o estudo de liberação *in vitro* das formulações contendo o ativo encapsulado;
- ✓ Avaliar a segurança clínica e o potencial anti-inflamatório das formulações contendo o ativo encapsulado;
- ✓ Investigar o potencial antifúngico das formulações produzidas contra diferentes espécies de fungos do gênero *Candida* spp;

10 METODOLOGIA

10.1 Materiais

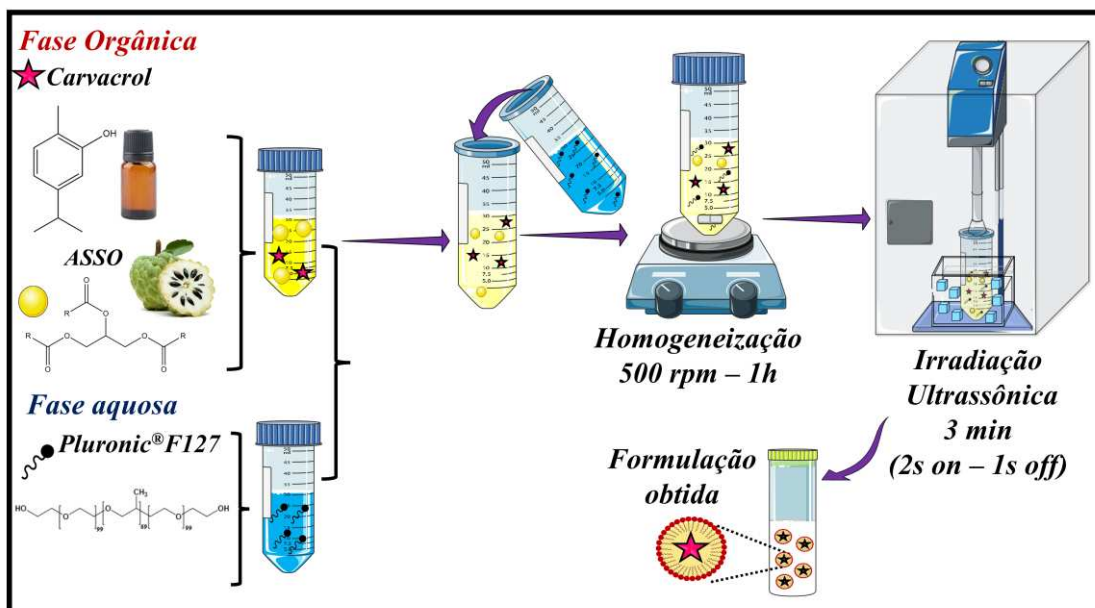
Conforme descrito no capítulo 1, o óleo vegetal foi obtido a partir da extração das sementes de *Annona squamosa* L. que foram coletadas no município de Pacoti – Ceará. O uso desta espécie foi registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o número de registro AF8D0A2. Todos os reagentes utilizados no presente estudo foram fornecidos pela Sigma-Aldrich®. O Carvacrol (5-isopropil-2-metilfenol – $150,22 \text{ g mol}^{-1}$, pureza 96% v v⁻¹) foi utilizado como ativo CAS 499-75-2. Poli(óxido de etileno)-poli(óxido de propileno)-poli(óxido de etileno) – Pluronic® F127 (12600 g mol^{-1}), utilizado como surfactante CAS 9003-11-6. Acetonitrila (utilizada para as análises de cromatografia líquida de alta eficiência) grau analítico ($\geq 99,9\%$) CAS 75-05-8. Água deionizada foi obtida de um sistema de purificação de água Milli-Q Millipore® Corporation (Watford, Reino Unido). Todos os reagentes utilizados na pesquisa são de grau analítico.

10.2 Métodos

10.2.1 Preparo das nanoemulsões

As formulações à base do óleo extraído das sementes de *Annona squamosa* foram obtidas pelo método de emulsificação de alta energia por irradiação ultrassônica, conforme descrito na Figura 20, procedimento já consolidado na literatura e adaptado de Hosseini *et al.*, (2013). Inicialmente, a fase aquosa foi preparada pela solubilização do surfactante Pluronic® F127 em água deionizada. Em paralelo, a fase orgânica foi obtida pela solubilização de 30 mg de carvacrol no óleo vegetal (ASSO). Após o preparo das duas fases imiscíveis, a fase aquosa foi lentamente adicionada à fase orgânica. A mistura obtida foi submetida a uma etapa de pré-homogeneização sob agitação magnética de 500 rpm durante 1 h. Em seguida, as formulações foram processadas por irradiação ultrassônica, sendo as amostras mantidas em banho de gelo para evitar o aquecimento excessivo. O processo de alta energia foi conduzido em um processador de ultrassom Branson Sonifier W-450D (Teltow, Alemanha, Hielscher), equipado com sonda, operando em regime pulso de 2 s *on* (ligado) e 1 s *off* (desligado), com amplitude de 70% e potência de 100 – 103W por 3 minutos.

Figura 20 – Representação do procedimento realizado para obtenção das nanoemulsões.



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Com o objetivo de aprimorar a estabilidade das nanoemulsões, foi conduzida uma etapa sistemática de otimização, na qual as proporções dos constituintes da formulação foram cuidadosamente ajustadas, considerando-se o volume final da emulsão (10–20 mL), a fração da fase orgânica (5–10% m m⁻¹) e a concentração de surfactante (1–3% m m⁻¹). A partir dessa abordagem, foram obtidas nove formulações distintas, cujas composições estão descritas na Tabela 11.

As formulações resultantes foram monitoradas periodicamente ao longo de 30 dias, sob condições de armazenamento à temperatura ambiente. A avaliação da estabilidade foi realizada por meio da técnica de espalhamento de luz dinâmico, empregada para a determinação do diâmetro hidrodinâmico médio e do índice de polidispersividade. Todos os ensaios foram conduzidos em triplicata, e os resultados são apresentados como valores médios das replicatas.

Tabela 11 – Descrição das formulações sintetizadas para estudo de otimização.

Experimento	Quantidade de surfactante (mg)	Fase Orgânica (%)	Volume final da emulsão (mL)
1	100	5,0	10,0
2	150	7,5	15,0
3	200	10,0	20,0
4	300	5,0	15,0

Experimento	Quantidade de surfactante (mg)	Fase Orgânica (%)	Volume final da emulsão (mL)
1	100	5,0	10,0
2	150	7,5	15,0
3	200	10,0	20,0
4	300	5,0	15,0

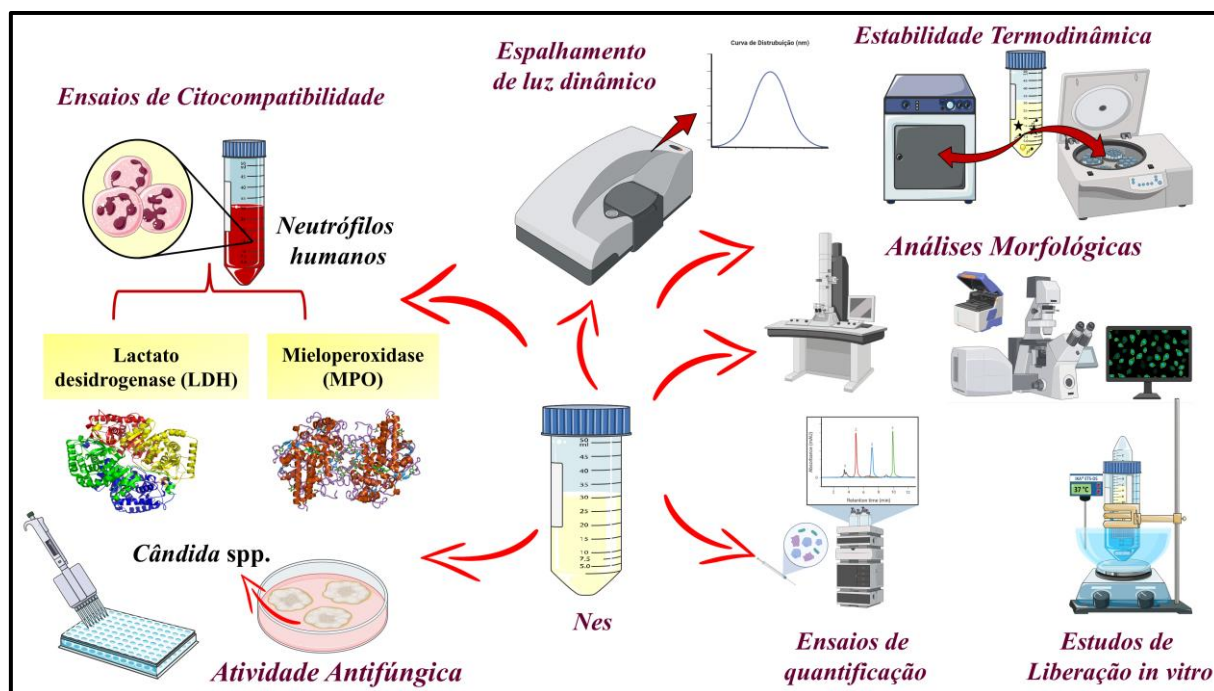
5	400	7,5	20,0
6	200	10,0	10,0
7	600	5,0	20,0
8	300	7,5	10,0
9	450	10,0	15,0

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

10.2.2 Caracterização das formulações desenvolvidas

Após a etapa de otimização, a formulação selecionada para o encapsulamento do carvacrol foi submetida a estudos de estabilidade coloidal e termodinâmica, bem como a análises morfológicas. Adicionalmente, realizaram-se a quantificação do teor de carvacrol encapsulado e a avaliação do seu perfil de liberação. Por fim, a formulação foi avaliada por meio de estudos biológicos, incluindo ensaios de toxicidade, potencial anti-inflamatório e atividade antifúngica. A Figura 21 apresenta as caracterizações realizadas nas formulações obtidas.

Figura 21 – Caracterizações realizadas para a formulação otimizada.



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

10.2.2.1 Espalhamento de luz dinâmico (DLS)

Os ensaios de espalhamento de luz dinâmico foram realizados com intuito de avaliar a estabilidade coloidal das formulações desenvolvidas de acordo com os resultados de diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersividade (PDI) e potencial ζ . Para tal, as análises foram conduzidas em um equipamento Zetasizer Nano ZS90 (Malvern® Instruments, Reino Unido), pertencente ao Laboratório de Polímeros e Inovação de Materiais (LabPIM), localizado no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica – UFC. Para a realização do experimento as amostras foram diluídas em água deionizada na proporção (1:1000) ($v v^{-1}$) e analisadas a um ângulo fixo de 90° e a 25°C com condutividade comparável para determinar o potencial ζ . Os resultados do diâmetro hidrodinâmico e do PDI, bem como da carga superficial das amostras, foram expressos como uma média de cinco análises.

10.2.2.2 Estudos de estabilidade termodinâmica e de estocagem

Os testes de estabilidade termodinâmica e estudo de estocagem foram realizados no Laboratório de Polímeros e Inovação de Materiais (LABPIM), localizado no Departamento de Química orgânica e Inorgânica da UFC. Os ensaios de estabilidade termodinâmica foram conduzidos com o objetivo de identificar a ocorrência de formulações metaestáveis. Para essa finalidade, a nanoemulsão contendo carvacrol encapsulado (CNE) foi submetida a condições de estresse térmico e mecânico, a fim de avaliar o impacto desses procedimentos sobre as propriedades físico-químicas do sistema, conforme metodologia descrita por Md *et al.*, (2020). O estresse mecânico foi avaliado por meio de centrifugação em centrífuga de bancada Hettich Universal 320, utilizando-se 10 mL da formulação CNE recém-preparada, acondicionados em tubos Falcon de 15 mL, os quais foram submetidos a $10017 \times g$ por 30 min. O estresse térmico foi avaliado usando dois protocolos de variação de temperatura. No primeiro teste, as amostras foram submetidas a seis ciclos consecutivos de aquecimento e resfriamento entre 45°C e 4°C , com um período de armazenamento de 48 h em cada temperatura. No segundo protocolo, as amostras foram expostas a três ciclos de congelamento e descongelamento, com temperaturas variando de -21°C a 25°C e um tempo de permanência de 48 h em cada condição. Após cada teste, as formulações foram inspecionadas visualmente em busca de evidências de separação de fases ou precipitação (Rebouças *et al.*, 2022).

Os testes de estabilidade de armazenamento a longo prazo foram conduzidos durante um período de 90 dias para avaliar os aspectos macroscópicos e os parâmetros físico-

químicos da amostra de CNE. Para esse fim, as formulações recém-preparadas foram colocadas em tubos de vidro hermeticamente fechados com capacidade de 10 mL. As amostras foram armazenadas em uma incubadora a 25 ± 2 °C e analisadas em intervalos de 1, 15, 30, 60 e 90 dias. Os parâmetros de estabilidade coloidal, incluindo tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial ζ , foram investigados, com análises realizadas em quintuplicata (Cardoso *et al.*, 2023).

Os resultados alcançados foram submetidos a análise estatística. Inicialmente, valores discrepantes (*outliers*) foram descartados. A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk e, em seguida, a variância analisada por *one-way* ANOVA, complementada pelo pós-teste de Tukey. Adotou-se nível de confiança de 95% ($p < 0,05$) para significância estatística, sendo também considerados os demais níveis de significância ($*p < 0,01$; $**p < 0,001$; $***p < 0,0001$). As análises foram conduzidas no software GraphPad Prism, versão 9.5 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, EUA). Todos os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão, a partir de quintuplicata experimental.

10.2.2.3 Análises Morfológicas

Os aspectos morfológicos dos nanossistemas desenvolvidos neste estudo foram investigados por Microscopia Eletrônica de Transmissão de Varredura (STEM) e Microscopia Confocal de Varredura a Laser (CLSM). As análises de STEM foram realizadas na Empresa Brasileira de Pesquisa agropecuária (EMBRAPA) em um microscópio eletrônico Tescan Vega 3 (Tescan®, Brno, República Tcheca) operando a uma tensão de aceleração de 30 kV. O histograma de distribuição de tamanho foi construído a partir da medição de 100 partículas selecionadas aleatoriamente com auxílio do software *ImageJ*®. O preparo das amostras seguiu o protocolo descrito por (Liew *et al.*, 2020), no qual 50 μ L das formulações foram diluídos em água deionizada seguindo a proporção 1:150 (v/v) e depositados em grades de cobre revestidas com carbono (malha Formvar, 200 *mesh*). As amostras foram deixadas em repouso para secagem completa à temperatura ambiente pelo período de 18h.

As análises de CLSM foram realizadas na Central Analítica, que pertence ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Ceará (PGQUIM-UFC). Os ensaios foram conduzidos seguindo a metodologia descrita por (Sharif *et al.*, 2017), com adaptações. Para a coloração das formulações, 20 μ L de solução de vermelho do Nilo em clorofórmio (1 mg mL⁻¹) foram adicionados a 1 mL da amostra. A mistura foi homogeneizada na ausência de luz para garantir a coloração completa das gotículas de óleo na formulação. Após

o procedimento de coloração, uma alíquota de 20 µL da amostra corada foi inserida em uma lâmina de vidro e coberta com uma lamínula. A análise foi realizada em um microscópio confocal Zeiss LSM-710 (Leica®, Heidelberg, Alemanha), com excitação a 543 nm (comprimento de onda específico do corante) utilizando um laser de íons argônio de onda contínua. As imagens foram capturadas com uma lente objetiva de imersão em óleo de 40× e processadas com o software LSM 710 ZEN associado ao instrumento analítico.

10.2.2.4 Eficiência de Encapsulamento (EE%) e Capacidade de Carreamento (CC%)

A quantificação do carvacrol nas nanoformulações foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) para determinar a Eficiência de Encapsulamento (EE%) e a Capacidade de carreamento do ativo (CC%). As análises foram realizadas no Parque de Desenvolvimento Tecnológico (PADETEC) e conduzidas em modo de eluição isocrática em um cromatógrafo SHIMADZU LC-10AD equipado com um detector de arranjo de diodos UV-VIS SPD-M10AVP, utilizando uma coluna C18(2) (5 µm, 4,6 x 150 mm) com detecção a 274 nm. Para a realização dos ensaios, a fase móvel utilizada consistiu em uma mistura de acetonitrila e água na proporção (50:50, acetonitrila/água, v v⁻¹) a uma vazão de 1,0 mL min⁻¹, com tempo de corrida de 15 min e volume de injeção de 20 µL. A curva padrão foi preparada dissolvendo 10 mg de carvacrol em 10 mL de uma mistura de acetonitrila e água deionizada na proporção de 80:20 (acetonitrila/água, v v⁻¹). Seis padrões foram preparados, e a faixa de concentração avaliada foi de 10 µg mL⁻¹ a 1000 µg mL⁻¹. O limite de detecção (LD) foi de 0,5 ng mL⁻¹ e o limite de quantificação (LQ) foi de 0,05 µg mL⁻¹. Todas as amostras foram filtradas antes da injeção (filtros de 0,45 µm, Merck®, Darmstadt, Alemanha) (Dedić; Medanhodžić-Vuk, 2018).

Para a determinação da eficiência de encapsulamento (EE%), foram empregados dois métodos distintos de quantificação do carvacrol: o método direto e o indireto. No método indireto, alíquotas de 1 mL das formulações contendo carvacrol foram submetidas à centrifugação em tubos de ultrafiltração (Turbo 15 Vivaspin, ponto de corte de 3000 Da – Sartorius®, Göttingen, Alemanha) a 4000 xg por 30 minutos. O método direto, por sua vez, baseou-se na quantificação do teor total de carvacrol presente nas formulações.

Os valores de EE% e CC% foram calculados comparando-se a concentração inicial de carvacrol adicionada à formulação com a quantidade de composto livre detectada após o processo de filtração. Os resultados foram expressos em porcentagem e deduzidos de acordo com as equações (8) e (9), respectivamente (Rebouças *et al.*, 2023).

$$EE\% = \frac{C_{Total} - C_{livre}}{C_{total}} * 100 \quad (8)$$

$$CC\% = \frac{W_{totalcarv} - W_{carv livre}}{W_{NE}} \times 100 \quad (9)$$

Onde, C_{total} corresponde à concentração inicial de carvacrol presente nas formulações ($\mu\text{g mL}^{-1}$), C_{livre} representa a concentração do material filtrado ($\mu\text{g mL}^{-1}$), $W_{totalcarv}$ refere-se a massa do carvacrol utilizado no preparo das nanoformulações, $W_{carv livre}$ representa a massa de carvacrol livre detectada no sobrenadante após o processo de ultrafiltração e W_{NE} representa a massa total da formulação.

10.2.5. Estudos de liberação *in vitro*

10.2.5.1 Determinação das condições *sink*

Para a elucidação do mecanismo de liberação do carvacrol a partir das formulações, inicialmente foram estabelecidas as condições *sink*. Para esse propósito, ensaios de solubilidade do carvacrol foram realizados empregando diferentes proporções de uma mistura de etanol e tampão fosfato (PBS, pH 7,4). As razões etanol/PBS (v v^{-1}) avaliadas foram 10/90, 20/80, 25/75 e 30/70. Em cada ensaio, uma quantidade excessiva de carvacrol foi adicionada a frascos contendo 10 mL do meio receptor. As suspensões foram mantidas sob agitação magnética a 500 rpm, em temperatura ambiente (aproximadamente 24 °C), por 2 h, sendo posteriormente analisadas por espectrofotometria de absorção UV-Vis. A condição *sink* foi considerada atendida quando a solubilidade do carvacrol no volume de dissolução foi, no mínimo, três vezes superior à concentração de saturação correspondente (Bhatt *et al.*, 2020; Phillips *et al.*, 2012). Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Polímeros e Inovação de Materiais (LABPIM), do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará (UFC). Todas as análises foram realizadas em triplicata, e os resultados são apresentados como média.

10.2.5.2 Ensaios de liberação

Os ensaios de liberação foram conduzidos com intuito de investigar o perfil de liberação do carvacrol incorporado aos nanossistemas desenvolvidos, este ensaio seguiu

metodologia proposta por (De Almeida *et al.*, 2017). Para tal, foram analisadas amostras de carvacrol não encapsulado (CARV), as nanoemulsões carregadas com carvacrol (CNE) e a formulação BNE, utilizada como controle. Os experimentos foram conduzidos a $37,0 \pm 0,5$ °C por 72 horas em um sistema de compartimento duplo separado por uma membrana de diálise (MWCO 12-14 kDa, Sigma-Aldrich®, St. Louis, EUA) com área de permeação de $1,09 \pm 0,03$ cm². O compartimento doador foi preenchido com 1 mL de amostra (CNE ou CARV), enquanto o compartimento receptor foi preenchido com 12 mL de uma mistura de tampão fosfato (pH 7,4) e etanol sob agitação magnética constante a 500 rpm. Os ensaios foram realizados em triplicata (para cada amostra) e conduzidos em condições *sink*. Para a quantificação do carvacrol, alíquotas de 1 mL foram coletadas do compartimento receptor em intervalos de tempo predeterminados e analisadas em espectrofotômetro UV-Vis (2600 SHIMADZU) a 274 nm. A concentração de carvacrol foi determinada utilizando uma curva de calibração ($A_{274} = 0,015[\text{CARV}] + 0,0034$), obtida a partir de um ajuste ($R^2 = 0,9998$) medido para diferentes diluições de carvacrol (de 1 a 40 µg mL⁻¹). O estudo de liberação foi realizado no Laboratório de Polímeros e Inovação de Materiais (LABPIM), do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará (UFC).

A cinética de liberação do carvacrol nas nanoemulsões foi investigada de acordo com os modelos matemáticos de ordem zero (Laracuenta; Yu; McHugh, 2020a), primeira ordem (Tsirigotis-Maniecka *et al.*, 2021), Higuchi (Denton; Quinones, 1950) e Korsmeyer-Peppas (Korsmeyer *et al.*, 1983), conforme descrito nas Equações 9, 10, 11 e 12, respectivamente:

$$\text{Ordem – zero: } Q = K_0 t + Q_0 \quad (9)$$

$$\text{Primeira – ordem: } \ln Q = \ln Q_0 + K_1 t \quad (10)$$

$$\text{Higuchi: } Q = Q_H t^{1/2} \quad (11)$$

$$\text{Korsmeyer – Peppas: } \frac{M^t}{M^\infty} = K_{kp} t^n \quad (12)$$

De acordo com as equações supracitadas, Q representa a quantidade cumulativa de ativo liberado no instante t , Q_0 corresponde a quantidade inicial do ativo em solução, M^t/M^∞ representa a fração do carvacrol liberada no tempo t , n corresponde ao expoente de difusão, K_0 , K_1 , K_H e K_{kp} representam as constantes de liberação para o modelo de ordem zero, primeira ordem, Higuchi e Korsmeyer-Peppas, respectivamente.

10.2.4 Avaliação pré-clínica de segurança e eficácia utilizando neutrófilos humanos

10.2.4.1 Amostras de sangue humano

Para a determinação dos parâmetros de citocompatibilidade, os experimentos foram conduzidos de acordo com as diretrizes da Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. Assim, este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, sob o protocolo CAAE: 86014724.0.0000.5054. Para a realização do ensaio experimental, as amostras avaliadas foram: CARV (carvacrol não encapsulado), CNE (nanoemulsão contendo carvacrol encapsulado) e BNE (nanoemulsão sem o fármaco encapsulado, produzida para ser usada como controle).

Para o ensaio pré-clínico, o sangue periférico de doadores saudáveis foi coletado no dia do experimento pela equipe do Centro de Estudos Farmacêuticos e Cosméticos da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil. O material foi acondicionado em tubos contendo 0,8% de citrato de sódio (m v⁻¹) e centrifugado a 1250 xg por 10 min para separação dos componentes sanguíneos. Os neutrófilos foram isolados de acordo com a metodologia proposta por (Lucisano' And e Mantovani, 1984), resultando em uma suspensão celular contendo 80 – 90% de neutrófilos com viabilidade de $90 \pm 2,0\%$, obtida pelo ensaio de exclusão com Azul de Tripiano (Campelo *et al.*, 2024).

10.2.4.2 Ensaio de lactato desidrogenase (LDH)

Neutrófilos humanos em suspensão ($2,5 \times 10^6$ células mL⁻¹) foram incubados com os compostos ativos ASSO ($1 - 50 \mu\text{g mL}^{-1}$), CARV ($5 - 100 \mu\text{g mL}^{-1}$), CNE ($5 - 100 \mu\text{g mL}^{-1}$) e BNE (diluição equivalente a uma concentração de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ de CNE), veículo (0,1% DMSO, controle negativo), solução salina balanceada de Hanks (HBSS, células não tratadas) e Triton X-100 (TX $-0,2\% \text{ v v}^{-1}$, utilizado como padrão citotóxico) a 37 °C por 15 minutos em uma placa de 96 poços. Após a incubação, as amostras foram centrifugadas a 800 xg, 4 °C por 10 minutos. Os sobrenadantes foram separados e transferidos para uma nova placa de 96 poços. A absorbância foi então medida a 340 nm e a atividade da enzima LDH foi avaliada de acordo com as instruções do fabricante (LDH liquiform™ da Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, MG, Brasil). A atividade da LDH foi calculada de acordo com a Equação 13:

$$A = \left[\frac{(A_1 - A_2)}{2} \right] * 1746.03 \quad (13)$$

De acordo com os parâmetros apresentados na Equação 10, **A** corresponde a atividade da enzima LDH (U L⁻¹), **A₁** representa a absorbância em 1 min, **A₂** corresponde a absorbância em 3 min e 1746,03 representa o fator de correção calculado pelo fabricante (para 25 µL) (Barbosa Ribeiro *et al.*, 2021).

10.2.4.3 Ensaio de liberação da enzima mieloperoxidase (MPO)

Para a realização da análise uma suspensão de neutrófilos humanos (5,0 x 10⁶ células mL⁻¹) foi incubada com os componentes ativos: ASSO (1-50 µg mL⁻¹), CARV (5-100 µg mL⁻¹), CNE (5-100 µg mL⁻¹) e BNE (em diluições equivalentes a 5-100 µg mL⁻¹ de CNE), DMSO (veículo) e HBBS (células não tratadas), indometacina (36 µg mL⁻¹, utilizada como padrão anti-inflamatório) por 30 min a 37 °C. Posteriormente, excluindo o grupo Hanks, as células incubadas foram estimuladas pela adição de 0,1 µmol L⁻¹ de PMA (forbol 12-miristato 13-acetato – padrão inflamatório), por 15 minutos a 37 °C. Em seguida, as amostras foram centrifugadas (2000 xg) a 4 °C por 15 min, e o sobrenadante obtido, rico em enzimas liberadas pela degranulação dos leucócitos, foi utilizado para determinar a concentração de MPO, segundo a metodologia descrita por Úbeda *et al.*, (2002).

Para a quantificação da concentração de MPO, utilizou-se uma mistura de tampão fosfato (pH 7,4) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂, 0,012% v v⁻¹), essa mistura foi adicionada ao sobrenadante, e as amostras foram incubadas a 37 °C por 5 minutos. Dado o tempo decorrido, 1,5 mmol L⁻¹ de 3,3',3,5'-tetrametilbenzidina (TMB) foi adicionado à mistura reacional, e a reação foi interrompida pela adição de ácido sulfúrico (H₂SO₄, 4,0 mol L⁻¹). O procedimento descrito acima foi realizado em triplicata, e as leituras das amostras foram feitas com uma absorbância de 595 nm. (Almeida Moreira Leal *et al.*, 2020).

10.2.5 Avaliação da atividade antifúngica

10.2.5.1 Espécies isoladas do gênero *Candida*

Os ensaios de atividade antifúngica foram realizados com intuito de se determinar a concentração inibitória mínima (CIM) das amostras analisadas frente à três cepas comerciais

de *Candida* spp, sendo estas, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida. krusei* ATCC 6258 e *Candida auris* 01256P, derivadas do CDC B11903 e uma cepa clínica de *Candida albicans* resistente ao fluconazol. Todos os microrganismos utilizados neste estudo pertencem à micoteca do Laboratório de Bioprospecção de Moléculas Antimicrobianas (LABIMAN), localizado no departamento de farmácia da Universidade Federal do Ceará (UFC).

10.2.5.2 Ensaio antifúngico

Os valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foram determinados pelo método de microdiluição em caldo, realizado em microplacas de 96 poços, conforme o protocolo M27-A3 do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008). Para os ensaios, utilizou-se o meio de cultura RPMI 1640 (pH $7,0 \pm 0,1$), tamponado com 0,165 M de ácido morfolinopropanosulfônico (MOPS) (Sigma, EUA). As suspensões de inóculo foram preparadas a partir de cultivos de 24 h das leveduras em ágar batata suplementado com cloranfenicol, ajustadas à escala 0,5 McFarland e posteriormente diluídas em RPMI 1640, de modo a se obter uma concentração final de $0,5$ a $2,5 \times 10^3$ UFC mL⁻¹, que foi então distribuída nas placas (da Silva, Cecília Rocha *et al.*, 2023).

Foram avaliadas as amostras ASSO, CARV, CNE e BNE. O ASSO foi testado em concentrações entre 5 e 0,0098% (v v⁻¹). Nas formulações, calculou-se que a concentração de carvacrol correspondia a 0,3073% (v v⁻¹), enquanto a de óleo das sementes de *Annona squamosa* representava 8,241% (v v⁻¹). Dessa forma, a faixa de concentrações testada para as nanoemulsões (BNE e CNE) baseou-se no teor de carvacrol, variando de 0,078% a 0,0000012% (v v⁻¹), com o óleo vegetal (ASSO) presente no intervalo de 2,05% a 0,000031% (v v⁻¹). O controle da formulação foi avaliado na faixa de 25,2% a 0,00038% (v v⁻¹), correspondendo às concentrações do ASSO presentes nas formulações contendo o ativo.

As microplacas contendo o inóculo e os tratamentos foram incubadas a 35 °C (± 2 °C) por 24 h, com leitura visual dos resultados. A CIM foi definida como a menor concentração capaz de inibir 50% do crescimento fúngico em relação ao controle, que continha apenas o meio de cultura e o inóculo padronizado (CLSI, 2008). Todos os testes foram conduzidos em triplicata, e os valores finais representam a média aritmética das replicatas.

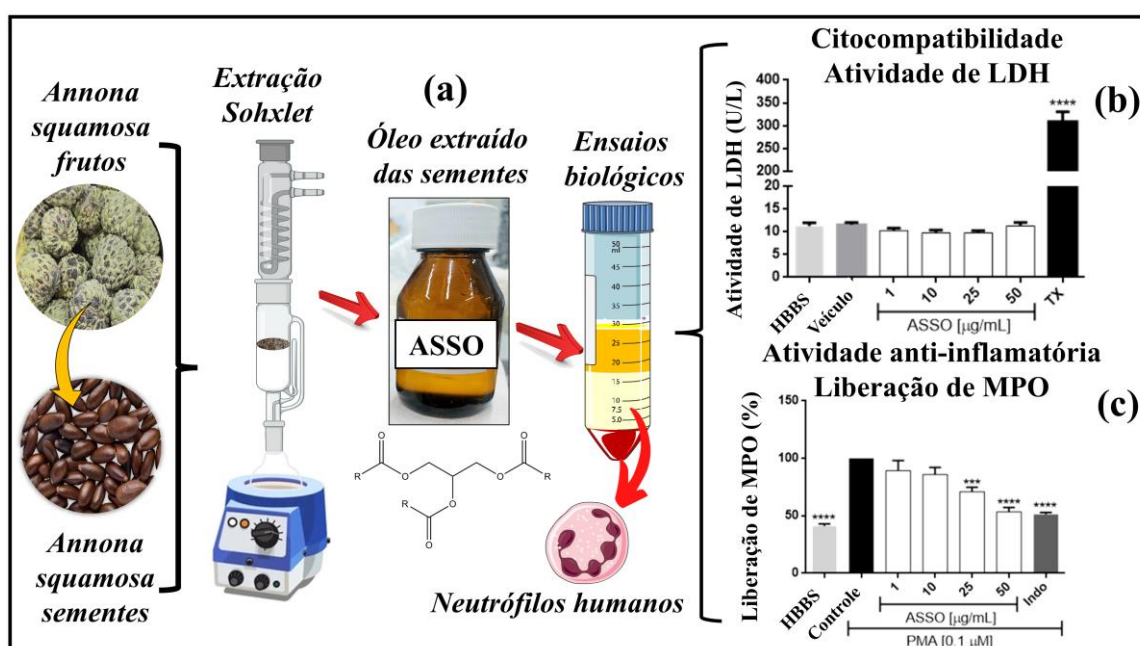
11 RESULTADOS E DISCUSSÃO

11.1 Ensaios de citocompatibilidade de ASSO em neutrófilos humanos

O presente estudo teve como objetivo o desenvolvimento de nanoemulsões empregando, como fase orgânica, o óleo extraído das sementes de *Annona squamosa* (ASSO). A extração do óleo foi realizada pelo método Soxhlet, resultando em um rendimento de $33 \pm 2,3\%$ (m m^{-1}) em relação à massa inicial das sementes trituradas. O óleo obtido foi caracterizado quanto à sua estrutura química, propriedades físico-químicas e composição em ácidos graxos, cujos resultados são apresentados no Capítulo 1.

Previamente ao desenvolvimento das nanoemulsões, o óleo vegetal extraído das sementes *Annona squamosa* foi submetido a ensaios biológicos preliminares com o intuito de avaliar seu potencial terapêutico. Nesse contexto, o ASSO foi investigado quanto ao seu efeito citotóxico e potencial anti-inflamatório utilizando neutrófilos humanos isolados, por meio dos ensaios de atividade da enzima lactato desidrogenase (LDH) e de liberação da enzima mieloperoxidase (MPO). Os resultados dos ensaios de biológicos, bem como o procedimento de obtenção do ASSO, estão apresentados na Figura 22.

Figura 22 – Processo de extração e ensaios de citocompatibilidade do óleo de sementes de *Annona squamosa*. (a) extração de ASSO, (b) ensaio da atividade de LDH e (c) ensaio de liberação da MPO.



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

A lactato desidrogenase é uma enzima citoplasmática essencial que desempenha um papel de relevância na via glicolítica anaeróbica (Stankovic Stojanovic; Lionnet, 2016). A liberação dessa enzima no meio extracelular, detectável no sangue, surge como um indicador de ruptura da membrana citoplasmática, que pode estar associada a diversas condições patológicas, como anemia, doenças hepáticas, cardiopatias e processos infecciosos.

Neste contexto a avaliação da atividade de LDH destaca-se como um método amplamente utilizado como marcador de dano tecidual, e seu ensaio de atividade aplica-se como uma ferramenta para investigar os potenciais efeitos citotóxicos de diversos compostos em estudo (Campelo *et al.*, 2024; Pedrosa; Leal; Lemes, 2021). Deste modo, com intuito de avaliar o potencial citotóxico do óleo extraído das sementes de *Annona squamosa* foram realizados os ensaios da atividade da enzima LDH cujos resultados estão demonstrados na Figura 21 (b).

De acordo com resultados alcançados, verifica-se que tratamento de neutrófilos humanos com TX (padrão citotóxico) aumentou significativamente ($p < 0,05$) a atividade da LDH em comparação ao grupo HBSS (controle negativo). De forma contrária, os dados revelaram que não houve diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre o tratamento dessas células com ASSO e o grupo HBSS, indicando seu baixo potencial citotóxico na faixa de concentração estudada ($1 - 50 \mu\text{g mL}^{-1}$). Os resultados obtidos no presente estudo são relevantes pois demonstram o potencial de ASSO para aplicações terapêuticas, uma vez que o óleo não apresentou efeitos de citotoxicidade, o que revela a segurança clínica desse óleo vegetal cuja aplicação majoritária se concentra na utilização do fruto em preparações alimentícias, como doces, sorvetes e sucos (Ma *et al.*, 2017).

A resposta inflamatória no corpo humano está intimamente associada ao recrutamento de células de defesa durante processos infecciosos (Liao *et al.*, 2021). Nesse contexto, os neutrófilos são as primeiras células a serem ativadas no sistema imunológico. Dentre as enzimas produzidas pelos neutrófilos durante a resposta imune, a mieloperoxidase (MPO) se destaca por seu papel crucial na conversão de peróxido de hidrogênio em ácido hipocloroso, um poderoso agente oxidante endógeno (J. Arnhold, 2004). Assim, a atividade da MPO é frequentemente utilizada como parâmetro para avaliar a capacidade anti-inflamatória de compostos bioativos (Yang, Shun Fa *et al.*, 2014). Neste contexto, o potencial anti-inflamatório de ASSO foi investigado através dos ensaios de liberação da MPO. Os resultados obtidos neste estudo estão demonstrados na Figura 22 (c).

Para a realização do teste em questão, utilizou-se o PMA (acetato de forbol-miristato), um éster análogo ao diacilglicerol (DAG), com o objetivo de induzir o processo

inflamatório. Esse composto tem a capacidade de penetrar na membrana plasmática e ativar diretamente diferentes isoformas da proteína quinase C (PKC) nos neutrófilos. As PKCs, por sua vez, promovem a fosforilação de componentes citosólicos da NADPH oxidase, facilitando a montagem desse complexo na membrana plasmática e em grânulos específicos (Damascena *et al.*, 2022). Como resultado, espécies reativas de oxigênio (ROS) são formadas. Sob estimulação por PMA, os neutrófilos intensificam a resposta inflamatória por meio da liberação da enzima mieloperoxidase (MPO), um processo mediado pela degranulação (Campelo *et al.*, 2024).

A exposição de neutrófilos humanos ao ASSO a 25 ($70,9 \pm 3,9\%$) e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($53,39 \pm 3,8\%$) reduziu ($p < 0,05$) a degranulação de neutrófilos induzida por PMA, indicando que este óleo vegetal possui atividade anti-inflamatória e pode atenuar a liberação de MPO. Vale ressaltar que os resultados obtidos para o ASSO a 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ foram semelhantes aos observados para a indometacina ($51,26 \pm 1,7\%$), um anti-inflamatório não esteroide utilizado no tratamento de diferentes condições clínicas.

Esses achados corroboram os de Bhoir *et al.*, (2019), que relataram o potencial biológico da ASSO em processos inflamatórios, incluindo uma redução significativa nos níveis de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6, IL-17, TNF- α , INF- γ , bem como uma diminuição na infiltração de células T CD4⁺ em modelos de psoríase, uma condição inflamatória crônica.

Com base nos resultados obtidos, infere-se que o ASSO configura-se como um derivado vegetal seguro e eficaz para aplicações farmacêuticas, podendo ser empregado tanto como ingrediente farmacêutico ativo de origem vegetal quanto como emoliente no desenvolvimento de sistemas dispersos, como emulsões. Na condição de ingrediente ativo, o ASSO apresenta potencial para aplicação na formulação de alimentos funcionais ou no desenvolvimento de fitoterápicos destinados ao tratamento de processos inflamatórios. Ademais, em razão de sua composição rica em ácidos graxos insaturados, a via oral destaca-se como uma alternativa de administração particularmente promissora.

11.2 Caracterização físico-química das formulações desenvolvidas

11.2.1 Estudo de otimização das formulações preparadas.

As formulações desenvolvidas neste estudo foram submetidas a uma etapa de otimização, na qual se investigou a influência da concentração de surfactante, do teor de fase orgânica e do volume final da emulsão, com o objetivo de obter a formulação de maior

estabilidade. Os dados referentes à composição das formulações avaliadas encontram-se apresentados na Tabela 11. A estabilidade das formulações foi analisada com base nos valores de diâmetro hidrodinâmico e do índice de polidispersividade (PDI). Para essa finalidade, as amostras foram monitoradas periodicamente ao longo de 30 dias, e analisadas pela técnica de espalhamento de luz dinâmico. Os resultados obtidos das análises estão demonstrados na Tabela 12.

Tabela 12 – Estudo de otimização das formulações desenvolvidas.

Formulações	DIA 1		DIA 8		DIA 15		DIA 30	
	Dh (nm)	PDI*	Dh (nm)	PDI*	Dh (nm)	PDI*	Dh (nm)	PDI*
F1	251 ±	0,36 ±	255,8 ±	0,12 ±	248,8 ±	0,14 ±	249,2 ±	0,13 ±
	1,1	0,10	5,4	0,03	4,2	0,01	3,3	0,02
F2	288,5 ±	0,17 ±	289,7 ±	0,15 ±	284,9 ±	0,15 ±	282,3 ±	0,14 ±
	3,7	0,02	0,9	0,01	2,4	0,01	3,6	0,04
F3	353,1 ±	0,21 ±	357,4 ±	0,13 ±	344,5 ±	0,22 ±	329,5 ±	0,21 ±
	4,5	0,05	8,4	0,08	2,5	0,02	4,0	0,08
F4	177,7 ±	0,14 ±	178,6 ±	0,15 ±	177,6 ±	0,12 ±	175,9 ±	0,13 ±
	1,6	0,10	1,8	0,02	1,4	0,01	0,7	0,05
F5	204,9 ±	0,1 ±	209,2 ±	0,09 ±	205,5 ±	0,11 ±	204,2 ±	0,12 ±
	2,2	0,010	2,6	0,03	1,5	0,02	0,6	0,02
F6	252,7 ±	0,1 ±	252,9 ±	0,13 ±	251,6 ±	0,09 ±	246,4 ±	0,12 ±
	1,4	0,010	1,3	0,02	1,8	0,04	1,7	0,01
F7	148,7 ±	0,15 ±	153,5 ±	0,13 ±	149,5 ±	0,14 ±	149,5 ±	0,14 ±
	0,6	0,010	2,2	0,01	0,62	0,01	1,23	0,01
F8	171,1 ±	0,12 ±	173,5 ±	0,08 ±	172,0 ±	0,13 ±	168,6 ±	0,11 ±
	1,2	0,010	1,3	0,04	1,5	0,01	0,7	0,01
F9	190,3 ±	0,12 ±	220,3 ±	0,12 ±	224,4 ±	0,12 ±	230,6 ±	0,13 ±
	2,5	0,030	2,5	0,05	1,1	0,02	2,6	0,02

PDI* Representa o índice de polidispersividade.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Os resultados indicaram que todas as formulações apresentaram tamanhos de gotícula entre 150 e 350 nm, situando-se na faixa característica de nanoemulsões (20–500 nm) (Kim, Geon Woong *et al.*, 2023). Esses valores confirmam a obtenção de sistemas nanométricos adequados para aplicações em emulsões estáveis. Além disso, menores tamanhos de gotícula contribuem para maior estabilidade coloidal, uma vez que reduzem a influência das forças gravitacionais, minimizando processos de sedimentação ou cremação (Nabi *et al.*, 2019)

Os valores de índice de polidispersividade (PDI) variaram entre 0,1 e 0,3, classificando as formulações como moderadamente polidispersas. Observou-se que as amostras com menores diâmetros hidrodinâmicos apresentaram valores de PDI próximos de 0,1, indicando maior uniformidade das gotículas e, conseqüentemente, maior estabilidade coloidal (Zhang; Tan; McClements, 2021).

Entre as formulações avaliadas, F4, F7 e F8 destacaram-se por apresentar melhor estabilidade. Dentre estas, a formulação F8, caracterizada por maior teor de fase orgânica, foi selecionada para o prosseguimento dos ensaios, sendo empregada no encapsulamento do carvacrol e na avaliação do potencial farmacológico. A partir dessa formulação, foram desenvolvidas a nanoemulsão sem ativo (BNE) e a nanoemulsão com carvacrol encapsulado (CNE).

11.2.2 Estudos de estabilidade da formulação otimizada

11.2.2.1 Espalhamento de luz dinâmico

Com base no estudo de otimização, as formulações contendo carvacrol e seu respectivo controle (CNE e BNE, respectivamente) foram avaliadas quanto à estabilidade coloidal, considerando os parâmetros de tamanho de partícula, índice de polidispersividade (PDI) e potencial ζ . Para essa análise, empregaram-se as técnicas de espalhamento de luz dinâmico (DLS) e mobilidade eletroforética. Os resultados obtidos através das técnicas empregadas estão ilustrados na Tabela 13.

Tabela 13 – Análises de espalhamento de luz dinâmico das formulações CNE e BNE.

Formulações	Diâmetro médio (nm)	PDI	Potencial ζ (mV)
CNE*	172,1 $\pm$ 1,7	0,12 $\pm$ 0,03	-32,2 $\pm$ 2,6

BNE**	$168,9 \pm 0,8$	$0,10 \pm 0,01$	$-33,8 \pm 0,9$
-------	-----------------	-----------------	-----------------

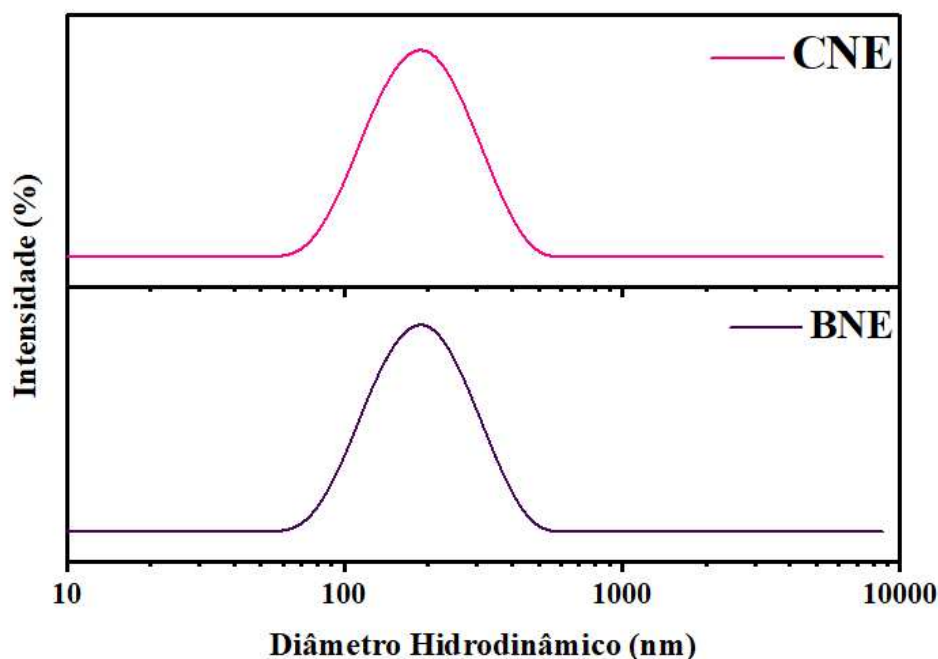
*CNE Representa a formulação contendo o carvacrol encapsulado. **BNE Representa a formulação sem ativo encapsulado (Controle).

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

A partir dos valores obtidos das análises de DLS foi possível estudar a estabilidade cinética das formulações, bem como a natureza da carga superficial dos nanocarreadores produzidos no presente estudo. Os resultados demonstrados na Tabela 13 revelaram que as formulações BNE e CNE exibiram valores de diâmetro hidrodinâmico de $168,9 \pm 0,8$ e $172,1 \pm 1,7$ nm, respectivamente. Quanto ao índice de polidispersividade os valores foram de PDI para as amostras BNE e CNE foram de $0,10 \pm 0,01$ e $0,12 \pm 0,03$, respectivamente. Os achados nesse estudo estão em conformidade com os relatos de (Zhang; Tan; McClements, 2021).

Além disso, em sistemas nanoestruturados uniformidade da distribuição entre as gotículas também fornece uma medida de estabilidade do sistema. Este é um parâmetro que pode ser avaliado em uma análise conjunta entre os valores obtidos de PDI e os gráficos de distribuição dos diâmetros hidrodinâmicos obtidos através dos ensaios de DLS. A Figura 23 ilustra os gráficos de distribuição obtidos das formulações BNE e CNE.

Figura 23 – Gráfico de distribuição dos diâmetros hidrodinâmicos das formulações CNE e BNE.



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Os gráficos apresentados na Figura 23 evidenciam que as formulações BNE e CNE exibiram distribuição populacional de caráter unimodal, caracterizada pela presença de um único pico. Esse comportamento, descrito por Sharma *et al.*, (2018), é típico de sistemas predominantemente monodispersos. Complementarmente, os valores de PDI, apresentados na Tabela 13, situam-se próximos de 0,1, o que reflete uma maior uniformidade na distribuição dos tamanhos das partículas, conferindo ao sistema mais resistente frente à processos de desestabilização.

Quanto a estabilidade eletrocinética das formulações analisadas, os valores de potencial ζ obtidos para as amostras de BNE e CNE foram de -33,8 mV e -32,2 mV, respectivamente, confirmando a elevada estabilidade coloidal dos sistemas. O sinal negativo está associado à adsorção de grupos hidroxila na interface óleo-água, decorrente da formação de ligações de hidrogênio entre os grupos poli (óxido de propileno) e poli (óxido de etileno) presentes nas cadeias do surfactante Pluronic® F127 utilizado na formulação (Jarak *et al.*, 2020). Além disso, devido ao seu elevado peso molecular, as cadeias presentes nas moléculas do Pluronic® F127 também promovem a estabilização dos sistemas por impedimento estérico, efeito que minimiza os fenômenos de desestabilização (Zhao, Caicai *et al.*, 2020).

Adicionalmente, a incorporação do óleo extraído das sementes de *Annona squamosa* na fase dispersa contribuiu para o aumento da resistência a fenômenos de desestabilização (Raikos *et al.*, 2019). Esse efeito decorre da presença predominante de triglicerídeos de cadeia longa na estrutura do óleo vegetal, favorecem a estabilização por impedimento estérico. Para aplicações farmacêuticas, a estabilização estérica é particularmente vantajosa, pois garante a estabilidade do sistema coloidal independentemente da natureza das cargas superficiais, resultando em uma dispersão mais homogênea e estável (Rebouças *et al.*, 2022; Zhao, Caicai *et al.*, 2020).

10.2.2.2 Investigação da estabilidade termodinâmica estudos de estocagem

Para sistemas coloidais, a estabilidade termodinâmica ocorre quando um sistema está em seu estado de energia mais baixo ou em equilíbrio químico com seu ambiente. Os testes que avaliam e determinam a estabilidade termodinâmica de um sistema são projetados para identificar e contornar as formulações metaestáveis (instáveis) (Ahmad *et al.*, 2014). No caso de nanoemulsões, essas dispersões coloidais são caracterizadas por apresentar estabilidade cinética frente a fenômenos de agregação. Deste modo, para avaliar a estabilidade termodinâmica das nanoformulações desenvolvidas neste estudo, as amostras CNE e BNE

foram submetidas a ensaios de estresse térmico e mecânico, incluindo ciclos de aquecimento-resfriamento, ciclos de congelamento-degelo e testes de centrifugação (Jamir *et al.*, 2024). Os resultados estão demonstrados na Figura 24.

Figura 24 – Testes de estabilidade termodinâmica das formulações BNE e CNE.



CNE1 e BNE1 – Referem-se aos testes realizados de aquecimento e resfriamento; CNE2 e BNE2 são relativos aos testes de congelamento e degelo.

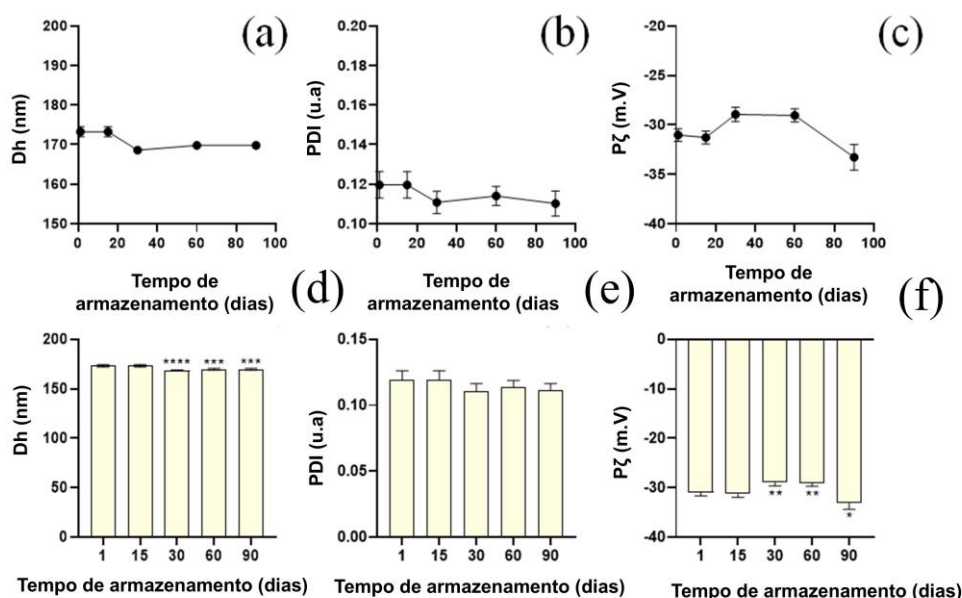
Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Os resultados evidenciaram que as formulações CNE e seu respectivo controle (BNE) mantiveram-se estáveis ao longo dos ensaios, não sendo observadas alterações visuais indicativas de separação de fases, formação de creme, precipitação, craqueamento ou coalescência durante os testes de estabilidade sob condições de estresse. Ademais, as formulações não apresentaram modificações antes e após os ensaios de estabilidade termodinâmica, confirmando seu adequado perfil de estabilidade. Os achados deste estudo estão em consonância com os resultados reportados por Rebouças *et al.* (2022), que desenvolveram nanoemulsões à base de óleo de linhaça para o encapsulamento de ativos hidrofóbicos, empregando Pluronic® F127 como surfactante.

Além da inspeção visual, a formulação de CNE foi submetida a um estudo de estabilidade de armazenamento a 25 ± 2 °C por um período de 90 dias, com avaliações realizadas em intervalos de 1, 15, 30, 60 e 90 dias. Durante esse período, foram analisados parâmetros de estabilidade coloidal, incluindo tamanho de partícula, índice de polidispersão (PDI) e potencial ζ . A Figura 25 apresenta os dados obtidos nas análises de estabilidade, bem

como o tratamento estatístico aplicado.

Figura 25 – Estudos de estabilidade de armazenamento da formulação CNE por 90 dias a 25°C.



Resultados obtidos de diâmetro hidrodinâmico (nm), PDI e potencial ζ (mV) no estudo de armazenamento da formulação CNE (a), (b) e (c); Dados estatísticos da formulação de CNE de acordo com os parâmetros de tamanho de partícula, PDI e potencial ζ no estudo de armazenamento (d), (e) e (f). (* $p < 0,01$; ** $p < 0,001$; *** $p < 0,0001$).

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Conforme demonstrado na Figura 24, verifica-se que para os ensaios de diâmetro hidrodinâmico, observou-se que entre 1 e 15 dias, não houve variações estatisticamente significativas ($p > 0,05$). No intervalo entre 15 e 30 dias, observou-se uma leve redução no tamanho das partículas, variando de 173 nm para 169 nm, com diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,0001$). Entre 30 e 60 dias, notou-se um leve aumento, de 168 nm para 169 nm ($p < 0,001$), enquanto entre 60 e 90 dias, os valores permaneceram estáveis, variando de 170 a 171 nm ($p < 0,001$). Em relação ao índice de polidispersão (PDI), os valores permaneceram dentro da faixa de 0,11 durante todo o período analisado, sem diferenças estatisticamente significativas entre os intervalos ($p > 0,05$).

Quanto ao potencial ζ , não foram observadas variações estatisticamente significativas entre 0 e 15 dias ($p > 0,05$). Entre 15 e 30 dias, foi registrada uma variação de -32 mV para -29 mV ($p < 0,01$). Entre 30 e 60 dias, foi observada uma ligeira redução nos valores do potencial ζ , variando de -29 mV para -30 mV ($p < 0,01$). Finalmente, entre 60 e 90 dias, foi

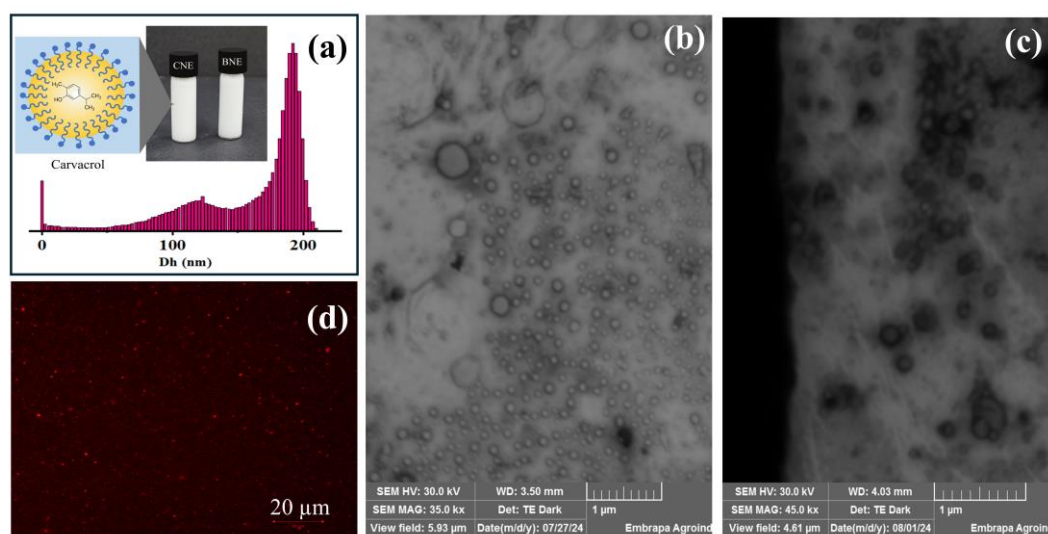
observada uma variação de -29 mV para -33 mV ($p < 0,05$).

A análise dos dados provenientes dos estudos de estabilidade termodinâmica e de armazenamento evidenciou que a formulação desenvolvida neste trabalho apresentou estabilidade mesmo sob condições potencialmente favoráveis à desestabilização. Além disso, os parâmetros físico-químicos avaliados ao longo do estudo de estabilidade de armazenamento apresentaram valores semelhantes aos da amostra recém-preparada, indicando que tanto o processo de formulação CNE quanto os excipientes empregados na preparação da nanoemulsão foram eficazes na obtenção de um sistema estável. O comportamento observado para a formulação CNE nesses ensaios está em consonância com resultados previamente reportados na literatura, a exemplo do estudo de Sousa *et al.*, (2025), que obtiveram nanoemulsões a partir do óleo vegetal extraído da espécie *Calotropis procera*.

10.3 Análises Morfológicas

Em sistemas nanoestruturados, a morfologia constitui um parâmetro essencial para a avaliação da estabilidade, pois reflete a distribuição relativa e cumulativa do tamanho e do formato das gotículas em suspensão. Nesse contexto, o presente estudo investigou os aspectos morfológicos das formulações CNE e BNE, apresentados na Figura 26, por meio das técnicas de Microscopia Eletrônica de Transmissão de Varredura (STEM) e Microscopia Confocal de Varredura a Laser (CLSM).

Figura 26 – Ensaios morfológicos das formulações CNE e BNE.



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

As análises por microscopia confocal de varredura a laser (CLSM) foram conduzidas com o objetivo de investigar possíveis alterações estruturais nas gotículas de óleo presentes na fase dispersa das formulações recém-preparadas e armazenadas a $\pm 25^\circ\text{C}$. Para tal, empregou-se o corante vermelho do Nilo, cuja fluorescência, ao interagir com a fase orgânica, possibilita a visualização das gotículas lipofílicas em tonalidade avermelhada. Conforme ilustrado na Figura 26 (d), a formulação CNE apresentou gotículas de dimensões reduzidas e homogeneamente distribuídas, evidenciando a eficiência do processo de irradiação ultrassônica empregado no preparo das formulações desenvolvidas neste estudo. Resultados semelhantes foram reportados por (Ghosh, Vijayalakshmi; Ranjha; Gupta, 2023), que também utilizaram a técnica de CLSM para avaliar a morfologia e a distribuição de gotículas em nanoemulsões destinadas ao encapsulamento de óleos essenciais.

De forma complementar, análises por STEM foram conduzidas com intuito de avaliar a estabilidade dos nanossistemas obtidos, com ênfase na morfologia, no tamanho e na distribuição das partículas em suspensão (Klang *et al.*, 2012). A Figura 26 (a), (b) e (c) apresenta, respectivamente, o histograma da amostra CNE e as micrografias das formulações CNE e BNE. Os resultados demonstraram que as nanoemulsões desenvolvidas exibiram partículas com diâmetro hidrodinâmico inferior a 200 nm. Os dados alcançados encontram-se em conformidade com os valores de diâmetro obtidos nas análises de tamanho de partícula realizadas pela técnica de DLS. As micrografias revelaram, ainda, gotículas esféricas com ampla distribuição de tamanhos, característica típica de sistemas com moderada polidispersão (Liew *et al.*, 2020).

A formação de partículas em escala nanométrica está diretamente associada à natureza do surfactante utilizado para estabilizar o nanossistema e ao método de obtenção dos nanocarreadores. Neste estudo, o processo de cavitação acústica, promovido pela irradiação ultrassônica, demonstrou elevada eficácia na redução do tamanho das gotas. Em paralelo, o surfactante Pluronic® F127, um polímero não iônico de caráter hidrofílico, atuou de maneira significativa na estabilidade do nanossistema, pois foi capaz de reduzir a tensão interfacial o que favorece a formação de nanogotículas (Cardoso *et al.*, 2023; de Castro *et al.*, 2023; Ghosh, Vijayalakshmi; Ranjha; Gupta, 2023; Rebouças *et al.*, 2023).

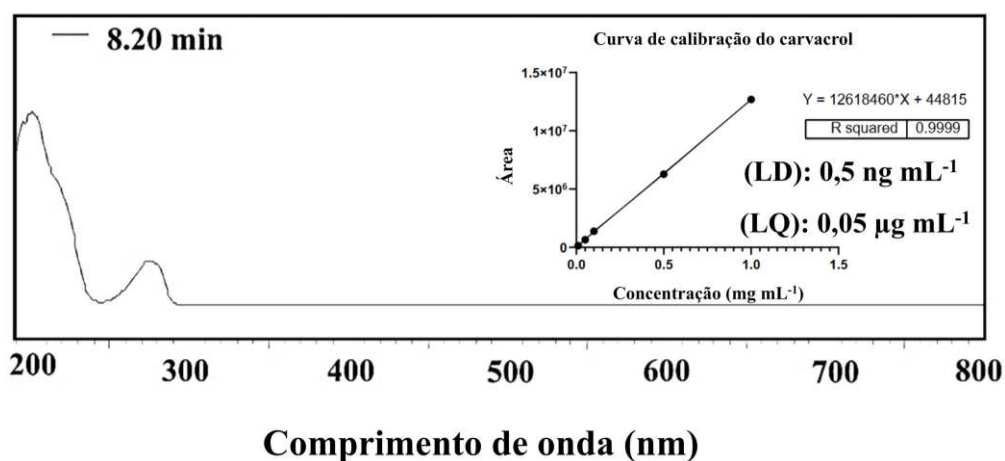
Adicionalmente, a incorporação do óleo de sementes de *Annona squamosa* na fase dispersa contribuiu para o aumento da estabilidade dos nanossistemas desenvolvidos. O efeito de estabilização de ASSO nas nanoemulsões é atribuído à sua composição rica em ácidos graxos de cadeia longa, especialmente os ácidos oleico e linoleico. Em formulações destinadas ao

encapsulamento de óleos essenciais, a presença de triacilgliceróis de cadeia longa na fase dispersa também se mostra determinante para a estabilidade, uma vez que tais moléculas atuam como inibidores do amadurecimento de Ostwald, um dos principais mecanismos de desestabilização de nanoemulsões (Raikos *et al.*, 2019).

11.4 Eficiência de encapsulamento (EE%) e Capacidade de carregamento (CC%)

A eficiência de encapsulamento e a capacidade de carregamento constituem parâmetros essenciais para a caracterização de nanocarreadores, pois refletem a quantidade de ativo efetivamente incorporada ao nanossistema. A determinação desses parâmetros depende da quantificação precisa do ativo presente na formulação. Nesse sentido, a quantificação do carvacrol incorporado à formulação CNE foi realizada por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), técnica amplamente empregada pela precisão e sensibilidade na análise de compostos. Inicialmente, procedeu-se a uma varredura espectral do carvacrol com o objetivo de identificar o comprimento de onda de máxima absorção. A partir desse resultado, construiu-se a curva de calibração, apresentada na Figura 27, que foi utilizada como referência para a quantificação do ativo nas nanoemulsões.

Figura 27 – Curvas de varredura e calibração do carvacrol.



LD – Refere-se ao limite de detecção; LQ – Refere-se ao limite de quantificação.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

A partir dos dados obtidos na curva de calibração, estabeleceu-se a seguinte Equação da reta: $Y = 12618460x + 44815$, com coeficiente de determinação $R^2 = 0,9999$. Essa equação foi empregada para realizar a quantificação do ativo, em que Y corresponde à área do

pico de carvacrol obtida nas corridas cromatográficas e X à concentração do ativo não encapsulado, detectado no material filtrado. A linearidade da curva analítica obtida na faixa de $1 - 0,01 \text{ mg mL}^{-1}$ foi obtida a partir dos ajustes feitos na regressão linear ($R^2 = 0,9999$). De acordo com a Anvisa (2017), para a quantificação analítica de ativos, o coeficiente de correlação linear deve ser superior a 0,99. Assim, o coeficiente de correlação encontrado na curva de calibração gerada pela técnica de CLAE-UV encontra-se de acordo com os limites estabelecidos pela Resolução de Diretoria Colegiada-RDC nº 166 de 24 de julho de 2017.

Para a determinação dos valores de EE% e CC%, as amostras CNE e seu controle (BNE) foram submetidas às mesmas condições cromatográficas. BNE foi utilizada para descartar possíveis interferências que pudessem coincidir com o tempo de retenção do carvacrol. Os valores de EE% e CC% foram obtidos a partir da aplicação de dois métodos experimentais: no método indireto, o teor de ativo não encapsulado foi determinado após o processo de ultracentrifugação. Nessa etapa, assumiu-se que o carvacrol encapsulado permanecia retido no filtro, cujo tamanho de poro é inferior ao diâmetro hidrodinâmico das nanoemulsões, permitindo a detecção apenas do ativo livre no material filtrado. Em seguida, aplicou-se o método direto, em que a quantificação foi realizada diretamente nas emulsões recém-preparadas, sem etapa de centrifugação. Os resultados obtidos em ambos os métodos estão elucidados nas Tabelas 14 e 15, respectivamente.

Tabela 14 – Eficiência de encapsulamento a partir do método indireto.

Amostra	Padrão	Tempo de retenção (min)	Quantificação
CNE	Carvacrol	8,2	<LQ
BNE	Carvacrol	8,2	<LQ/<LD

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Tabela 15 – Eficiência de encapsulamento a partir do método direto.

Amostra	Padrão	Tempo de retenção (min)	Quantificação (mg g ⁻¹) *
CNE	Carvacrol	8,2	$2,98 \pm 0,023$

Os dados exibidos na quantificação referem-se a mg de carvacrol presente em 1g de nanoemulsão.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Considerando o limite de quantificação (LQ) do método cromatográfico ($0,05 \mu\text{g mL}^{-1}$), verificou-se que o teor de carvacrol não encapsulado foi inferior ao LQ, o que corresponde a valores de EE% superiores a 99%. Além disso, de acordo com os dados obtidos no método direto, verifica-se que a concentração de ativo presente na formulação CNE foi de $2,98 \pm 0,023 \text{ mg g}^{-1}$. Os resultados obtidos demonstram a elevada capacidade do sistema desenvolvido no presente estudo em incorporar o carvacrol, alcançando valores de EE% de $99,34 \pm 0,06\%$ e CC% de $9,93 \pm 0,01\%$.

Os resultados evidenciados neste estudo superam aqueles relatados por (Cardoso *et al.*, 2023; Li, Jun *et al.*, 2025), que observaram valores de EE% próximos a 84% e 94%, respectivamente, em nanoemulsões carregadas com carvacrol. A alta eficácia alcançada pode ser atribuída às interações intermoleculares de Van der Waals entre o carvacrol e o óleo vegetal obtido a partir das sementes de *Annona squamosa* L., presente no núcleo lipofílico, as quais minimizam a volatilização do composto ativo e potencializam sua resistência contra à degradação (Deng *et al.*, 2020; Liu, Yun *et al.*, 2020). Além disso, a presença do surfactante Pluronic® F127 contribuiu para a formação de uma camada interfacial estável, conferindo maior resistência a processos de desestabilização (Song *et al.*, 2018).

11.5 Estudos de liberação *in vitro*

O desenvolvimento de sistemas carreadores de fármacos constitui um processo complexo que requer a compreensão do comportamento do composto ativo em condições fisiológicas. Para esse fim, torna-se fundamental realização de ensaios de liberação *in vitro*, uma vez que fornece parâmetros preditivos acerca do desempenho da formulação no processo de liberação do ativo no organismo. Tal aspecto é determinante para a obtenção da resposta terapêutica ideal e para a mitigação de efeitos colaterais. Nesse contexto, as formulações desenvolvidas neste estudo foram submetidas a ensaios de liberação, conduzidos com o propósito de verificar a capacidade de controlar a taxa de liberação do carvacrol.

Para a condução dos estudos de liberação, inicialmente foram realizados ensaios de solubilidade do carvacrol em misturas de etanol e tampão fosfato em diferentes proporções, com o objetivo de estabelecer as condições de dissipação, também denominadas condições *sink*. A determinação desses parâmetros é fundamental, uma vez que garante que a solubilidade do meio receptor não se torne um fator limitante no processo de difusão do composto ativo. Para tal, o carvacrol foi submetido a testes de dissolução em diferentes proporções de etanol e tampão fosfato (PBS, pH 7,4). A adição de etanol, solvente orgânico, mostrou-se indispensável para

favorecer a dissolução do carvacrol, considerando sua baixa solubilidade em meio aquoso (Saarinen-Savolainen *et al.*, 1997). Os resultados obtidos para as proporções avaliadas encontram-se apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 – Resultados dos testes de solubilidade e determinação das condições *sink*.

EtOH/PBS (pH 7.4) ^a	Solubilidade do carvacrol CARV ($\mu\text{g mL}^{-1}$) ^b	Condições <i>sink</i> ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
10/90	Insolúvel	-
20/80	Insolúvel	-
25/75	1425	≤ 475
30/70	2426	≤ 808

^aEtOH/PBS – Etanol: Solução salina de tampão fosfato em pH 7.4; ^bSolubilidade do carvacrol nas proporções testadas.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

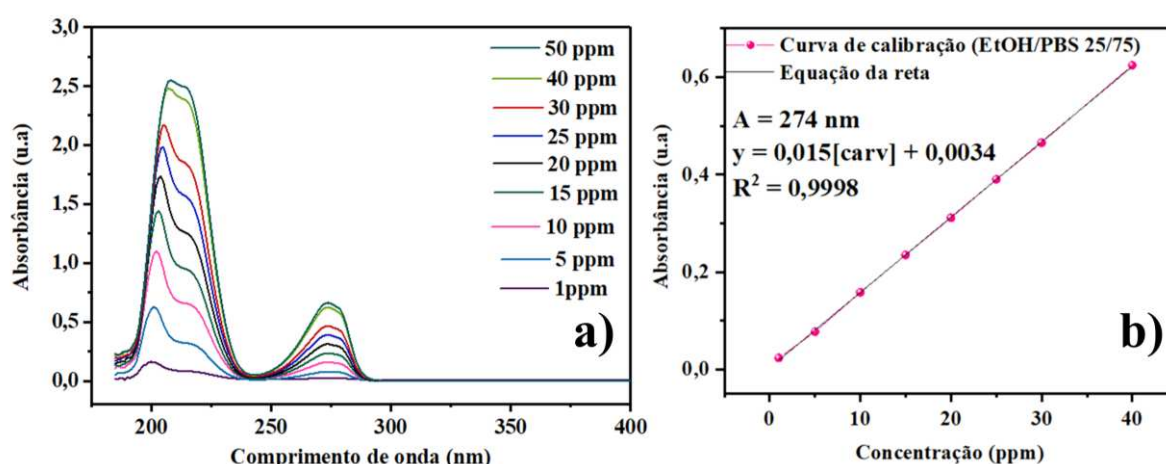
Diante dos dados apresentados na Tabela 16, verifica-se que o carvacrol apresentou solubilidade apenas nas proporções de 25 e 30% de etanol em tampão fosfato. Nestas proporções a concentração de saturação do carvacrol foi de $1425 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $2426 \mu\text{g mL}^{-1}$, nas misturas 25/75 e 30/70 (etanol/tampão fosfato), respectivamente. Para a determinação das condições *sink* levou-se em consideração um terço das concentrações de saturação entre as misturas capazes de solubilizar o composto ativo, o que resultou nos valores de $475 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $808 \mu\text{g mL}^{-1}$ para as proporções 25/75 e 30/70 de etanol/tampão fosfato, respectivamente.

Para a escolha do meio receptor ideal, utilizado nos ensaios de liberação do carvacrol na formulação CNE, levou-se em consideração o desempenho das nanoemulsões preparadas na incorporação do carvacrol. De acordo com os valores de EE% foi possível observar que CNE foi capaz de incorporar 99,34% do ativo, que corresponde uma massa de $2980 \mu\text{g}$ de carvacrol por mL de formulação. No sistema de liberação utilizado neste estudo, o meio receptor apresenta o volume de 12 mL, considerando que 100% do carvacrol seja difundido para este meio, a concentração máxima alcançada seria de $248,3 \mu\text{g mL}^{-1}$, valor inferior às concentrações de saturação observadas dentro das condições *sink* para as proporções 25/75 e 30/70 (etanol/PBS-pH 7,4). Portanto, visando minimizar o uso de etanol no meio receptor, a proporção 25/75 (etanol/PBS-pH 7,4) foi selecionada para os ensaios de liberação.

Para a realização dos ensaios de liberação do carvacrol, inicialmente foram realizadas medições de absorbância de diferentes concentrações do carvacrol no meio receptor.

Através dessas medições construiu-se uma curva de calibração que foi utilizada como parâmetro para quantificação do carvacrol nos testes de liberação. Os espectros obtidos nas varreduras, assim como a curva de calibração obtida, estão ilustrados na Figura 28 (a) e (b), respectivamente.

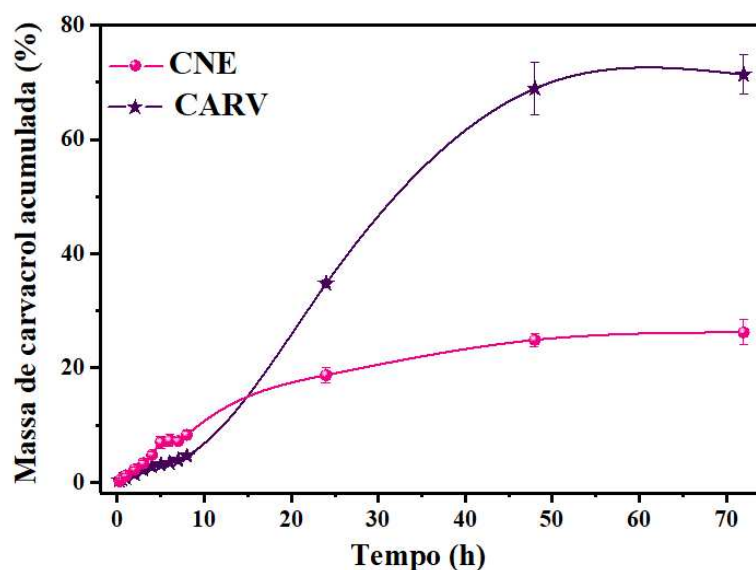
Figura 28 – Espectros de varredura (a) e curva de calibração das soluções de carvacrol no meio receptor (b).



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

De acordo com os dados elucidados para a construção da curva de calibração do carvacrol no meio receptor, estabeleceu-se a seguinte Equação da reta: $y = 0,015x + 0,0034$ com coeficiente de determinação $R^2 = 0,9998$, onde Y corresponde a absorbância do ativo em 274 nm e X representa a concentração de carvacrol. Os ensaios de liberação *in vitro* foram conduzidos pelo período de 72h, onde avaliou-se o perfil de difusão do carvacrol não encapsulado (CARV) e a liberação do carvacrol encapsulado na formulação CNE. Os ensaios foram realizados em triplicata e o resultado dos ensaios de liberação estão elucidados na Figura 29.

Figura 29 – Perfil de liberação do carvacrol em sua forma livre (CARV) e encapsulado na formulação CNE.



Fonte: Elaborado pela autora (2025).

De acordo com os dados experimentais obtidos, verifica-se que, nas primeiras 8h de experimento, o processo de difusão do carvacrol livre para o meio receptor ocorreu ligeiramente mais lentamente em comparação com sua liberação do composto encapsulado na formulação CNE. Esse fenômeno pode ser atribuído à solubilização do carvacrol livre em etanol, solvente selecionado devido à baixa solubilidade do composto em água. Apesar de sua natureza hidrofóbica, o carvacrol apresenta alta afinidade por solventes polares, devido às interações intermoleculares dipolo-dipolo (Fernández-Pan *et al.*, 2015; Gandova *et al.*, 2023). Essas interações possivelmente podem ter atrasado o processo inicial de difusão do ativo no meio receptor. Contudo, verifica-se que ao final do experimento $71,36 \pm 3,41$ % do carvacrol foi difundido para o meio receptor (2125 μg), ao passo que a liberação do carvacrol encapsulado se estabilizou em $26,13 \pm 2,22$ % (781 μg). O comportamento evidenciado nos resultados pode sugerir que os nanocarreadores produzidos no presente estudo foram eficazes na proteção do composto ativo e na promoção da liberação sustentada.

O perfil de liberação da amostra de CNE observado neste estudo pode ser atribuído ao método de preparação empregado, em que nanogotas formadas por irradiação ultrassônica reduzem os processos de volatilização do carvacrol. Além disso, a inclusão do óleo da semente de *Annona squamosa* na fase dispersa contribuiu para a estabilidade do sistema, visto que os triglicerídeos presentes no óleo vegetal atuam como inibidores do amadurecimento de Ostwald, fenômeno responsável pela desestabilização em nanoemulsões (Ryu *et al.*, 2018; Taylor, 1998).

Portanto, os dados obtidos confirmaram que os nanocarreadores desenvolvidos foram eficazes no controle da difusão do composto volátil, promovendo liberação sustentada ao longo do experimento.

Para investigar a cinética de liberação do carvacrol encapsulado na formulação de CNE, os dados experimentais foram ajustados aos modelos matemáticos descritos na seção experimental de ordem zero, primeira ordem, Higuchi e Korsmeyer-Peppas. A adequação dos modelos foi avaliada com base no coeficiente de determinação (R^2) e aquele com melhor ajuste (maior R^2) descreveu o mecanismo de liberação. Os valores obtidos estão descritos na Tabela 17.

Tabela 17 – Modelos matemáticos aplicados para avaliar a cinética de liberação da formulação CNE.

Amostra	Coeficiente de determinação (R^2)			
	Ordem zero	Primeira ordem	Higuchi	Korsmeyer-Peppas
CNE	0,9994	0,9626	0,9832	0,9997

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

De acordo com os dados apresentados na Tabela 17, os modelos matemáticos que melhor descreveram o mecanismo de liberação do carvacrol foram os de ordem zero e Korsmeyer-Peppas, com coeficientes de determinação (R^2) de 0,9994 e 0,9997, respectivamente.

A cinética de liberação de ordem zero afirma que o processo de liberação do fármaco ocorre unicamente em função do tempo, mantendo uma taxa de liberação constante independentemente da concentração inicial do composto ativo no nanocarreador (Laracuate *et al.*, 2020). Em sistemas de liberação de ordem zero, o fármaco liberado permanece dentro da faixa terapêutica durante toda a vida útil do nanocarreador (Li, Yanyi *et al.*, 2021). No entanto, esse modelo matemático não considera o aprisionamento estrutural do composto ativo, tornando-o mais aplicável a sistemas de encapsulamento que não sofrem ruptura estrutural quando submetidos ao contato com o ambiente fisiológico (Laracuate; Yu; McHugh, 2020b).

No caso das nanoemulsões produzidas neste estudo, a superfície polimérica é constituída pelas cadeias do surfactante Pluronic® F127, de modo que os fenômenos de intumescimento e relaxação dessas cadeias impactam diretamente no processo de liberação do bioativo. Desta forma, o modelo cinético proposto por Korsmeyer-Peppas foi aplicado para

analisar a liberação do carvacrol encapsulado na formulação CNE. Este modelo utiliza o expoente de difusão (n) para classificar os mecanismos de liberação em matrizes poliméricas. A partir dos valores de n , torna-se possível determinar se a liberação do composto ativo ocorre por mecanismos de difusão ou relaxamento das cadeias poliméricas.

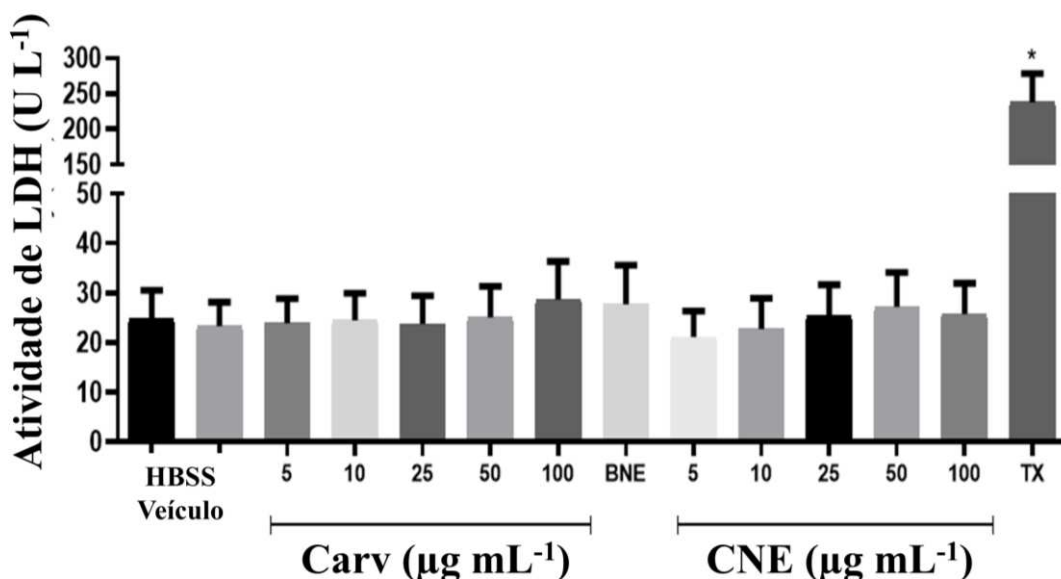
Para sistemas esféricos que sofrem processos de intumescimento em meio aquoso, o valor de (n) desempenha o papel de diferenciar os mecanismos de liberação do sistema em estudo (Korsmeyer *et al.*, 1983; Tsigotis-Maniecka *et al.*, 2021). Processos de transporte cujos valores de n são menores que 0,43 são chamados de caso I, indicando que a liberação segue o modelo Fickiano, e o mecanismo utilizado é governado por processos de difusão. Na hipótese de $0,43 < n < 0,85$, o modelo de transporte é não-Fickiano ou anômalo, onde a difusão e o intumescimento das cadeias poliméricas ocorrem simultaneamente (Ritger; Peppas, 1987). Na condição de $n > 0,85$, a liberação é impulsionada pelo mecanismo de transporte determinado como supercaso II, que constitui uma forma extrema de transporte, ou seja, durante o processo de sorção, ocorrem tensão e relaxamento das cadeias poliméricas, além disso, os processos de difusão e dissolução do ativo no meio externo ocorrem simultaneamente (Korsmeyer *et al.*, 1983; Kosmidis; Argyrakakis; Macheras, 2003; Tsigotis-Maniecka *et al.*, 2021).

O coeficiente de difusão obtido pelo modelo de Korsmeyer-Peppas para a formulação CNE foi de 0,94, caracterizando um mecanismo de liberação do tipo supercaso II. Esse resultado está em consonância com os estudos realizados por Sousa *et al.*, (2025) e Rebouças *et al.*, (2023) e evidencia a complexidade do processo de liberação do carvacrol no sistema de carregamento. Além disso, confirma que as nanoemulsões desenvolvidas favorecem um controle mais eficiente e direcionado na administração do fármaco (de Sousa *et al.*, 2025; Rebouças *et al.*, 2023).

11.6 Avaliação pré-clínica de segurança e eficácia utilizando neutrófilos humanos

O potencial farmacológico dos nanossistemas produzidos à base de ASSO e CARV foi realizado com base na análise dos mesmos parâmetros utilizados para avaliar o potencial farmacológico do óleo das sementes de *Annona squamosa*, isto é, foram avaliados a atividade de LDH e liberação da enzima MPO, com intuito de elucidar os efeitos da combinação entre esses dois compostos, bem como estudar o impacto do processo de encapsulamento na segurança e eficácia pré-clínicas. A Figura 30 demonstra os resultados da avaliação da integridade da membrana citoplasmática de neutrófilos humanos tratados com CARV, CNE e BNE.

Figura 30 – Avaliação da citotoxicidade do CARV (carvacrol livre) e da formulação CNE em neutrófilos humanos (atividade da enzima lactato desidrogenase – LDH).



Os valores foram expressos como média ± desvio-padrão. As análises foram realizadas em triplicata.

TX = Triton 0,1%, reagente usado para causar a lise da membrana celular. Onde, * $p < 0,05$ vs grupo HBSS (ANOVA unidirecional seguida de pós-teste de Tukey).

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

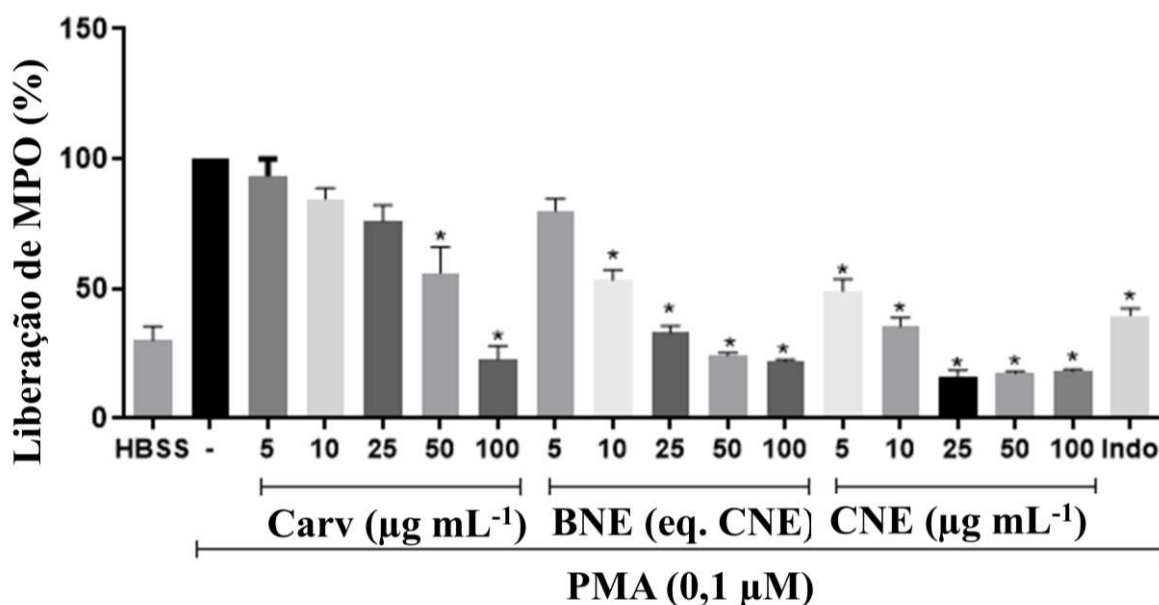
Observou-se que a adição do DMSO (0,1% v v⁻¹), veículo utilizado para solubilizar o cavacrol, não causou alterações significativas na viabilidade dos neutrófilos ($23,3 \pm 4,8 \text{ U L}^{-1}$) em comparação ao grupo HBSS (células não tratadas) ($24,7 \pm 5,8 \text{ U L}^{-1}$). Da mesma forma, o tratamento com o carvacrol na faixa de concentração de 5 – 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ não resultou em aumento significativo na atividade da LDH ($23,8 - 28,6 \text{ U L}^{-1}$) em comparação ao grupo HBSS.

Os dados demonstram ainda que a exposição dos neutrófilos aos sistemas nanoestruturados (CNE e BNE) dentro da faixa de concentração testada (5 – 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) não promoveu aumento significativo na atividade da LDH ($21,1 - 25,8 \text{ U L}^{-1}$) em comparação ao grupo controle (HBSS). Por outro lado, a exposição das células sanguíneas ao TX (padrão citotóxico) aumentou significativamente a atividade da LDH ($238,0 \pm 40,2 \text{ U L}^{-1}$) no meio extracelular, garantindo a eficácia do modelo proposto.

Diante dos resultados alcançados, pode-se verificar que as amostras CARV e CNE apresentam um baixo potencial citotóxico contra neutrófilos humanos. Resultados semelhantes foram relatados por (Türkez; Aydin, 2016), que avaliaram o efeito citotóxico de uma amostra de carvacrol em células sanguíneas humanas.

Além da avaliação da citotoxicidade dos compostos analisados também foi avaliado o potencial anti-inflamatório. A Figura 31 ilustra o efeito anti-inflamatório das amostras: CARV, CNE e BNE nos ensaios de degranulação de neutrófilos induzida por PMA.

Figura 31 – Efeito do carvacrol livre (CARV), nanoemulsão em branco (BNE) e nanoemulsão carregada com carvacrol (CNE) na degranulação de neutrófilos humanos avaliada pela liberação da enzima mieloperoxidase (MPO).



Os valores foram expressos como média ± desvio. As análises foram realizadas em triplicata. Indo: Indometacina, anti-inflamatório padrão. Onde, * $p < 0,05$ vs. Grupo controle (ANOVA unidirecional seguida de pós-teste de Tukey).

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Os dados demonstram que a adição de PMA à suspensão de neutrófilos resultou em um aumento significativo na liberação de MPO, aproximadamente três vezes maior em comparação com células não tratadas (grupo HBSS: $30,08 \pm 5,39\%$). O carvacrol livre apresentou uma redução significativa ($p < 0,05$) na liberação de MPO nas concentrações de 50 e $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ ($56,11 \pm 9,29\%$ e $22,82 \pm 5,23\%$, respectivamente) quando comparado ao grupo tratado com PMA. Além disso, verificou-se que a formulação CNE, quando incorporada à suspensão de neutrófilos, apresentou redução significativa na liberação de MPO, mesmo em concentrações mais baixas, em comparação ao carvacrol não encapsulado. A $5 \mu\text{g mL}^{-1}$, a liberação de MPO foi de $49,03 \pm 4,72\%$, e nas concentrações subsequentes de 10, 25, 50 e $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, os valores observados foram $35,45 \pm 3,50\%$, $16,38 \pm 2,30\%$, $17,45 \pm 2,78\%$ e $18,22 \pm$

0,76%, respectivamente. Adicionalmente, a formulação BNE também demonstrou a capacidade de reduzir (significativamente) a liberação de MPO, embora seu efeito tenha sido menos pronunciado em comparação à formulação CNE. Nas concentrações de 10, 25, 50 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, os valores de liberação de MPO foram $53,31 \pm 3,92\%$, $33,05 \pm 2,61\%$, $24,37 \pm 0,94\%$ e $22,12 \pm 0,63\%$, respectivamente.

O efeito do CNE sobre a degranulação de neutrófilos apresentou um comportamento de platô nas concentrações entre 50 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, indicando que a resposta máxima do sistema foi alcançada. Esse padrão sugere a ocupação máxima dos receptores envolvidos e a consequente saturação das vias de sinalização associadas ao mecanismo farmacológico (Buchwald, 2025). Comportamento semelhante tem sido descrito na literatura para outros produtos naturais, como observado no tratamento de neutrófilos humanos com o extrato hidroalcoólico do cogumelo *Agaricus blazei* Murill (Campelo *et al.*, 2024). Uma possível explicação para esse fenômeno reside na atuação concomitante de diferentes compostos bioativos presentes na formulação ou no derivado vegetal, os quais podem modular múltiplas vias de sinalização, contribuindo para a saturação do efeito farmacológico observado.

De acordo com a literatura, o carvacrol exibe um notável potencial anti-inflamatório, atribuído principalmente à sua capacidade de reduzir os níveis de mediadores inflamatórios, como IL-1 β , IL-6, TNF- α e iNOS ((Mahata *et al.*, 2025). Essa redução resulta na inibição da produção de ciclooxigenase-2, levando à diminuição da síntese de prostaglandina E2 (de Carvalho *et al.*, 2020). Além disso, o carvacrol possui propriedades antioxidantes que auxiliam na neutralização de radicais livres, promovendo assim a proteção tecidual (Khazdair & Boskabady, 2019).

Os dados obtidos no presente estudo ressaltam que a eficácia farmacológica do carvacrol foi significativamente aumentada pelo processo de encapsulamento, evidenciado pelo desempenho superior da formulação CNE em comparação ao fármaco não encapsulado. Observou-se também que a formulação controle (BNE) apresentou resultados positivos na redução da liberação de MPO, fenômeno atribuído a presença do óleo extraído das sementes de *Annona squamosa* (ASSO) como componente da nanoemulsão.

O efeito anti-inflamatório observado na formulação de CNE pode ser atribuído ao sinergismo entre o carvacrol e o ASSO que é possibilitado pelas interações intermoleculares presentes no núcleo lipofílico da nanoemulsão. Além disso, o processo de irradiação ultrassônica empregado na formulação facilitou a formação de nanogotas, que protegem o composto ativo contra processos de volatilização e garantem sua estabilidade a longo prazo, potencializando assim seu efeito farmacológico (Cardoso *et al.*, 2023).

A formulação de CNE demonstrou um efeito anti-inflamatório promissor, com reduções significativas na liberação de MPO induzida por PMA em todas as concentrações testadas. Embora os neutrófilos desempenhem um papel essencial na defesa imunológica, sua ativação excessiva ou inadequada contribui para a progressão de doenças, como condições autoimunes e câncer (Amulic *et al.*, 2012; Herrero-Cervera; Soehnlein; Kenne, 2022). Nesse contexto, o desenvolvimento de produtos seguros e eficazes para o manejo de processos inflamatórios é de grande relevância. A capacidade do CNE de modular a resposta inflamatória reduzindo a liberação de MPO sugere que essa formulação pode minimizar os danos aos tecidos e reduzir a progressão de doenças inflamatórias crônicas, dado o papel crítico dos neutrófilos nas respostas inflamatórias agudas e crônicas.

11.7 Ensaios de atividade antifúngica

Os ensaios de atividade antifúngica foram conduzidos com o propósito de avaliar a capacidade das formulações desenvolvidas neste estudo em inibir o crescimento de cepas do gênero *Candida*. Para tanto, foram testadas quatro espécies distintas: *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida auris* 01256P (derivada do CDC B11903) e uma cepa clínica de *Candida albicans* resistente ao fluconazol. As amostras analisadas compreenderam CARV, ASSO, CNE e seu respectivo controle, BNE. Os resultados obtidos encontram-se apresentados na Tabela 18.

Tabela 18 – Concentrações inibitórias mínimas (CIM₅₀) das amostras frente às cepas isoladas de *Candida* spp.

Amostras	CIM 50 ^b (% v v ⁻¹)			
	Cepas ^a			
	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	<i>C. krusei</i> ATCC 6258	<i>C. auris</i> 01256P CDC	<i>C. albicans</i> 1
CARV	0,00488	0,00976	0,00488	0,00976
ASSO	0,13	0,3125	0,3125	2,5
BNE	0,008	0,0123	3,15	0,49
CNE	0,000025	0,000038	0,00735	0,0015

^aCepas de leveduras isoladas de coleção; ^bCIM foi definida como a mais baixa concentração que produziu 50% de redução do crescimento das células fúngicas após 24 h de incubação.

Fonte: Elaborado pela autora (2025).

Os dados demonstram que todas as amostras apresentaram atividade antifúngica frente às cepas testadas dentro da faixa de concentração empregada. Verifica-se que dentre as amostras testadas, a formulação CNE resultante da combinação entre ASSO e o carvacrol foi aquela que apresentou os menores valores de concentração inibitória mínima (CIM₅₀), evidenciando um maior efeito inibitório contra as espécies testadas.

O óleo extraído das sementes de *Annona squamosa* também revelou resultados relevantes, apresentando ação inibitória frente à todas as cepas testadas. Entretanto, observou-se que o processo de encapsulamento ampliou de forma considerável o seu potencial antifúngico, uma vez que os valores da CIM₅₀ da formulação BNE foram substancialmente inferiores aos do óleo vegetal, confirmando o efeito de intensificação promovido pelo sistema nanoestruturado. Os dados obtidos neste estudo estão condizentes relatos da literatura que apontam para a capacidade que os sistemas de carregamento nanoestruturados possuem de potencializar a ação farmacológica do ASSO, cuja aplicação isolada é limitada em razão da baixa solubilidade em meio aquoso e, conseqüentemente, da reduzida biodisponibilidade fisiológica (Ao *et al.*, 2022).

Além disso, a Tabela 18 evidencia ainda que a associação entre o óleo de sementes de *Annona squamosa* e o carvacrol na formulação CNE potencializou de maneira expressiva o efeito inibitório do ativo em comparação à sua forma livre, refletido na significativa redução dos valores de CIM₅₀. Tal comportamento pode ser atribuído a um possível efeito sinérgico entre o bioativo e o núcleo lipofílico da nanoemulsão, decorrente de interações intermoleculares.

Estudos prévios relataram que o potencial antifúngico do carvacrol está relacionado ao mecanismo de inibição da síntese de ergosterol e o desencadeamento no estresse do retículo endoplasmático em espécies de *Candida* (Hajiaghaalizadeh *et al.*, 2025). Contudo, ressalta-se que o carvacrol livre apresenta elevada volatilidade, o que limita sua ação antifúngica. Nesse contexto, o processo de encapsulamento do ativo promovido pela obtenção de nanoemulsões surge como estratégia promissora, uma vez que esses sistemas de carregamento de bioativos apresentam a capacidade de promover um aprimoramento na estabilidade do composto ativo (Cardoso *et al.*, 2023; Hajiaghaalizadeh *et al.*, 2025).

Outro fator relevante refere-se à redução do tamanho das gotículas nas nanoemulsões produzidas por cisalhamento em alta velocidade, que favoreceu a penetração do carvacrol através da membrana celular das cepas fúngicas. Esse mecanismo possibilitou sua entrada mais rápida e eficiente no interior celular, resultando em maior eficácia farmacológica (Liu, Qi *et al.*, 2022).

12 CONCLUSÃO

O presente estudo teve como foco o desenvolvimento de nanoemulsões (NEs) a partir do óleo das sementes de *Annona squamosa* L. (ASSO), com o objetivo de encapsular o carvacrol e avaliar o impacto do processo de encapsulamento sobre as suas propriedades farmacológicas, especialmente quanto ao potencial anti-inflamatório e à atividade antifúngica.

As NEs obtidas apresentaram elevada estabilidade coloidal, com diâmetros hidrodinâmicos inferiores a 200 nm e morfologia esférica, características desejáveis em sistemas nanométricos. Além disso, exibiram eficiência de encapsulamento superior a 99%, evidenciando a alta capacidade de incorporação do ativo no núcleo lipofílico. Os ensaios de liberação *in vitro* confirmaram a eficácia da metodologia empregada, demonstrando que as NEs promoveram liberação prolongada do carvacrol.

Nos ensaios de citocompatibilidade, verificou-se que o óleo vegetal (ASSO), o carvacrol livre e as nanoformulações (CNE e BNE) não apresentaram citotoxicidade frente a neutrófilos humanos, comprovando a segurança clínica dos sistemas desenvolvidos. Em relação ao efeito anti-inflamatório, observou-se que o ASSO apresentou desempenho promissor, uma vez que o percentual de liberação da enzima mieloperoxidase (MPO) foi semelhante àquela observada para a indometacina, fármaco de referência. Além disso, as NEs potencializaram consideravelmente a ação biológica do carvacrol, alcançando eficácia em concentrações dez vezes menores ($5 \mu\text{g mL}^{-1}$) quando comparadas ao carvacrol livre ($50 \mu\text{g mL}^{-1}$).

No que diz respeito à atividade antifúngica, constatou-se que a associação entre o óleo das sementes de *Annona squamosa* e o carvacrol resultou em um aumento considerável no efeito inibitório contra patógenos do gênero *Candida* spp.

Diante do exposto, os resultados demonstrados neste estudo evidenciam o elevado potencial biológico das formulações desenvolvidas a partir do óleo das sementes de *Annona squamosa*, destacando o valor agregado de uma biomassa vegetal frequentemente subutilizada. As NEs desenvolvidas potencializaram o efeito terapêutico do carvacrol, configurando-se como sistemas promissores para o manejo de processos inflamatórios e no tratamento de infecções fúngicas. Esses achados reforçam a relevância do aproveitamento sustentável de resíduos agroindustriais e contribuem para o avanço no desenvolvimento de nanossistemas de interesse farmacêutico.

REFERÊNCIAS

- ADELINO DE MELO, Bruno; BARROS, Maria; DE, Vicente; QUEIROGA, Paula; GOMES, Josivanda Palmeira. **Pinha (*Annona squamosa* L.):** Tecnologias de plantio e utilização. 1 ed. Campina Grande: A Barriguda, 2023.
- ADHVARYU, Atanu; ERHAN, Sevim Z.; SAHOO, Sangrama K.; SINGH, Indra D. Thermo-oxidative stability studies on some new generation API group II and III base oils. **Fuel**, Oxford, v. 81, p 785 – 791, 2002.
- AHMAD, Javed.; MIR, Showkat. R.; KOHLI, Kanchan.; AMIN, Saima. Effect of oil and co-surfactant on the formation of Solutol HS 15 based colloidal drug carrier by Box-Behnken statistical design. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdã, v. 453, n. 1, p. 68–77, 2014.
- ALLMAIER, Hannes.; SANDER, David E.; BASTIDAS, Sophia. Viscosity loss and wear performance of engine oils tested in a motorcycle on-road test. **Tribology Online**, Tóquio, v. 18, n. 2, p. 34–41, 2023.
- ALMEIDA Moreira Leal, L. K.; Lima, L. A.; Alexandre de aquino, P. E.; Costa De Sousa, J. A.; Jataí Gadelha, C. V.; Felício Calou, I. B.; Pereira Lopes, M. J.; Viana Lima, F. A.; Tavares Neves, K. R.; Matos De Andrade, G.; Socorro De Barros Viana. Vitamin D (VD3) antioxidative and anti-inflammatory activities: Peripheral and central effects. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdã, v. 879, 2020.
- AMULIC, Borko.; CAZALET, Christel.; HAYES, G Garret L.; METZLER, Kathleen. D.; ZYCHLINSKY, Arturo. Neutrophil function: From mechanisms to disease. **Annual Review of Immunology**, Palo Alto, v. 30, p. 459–489, 2012.
- AO, Hui.; LU, LikangL.; LI, Manzhen.; HAN, Meihua.; GUO, Yifei.; WANG, Xiangtao. Enhanced solubility and antitumor activity of *Annona squamosa* seed oil via nanoparticles stabilized with TPGS: Preparation and in vitro and in vivo evaluation. **Pharmaceutics**, Basileia, v. 14, n. 6, 2022.
- APPIAH, Godfred.; TULASHIE, Samuel Kofi; AKPARI, Ephraim Edem Amoah; RENE, Eldon R.; DODOO, Daniel. Biolubricant production via esterification and transesterification processes: Current updates and perspectives. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, Chichester, 2022.
- ARNHOLD, Jürgen. Properties, functions, and secretion of human myeloperoxidase. **Biochemistry (Mosc)**, Moscow, v. 69, p. 4–9, 2004.
- ASHOKKUMAR, S.; ELANTHIRAIYAN, A.; SHAGU, S.; SRINIVASAN, M.; DEEPAN, K. B. Comparison and analysis of custard apple seed oil with engine lubricant (bio lubricant). **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, Bristol, 2020.
- ATTIA, Nahed K.; EL-MEKKAWI, Samar A.; ELARDY, Ola A.; ABDELKADER, Elham A. Chemical and rheological assessment of produced biolubricants from different vegetable oils. **Fuel**, Amsterdã, v. 271, 2020.

BARBOSA RIBEIRO, Ana Carolina; PACHECO CUNHA, Arcelina; NOBRE PINHO RIBEIRO, Maria Elenir; SALLES TREVISAN, Maria Teresa; CLEMENTE SERRA AZUL, Francisco Vinícius; ALMEIDA MOREIRA LEAL, Luzia Kalyne; PONTES SILVA RICARDO, Nágila Maria. Cashew apple pectin as a carrier matrix for mangiferin: Physicochemical characterization, in vitro release and biological evaluation in human neutrophils. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdã, v. 171, p. 275–287, 2021.

BEDASO, Yihun.; ALEMAYEHU, Tadesse; BIZUNEH, Amanuel Anegagreg; HAILE, Dereje Zeleke; ZELEKE, Seble Seifu; SHIFETA, Mekdes; HIRIGO, Agete Tadewos. Fungal sepsis in a 7-month-old female: Diagnosis through peripheral blood smear. **Medical Mycology Case Reports**, Amsterdã, v. 48, 2025.

BERMAN, Judith.; KRYSAN, Damian J. Drug resistance and tolerance in fungi. **Nature Reviews Microbiology**, Londres, 2020.

BHATT, Shailendra; ROY, Dabashis; KUMAR, Manish; SAHARAN, Renu; MALIK, Anuj; SAINI, Vipin. Development and validation of in vitro discriminatory dissolution testing method for fast dispersible tablets of BCS class II drug. **Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences**, Ankara, v. 17, n. 1, p. 74–80, 2020.

BHOIR, Sandeepa. S.; VISHWAPATHI, Vinod; SINGH, Kamalinder. K. Antipsoriatic potential of *Annona squamosa* seed oil: An in vitro and in vivo evaluation. **Phytomedicine**, Stuttgart, v. 54, p. 265–277, 2019.

BIGI, Barbara.; BERTINI, Francesca; MARI, Claudia; DI MUZIO, Laura; CESA, Stefania; ANGIOLELLA, Letizia; GIAMMARINO, Andrea; GIUSIANO, Gustavo; GARZOLI, Stefania; CASADEI, Maria Antonietta; PAOLICELLI, Patrizia; PETRALITO, Stefania. Improved antifungal activity of *Origanum vulgare* L. essential oil in phospholipid-based nanoemulsions: Role of co-surfactants and surface charge. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Paris, v. 114, p. 107582, 2025.

BOLGEN, Umay Merve Guven; KAYIRAN, Serpil Demirci Kayiran.; OZOGUL, Yesim; OZOGUL, Fatih. Essential oil-based nanoemulsions with current knowledge: Formulation, characterization, and applications in food and pharmaceuticals, **Industrial Crops and Products**, Adana, v. 233, p. 121411, 2025.

BORUGADDA, Venu Babu; GOUD, Vaibhav. Epoxidation of castor oil fatty acid methyl esters (COFAME) as a lubricant base stock using heterogeneous ion-exchange resin (IR-120) as a catalyst. **Energy Procedia**, Amsterdã, v. 54, p. 75–84, 2014.

BRINKMANN, Volker; REICHARD, Ulrike; GOOSMANN, Christian; FAULER, Beatrix; UHLEMANN, Yvonne; WEISS, David S.; WEINRAUCH, Yvette; ZYCHLINSKY, Arturo. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. **Science**, Washington, v. 303, n. 5663, p. 1532–1535, 2004.

BUCHWALD, Peter. Quantification of signal amplification for receptors: The K_d/EC₅₀ ratio of full agonists as a gain parameter. **Frontiers in Pharmacology**, Lausanne, v. 16, 2025.

CAMPELO, Matheus da Silva; CÂMARA NETO, João Francisco; MAGALHÃES, Hilton César Rodrigues; ALVES FILHO, Elenilson Godoy; ZOCOLO, Guilherme Julião; LEAL,

Luzia Kalyne Almeida Moreira; RIBEIRO, Maria Elenir Nobre Pinho. GC/MS and 2D NMR-based approach to evaluate the chemical profile of hydroalcoholic extract from *Agaricus blazei* Murill and its anti-inflammatory effect on human neutrophils. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 322, 2024.

CARDOSO, Louise Thomé; ALEXANDRE, Bibiana; CACCIATORE, Fabiola Ayres; MAGEDANS, Yve Verônica da Silva; FETT-NETO, Arthur Germano; CONTRI, Renata Vidor; MALHEIROS, Patrícia da Silva. Carvacrol-loaded nanoemulsions produced with a natural emulsifier for lettuce sanitization. **Food Research International**, Amsterdã, v. 168, 2023.

CAVALCANTE, Igor Marques; ROCHA, Natália R. de C.; MAIER, Martin E.; DE LIMA, Ana Paula Dantas; ANDRADE NETO, Davino M.; DE BRITO, Débora Hellen A.; PETZHOLD, César L.; SCHANZ, Maria Telma G.F.; RICARDO, Nágila. M. P. S. Synthesis and characterization of new esters of oleic acid and glycerol analogues as potential lubricants. **Industrial Crops and Products**, Amsterdã, v. 62, p. 453–459, 2014.

CAVALCANTI, Elisa D.C.; AGUIEIRAS, Érica. C. G.; DA SILVA, Priscila. R.; DUARTE, Jaquiline. G.; CIPOLATTI, Eliane. P.; FERNANDEZ-LAFUENTE, Roberto; DA SILVA, José André C.; FREIRE, Denise. M. G. Improved production of biolubricants from soybean oil and different polyols via esterification reaction catalyzed by immobilized lipase from *Candida rugosa*. **Fuel**, Amsterdã, v. 215, p. 705–713, 2018.

CHEN, Jianwei; CHEN, Yong; LI, Xiang. Beneficial aspects of custard apple seeds. In: PREEDY, V. R.; WATSON, R. R.; PATEL, V. B. (org.). **Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention**. London: Elsevier, 2011, p. 439–445.

CHEN, Yong; CHEN, Yayun; SHI, Yeye; MA, Chengyao; WANG, Xunan; LI, Yue; MIAO, Yunjie; CHEN, Jianwei; LI, Xiang. Antitumor activity of *Annona squamosa* seed oil. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 193, p. 362–367, 2016.

CHEN, Yiyuan.; LI, Yunxiao.; NAHAR, Kazi S.; HASAN, Md Mahbub; MARSH, Caleb; CLIFFORD, Melanie; ALEKU, Godwin A.; KELLY, Steven L.; LAMB, David C.; MPAMHANGA, Chengetai Diana; KOUNATIDIS, Ilias.; SHAH, Ajit J.; HIND, Charlotte K.; SUTTON, J. Mark; RAHMAN, Khondaker Miraz. New generation modified azole antifungals against multidrug-resistant *Candida auris*. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 68, n. 13, p. 14054–14071, 2025.

CHIRCOV, Cristina; GRUMEZESCU, Alexandru Mihai. **Nanoemulsion preparation, characterization, and application in biomedicine**. In: GRUMEZESCU, A. M. (ed.). *Nanoarchitectonics in Biomedicine*. Amsterdam: Elsevier, 2019. p. 169–188.

COATES, John. P. Structural and chemical characterization of neopentyl polyol esters by infrared spectroscopy. **ASLE Transactions**, Filadélfia, v. 29, n. 2, p. 185–195, 1986.

CUI, Zhengwei.; ZHANG, Mengmeng.; MENG, Qingqian.; WU, Xianggen.; LI, Mengshuang. Preparation, in vitro and in vivo assessment of novel carvacrol@pro-phytomicelles for the treatment of *Salmonella enteritidis* infection in mice. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdã, v. 667, 2024.

DA SILVA, André Alisson Rodrigues; VELOSO, Luana Lucas De Sá Almeida; DE LIMA, Geovani Soares; GHEYI, Hans. Raj.; DA SILVA SÁ, Francisco Vanies.; DE AZEVEDO, Carlos Alberto Vieira. Cultivation of custard-apple irrigated with saline water under combinations of nitrogen, phosphorus and potassium. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 35, n. 1, p. 181–190, 2022.

DA SILVA, Cecília Rocha.; DO AMARAL VALENTE SÁ, Livia Gurgel; FERREIRA, Thais Lima; LEITÃO, Amanda Cavalcante; DE FARIAS CABRAL, Vitória Pessoa; RODRIGUES, Daniel Sampaio; BARBOSA, Amanda Dias; MOREIRA, Lara Elloyse Almeida; FILHO, Hugo Leonardo Pereira; DE ANDRADE NETO, João Batista; RIOS, Maria Erivanda França; CAVALCANTI, Bruno Coêlho; MAGALHÃES, Hemerson Iury Ferreira; DE MORAES, Manoel Odorico; NOBRE, Hélio Vitoriano. Antifungal activity of selective serotonin reuptake inhibitors against *Cryptococcus* spp. and their possible mechanism of action. **Journal of Medical Mycology**, Paris, v. 33, n. 4, 2023.

DAMASCENA, Hylane Luiz; SILVEIRA, Wendy Ann Assis; CASTRO, Mariana S.; FONTES, Wagner. Neutrophil activated by the famous and potent PMA (phorbol myristate acetate). **Cells**, Brasília v. 11, n. 18, 2022.

DE ALMEIDA, Raimundo R; GALLO, Juan; DA SILVA, Aiêrta C. C.; DA SILVA, Ana K. O.; PESSOA, Otilia D. L.; ARAÚJO, Tamara G.; LEAL, Luzia K. A. M.; FECHINE, Pierre B. A.; BAÑOBRE-LÓPEZ, Manuel; RICARDO, Nágila M. P. S. Preliminary evaluation of novel triglyceride-based nanocomposites for biomedical applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 28, n. 8, p. 1547–1556, 2017.

DE CARVALHO, Fernanda Oliveira; SILVA, Érika Ramos; GOMES, Isla Alcântara; SANTANA, Hericalizandra Santa Rosa; SANTOS, Débora do Nascimento; SOUZA, Gabriel Pereira de Oliveira; SILVA, Débora de Jesus; MONTEIRO, Júlio César Matos; DE ALBUQUERQUE JÚNIOR, Ricardo Luiz Cavalcanti; ARAÚJO, Adriano Antunes de Souza; NUNES, Paula Santos. Anti-inflammatory and antioxidant activity of carvacrol in the respiratory system: a systematic review and meta-analysis. **Phytotherapy Research**, São Cristóvão, v. 34, n. 9, p. 2214–2229, 2020.

DE CASTRO, Karine Cappuccio; COCO, Julia Cedran; DOS SANTOS, Érica Mendes; ATAIDE, Janaína Artem; MARTINEZ, Renata Miliani; DO NASCIMENTO, Mônica Helena Monteiro; PRATA, João; DA FONTE, Pedro Ricardo Martins Lopes; SEVERINO Patrícia; MAZZOLA, Priscila Gava; BABY, André Rolim; SOUTO, Eliana Barbosa, DE ARAUJO, Daniele Ribeiro; LOPES, André Moreni. Pluronic® triblock copolymer-based nanoformulations for cancer therapy: a 10-year overview. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 353, p. 802–822, 2023.

DE SOUSA, André L. N.; REBOUÇAS, Louhana Moreira; LEMOS, Francisco M.F.; BARBOSA, Ana C.; CUNHA, Fernando E.T.; PESSOA, Claudia.; SALES, Sarah L. A.; SILVA, Larissa. M. R.; RICARDO, Nágila M. P. S. Nanoemulsion based on *Calotropis procera* seed oil to delivery of betulinic acid: in vitro release kinetics, in vivo toxicity and MTT assay in PC3 cells. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Paris, p. 106746, 2025.

DEDIĆ, M.; MEDANHODŽIĆ-VUK, S. HPLC method for determination the content of thymol and carvacrol in thyme tincture. **Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina, Sarajevo**, v. 50, p. 1–6, 2018.

DENG, Siyuan.; GIGLIOBIANCO, Maria Rosa.; CENSI, Roberta.; DI MARTINO, Piera. Polymeric nanocapsules as nanotechnological alternative for drug delivery system: current status, challenges and opportunities. **Nanomaterials**, Camerino v. 10, n. 5, 2020.

DENTON, U. S.; QUINONES, J. J. **Organic Reactions**, Journal of the American Chemical Society, Urbana, v 131 (20), p. 7204-7204. 2009.

DESAI, Jigar V.; MITCHELL, Aaron P. *Candida albicans* biofilm development and its genetic control. **Microbiology Spectrum**, Washington, v. 3, n. 3, 2015.

DO VALLE, Camila Peixoto; RODRIGUES, Jailson Silva; FECHINE, Lillian M. U. D.; CUNHA, Arcelina Pacheco; QUEIROZ, Jackson Queiroz; LUNA, F. Murilo T.; RICARDO, Nágila. M. P. S. Chemical modification of tilapia oil for biolubricant applications. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdã, v. 191, p. 158–166, 2018.

DOS SANTOS, Sarah Brenda Ferreira.; PEREIRA, Stéfano Arrais; MOREIRA, Denise Ramos; FERREIRA, Elano Nery; CHAVES, Pedro O. B.; LEMOS, Francisco M. F.; ARRUDA, Tathilene B. M. G.; RODRIGUES, Francisco Eduardo. A.; RICARDO, Nágila M. P. S. Synthesis of lubricant esters from *Annona squamosa* seeds: a novel use of tropical biomass for industrial applications. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Hoboken, v. 102, p. 1605-1620, 2025.

DOYLE, C. D. Estimating isothermal life from thermogravimetric data heat-up times. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 6, p. 639–642, 1962.

DREWNIAK, Agata; GAZENDAM, Roel P.; TOOL, Anton. T. J.; VAN HOUTT, Michel; JANSEN, Machiel H.; VAN HAMME, John. L.; VAN LEEUWEN, Esther. M. M.; ROOS, D.; SCALAIS, Emmanuel.; DE BEAUFORT, Carine; JANSSEN, Hans; VAN DEN BERG, Timo K.; KUIJPERS, Taco. W. Invasive fungal infection and impaired neutrophil killing in human CARD9 deficiency. **Blood**, Washington, v. 121, p. 2385–2392, 2013.

DUMORTIER, Gilles; GROSSIORD, Jean Louis; AGNELY, Florence; CHAUMEIL, Jean Claude. A review of poloxamer 407 pharmaceutical and pharmacological characteristics. **Pharmaceutical Research**, New York, v. 23, n. 12, p. 2709–2728, 2006.

DUTTA, Sampa; GHOSH, Mahua; MITRA, Debarati Performance evaluation studies of PEG esters as biolubricant base stocks derived from non-edible oil sources via enzymatic esterification. **Industrial Crops and Products**, Amsterdã, v. 195, 2023.

ELIM, Diany; SYAFIKA, Nur.; ANANDA, Putri Wulandari Resky; ARDIKA, Komang Agus Rai; ADZIIM, A. Muh. Faudzul; ANGRIANI, Astri; FITRI, Andi Maqhfirah Nurul; SULTAN, Nurul Aisha Fitri; MAHFUD, Muhammad Alif Sya'ban; SAPUTRA, Mesakh Diki; SARI, Yessie Widya; DOMÍNGUEZ-ROBLES, Juan.; PAMORNPATHEMKUL, Boonnada; MIR, Maria; PERMANA, Andi Dian. Formulation and evaluation of red fruit (*Pandanus conoideus*) oil-based nanoemulsion loaded thermosensitive gel combined with solid

microneedle for topical delivery. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Paris, v. 96, 2024.

ENGEL, Juliana Both; HECKLER, Caroline; TONDO, Eduardo Cesar; DAROIT, Daniel Joner; DA SILVA MALHEIROS, Patrícia. Antimicrobial activity of free and liposome-encapsulated thymol and carvacrol against *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* adhered to stainless steel. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdã, v. 252, p. 18–23, 2017.

ENGLE, Kritika; KUMAR, Gautam. Tackling multi-drug resistant fungi by efflux pump inhibitors. **Biochemical Pharmacology**, Balanagar, v. 226, 2024.

FANG, Jingbo; CAO, Hui; BAI, Pengpeng; MENG, Yonggang; MA, Liran; TIAN, Yu. High-pressure rheological properties of polyalphaolefin and ester oil blends and their impact on lubrication. **Tribology International**, Oxford, v. 201, p. 110262, 2025.

FASINA, O. O.; Hallman H.; Craig-Schmidt M.; Clements C. Predicting temperature-dependence viscosity of vegetable oils from fatty acid composition. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v. 83, n. 10, p. 899–903, 2006.

FENG, Wenli.; YANG, Jing; XI, Zhiqin; QIAO, Zusha; LV, Yaping; WANG, Yiru; MA, Yan.; WANG, Yanqing.; CEN, Wen. Mutations and/or overexpressions of ERG4 and ERG11 genes in clinical azoles-resistant isolates of *Candida albicans*. **Microbial Drug Resistance**, New Rochelle, v. 23, n. 5, p. 563–570, 2017.

FENG, Yanru.; LU, Hui; WHITEWAY, Malcolm; JIANG, Yuanying. Understanding fluconazole tolerance in *Candida albicans*: implications for effective treatment of candidiasis and combating invasive fungal infections. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, Amsterdã, v. 35, p. 314–321, 2023.

FERNANDES, Keysson V.; PAPADAKI, Aikaterini; DA SILVA, José André Cavalcanti; FERNANDEZ-LAFUENTE, Roberto; KOUTINAS, Apostolis A.; FREIRE, Denise M.G. Enzymatic esterification of palm fatty-acid distillate for the production of polyol esters with biolubricant properties. **Industrial Crops and Products**, Amsterdã, v. 116, p. 90–96, 2018.

FERNÁNDEZ-PAN, Idoya; MATÉ, Juan Ignacio; GARDRAT, Christian; COMA, Veronique. Effect of chitosan molecular weight on the antimicrobial activity and release rate of carvacrol-enriched films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 51, p. 60–68, 2015.

FERREIRA, Elano Nery; ARRUDA, Tathilene B. M. G.; RODRIGUES, Francisco Eduardo A.; ARRUDA, David T. D.; DA SILVA JÚNIOR, Joadir Humberto; PORTO, Dayanne Lopes; RICARDO, Nágila. M. P. S. Investigation of the thermal degradation of the biolubricant through TG-FTIR and characterization of the biodiesel – pequi (*Caryocar brasiliensis*) as energetic raw material. **Fuel**, Amsterdã, v. 245, p. 398–405, 2019.

FERREIRA, Elano Nery; ARRUDA, Tathilene Bezerra Mota Gomes; RODRIGUES, Francisco Eduardo Arruda; MOREIRA, Denise Ramos; CHAVES, Pedro Oribio Bastos; DA SILVA ROCHA, Wesley; SILVA, Larissa Moraes Ribeiro da; PETZHOLD, César Liberato; RICARDO, Nágila Maria Pontes Silva. Pequi oil esters as an alternative to environmentally friendly lubricant for industrial purposes. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, Washington, v. 10, n. 3, p. 1093–1102, 2022.

GALVÃO, Juliana Gomes; SANTOS, Raquel L.; SILVA, Audrey R. S. T.; SANTOS, Jeferson S.; COSTA, Amanda M. B.; CHANDASANA, Hardick.; ANDRADE-NETO, Valter Viana; TORRES-SANTOS, Eduardo Caio; LIRA, Ana Amelia M.; DOLABELLA, Silvio; SCHER, Ricardo; KIMA, Peter E.; DERENDORF, Hartmut; NUNES, Rogéria S. Carvacrol loaded nanostructured lipid carriers as a promising parenteral formulation for leishmaniasis treatment. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 150, 2020.

GANDOVA, Vanya; LAZAROV, Anton; FIDAN, Hafize.; DIMOV, Milen; STANKOV, Stanko; DENEV, Petko; ERCISLI, Sezai; STOYANOVA, Albena; GULEN, Hatice; ASSOUGUEM, Amine; FARAH, Abdellah; ULLAH, Riaz; KARA, Mohammed; BARI, Ahmed. Physicochemical and biological properties of carvacrol. **Open Chemistry**, Berlin, v. 21, n. 1, 2023.

GEORGE, Archana; SHAH, Priyanka Arvind; SHRIVASTAV, Pranav Suresh. Natural biodegradable polymers based nano-formulations for drug delivery: a review. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 561, p. 244–264, 2019.

GHANNAM, Mamdouh T.; SELIM, Mohamed Y. E.; KHEDR, Mona A. M.; BIN TALEB, Noor; KAALAN, Norah R. Investigation of the rheological properties of waste and pure lube oils. **Fuel**, Amsterdam, v. 298, 2021.

GHOSH, Gaurab Kumar; PANDA, Sikta; KUMAR, Niranjana.; GHOSH, Subrata Kumar; KOTIA, Ankit.; GIRI, Jayant; KANAN, Mohammad; SATHISH, T. A multi-faceted review on industrial grade nanolubricants: applications and rheological insights with global market forecast. **Results in Engineering**, Amsterdam, v. 25, 2025.

GHOSH, Vijayalakshmi; RANJHA, Ritesh; GUPTA, Ashwini Kumar. Polymeric encapsulation of anti-larval essential oil nanoemulsion for controlled release of bioactive compounds. **Inorganic Chemistry Communications**, Amsterdam, v. 150, 2023.

GIANNELLA, Maddalena; LANTERNIER, Fanny; DELLIÈRE, Sarah; GROLL, Andreas H.; MUELLER, Nicolas. J.; ALASTRUEY-IZQUIERDO, Ana; SLAVIN, Monica A. Invasive fungal disease in the immunocompromised host: changing epidemiology, new antifungal therapies, and management challenges. **Clinical Microbiology and Infection**, Amsterdam, v. 31, n. 1, p. 29–36, 2025.

GIROUSSENS, Léa; DOREAU, Franck; MARC, Estelle; GERVAIS, Thierry; BERNARD-GRANGER, Guillaume. Thermal decomposition of oxamide and associated kinetic parameters through thermogravimetric analysis. **Results in Materials**, Amsterdam, v. 16, 2022.

GRESSENS, Simon B.; ROUZAUD, Claire; LAMOTH, Frederic; CALANDRA, Thierry; LANTERNIER, Fanny; LORTHOLARY, Olivier. Duration of systemic antifungal therapy for patients with invasive fungal diseases: a reassessment. **Mycoses**, Hoboken, v. 103, 2025.

GUAN, Liang; FENG, Xiao Ling; XIONG, Guo. Engine lubricating oil classification by SAE grade and source based on dielectric spectroscopy data. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 628, n. 1, p. 117–120, 2008.

GUPTA, Ankur; ERAL, H. Burak; HATTON, T. Alan; DOYLE, Patrick. S. Nanoemulsions: formation, properties and applications. **Soft Matter**, Cambridge, v. 12, n. 11, p. 2826–2841, 2016.

HAJIAGHAALIZADEH, Maryam; SHEIKHARABI, Mehdi; JAZI, Marie Saghaeian; ALHASHEM, Raheleh; HOSSEINI, Seyedeh Sedigheh. Anti-biofilm activity of carvacrol-thymoquinone nanocarriers on vulvovaginal candidiasis isolates. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, Amsterdam, v. 111, n. 2, 2025.

HAMED, Rania; ALKILANI, Ahlam Zaid; AL-ADHAMI, Yasmeen; MUSLEH, Batool; ABURAYYA, Rafa. Advances in transdermal delivery systems for antifungals: current approaches and future perspectives. **Microbial Pathogenesis**, Amsterdam, v. 206, 2025.

HAMNAS, Amina; UNNIKRISHNAN, Gopalakrishnan. Bio-lubricants from vegetable oils: characterization, modifications, applications and challenges – review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Amsterdam, v. 182, 2023.

HARAHAP, Diannita; NIACI, Sarah; MARDINA, Vivi; ZAURA, Bintang; QANITA, Intan; PURNAMA, Agnia; PUSPITA, Kana; RIZKI, Diva Rayyan; IQHRAMMULLAH, Muhammad. Antibacterial activities of seven ethnomedicinal plants from family Annonaceae. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, Dhaka, v. 13, n. 3, p. 148–153, 2022.

HARWANSI, Ranjit Kumar; DESHMUKH, Rohitas; RAHMAN, Md Akhlaquer. Nanoemulsion: promising nanocarrier system for delivery of herbal bioactives. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Amsterdam, v. 51, p. 224–233, 2019.

HERRERO-CERVERA, Andrea; SOEHNLEIN, Oliver; KENNE, Ellinor. Neutrophils in chronic inflammatory diseases. **Nature Reviews Immunology**, London, v. 19, n. 2, p. 177–191, 2022.

HISHAM, Sakinah; KADIRGAMA, Kumaran Al.; RAMASAMY, Devarajan; NOOR, M. M.; AMIRRUDDIN, Abdul Kadir; NAJAFI, Gholamhassan; RAHMAN, Md Mustafizur. Waste cooking oil blended with the engine oil for reduction of friction and wear on piston skirt. **Fuel**, Amsterdam, v. 205, p. 247–261, 2017.

HU, Xinlin; YANG, Ping; CHAI, Changdong; LIU, Jia; SUN, Huanhuan; WU, Yanan; ZHANG, Mingjie; ZHANG, Min; LIU, Xiaotian; YU, Hongjun. Structural and mechanistic insights into fungal β -1,3-glucan synthase FKS1. **Nature**, London, v. 616, n. 7955, p. 190–198, 2023.

HÜNNIGER, Kerstin; LEHNERT, Teresa; BIEBER, Kristin; MARTIN, Ronny; FIGGE, Marc Thilo; KURZAI, Oliver A. A virtual infection model quantifies innate effector mechanisms and *Candida albicans* immune escape in human blood. **PLoS Computational Biology**, San Francisco, v. 10, n. 2, 2014.

ISLAM SAZZAD, Md Rahatul; RAHMAN, Md Mizanur; HASSAN, Tafsirul; AL RIFAT, Abdullah; AL MAMUN, Abdullah; ADIB, Abidur Rahman; MERAZ, Redoy Masum; AHMED, Minhaz. Advancing sustainable lubricating oil management: re-refining techniques, market insights, innovative enhancements, and conversion to fuel. **Heliyon**, Amsterdam, v. 10, n. 20, 2024.

ISMAIL, Mishka; SRIVASTAVA, Vartika; MARIMANI, Musa; AHMAD, Aijaz Carvacrol modulates the expression and activity of antioxidant enzymes in *Candida auris*. **Research in Microbiology**, Amsterdam, v. 173, n. 3, 2022.

IYER, Kali R.; ROBBINS, Nicole; COWEN, Leah E. The role of *Candida albicans* stress response pathways in antifungal tolerance and resistance. **iScience**, Amsterdam, 2022.

JABBARI, Masoud; BULATOVA, Regina R.; TOK, Alfred I. Y.; BAHL, Christian R.H.; MITSOULIS, Evan; HATTEL, Jesper H. Ceramic tape casting: a review of current methods and trends with emphasis on rheological behaviour and flow analysis. **Materials Science and Engineering B**, Amsterdam, v. 212, p. 39–61, 2016.

JAGTAP, Umesh Balkrishna; BAPAT, Vishwas Anant. **Custard apple—*Annona squamosa* L.** In: Exotic fruits: Reference guide. [s.l], Amsterdam, Elsevier, 2018.

JAMIR, Yangerdenla; BHUSHAN, Mayank; SANJUKTA, Rajkumari; ROBINDRO SINGH, Laishram. Plant-based essential oil encapsulated in nanoemulsions and their enhanced therapeutic applications: an overview. **Biotechnology Progress**, Hoboken, v. 121, n. 2, p. 415–433, 2024.

JARAK, Ivana; VARELA, Carla L.; TAVARES DA SILVA, Elisiário; ROLEIRA, Fernanda F.M.; VEIGA, Francisco; FIGUEIRAS, Ana. Pluronic-based nanovehicles: recent advances in anticancer therapeutic applications. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Amsterdam, v. 206, 2020.

JOSHI, Shubhang; KUNDU, Sourav.; PRIYA, Vikram Vamsi; KULHARI, Uttam; MUGALE, Madhav Nilakanth; SAHU, Bidya Dhar. Anti-inflammatory activity of carvacrol protects the heart from lipopolysaccharide-induced cardiac dysfunction by inhibiting pyroptosis via NLRP3/Caspase1/Gasdermin D signaling axis. **Life Sciences**, Amsterdam, v. 324, 2023.

JYOTI, Ghoshna; KESHAV, Amit; ANANDKUMAR, Jayachandran. Experimental and kinetic study of esterification of acrylic acid with ethanol using homogeneous catalyst. **International Journal of Chemical Reactor Engineering**, Berlin, v. 14, n. 2, p. 571–578, 2016.

KALAM, Md Abul; MASJUKI, Haji Hassan; CHO, Haeng Muk; MOSAROF, Hossain, Mohammad; MAHMUD, Md Iqbal; CHOWDHURY, Mohammad Asaduzzaman; ZULKIFLI, Nurin Wahidah Mohd. Influences of thermal stability and lubrication performance of biodegradable oil as an engine oil for improving the efficiency of heavy-duty diesel engine. **Fuel**, Amsterdam, v. 196, p. 36–46, 2017.

KAMALAKAR, Kotte; RAJAK, Amit Kumar; PRASAD, Rachapudi Badari Narayana; KARUNA, Mallampalli Sri Lakshmi. Rubber seed oil-based biolubricant base stocks: a potential source for hydraulic oils. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 51, p. 249–257, 2013.

KAMALAKAR, Kotte; SAI MANOJ, Gorantla N. V. T.; PRASAD, Rachapudi Badari Narayana; KARUNA, Mallampalli Sri Lakshmi. Influence of structural modification on lubricant properties of sal fat-based lubricant base stocks. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 76, p. 456–466, 2015.

KARAMI, Zahra; REZA, Mohammad Reza; ZANJANI, Saghatchi; HAMIDI, Mehrdad. Nanoemulsions in CNS drug delivery: recent developments, impacts and challenges. **Drug Discovery Today**, Amsterdam, 2019.

KARMAKAR, Gobinda; GHOSH, Pranab; KOHLI, Kirtika; SHARMA, Brajendra K.; ERHAN, Sevim Z. Chemicals from vegetable oils, fatty derivatives, and plant biomass. **ACS Symposium Series**, Washington, v. 1347, p. 1–31, 2020.

KAZANCIOGLU, Sumeyye; BODUR, Hurrem; MUMCUOGLU, Ipek; BASTUG, Aliye; OZBAY, Bahadır Orkun; AYDOS, Omer; DINC, Bedia. Candidemia in critically ill COVID-19 patients: risk factors and impact on mortality. **Heliyon**, Amsterdam, v. 10, n. 6, 2024.

KHAN, Zarmeena; JAVED, Fahed; SHAMAIR, Zufishan; HAFEEZ, Ainy; FAZAL, Tahir; ASLAM, Ambreen; ZIMMERMAN, William Bauer Jay; REHMAN, Fahad. Current developments in esterification reaction: a review on process and parameters. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, Amsterdam, v. 103, p. 80–101, 2021.

KIM, Geon Woong; YUN, Seunghan; JANG, Jihui; LEE, Jun Bae; KIM, So Youn Enhanced stability, formulations, and rheological properties of nanoemulsions produced with microfluidization for eco-friendly process. **Journal of Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 646, p. 311–319, 2023.

KIM, Juyoung; KIM, Deok Nyun; LEE, Sung Ho; YOO, Sang Ho; LEE, Suyong. Correlation of fatty acid composition of vegetable oils with rheological behaviour and oil uptake. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 118, n. 2, p. 398–402, 2010.

KLANG, Victoria; MATSKO, Nadejda B; VALENTA, Claudia; HOFER, Ferdinand. Electron microscopy of nanoemulsions: an essential tool for characterisation and stability assessment. **Micron**, Amsterdam, v. 43, n. 2–3, p. 85–103, 2012.

KORSMEYER, Richard W; GUMY, Robert; DOELKER, Eric; BURI, Pierre; PEPPAS, Nikolaos A. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 15, p. 25–35, 1983.

KOSMIDIS, Kosmas; ARGYRAKIS, Panos; MACHERAS, Panos. Fractal kinetics in drug release from finite fractal matrices. **Journal of Chemical Physics**, College Park, v. 119, n. 12, p. 6373–6377, 2003.

KUMAR, Amit; KANWAR, Rohini; MEHTA, Surinder Kumar. Nanoemulsion as an effective delivery vehicle for essential oils: properties, formulation methods, destabilizing mechanisms and applications in agri-food sector. **Nano Express**, Amsterdam, v. 7, 2025.

KUMAR, Narendra; VERMA, Amit; MANDAL, Ajay. Formation, characteristics and oil industry applications of nanoemulsions: a review. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, Amsterdam, v. 206, 2021.

KURRE, Santosh Kumar; YADAV, Jitendra. A review on bio-based feedstock, synthesis, and chemical modification to enhance tribological properties of biolubricants. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 193, 2023.

LANG, Mylène; SUSAN, Victoria; BRENDEL, Lucie; SABOU, Marcela; BOUREL-BONNET, Line. Antifungal echinocandins: historical discovery, comprehensive structure–

activity relationships, resistance mechanisms and future developments. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Amsterdam, v. 300, 2025.

LARACUENTE, Mei-Li; YU, Marina H.; MCHUGH, Kevin J. Zero-order drug delivery: state of the art and future prospects. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 327, p. 834–856, 2020.

LI, Hui; NIU, Shengli; LU, Chunmei. Thermal characteristics and kinetic calculation of castor oil pyrolysis. **Procedia Engineering**, Amsterdam, v. 205, p. 3711–3716, 2017.

LI, Jun; LIU, Fu-Yu; HE, Bao-Lin; CUI, Rui; WU, Hong. Improving the bactericidal activity of carvacrol against *Bacillus cereus* by the formation of sodium casein-stabilized nanoemulsion and its application in milk preservation. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 159, 2025.

LI, Yanyi; HUANG, Haobin; DING, Chongwei; ZHOU, Xiaoping; LI, Hong. β -Cyclodextrin-based metal-organic framework as a carrier for zero-order drug delivery. **Materials Letters**, Amsterdam, v. 300, 2021.

LIAO, Hsiang-Ruei; CHIEN, Ching-Ru; CHEN, Jih-Jung; LEE, Tzung-Yan; LIN, Shinn-Zhi; TSENG, Ching-Ping. The anti-inflammatory effect of 2-(4-hydroxy-3-prop-2-enyl-phenyl)-4-prop-2-enyl-phenol by targeting Lyn kinase in human neutrophils. **Chemico-Biological Interactions**, Amsterdam, v. 236, p. 90–101, 2015.

LIAO, Hsiang-Ruei; LIN, Chin-Hsuan; CHEN, Jih-Jung.; LIU, Fu-Chao.; TSENG, Ching-Ping. The anti-inflammatory effect of ϵ -viniferin by specifically targeting formyl peptide receptor 1 on human neutrophils. **Chemico-Biological Interactions**, Amsterdam, v. 345, 2021.

LIEW, Sin Neen; UTRA, Uthumporn; ALIAS, Abdul Karim; TAN, Tai Boon; TAN, Ching-Ping; YUSSOF, Nor Shariffa. Physical, morphological and antibacterial properties of lime essential oil nanoemulsions prepared via spontaneous emulsification method. **LWT**, Amsterdam, v. 128, 2020.

LIMA, Tayonara S; SILVA, Maria Fátima S.; NUNES, Xirley P.; COLOMBO, Andrea V.; OLIVEIRA, Helinando P.; GOTO, Patrícia L.; BLANZAT, Muriel; PIVA, Henrique L.; TEDESCO, Antonio C.; SIQUEIRA-MOURA, Marigilson P. Cineole-containing nanoemulsion: development, stability, and antibacterial activity. **Chemistry and Physics of Lipids**, Amsterdam, v. 239, 2021.

LIU, Jianfang; YI, Chenglingzi; ZHANG, Yaoyun; YANG, Sicheng; LIU, Ting; ZHANG, Rongrong; JIA, Dan; PENG, Shuai; YANG, Qing. Structure–activity relationship study of anti-wear additives in rapeseed oil based on machine learning and logistic regression. **RSC Advances**, Cambridge, v. 14, n. 12, p. 8464–8480, 2024.

LIU, Qi; WANG, Zixuan; MUKHAMADIEV, Abdughaffor; FENG, Jianguo; GAO, Yuan; ZHUANSUN, Xiangxun; HAN, Rui; CHONG, Yang.; JAFARI, Seid Mahdi. Formulation optimization and characterization of carvacrol-loaded nanoemulsions: in vitro antibacterial activity/mechanism and safety evaluation. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 181, 2022.

LIU, Shuai; YUAN, Shizhao; LIU, Yan; JIA, Shuoxian; ZHAO, Yan; WANG, Ziyi; ZHOU, Chunhua; YU, Jing. Evaluation of the efficacy, safety and economy of different amphotericin B formulations in invasive fungal disease: a retrospective cohort study. **Precision Medication**, Amsterdam, v. 2, n. 3, 2025.

LIU, Yun; YANG, Guangze; JIN, Song; XU, Letao; ZHAO, Chun-Xia. Development of high-drug-loading nanoparticles. **ChemPlusChem**, Weinheim, v. 85, n. 9, p. 2143–2157, 2020.

LOHANI, Alka; SAXENA, Ritika; KHAN, Shahbaz; FIGUEIRAS, Ana; MASCARENHAS-MELO, Filipa. Innovative nanomedicine for fungal infections: advancing treatments through nanotechnology and mycological approaches. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Amsterdam, v. 113, 2025.

LUO, Ming Ronnier. **Handbook of Ultrasonics and Sonochemistry**. 1.ed. Singapore: Springer Nature, 2016.

MA, Chengyao; CHEN, Yayun; CHEN, Jianwei.; LI, Xiang; CHEN, Yong. A review on *Annona squamosa* L.: phytochemicals and biological activities. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, London, v. 45, n. 5, p. 933–964, 2017.

MACCELLI, Alessandro; VITANZA, Luca; IMBRIANO, Anna; FRASCHETTI, Caterina; FILIPPI, Antonello; GOLDONI, Paola.; MAURIZI, Linda; AMMENDOLIA, Maria G.; CRESTONI, Maria E.; FORNARINI, Simonetta; MENGHINI, Luigi.; CARAFA, Maria; MARIANECCI, Carlotta; LONGHI, Catia; RINALDI, Federica. *Satureja montana* L. essential oils: chemical profiles/phytochemical screening, antimicrobial activity and o/w nanoemulsion formulations. **Pharmaceutics**, Basel, v. 12, n. 1, 2020.

MADRID, Alejandro; SILVA, Valentina; FUENTES, Bastián; MUÑOZ, Evelyn; VENEGAS, Camila; MONTENEGRO, Iván. Anti-Candida efficacy of *Myrceugenia exsucca* essential oil: an in vitro and in silico evaluation. **Journal of Herbal Medicine**, Amsterdam, v. 54, 2025.

MAHATA, Rumi; DAS, Subhabrata; TRIPATHI, Kaustav; CHOUDHURY, Sujata Maiti. Molecular insights into the therapeutic attributes of carvacrol: special emphasis on anti-carcinogenicity and future perspectives. **Next Research**, Amsterdam, v. 2, n. 1, p. 100099, 2025.

MAJEED, Hamid; LIU, Fei; HATEGEKIMANA, Joseph; SHARIF, Hafiz R.; QI, Jing; ALI, Barkat; BIAN, Yuan-Yuan; MA, Jianguo.; YOKOYAMA, Wallace; ZHONG Fang. Bactericidal action mechanism of negatively charged food-grade clove oil nanoemulsions. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 197, p. 75–83, 2016.

MARCHETTI, Jorge Mario; ERRAZU, Alejandro Fernando. Esterification of free fatty acids using sulfuric acid as catalyst in the presence of triglycerides. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 32, n. 9, p. 892–895, 2008.

MARIOD, Abdalbasit Adam; ELKHEIR, Sara; AHMED, Yousif Mohamed; MATTHÄUS, Bertrand. *Annona squamosa* and *Catunaregam nilotica* seeds: the effect of the extraction method on the oil composition. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Hoboken, v. 87, n. 7, p. 763–769, 2010.

MARIOD, Abdalbasit Adam; MIRGHANI, Mohamed Elwathig Saeed; HUSSEIN, Ismail. *Annona squamosa* L. sugar apple seed oil. In: *Unconventional Oilseeds and Oil Sources*. Amsterdam: Elsevier, p. 145–150, 2017.

MARQUES, João Paulo Cordeiro; RIOS, Ítalo Castro; ARRUDA, Tathilene Bezerra Mota Gomes; RODRIGUES, Francisco Eduardo Arruda; UCHOA, Antonia Flávia Justino; DE LUNA, Francisco Murilo Tavares; CAVALCANTE, Célio Loureiro; RICARDO, Nágila Maria Pontes Silva. Potential bio-based lubricants synthesized from highly unsaturated soybean fatty acids: physicochemical properties and thermal degradation. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, Washington, v. 58, n. 38, p. 17709–17717, 2019.

MAZAREI, Zeinab; RAFATI, Hasan. Nanoemulsification of *Satureja khuzestanica* essential oil and pure carvacrol: comparison of physicochemical properties and antimicrobial activity against food pathogens. **LWT**, Amsterdam, v. 100, p. 328–334, 2019.

MCNUTT, Josiah; HE, Quan Sophia. Development of biolubricants from vegetable oils via chemical modification. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, Amsterdam, v. 36, p. 1–12, 2016.

MIRANDA-CADENA, Katherine; MARCOS-ARIAS, Cristina; MATEO, Estibaliz; AGUIRRE-URIZAR, José Manuel; QUINDÓS, Guillermo; ERASO, Elena. In vitro activities of carvacrol, cinnamaldehyde and thymol against *Candida* biofilms. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, Amsterdam, v. 143, 2021.

MOGHIMI, Roya; GHADERI, Lida; RAFATI, Hasan; ALIAHMADI, Atousa; MCCLEMENTS, David Julian. Superior antibacterial activity of nanoemulsion of *Thymus daenensis* essential oil against *Escherichia coli*. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 194, p. 410–415, 2016.

MOHAMED MUSTHAFA, Mohamed. Synthetic lubrication oil influences on performance and emission characteristic of coated diesel engine fuelled by biodiesel blends. **Applied Thermal Engineering**, Oxford, v. 96, p. 607–612, 2016.

MOLAEITABARI, Ali; DAHMS, Tanya Elaine S. Blocking the shikimate pathway amplifies the impact of carvacrol on biofilm formation in *Candida albicans*. **Microbiology Spectrum**, Washington, v. 13, n. 3, 2025.

MONTEIRO, Rodolpho R.C.; BERENGUER-MURCIA, Ángel; ROCHA-MARTIN, Javier; VIEIRA, Rodrigo S.; FERNANDEZ-LAFUENTE, Roberto. Biocatalytic production of biolubricants: strategies, problems and future trends. **Biotechnology Advances**, Amsterdam, v. 68, 2023.

MOREIRA, Denise Ramos; CHAVES, Pedro Oribio Bastos; FERREIRA, Elano Nery; ARRUDA, Tathilene Bezerra Mota Gomes; RODRIGUES, Francisco Eduardo Arruda; NETO, João Francisco Câmara; PETZHOLD, César Liberato; MAIER, Martin E.; RICARDO, Nágila Maria Pontes Silva. Moringa polyesters as eco-friendly lubricants and its blends with naphthalenic lubricant. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 158, 2020.

MOREIRA, Denise Ramos; FERREIRA, Elano Nery; NETO, João Francisco Câmara; BEZERRA, Lucas Lima; MONTEIRO, Norberto de Kássio Vieira; DO VALLE, Camila

Peixoto; ARRUDA, Tathilene Bezerra Mota Gomes; DE LIMA NETO, Pedro; RODRIGUES, Jailson Silva; RODRIGUES, Francisco Eduardo Arruda; PETZHOLD, César Liberato; MAIER, Martin E.; RICARDO, Nágila Maria Pontes Silva. Green lubricants production from Nile tilapia waste and prediction of physical properties through molecular dynamics simulations. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Hoboken, v. 99, n. 4, p. 341–352, 2022.

MOUSSA, Ashaimaa Y.; SIDDIQUI, Shahida Anusha; ELHAWARY, Esraa A.; GUO, Kai; ANWAR, Sidra; XU, Baojun. Phytochemical constituents, bioactivities, and applications of custard apple (*Annona squamosa* L.): a narrative review. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 459, 2024.

MURRU, Clarissa; BADÍA-LAÍÑO, Rosana; DÍAZ-GARCÍA, Marta E. Oxidative stability of vegetal oil-based lubricants. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, Washington, v. 9, n. 4, p. 1459–1476, 2021.

MUTHURATHINAM, Samuel Gemsprim; PERUMAL, Ashoka Varthanan. Synthesis, characterization and tribological investigation of vegetable oil methyl esters based bio-lubricants. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 203, 2023.

NABI, Bushra; REHMAN, Saleha; BABOOTA, Sanjula; ALI, Javed. Insights on oral drug delivery of lipid nanocarriers: a win–win solution for augmenting bioavailability of antiretroviral drugs. **Pharmaceutical Research**, New York, v. 20, n. 2, 2019.

NASEEMA, A.; KOVOORU, Lohitesh; BEHERA, Alok Kumar; KUMAR, K. P.Pramodh; SRIVASTAVA, Priyanka. A critical review of synthesis procedures, applications and future potential of nanoemulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 287, 2021.

NIE, Jieyu; SHIM, Youn Young; SHEN, Jianheng; TSE, Timothy J.; REANEY, Martin J.T. Characterization of trimethylolpropane-based biolubricant. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 122, n. 7, 2020.

NIZA, Enrique; BOŽIK, Matěj; BRAVO, Iván; CLEMENTE-CASARES, Pilar; LARA-SANCHEZ, Agustín; JUAN, Alberto; KLOUČEK, Pavel; ALONSO-MORENO, Carlos. PEI-coated PLA nanoparticles to enhance the antimicrobial activity of carvacrol. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 328, 2020.

NOGALES-DELGADO, Sergio; ENCINAR, José María; GONZÁLEZ, Juan Félix. A review on biolubricants based on vegetable oils through transesterification and the role of catalysts: current status and future trends. **Catalysts**, Basel, v. 13, n. 9, 2023.

NOR, Nurazira Mohd; SALIH, Nadia; SALIMON, Jumat. Optimization and lubrication properties of Malaysian crude palm oil fatty acids based neopentyl glycol diester green biolubricant. **Renewable Energy**, Oxford, v. 200, p. 942–956, 2022.

NOWAK, Paulina; KUCHARSKA, Karolina; KAMIŃSKI, Marian. Ecological and health effects of lubricant oils emitted into the environment. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, Basel, v. 16, n. 16, 2019.

OPFERMANN, Jürgen; KAISERSBERGER, Eckhard. An advantageous variant of the Ozawa–Flynn–Wall analysis. **Thermochimica Acta**, Amsterdam, v. 203, p. 167–175, 1992.

- OWUNA, Felix Johnson. Stability of vegetable-based oils used in the formulation of ecofriendly lubricants: a review. **Egyptian Journal of Petroleum**, Cairo, v. 29, n. 3, p. 251–256, 2020.
- OWUNA, Felix Johnson; DABAI, M. U.; SOKOTO, Muhammad Abdullahi; DANGOGGO, Sani M.; BAGUDO, Bello Usman.; BIRNIN-YAURI, U. A.; HASSAN, Lawal Gusau; SADA, I.; ABUBAKAR, Aminu Lailaba; JIBRIN, M. S. Chemical modification of vegetable oils for the production of biolubricants using trimethylolpropane: a review. **Egyptian Journal of Petroleum**, Cairo, v. 29, n. 1, p. 75–82, 2020.
- PADMAJA, Korlipara V.; RAO, Bhamidipati V.S.K.; REDDY, Rondla K.; BHASKAR, Potula S.; SINGH, Arun K.; PRASAD, Rachapudi B.N. 10-undecenoic acid-based polyol esters as potential lubricant base stocks. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 35, n. 1, p. 237–240, 2012.
- PAPADAKI, Aikaterini; FERNANDES, Keysson Vieira; CHATZIFRAGKOU, Afroditi; AGUIEIRAS, Erika Cristina Gonçalves; DA SILVA, José André Cavalcanti; FERNANDEZ-LAFUENTE, Roberto; PAPANIKOLAOU, Seraphim; KOUTINAS, Apostolis; FREIRE, Denise Maria Guimarães. Bioprocess development for biolubricant production using microbial oil derived via fermentation from confectionery industry wastes. **Bioresource Technology**, Amsterdam, v. 267, p. 311–318, 2018.
- PAPPAS, Peter G.; LIONAKIS, Michail S.; ARENDRUP, Maiken Cavling; OSTROSKY-ZEICHNER, Luis; KULLBERG, Bart Jan. Invasive candidiasis. **Nature Reviews Disease Primers**, London, v. 4, 2018.
- PARTHIBAN, Karuppiah Subramanian; PANDIAN, Sivakumar; SUBRAMANIAN, Deepalakshmi. Conventional and in situ transesterification of *Annona squamosa* seed oil for biodiesel production: performance and emission analysis. **Environmental Technology and Innovation**, Amsterdam, v. 23, 2021.
- PARTHIBAN, Karuppiah Subramanian; PERUMALSAMY, Muthiah. Kinetic studies on oil extraction and biodiesel production from underutilized *Annona squamosa* seeds. **Fuel**, Oxford, v. 180, p. 211–217, 2016.
- PAWAR, Rajendra Vishwanath; HULWAN, Dattatray Bapurao; MANDALE, Maruti Balasaheb. Recent advancements in synthesis, rheological characterization, and tribological performance of vegetable oil-based lubricants enhanced with nanoparticles for sustainable lubrication. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 378, 2022.
- PEDROSA, Alano Martins; LEAL, Luzia Kalyne A.M.; LEMES, Romélia Pinheiro G. Effects of hydroxyurea on cytotoxicity, inflammation and oxidative stress markers in neutrophils of patients with sickle cell anemia: dose–effect relationship. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, Rio de Janeiro, v. 43, n. 4, p. 468–475, 2021.
- PENG, Shuai; YANG, Qing; LIU, Jianfang; JIA, Dan; CHEN, Ke; ZHU, Yueting; YI, Chenglingzi; ZHANG, Yaoyun. Design and performance optimization of rapeseed oil-based lubricants aided by machine learning. **Tribology International**, Oxford, v. 211, 2025.
- PEREIRA, Stéfano Arrais; FERREIRA DOS SANTOS, Sarah Brenda; MOTA GOMES ARRUDA, Tathilene Bezerra; FERREIRA, Elano Nery; CHAVES, Pedro Oríbio Bastos;

VASCONCELOS DE OLIVEIRA, Diego Lomonaco; DE ALMEIDA SOUSA, Joyce Ellen; RODRIGUES, Francisco Eduardo Arruda; SILVA RICARDO, Nágila Maria Pontes. In situ transesterification of the catolé coconut (*Syagrus cearensis*) utilizing experimental design by Taguchi method. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 205, 2023.

PHAN-CANH, Trinh; NGUYEN-LE, Duc-Minh; LUU, Phuc-Loi; KHUNWEERAPHONG, Narakorn; KUCHLER, Karl. Rapid in vitro evolution of flucytosine resistance in *Candida auris*. **mSphere**, Washington, v. 10, n. 4, 2025.

PHILLIPS, Daniel J.; PYGALL, Samuel R.; COOPER, V. Brett; MANN, James C. Overcoming sink limitations in dissolution testing: a review of traditional methods and the potential utility of biphasic systems. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, London, v. 64, n. 11, p. 1549–1559, 2012.

RAIKOS, Vassilios; HAYWARD, Nick; HAYES, Helen; MERONI, Erika; RANAWANA, Viren. Optimising the ratio of long- to short-chain triglycerides of the lipid phase to enhance physical stability and bioaccessibility of lycopene-loaded beverage emulsions. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 54, n. 4, p. 1355–1362, 2019.

RAJAK, Amit Kumar; HARIKRISHNA, Madiga; SARANGI, Prakash Kumar; PRUS, Piotr; KARUNA, Mallampalli S.L. Biolubricant production from Indian castor seed oil using ethyl biodiesel (2G precursor) and sodium methoxide as a homogeneous catalyst. **Molecular Catalysis**, Amsterdam, v. 591, 2026.

MOREIRA, Denise Ramos; WORMAN, Michael; FERREIRA, Elano Nery; RIBEIRO FILHO, Paulo Roberto Campos Flexa; DA SILVA, Larissa Morais Ribeiro; ARRUDA, Tathilene Bezerra Mota Gomes; RODRIGUES, Francisco Eduardo Arruda; DE LUNA, Francisco Murilo Tavares; PETZHOLD, César Liberato; MAIER, Martin E.; RICARDO, Nágila Maria Pontes Silva. Development of polyols analogous to neopentyl glycol and trimethylolpropane for the production of oleic acid-based biolubricants. **Fuel**, Oxford, v. 381, 2025.

RAOF, Nurliyana A.; YUNUS, Robiah; RASHID, Umer; AZIS, Norhafiz; YAAKUB, Z. Effect of molecular structure on oxidative degradation of ester-based transformer oil. **Tribology International**, Oxford, v. 140, 2019.

RATHOD, Nikheel Bhojraj; KULAWIK, Piotr; OZOGUL, Fatih; REGENSTEIN, Joe M.; OZOGUL, Yesim. Biological activity of plant-based carvacrol and thymol and their impact on human health and food quality. **Trends in Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 116, p. 733–748, 2021.

REBOUÇAS, Louhana M.; SOUSA, Alexandre C.C.; GRAMOSA, Nilce V.; DE ARAÚJO, Tamara G.; DE OLIVEIRA, Fátima Cássia E.; DO PESSOA, Cláudia; ARAÚJO, Rinaldo S.; SANTOS, Emília M.A.; RICARDO, Nágila M.P.S. Linseed oil nanoemulsion with Pluronic® F127 loaded with betulinic acid: preparation, rheology, MTT assay and in vitro release kinetics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 33, n. 11, p. 1319–1331, 2022.

REBOUÇAS, Louhana M.; SOUSA, Alexandre C.C.; SAMPAIO, Caroline G.; SILVA, Larissa M.R.; COSTA, Pedro M.S.; PESSOA, Cláudia; BRASIL, Nilce V.G.P.S.; RICARDO,

Nágila M.P.S. Microcapsules based on alginate and guar gum for co-delivery of hydrophobic antitumor bioactives. **Carbohydrate Polymers**, Amsterdam, v. 301, 2023.

RIAZ, Bushra; SOHN, Seonghyang. Neutrophils in inflammatory diseases: unraveling the impact of their derived molecules and heterogeneity. **Cells**, Basel, v. 12, n. 22, 2023.

RIOS, Ítalo C.; CORDEIRO, João P.; ARRUDA, Tathilene B.M.G.; RODRIGUES, F. Eduardo A.; UCHOA, Antonia F.J.; LUNA, F. Murilo T.; CAVALCANTE, Célio L.; RICARDO, Nágila M.P.S. Chemical modification of castor oil fatty acids (*Ricinus communis*) for biolubricant applications: an alternative for Brazil's green market. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 145, 2020.

RITGER, Philip Lee; PEPPAS, Nikolaos Alexandros. A simple equation for description of solute release I: Fickian and non-Fickian release from non-swelling devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 5, p. 23–36, 1987.

ROBBINS, Nicole; CAPLAN, Tavia; COWEN, Leah Elizabeth. Molecular evolution of antifungal drug resistance. **Annual Review of Microbiology**, Palo Alto, v. 71, p. 753–775, 2017.

RU, Qing; HUANG, Ying; JIN, Ziyue; YU, Defa; FU, Zhiwen; TIAN, Jiao; GUO, Mengyue; LI, Xueli; YANG, Meihua; LUO, Jiaoyang. Antifungal activity and inhibitory mechanism of essential oil from fresh and fallen leaves of *Cinnamomum camphora* against zearalenone-producing *Fusarium graminearum*. **LWT**, Amsterdam, v. 231, 2025.

RYU, Victor; MCCLEMENTS, David J.; CORRADINI, Maria G.; MCLANDSBOROUGH, Lynne. Effect of ripening inhibitor type on formation, stability, and antimicrobial activity of thyme oil nanoemulsion. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 245, p. 104–111, 2018.

SAARINEN-SAVOLAINEN, Paula; JÄRVINEN, Tomi; TAIPALE, Hannu; URTTI, Arto. Method for evaluating drug release from liposomes in sink conditions. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Hoboken, v. 86, n. 6, p. 730–734, 1997.

SAKA, Abiodun; ABOR, Tobechukwu K.; OKAFOR, Anthony C.; OKORONKWO, Monday U. Thermo-rheological and tribological properties of low- and high-oleic vegetable oils as sustainable bio-based lubricants. **RSC Sustainability**, London, v. 3, 2025.

SALIMON, Jumat; ABDULLAH, Bashar M.; YUSOP, Rahimi M.; SALIH, Nadia. Synthesis, reactivity and application studies for different biolubricants. **Chemistry Central Journal**, London, v. 8, n. 1, 2014.

SALIMON, Jumat; SALIH, Nadia; YOUSIF, Emad. Biolubricants: raw materials, chemical modifications and environmental benefits. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 112, n. 5, p. 519–530, 2010.

SALMANTON-GARCÍA, Jon; CORNELLY, Oliver A.; STEMLER, Jannik; BARAĆ, Aleksandra; STEINMANN, Jörg; SIVÁKOVÁ, Alena; AKALIN, Emin Halis; ARIKAN-AKDAGLI, Sevtap; LOUGHLIN, Laura; TOSCANO, Cristina; NARAYANAN, Manjusha; ROGERS, Benedict; WILLINGER, Birgit; AKYOL, Deniz; ROILIDES, Emmanuel; LAGROU, Katrien; MIKULSKA, Malgorzata; DENIS, Blandine; PONSCARME, Diane; SCHARMANN, Urlike; AZAP, Alpay; LOCKHART, Deborah; BICANIC, Tihana; KRON,

Florian; ERBEN, Nurettin; RAUTEMAA-RICHARDSON, Riina; GOODMAN, Anna L.; GARCIA-VIDAL, Carolina; LASS-FLÖRL, Cornelia; GANGNEUX, Jean Pierre; TARAMASSO, Lucia; RUIZ, Maite; SCHICK, Yael; VAN WIJNGAERDEN, Eric; MILACEK, Christopher; GIACOBBE, Daniele Roberto; LOGAN, Clare; ROONEY, Emily; GORI, Andrea; AKOVA, Murat; BASSETTI, Matteo; HOENIGL, Martin; KOEHLER, Philipp. Attributable mortality of candidemia: results from the ECMM Candida III multinational European observational cohort study. **Journal of Infection**, London, v. 89, n. 3, 2024.

SARKAR, Arjun; PRAETORIUS, Jan Philipp; FIGGE, Marc Thilo. Deep learning-based characterization of neutrophil activation phenotypes in ex vivo human Candida blood infections. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, Amsterdam, v. 23, p. 1260–1273, 2024.

SARKER, Majher I.; NGO, Helen; SHARMA, Brajendra K.; WAGNER, Karen M.; JONES, Kerby C.; POWELL, Michael J. Green synthesis of trimethylolpropane triisostearate and triisoooleate for usage as bio-lubricants. **Tribology International**, Oxford, v. 186, 2023.

SATYARTHI, Jitendra Kumar; SRINIVAS, Darbha; RATNASAMY, Paul. Hydrolysis of vegetable oils and fats to fatty acids over solid acid catalysts. **Applied Catalysis A: General**, Amsterdam, v. 391, n. 1–2, p. 427–435, 2011.–

SEIBERT, Janaína Brandão; RODRIGUES, Ivanildes Vasconcelos; CARNEIRO, Simone Pinto; AMPARO, Tatiane Roquete; LANZA, Juliane Sousa; FRÉZARD, Frédéric Jean G.; DE SOUZA, Gustavo Henrique Bianco; SANTOS, Orlando David Henrique dos. Seasonality study of essential oil from leaves of *Cymbopogon densiflorus* and nanoemulsion development with antioxidant activity. **Flavour and Fragrance Journal**, Hoboken, v. 34, n. 1, p. 5–14, 2019.

SERT, Emine; ATALAY, Ferhan Selçuk. Application of green catalysts for the esterification of benzoic acid with different alcohols. **Celal Bayar University Journal of Science**, Manisa, v. 13, p. 907–912, 2017.

SHARIF, Hafiz Rizwan; ABBAS, Shabbar; MAJEED, Hamid; SAFDAR, Waseem; SHAMOON, Muhammad; KHAN, Muhammad Aslam; SHOAIB, Muhammad; RAZA, Husnain; HAIDER, Junaid. Formulation, characterization and antimicrobial properties of black cumin essential oil nanoemulsions stabilized by OSA starch. **Journal of Food Science and Technology**, New Delhi, v. 54, n. 10, p. 3358–3365, 2017.

SHARMA, Surender Kumar; VERMA, Dalip Singh; KHAN, Latif Ullah; KUMAR, Shalendra; KHAN, Sher Bahadar. **Handbook of materials characterization**. Cham: Springer, 2018.

SHOHAM, Shmuel; GROLL, Andreas H.; PETRAITIS, Vidmantas; WALSH, Thomas J. Systemic antifungal agents. In: *Infectious Diseases*. Amsterdam: Elsevier, v. 2, p. 1333–1344.e4, 2017.

SINGH, Mahendra; BHARADWAJ, Shiv; LEE, Kyung Eun; KANG, Sang Gu. Therapeutic nanoemulsions in ophthalmic drug administration: concept in formulations and characterization techniques for ocular drug delivery. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 328, p. 895–916, 2020.

SINGH, Yashvir; FAROOQ, Abid; RAZA, Aamir; MAHMOOD, Muhammad Arif; JAIN, Surbhi. Sustainability of a non-edible vegetable oil-based bio-lubricant for automotive applications: a review. **Process Safety and Environmental Protection**, Oxford, v. 111, p. 701–713, 2017.

SINGH, Yuvraj; MEHER, Jaya Gopal; RAVAL, Kavita; KHAN, Farooq Ali; CHAURASIA, Mohini; JAIN, Nitin K.; CHOURASIA, Manish K. Nanoemulsion: concepts, development and applications in drug delivery. **Journal of Controlled Release**, Amsterdam, v. 252, p. 28–49, 2017.

SONG, Wenyi; YANG, Yuting; YU, Miaorong; ZHU, Quanlei; DAMANEH, Mohammadali Soleimani; ZHONG, Haijun; GAN, Yong. Enhanced digestion inhibition and mucus penetration of F127-modified self-nanoemulsions for improved oral delivery. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 13, n. 4, p. 326–335, 2018.

SOUZA, Rafael Limongi de; DANTAS, Amanda Gabrielle Barros; MELO, Camila de Oliveira; FELÍCIO, Isabela Motta; OLIVEIRA, Elquio Eleamen. Nanotechnology as a tool to improve the biological activity of carvacrol: a review. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, Amsterdam, v. 76, 2022.

STANKOVIC STOJANOVIC, Katia; LIONNET, François. Lactate dehydrogenase in sickle cell disease. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 458, p. 99–102, 2016.

SUBUDHI, Lopamudra; THATOI, Hrudayanath; BANERJEE, Amrita. Anti-inflammatory activity of essential oil from medicinal plants: an insight into molecular mechanism, in silico studies and signaling pathways. **Phytomedicine**, Jena, v. 138, 2025.

SUNDARAMAHALINGAM, M. A.; KARTHIKUMAR, Sankar; KUMAR, Shyam R.; SAMUEL, Karl J.; SHAJAHAN, S.; SIVASUBRAMANIAN, Velmurugan; SIVASHANMUGAM, Palani; VARALAKSHMI, Perumal; SYED, Asad; MARRAIKI, Najat; ELGORBAN, Abdallah M.; RAJA, Vinoth Kumar.; GANESH MOORTHY, I. An intensified approach for transesterification of biodiesel from *Annona squamosa* seed oil using ultrasound-assisted homogeneous catalysis reaction and its process optimization. **Fuel**, Oxford, v. 291, 2021.

TADROS, Tharwat; IZQUIERDO, Pedro; ESQUENA, Jordi; SOLANS, Carlos. Formation and stability of nano-emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 108–109, p. 303–318, 2004.

TAYEB, Hossam Hassan; FELIMBAN, Raed; ALMAGHRABI, Sarah; HASABALLAH, Nojod. Nanoemulsions: formulation, characterization, biological fate, and potential role against COVID-19 and other viral outbreaks. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, Amsterdam, v. 630, 2021.

TAYLOR, Paul. Ostwald ripening in emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 75, p. 107–163, 1998.

TEH, Jia Leang; WALVEKAR, Rashmi; HO, Kah Chun; KHALID, Mohammad. Biolubricants from waste cooking oil: a review of extraction technologies, conversion techniques, and performance enhancement using natural antioxidants. **Journal of Environmental Management**, London, v. 375, 2025.

TISEO, Giusy; VENA, Antonio; BASSETTI, Matteo; BARTALUCCI, Claudia; CERCHIARO, Matteo; CESARETTI, Mario; MARCHESE, Anna; DI PILATO, Vincenzo; ESCRIBANO, Pilar; FORNITI, Arianna; GIACOBBE, Daniele Roberto; GUINEA, Jesus; LIMONGELLI, Alessandro; LUPETTI, Antonella; MACHADO, Marina; MIKULSKA, Malgorzata; SALMANTON-GARCÍA, Jon; SORIANO-MARTIN, Ana; TARAMASSO, Lucia; VALERIO, Maricela; BOUZA, Emilio; MUÑOZ, Patricia; FALCONE, Marco. Persistent candidemia caused by different *Candida* species: data from a multicenter contemporary cohort. **Journal of Infection**, London, v. 91, n. 3, 2025.

TSIRIGOTIS-MANIECKA, Marta; SZYK-WARSZYŃSKA, Lilianna; MANIECKI, Łukasz; SZCZEŚNA, Weronika; WARSZYŃSKI, Piotr; WILK, Kazimiera A. Tailoring the composition of hydrogel particles for the controlled delivery of phytopharmaceuticals. **European Polymer Journal**, Oxford, v. 151, 2021.

TÜRKEZ, Hasan; AYDIN, Elanur. Investigation of cytotoxic, genotoxic and oxidative properties of carvacrol in human blood cells. **Toxicology and Industrial Health**, London, v. 32, n. 4, p. 625–633, 2016.

UDE, Callistus N.; IGWILO, Christopher N.; KENECHI, Nwosu-Obiego; NNAJI, Patrick C.; OGUANOBI, Collins N.; AMULU, Ndidi F.; EZE, Cordelia Nneka; OMENIHU, Uchenna C. Optimization of dual transesterification of jatropha seed oil to biolubricant using hybridized response surface methodology (RSM) and adaptive neuro fuzzy inference system (ANFIS)-genetic algorithm (GA). **Sustainable Chemistry for the Environment**, Amsterdam, v. 4, p. 100050, 2023.

UPPAR, Rajendra; DINESHA, P.; KUMAR, Shiva. A critical review on vegetable oil-based bio-lubricants: preparation, characterization, and challenges. **Environmental Development and Sustainability**, Dordrecht, v. 25, n. 9, p. 9011–9046, 2023.

VEMULLAPALLI, Vandana; LAKKOJU, Babi. A potential pentaerythritol-based bio-lubricants from 10-undecylenic acid: its physico-chemical assessment. **Journal of the Indian Chemical Society**, New Delhi, v. 100, n. 6, 2023.

VERMES, Aart; GUCHELAAR, Henk-Jan; DANKERT, Jacob. Flucytosine: a review of its pharmacology, clinical indications, pharmacokinetics, toxicity and drug interactions. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Oxford, v. 46, n. 2, p. 171–179, 2000.

VIVEROS-CONTRERAS, Rubi; GARCÍA Hugo S.; ALAMILLA-BELTRÁN, L.; FIGUEROA-HERNÁNDEZ, C. Y.; CORNEJO-MAZÓN, Maribel; TÉLLEZ-MEDINA, Darío Iker; GARCÍA-ARMENTA, Evangelina; GUTIÉRREZ-LÓPEZ, Gustavo F.; CANO-SARMIENTO, Cynthia. Zeta potential of food matrices. **Food Engineering Reviews**, New York, v. 10, n. 3, p. 113–138, 2018.

WANG, Xiaobo; HUANG, Jinxia; GUO, Zhiguang. Overview of the development of slippery surfaces: lubricants from presence to absence. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 301, 2022.

WERTEKER, M.; LORENZ, A.; JOHANNES, H.; BERGHOFER, E; FINDLAY, C. S. Environmental and varietal influences on the fatty acid composition of rapeseed, soybeans and sunflowers. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Berlin, v. 196, n. 1, p. 20–27, 2010.

WILSON, Russell J.; LI, Yang; YANG, Guangze; ZHAO, Chun Xia. Nanoemulsions for drug delivery. **Particuology**, Beijing, v. 64, p. 85–97, 2022.

XU, Zhuang; LOU, Wenjing; ZHAO, Gaiqing; ZHANG, Ming; HAO, Junying; WANG, Xiaobo. Pentaerythritol rosin ester as an environmentally friendly multifunctional additive in vegetable oil-based lubricant. **Tribology International**, Oxford, v. 135, p. 213–218, 2019.

YADAV, Arati; PAUL, Kishor Kumar; SONI, Monisha; DUBEY, Nawal Kishore; PRASAD, Rajendra; TILAK, Ragini; DWIVEDY, Abhishek Kumar. Antifungal resistance in dermatophytes: essential oil-based nanoformulations as new generation therapeutics against dermatophytes. **Microbial Pathogenesis**, London, v. 205, 2025.

YANG, Jin; XU, Banglao; CAO, Ju; LIU, Yuhan; TANG, Ling; ZHAO, Ping; LI, Sen; LI, Xin; LIU, Jiayu; YU, Renlin; TANG, Yin; TAN, Wang; DING, Hao; LI, Jin; LIU, Yao. Characterizing the mechanisms underpinning interleukin-15R α -mediated protection against sepsis and candidiasis. **Cytokine**, Amsterdam, v. 196, 2025.

YANG, Yu Liang; HUA, Kuo Feng; CHUANG, Pei Hsuan; WU, Shih Hsiung; WU, Kuen Yuh; CHANG, Fang Rong; WU, Yang Chang. New cyclic peptides from the seeds of *Annona squamosa* L. and their anti-inflammatory activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 56, n. 2, p. 386–392, 2008.

ZHAO, Qian; ZHU, Liyun; WANG, Sunan; GAO, Yongsheng; JIN, Fei. Molecular mechanism of the anti-inflammatory effects of plant essential oils: a systematic review. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v. 301, 2023.

APÊNDICE A – ARTIGO PUBLICADO NO “JOURNAL OF THE AMERICAN OIL CHEMISTS’ SOCIETY”.

Journal of the American Oil Chemists' Society

WILEY | AOCs 

ORIGINAL ARTICLE

Synthesis of Lubricant Esters From *Annona squamosa* Seeds: A Novel Use of Tropical Biomass for Industrial Applications

Sarah Brenda Ferreira dos Santos¹ | Stéfano Arrais Pereira¹ | Denise Ramos Moreira¹ | Elano Nery Ferreira¹ | Pedro Oribio Bastos Chaves¹ | Francisco Marlon Fontenele Lemos¹ | Tathilene Bezerra Mota Gomes Arruda¹ | Francisco Eduardo Arruda Rodrigues² | Nágila M. P. S. Ricardo¹ 

¹Laboratory of Polymers and Materials Innovation, Department of Organic and Inorganic Chemistry, Sciences Center, Federal University of Ceara, Campus of Pici, Fortaleza, Brazil | ²Federal Institute of Ceará, Campus Caucaia, Caucaia, Brazil

Correspondence: Nágila M. P. S. Ricardo (naricard@ufc.br)

Received: 22 May 2025 | **Revised:** 28 July 2025 | **Accepted:** 5 August 2025

Funding: This work was supported by Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Funcap), Edital 01/2022 - Mulheres na Ciência. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Process No 309795/2021-4. Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Finance Code 88881.973965/2024-01 - PROEX - Auxí.

Keywords: *Annona squamosa* seed oil | bio-based lubricants | esterification reaction | polyol esters | rheological behavior | thermal stability

APÊNDICE B – PATENTE DEPOSITADA NO INSTITUTO NACIONAL DE PROPRIEDADE INDUSTRIAL



14/12/2023 11:21 870230110332
29409162312586050

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2023 026342 9

Dados do Depositante (71)

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): COMPOSIÇÃO E USO DE NANOEMULSÃO À BASE DE ÓLEO DE ANNONA SQUAMOSA E CARVACROL PARA TRATAMENTO DE CANDIDÍASE

Resumo: A presente invenção trata-se da composição e uso de uma nanoemulsão à base de carvacrol e óleo da semente da Annona squamosa, para aplicação em terapia contra candidíase, caracterizada por compreender: óleo de semente de Annona squamosa, carvacrol, copolímero em bloco de poli(óxido de etileno) poli(óxido de propileno) e água. Este sistema possui ação comprovada in vitro contra cepas de fungos Candida parapsilosis, Candida auris, Candida albicans e Candida krusei. Possui como diferencial em sua composição o carvacrol, um ativo antifúngico, associado estrategicamente ao óleo de Annona squamosa que, além de atuar como antifúngico e encapsulante do sistema. Também atua como anti-inflamatório, em um único sistema nanométrico, objetivando a ação multifuncional no tratamento de infecções causadas por espécies de candida se apresentando como um anti fúngico substituto natural nanotecnológico.

APÊNDICE C – ARTIGO PUBLICADO NO “ACS OMEGA”.

ACS OMEGA

Open Access

This article is licensed under [CC-BY 4.0](#)

<http://pubs.acs.org/journal/acsodf> **Article**

Nanocarriers Derived from *Annona squamosa* Seed Oil Amplify the Anti-inflammatory Effect of Carvacrol in Human Neutrophils

Sarah Brenda Ferreira dos Santos, Stéfano Arrais Pereira, Maria Júlia Pereira dos Santos, Louhana Moreira Rebouças, Francisco Alessandro Marinho Rodrigues, João Francisco Câmara Neto, Matheus da Silva Campelo, Luzia Kalyne Almeida Moreira Leal, Francisca Rayssa Mesquita, Denise Ramos Moreira, Victor Borges Fernandes, Ícaro Gusmão Pinto Vieira, and Nágila Maria Pontes Silva Ricardo*

Cite This: <https://doi.org/10.1021/acsomega.5c12743> **Read Online**

ACCESS | **Metrics & More** **Article Recommendations**

The diagram illustrates the synthesis and application of Carvacrol-loaded nanocapsules. It starts with the chemical structures of Carvacrol and Annona squamosa seed oil. These components are used to create Carvacrol-loaded nanocapsules. The diagram then shows the spherical morphology of the nanocapsules, a graph of sustained carvacrol release over time, and the application of the nanocapsules to human neutrophils. The neutrophils are shown with L937 cytotoxicity assay results, indicating a reduction in MPO release.