



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

JONNY ERICK DOS SANTOS FERREIRA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROEMULSÃO A BASE DO
ÓLEO DE ALFAVACA (*OCIMUM GRATISSIMUM*) PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE, CITOTÓXICA E ANTIMICROBIANA**

São Luís
2026

JONNY ERICK DOS SANTOS FERREIRA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROEMULSÃO A BASE DO
ÓLEO DE ALFAVACA (*OCIMUM GRATISSIMUM*) PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE, CITOTÓXICA E ANTIMICROBIANA**

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Doutorado Associativo em
Química UFMA/IFMA da Universidade
Federal do Maranhão, para a obtenção
do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Odair dos Santos
Monteiro

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Ferreira, Jonny Erick dos Santos.

Desenvolvimento e caracterização de microemulsão a base do óleo de Alfavaca *Ocimum gratissimum* para avaliação da atividade antioxidante, citotóxica e antimicrobiana / Jonny Erick dos Santos Ferreira. - 2026.

104 p.

Orientador(a): Odair dos Santos Monteiro.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação Doutorado em Química/ccet, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2026.

1. Carvacrol. 2. Atividade Antioxidante. 3. Atividade Citotóxica. 4. Atividade Antibacteriana. 5. Atividade Antifúngica. I. Monteiro, Odair dos Santos. II. Título.

JONNY ERICK DOS SANTOS FERREIRA

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROEMULSÃO A BASE DO ÓLEO DE ALFAVACA (*OCIMUM GRATISSIMUM*) PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, CITOTÓXICA E ANTIMICROBIANA

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Doutorado Associativo em Química UFMA/IFMA da Universidade Federal do Maranhão, para a obtenção do título de Doutor em Química

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Odair dos Santos Monteiro (Orientador)
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Prof. Dr. Cícero Wellington Brito Bezerra
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Prof. Dr. Roberto Batista de Lima
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Prof. Dr^a. Rafaely Nascimento Lima
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Prof. Dr. Renato Sonchini Gonçalves
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Eu, que sou cego, — mas só
peço luzes...

Que sou pequeno, — mas só fito
os Andes...

*(Poema "Quem dá aos pobres,
empresta a Deus" livro Espumas
Flutuantes – Castro Alves)*

AGRADECIMENTOS

- ✓ A minha esposa Yasnaia Oliveira, pelo carinho, apoio, compreensão e principalmente companheirismo durante todo o processo de conclusão do Doutorado;
- ✓ Aos meus filhos, Mateus Ferreira, João Lucas e José Bento, por serem o meu maior motivo para lutar, mesmo cansado, buscando ser o melhor constantemente ao longo da minha trajetória.
- ✓ À minha família, principalmente meus pais (Lenilza Neves e Joaquim Martins) e meu irmão (Joaquim Neto) pelo apoio e incentivo;
- ✓ Ao Prof. Dr. Odair dos Santos Monteiro pela orientação e incentivo à pesquisa;
- ✓ Aos professores do programa de Pós-Graduação em Química (Doutorado) e a UFMA pela complementação acadêmica;
- ✓ Aos meus amigos do Laboratório de Produtos Naturais, em especial a Victor, Amanda, Josafá, Jonathan e Lucas que sempre prestaram ajuda em momentos difíceis do trabalho.
- ✓ Aos funcionários e colegas do programa, em especial à turma de 2021.1 pela convivência e companheirismo;
- ✓ E a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

RESUMO

Ocimum gratissimum, popularmente conhecido no Brasil como “alfavaca, manjerição, alfavacão ou alfavaca-cravo”, pertence à família Lamiaceae, é nativo da África e da Ásia e apresenta ampla distribuição em território brasileiro. Estudos sobre seus usos terapêuticos revelam expressiva diversidade farmacológica, com propriedades antibacterianas, antifúngicas, hipoglicemiantes e antioxidantes já documentadas em diferentes modelos experimentais. Diversos monoterpenos e sesquiterpenos biologicamente ativos foram descritos para o gênero, sendo especialmente relevante seu potencial antimicrobiano. Diante desse contexto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver uma microemulsão a partir do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (OEOG), obtido por hidrodestilação das folhas. Os óleos essenciais foram analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS), e posteriormente avaliados quanto à influência sazonal e circadiana sobre a composição química, bem como quanto às atividades antioxidante, citotóxica, antibacteriana e antifúngica. Observou-se variação significativa no rendimento e nos teores dos constituintes do óleo essencial ao longo dos períodos avaliados. Em média, foram identificados 23 compostos, com carvacrol (38,4% – 63,5%), p-cimeno (9,3% – 19,3%) e γ -terpineno (8,7% – 27,9%) como constituintes majoritários em todas as amostras. Para o desenvolvimento da microemulsão, foi construído um diagrama de fases, permitindo a identificação da proporção mais estável do sistema, composta por 18,2% de óleo, 72,7% de surfactante/cosurfactante e 9,1% de água. A formulação selecionada (ME6) foi caracterizada quanto ao tamanho de partícula ($43,82 \pm 0,319$ nm), índice de polidispersão ($0,416 \pm 0,021$), potencial zeta ($-26,2$ mV), estabilidade térmica, condutividade ($76,8$ μ S/cm) e pH (6,42 – 5,37). A análise por GC-MS do headspace confirmou a incorporação do óleo essencial à matriz microemulsionada, evidenciando os principais constituintes carvacrol (40,39%), γ -terpineno (22,51%) e p-cimeno (12,57%) presentes na ME6. A microemulsão apresentou desempenho biológico superior quando comparada ao Controle Negativo (ME-Controle Negativo) e ao óleo essencial isolado (OE) frente a todos os microrganismos avaliados, tanto em termos de atividade bacteriostática (CIM) quanto atividade bactericida (CBM). Destacou-se notadamente contra *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*, mantendo elevada inibição do crescimento microbiano mesmo na concentração de 2000 mg/mL. As análises microbiológicas demonstraram que a microemulsão (ME6) apresentou valores de CIM entre 15,62 e 250 mg/mL frente às

bactérias testadas, enquanto o óleo essencial isolado exibiu CIM variando de 250 a 2000 mg/mL, indicando aumento de até 16 vezes na potência antimicrobiana após microemulsificação. A atividade antifúngica também foi intensificada, com redução da CFM de 500 mg/mL (OE) para 15,62 mg/mL (ME6) frente às cepas de *Candida albicans* e *Candida parapsilosis*. No ensaio antioxidante, a microemulsão exibiu IC₅₀ de 39,38 mg/mL, enquanto o óleo essencial isolado apresentou IC₅₀ de 70,51 mg/mL, confirmando incremento de 44,14% na capacidade antioxidante decorrente da microemulsificação. Em estudos de hemólise, o OEOG apresentou valores inferiores a 10% apenas em concentrações abaixo de 500 µg/mL, variando de 9,8% (500 µg/mL) a 9,6% (15,62 µg/mL). Para a microemulsão, entretanto, os valores de hemólise permaneceram abaixo de 10% desde concentrações mais elevadas (2000 µg/mL), atingindo 0,3% na menor concentração testada (15,62 µg/mL), evidenciando perfil citotóxico consideravelmente mais brando da formulação microestruturada em comparação ao óleo essencial livre. Diante desses resultados, a microemulsão contendo óleo essencial de *Ocimum gratissimum* demonstrou clara superioridade em relação ao óleo essencial não formulado, apresentando maior atividade antimicrobiana e antioxidante, aliada à significativa redução da citotoxicidade. Essa combinação de elevada estabilidade físico-química, maior eficiência biológica e melhor perfil de segurança reforça o potencial da formulação como candidata promissora para o desenvolvimento de medicamentos tópicos com ação antibacteriana e antifúngica. Os achados deste estudo contribuem para o avanço de tecnologias farmacêuticas aplicadas a produtos naturais e sinalizam perspectivas relevantes para futuras aplicações clínicas e biotecnológicas.

Palavras-chave: Carvacrol; Atividade antioxidante, atividade citotóxica; Atividade antibacteriana; Atividade antifúngica.

ABSTRACT

Ocimum gratissimum, popularly known in Brazil as “alfavaca,” “manjerição,” “alfavacão,” or “alfavaca-cravo,” belongs to the Lamiaceae family, is native to Africa and Asia, and is widely distributed throughout Brazil. Studies on its therapeutic applications have revealed significant pharmacological diversity, with antibacterial, antifungal, hypoglycemic, and antioxidant properties documented in different experimental models. Several biologically active monoterpenes and sesquiterpenes have been described for this genus, especially regarding its antimicrobial potential. In this context, the aim of this study was to develop a microemulsion containing *Ocimum gratissimum* essential oil (OGEO), obtained by hydrodistillation of the leaves. The essential oils were analyzed by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) and subsequently evaluated regarding seasonal and circadian influences on chemical composition, as well as antioxidant, cytotoxic, antibacterial, and antifungal activities. Significant variations were observed in both yield and concentration of the essential oil constituents throughout the evaluated periods. On average, 23 compounds were identified, with carvacrol (38.4%–63.5%), p-cymene (9.3%–19.3%), and γ -terpinene (8.7%–27.9%) being the major constituents in all samples. For microemulsion development, a phase diagram was constructed, allowing the identification of the most stable system proportion, composed of 18.2% oil, 72.7% surfactant/cosurfactant, and 9.1% water. The selected formulation (ME6) was characterized in terms of particle size (43.82 ± 0.319 nm), polydispersity index (0.416 ± 0.021), zeta potential (-26.2 mV), thermal stability, conductivity (76.8 μ S/cm), and pH (6.42–5.37). Headspace GC-MS analysis confirmed the incorporation of the essential oil into the microemulsion matrix, highlighting carvacrol (40.39%), γ -terpinene (22.51%), and p-cymene (12.57%) as the major constituents present in ME6. The microemulsion exhibited superior biological performance compared to the Negative Control (ME-Negative Control) and the isolated essential oil (EO) against all tested microorganisms, both in terms of bacteriostatic activity (MIC) and bactericidal activity (MBC). Notably, it demonstrated strong inhibitory effects against *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae*, maintaining high microbial growth inhibition even at a concentration of 2000 mg/mL. Microbiological analyses demonstrated that the microemulsion (ME6) presented MIC values ranging from 15.62 to 250 mg/mL against the tested bacteria, whereas the isolated

essential oil exhibited MIC values ranging from 250 to 2000 mg/mL, indicating up to a 16-fold increase in antimicrobial potency after microemulsification. Antifungal activity was also enhanced, with a reduction in the minimum fungicidal concentration (MFC) from 500 mg/mL (EO) to 15.62 mg/mL (ME6) against *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* strains. In the antioxidant assay, the microemulsion exhibited an IC₅₀ value of 39.38 mg/mL, whereas the isolated essential oil showed an IC₅₀ value of 70.51 mg/mL, confirming a 44.14% increase in antioxidant capacity after microemulsification. In hemolysis assays, OGEO showed values below 10% only at concentrations lower than 500 µg/mL, ranging from 9.8% (500 µg/mL) to 9.6% (15.62 µg/mL). In contrast, the microemulsion maintained hemolysis values below 10% even at higher concentrations (2000 µg/mL), reaching 0.3% at the lowest tested concentration (15.62 µg/mL), demonstrating a considerably milder cytotoxic profile compared to the free essential oil. Taken together, these results demonstrate that the microemulsion containing *Ocimum gratissimum* essential oil exhibited clear superiority over the non-formulated essential oil, presenting enhanced antimicrobial and antioxidant activities associated with a significant reduction in cytotoxicity. This combination of high physicochemical stability, improved biological efficiency, and enhanced safety profile reinforces the potential of this formulation as a promising candidate for the development of topical pharmaceutical products with antibacterial and antifungal properties. The findings of this study contribute to the advancement of pharmaceutical technologies applied to natural products and highlight relevant perspectives for future clinical and biotechnological applications.

Keywords: Carvacrol; Antioxidant activity; Cytotoxic activity; Antibacterial activity; Antifungal activity.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Estruturas de alguns compostos presentes nos óleos essenciais	19
FIGURA 2	a) Foto da espécie de <i>Ocimum gratissimum</i> e b) folha da planta	21
FIGURA 3	Estruturas de alguns quimiotipos encontrados na espécie <i>Ocimum gratissimum</i> .	22
FIGURA 4	Tipos de Microemulsões.	25
FIGURA 5	Exemplares e folha da espécie de estudo, <i>Ocimum gratissimum</i> e b) local de coleta.	37
FIGURA 6	Redução do radical DPPH	40
FIGURA 7	Redução do ABTS por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio	42
FIGURA 8	Extrator de Cluvenger modificado	52
FIGURA 9	Cromatograma do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> .	55
FIGURA 10	Rota Biosintética proposta para os monoterpenos aromáticos do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i>	59
FIGURA 11	Variação no teor dos constituintes p-Cimeno, γ -Terpineno e Carvacrol majoritários do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> durante o estudo circadiano no período chuvoso e o período seco	60
FIGURA 12	Variação no teor dos principais constituintes do óleo essencial das folhas de <i>Ocimum gratissimum</i> durante o estudo sazonal (janeiro a dezembro)	61
FIGURA 13	Comparação das estruturas do γ -terpineno, p-cimeno, carvacrol, trolox e DPPH	66
FIGURA 14	Diagrama de fases pseudoternário para o sistema óleo de <i>Ocimum gratissimum</i> , Tween/propilenoglicol e água.	69
FIGURA 15	Microemulsões selecionadas através do estudo do diagrama Pseudo Ternário	70
FIGURA 16	Porcentagem de hemólise promovida por diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i>	71
FIGURA 17	Porcentagem de hemólise promovida por diferentes concentrações na ME6	71

- FIGURA 18** Placas do ensaio de concentração bacteriostática mínima (CBM) da ME6 e do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (OEOG) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603. 78
- FIGURA 19** Placas do teste de atividade de concentração fungicida mínima (CFM) da microemulsão: a) fungo *Candida albicans* ATCC 14053 e b) fungo *parapsilosis* ATCC 22014. 80
- FIGURA 20** Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo essencial e da microemulsão frente a cepas do gênero *Staphylococcus*: (a) CIM do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* frente à bactéria *Staphylococcus epidermidis* ATCC 25924 e (b) CIM da microemulsão contendo o óleo essencial de *Ocimum gratissimum* frente à bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. 81

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Principais tensoativos e cotensoativos empregados em formulações nanoestruturadas contendo óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> .	28
TABELA 2	Valores de rendimento de óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i>	50
TABELA 3	Resultados de umidade e rendimento dos estudos sazonal e circadiano.	52
TABELA 4	Constituintes identificados nas amostras referentes ao estudo sazonal.	57
TABELA 5	Constituintes identificados nas amostras referentes ao estudo circadiano.	58
TABELA 6	Valores de capacidade do sequestro de radical DPPH do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> (% inibição)	63
TABELA 7	Valores de capacidade do sequestro de radical ABTS do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> (% inibição)	64
TABELA 8	IC50 (mg/mL) e índice de atividade antioxidante frente radical DPPH	67
TABELA 9	Composição centesimal das amostras ME1 até ME8 do diagrama pseudoternário de Tween/Propilenoglicol (1:1), óleo de <i>Ocimum gratissimum</i> e água.	68
TABELA 10	Caracterização da microemulsão formulada com o óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> , controle negativo e da microemulsão em relação ao tamanho das partículas, índice de polidispersão e potencial zeta.	73
TABELA 11	Caracterização da microemulsão formulada com óleo essencial extraído da <i>Ocimum gratissimum</i> antes e após teste de estabilidade térmica	74
TABELA 12	Caracterização da microemulsão obtida de <i>Ocimum gratissimum</i> por método headspace de Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massa.	75
TABELA 13	Atividade antimicrobiana do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i> e sua microemulsão.	82

LISTA DE ABREVIATURAS

ATCC	American Type Culture Collection
BHI	Brain Heart Infusion
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CFM	Concentração Fungicida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
COEP	Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos
DLS	Espalhamento de luz dinâmico
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
EO	Óleo essencial
LPQN	Laboratório de Química de Produtos Naturais
ME	Microemulsão
OEOG	Óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i>
PDI	Índice de polidispersão
ROS	Espécies reativas de oxigênio
RPM	Rotação por minuto

SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT	7
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE ABREVIATURAS	12
SUMÁRIO	13
1. INTRODUÇÃO	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1. Óleos essenciais	18
2.2. <i>Ocimum gratissimum</i> (Alfavaca)	22
2.3. Microemulsões	24
2.4. Tensoativos e cotensoativos.....	27
2.5. Atividade Antimicrobiana	29
2.6. Atividade antioxidante e atividade citotoxicidade do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i>	32
2.7. Atividade biológica dos componentes majoritários do óleo essencial de <i>Ocimum gratissimum</i>	34
3. OBJETIVOS	36
3.1. Objetivo Geral	36
3.2. Objetivos específicos	36
4. PARTE EXPERIMENTAL	37
4.1. Área da pesquisa, Coleta e Dados Climáticos	37
4.2. Extração do óleo essencial	38
4.3. Determinação da umidade e cálculo de rendimento do óleo essencial.....	38
4.4. Determinação da densidade do óleo essencial.....	39
4.5. Análise da composição do óleo.....	39
4.6. Determinação da capacidade antioxidante.....	40
4.6.1. Método DPPH	40
4.6.2. Método ABTS.....	41
4.7. Determinação da citotoxicidade via atividade hemolítica	42
4.8. Desenvolvimento de microemulsão.....	43

4.9. Caracterização físico-química da microemulsão	44
4.9.1. Determinação de pH	44
4.9.2. Determinação de Condutividade Elétrica	45
4.9.3. Centrifugação	45
4.9.4. Estabilidade Térmica	45
4.10. Caracterização morfológica das microemulsões (Tamanho de gotícula, índice de polidispersão e diâmetro hidrodinâmico)	46
4.11. Determinação da Atividade antibactericida	46
4.11.1. Preparo do inóculo	47
4.11.2. Ensaio in vitro	48
4.12. Determinação da Atividade antifúngica	48
4.12.1. Preparo do inóculo	48
4.12.2. Ensaio in vitro	48
4.13. Análise estatística	49
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
5.1. Rendimento e umidade	50
5.2. Análise Química do óleo	54
5.3. Atividade Antioxidante	63
5.4. Desenvolvimento do Diagrama Pseudo Ternário da ME	68
5.5. Citotoxicidade via atividade hemolítica	71
5.6. Caracterização físico-química de microemulsão	73
5.7. Análise da composição da microemulsão	75
5.8. Atividade Antimicrobiana	76
6. CONCLUSÃO	83
7. REFERÊNCIAS	85
ANEXOS	100

1. INTRODUÇÃO

O crescente avanço da resistência microbiana e a redução da eficácia de agentes antimicrobianos convencionais têm impulsionado o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas capazes de superar limitações farmacocinéticas e farmacodinâmicas dos tratamentos disponíveis, especialmente frente a espécies associadas a infecções de difícil manejo clínico (Howden et al., 2010; Reardon, 2020). Nesse contexto, a nanotecnologia tem se destacado como ferramenta estratégica para otimizar a ação de substâncias bioativas, uma vez que permite maior estabilidade, maior permeabilidade e liberação controlada de compostos com reconhecido potencial farmacológico (Venugopal et al., 2009; Nguyen et al., 2021).

Entre os sistemas nanotecnológicos, as microemulsões têm despertado crescente interesse devido à sua capacidade de incorporar componentes hidrofílicos e lipofílicos, formação espontânea, elevada estabilidade termodinâmica, fácil preparo e custo relativamente baixo, características que favorecem aplicações biomédicas, farmacêuticas e dermatológicas (Preto, 2016; Kanwar et al., 2021). Além disso, tais sistemas possibilitam redução da volatilidade, proteção contra degradação química e aumento da biodisponibilidade de substâncias bioativas, especialmente compostos naturais de origem vegetal, cuja ação terapêutica muitas vezes é limitada pela baixa solubilidade e instabilidade em meios convencionais (Yadav et al., 2016; Ahmadi-Sefat et al., 2022). Diante desse cenário, a incorporação de óleos essenciais em sistemas microemulsionados tem se apresentado como alternativa promissora para potencializar efeitos antimicrobianos, antifúngicos e anti-inflamatórios, constituindo uma abordagem relevante para o desenvolvimento de formulações tópicas inovadoras.

Nesse sentido, estudos recentes têm demonstrado que óleos essenciais ricos em compostos fenólicos apresentam significativa atividade antimicrobiana e são candidatos estratégicos à incorporação em microemulsões com finalidades terapêuticas (Nganteng et al., 2022). Assim, plantas medicinais e seus óleos essenciais, particularmente espécies pertencentes à família Lamiaceae, vêm sendo utilizados como fonte de moléculas ativas para aplicação em sistemas farmacêuticos inovadores, incluindo formulações antimicrobianas de uso tópico.

O gênero *Ocimum*, pertencente à família Lamiaceae, é composto por mais de 150 espécies, distribuídas por regiões tropicais e subtropicais da Ásia, África e Américas (Verma et al., 2013). Entre elas, destaca-se a *Ocimum gratissimum*, popularmente conhecida como alfavaca ou alfavaca-cravo (Passos; Carvalho; Wiest, 2009), cultivada devido ao óleo essencial presente em suas folhas e caules (Akinmoladun et al., 2007). O extrato e óleo essencial dessa planta são utilizados no tratamento de diversas condições, como infecções respiratórias, diarreia, doenças gastrointestinais, entre outras (Passos; Wiest, 2009; Akinmoladun et al., 2007). Além disso, seu óleo essencial possui propriedades analgésicas, antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes e inseticidas (Freire; Marques; Costa, 2006; Franco et al., 2007).

A espécie *Ocimum gratissimum* (alfavaca-cravo) está amplamente distribuída no Brasil, incluindo ocorrência confirmada nas regiões Norte (Acre, Amazonas, Roraima) e Nordeste (Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Piauí, Sergipe) (Reflora, 2024). Em especial, no Nordeste brasileiro, seu uso medicinal é amplamente difundido em comunidades locais, onde é empregada tradicionalmente no tratamento de diversas enfermidades (Fitoterapia Brasil, 2024).

Essa ampla distribuição, associada ao conhecimento popular sobre suas propriedades terapêuticas, reforça a relevância de estudos voltados à caracterização e ao aproveitamento científico dessa espécie no contexto regional. Assim, considerando que o estado do Maranhão integra sua área natural de ocorrência, torna-se pertinente o desenvolvimento de pesquisas voltadas ao estudo do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (OEOG) e à aplicação de tecnologias inovadoras, como sistemas microemulsionados, visando à obtenção de formulações mais estáveis e eficientes para uso farmacêutico (Scientia Amazônia, 2018).

O surgimento de micro-organismos multirresistentes, como o *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), uma bactéria *Staphylococcus aureus* que se tornou resistente à metilina, às penicilinas, às cefalosporinas e a outros antibióticos betalactâmicos, e a *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase (KPC), tem dificultado significativamente o tratamento de infecções, tornando necessária a busca por novas soluções terapêuticas (Silva, 2009; Howden et al., 2010). Nesse contexto, a nanotecnologia surge como uma aliada promissora ao aprimorar as propriedades dos óleos

essenciais, reduzindo sua volatilidade e aumentando sua estabilidade (Grill et al., 2009; Venugopal et al., 2009; Yadav et al., 2016). Em particular, as microemulsões destacam-se como veículos eficazes para a administração de fármacos, por possibilitarem maior permeabilidade, biodisponibilidade e estabilidade dos compostos bioativos (Silva et al., 2015).

O presente trabalho propõe um enfoque regionalizado, concentrando-se no estado do Maranhão, onde a espécie *Ocimum gratissimum* é amplamente encontrada, o que confere maior relevância ecológica e científica ao estudo. Pretende-se caracterizar o perfil químico do óleo essencial obtido de plantas coletadas no município de Axixá, comparando-o com dados provenientes de outras regiões do Brasil, a fim de identificar possíveis variações na composição em função de fatores como ambiente, momento de colheita e método de extração. A partir dessa caracterização, busca-se otimizar o aproveitamento do óleo essencial por meio do desenvolvimento de formulações inovadoras que superem limitações inerentes ao uso direto desses compostos naturais, como a baixa estabilidade e a volatilidade.

O OEOG apresenta comprovada atividade antimicrobiana e antifúngica atribuída principalmente à presença de fenóis monoterpênicos como carvacrol, timol e eugenol, moléculas capazes de desestabilizar membranas celulares microbianas, aumentar a permeabilidade, provocar extravasamento de conteúdo intracelular e desencadear morte celular (Prabhu et al., 2009; Sousa et al., 2020; Coulibaly et al., 2023). Estudos recentes demonstram eficácia significativa frente a *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e espécies do gênero *Candida*, sugerindo elevado potencial terapêutico do óleo para formulações tópicas antimicrobianas e aplicações clínicas em infecções resistentes e processos inflamatórios cutâneos (Nganteng et al., 2022; Ahmadi-Sefat et al., 2022; Granados et al., 2024).

A incorporação desse óleo em sistemas microemulsionados, portanto, representa um avanço relevante para ampliar sua estabilidade físico-química, reduzir efeitos citotóxicos associados ao uso direto e potencializar sua ação biológica, consolidando *Ocimum gratissimum* como uma fonte promissora para desenvolvimento de fitopreparações nanotecnológicas com finalidade farmacêutica e terapêutica.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Óleos Essenciais

Os óleos essenciais têm sido utilizados ao longo da história por suas propriedades terapêuticas, aromáticas e medicinais. São compostos naturais altamente concentrados, extraídos de plantas e valorizados por suas características multifuncionais, que vão desde o uso em aromaterapia até aplicações farmacêuticas e cosméticas (Malinowski, 2010). Conforme Bizzo e Rezende (2022), o mercado de óleos essenciais tem crescido significativamente na última década, refletindo um aumento na demanda por produtos naturais e sustentáveis.

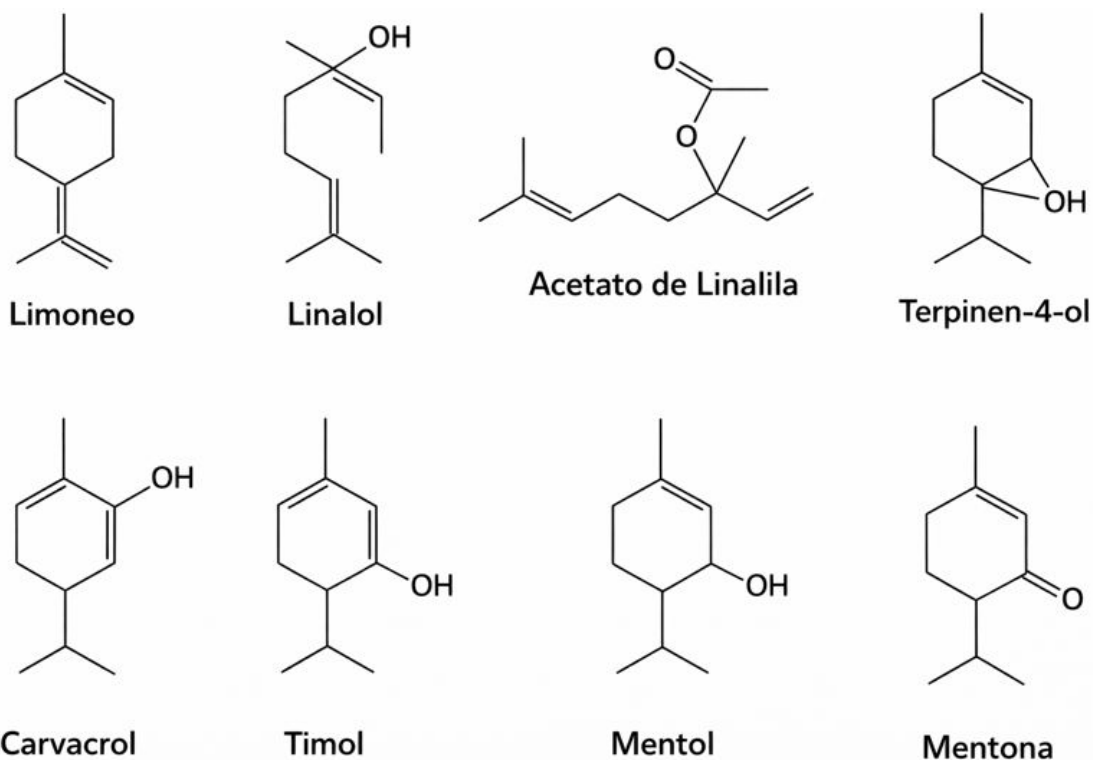
A definição de óleos essenciais abrange várias características intrínsecas a esses compostos. São substâncias voláteis extraídas de plantas aromáticas, geralmente por destilação ou prensagem a frio. Esses óleos contêm a essência da planta, capturando seus aromas característicos e suas propriedades químicas. A composição química dos óleos essenciais é complexa e inclui terpenos, álcoois, aldeídos, ésteres, cetonas e fenóis, entre outros compostos (Nascimento, 2020).

Os métodos de extração de óleos essenciais desempenham papel fundamental na obtenção de produtos com elevada qualidade físico-química e biológica. Entre os métodos disponíveis, a destilação por arraste a vapor destaca-se como a técnica mais amplamente empregada, consistindo na passagem de vapor de água através do material vegetal, promovendo a volatilização dos compostos aromáticos. Posteriormente, esses compostos são condensados e separados, originando o óleo essencial. Esse método apresenta ampla aplicação devido à sua eficiência na preservação de constituintes voláteis e termossensíveis, minimizando processos de degradação térmica e contribuindo para a manutenção das propriedades químicas e farmacológicas dos compostos extraídos (Dung et al., 2021). A prensagem a frio, por outro lado, é frequentemente usada para extrair óleos de frutas cítricas, como laranja e limão. Esse método envolve a compressão das cascas das frutas, liberando o óleo essencial sem a necessidade de calor, o que ajuda a manter suas propriedades naturais intactas (Al-Zahrani, 2021).

De Almeida e Gherardi (2020) destacam a extração com dióxido de carbono em estado supercrítico (CO₂ supercrítico) como um método moderno e eficiente para obtenção de óleos essenciais, permitindo elevada capacidade extrativa e menor degradação térmica dos compostos bioativos. A composição química desses óleos é responsável por suas propriedades biológicas e aromáticas, destacando-se os terpenos, especialmente monoterpenos e sesquiterpenos, frequentemente associados às atividades antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória e antifúngica. Compostos como limoneno, linalol, acetato de linalila, terpinen-4-ol, carvacrol, timol, mentol e mentona apresentam reconhecida relevância farmacológica e ampla ocorrência em espécies aromáticas. Dessa forma, os óleos essenciais possuem aplicações nas indústrias farmacêutica, cosmética, alimentícia e de fragrâncias, devido às suas propriedades antissépticas, bactericidas, antifúngicas e inseticidas (Graça et al., 2005).

A Figura 1 apresenta as estruturas químicas de alguns compostos bioativos frequentemente encontrados em óleos essenciais. Essas moléculas foram selecionadas devido à sua elevada ocorrência em espécies aromáticas e à relevância biológica descrita na literatura científica.

Figura 1. Estruturas de alguns compostos presentes nos óleos essenciais



Fonte: Elaborado pelo autor (2024).

Os óleos essenciais podem ser extraídos de diferentes partes de uma mesma planta e, apesar de possuírem aparência semelhante, como cor e textura, suas composições químicas, características físico-químicas e aromas podem variar. Mesmo quando obtido do mesmo órgão e da mesma espécie vegetal, a composição química do óleo essencial pode sofrer alterações significativas, influenciadas por fatores como a estação do ano, o período do dia, o estágio de desenvolvimento da planta, além das condições climáticas e do solo (Borges et al., 2012; Almeida e Gherardi, 2020).

O mercado de óleos essenciais tem se expandido globalmente, com um aumento na demanda por produtos naturais e alternativas aos produtos químicos sintéticos (Bizzo e Rezende, 2022). Esse crescimento é impulsionado pelo interesse crescente em aromaterapia, cuidados pessoais naturais e produtos farmacêuticos à base de plantas. No Brasil, o mercado de óleos essenciais também tem mostrado um crescimento significativo, refletindo a riqueza da biodiversidade do país e o potencial de desenvolvimento sustentável de novas fontes de óleos essenciais.

Os óleos essenciais extraídos de plantas medicinais apresentam ampla atividade fungicida e inseticida, constituindo alternativas promissoras aos agroquímicos convencionais. Entre suas principais vantagens destacam-se a menor toxicidade ambiental, a redução de impactos sobre organismos não alvo e a preservação do equilíbrio microbiológico, o que contribui para minimizar o desenvolvimento de microrganismos multirresistentes. Estudos evidenciam a eficácia desses compostos como fungicidas naturais, com expressiva capacidade de inibição do crescimento fúngico (Maia; Donato; Fraga, 2015; Palfi; Konjevoda; Vrandečić, 2019).

Além da atividade antimicrobiana, os óleos essenciais são amplamente utilizados na aromaterapia, atuando na promoção do bem-estar físico e emocional. A inalação desses compostos pode estimular o sistema límbico, associado às emoções e à memória, sendo óleos como lavanda e camomila reconhecidos por seus efeitos calmantes e pela redução do estresse e da ansiedade (Nascimento et al., 2020).

Os óleos essenciais também possuem aplicações relevantes na indústria cosmética e de cuidados pessoais, em função de suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Incorporados em produtos como cremes, loções, xampus e sabonetes, agregam benefícios terapêuticos além do apelo sensorial. O crescimento da demanda por cosméticos naturais

e sustentáveis tem impulsionado a inovação e o desenvolvimento de formulações à base desses compostos, alinhadas às tendências globais de consumo consciente e sustentabilidade (Amaefule, 2021).

2.2. *Ocimum gratissimum* (Alfavaca)

Ocimum gratissimum, popularmente conhecido como alfavaca, é uma planta aromática pertencente à família Lamiaceae, amplamente cultivada e utilizada em diversas regiões do mundo. A espécie destaca-se por suas múltiplas propriedades medicinais e pela ampla aplicação na medicina tradicional e contemporânea, especialmente devido ao potencial antimicrobiano, antioxidante e anti-inflamatório de seus metabólitos secundários (Akbar, 2020). A Figura 2 apresenta a espécie *Ocimum gratissimum*, evidenciando aspectos morfológicos gerais da planta e das folhas, estruturas vegetais diretamente relacionadas à produção e ao acúmulo de compostos bioativos presentes no óleo essencial.

Figura 2. a) Foto da espécie de *Ocimum gratissimum* e b) folha da planta.



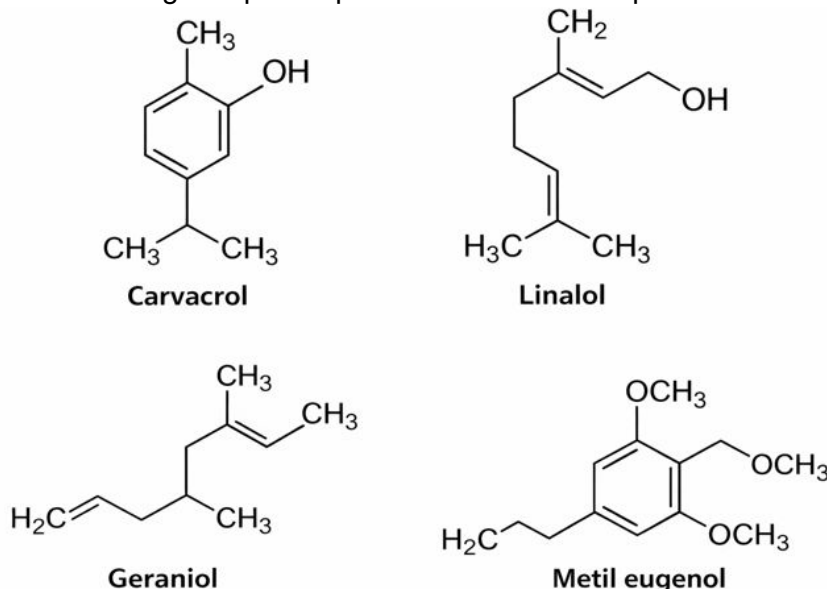
Fonte: Do próprio Autor.

A planta *Ocimum gratissimum*, originária do Sri Lanka, Índia, Irã, África e Madagascar, é amplamente naturalizada em diversas regiões do mundo devido à sua ampla adaptabilidade ecológica, que lhe permite prosperar tanto em climas tropicais

quentes e úmidos quanto em regiões subtropicais (Dung et al., 2021). No Brasil, é conhecida por nomes como "alfavaca", "manjerição-cravo", "alfavaca-branca" e "quiioô". A planta pode atingir alturas de 0,5 a 1,5 metros e apresenta crescimento mais lento em altitudes superiores a 1.000 metros. Suas folhas são opostas, inteiras, pecioladas e de cor verde, com margens dentadas. As flores são pequenas e agrupadas em inflorescências eretas, geralmente dispostas em tríades no ápice. O fruto é uma pequena semente esférica e preta (Cruz; Bezerra, 2017; Dung et al., 2021).

A planta apresenta aroma forte e característico, atribuído à elevada concentração de óleos essenciais presentes nas folhas e flores. A composição química do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (OEOG) pode variar conforme fatores ambientais e fisiológicos, como estação do ano, localização geográfica, estágio de desenvolvimento da planta e período de coleta, influenciando diretamente a concentração dos compostos bioativos e, conseqüentemente, suas propriedades biológicas (Benini et al., 2021; Akinmoladun et al., 2007; Smitha; Tripathy, 2016). Entre os principais quimiotipos descritos para a espécie destacam-se eugenol, timol e geraniol (Vianna, 2009), além de outros constituintes frequentemente relatados na literatura, como metil eugenol, linalol e carvacrol (Martins, 2006; Archana et al., 2022). Esses compostos estão associados a importantes atividades farmacológicas, especialmente antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias, conforme ilustrado na Figura 3.

Figura 3. Estruturas de alguns quimiotipos encontrados na espécie de *Ocimum gratissimum*



Fonte: Adaptado de Monteiro, 2019.

Estudos sobre a variabilidade química do óleo essencial, em relação aos fatores ambientais, podem fornecer informações valiosas sobre o polimorfismo químico da planta (Zouari et al., 2012). As propriedades farmacológicas de *Ocimum gratissimum* são amplamente reconhecidas e têm sido objeto de diversos estudos científicos. O óleo essencial extraído da planta é rico em compostos como eugenol, timol, carvacrol, geraniol e limoneno, que são responsáveis por suas atividades biológicas (Dung et al., 2021).

A atividade antimicrobiana do OEOG foi demonstrada em vários estudos, incluindo aquele realizado por Benini et al. (2021), que investigou o efeito do óleo essencial e do extrato aquoso da planta sobre fitopatógenos, revelando uma eficácia significativa na inibição do crescimento de diversas espécies de fungos e bactérias.

Além de suas propriedades antimicrobianas, *Ocimum gratissimum* também possui atividade antioxidante, como demonstrado por Orlanda e Bianca (2018). Os autores investigaram a atividade antioxidante e fotoprotetora do extrato etanólico da planta, destacando seu potencial para neutralizar radicais livres e proteger as células contra danos oxidativos. Esta propriedade antioxidante é atribuída à presença de compostos fenólicos e flavonoides na planta, que desempenham um papel crucial na proteção celular e na prevenção de doenças relacionadas ao estresse oxidativo.

A utilização tradicional de *Ocimum gratissimum* abrange uma ampla gama de aplicações medicinais e culinárias. Na medicina tradicional, a planta é utilizada para tratar uma variedade de condições, incluindo problemas respiratórios, infecções, dores de cabeça, distúrbios digestivos e inflamações (Kumar; Lal, 2021) As folhas frescas são frequentemente mastigadas ou preparadas em infusões para aliviar a tosse e outros sintomas respiratórios (Rodrigues; Andrade, 2014). Os extratos aquosos e alcoólicos da planta são utilizados topicamente para tratar feridas, picadas de insetos e infecções cutâneas, aproveitando suas propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias (Lisboa et al., 2020).

No contexto contemporâneo, *Ocimum gratissimum* continua a ser valorizado tanto na medicina quanto na indústria alimentícia e cosmética. Na medicina moderna, os extratos e o óleo essencial da planta são incorporados em formulações farmacêuticas para o tratamento de infecções, inflamações e outros distúrbios. A pesquisa de Santana et al. (2018) sobre a obtenção de óleo essencial de alfavaca em diferentes partes da planta

destaca a importância de identificar a melhor parte da planta para a extração, garantindo a máxima concentração de compostos ativos e, assim, a eficácia terapêutica dos produtos derivados.

Na indústria alimentícia, *Ocimum gratissimum* é utilizado como um condimento e conservante natural. Seu sabor pungente e aroma forte o tornam um ingrediente popular em várias cozinhas tradicionais, especialmente na culinária africana e asiática. Além disso, devido às suas propriedades antimicrobianas, o óleo essencial da planta é explorado como um conservante natural em alimentos, ajudando a prolongar a vida útil dos produtos sem a necessidade de aditivos químicos sintéticos (Nguefack et al., 2004).

Na cosmética, o OEOG é incorporado em produtos de cuidados com a pele e cabelos devido às suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anti-inflamatórias. Orlanda e Bianca (2018) destacam o potencial fotoprotetor do extrato etanólico da planta, sugerindo seu uso em formulações de protetores solares e produtos anti-envelhecimento. A capacidade de proteger a pele contra os danos causados pelos raios UV e de neutralizar os radicais livres posiciona *Ocimum gratissimum* como um ingrediente valioso na formulação de cosméticos naturais e sustentáveis.

2.3. Microemulsões

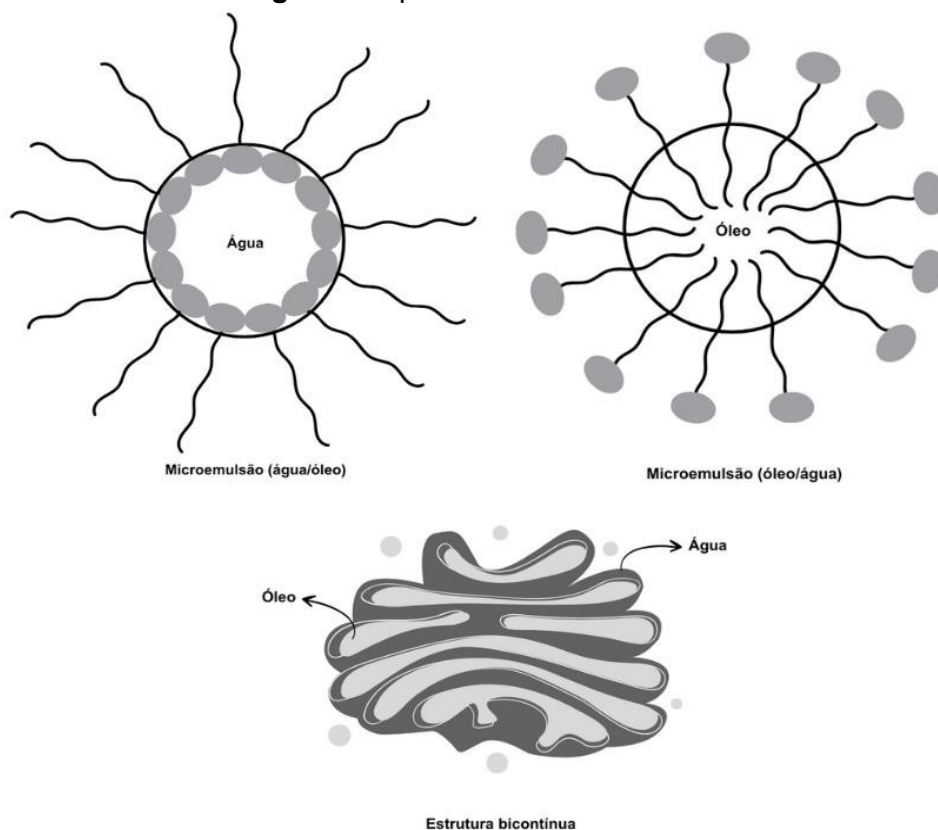
As microemulsões podem ser definidas como sistemas contendo óleo e água coexistindo em equilíbrio termodinâmico devido à presença de um filme de tensoativos (tensoativo e cotensoativo) na interface óleo-água (Pestana et al., 2009). Segundo Damasceno e colaboradores (2011), o termo microemulsão (ME) foi primeiramente utilizado por Hoar e Schulman, na qual, utilizaram para definir um sistema transparente obtido pela titulação de uma emulsão com um álcool de cadeia média.

As microemulsões são sistemas coloidais isotrópicos, transparentes e termodinamicamente estáveis, compostos por uma mistura de água, óleo, surfactantes e, ocasionalmente, co-surfactantes (Lawrence e Rees 2000). Esses sistemas são caracterizados pela formação de pequenas gotículas de uma fase dispersa dentro de uma fase contínua, com tamanhos típicos na faixa de 10 a 100 nanômetros. A definição e

classificação de microemulsões são fundamentais para entender suas propriedades físico-químicas e suas variadas aplicações em diferentes campos, incluindo farmacêutico, cosmético, alimentício e industrial.

As microemulsões podem ser classificadas em três tipos principais: óleo em água (O/A), água em óleo (A/O) e bicontínuas (Figura 4). As microemulsões do tipo O/A consistem em gotículas de óleo dispersas em uma fase contínua de água, enquanto as microemulsões A/O são formadas por gotículas de água dispersas em uma fase contínua de óleo. As microemulsões bicontínuas apresentam uma estrutura em que as fases de óleo e água se interpenetram, criando uma rede contínua de ambas as fases (Gonçalves, 2018). A escolha do tipo de microemulsão depende da natureza dos componentes utilizados e da aplicação desejada (Rambo et al., 2024).

Figura 4. Tipos de Microemulsões.



Fonte: Do próprio Autor, 2024.

As propriedades físico-químicas das microemulsões são determinadas por vários fatores, incluindo a composição dos surfactantes e co-surfactantes, a proporção entre as

fases aquosa e oleosa, e as condições ambientais como temperatura e pH. Os surfactantes desempenham um papel crucial na estabilização das microemulsões, reduzindo a tensão interfacial entre as fases e facilitando a formação de gotículas estáveis (Ansel, Allen, Popovich, 2013). Uma das ferramentas mais utilizadas para a obtenção de microemulsões (óleo/água/tensoativo) é o Diagrama de Fases Pseudoternário (DFTP), que apresenta uma representação gráfica composta pelas fases que formam um ME: fase aquosa, fase oleosa e tensoativo/cotensoativo. Sua principal função é caracterizar o domínio da região microemulsionada do sistema em estudo, possibilitando a identificação das proporções mais adequadas entre seus componentes. Entre as principais vantagens dessa abordagem destaca-se a seleção de regiões com propriedades físico-químicas mais apropriadas, como viscosidade, estabilidade e homogeneidade, de acordo com a finalidade da formulação desenvolvida (Damasceno et al., 2011).

A estabilidade termodinâmica das microemulsões é uma de suas principais vantagens, permitindo que esses sistemas se formem espontaneamente e permaneçam estáveis ao longo do tempo sem a necessidade de energia adicional. Isso contrasta com as emulsões convencionais, que são cineticamente estáveis e requerem agentes emulsionantes e energia mecânica para se formar e manter a estabilidade. Além disso, as microemulsões apresentam alta capacidade de solubilização para substâncias lipofílicas e hidrofílicas, devido à sua estrutura de gotículas nanométricas, o que as torna ideais para a incorporação de ativos farmacêuticos, cosméticos e nutracêuticos (Oliveira, et al., 2006).

Outra vantagem significativa das microemulsões é sua transparência e baixa viscosidade, características que facilitam a aplicação tópica e a administração oral de formulações farmacêuticas e cosméticas (Damasceno et al., 2011). A transparência das microemulsões é um indicativo de sua estrutura de partículas nanométricas e sua homogeneidade a nível molecular. Além disso, a baixa viscosidade dessas formulações permite uma aplicação suave e uniforme na pele ou em outras superfícies biológicas (Faria, et al., 2012).

As microemulsões são sistemas coloidais versáteis com uma ampla gama de aplicações devido às suas propriedades únicas de solubilização, estabilidade termodinâmica e baixa viscosidade. Sua definição e classificação em tipos específicos ajudam a orientar seu desenvolvimento e aplicação em diferentes indústrias. As

propriedades físico-químicas das microemulsões, influenciadas pela escolha de surfactantes e co-surfactantes, determinam sua funcionalidade e eficácia. As vantagens das microemulsões incluem alta capacidade de solubilização, estabilidade e transparência, enquanto as desvantagens envolvem desafios na formulação e possíveis efeitos adversos dos surfactantes.

2.4. Tensoativos e cotensoativos

Os tensoativos e cotensoativos constituem componentes fundamentais no desenvolvimento de emulsões, microemulsões e nanoemulsões contendo óleos essenciais, uma vez que são responsáveis pela redução da tensão interfacial entre fases imiscíveis, pela estabilização de dispersões finas e pela modulação da interação entre os constituintes lipofílicos do óleo e o meio aquoso. O caráter anfifílico dessas moléculas permite a orientação da fração hidrofóbica em direção à fase oleosa e do segmento hidrofílico em direção à fase aquosa, reduzindo a energia superficial e permitindo a formação de gotículas estáveis em escala micro ou nanométrica. A eficiência dessa estabilização está relacionada ao equilíbrio hidrofílico-lipofílico (HLB), à capacidade de adsorção interfacial, à flexibilidade do filme interfacial e à sinergia estabelecida entre tensoativo e cotensoativo quando utilizados em conjunto. Dessa maneira, os tensoativos e cotensoativos exercem papel estruturante em sistemas coloidais, influenciando não apenas a estabilidade físico-química e a cinética de liberação dos ativos, mas também o perfil biológico e a segurança farmacológica dos óleos essenciais incorporados (Otzen, 2017; Podsiedlik et al., 2020).

Nas microemulsões, a atuação dos tensoativos é potencializada pela presença de cotensoativos, que reduzem a rigidez do filme interfacial, ampliam a flexibilidade de curvatura e induzem a formação espontânea de nanoestruturas termodinamicamente estáveis. A elevada concentração de tensoativo, associada ao uso de cotensoativos de baixa massa molar como álcool etílico ou propilenoglicol, resulta em sistemas de equilíbrio dinâmico entre micelas reversas, gotas óleo-em-água e estruturas intermediárias com elevada entropia, permitindo a dispersão de moléculas altamente hidrofóbicas por longos períodos sem separação de fases (Yanlishieva et al., 1999). Entre os tensoativos empregados em microemulsões, os polissorbatos, especialmente o Tween 80, recebem

destaque devido ao elevado HLB e à capacidade de estabilizar sistemas óleo-em-água mesmo na presença de compostos de alta hidrofobicidade. O propilenoglicol, frequentemente utilizado como cotensoativo, intensifica esse processo por meio da redução da tensão interfacial residual e do aumento do volume micelar, expandindo as regiões monofásicas nos diagramas pseudoternários (Otzen, 2017). O tensoativo Tween 80 e o cotensoativo propilenoglicol apresentam interação sinérgica particularmente relevante na formulação de microemulsões, uma vez que o primeiro oferece forte estabilização estérica por meio da formação de filmes interfaciais flexíveis, enquanto o segundo modula a curvatura interfacial e aumenta a solubilização da fase oleosa. Essa combinação permite a formação de gotas menores, maior estabilidade físico-química, maior transparência, melhor liberação controlada e redução do potencial citotóxico associado ao contato direto do óleo com membranas celulares (Podsiedlik et al., 2020; Granados et al., 2024). Assim, Tween 80 e propilenoglicol constituem uma dupla tecnológica capaz de ajustar simultaneamente as propriedades físico-químicas e farmacológicas dos sistemas nanodispersos.

Tabela 1. Principais tensoativos e cotensoativos empregados em formulações nanoestruturadas contendo óleo essencial de *Ocimum gratissimum*.

Composto (Classe)	Tipo	HLB aproximado / Polaridade	Principais propriedades
Tween 80 (Polissorbato 80)	Tensoativo não iônico	HLB ≈ 15 (altamente hidrofílico)	Reduz fortemente a tensão interfacial; forma filmes interfaciais flexíveis; alta biocompatibilidade
Tween 20 (Polissorbato 20)	Tensoativo não iônico	HLB ≈ 16,7	Estabilização O/A; forma gotículas pequenas; boa transparência
Span 80	Tensoativo não iônico	HLB ≈ 4,3 (lipofílico)	Auxilia na formação A/O; aumenta a flexibilidade interfacial
Span 20	Tensoativo não iônico	HLB ≈ 8,6	Estabiliza sistemas mais oleosos; reduz cristalização
SDS (Dodecil sulfato de sódio)	Tensoativo aniônico	Caráter hidrofílico elevado	Produz forte repulsão eletrostática entre gotículas
Propilenoglicol (PG)	Cotensoativo	Polar (hidrossolúvel)	Reduz rigidez da interface, aumenta entropia e solubilização do óleo
Etanol	Cotensoativo	Polar (hidrossolúvel)	Diminui tensão interfacial residual; facilita formação espontânea
Glicerina	Cotensoativo / umectante	Polar (hidrossolúvel)	Eleva a hidratação e modula viscosidade
PEG 400	Cotensoativo	Polar (hidrossolúvel)	Expande o volume micelar e reduz coalescência

Fonte: Do próprio Autor, 2025.

A aplicação dessa estratégia torna-se particularmente evidente em formulações contendo o óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (OEOG), cuja elevada hidrofobicidade e forte afinidade pela bicamada fosfolipídica celular conferem alto potencial farmacológico, mas também risco de citotoxicidade quando utilizado de forma não veiculada. A incorporação do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (OEOG) em microemulsões estabilizadas com Tween 80 e propilenoglicol promove redução significativa do tamanho das gotículas, além de favorecer a preservação de compostos fenólicos, como carvacrol, timol e eugenol. Essa estratégia contribui para o aumento das atividades antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória, bem como para a redução dos efeitos citotóxicos, incluindo hemólise e perturbações mitocondriais observadas no óleo essencial isolado (Podsiedlik et al., 2020).

A presença do tensoativo ao redor da gotícula de óleo atua como barreira protetora, impedindo que a fração lipofílica exerça ação lesiva direta sobre membranas celulares, o que resulta em melhoria substancial da relação eficácia-segurança. De acordo com dados recentes, microemulsões contendo OEOG e estabilizadas pela combinação Tween 80-propilenoglicol apresentam perfil biológico superior à emulsão convencional e ao óleo isolado, demonstrando que o desempenho farmacológico do OEOG depende diretamente da tecnologia de formulação e da modulação interfacial proporcionada pelos tensoativos (Granados et al., 2024).

Em síntese, a literatura evidencia que os tensoativos e cotensoativos não apenas viabilizam a incorporação de óleos essenciais em sistemas aquosos, mas também modulam profundamente seus efeitos biológicos. No caso do OEOG, a aplicação em microemulsões contendo Tween 80 e propilenoglicol redefine sua biodisponibilidade, seu potencial terapêutico e sua segurança farmacológica, consolidando essa combinação como uma das abordagens mais eficientes para o desenvolvimento racional de produtos farmacêuticos e dermocosméticos baseados em OEOG.

2.5. Atividade Antimicrobiana

A atividade antimicrobiana é um campo de estudo fundamental na ciência, com implicações significativas para a medicina, a segurança alimentar e o desenvolvimento de

produtos naturais com propriedades terapêuticas (Reis et al., 2020). Este tema engloba os mecanismos de ação dos antimicrobianos, os métodos de avaliação dessa atividade e a importância de se explorar a atividade antimicrobiana em produtos naturais (De Haro Moreno et al., 2018).

Os mecanismos de ação dos antimicrobianos variam conforme o tipo de microrganismo alvo e a classe do composto antimicrobiano, podendo atuar em diferentes pontos críticos da célula bacteriana (Reis et al., 2020). Alguns mecanismos comuns incluem a inibição da síntese da parede celular, a interferência na síntese de proteínas, a inibição da replicação do DNA e a alteração da permeabilidade da membrana celular.

A inibição da síntese da parede celular, exemplificada pelos antibióticos beta-lactâmicos, como a penicilina, é um dos mecanismos mais conhecidos, pois esses compostos interferem na formação das ligações peptídicas que reforçam a parede celular bacteriana, resultando em uma parede defeituosa e, eventualmente, na lise celular (Prakash et al., 2012). Outro mecanismo significativo é a inibição da síntese de proteínas, onde os antibióticos, como as tetraciclinas e os aminoglicosídeos, se ligam aos ribossomos bacterianos e interrompem a tradução do RNA mensageiro em proteínas, essenciais para a sobrevivência e multiplicação das bactérias (Reis et al., 2020).

Para avaliar a atividade antimicrobiana de compostos, especialmente em estudos de novos antimicrobianos naturais, são utilizados vários testes laboratoriais. Entre os métodos mais comuns estão os testes de difusão em ágar e a determinação da concentração mínima inibitória (CIM) (Ribeiro-Santos et al., 2017).

O teste de difusão em ágar, também conhecido como método de Kirby-Bauer, é amplamente utilizado devido à sua simplicidade e eficácia, no qual discos de papel impregnados com o antimicrobiano são colocados sobre uma placa de ágar inoculada com a bactéria alvo (De Haro Moreno et al., 2018). Após a incubação, o diâmetro das zonas de inibição ao redor dos discos é medido, o que indica a eficácia do antimicrobiano contra a bactéria específica, tornando este método especialmente útil para uma avaliação inicial da atividade antimicrobiana (Reis et al., 2020).

A determinação da CIM é um método quantitativo que identifica a menor concentração de um antimicrobiano capaz de inibir visivelmente o crescimento de uma bactéria (Ribeiro-Santos et al., 2017). Realizado em microplacas de 96 poços, o teste de

determinação da MIC avalia diferentes concentrações do antimicrobiano contra a bactéria em questão. Após a incubação, a menor concentração que impede o crescimento bacteriano é registrada como a CIM, sendo este método considerado mais preciso e fornecendo informações detalhadas sobre a potência do antimicrobiano (REIS et al., 2020)

Diversos estudos têm investigado a eficácia de microemulsões contendo óleos essenciais como agentes antimicrobianos. Por exemplo, Castilho et al. (2021) avaliaram a estabilidade e a atividade antimicrobiana de uma microemulsão de óleo de girassol associada ao óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*). Os resultados mostraram que a microemulsão com 75% de óleo essencial de melaleuca foi eficaz na inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus*, mas não apresentou ação contra *Pseudomonas aeruginosa*. Este estudo destaca o potencial terapêutico do óleo essencial de melaleuca quando incorporado em sistemas microemulsionados para uso tópico.

Kaur et al. (2016) desenvolveram microemulsões contendo óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* para avaliar sua atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Os resultados indicaram que a microemulsão aumentou a eficácia antimicrobiana em comparação ao óleo essencial puro, demonstrando a relevância da formulação na melhoria da biodisponibilidade e penetração dos compostos. Outro estudo de Shafiq et al., (2017) investigou o potencial antimicrobiano de microemulsões preparadas com óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) contra cepas resistentes de *Pseudomonas aeruginosa*. As microemulsões mostraram uma potente atividade bactericida, superior à do óleo essencial isolado, o que sugere que a nanoestrutura da microemulsão favorece a interação dos compostos com a membrana bacteriana, aumentando a eficácia.

Estudos recentes de Nazzaro e colaboradores (2019), investigaram microemulsões à base de OEOG para aplicações antimicrobianas. Os autores desenvolveram uma microemulsão contendo óleo essencial dessa planta, conhecida popularmente como manjerição-de-folha-larga, para testar sua eficácia contra cepas bacterianas como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Os resultados demonstraram que a microemulsão apresentou uma atividade antimicrobiana significativamente maior do que o óleo essencial isolado, sugerindo que a formulação nanoestruturada melhora a penetração celular e a ação bactericida. Azevedo e colaboradores (2020) explorou a atividade

antifúngica de microemulsões de OEOG contra cepas de *Candida albicans*. Os pesquisadores observaram que a microemulsão foi altamente eficaz em inibir o crescimento do fungo, superando a ação do óleo essencial em sua forma livre, e destacaram a importância das microemulsões na estabilização e no controle da liberação do óleo essencial.

2.6. Atividade antioxidante e atividade citotóxica do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*

Os óleos essenciais constituem uma fonte relevante de metabólitos bioativos com reconhecida capacidade de modular processos redox e de interagir com biomembranas, o que confere a esses compostos um perfil farmacológico dual que contempla efeitos protetores e citotóxicos em diferentes sistemas biológicos. A intensidade dessas respostas depende de variáveis como composição química, concentração, tempo de exposição e susceptibilidade do tecido ou linhagem celular exposta. Entre as espécies de interesse farmacológico, destaca-se o OEOG, cuja constituição rica em fenóis monoterpênicos, principalmente carvacrol, timol e eugenol, está diretamente relacionada às suas propriedades antioxidantes e à capacidade de modular a viabilidade celular (Prabhu et al., 2009; Coulibaly et al., 2023).

O estresse oxidativo representa um desequilíbrio entre a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e os mecanismos endógenos de defesa antioxidante, resultando em danos a lipídios, proteínas e ácidos nucleicos. Nesse contexto, substâncias capazes de neutralizar radicais livres por meio de doação de elétrons ou átomos de hidrogênio exercem papel fundamental na manutenção da integridade celular. No OEOG, o processo antioxidante está associado à presença de grupos hidroxila fenólicos ligados a anéis aromáticos, que promovem estabilização eletrônica do radical formado após a neutralização da espécie reativa, fenômeno sustentado por deslocalização eletrônica (Yanlishieva et al., 1999; Chen et al., 2023).

A elevada atividade observada nos ensaios de sequestro de radicais livres, como DPPH e ABTS, está relacionada à alta concentração de compostos fenólicos presentes no óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (OEOG), os quais apresentam reconhecida

capacidade antioxidante, especialmente em maiores concentrações (Vasconcelos et al., 2021). Entretanto, a composição química desses constituintes pode sofrer variações em decorrência de fatores ambientais, sazonais e fisiológicos, resultando em diferenças no perfil antioxidante entre amostras. Nesse contexto, a literatura descreve alterações significativas associadas à sazonalidade e aos diferentes quimiotipos da espécie, influenciando a proporção relativa de compostos como carvacrol, timol e eugenol e, conseqüentemente, o potencial antioxidante do óleo essencial (Joshi et al., 2021; Coulibaly et al., 2023).

Do ponto de vista mecanístico, o processo antioxidante do OEOG pode ser descrito como uma interação direta entre o radical livre e a molécula fenólica, na qual ocorre transferência de hidrogênio e conseqüente conversão da espécie reativa em uma molécula estável. O radical fenóxico formado é estabilizado por ressonância e apresenta reatividade substancialmente inferior, interrompendo a propagação da peroxidação lipídica e reduzindo danos estruturais às membranas celulares (Yanlishieva et al., 1999; Chen et al., 2023). Esse mecanismo é particularmente relevante em sistemas biológicos e formulações lipídicas, nos quais a preservação da barreira de membrana desempenha função crítica.

A citotoxicidade associada ao OEOG, por sua vez, decorre predominantemente da natureza lipofílica de seus constituintes, que apresentam elevada afinidade pela bicamada fosfolipídica. A inserção desses compostos no interior da membrana promove aumento da fluidez e da permeabilidade, com posterior desorganização estrutural, perda do gradiente transmembrana e extravasamento de conteúdo intracelular. Estudos demonstram que esse processo pode desencadear morte celular via necrose ou apoptose, de acordo com a intensidade do dano e o perfil metabólico da célula exposta (Otzen, 2017; Podsiedlik et al., 2020). Modelos hemolíticos mostram-se particularmente sensíveis para avaliação dessa resposta, uma vez que o grau de liberação de hemoglobina constitui marcador direto de ruptura de membrana (Dubey et al., 1997).

A literatura também evidencia respostas seletivas do OEOG em células tumorais, indicando que os constituintes fenólicos podem induzir aumento de ROS intrínsecos e perturbações mitocondriais capazes de desencadear apoptose, o que sugere potencial aplicação antineoplásica (Nganteng et al., 2022). Essa seletividade reforça a natureza dose-dependente do perfil farmacológico: concentrações moderadas exercem atividade

antioxidante e moduladora do estresse celular, enquanto concentrações elevadas promovem citotoxicidade exacerbada.

O avanço de sistemas nanoestruturados, como nanoemulsões e microemulsões, tem demonstrado capacidade de ajustar a razão eficácia-segurança do OEOG, aumentando a atividade antioxidante e reduzindo a toxicidade hemolítica. Estudos recentes mostram que a nanoestruturação protege os constituintes voláteis, melhora a biodisponibilidade e restringe a interação direta do óleo com membranas celulares, resultando em maior estabilidade bioquímica e menor agressão celular (Granados et al., 2024).

A análise integrada dos mecanismos antioxidante e citotóxico permite concluir que ambos derivam da mesma característica química central: a elevada reatividade dos compostos fenólicos e monoterpênicos do OEOG com radicais e membranas. O potencial terapêutico do óleo não depende da eliminação de um dos efeitos, mas do controle de dose, tipo de tecido alvo e tecnologia de liberação, garantindo que o balanço entre defesa antioxidante e agressão estrutural favoreça a segurança farmacológica.

2.7. Atividade biológica dos componentes majoritários do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*

O gênero *Ocimum*, amplamente reconhecido por suas propriedades aromáticas, contém uma diversidade de compostos químicos com alto valor comercial. As plantas desse grupo produzem óleos essenciais ricos em substâncias como ácidos fenólicos, linalol, geraniol, eugenol, timol e 1,8-cineol. Esses componentes são conhecidos por suas várias atividades farmacológicas, incluindo ações bactericidas, antifúngicas, antiparasitárias, antioxidantes e até mesmo como repelentes de insetos (VENANCIO, 2006).

A composição química do OEOG varia de acordo com o quimiotipo, podendo ser classificada como eugenol, timol ou geraniol (VIANNA, 2009), embora a literatura também mencione elevados níveis de metil eugenol, linalol e 1,8-cineol (MARTINS, 2006). Fernandes (2013) destaca a eficácia comprovada do eugenol presente em *Ocimum gratissimum* contra patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli*. Além disso, Franco et al. (2007) relatam a potente atividade antifúngica do

óleo essencial da planta contra dermatófitos, comparável ao cetoconazol, além de sua capacidade de inibir fitopatógenos como *Botryosphaeria rhodina* e *Penicillium chrysogenum*.

Marcolina (2021), investigou a extração e a atividade antimicrobiana de óleos essenciais, incluindo o de *Ocimum gratissimum*. Os compostos como eugenol, γ -terpineno, carvacrol, timol e p-cimeno mostraram eficácia contra várias bactérias e fungos, destacando-se pela capacidade de inibir o crescimento microbiano.

Monteiro (2015), avaliou a atividade antimicrobiana de 20 óleos essenciais, incluindo o de *Ocimum gratissimum*, contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, além de leveduras do gênero *Candida*. Os compostos voláteis como terpenos e fenóis foram eficazes como antimicrobianos. Já Araújo e Longo (2016), destacaram a importância das interações entre compostos de baixa concentração, como p-cimeno e γ -terpineno, que aumentam a ação antimicrobiana de compostos majoritários como carvacrol e timol. O p-cimeno, isoladamente, não tem efeito antibacteriano significativo, mas potencializa a ação de outros compostos.

Koba et al. (2009) identificaram um elevado potencial antifúngico OEOG, com os principais constituintes sendo timol, p-cimeno e γ -terpineno, eficazes contra 17 cepas fúngicas. De forma semelhante, Dubey et al. (2000) já haviam demonstrado que o óleo essencial rico em timol apresentava alta atividade contra fungos como *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *C. neoformans*, *C. albicans* e *Malassezia pachydermatis*. Além disso, Freire, Marques e Costa (2006) destacam a atividade sedativa do OEOG de quimiotipo timol.

3. OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar microemulsão contendo óleo essencial das folhas de *Ocimum gratissimum* para avaliar a atividade antioxidante, citotóxica e antimicrobiana.

3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

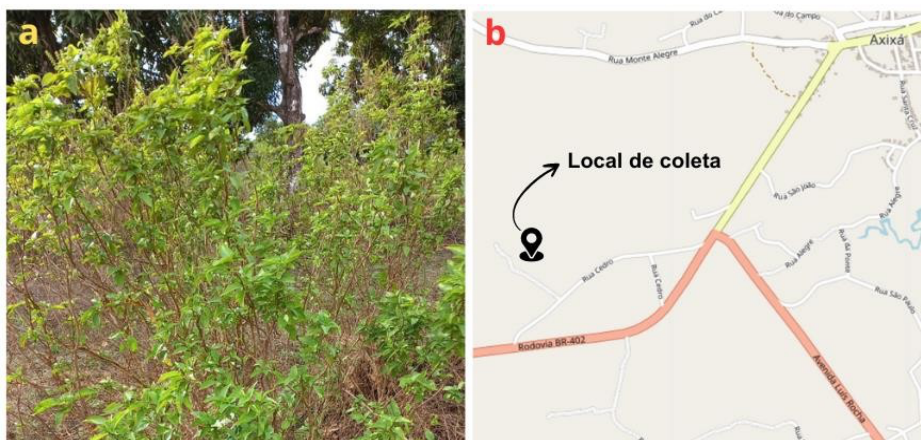
- Extrair o óleo essencial das folhas de *Ocimum gratissimum*;
- Identificar os constituintes voláteis presentes no óleo essencial de *Ocimum gratissimum* por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CGAR-EM);
- Realizar o estudo circadiano e sazonal do óleo essencial;
- Avaliar o potencial antioxidante e citotoxicidade via hemólise;
- Preparar uma microemulsão contendo o óleo essencial de *Ocimum gratissimum*;
- Construir o diagrama de fase para avaliar a dispersão das microemulsões;
- Realizar o estudo de estabilidade a curto e longo prazo do sistema emulsionado, através do pH, densidade e estabilidade térmica;
- Caracterizar a microemulsão por condutividade elétrica, tamanho da gota (diâmetro médio z), o índice de polidispersão (PDI) e potencial zeta pela técnica do Espalhamento de luz dinâmico (DLS);
- Avaliar a atividade antibacteriana frente as cepas de bactérias gram-positivas *Staphylococcus aureus* (25923), *Staphylococcus epidermidis* (25924), *Enterococcus faecalis* (51299) e as cepas gram-negativas *Escherichia coli* (25922), *Klebsiella pneumoniae* (700603) e *Pseudomonas aeruginosa* (50229);
- Avaliar a atividade antifúngica frente as cepas de fungos *Candida Albicans* ATCC 14053 e *Candida parapsilosis* ATCC 22014;

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1. Área da pesquisa, Coleta e Dados Climáticos

O material vegetal de *Ocimum gratissimum* (Figura 5a) foi coletado em Axixá, Maranhão, Brasil, no Povoado de Santa Rosa (Figura 5b) ($02^{\circ}50'58,9''S$; $44^{\circ}04'58,7''W$) e posteriormente cultivada no setor do horto do Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas – CCET (Figura 6a). A identificação botânica da planta está catalogada no Herbário MAR, São Luís, Maranhão, Brasil, com o número de registro SLUI005150. Foram coletadas 50 mudas do material vegetal, para o plantio na UFMA, campus São Luís. As folhas foram coletadas de plantas adultas de forma aleatória, preferencialmente das partes aéreas da planta e sem quaisquer indícios de lesões de herbívoros ou infecções por micro-organismos.

Figura 5. a) Exemplos e folha da espécie de estudo, *Ocimum gratissimum* e b) local de coleta.



Fonte: Do próprio Autor, 2023.

Um total de 22 amostras foi coletado entre agosto de 2022 e julho de 2023, contemplando 12 amostras referentes às coletas mensais do estudo sazonal, realizadas nos dias 23 de cada mês, às 09h00. Para o estudo circadiano, o material vegetal foi coletado em dois períodos distintos: março de 2022, correspondente ao período chuvoso, e outubro de 2022, referente ao período seco, com coletas realizadas nos horários de 06h00, 09h00, 12h00, 15h00 e 18h00.

4.2. Extração do óleo essencial

As folhas frescas de *Ocimum gratissimum* foram secas em temperatura ambiente (sala climatizada) durante 72 horas, posteriormente o material seco foi misturado com aproximadamente 2 L de água destilada e submetido à hidrodestilação em um aparelho do tipo Clevenger durante 2 horas e 30 minutos para produzir um óleo amarelado (FABROWSKI, 2022). O óleo foi seco com sulfato de sódio anidro P.A (Na₂SO₄) e centrifugado por período de 05 minutos e armazenados em ampolas de vidro âmbar e conservados em ambiente refrigerado (5 à 10°C). Para o estudo circadiano, as extrações se deram com as amostras frescas (*in natura*), logo após a coleta.

4.3. Determinação da umidade e cálculo de rendimento do óleo essencial

A porcentagem de umidade das amostras foi obtida através de analisador de umidade IV 2500 – GEHAK por infravermelho. Foi pesado 2,0 g da do material vegetal (seco) e levado ao analisador de umidade a uma temperatura de 115°C por 30 minutos com taxa de secagem de 0,01%/min.

O rendimento, calculado com base no peso seco do material vegetal (Lima et al., 2022), foi determinado em percentual através da Equação 1, para o óleo essencial extraído da biomassa vegetal.

$$\% \text{ rendimento do óleo} = \frac{V_{oe}(mL)}{ms(g) - \left(\frac{ms(g) \times \text{umidade}}{100}\right)} \quad (\text{equação 1})$$

Onde:

V_{oe} = Volume obtido de óleo essencial

ms = massa do material seco

4.4. Determinação da densidade do óleo essencial

Para o cálculo da densidade, utilizou-se um picnômetro de 1,0 mL, previamente seco, tarado e aferido, onde foram adicionadas e pesadas as amostras do óleo essencial a 25°C. A densidade foi calculada empregando-se a seguinte equação 2:

$$densidade = \frac{m (g)}{V (mL)}$$

Onde:

m = massa do picnômetro contendo o óleo essencial menos a massa do picnômetro vazio;

V = volume do picnômetro (1 mL).

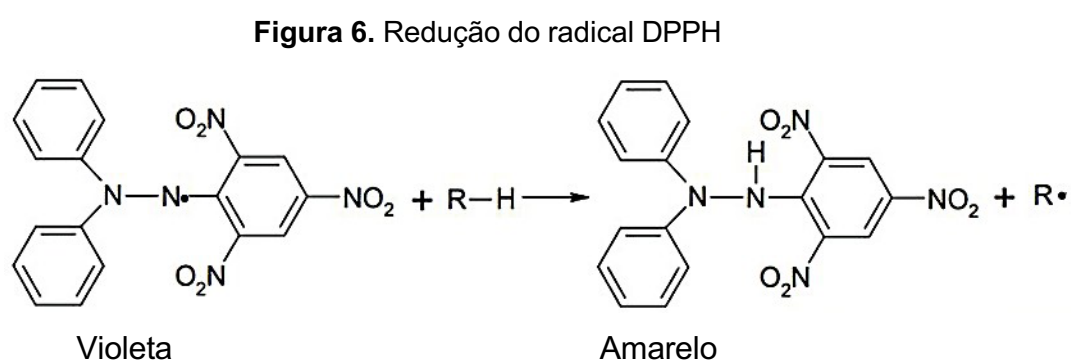
4.5. Análise da composição do óleo

A análise do óleo foi realizada em um Cromatógrafo Gasoso Shimadzu (GC- 2010) acoplado a um Espectrômetro de Massas (GCMS-QP2010 Plus). Uma coluna capilar DB-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) foi usada com fluxo de gás de arraste hélio a uma velocidade linear de 39,5 cm/s (1,0 mL/min). A configuração do forno foi de 40 a 240 °C (10 °C/min). A temperatura do injetor e a fonte de íons foram de 250 °C e 200 °C, respectivamente. Os índices de retenção foram calculados para todos os componentes voláteis usando uma série homóloga de n-alcanos C8-C20 (Sigma- Aldrich, St. Louis, Missouri, EUA), de acordo com a equação linear de Van den Dool e Kratz (1963). Os componentes dos óleos foram identificados comparando seus índices de retenção e espectros de massa (massa molecular e fragmentação padrão) com dados armazenados nas bibliotecas Adams (2007) e NIST (Lias et al., 2022). Para a análise da microemulsão pelo método headspace, foram utilizadas as seguintes condições cromatográficas: volume de amostra de 500 µL; Seringa: 2,5 mL – SH; Temperatura de incubação: 85 °C; Tempo de incubação: 5 minutos; Velocidade de agitação: 250 rpm; Velocidade de enchimento: 100 µL/s.

4.6. Determinação da capacidade antioxidante

4.6.1. Método DPPH

O radical DPPH é relativamente estável à temperatura ambiente. Quando um composto apresenta propriedades antioxidantes, ele previne a oxidação de outro composto, oxidando-se em seu lugar e atuando assim como um agente redutor potente. No experimento descrito, o composto antioxidante reduz o DPPH por meio da doação de um elétron ou um átomo de hidrogênio, conforme mostrado na Figura 6.



Fonte: Do próprio Autor, 2023.

A redução do DPPH é evidenciada por uma mudança de cor, que vai de violeta intenso a amarelo claro. Essa alteração de coloração resulta em uma mudança na absorvância, que pode ser quantificada por um espectrofotômetro de UV-visível.

Para os ensaios com óleos essenciais, foi preparada uma solução estoque de 0,5 mM do radical DPPH (2,2-difenil-2-picril-hidrazila) em etanol. Essa solução foi então diluída para aproximadamente 60 μ M, apresentando uma absorvância de $0,62 \pm 0,02$ ($\lambda = 517$ nm) à temperatura ambiente.

A atividade de sequestro de radicais foi expressa em miligramas de equivalente trolox (um antioxidante padrão) por grama de óleo. Os cálculos foram realizados para os óleos essenciais com composições químicas mais distintas, e todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Para a construção da curva de trolox, a mistura reacional foi composta de 900 µL de tampão Tris-HCl 100 mM (pH = 7,4), 40 µL de etanol, 50 µL de uma solução de Tween 20 a 0,5% (m/m), 10 µL de trolox diluído em diferentes concentrações de etanol (1,25; 1,00; 0,75; 0,50; 0,375; 0,25 mg/mL), determinadas a partir de testes anteriores, e 1 mL de DPPH 60 µM em etanol. A mistura foi agitada vigorosamente e mantida em ambiente escuro. A absorbância foi medida no início da reação (tempo zero), a cada 5 minutos durante os primeiros 20 minutos e, posteriormente, em intervalos de 10 minutos até a absorbância se estabilizar.

A porcentagem de inibição (IDPPH %) foi calculada através da expressão:

$$I_{DPPH} \% = \left[1 - \left(\frac{Abs_A}{Abs_b} \right) \right] \times 100$$

Onde:

AbsA e AbsB são as absorbâncias da amostra e do controle negativo (branco) no término da reação, respectivamente.

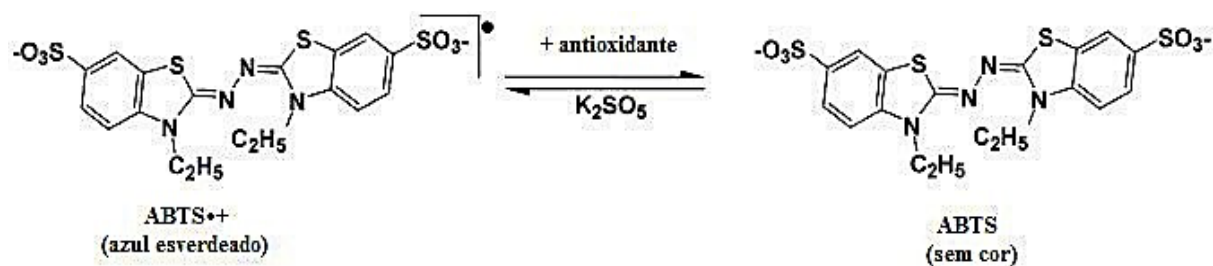
4.6.2. Método ABTS

A atividade antioxidante pelo método ABTS [ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)] foi feita conforme a metodologia descrita pela EMBRAPA (2007). O radical ABTS foi formado pela reação da solução ABTS 7mM com a solução de persulfato de potássio 140 mM, incubados à temperatura de 25 °C e no escuro, durante 12-16h. Uma vez formado, o radical foi diluído com etanol P.A. até a obtenção do valor de absorbância de $0,700 \pm 0,020$ a 734 nm. A partir das amostras de óleo essencial, obtidas, foram preparadas três diluições diferentes, em triplicata.

Em ambiente escuro transferiu-se uma alíquota de 30 µL de cada diluição do óleo para tubos de ensaio com 3,0mL do radical ABTS. A leitura foi feita após 6 minutos da reação a 734nm, e o etanol foi utilizado como branco. Como referência, utilizou-se o Trolox, um antioxidante sintético análogo à vitamina E, nas concentrações de 100-2000 µM. Os resultados são expressos em função do Trolox, um padrão antioxidante submetido às mesmas condições de análise. A figura 7 representa a reação. O ABTS apresenta forte

absorção no intervalo de 600- 750nm e pode ser facilmente determinado espectrofotometricamente, sendo um radical estável na ausência de antioxidantes.

Figura 7. Redução do ABTS por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio



Fonte: Adaptado de HUANG; OU; PRIOR, (2005).

4.7 Determinação da citotoxicidade via atividade hemolítica

A avaliação da atividade hemolítica do óleo essencial e microemulsão foram realizados no Laboratório de Ciências Biomédicas do Centro Universitário do Maranhão (CEUMA), após aprovação dos protocolos de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos (COEP) da própria Instituição, conforme Decreto nº 1.752/95.

O sangue de um doador voluntário foi coletado em tubos Vacutainer® contendo heparina sódica como anticoagulante. Uma alíquota do sangue foi diluída em solução de NaCl 0,9% na proporção de 1:30 (v/v) e centrifugada a 2.500 rpm por 5 minutos para a obtenção dos eritrócitos. Esse procedimento foi repetido por mais duas vezes, visando à completa remoção do plasma. O sedimento resultante da última centrifugação foi ressuspenso em solução de NaCl 0,9%, de modo a obter uma suspensão de eritrócitos a 0,5% (v/v).

À suspensão de eritrócitos foram adicionadas diferentes concentrações da amostra (15,62; 31,25; 62,50; 125; 250; 500; 1.000 e 2.000 µg/mL), preparadas em triplicata, a 2,0 mL da suspensão celular, totalizando um volume final de 2,5 mL. A suspensão de eritrócitos em NaCl 0,9% foi utilizada como controle negativo (0% de hemólise), enquanto a suspensão de eritrócitos contendo Triton X-100 a 1% foi empregada como controle positivo (100% de hemólise). As amostras correspondentes às diferentes concentrações da

amostra, previamente preparadas no início do ensaio, foram incubadas por 1 hora a 37 ± 2 °C. Durante o período de incubação, as suspensões foram agitadas suavemente a cada 15 minutos, em movimento contínuo no formato do símbolo do infinito, por aproximadamente 1 minuto. Após a incubação, as amostras foram centrifugadas a 2.500 rpm por 5 minutos, e a hemólise foi quantificada por espectrofotometria, nos comprimentos de onda de 493 e 630 nm, conforme descrito por Rangel et al. (1997).

O efeito hemolítico (% de hemólise) foi acompanhado medindo a concentração de hemoglobina no sobrenadante, de acordo com a equação abaixo:

$$\% \text{ hemólise} = \frac{A_T - A_{CN}}{A_{CP} - A_{CN}} \times 100 \quad (\text{equação 4})$$

Em que:

AT é a absorbância da amostra teste, ACN é a absorbância da amostra do controle negativo e ACP é a absorbância da amostra do controle positivo (ZHANG et al, 2007). O resultado é considerado tóxico na concentração que causa pelo menos 10% de hemólise (HC10) (ZHANG et al, 2019).

4.8. Desenvolvimento de microemulsão

As microemulsões foram preparadas a partir da construção de diagramas de fase pseudoternários, utilizando Tween 80, propilenoglicol, água e OEOG. O tensoativo (Tween 80) e o cotensoativo (propilenoglicol) foram inicialmente combinados na proporção de 1:1 (m/m), sendo a mistura submetida à agitação contínua por 30 minutos, a fim de garantir a completa homogeneização dos componentes.

À mistura de tensoativo e cotensoativo (T/Cot), previamente preparada na proporção de 1:1, foi adicionada a fase oleosa, seguida de homogeneização por agitação magnética, à temperatura ambiente, durante 30 minutos. As proporções entre a fase oleosa e a mistura T/Cot foram de 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 e 9:1, totalizando nove formulações

distintas. Para cada uma dessas formulações, foram realizadas titulações com água ultrapura Milli-Q, adicionada de forma gota a gota, em alíquotas de 100 µL, até um volume máximo de 500 µL, sob agitação magnética constante. Durante o processo, as alterações no aspecto visual das formulações foram registradas a cada 3 minutos. Após a completa homogeneização, os sistemas obtidos foram classificados visualmente de acordo com suas características físicas, conforme descrito por Pessoa et al. (2015).

Considerando as proporções dos componentes (tensoativo/cotensoativo, fase oleosa e fase aquosa), obtidas a partir das diferentes formulações preparadas no início do ensaio e após as titulações com água ultrapura Milli-Q, foram plotados os pontos correspondentes às transições entre sistemas transparentes ou translúcidos líquidos (microemulsões) e sistemas opacos líquidos ou semissólidos (emulsões), bem como aqueles que apresentaram aspecto leitoso ou separação de fases. Esses dados foram utilizados para a construção dos diagramas de fase pseudoternários, os quais foram elaborados com o auxílio do software OriginLab 9.0.

Considerando as proporções finais dos componentes — tensoativo/cotensoativo, fase oleosa e fase aquosa — obtidas a partir das diferentes formulações preparadas no início do ensaio e após as titulações com água ultrapura Milli-Q, foram plotados os pontos correspondentes às transições entre sistemas transparentes ou translúcidos líquidos (microemulsões) e sistemas opacos líquidos ou semissólidos (emulsões), bem como aqueles que apresentaram aspecto leitoso ou separação de fases. Esses dados foram utilizados para a construção dos diagramas de fase pseudoternários, os quais foram elaborados com o auxílio do software OriginLab 9.0.

4.9. Caracterização físico-química da microemulsão

4.9.1. Determinação de pH

As medidas de pH foram realizadas utilizando um pHmêtro digital de bancada (Bell Engineering W38), com eletrodo e sensor de temperatura previamente calibrado com solução tampão 4,0 e 7,0, à temperatura de $25 \pm 0,5$ °C. O eletrodo foi introduzido

diretamente em um volume aproximado de 5 mL da formulação. As análises foram realizadas no Laboratório de Química de Interfaces e Materiais (LIM) da Universidade Federal do Maranhão - UFMA.

4.9.2. Determinação de Condutividade Elétrica

A condutividade elétrica dos sistemas emulsionados foi avaliada por meio de condutivímetro digital (Adwa® modelo AD32), previamente calibrado com solução de calibração à temperatura de $25 \pm 0,5$ °C (REIS, 2014). O eletrodo foi introduzido diretamente em um volume de 5 mL de formulação. As análises foram realizadas no Laboratório de Química de Interfaces e Materiais (LIM) da Universidade Federal do Maranhão - UFMA.

4.9.3. Centrifugação

A presença na modificação na estabilidade das microemulsões foi avaliada através da submissão a uma força centrípeta. Para isso, um volume de 3 mL das formulações foi colocado em tubos Falcon e submetidos a rotação de 10.000 RPM durante 30 minutos em uma centrífuga (REIS, 2017). As formulações foram classificadas em límpidas (ausência de modificações macroscópicas) e separação de fases. As análises foram realizadas no Laboratório de Química de Produtos Naturais (LPQN) da Universidade Federal do Maranhão – UFMA.

4.9.4. Estabilidade Térmica

A estabilidade térmica da microemulsão (ME) foi analisada por 6 ciclos de congelamento e aquecimento, onde em cada ciclo a amostra foi submetida a -5 °C \pm 2 °C por 24 h em geladeira (Electrolux, Brasil) e a 50 °C \pm 2 °C por 24 h em estufa (Innovatec, Brasil) (Brasil, 2004; Figueiredo, 2013).

4.10. Caracterização morfológica das microemulsões (Tamanho de gotícula, índice de polidispersão e diâmetro hidrodinâmico)

Para determinar o tamanho da partícula (diâmetro médio z), o índice de polidispersão (PDI) e potencial zeta, foram realizadas pela técnica do Espalhamento de luz dinâmico (DLS) utilizando o equipamento Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Reino Unido) no laboratório de Química Orgânica do Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista (UNESP) campus Araraquara. As amostras foram diluídas em água Mili-Q e aproximadamente 1000 μ l de amostra foram inseridas em cubeta apropriada para a realização das medidas a uma temperatura de 25 °C. As medidas foram realizadas em triplicata para cada amostra. Foram utilizados como parâmetros de medida os índices de refração do meio dispersante, água (IR= 1,33) (GALVÃO, 2015)

4.11. Determinação da Atividade antibactericida

A atividade antibactericida do OEOG e de sua microemulsão foi avaliada por meio de ensaios in vitro, utilizando cepas bacterianas padrão representativas de microorganismos gram-positivos e gram-negativos de relevância clínica. Inicialmente, realizou-se o preparo padronizado dos inóculos bacterianos, assegurando a reprodutibilidade e a confiabilidade dos ensaios. Em seguida, a atividade antibacteriana foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, de acordo com as diretrizes estabelecidas pelo Clinical and Laboratory Standards Institute, permitindo a determinação da concentração inibitória mínima e da concentração bactericida mínima das amostras avaliadas.

4.11.1. Preparo do inóculo

As cepas bacterianas foram obtidas no Laboratório de Ciências Biomédicas do Centro Universitário do Maranhão (CEUMA). Foram utilizadas culturas bacterianas padrão da American Type Culture Collection (ATCC), incluindo as bactérias gram-positivas

Staphylococcus aureus (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 25924) e *Enterococcus faecalis* (ATCC 51299), bem como as cepas gram-negativas *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 50229).

Os inóculos bacterianos foram preparados em solução salina estéril a 0,95%, ajustados de acordo com a escala de turbidez de McFarland 0,5, correspondente a aproximadamente 5×10^6 células por mililitro, garantindo a padronização da densidade celular utilizada nos ensaios.

4.11.2. Ensaio *in vitro*

A avaliação da atividade antibacteriana do OE e da microemulsão foi realizada pelo método de microdiluição em caldo, conforme o protocolo padronizado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, documento M07-A10) (CLSI, 2015). Diluições seriadas duplas foram preparadas em placas estéreis de 96 poços, utilizando caldo Mueller Hinton como meio de cultivo.

Inicialmente, adicionaram-se 95 μ L de caldo Mueller Hinton e 95 μ L do OEOG ou de sua microemulsão, de modo a obter concentrações finais variando de 0,97 a 2.000 mg/mL. Posteriormente, foram adicionados 10 μ L do inóculo bacteriano a cada poço, resultando em uma concentração final de 5×10^5 unidades formadoras de colônia por mililitro. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas. Como controle positivo do ensaio, utilizou-se o antibiótico gentamicina, submetido às mesmas condições experimentais. Após o período de incubação, a determinação da concentração inibitória mínima foi realizada mediante a adição de 30 μ L de solução de resazurina a 0,1% em cada poço, permitindo a visualização da atividade metabólica bacteriana.

Para a determinação da concentração bactericida mínima (CBM), alíquotas de 10 μ L dos poços que não apresentaram crescimento bacteriano visível foram semeadas em placas contendo ágar Brain Heart Infusion. A concentração bactericida mínima foi definida como a menor concentração capaz de impedir o crescimento bacteriano na superfície do ágar após 24 horas de incubação a 37 °C. Todos os ensaios foram realizados em triplicata,

com três repetições independentes, assegurando a robustez e a validade estatística dos resultados.

4.12. Determinação da Atividade antifúngica

A atividade antifúngica do OEOG e de sua microemulsão foi avaliada por meio de ensaios *in vitro*, utilizando cepas fúngicas padrão de relevância clínica. Inicialmente, procedeu-se ao preparo padronizado dos inóculos fúngicos, garantindo a uniformidade da concentração celular empregada nos ensaios. Em seguida, a atividade antifúngica foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, conforme as diretrizes estabelecidas pelo Clinical and Laboratory Standards Institute, possibilitando a determinação da concentração inibitória mínima e da concentração fungicida mínima das amostras avaliadas.

4.12.1. Preparo do inóculo

As cepas fúngicas foram obtidas no Laboratório de Ciências Biomédicas do Centro Universitário do Maranhão (CEUMA). Foram utilizadas culturas fúngicas padrão da American Type Culture Collection (ATCC), incluindo as cepas *Candida albicans* (ATCC 14053) e *Candida parapsilosis* (ATCC 22014). Os inóculos fúngicos foram preparados em solução salina estéril a 0,95% e ajustados de acordo com a escala de turbidez de McFarland 0,5, correspondente a aproximadamente 5×10^6 células por mililitro, assegurando a padronização da densidade celular utilizada nos ensaios.

4.12.2. Ensaio *in vitro*

A avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial e da microemulsão foi realizada pelo método de microdiluição em caldo, de acordo com o protocolo padronizado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, documento M07-A10) (CLSI, 2015).

Diluições seriadas duplas foram preparadas em placas estéreis de 96 poços, utilizando caldo Mueller Hinton como meio de cultivo.

Inicialmente, adicionaram-se 95 µL de caldo Mueller Hinton e 95 µL do OEOG ou de sua microemulsão, de modo a obter concentrações finais variando de 0,97 a 2.000 mg/mL. Em seguida, foram adicionados 10 µL do inóculo fúngico a cada poço, atingindo uma concentração final de 5×10^5 células por mililitro. As placas foram incubadas a 37 °C por um período de 48 horas.

Como controle positivo do ensaio antifúngico, utilizou-se o antifúngico cetoconazol, submetido às mesmas condições experimentais. Ao término do período de incubação, a determinação da concentração inibitória mínima foi realizada mediante a adição de 30 µL de solução de resazurina a 0,1% em cada poço, permitindo a visualização do crescimento fúngico.

Para a determinação da concentração fungicida mínima, alíquotas de 10 µL dos poços que não apresentaram crescimento fúngico foram semeadas em placas contendo ágar Brain Heart Infusion. A concentração fungicida mínima foi definida como a menor concentração capaz de impedir o crescimento fúngico na superfície do ágar após 48 horas de incubação a 37 °C. Todos os ensaios foram realizados em triplicata, com três repetições independentes, assegurando a robustez e a confiabilidade estatística dos resultados.

4.13. Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o software GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Inc., San Diego, EUA), onde os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as diferenças entre as médias foram determinadas pelo teste de Tukey, ($p < 0,05$) para obtenção da média.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Rendimento e umidade

Os valores de rendimento obtidos neste estudo encontram respaldo na literatura, embora se destaquem quando comparados a resultados obtidos em condições semelhantes de extração. Em geral, trabalhos que empregam hidrodestilação em Clevenger por até três horas relatam rendimentos inferiores a 2%, sobretudo quando são utilizadas folhas previamente secas ou provenientes de ambientes menos favoráveis ao acúmulo de compostos voláteis. Na Tabela 1 observa-se que estudos como os de Melo et al. (2019) e Mohr et al. (2017) apresentam rendimentos de 1,66% e 0,18%, respectivamente, valores bastante inferiores aos encontrados nesta pesquisa.

Tabela 2. Valores de rendimento de óleo essencial de *Ocimum gratissimum*.

Estudo / Local	Condição do material	Umidade do material	Rendimento de OE (% m/m)
Proprio Autor (Axixá, MA)	Folhas após 72 h de secagem	20,37%	3,60% (Folhas secas) e 2,85% (Folhas <i>in natura</i>)
Melo et al., 2019 (Sobral, CE)	Folhas secas, hidrodestilação (Clevenger)	-	1,66% (m/m)
Vinhas et al., 2021 (Caatinga / Mata Atlântica, PE)	Folhas secas, hidrodestilação	-	2,02 ± 0,33% (Caatinga) e 2,05 ± 0,47% (Mata Atlântica);
Mohr et al., 2017 (Mossoró, CE)	Folhas secas, hidrodestilação	-	0,18 ± 0,04%
Zareiyan & Khajehsharifi, 2022 (Irã)	Partes aéreas (aérea total), hidrodestilação	-	2,1% ± 0,18%
Ikokide et al., 2025 (Vietnã)	Ervas frescas, hidrodestilação	-	0,2258 ± 0,0735%

Fonte: Dados adaptados pelo autor, 2025.

Resultados um pouco mais elevados foram registrados por Vinhas et al. (2021), que observaram rendimentos médios entre 2,02% e 2,05% em plantas coletadas na Caatinga e

na Mata Atlântica. Ainda assim, esses valores permanecem abaixo do rendimento obtido no presente estudo, especialmente para o material seco, cujo resultado foi de 3,60%. Trabalhos realizados fora do Brasil, como os de Zareiyan e Khajehsharifi (2022) e Ikokide et al. (2025), também apresentam grande variação, com rendimentos de 2,1% e 0,2258%, respectivamente, evidenciando a influência de fatores ambientais, genéticos e fisiológicos sobre a produtividade do óleo essencial.

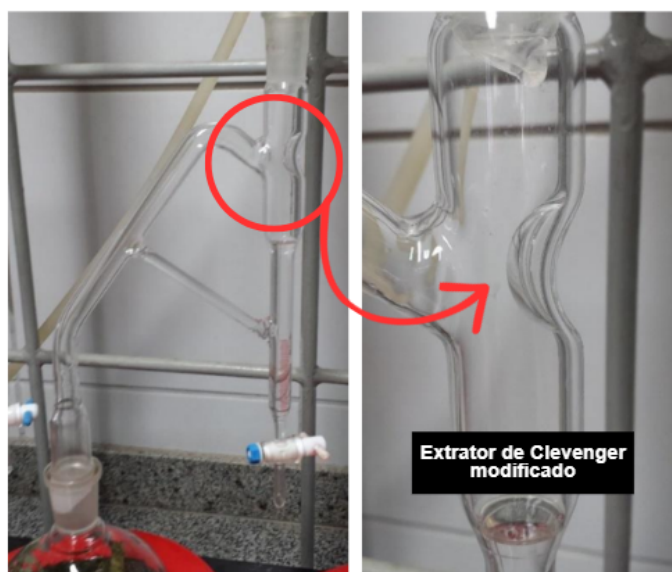
A diferença entre os valores reportados na literatura e os obtidos neste estudo pode estar relacionada a diversos fatores, incluindo as condições ambientais da região de Axixá (MA), o estado fisiológico do material vegetal e o controle rigoroso da umidade durante o processo de secagem. Variáveis como temperatura, luminosidade, disponibilidade hídrica e características do solo influenciam diretamente o metabolismo secundário da planta, refletindo na biossíntese e no acúmulo de compostos voláteis presentes no óleo essencial. Além disso, o estágio de desenvolvimento das folhas e as condições pós-colheita também podem interferir significativamente no rendimento e na composição química do óleo extraído.

No presente estudo, a redução do teor de umidade de 79,63% para 20,37% ao longo de 72 horas de secagem (Tabela 2) permitiu maior padronização do material vegetal e maior precisão na determinação do rendimento do óleo essencial, aspecto frequentemente pouco detalhado em trabalhos semelhantes. Esse controle da umidade contribuiu para minimizar perdas de compostos voláteis durante a extração e reduzir interferências relacionadas à presença excessiva de água no material vegetal. Dessa forma, os rendimentos obtidos para folhas secas (3,60%) e folhas frescas (2,85%) situaram-se entre os valores mais elevados descritos para *Ocimum gratissimum*, evidenciando a relevância do manejo pós-colheita e das condições ambientais sobre a produtividade do óleo essencial.

Além dos fatores relacionados ao material vegetal, os elevados rendimentos observados nas amostras do estudo sazonal e circadiano (Tabela 2) também podem estar associados às características do sistema de extração utilizado. O equipamento empregado possui sistema de refrigeração com água de condensação mantida a aproximadamente 8 °C, diretamente conectado aos condensadores e extratores de Clevenger, favorecendo maior eficiência na condensação e recuperação do óleo essencial durante a hidrodestilação.

Adicionalmente, foi realizada uma adaptação interna no extrator de Clevenger (Figura 8) com o objetivo de otimizar a recuperação dos compostos voláteis. Essa modificação reduziu a retenção de óleo nas paredes do equipamento e minimizou a solubilização de compostos na fase aquosa, resultando em menor formação de hidrolato residual e maior recuperação do óleo essencial. Em conjunto, esses aprimoramentos contribuíram significativamente para o aumento do rendimento e para maior eficiência e reprodutibilidade do processo extrativo.

Figura 8. Extrator de Clevenger modificado.



Fonte: Do próprio Autor, 2025.

Tabela 3. Resultados de umidade e rendimento dos estudos sazonal e circadiano.

Estudo Sazonal¹	Umidade (%)	Rendimento (%)	Estudo Circadiano²	Umidade (%)	Rendimento (%)
A _{jan}	24,60	3,40	B _{mar6}	79,52	2,93
A _{fev}	22,54	3,38	B _{mar9}	79,62	2,84
A _{mar}	23,81	3,62	B _{mar12}	77,63	3,35
A _{abr}	20,34	4,81	B _{mar15}	78,37	3,18
A _{mai}	20,19	4,37	B _{mar18}	82,28	3,02
A _{jun}	18,77	3,88	B _{out6}	77,68	2,32
A _{jul}	17,37	3,92	B _{out9}	79,84	2,34
A _{ago}	18,65	3,86	B _{out12}	84,37	2,23
A _{set}	19,47	3,76	B _{out15}	79,31	2,21
A _{out}	20,40	3,56	B _{out18}	79,38	2,12
A _{nov}	20,63	3,82			
A _{dez}	24,03	3,12			

Fonte: Dados do autor. ¹Folhas secas a temperatura ambiente por 72 horas; ²Folhas in natura (frescas).

Com base no procedimento metodológico descrito, foi possível reduzir o teor de água presente nas folhas do material vegetal de 79,63%, observado nas amostras frescas (valor médio determinado no estudo circadiano), para 20,37% após 72 horas de secagem no estudo sazonal. Essa redução foi fundamental para o cálculo mais preciso do rendimento, uma vez que todos os valores foram expressos em função do material vegetal isento de umidade.

O cerrado brasileiro, situado em uma região tropical sazonal, caracteriza-se por duas estações bem definidas: uma estação úmida, durante o verão, e uma estação seca, no inverno (ALBUQUERQUE; SILVA, 2008). Entretanto, a duração e o período de transição entre essas estações podem variar, sobretudo porque o Brasil apresenta elevada vulnerabilidade aos impactos das mudanças climáticas (SILVA et al., 2016). No estado do Maranhão, os índices pluviométricos oscilam de acordo com a área de transição entre o cerrado e outros biomas; dessa forma, tanto o início quanto o término dos períodos seco e chuvoso podem apresentar variações ao longo dos anos (SILVA et al., 2016).

A formação de óleos essenciais tende a aumentar em condições de temperatura elevada; contudo, dias excessivamente quentes podem promover perdas significativas desses metabólitos voláteis. Paralelamente, as condições de luminosidade influenciam diretamente o crescimento e o desenvolvimento das plantas, por estarem intimamente relacionadas à fotossíntese e a diversos processos fisiológicos, bioquímicos e morfológicos. Esses fatores, em conjunto, podem favorecer o incremento na produção de óleos essenciais (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; FERNANDES et al., 2013).

No estudo sazonal, os maiores rendimentos foram registrados no outono (Aabr, Amai, Ajun e Ajul), período marcado por temperaturas mais altas e maior estabilidade térmica, condições que favorecem o acúmulo de compostos voláteis nas folhas. Em contraste, os menores rendimentos ocorreram em dezembro e janeiro (Adez e Ajan), meses com menor incidência de luz e temperaturas mais amenas, fatores que reduzem a atividade metabólica e a produção de óleo essencial.

Em contraste, os menores rendimentos foram observados nos meses de dezembro e janeiro (Adez e Ajan), momentos em que predominaram dias nublados, com baixa radiação solar e temperaturas mais amenas. Essas condições reduzem a taxa fotossintética e a atividade metabólica das plantas, refletindo-se diretamente na menor produção e

armazenamento de compostos voláteis, característica bem documentada em estudos sobre sazonalidade em espécies aromáticas.

No estudo circadiano, identificou-se um comportamento semelhante de variação metabólica, porém no intervalo no decorrer do dia. Os maiores rendimentos foram registrados nas primeiras horas da manhã, entre 6 h e 9 h, com destaque para o pico de 2,84% às 9 h. Esse aumento pode estar associado à retomada da atividade fotossintética após o amanhecer, momento em que a planta já recuperou parte dos compostos liberados ou oxidados durante a noite e apresenta condições ambientais favoráveis à volatilização controlada.

À medida que o dia avançou e a intensidade luminosa diminuiu, observou-se uma redução progressiva nos rendimentos, especialmente nas coletas realizadas às 6 h e, de forma mais acentuada, às 18 h. O menor valor registrado ocorreu justamente às 18 h, quando a luz solar já era praticamente inexistente e as temperaturas encontravam-se mais baixas, o que reduz a pressão de vapor dos compostos voláteis e, conseqüentemente, a quantidade de óleo recuperada.

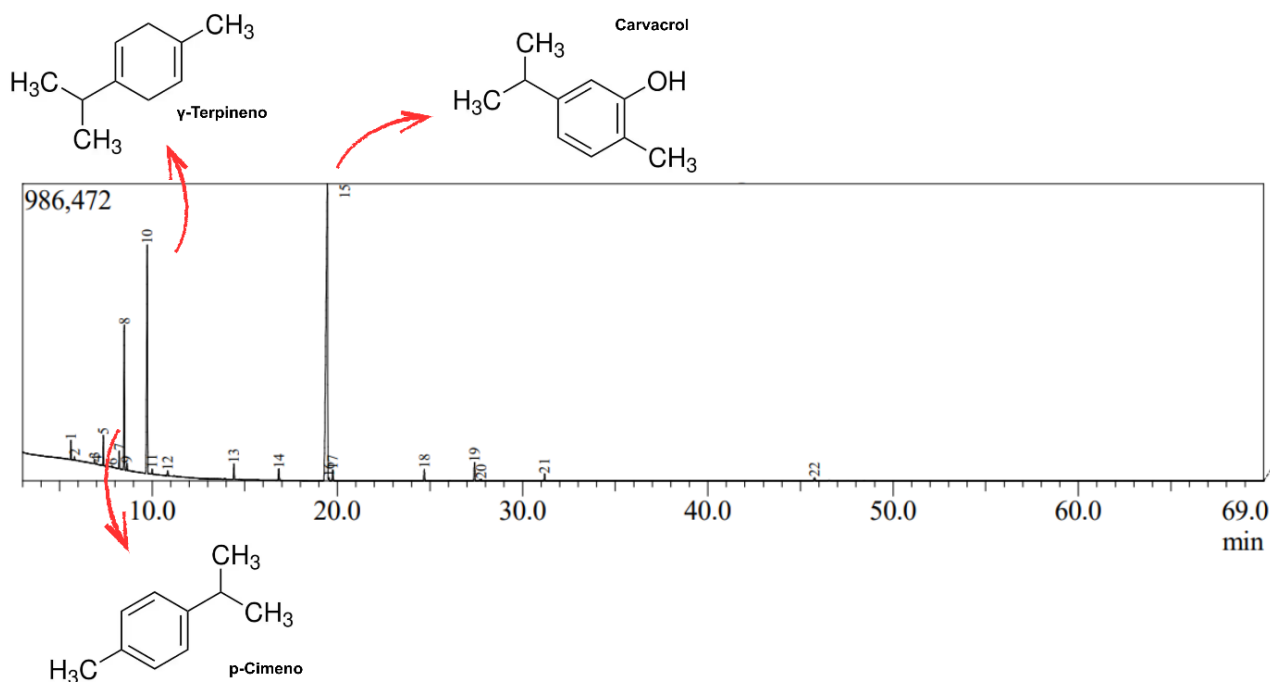
5.2. Análise Química do óleo

A análise cromatográfica do OEOG (Figura 9) revelou um perfil químico constituído predominantemente por monoterpenos e sesquiterpenos, caracterizando um óleo com elevada complexidade estrutural e potencial bioativo. O cromatograma apresentou múltiplos sinais distribuídos principalmente no intervalo entre 5 e 32 minutos, indicando a presença de compostos voláteis de baixa a média polaridade.

Os primeiros picos, observados entre 5 e 12 minutos, correspondem majoritariamente a monoterpenos hidrocarbonetos, caracterizados por maior volatilidade e menor interação com a fase estacionária da coluna cromatográfica. À medida que o tempo de retenção aumenta, especialmente entre 12 e 18 minutos, verifica-se a presença de monoterpenos oxigenados, indicando incremento de polaridade e maior tempo de interação com a coluna. Entre 18 e 32 minutos destacam-se sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados, compostos de maior massa molar e menor volatilidade,

representando o fracionamento final do perfil cromatográfico. A reduzida presença de picos após 35 minutos reforça a ausência de moléculas pesadas e pouco voláteis na amostra analisada.

Figura 9. Cromatograma do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*.



Fonte: Do próprio Autor, 2025.

Dentre os 23 componentes identificados no óleo essencial, três substâncias em média se destacaram como majoritárias em termos de área relativa: carvacrol (em média 50,67%), γ -terpineno (em média 20,85%) e p-cimeno (14,36%). Juntas, essas moléculas correspondem em média valores entre 84,12% a 87,45% da composição total, evidenciando um forte direcionamento biossintético para compostos fenólicos monoterpênicos.

A predominância do carvacrol é particularmente relevante, uma vez que esse monoterpene fenólico apresenta reconhecida atividade antimicrobiana e antifúngica, amplamente associada à sua capacidade de desestabilizar a membrana celular microbiana. Estudos demonstram que o carvacrol atua promovendo alterações na permeabilidade da membrana plasmática, levando à perda de íons, ATP e outros componentes intracelulares essenciais, culminando na inibição do crescimento ou morte celular (Ultee; Bennik; Moezelaar, 2002; Burt, 2004).

Em fungos, esse composto interfere diretamente na integridade da membrana e na organização do ergosterol, além de induzir estresse oxidativo e desregulação metabólica, mecanismos que explicam sua elevada eficácia frente a espécies do gênero *Candida* e outros fungos patogênicos (Ahmad et al., 2011; Nazzaro et al., 2013). Dessa forma, o quimiotipo identificado neste estudo pode estar diretamente relacionado ao potencial biológico observado, reforçando a importância de investigações regionais para a compreensão da variabilidade química de *Ocimum gratissimum* e de suas aplicações terapêuticas e biotecnológicas.

Tabela 4. Constituintes identificados nas amostras referentes ao estudo sazonal.

Componentes	IR Calculado	IR Literatura	Área do pico (%)												
			Ajan	Afev	Amar	Aabr	Amai	Ajun	Ajul	Aago	Aset	Aout	Anov	Adez	
α -Tujeno	928	924	0,8	1,5	1,6	2,8	2,2	2,7	1,8	1,2	2,6	2,1	1,1	0,7	
Sabineno	974	969	-	-	0,2	0,7	0,5	0,4	-	0,2	0,5	0,1	-	-	
β -pineno	978	974	-	-	0,1	0,4	0,3	-	-	0,1	0,2	0,2	0,1	-	
Mirceno	993	988	1,8	2,7	1,8	3,5	3,2	3,5	2,2	2,4	2,7	2,8	2,1	1,8	
α -Felandreno	1006	1002	-	0,1	-	0,3	-	-	-	0,1	0,2	-	-	-	
α -Terpineno	1018	1014	-	0,4	0,1	2,9	2,9	-	2,2	1,2	2,4	1,2	-	0,9	
p-Cimeno	1031	1020	15,3	16,5	9,3	12,1	10,1	17,2	15,8	11,4	10,8	18,4	16,1	19,3	
Limoneno	1032	1024	-	0,7	0,7	1,5	1,2	1,2	0,7	0,8	1,1	0,8	0,6	-	
(Z)- β -Ocimeno	1037	1032	0,1	-	0,2	-	-	0,2	0,1	-	-	-	-	0,2	
(E)- β -Ocimeno	1048	1044	-	-	0,1	0,2	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	
γ-Terpineno	1066	1054	15,4	22,8	15,8	20,8	22,6	27,9	25,7	21,6	21,7	22,8	18,4	14,7	
cis-Sabineno hidrato	1070	1065	-	0,6	-	0,9	-	0,3	-	-	0,6	-	0,5	-	
p-Cimeneno	1091	1089	-	-	0,7	1,3	0,9	0,4	-	0,4	0,8	-	-	-	
Linalol	1101	1095	-	0,3	0,3	-	0,2	-	-	0,2	-	-	-	0,3	
Terpinen-4-ol	1184	1174	1,3	0,8	1,0	1,7	1,5	0,8	1,0	0,9	1,3	0,8	0,8	1,6	
Timol, éter metílico	1234	1232	1,2	0,8	1,5	1,7	1,5	0,9	1,0	1,0	1,3	1,1	1,0	1,5	
Carvacrol	1312	1298	61,2	51,2	58,2	42,6	44,7	41,1	46,6	54,3	47,7	48,0	56,2	55,9	
Eugenol	1360	1356	-	-	0,2	0,1	-	-	-	-	-	0,1	0,1	0,1	
(E)-Cariofileno	1421	1417	-	-	0,1	1,3	2,4	0,9	0,8	0,9	1,8	-	-	-	
α -Humuleno	1454	1461	0,2	-	-	0,2	0,3	0,2	0,1	-	-	0,3	0,2	0,2	
β -Selineno	1516	1513	1,6	1,2	1,8	1,8	2,9	0,9	1,1	1,5	2,1	0,9	1,0	1,4	
α -Selineno	1519	1520	-	-	-	0,5	1,2	-	-	0,1	0,5	-	-	-	
Óxido de cariofileno	1587	1582	0,8	-	4,5	1,1	-	-	-	0,5	1,0	-	0,8	0,9	
Total			99,7	99,6	99,8	99,3	98,0	98,7	98,6	98,6	99,1	98,7	99,3	99,6	

Fonte: Do próprio autor, 2024.

Tabela 5. Constituintes identificados nas amostras referentes ao estudo circadiano.

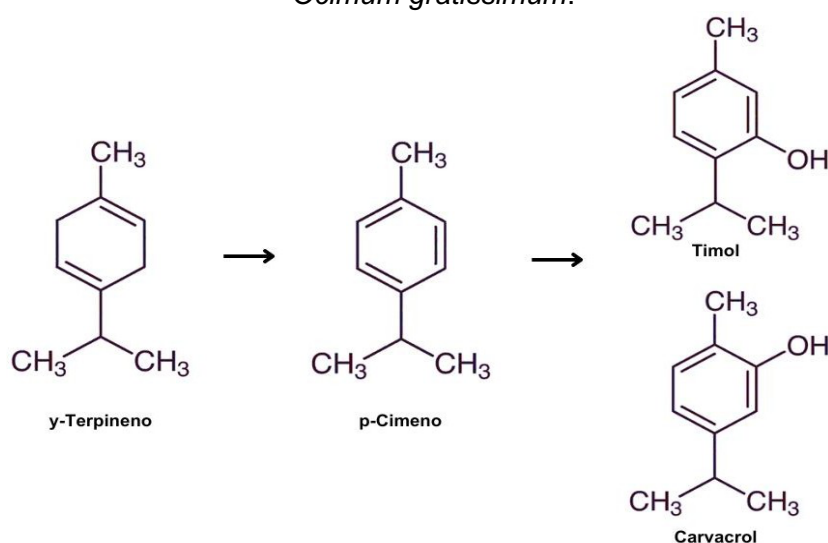
Componentes	IR Calculado	IR Literatura	Área do pico (%)									
			Bmar6	Bmar9	Bma12	Bmar15	Bmar18	Bout6	Bout9	Bout12	Bout15	Bout18
α -Tujeno	928	924	1,8	1,6	0,7	0,6	1,9	1,6	1,9	0,7	0,3	0,8
Sabineno	974	969	0,6	0,5	0,2	0,5	0,5	0,8	0,7	0,3	0,1	0,3
β -pineno	978	974	0,3	0,3	0,1	0,1	0,2	0,5	0,4	0,2	-	0,2
Mirceno	993	988	2,4	2,5	1,8	1,5	2,8	2,6	2,8	2,2	1,1	2,2
α -Felandreno	1006	1002	0,3	0,2	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0	0,1	0,2
α -Terpineno	1018	1014	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	-	0,1	0,3
p-Cimeno	1031	1020	9,6	10,3	12,8	9,3	14,4	11,8	13,2	15,9	13,9	14,6
Limoneno	1032	1024	0,8	1	0,6	0,7	1,1	1,2	1	1	0,3	1
(Z)- β -Ocimeno	1037	1032	0,2	0,2	-	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	-	0,1
(E)- β -Ocimeno	1048	1044	0,2	0,2	-	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	-	0,2
γ-Terpineno	1066	1054	14,6	12,9	16,8	12,8	17,4	16,1	14,2	12,7	8,7	12,0
cis-Sabineno hidrato	1070	1065	0,6	0,5	-	0,2	0,3	0,5	0,3	0,3	-	0,5
p-Cimeneno	1091	1089	1,0	1,1	0,4	0,7	0,9	1,3	1,2	1	0,4	1
Linalol	1101	1095	0,3	0,3	0,1	0,3	0,1	0,3	0,4	0,3	0,2	0,3
Terpinen-4-ol	1184	1174	2,8	3	1,3	1	1,6	1,8	0,8	2,2	1,4	2,5
Timol, éter metílico	1234	1232	0,8	0,6	1,3	1,1	1,6	1,2	1,1	2,3	1,6	2,3
Carvacrol	1312	1298	38,4	43,6	58,3	59,2	48,2	36,7	40,1	50,7	63,5	47,2
Eugenol	1360	1356	0,3	0,4	0,1	0,2	0,1	0,3	0,3	0,1	0,1	0,1
(E)-Cariofileno	1421	1417	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,1	0,1	0,1
α -Humuleno	1454	1461	0,6	0,6	0,3	0,5	0,2	0,8	0,9	0,3	0,1	0,5
β -Selineno	1516	1513	3,2	3	1,5	3,3	2,4	3,5	3,6	2,7	3,1	3,1
α -Selineno	1519	1520	2	1,8	0,6	1,8	0,6	1,6	1,6	0,8	0,5	1,3
Óxido de cariofileno	1587	1582	2,4	3,2	0,9	4,5	2,5	4,3	5,2	3,9	3,5	4,7
Total			93,6	97,1	98	98,9	97,5	97,8	93,6	97,9	96,1	95,5

Fonte: Do próprio autor, 2024.

A composição química dos óleos essenciais de plantas pode variar significativamente em função de fatores ambientais, como temperatura, luminosidade e umidade, bem como de processos fisiológicos e metabólicos intrínsecos à planta. Esses fatores influenciam diretamente a biossíntese e o acúmulo de compostos específicos, conferindo características químicas distintas aos óleos essenciais. No caso da alfavaca (*Ocimum gratissimum*), uma espécie amplamente investigada devido às suas propriedades medicinais, diversos estudos têm demonstrado variações na composição química dos óleos essenciais obtidos de plantas cultivadas em diferentes regiões do mundo.

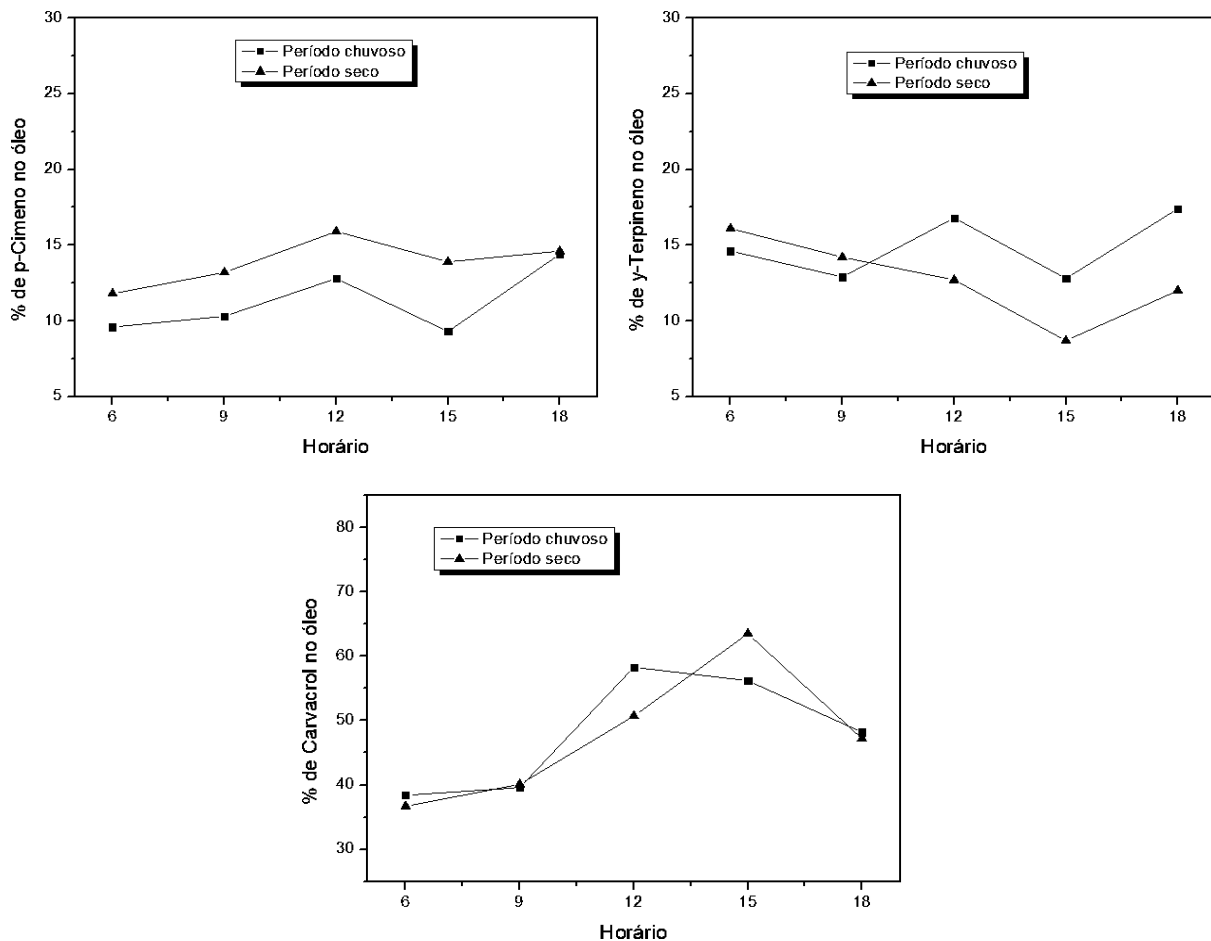
Os compostos majoritários presentes nesses óleos desempenham papéis fundamentais nos mecanismos de defesa e adaptação da planta e são resultantes de complexos processos biossintéticos que ocorrem internamente. Nesse contexto, conforme ilustrado na Figura 10, o composto γ -terpineno é inicialmente oxidado para formar p-cimeno, o qual é subsequentemente hidroxilado, originando o timol e seu isômero estrutural, o carvacrol. De acordo com a literatura, o timol é geralmente descrito como o composto majoritário nos óleos essenciais de *Ocimum gratissimum*, enquanto o carvacrol aparece em menores proporções (Franco et al., 2014; Nith et al., 2016). Entretanto, no óleo essencial obtido no presente estudo, observou-se um comportamento inverso, com maior predominância de carvacrol em relação ao timol.

Figura 10. Rota Biosintética proposta para os monoterpênos aromáticos do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*.



Fonte: Criado pelo autor com base em NITH et al, 2016; CASTRO 2015.

Figura 11. Variação no teor dos constituintes p-Cimeno, γ -Terpineno e Carvacrol majoritários do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* durante o estudo circadiano no período chuvoso e o período seco.

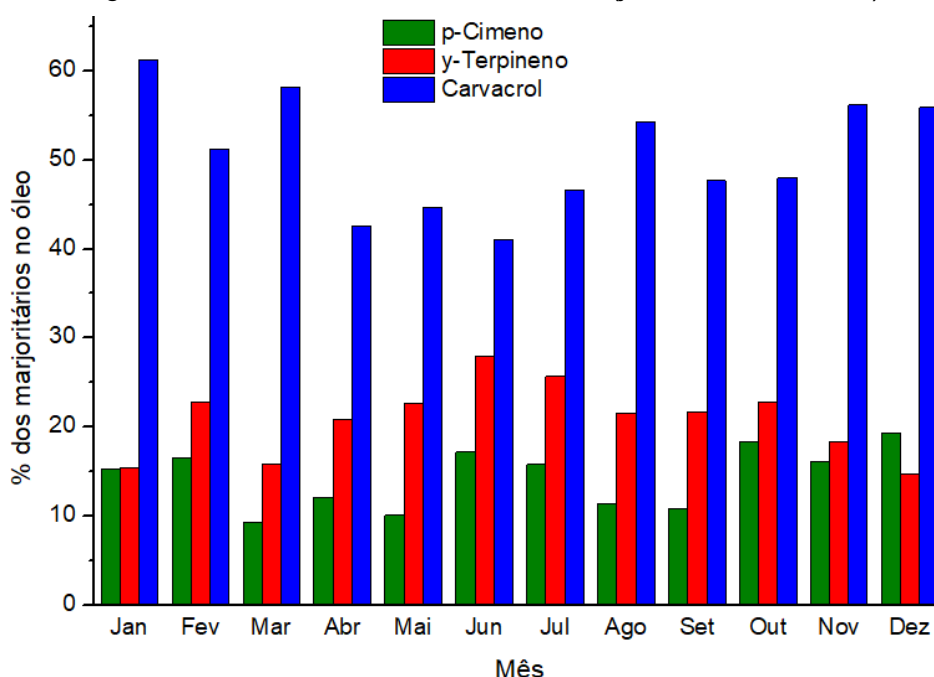


Fonte: Do próprio autor, 2024.

Foi possível observar um aumento relativo no teor de p-cimeno (Figura 11) do período chuvoso (9,6%) para o seco (11,8%), sem variações significativas entre os horários ao longo do estudo circadiano. Em relação ao γ -terpineno, houve um aumento gradativo no período chuvoso, da amostra Bmar6 (14,6%) primeira coletada até amostra Bmar12 (16,8). Apesar desta variação do teor de γ -terpineno no óleo, houve um decréscimo de cerca de 23,81% para a amostra Cabr15 (12,8%) e em seguida, um aumento relativo de 35,94% para a amostra Bmar18 (17,4%). Tal comportamento pode ser acompanhado simultaneamente com o do componente no período seco, que decresceu de 12,7% (Bout12) para 8,7 % (Bout15) e na amostra Bout18 voltou a elevar atingindo 12,0%.

Outra tendência observada foi em relação ao constituinte majoritário do OEOG o Carvacrol, que apresentou um crescimento contínuo em ambos os períodos (chuvoso e seco), tendo seus ápices de teor nas amostras coletadas no horário das 15 horas, apresentando teor no período chuvoso de 59,2% (Bmar15) e de 63,5% (Bout15) no período seco, sendo que os melhores resultados relacionados ao teor em relação aos horários foi encontrado no período chuvoso, com exceção das amostras das 15 horas (Tabela 5).

Figura 12. Variação no teor dos principais constituintes do óleo essencial das folhas de *Ocimum gratissimum* durante o estudo sazonal (janeiro a dezembro).



Fonte: Do próprio autor, 2024.

Através da Figura 12 é possível observar as variações entre os principais constituintes dos óleos ao longo de um ano (estudo sazonal), onde o Carvacrol mostrou-se o componente majoritário em todas as amostras coletadas, com seus valores mais altos em janeiro (61,2%), março (58,2%), novembro (56,2%), dezembro (55,9%) e mais baixos em abril (42,6%), maio (44,7%) e junho (41,1%). O γ -terpineno mostrou seus teores máximos em junho (27,9%), julho (25,7%) e os mais baixos em janeiro (15,4%) e dezembro (14,7%). O p-cimeno mostrou uma variação no estudo sazonal bem mais acentuada que no estudo circadiano, com teores máximos em outubro (18,4%) e dezembro (19,3%) e mínimos em março (9,3%) e abril (10,1%).

Foi possível observar também um aumento de cerca nos teores dos componentes majoritários p-cimeno, γ -terpineno e carvacrol, do estudo sazonal (média de 14,4% de p-cimeno, 20,8% de γ -terpineno e 50,4% de carvacrol) para o estudo circadiano (média de 12,6% de p-cimeno, 13,8% de γ -terpineno e 48,6% de carvacrol). Isto pode ter ocorrido devido ao período de secagem de 72 horas a temperatura ambiente realizado com as amostras sazonais em relação as amostras do circadiano que foram utilizadas in natura.

O p-cimeno e o γ -terpineno, sendo monoterpenos de peso molecular baixo (134,21 g/mol e 136,26 g/mol, respectivamente), podem ter sido parcialmente volatilizados durante o período de secagem, haja vista que o óleo essencial é armazenado em tricomas glandulares na superfície da epiderme foliar. Tal efeito pode ser observado mais acentuadamente quando os dados são analisados isoladamente. Apesar da média de 13,8% de γ -terpineno no estudo circadiano, a amostra Bmar18 apresentou um teor de 17,4%, além das amostras Bmar6 e Bmar12 que apresentaram 14,6% e 16,8%, respectivamente. Em relação aos teores de p-cimeno, as amostras Bmar18 (14,4%), Bout12 (15,9%) e Bout18 (14,6%) apresentaram valores maiores que a média encontrado para o estudo circadiano de 12,6%.

No estudo sazonal, nenhuma amostra apresentou teor de carvacrol maior que 63,5%, encontrado para a amostra do estudo circadiano (Bout15). O p-cimeno mostrou uma variação no estudo sazonal bem mais acentuada que no estudo circadiano, com teores máximos em outubro (18,4%) e dezembro (19,3%) e mínimos em março (9,3%) e maio (10,1%).

Franco e outros autores (2007) comentam do composto estragol (metil chavicol) presente no óleo essencial de várias plantas do gênero *Ocimum*, no entanto, o composto é um carcinogênico e genotóxico natural, demonstrado em experimentos com animais de laboratório após exposição crônica ou algumas doses repetidas (VICENZI et al., 2000). A ausência de estragol em todas as amostras coletadas, sugere que, independentemente do período ou horário de coleta, o óleo obtido dessa região pode ser utilizado como fitomedicamento. Dessa forma, através da combinação dos estudos feitos, é possível programar a coleta do óleo essencial (mês/período do dia) de acordo com o interesse químico.

5.3. Atividade Antioxidante

Os antioxidantes interagem com os radicais livres, transferindo elétrons ou doando hidrogênio, neutralizando esse caráter, restringindo a propagação das reações em cadeia e as lesões induzidas por esses compostos (Franco et al., 2014). O trolox, utilizado como antioxidante padrão, mostrou uma dose-resposta altamente linear ($R^2 = 0,996$), dessa forma, os óleos Ajan, Amar, Anov e Adez foram testados para determinação de suas capacidades de sequestro do radical DPPH e ABTS. As reações foram lentas, apresentando tempo médio de 60 minutos.

A capacidade do OEOG de sequestrar o radical DPPH, expressa em percentual, encontra-se apresentada na Tabela 6. Os maiores percentuais de sequestro foram obtidos com as maiores concentrações de óleo essencial (165,00 mg/mL), evidenciando-se que a capacidade do óleo essencial de sequestrar o radical DPPH tende a ser dose dependente, ou seja, quanto maior a concentração do óleo maior foi a sua atividade antioxidante. Segundo a classificação estabelecida por Melo et al. (2008) que considera como forte, moderada e fraca capacidade de sequestro de radicais, sendo, forte aquela que atingir o percentual acima de 70%, entre 50 e 70% moderada e abaixo de 50%, fraca.

Tabela 6. Valores de capacidade do sequestro de radical DPPH do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (% inibição)

Concentração (mg/mL)	Ajan	Amar	Anov	Adez	Trolox
3,30	7,50	7,54	13,36	12,36	10,66
33,00	23,21	23,26	29,08	28,07	25,86
66,00	40,68	40,72	46,54	45,53	43,32
99,00	57,66	58,02	64,00	62,99	59,62
132,00	83,69	83,73	89,55	89,55	84,05
165,00	93,06	93,11	98,92	97,93	92,38

Fonte: Do próprio autor, 2024.

Pode-se constatar que a concentração de óleo essencial de 132,00 mg/mL exibiu uma forte capacidade, pois atingiu valor acima de 80 % em todas amostras analisadas (Ajan, Amar, Anov e Adez). No entanto, esta ação foi estatisticamente superior à do antioxidante utilizado como padrão (Trolox) >78%. O OEOG na concentração mais alta

(165,00 mg/mL) exibiu, capacidade de sequestro do radical DPPH de 93,06% (Ajan), 93,11% (Amar), 98,92% (Anov) e 97,93 (Adez)%, sendo todas um pouco acima do resultado com Trolox (92,38%).

Tabela 7. Valores de capacidade do sequestro de radical ABTS do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (% inibição)

Concentração (mg/mL)	Ajan	Amar	Anov	Adez	Trolox
8,33	7,99	7,32	19,62	18,95	16,44
16,65	12,85	12,19	28,28	27,61	23,22
33,30	36,63	35,97	45,37	44,71	39,86
41,63	47,05	46,39	53,92	53,26	56,11
66,60	78,31	77,65	80,07	79,40	82,60
83,25	99,48	98,81	96,28	95,61	96,23

Fonte: Do próprio autor, 2024.

A capacidade de sequestro do radical ABTS pelo OEOG está apresentada na Tabela 7. Os elevados valores observados indicam expressiva atividade antioxidante, uma vez que a ação antirradicalar está diretamente relacionada à concentração do óleo essencial. Verificou-se, portanto, que o óleo essencial apresentou atividade antioxidante superior à do padrão Trolox frente ao radical ABTS.

O método ABTS é reconhecido por sua maior sensibilidade quando comparado ao ensaio com o radical DPPH, uma vez que envolve predominantemente mecanismos de transferência de elétrons, enquanto o DPPH está associado à transferência de hidrogênio (Tuba; Gülçin, 2008). Nesse contexto, os compostos bioativos presentes no óleo essencial de alfavaca demonstraram elevada capacidade de neutralização de radicais livres. Todas as amostras analisadas foram capazes de reduzir significativamente o radical ABTS, apresentando porcentagens de inibição entre 77,65% e 80,07% na concentração de 66,60 mg/mL (Tabela 5), evidenciando seu potencial antioxidante.

Entre as amostras avaliadas, a amostra Ajan apresentou a maior atividade antioxidante, com capacidade de sequestro do radical ABTS de 99,48% na concentração de 83,25 mg/mL. Embora não tenha diferido estatisticamente da amostra Amar, esse valor foi superior ao observado para o Trolox (96,23%). As demais amostras apresentaram percentuais próximos, com valores de 98,81% para Amar, 96,28% para Anov e 95,61% para Adez, sem diferença estatisticamente significativa entre elas.

A maior atividade da amostra Ajan deve-se, provavelmente, ao maior teor de compostos fenólicos como o carvacrol (61,2%) e do p-cimeno (15,3%) que possuem fortes propriedades redutoras e são capazes de formar intermediários relativamente estáveis, devido a ressonância do anel aromático presente em suas estruturas (Sousa et al., 2007), como é possível ver na Figura 9.

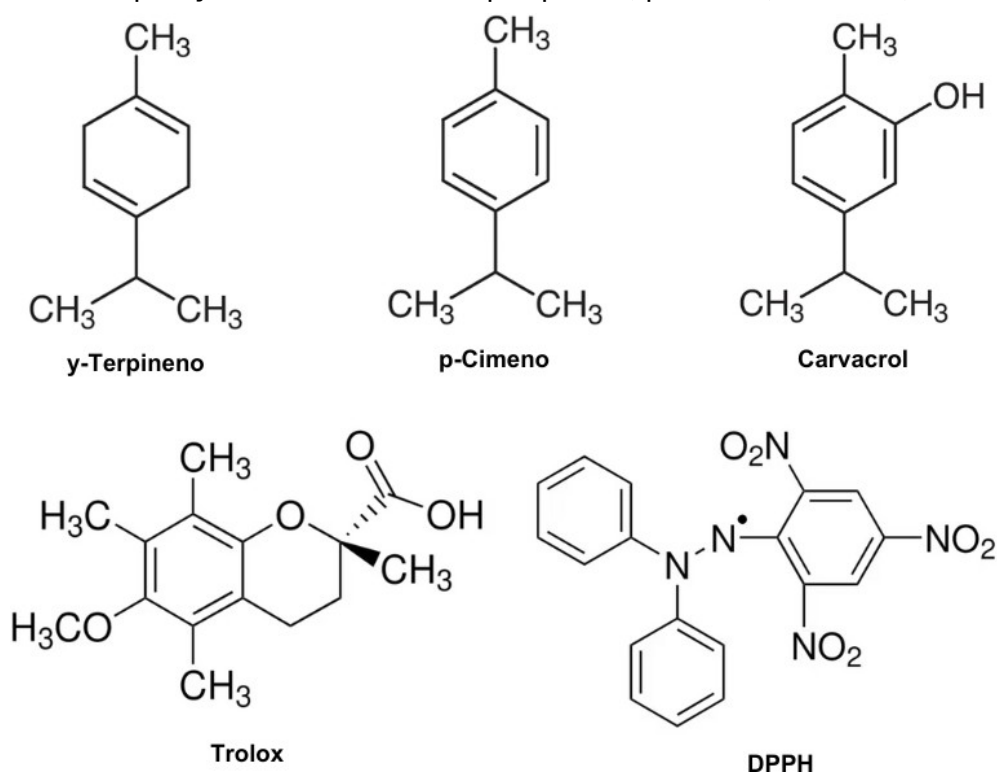
O alto teor do monoterpene γ -terpineno (18,6%), que possui capacidade de sequestro do radical DPPH cerca de três vezes maior que o trolox (Choi et al., 2000), perfazendo um total de 91,9% de compostos com atividade antioxidante na constituição do OEOG. Da mesma forma, a amostra, Amar, apresentou altos teores de carvacrol (58,2%), γ -terpineno (15,8%) e p-cimeno (9,3%), mostrou-se a segunda mais ativa.

O maior potencial antioxidante das amostras em comparação ao Trolox pode estar relacionado à natureza estrutural e à maior acessibilidade estérica dos constituintes majoritários carvacrol, γ -terpineno e p-cimeno. Esses compostos apresentam menor massa molecular e estruturas predominantemente hidrofóbicas, características que favorecem a difusão e a interação direta com o radical DPPH, possibilitando maior eficiência na neutralização de espécies radiculares quando comparados ao padrão sintético Trolox, cuja estrutura apresenta maior impedimento estérico (Alves et al., 2010), conforme ilustrado na Figura 13.

O carvacrol isolado apresentou atividade antioxidante superior à observada para os óleos essenciais e aproximadamente duas vezes maior que a do Trolox, evidenciando seu papel central na capacidade antioxidante do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*. Entretanto, embora o carvacrol represente, em média, 57,87% da composição química dos óleos avaliados, as amostras analisadas alcançaram cerca de 80,84% da atividade antioxidante do composto puro.

Esse resultado demonstra que outros constituintes presentes no óleo essencial, especialmente γ -terpineno e p-cimeno, também contribuem significativamente para a atividade antioxidante observada. Dessa forma, os dados sugerem a ocorrência de efeitos aditivos ou sinérgicos entre os diferentes compostos do óleo essencial, potencializando a neutralização de radicais livres e reforçando a relevância da interação entre os metabólitos presentes na matriz natural.

Figura 13. Comparação das estruturas do γ -terpineno, p-cimeno, carvacrol, trolox e DPPH



Fonte: Do próprio autor, 2024

O padrão do composto majoritário carvacrol também foi testado e apresentou atividade superior àquelas obtidas com os óleos essenciais e cerca de duas vezes superior ao próprio trolox, confirmando sua alta capacidade antioxidante, no entanto, com somente 57,87% de carvacrol (média dos teores das amostras), os óleos testados apresentaram 80,84% da atividade do composto puro, indicando que outros constituintes (γ -terpineno e p-cimeno) também atuam como antioxidantes.

O IC_{50} do OE de *Ocimum gratissimum* foi $70,51 \pm 0,60$ mg/mL, apresentando melhor atividade em relação ao verificado por Araújo (2021) onde o OE (*Ocimum gratissimum*) com teor médio de eugenol de 51,19%, entretanto o autor verificou ausência de carvacrol em relação ao presente estudo, sugerindo que o sinergismo entre os constituintes do OE (carvacrol, γ -terpineno e p-cimeno) melhorou expressivamente a atividade do OE. Corroborando com Joshi (2021), os quais observaram que embora o eugenol estivesse presente em $85,71 \pm 0,55\%$ no OE, a atividade antioxidante do mesmo não foi melhor do que os de menores concentrações de eugenol, neste sentido, a divergência quantitativa de outras classes de constituintes dos óleos essenciais influenciam na atividade antioxidante.

Tabela 8. IC₅₀ (mg/mL) e índice de atividade antioxidante frente radical DPPH

Amostras	IC₅₀	IAA
ME6	39,38 ± 0,83 ^{ab}	11,18
Óleo essencial	70,51 ± 0,60 ^a	5,35
Carvacrol	18,87 ± 1,32 ^b	26,05
Trolox	62,52 ± 1,28 ^a	6,17

Fonte: Do próprio auto, 2024.

IC₅₀ - Concentração da solução necessária para inibir 50% do radical DPPH;

IAA - índice de atividade antioxidante. Letras diferentes indicam diferença estatística pelo teste de Tukey (p < 0,05).

O IC₅₀ do carvacrol (18,87 ± 1,32 mg/mL) apresentou melhor atividade em relação ao trolox (padrão utilizado), e em relação ao encontrado por Oliveira Barbosa et al. (2021), para OE de *Ocimum gratissimum* correspondendo a IC₅₀ 19,11 mg/mL. O carvacrol apresentou o IC₅₀ de 18,87 ± 1,32 mg/mL, a microemulsão de 39,38 ± 0,83 e o OEOG de 70,51 ± 0,60, erificou-se menor valor de IC₅₀ para a microemulsão em comparação ao OEOG, embora não tenha sido observada diferença estatisticamente significativa entre ambos (p > 0,05). O carvacrol apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao OEOG e ao Trolox (p < 0,05), porém não diferiu estatisticamente da microemulsão.. De acordo com índice de atividade antioxidante (IAA) temos: carvacrol > nanoemulsão > trolox > óleo essencial, todos apresentaram atividade antioxidante muito forte pois encontravam-se maiores que 2, conforme determinado por Scherer e Godoy (2009).

A intensificação da atividade antioxidante do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (OEOG) quando incorporado a sistemas microestruturados tem sido amplamente reportada na literatura, corroborando os resultados observados no presente estudo (Sundararajan et al., 2018; Onyebuchi e Kavaz, 2019; Doost et al., 2019; Araújo, 2021). Doost et al. (2019) atribuíram a superior atividade antioxidante dos sistemas microemulsionados, em comparação ao timol livre, ao encapsulamento das moléculas bioativas no interior das nanodomínios interfaciais, o que favorece sua orientação e localização preferencial na interface óleo água. Essa organização estrutural aumenta a área de contato entre o antioxidante e o meio contínuo, promovendo maior acessibilidade dos sítios doadores de hidrogênio e elétrons aos radicais livres.

Adicionalmente, a presença da fase aquosa nos sistemas microemulsionados pode contribuir de forma significativa para a cinética das reações antioxidantes, uma vez que a água atua na interrupção de interações intermoleculares e facilita os mecanismos de transferência de átomos de hidrogênio e elétrons. Esse efeito resulta em um aumento da taxa de redução do radical DPPH, refletindo-se em maior capacidade de sequestro de radicais livres, conforme descrito por Schaich, Tian e Xie (2015). Assim, a combinação entre organização nanométrica, elevada área interfacial e modulação do microambiente reacional confere aos sistemas microemulsionados desempenho antioxidante superior quando comparados às formas não estruturadas do óleo essencial.

5.4. Desenvolvimento do Diagrama Pseudo Ternário da Microemulsão

O diagrama de fases pseudoternário foi empregado para a obtenção das formulações, permitindo a identificação das condições experimentais ideais para a combinação dos componentes necessários à formação das microemulsões. As microemulsões foram preparadas a partir do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (OEOG), Tween 80, propilenoglicol e água ultrapura MilliQ. A metodologia adotada baseou-se no método de titulação aquosa, amplamente reconhecido por sua elevada reprodutibilidade.

Durante o procedimento experimental, a água foi adicionada gradualmente em volume total de 500 µL, fracionada em cinco adições sucessivas de 100 µL, sob agitação contínua e controlada. Ao longo da titulação, foram identificados oito pontos correspondentes à formação de sistemas homogêneos, límpidos e translúcidos, característicos de microemulsões, conforme ilustrado na Figura 17. A composição centesimal das formulações obtidas encontra-se apresentada na Tabela 9.

Tabela 9. Composição centesimal das amostras ME1 até ME8 do diagrama pseudoternário de Tween/Propilenoglicol (1:1), óleo de *Ocimum gratissimum* e água.

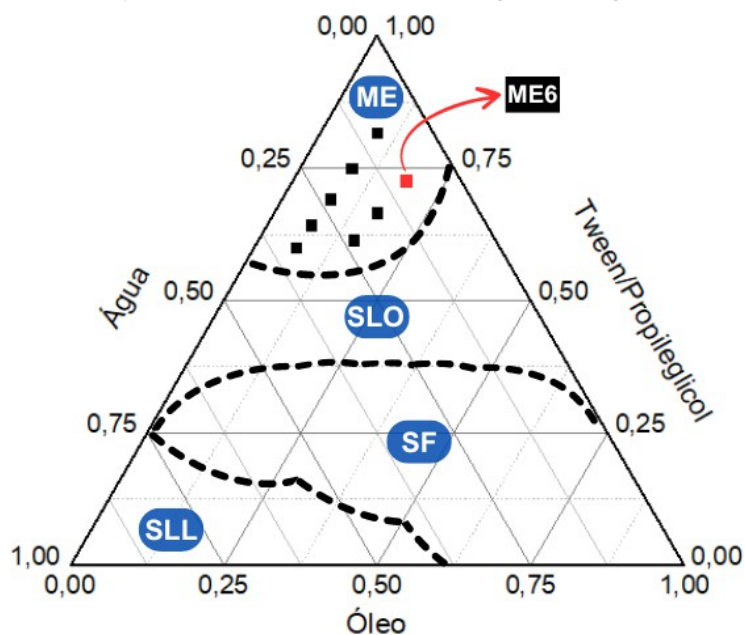
Formulação	Óleo (%)	Tween/Propilenoglicol	Água
ME1	9,1	81,8	9,1
ME2	8,3	75,0	16,7
ME3	7,7	69,2	23,1

ME4	7,1	64,3	28,6
ME5	6,7	60,0	33,3
ME6	18,2	72,7	9,1
ME7	16,7	66,7	16,7
ME8	15,4	61,5	23,1

Fonte: Do próprio autor, 2024

O diagrama de fases pseudoternário do sistema constituído por OEOG, Tween 80, propilenoglicol e água MiliQ (Figura 16) permitiu identificar com precisão as regiões de formação de microemulsões termodinamicamente estáveis, bem como distinguir essas regiões daquelas correspondentes a sistemas instáveis ou bifásicos. Observou-se que formulações contendo proporções superiores a 60% do sistema surfactante cotensoativo apresentaram comportamento de equilíbrio termodinâmico, caracterizado por sistemas homogêneos, límpidos ou translúcidos, típicos de microemulsões. Nessas condições, a elevada concentração de Tween 80 associada ao propilenoglicol foi capaz de reduzir de forma eficiente a tensão interfacial e estabilizar simultaneamente as fases aquosa e oleosa.

Figura 14. Diagrama de fases pseudoternário para o sistema óleo de *Ocimum gratissimum*, tween/propilenoglicol e água.



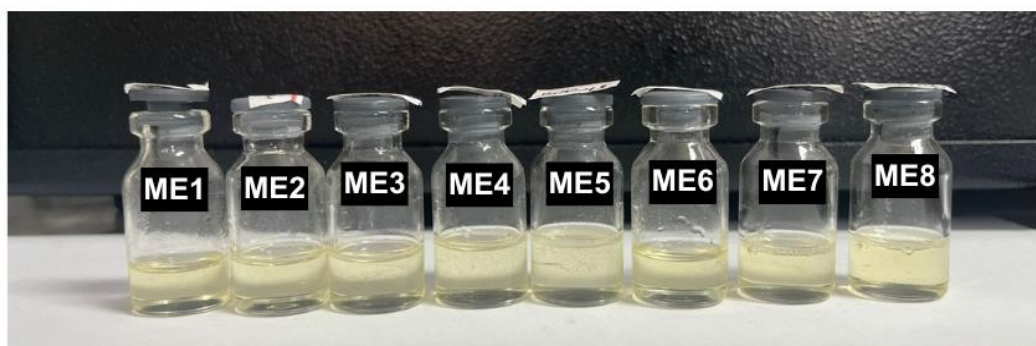
Fonte: Do próprio Autor, 2024.

Legenda: ME = Microemulsão; SLO = Sistema líquido opaco; SLL = Sistema líquido leitoso; SF = Separação de fases; ■ Microemulsão escolhida.

Em contrapartida, quando a concentração do sistema surfactante cotensoativo foi inferior a 60%, verificaram-se sinais de instabilidade, como turvação, formação de sistemas opacos e separação de fases, indicando que essas proporções não foram suficientes para equilibrar elevadas frações de óleo e água no sistema. Esse comportamento evidencia a dependência direta da formação de microemulsões estáveis em relação ao balanço adequado entre óleo, fase aquosa e sistema surfactante cotensoativo, conforme delimitado pelas transições de fase observadas no diagrama pseudoternário (Figura 16).

Com base na análise das regiões monofásicas identificadas no diagrama e na avaliação da estabilidade físico-química das formulações, a composição mais adequada foi selecionada considerando parâmetros como potencial zeta, condutividade elétrica, pH e estabilidade térmica. A formulação escolhida, correspondente ao ponto ME6 indicado na Figura 16, apresentou composição centesimal de 18,2% de fase oleosa, 72,7% de sistema surfactante cotensoativo e 9,1% de fase aquosa. Essa proporção demonstrou elevada estabilidade estrutural e coloidal, justificando sua seleção para os ensaios antimicrobianos subsequentes.

Figura 15. Microemulsões selecionadas através do estudo do diagrama Pseudo Ternário



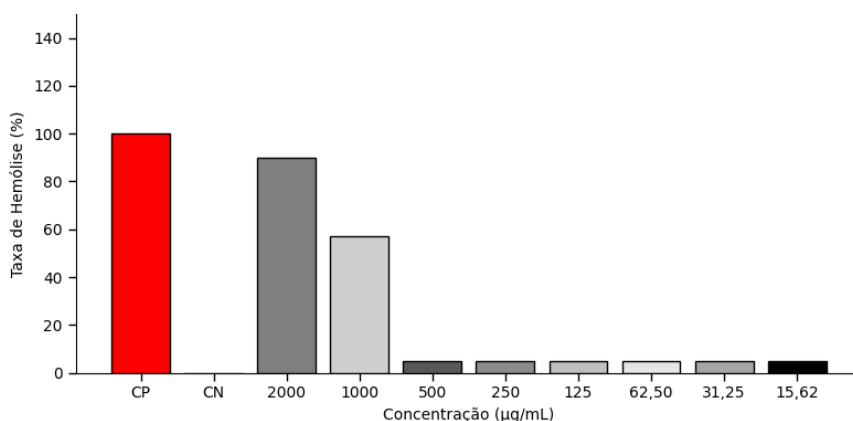
Fonte: Do próprio Autor, 2024.

A forma visual dessas formulações foi bastante característica, pois apresentou um aspecto límpido e translúcido de cor amarelada (Figura 17). Isso mostra que as proporções usadas entre os componentes foram adequadas para diminuir a tensão interfacial na formação dos sistemas. Após 7 (sete) dias de preparação das amostras, as formulações mantiveram o mesmo aspecto inicial e mantiveram tais características durante todo o período de estudo.

5.5. Citotoxicidade via atividade hemolítica

Na análise do perfil de atividade hemolítica do OEOG (Figura 14), observou-se que, nas concentrações de 15,62, 31,25, 62,50, 125, 250 e 500 $\mu\text{g/mL}$, o efeito hemolítico permaneceu baixo e relativamente constante.

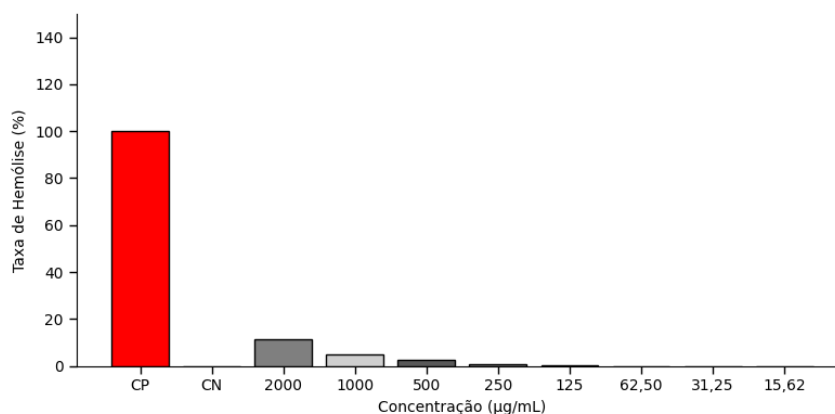
Figura 16. Porcentagem de hemólise promovida por diferentes concentrações do óleo essencial de *Ocimum gratissimum*



Fonte: Do próprio Autor, 2024.

Contudo, nas concentrações mais elevadas, verificou-se um aumento expressivo da hemólise, com valores de 57,11% em 1.000 $\mu\text{g/mL}$ e 90,04% em 2.000 $\mu\text{g/mL}$, indicando perda significativa da hemocompatibilidade do óleo essencial em altas doses. Esse comportamento sugere uma interação direta dos constituintes lipofílicos do óleo com a membrana eritrocitária, levando à desorganização da bicamada lipídica.

Figura 17. Porcentagem de hemólise promovida por diferentes concentrações na ME6.



Fonte: Do próprio Autor, 2024.

Em contraste, o perfil observado para a microemulsão (ME6), conforme ilustrado na Figura 15, evidencia uma redução substancial da atividade hemolítica em todas as concentrações avaliadas. A ME-OG apresentou 10,35% de hemólise em 2.000 µg/mL e 5,27% em 1.000 µg/mL, enquanto nas concentrações de 500, 250 e 125 µg/mL os valores foram 2,67%, 0,94% e 0,11%, respectivamente, não sendo observada hemólise nas concentrações de 62,50, 31,25 e 15,62 µg/mL. Esses resultados demonstram que a microemulsão promoveu uma melhora significativa da hemocompatibilidade quando comparada ao óleo essencial livre, especialmente nas concentrações mais elevadas.

Do ponto de vista toxicológico, Zhang et al. (2019) destacam que amostras que induzem hemólise superior a 10% podem ser consideradas citotóxicas, enquanto valores inferiores a esse limite indicam comportamento hemocompatível. Além disso, normas internacionais para avaliação de biomateriais classificam amostras com hemólise inferior a 2% como não hemolíticas, entre 2% e 5% como levemente hemolíticas e acima de 5% como hemolíticas (ISO, 2017). À luz desses critérios, a ME6 pode ser classificada como não hemolítica a partir de 250 µg/mL e levemente hemolítica em 500 µg/mL, mantendo-se dentro de limites aceitáveis mesmo em 1.000 µg/mL e estatisticamente em 2.000 µg/mL, ao contrário do OEOG, que apresentou elevada citotoxicidade nessas concentrações.

A diferença observada entre o OEOG e a ME6 pode ser atribuída à capacidade da microemulsão de modular a liberação dos compostos bioativos e reduzir o contato direto dos constituintes hidrofóbicos com a membrana das hemácias, minimizando os danos estruturais. Esse efeito é particularmente relevante considerando que compostos fenólicos majoritários do óleo essencial, como o carvacrol, apresentam alta afinidade por membranas biológicas e são frequentemente associados a efeitos hemolíticos dependentes da concentração (ULTEE; BENNIK; MOEZELAAR, 2002; BASER; BUCHBAUER, 2015). Lima (2011) relatou elevadas porcentagens de hemólise associadas ao carvacrol em diferentes sistemas experimentais, reforçando a hipótese de que esse composto seja um dos principais responsáveis pela atividade hemolítica observada no óleo essencial livre.

Nesse contexto, os resultados obtidos demonstram que, embora o OEOG apresente aumento expressivo da hemólise em concentrações elevadas, sua incorporação em sistema microemulsionado promove redução significativa desse efeito, evidenciando maior segurança biológica. A diminuição da hemólise de 57,11% para 5,27% em 1.000 µg mL⁻¹ e

de 90,04% para 10,35% em 2.000 µg mL⁻¹ reforça o potencial da microemulsão como estratégia eficaz para viabilizar o uso terapêutico do OEOG, ampliando sua aplicabilidade com redução substancial do risco citotóxico.

5.6. Caracterização físico-química de microemulsão

A microemulsão de *Ocimum gratissimum* selecionada ME6, representa uma microemulsão tensoativo/óleo/água. Este tipo de microemulsão tende a formar micelas mistas quando em diluição infinita, compostas da fase oleosa contida e dissolvida no interior hidrofóbico da micela (FROMARIZ et al., 2004). O tamanho da partícula da microemulsão, índice de polidispersão e potencial zeta são exibidos na Tabela 10.

Tabela 10. Caracterização da microemulsão formulada com o óleo essencial de *Ocimum gratissimum* e o controle negativo da microemulsão em relação ao tamanho da partícula, índice de polidispersão e potencial zeta.

Microemulsão	Tamanho da partícula (nm)	Índice de polidispersão	Potencial Zeta (mV)	Condutividade (µS/cm)
Controle Negativo	25,17 ± 3.855	0,377 ± 0.083	-29.5	62,4
ME06	43,82 ± 0.319	0,416 ± 0.021	-26.2	76,8

Fonte: Do próprio Autor, 2024.

O tamanho das partículas de microemulsão contendo o OEOG (43,82 nm) foi determinado como previsto na literatura, variando entre 10 e 150 nm (Silva et al., 2009). O índice de polidispersão (PDI) da ME6 obtido foi de 0,416, também em conformidade com a literatura, indicando homogeneidade no tamanho das partículas apresentando valores menores que 0,5 (ÜSTÜNDAĞ OKUR et al., 2011).

O potencial zeta indicou valores negativos tanto para o ME6 quanto para Controle Negativo, de -26,2 mV e -29,5 mV, respectivamente. Sistemas estáveis geralmente possuem potencial zeta igual ou superior a 20 mV (Bose et al., 2013). Esse parâmetro está associado ao óleo e suas partículas ou às cargas de surfactantes/cossurfactantes presentes na microemulsão (Bedin, 2011). A carga negativa pode ser atribuída à presença de ácidos graxos ou indicar a presença de surfactantes não iônicos e cossurfactantes, que

normalmente conferem carga negativa às moléculas às quais estão ligados (Al-Mahallawi et al., 2021). Portanto, a ME6 formulada com surfactantes não iônicos, como Tween 80, aqui utilizado, pode ser estável mesmo com potenciais zeta negativos (Aggarwal et al., 2013).

Alguns estudos empregando surfactantes não iônicos também investigaram valores de potencial zeta negativos. Manzoor et al., (2023) prepararam uma microemulsão com os surfactantes Tween 80 e Propilenoglicol e obtiveram um potencial zeta de -15,46 mV (Lyra, 2019), enquanto a microemulsão obtida do OE extraído de *Ocimum basilicum*, com os surfactantes de uma mistura 2:1 de éter mono-dodecil de decaetilenoglicol (surfactante) e etanol (co- surfactante) relataram - 12,60 mV (VOLPE et al., 2018).

A condutividade elétrica é um critério comumente usado para determinar o tipo de emulsão. Uma ME óleo/água é especificado como um sistema com condutividade superior a 10 $\mu\text{S/cm}$ (LI et al., 2022). A condutividade da ME6 e Controle Negativo foi de 76,8 $\mu\text{S/cm}$ e 62,4 $\mu\text{S/cm}$, respectivamente. De acordo com a classificação citada, este estudo conclui que a ME6 é um sistema de óleo em água. O teste de estabilidade térmica indicou que a estabilidade da ME6 não apresentou alterações.

A densidade da microemulsão (ME6) foi de 0,89 g/mL, e não foi alterada pelo calor do tratamento térmico via forno, enquanto a densidade do Controle Negativo aumentou de 0,92 g/mL para 0,95 g/mL (Tabela 11). Valores semelhantes foram relatados na literatura para um ME obtido de OE de *Ocimum basilicum* (Martins, 2006) e densidade variando de 0,85 a 0,91 g/mL para um microemulsão preparada com OE extraído de *Ocimum gratissimum* (VILANOVA, 2018), e densidade variando de 0,99 a 1,002 g/mL para um nanoemulsão preparada com OE extraído de *Cymbopogon martinii* (Lira, 2019).

Tabela 11. Caracterização da microemulsão formulada com óleo essencial extraído da *Ocimum gratissimum* antes e após teste de estabilidade térmica.

Amostras	Densidade (g/mL)		pH	
	Antes	Depois	Antes	Depois
Controle Negativo	0,92 ± 0	0,95 ± 0,05	6,93 ± 0,22	6,78 ± 0,18
ME6	0,89 ± 0	0,89 ± 0,05	6,42 ± 0,20	5,37 ± 0,06

Fonte: Do próprio Autor, 2024.

A ME6 apresentou valor de pH de 6,42 e o controle negativo de 6,93. Seguindo no teste de estabilidade térmica, o pH do ME6 foi reduzido para 5,37 e o pH do controle negativo, para 6,78. Formulações emulsionadas contendo óleo de noz (*Bertholletia excelsa* H.B.K) também relatou uma diminuição do pH, formulações emulsionadas contendo óleo de *D. stelechantha* também relatou uma diminuição do pH após teste de estabilidade térmica, variando de 7,4 a 5,7 (LOPES et al, 2023). Mesmo com essa diminuição, o pH manteve-se dentro dos padrões físicos e faixa de estabilidade química tanto para formulações quanto para formulações de uso tópico, de 5,5 a 8,0, próximo aos valores de pH da pele. O ME6 obtida aqui é, portanto, compatível com a pele (SILVA et al., 2009).

5.7. Análise da composição da microemulsão

A análise por headspace da microemulsão ME6 permitiu a identificação de 17 constituintes voláteis, correspondendo a 73,91% da composição originalmente descrita para o OEOG (Tabela 12). O perfil químico observado evidencia a manutenção das principais classes de metabólitos presentes no óleo essencial após o processo de incorporação na microemulsão, destacando-se os hidrocarbonetos monoterpênicos (48,63%), seguidos pelos monoterpênicos oxigenados (43,02%) e, em menor proporção, pelos hidrocarbonetos sesquiterpênicos (4,88%).

Os compostos majoritários detectados na ME6 foram carvacrol (40,39%), γ -terpineno (22,51%) e p-cimeno (12,57%), os quais também figuram entre os principais constituintes do OEOG. A elevada proporção desses marcadores químicos na fase volátil da microemulsão indica que o sistema foi eficiente na incorporação do óleo essencial, sem perdas significativas dos compostos bioativos mais relevantes. Esse resultado sugere que a microemulsão atuou como um sistema carregado estável, capaz de solubilizar e preservar compostos hidrofóbicos, particularmente fenóis monoterpênicos como o carvacrol.

Tabela 12. Caracterização da microemulsão obtida de *Ocimum gratissimum* por método headspace de Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massa.

Composto	Classe Química	IRC	IRL	%	Tempo de retenção
α -Tujeno	MH	928	924	2,22	5,360
α - Pineno	MH	934	932	0,86	6,825
β - Pineno	MH	978	974	0,18	8,294

Mirceno	MH	993	988	3,35	8,566
α - Felandreno	MH	1006	1002	0,36	9,031
δ -Careno-3	MH	1012	1008	0,33	9,108
α -Terpineno	MH	1018	1014	2,64	9,688
p-Cimene	MH	1031	1020	12,57	9,849
Limoneno	MH	1032	1024	1,31	10,029
β -Ocimeno	MH	1048	1044	0,72	10,004
γ -Terpineno	MH	1066	1054	22,51	10,148
p-Cimeneno	MH	1091	1089	1,20	10,233
Timol	MO	1234	1232	1,70	10,653
Carvacrol	MO	1198	1204	40,39	10,904
Cariofileno	SH	1421	1417	1,48	11,622
β -Selineno	SH	1490	1489	1,65	11,710
α -Selineno	SH	1497	1498	0,61	12,400
Total identificado			97,12		

Fonte: Do próprio Autor, 2024.

IRC = Índices de retenção calculados a partir dos tempos de retenção; IRL = Índices de retenção linear da literatura (ADAMS 2007).

A presença concomitante de precursores biossintéticos, como γ -terpineno e p-cimeno, reforça a integridade do perfil químico do óleo essencial após a formulação, indicando que não ocorreram transformações químicas relevantes durante o processo de obtenção da microemulsão. Esse aspecto é fundamental, uma vez que a manutenção da composição original está diretamente relacionada à conservação das propriedades biológicas do OEOG. Além disso, a elevada proporção de monoterpenos oxigenados na ME6 é particularmente relevante, uma vez que essa classe de compostos está associada a maior atividade antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória. A incorporação bem-sucedida desses constituintes sugere que a microemulsão pode potencializar a biodisponibilidade e a eficácia biológica do óleo essencial, ao mesmo tempo em que contribui para maior estabilidade físico-química e controle da volatilização.

5.8. Atividade Antimicrobiana

O Controle Negativo não apresentou atividade efetiva diante dos microorganismos testados. A ME6 exibiu atividade antimicrobiana significativa ($p < 0,05$), quando comparado

ao controle negativo e OEOG. As zonas de inibição variaram de 25,8 a 50,9 mm, apresentando forte atividade antimicrobiana contra os microrganismos testados, exceto frente à *Pseudomonas aeruginosa* (11,9 mm), que apresentou perfil de resistência frente à microemulsão. A maior zona de inibição foi observada frente à *Klebsiella pneumoniae* (50,9 mm), seguidos por *Staphylococcus aureus* (35,7 mm) e os fungos *Candida Albicans* e *Candida parapsilosis* (32,2 mm e 28,4 mm, respectivamente). Em geral, a atividade antimicrobiana de uma substância é classificada em diferentes níveis: fraca atividade (zona de inibição \leq 12mm), atividade moderada (12 mm < zona de inibição < 20 mm) e forte atividade (zona de inibição \geq 20 mm) (Rota et al., 2008).

É importante considerar que a fração majoritária do OEOG é composta, em média, por aproximadamente 65% de carvacrol e γ -terpineno. A atividade antimicrobiana desses compostos tem sido amplamente reportada na literatura, sendo atribuída principalmente à sua capacidade de interagir com membranas celulares microbianas, promovendo alterações estruturais e funcionais (Rivas et al., 2010; Sarrazin et al., 2015). Biossinteticamente, o carvacrol e o γ -terpineno são derivados da via dos monoterpênicos fenólicos, tendo como precursores o timol e o p-cimeno, compostos que, de modo geral, coexistem no mesmo óleo essencial, contribuindo para possíveis efeitos sinérgicos na atividade biológica.

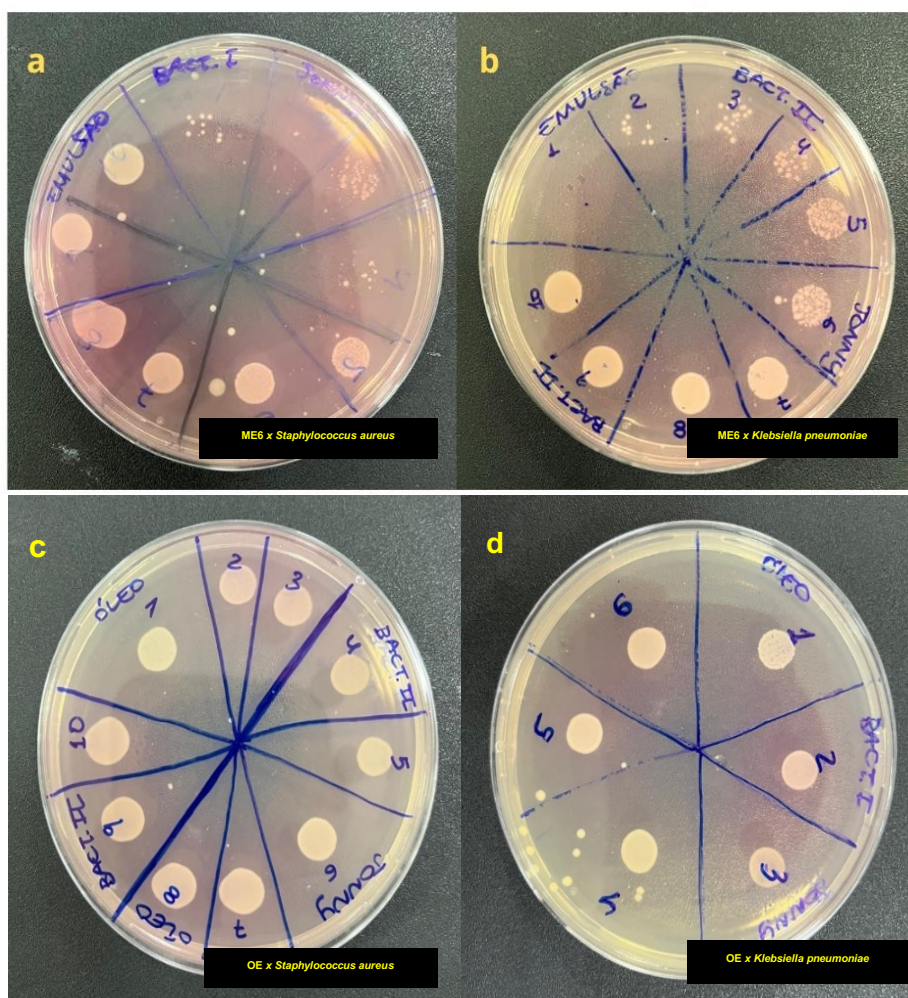
Os resultados da atividade antimicrobiana do OEOG, da microemulsão ME6 e do controle negativo estão apresentados na Tabela 13. A concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida ou fungicida mínima (CBM ou CFM) foram expressas em mg/mL. O OEOG apresentou atividade antimicrobiana moderada frente a *Staphylococcus epidermidis* e *Enterococcus faecalis* (500 mg/mL), além de atividade significativa contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* e *Candida parapsilosis*, também com CIM de 500 mg/mL. Destaca-se ainda a elevada atividade frente a *Klebsiella pneumoniae* (250 mg/mL), resultado superior aos reportados por Joshi (2013), que observou CIM de 2.000 mg/mL, e por Melo et al. (2019), com CIM de 1.000 mg/mL, ambos utilizando óleos essenciais com predominância de eugenol como constituinte majoritário.

Em comparação, a microemulsão ME6 apresentou resultados substancialmente mais promissores, tanto para CIM quanto para CBM, quando comparada ao controle negativo e ao OEOG frente aos micro-organismos avaliados (Tabela 13). Observou-se que

a ME6 exibiu elevada atividade antimicrobiana, com CIM variando entre 15,62 e 31,25 mg/mL frente a *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, além de atividade significativa (125 mg/mL) contra *Staphylococcus epidermidis* e *Enterococcus faecalis*. Esses resultados evidenciam o impacto positivo da microemulsificação na potencialização da atividade antimicrobiana do óleo essencial.

Por meio do ensaio de determinação da concentração bactericida mínima, verificou-se ainda que a ME6 apresentou atividade frente às bactérias *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae* na concentração de 2.000 mg/mL, demonstrando não apenas efeito bacteriostático, mas também atividade bactericida, conforme evidenciado pelas placas de cultivo apresentadas na Figura 18.

Figura 18. Placas do ensaio de concentração bactericida mínima (CBM) da ME6 e do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (OEOG) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.



Fonte: Do próprio Autor, 2024.

A maioria dos trabalhos que avalia atividade antimicrobiana do óleo de *Ocimum gratissimum* e suas formulações, apresenta o eugenol como majoritário. De acordo com Wan et al., (1998) o OEOG demonstra um maior efeito contra as bactérias Gram-positivas. A resistência das bactérias Gram-negativas é atribuída ao seu exterior hidrofílico da membrana que pode bloquear a penetração de compostos hidrofóbicos na membrana celular (INOUYE et al., 2001). Contudo, o grupo metil presente no carvacrol é mais hidrofóbico do que o eugenol; no entanto, o grupo hidroxila do eugenol pode não estar envolvido na ligação de hidrogênio devido a presença do grupo – OMe na posição orto de o eugenol produziu impedimento estérico. Isso pode explicar a atividade antimicrobiana mais fraca do eugenol em relação ao carvacrol contra bactérias e fungos. Os outros componentes fenólicos, embora baixos nos óleos essenciais de *Ocimum gratissimum* e poderiam estar contribuindo para a atividade antimicrobiana, causando vazamento de ATP intracelular e íons de potássio levando à morte celular (ULTEE et al., 1999 & JUVEN et al., 1994).

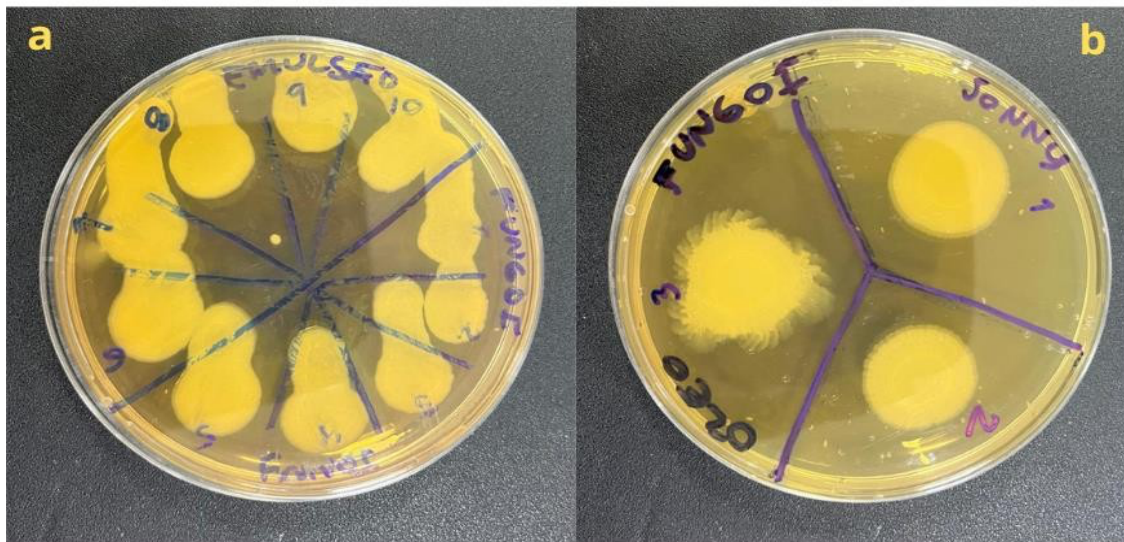
Segundo Silva et al. (2010c), a eficácia da atividade antimicrobiana de carvacrol pode variar em função de seus teores presentes no OE. Entretanto, alguns autores sugerem que a atividade antimicrobiana dos OE é atribuída não somente a presença de compostos fenólicos, pois a presença de outros componentes presentes em baixas concentrações resulta em efeito sinérgico, aditivo ou mesmo interações antagônicas (BASSOLÉ E JULIANI, 2012; PERRICONE, 2015). Há evidências, por exemplo, de que componentes presentes em menor quantidade que os compostos fenólicos, como γ -terpineno e *p*-cimeno, interferem na atividade antimicrobiana por produzirem efeito sinérgico entre os demais componentes (Silva et al., 2010).

Em relação às cepas de fungo, os resultados foram promissores (15,52 mg/ml), diante de *Candida albicans* e *Candida parapsilosis*, a atividade antifúngica tem sido atribuída ao aumento da permeabilidade iônica da membrana celular, inibição da formação de tubo germinativo ou alterações na biossíntese do carvacrol (KHAN et al., 2010; SILVA et al., 2011; FREIRES et al., 2014).

Além disso, a indução de estresse oxidativo, caracterizado pelo excesso de produção de espécies reativas de oxigênio, é também considerada um possível mecanismo de morte fúngica celular. Este efeito foi confirmado após a exposição de *Candida albicans* a

concentrações sub-letais de timol e carvacrol (KHAN et al., 2015). Em relação ao teste de CFM o OEOG e ME6 não apresentaram poder fungicida a frente dos fungos testados (Figura 19).

Figura 19. Placas do teste de atividade de concentração fungicida mínima (CFM) da microemulsão: a) fungo *Candida albicans* ATCC 14053 e b) fungo *parapsilosis* ATCC 22014.

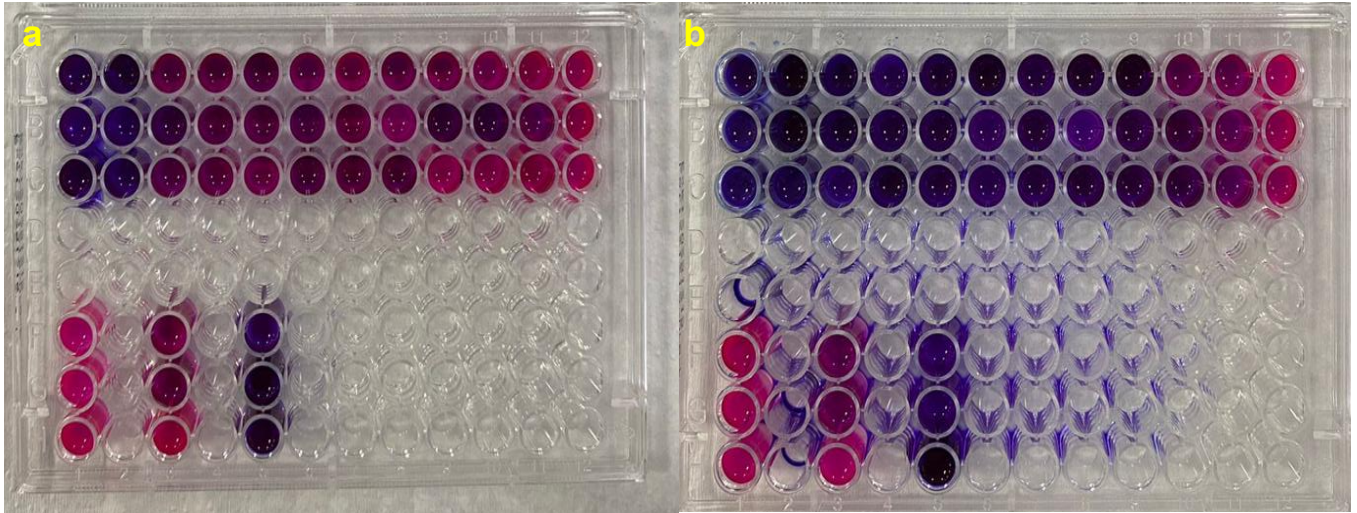


Fonte: Do próprio Autor, 2024.

A atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (OEOG) e da microemulsão foi avaliada por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) frente a cepas do gênero *Staphylococcus*. Conforme apresentado na Figura 20, observam-se diferenças expressivas no perfil de inibição bacteriana entre o óleo essencial isolado e a formulação microemulsionada. A microemulsão contendo OEOG apresentou maior eficiência na inibição do crescimento microbiano, evidenciada pela manutenção da coloração característica de ausência de crescimento bacteriano em concentrações inferiores às observadas para o óleo essencial livre.

Além disso, os resultados demonstram que o processo de microemulsificação favoreceu a dispersão e a estabilidade dos compostos bioativos presentes no óleo essencial, aumentando sua interação com as células bacterianas. Esse comportamento pode estar relacionado à redução do tamanho das gotículas e ao aumento da área de contato da formulação, fatores que contribuem para maior disponibilidade dos compostos antimicrobianos e potencialização da atividade biológica frente às cepas avaliadas.

Figura 20. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo essencial e da microemulsão frente a cepas do gênero *Staphylococcus*: (a) CIM do OEOG frente à bactéria *Staphylococcus epidermidis* ATCC 25924 e (b) CIM da microemulsão contendo OEOG frente à bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



Fonte: Do próprio Autor, 2025.

Tabela 13. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* e sua microemulsão.

Microrganismos	EO-OG			Controle Negativo			ME-OG		
	Zona de Inibição (mm)	CIM (µg/mL)	CBM (µg/mL)	Zona de Inibição (mm)	CIM (µg/mL)	CBM (µg/mL)	Zona de Inibição (mm)	CIM (µg/mL)	CBM (µg/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	22,6	500	-	0,2	-	-	40,7	31,25	2000
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 25924	19,5	1000	-	-	-	-	29,0	125	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299	18,5	1000	-	0,3	-	-	29,2	125	-
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	20,8	500	-	0,4	-	-	30,8	31,25	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	24,7	250	-	-	-	-	50,9	15,62	2000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 50229	11,9	2000	-	-	-	-	17,0	250	-
<i>Candida Albicans</i> ATCC 14053	20,6	500	-	0,2	-	-	32,2	15,62	-
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22014	18,3	500	-	-	-	-	28,4	15,62	-

Fonte: Do próprio Autor, 2024

CONCLUSÃO

Através do estudo sazonal e circadiano do óleo essencial das folhas de *Ocimum gratissimum*, foi possível observar que as condições climáticas possuem influências diretas no rendimento e teor dos constituintes químicos do óleo, já que estes são armazenados em tricomas glandulares na superfície da epiderme foliar e podemos notar a variação ao longo dos valores encontrados.

O rendimento dos óleos essenciais variou significativamente (2,12% - 4,81%), parecendo aumentar em dias quentes e com alta incidência de luz solar (12 e 15 horas) e diminuindo em condições inversas (18 horas), além disso, os altos valores obtidos mostraram-se significativos para produção do óleo essencial em grande escala.

Este estudo demonstrou que o óleo essencial de OEOG possui uma composição química rica e diversificada, com o carvacrol sendo o composto predominante, ao contrário da predominância de eugenol relatada em outros estudos. Todas as amostras apresentaram o carvacrol, o p-cimeno e o γ -terpineno como componentes majoritários, todos derivados do mesmo processo biossintético que ocorre na planta. Apesar disso, houve variações significativas no conteúdo desses constituintes, de forma que, através da combinação dos estudos sazonal e circadiano feitos, é possível programar a coleta do óleo essencial de acordo com o interesse químico a ser aplicado.

O estudo demonstrou que a atividade antioxidante do óleo é dose-dependente, sendo que as maiores concentrações apresentaram uma capacidade de sequestro superior ao antioxidante padrão Trolox. Essa eficácia pode ser atribuída à presença de compostos bioativos como carvacrol, p-cimeno e γ -terpineno, que, juntos, conferem ao óleo essencial uma alta capacidade antioxidante. Tais resultados reforçam o potencial do óleo como uma alternativa natural aos antioxidantes sintéticos, oferecendo benefícios relevantes para aplicações farmacêuticas e cosméticas.

A formulação e caracterização da microemulsão OEOG mostraram-se promissoras em termos de estabilidade e eficiência. O sistema microemulsionado, com seu índice de polidispersão (PDI) da ME6 de 0,416 indicando homogeneidade no tamanho das partículas, potencial zeta negativo (-26.2 mV) e alta condutividade (76,8 μ S/cm), revelou uma estrutura estável, adequada para manter as propriedades físico-químicas ao longo do tempo. A

análise do comportamento de fase e a estabilidade térmica reforçam a viabilidade do uso da microemulsão em formulações farmacêuticas e cosméticas, potencializando a eficácia do óleo essencial como agente antioxidante.

Os resultados obtidos sobre a citotoxicidade, com baixos índices de hemólise em baixas concentrações (15,62, 31,25, 65,50, 125, 250 e 500 µg/mL), sugerem que o OEOG incorporado em uma microemulsão pode ser utilizado com baixo risco. O OEOG apresentou atividade hemolítica dependente de concentração sobre os eritrócitos sanguíneos até a concentração de 1.000 µg/mL. Na avaliação da taxa de hemólise, o OEOG apresentou elevada toxicidade nas concentrações de 2.000 e 1.000 µg/mL, com percentuais de hemólise de 90,04% e 57,11%, respectivamente. Entretanto, nas demais concentrações avaliadas, os valores de hemólise foram significativamente menores, indicando redução da toxicidade em concentrações mais baixas.

Esses dados são fundamentais para o desenvolvimento de produtos seguros e eficazes, sendo o estudo uma base significativa para futuras pesquisas e inovações no uso de óleos essenciais em diversos setores.

A adição deste óleo em microemulsões (ME6) aprimorou suas propriedades antimicrobianas, confirmando a eficácia da ME-OG contra uma variedade de microrganismos, incluindo bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, bem como cepas de fungos. Os resultados mostram que a ME6 com OEOG não apenas conservaram os compostos ativos do óleo, mas também aumentaram a sua biodisponibilidade, melhorando a eficácia antimicrobiana e apresentando uma possibilidade promissora para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy, 4th ed. Allured Publishing Corporation: Carol Stream, Illinois, 804p. 2007.
- AGGARWAL A, PANDURANGI A, SMITH W. Disparities in breast and cervical cancer screening in women with mental illness: a systematic literature review. Am J Prev Med. Apr;44(4):392-398, 2013.
- AHMAD, A.; KHAN, A.; AKHTAR, F.; YOUSUF, S.; XESS, I.; KHAN, L.A.; MANZOOR, N. 49 Fungicidal activity of thymol and carvacrol by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity against *Candida*. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 30:41-50, 2011.
- AHMADI-SEFAT, A.; TAHERPOUR, K.; GHASEMI, H. A.; GHARAEI, M. A.; SHIRZADI, H.; ROSTAMI, F. Effects of an emulsifier blend supplementation on growth performance, nutrient digestibility, intestinal morphology, and muscle fatty acid profile of broiler chickens fed with different levels of energy and protein. Poultry Science, 101(11):102145, 2022.
- AKAGI. T.; BABA, M.; AKASHI, M. Biodegradable nanoparticles as vaccine adjuvants and delivery systems: regulation of immune responses by nanoparticle-based vaccine. Adv Polym Sci. 247: 31–64, 2012.
- AKBAR, S. *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae). In: Handbook of 200 Medicinal Plants. Springer, Cham, p. 1327-1338, 2020.
- ALLEN JR., L. V.; ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. 9. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.
- AL-MAHALLAWI, A. M.; AHMED, D.; HASSAN, M.; EL-SETOUHY, D. A. Enhanced ocular delivery of clotrimazole via loading into mucoadhesive microemulsion system: In vitro characterization and in vivo assessment. J. Drug Delivery Sci. Technol. 2021
- ALVES, M. N., et al. Obtenção e quantificação de óleos essenciais de *Thymus vulgaris* e *Ocimum gratissimum* pelos métodos de extração por arraste a vapor e hidrodestilação de bancada. Sínteses: Revista Eletrônica do Sim.Tec. Vol. 1, 3, 2016.
- ARAUJO, Márcio Martins de; LONGO, Priscila Larcher. Teste da ação antibacteriana in vitro

de óleo essencial comercial de *Origanum vulgare* (orégano) diante das cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. *Arq. Inst. Biol.*, v. 83, 2016.

ARCHANA, V.; REMESH, A.; RAVEENDRAN, K.; BINCY, V. S.; WAGH, S. G.

AZEVEDO, P. M.; GARCIA, S. M.; COSTA, R. R. et al. Antifungal activity of microemulsions containing *Ocimum gratissimum* essential oil against *uffg*. *Journal of Applied Microbiology*, v. 129, n. 2, p. 563-572, 2020.

BASSOLÉ, I.H.N.; JULIANI, H.R. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*, 17: 3989-4006, 2012.

BENINI, P. C. et al. Efeito in vitro do óleo essencial e extrato aquoso de *Ocimum gratissimum* colhido nas quatro estações do ano sobre fitopatógenos. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 77, p. 677-683, 2021.

BIZZO, H. R.; REZENDE, C. M. O mercado de óleos essenciais no Brasil e no mundo na última década. *Química Nova*, v. 45, p. 949-958, 2022.

BOTELHO, M.A.; BASTOS, G.M.; MONTENEGRO, D.; HEUKELBACH, J.; RAO, V.S. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 40: 349- 356, 2007.

BOUZIDI, L. E.; JAMALI, C. A., BEKKOUCHE, K.; HASSANI, L.; WOHLMUTH, H.; LEACH, D.; ABBAD, A. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils obtained from wild and cultivated Moroccan *Thymus* species. *Industrial Crops and Products*, 43: 450-456, 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Farmacopeia brasileira*. 7. ed. Brasília: ANVISA, 2024. v. 1. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br>. Acesso em: 25 maio 2026.

BRITO, G. S.; NASCIMENTO, I. de. O.; CATUNDA JÚNIOR, F. E. A. Avaliação do potencial antifúngico do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* contra *Fusarium oxysporum* f. sp *tracheiphilum*. *Revista Eletrônica Científica Ensino Interdisciplinar*. Mossoró, v. 10, n. 32, 2024

BURT, S. A.; VLIELANDER, R.; HAAGSMAN, H. P.; VELDHUIZEN, E. J. A. Increase in activity of essential oil components carvacrol and thymol against *Escherichia coli* O157:H7

by addition of food stabilizers. *Journal of Food Protection*, 68: 919-926, 2005.

BURT, S.A; VAN DER ZEE, R.; KOETS, A.P.; DE GRAAFF, A.M.; VAN KNAPEN; GAASTRA, W.; HAAGSMANN, H.P.; VELDHUIZEN, E.J.A. Carvacrol induces heat shock protein 60 and inhibit synthesis of flagellin in *Escherichia coli* O157:H7. *Applied and Environmental Microbiology*, 73: 4484-4490, 2007.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods — a review. *International Journal of Food Microbiology*, v. 94, n. 3, p. 223–253, 2004.

CASTILHO, T. H.; CARNICEL, C. Avaliação da estabilidade e atividade antimicrobiana de microemulsão de óleo de girassol associada a óleo essencial de melaleuca. 547 *Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações*, 2021.

CHAGAS, E. C.; BRANDÃO, F. R.; FARIAS, C. F. S.; MONTEIRO, P. C.; DOS SANTOS BATISTA, E.; DE MELO SOUZA, D. C.; INOUE, L. A. K. A. Alterações fisiológicas em juvenis de tambaqui transportados em solução de óleo essencial de *Ocimum gratissimum*. *Agrarian*, 14(51), 102-111, 2021.

CHAUD N. G.; FRANÇA E. L.; RIBEIRO E. B.; PESSOA R. S.; LANES P. K.; HONORIO-FRANÇA, A. C. Development and characterization of a neomaterial based microemulsion as a vehicle of *Lippia sidoides*. *SODEBRAS*, 2014.

CHEN, X. et al. Antioxidant activities of essential oils and their major components in scavenging free radicals, inhibiting lipid oxidation and reducing cellular oxidative stress. *Molecules*, v. 28, n. 11, p. 4559, 2023.

CHEN, X.; SHANG, S.; YAN, F.; JIANG, H.; ZHAO, G.; TIAN, S.; CHEN, R.; CHEN, D.; DANG, Y. Antioxidant activities of essential oils and their major components in scavenging free radicals, inhibiting lipid oxidation and reducing cellular oxidative stress. *Molecules*, v. 28, n. 11, p. 4559, 2023.

CHIMNOI, N. et al. Characterization of essential oil from *Ocimum gratissimum* leaves: Antibacterial and mode of action against selected gastroenteritis pathogens. *Microbial pathogenesis, England*, v. 118, p. 290-300, 2018.

CLS. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically: Approved Standard, 10th ed.; CLSI document M07-A10; Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, USA, 2015.

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 10. ed. Wayne, PA: CLSI, 2015.

COSTA, R. et al. Produtos naturais e seus derivados: propriedades farmacológicas e potencial aplicação no tratamento da asma alérgica. *Avanços da Pesquisa em Imunologia na Bahia*, p. 139, 2019.

COULIBALY, A. et al. Composition, physico-chemical and antioxidant properties of *Ocimum gratissimum* L. essential oil from Burkina Faso. *Journal of Applied Biological Sciences*, v. 17, n. 3, p. 486-499, 2023.

COULIBALY, A.; SAWADOGO, I.; TOÉ, M.; HEMA, M. D.; BATIONO, K. R.; KIENDREBEOGO, M.; NÉBIÉ, C. R. Composition, physico-chemical and antioxidant properties of *Ocimum gratissimum* L. essential oil from Burkina Faso. *Journal of Applied Biological Sciences*, v. 17, n. 3, p. 486-499, 2023.

DAMASCENO, B.P.G.L.; SILVA, J.A.; OLIVEIRA, E. E.; SILVEIRA, W.L.L.; ARAÚJO, I.B.; OLIVEIRA, A.G.; EGITO, E.S.T. Microemulsão: um promissor carreador para moléculas insolúveis. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, v, 32, n.1, p. 9-18, 2011.

DASTAGER, C. S.; VIVEK, B. Insights on biorational potential of *Ocimum gratissimum* essential oil and its binary combination with monoterpene phenol for control of rice weevil (*Sitophilus oryzae*) and aflatoxigenic fungi., *Food Bioscience*, Volume 50, Part A, 2022.

DE ALMEIDA, J. C.; DE ALMEIDA, P. P.; GHERARDI, S. R. M. Potencial antimicrobiano de óleos essenciais: uma revisão de literatura de 2005 a 2018. *Nutr. Time*, v. 17, n. 01, p. 8623-8633, 2020.

DE HARO MORENO, A. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana e citotoxicidade hemolítica em diferentes extratos vegetais. *Arquivos de Ciências Da Saúde*, v. 25, n. 1, p. 11-12, 2018.

DIMAS, A. V. S. Quitosana fúngica associada a óleos vegetais na preservação do caju: estudo comparativo entre óleos de licuri (*Syagrus coronata*) e tomilho (*Thymus vulgaris*). 2023. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 2023.

DUARTE, D. S. Preparação de formulação sanitizante à base de óleo essencial nanoencapsulado visando o controle de doenças em caprinos e ovinos. 2022.

DUBEY, N. K.; KISHORE, N.; VARMA, J.; LEE, S. Y. Cytotoxicity of the essential oils of *Cymbopogon citratus* and *Ocimum gratissimum*. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 59, p. 263-264, 1997.

DUBEY, N.K.; TIWARI, T. N.; MANDIN, D.; ANDRIAMBOAVONJY, H.; CHAUMONT, J. P. Antifungal properties of *Ocimum gratissimum* essential oil (ethyl cinnamate chemotype). Fitoterapia, v. 71, p. 567 – 569, 2000.

DUNG, P. N. T. et al. Extraction and analysis of chemical composition of *Ocimum gratissimum* L essential oil in the North of Vietnam. In: IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. IOP Publishing, 2021. p. 012092.

EZEORBA, T. P. C.; CHUKWUMA, I.F.; ASOMADU, R. O.; CHINEDU, W. F. Health and therapeutic potentials of *Ocimum* essential oils: a review on isolation, phytochemistry, biological activities, and future directions, Journal of Essential Oil Research, 36:3, 271-290, 2024.

FALLEH, H. et al. Essential oils: A promising eco-friendly food preservative. Food Chemistry, Barking, v. 330, p. 127268, 2020.

FERNANDES, V. F.; ALMEIDA, L. B.; FEIJÓ, E. V. R. da S.; SILVA, D. da C.; OLIVEIRA, R. A. de; MIELKE, M. S.; COSTA, L. C. do B. Light intensity on growth, leaf micromorphology and essential oil production of *Ocimum gratissimum*. Brazilian Journal of Pharmacognosy, 23(3): 419 – 424, May/Jun. 2013.

FERNANDES, V. F.; ALMEIDA, L. B.; FEIJÓ, E. V. R. S.; SILVA, D. C.; OLIVEIRA, R. A.; MIELKE, M. S.; COSTA, L. C. B. Light intensity on growth, leaf micromorphology and essential oil production of *Ocimum gratissimum*. Brazilian Journal of Pharmacognosy, Amsterdã, v. 23, n. 3, p. 419-424, 2013.

FLORA DO BRASIL. Lamiaceae. Disponível em: Acesso em: 7 Mar 2024.

FORMARIZ, T. P.; URBAN, M. C. C.; SILVA JÚNIOR, A. A.; GREMIÃO, M. P. D.; OLIVEIRA, A. G. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences vol. 41, n. 03, jul./set., 2005.

FRANCO, A. L. P.; OLIVEIRA, T. B.; FERRI, P. H.; BARA, M. T. F.; PAULA, J. R. Avaliação da composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Aloysia*

gratissima (Gillies & Hook) Tronc. (Alfazema), *Ocimum gratissimum* L. (Alfavaca-cravo) e *Curcuma longa* L. (Açafrão). Revista Eletrônica de Farmácia, vol. IV (2), 2007.

FREIRE, C. M.; MARQUES, M. O.; COSTA, M. Effects of seasonal variation on the central nervous system activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. Journal of Ethnopharmacology, 105(1-2):161-166, 2006.

FREIRES, I.A.; MURATA, R.M.; FURLETTI, V.F.; SARTORATTO, A.; ALENCAR, S.M.; FIGUEIRA, G.M.; RODRIGUES, J.A.O.; DUARTE, M.C.T.; ROSALEN, P.L. Coriandrum sativum L. (Coriander) essential oil: Antifungal activity and mode of action on *Candida* spp., and molecular targets affected in human whole-genome expression. Plos One, 9: e99086, 2014.

GOMES, L. K. M. Fibras de PBAT com óleo de canela produzidas por fiação por sopro em solução (SBS): caracterização e estudo antimicrobiano. 2023. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

GONÇALVES, T. S. da S. Desenvolvimento de fluidos de perfuração poliméricos a base de microemulsões e avaliação de suas propriedades. 2018. Dissertação de Mestrado. Brasil.

GOV.BR. Monografia da espécie *Ocimum gratissimum* L. (alfavaca-cravo). Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), 2017.

GRAMPUROHIT, N.; RAVIKUMAR, P.; MALLYA, R. Microemulsions for Topical Use – A Review. Indian Journal of Pharmaceutical Resourch and Education, v. 45, n. 1, p. 100-107 Jan./Mar. 2011.

GRANADOS, M. et al. Microencapsulation/nanoemulsion of *Ocimum gratissimum* essential oil improves antioxidant activity and reduces hemolytic toxicity. 2024.

GRIN-GLOBAL. Taxon: *Ocimum gratissimum* L. 2018. Disponível em: Acesso em: 13 Mai 2019.

HZOUNDA, J. B. F. et al. Industrial Crops and Products, Netherlands, v. 80, p. 101- 108, 2016.

IKOKIDE, D. O. et al. Essential oil yield and composition of *Ocimum gratissimum* from Vietnam. Asian Journal of Plant Science, 2025.

INOUYE, S.; YAMAGUCHI, H.; TAKIZAWA, T. Screening of the antibacterial effects of

variety of essential oils on respiratory tract pathogens, using a modified dilution assay method. *J Infect Chemother.* 7: 251-4, 2001.

ISO – International Organization for Standardization. ISO 10993-4: Biological evaluation of medical devices – Part 4: Selection of tests for interactions with blood. Geneva: ISO, 2017.

JOSHI, R. K.; et al. Antioxidant activity influenced by seasonal variation of essential oil constituents of *Ocimum gratissimum* L. *ACS Food Science & Technology*, v. 1, p. 1661-1671, 2021.

JUVEN B.J.; KANNER, J.; SCHUED, F.; WEISSLOWICZ, H. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *J Appl Bacteriol*, 76:626-31, 1994.

KANWAR, J. R.; MOHAN, R. R.; KANWAR, R. K.; ROY, K.; BAWA, R. Applications of aptamers in nanodelivery systems in cancer, eye and inflammatory diseases. *Nanomedicine (London)*, 5(9):1435-1445, 2010.

KALEGARI, M.; MIGUEL, M. D.; DIAS, J. F. G.; LORDELLO, A. L. L.; LIMA, C. P.; MIYAZAK, C. M. S.; ZANIN, S. M. W.; VERDAM, M. C. S.; MIGUEL, O. G.; Phytochemical Constituents and Preliminary Toxicity Evaluation of Leaves from *Rourea Induta* Planch. (Connaraceae). *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 47, n. 3, p. 635-642, 2011.

KAUR, G.; SINGH, S.; CHAUHAN, N. S. et al. Formulation and evaluation of microemulsions for enhanced antimicrobial activity of tea tree oil. *Journal of Essential Oil Research*, v. 28, n. 1, p. 1-10, 2016.

KHAN, A.; AHMAD, A.; AKHTAR, F.; YOUSUF, S.; XESS, I.; KHAN, L.A.; MANZOO, N. *Ocimum sanctum* essential oil and its active principles exert their antifungal activity by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity. *Research in Microbiology*, 161: 816- 823, 2010.

KHAN, A.; AHMAD, A.; KHAN, L.A. PADOA, C.J.; VAN VUUREN, S.; MANZOO, N. Effect of two monoterpene phenols on antioxidant defense system in *Candida albicans*. *Microbial Pathogenesis*, 80: 50-56, 2015.

KHAN, M., KHAN, S. T., KHAN, N. A., MAHMOOD, A., AL-KEDHAIRY, A. A., & ALKHATHLAN, H. Z. (2018). The composition of the essential oil and aqueous distillate of *Origanum vulgare* L. growing in Saudi Arabia and evaluation of their antibacterial activity.

Arabian Journal of Chemistry, 11(8), 1189-1200, 2018.

KOBA, K.; POUTOULI, P. W.; RAYNAUD, C.; SANDA, K. Antifungal Activity of Essential Oils from *Ocimum gratissimum* L. grown in Togo. Journal of Scientific Research. ISSN: 2070-0237. 164 – 171. 2009.

KREILGAARD, M. Influence of microemulsion on cutaneous drugs delivery. Adv Drug Deliv Rev.; 54: 77–98, 2002.

KRONBERG, B.; LINDMAN, B. Surfactants and polymers in aqueous solution; John Wiley & Sons Ltd.: Chichester, 2003.

KUMAR, A.; LAL, R. K. The consequence of genotype × environment interaction on high essential oil yield and its composition in clove basil (*Ocimum gratissimum* L.). Acta Ecologica Sinica, Beijing, 2021.

LAWRENCE, M.J.; REES G. D. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. Adv Drug Deliv Rev.; 64: 175–193, 2000.

LI, Y.; HU, K.; HUANG, C.; HU, Y.; JI, H.; LIU, S.; Gao, J. Improvement of solubility, stability and antioxidant activity of carotenoids using deep eutectic solvent-based microemulsions. Colloids Surf., B 2022, 217, No. 112591.

LIMA, M. S. Avaliação da atividade biológica de compostos majoritários de óleos essenciais sobre eritrócitos humanos. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

LISBOA, C. F. et al. Chemical composition of *Lippia origanoides* Kunt. and *Ocimum gratissimum* L. essential oils stored at – 20° C. Industrial Crops and Products, Netherlands, v. 151, p. 112485, 2020.

LOPES, A. C. C. B.; CAMARA, M. B. P.; ALDILENE L. S.; NASCIMENTO, M. O.;

MACEDO, J. B. et al. Atividade antimicrobiana de quitosanas e seus derivados: Influência das características estruturais. Química Nova, v. 45, n. 06, p. 690-704, 2022.

MAIA, T. F.; DONATO; A, FRAGA, M. Atividade antifúngica de óleos essenciais de plantas. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, v. 17, n. 1, p. 105-116, 2015.

MARCOLINA, M. Óleos essenciais: estudo de extração e atividade antimicrobiana. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) – Universidade Tecnológica

Federal do Paraná, Departamento de Química, Pato Branco, 2021.

MARTINS, J. R. Aspectos da germinação de sementes e influência da luz no desenvolvimento, anatomia e composição química do óleo essencial em *Ocimum gratissimum* L. 2006. 176f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Minas Gerais, 2006.

MBEGBU, N. N.; NWAJINKA, C. O.; AMAEFULE, D. O. Thin layer drying models and characteristics of scent leaves (*Ocimum gratissimum*) and lemon basil leaves (*Ocimum africanum*). Heliyon, London, v. 7, n. 1, p. e. 05945, 2021.

MCFARLAND, J. Standardization of bacterial culture for the disc diffusion assay. J Am Med Assoc. 1987; 49: 1176-8

MELO, E. C. et al. Chemical composition and antifungal activity of *Ocimum gratissimum* essential oil. Journal of Applied Biosciences, 2019.

MELO, R.S.; ALBUQUERQUE AZEVEDO, Á.M.; GOMES PEREIRA, A.M.; ROCHA, R.R.; BASTOS CAVALCANTE, R.M.; CARNEIRO MATOS, M.N.; RIBEIRO LOPES, P.H.; GOMES, G.A.; SOARES RODRIGUES, T.H.; SANTOS, H.S.D. Chemical Composition and Antimicrobial Effectiveness of *Ocimum gratissimum* L. Essential Oil Against Multidrug-Resistant Isolates of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Molecules, 2019.

MITH, H., YAYI-LADÉKAN, E., SIKA KPOVIESSI, S. D., YAOU BOKOSSA, I., MOUDACHIROU, M., DAUBE, G., & CLINQUART, A. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils of *Ocimum basilicum*, *Ocimum canum* and *Ocimum gratissimum* in Function of Harvesting Time. Journal of Essential Oil-Bearing Plants, 1413–1425, 2016.

MOHR F.B.; LERMEN, C.; GAZIM, Z.C.; GONÇALVES J.E.; ALBERTON, O. Antifungal activity, yield, and composition of *Ocimum gratissimum* essential oil. Genet Mol Res. Mar 16;16(1), 2017.

MOHR, A. S. et al. Antifungal activity of *Ocimum gratissimum* essential oil from Mossoró, RN. Revista Brasileira de Farmacognosia, 2017.

MONTEIRO, A. R. P. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais. 2015. Monografia (Graduação em Ciências da Saúde) – Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde, Porto, 2015.

NASCIMENTO, A.; PRADE, A. C. K. Aromaterapia: o poder das plantas e dos óleos essenciais. Recife: Fiocruz-PE, 2020.

NAZZARO, F. et al. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, v. 6, n. 12, p. 1451–1474, 2013.

NAZZARO, F.; FRATTA, A.; MASTROGIOVANNI, N. et al. Antimicrobial activity of microemulsions containing essential oils of *Ocimum gratissimum* against pathogenic bacteria. *Phytotherapy Research*, v. 33, n. 8, p. 2115-2123, 2019.

NGANTENG, D.; et al. Cytotoxicity and apoptotic induction of metabolites isolated from *Ocimum gratissimum* in cancer cell lines, 2022.

OJEWUMI, M.E.; OBANLA, O.R.; ATAUBA, D.M. A review on the efficacy of *Ocimum gratissimum*, *Mentha spicata*, and *Moringa oleifera* leaf extracts in repelling mosquito. *Beni-Suef Univ. J. Basic Appl Sci* 10, 87, 2021.

OLIVEIRA, L. D. S., SILVA, L. C. D., SARAIVA, S. H., & PARREIRA, L. (2023). Influência do pré-tratamento banho de ultrassom e da secagem com intervalos de descanso no rendimento e composição do óleo essencial de Alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), 2023.

ONYEBUCHI, C.; KAVAZ, D. Effect of extraction temperature and solvent type on the bioactive potential of *Ocimum gratissimum* L. extracts. *Sci Rep* 10, 21760, 2020.

ORLANDA, J. F. F.; BIANCA, C. B. S. C. Atividade antioxidante e fotoprotetora do extrato etanólico de *Ocimum gratissimum* L. (alfavaca, Lamiaceae). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, v. 23, n. 3, 2018.

OTZEN, D. E. Biosurfactants and surfactants interacting with membranes and proteins: same but different? *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes*, v. 1859, n. 4, p. 639-649, 2017.

OTZEN, D. E. Biosurfactants and surfactants interacting with membranes and proteins: same but different? *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes*, v. 1859, n. 4, p. 639-649, 2017.

PALFI, M.; KONJEVODA, P.; VRANDEČIĆ, K. Antifungal activity of essential oils on mycelial growth of *Fusarium oxysporum* and *Bortyitis cinerea*. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, p. 544-554, 2019

PARK, J.-B.; CHOI, B.-K.; KANG, C.-Y. Effects of absorbent materials on a self- emulsifying drug delivery system for a poorly water-soluble drug. J. Pharm. Invest. 2015, 45 (6), 529–539.

PASSOS, M. G.; CARVALHO, H.; WIEST, J. M. Inibição e inativação in vitro de diferentes métodos de extração de *Ocimum gratissimum* L. (“alfavacão”, “alfavaca”, “alfavaca-cravo”) - Labiatae (Lamiaceae), frente a bactérias de interesse em alimentos. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu, v.11, n.1, p.71-78, 2009.

PEREIRA, S. A. Nanocápsulas de amido via nanoemulsões múltiplas como carreadores de drogas lipofílicas. 2019.

PERRICONE, M.; ARACE, E.; CORBO, M.R.; SINIGAGLIA, M.; BEVILACQUA, A. Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. Frontiers in Microbiology, 6: 1-7, 2015.

PESSOA, R. F., et al. Microemulsion of babassu oil as a natural product to improve human immune system function. Drug Design, Development and Therapy, 9, 21-31, 2015.

PESTANA, K. C. Microemulsões biocompatíveis de anfotericina B para administração oral: estudo estrutural, liberação in vitro e farmacocinética pré-clínica. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2009.

PODSIEDLIK, M.; MARKOWICZ-PIASECKA, M.; SIKORA, J. Erythrocytes as model cells for biocompatibility assessment, cytotoxicity screening of xenobiotics and drug delivery. Chemico-Biological Interactions, v. 332, p. 109305, 2020.

PODSIEDLIK, M.; MARKOWICZ-PIASECKA, M.; SIKORA, J. Erythrocytes as model cells for biocompatibility assessment, cytotoxicity screening of xenobiotics and drug delivery. Chemico-Biological Interactions, v. 332, p. 109305, 2020.

PRABHU, K. S.; LOBO, R.; SHIRWAIKAR, A. A.; SHIRWAIKAR, A. *Ocimum gratissimum*: a review of its chemical, pharmacological and ethnomedicinal properties. The Open Complementary Medicine Journal, v. 1, p. 1-15, 2009.

PRADO, J. C. S. Desenvolvimento, caracterização e avaliação antifúngica de nanoemulsões contendo óleo essencial de *Lippia origanoides* Kunth frente a *Candida albicans* na forma planctônica e de biofilme. 2023.

PRIYANKA, C., SHIVIKA, S., VIKAS, S. *Ocimum gratissimum*: A Review on Ethnomedicinal Properties, Phytochemical Constituents, and Pharmacological Profile. In: Kumar, N. (eds) *Biotechnological Approaches for Medicinal and Aromatic Plants*. Springer, Singapore, 2018.

REARDON, J. T.; SANCAR, A. Nucleotide excision repair. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, 79:183–235, 2005.

RAMBO, M. K. D. et al. Efeito do surfactante catiônico nas propriedades físico-químicas e antibacteriana de sistemas coloidais (emulsões e microemulsões). *Brazilian Journal of Biology*, v. 84, p. e278013, 2024.

REFLORA. *Ocimum gratissimum* L. Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2024. Disponível em: Acesso em: 3 nov. 2025.

REIS, J. B.; FIGUEIREDO, L. A.; CASTORINI, G. M.; VEIGA, S. M. O. M. Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais contra patógenos alimentares. *Brazilian Journal of Health Review*, v. 3, n. 1, p. 342-363, 2020.

RIBEIRO, I. R. et al. Própolis verde brasileira e terapia fotodinâmica antimicrobiana: caracterização, avaliação in vivo e desenvolvimento de microemulsão para o tratamento de infecções intradérmicas causadas por *Staphylococcus aureus*. 2024.

RIVAS, L.; MCDONNELL, M. J.; BURGESS, C. M.; O'BRIEN, M.; NAVARRO-VILLA, A.; FANNING, S.; DUFFY, G. Inhibition of verocytotoxigenic *Escherichia coli* in model broth and rumen systems by carvacrol and thymol. *International Journal of Food Microbiology*, 139: 70-78, 2010.

RODRIGUES, A. P.; ANDRADE, L. H. C. Levantamento etnobotânico das plantas medicinais utilizadas pela comunidade de Inhamã, Pernambuco, Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, v. 16, p. 721-730, 2014.

ROTA, M.C.; et al. antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control*, v. 19, p. 681-687, 2008.

SAMPAIO, M. G. V. Avaliação do perfil fitoquímico e antiparasitário dos óleos essenciais extraídos de espécies *Eugenia* provenientes da Caatinga. 2019.

SANTANA, D. S. de M. et al. Obtenção de óleo essencial de alfavaca (*Ocimum gratissimum*) em diferentes partes da planta. 2018.

SANTOS, V. C. T. Caracterização e avaliação da atividade antimicrobiana de nanomateriais engenheirados com propriedade anti-incrustante sobre microrganismos isolados de ambiente marinho. 2021.

SAROJA C.H.; LAKSHMI P.K.; BHASKARAN S. Recent trends in vaccine delivery systems: a review. *Int J Pharm Investig.* 2011; 1: 64–74.

SARRAZIN, S.L.F.; SILVA, L.A.; ASSUNÇÃO, A.P.F.; OLIVEIRA, R.B.; CALAO, V.Y.P.; SILVA, R. STASHENKO, E.E.; MAIA, J.G.S.; MOURÃO, R.H.V. Antimicrobial and seasonal evaluation of the carvacrol-chemotype oil from *Lippia organoides* Kunth. *Molecules*, 20: 1860-1871, 2015.

SAWAZAKI, Y. M. Avaliação da estabilidade e atividade antimicrobiana de nanoemulsões contendo o óleo essencial de *Cinnamomum cassia*. 2023.

SCIENTIA AMAZÔNIA. Potencialidades químicas e bioativas do uso da planta e do óleo essencial de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.). *Scientia Amazônia*, v. 7, n. 2, p. 10–26, 2018.

SCOMOROSCENCO, C.; TEODORESCU, M.; BURLACU, S. G.; GÎFU, I. C.; MIHAESCU, C. I.; PETCU, C.; RADUCAN, A.; OANCEA, P.; CİNTEZA, L. O. Synergistic antioxidant activity and enhanced stability of curcumin encapsulated in vegetal oil-based microemulsion and gel microemulsions. *Antioxidants* 11 (5), 854, 2022.

SHAFIQ, M.; SHAFIQ, M.; AHMED, A. et al. Antimicrobial activity of oregano oil loaded microemulsions against resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 104, p. 1681-1687, 2017.

SILVA, F.; FERREIRA, S.; DUARTE, A.; MENDON, D.I. DOMINGUES, F.C. Antifungal activity of *Coriandrum sativum* essential oil, its mode of action against *Candida* species and potential synergism with amphotericin B. *Phytomedicine*, 19: 42-47, 2011.

SILVA, F.; FERREIRA, S.; DUARTE, A.; MENDON, D.I. DOMINGUES, F.C. Antifungal activity of *Coriandrum sativum* essential oil, its mode of action against *Candida* species and potential synergism with amphotericin B. *Phytomedicine*, 19: 42-47, 2011.

SILVA, J.P.L.; DUARTE-ALMEIDA, J.M.; PEREZ, D.V.; FRANCO, B.D.G.M. Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente à *Salmonella enteritidis*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30: 136-141, 2010b.

SILVA, N.C.C.; FERNANDES JÚNIOR, A. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 16: 402-413, 2010a.

ULTEE, A.; KETS, E. P.; SMID, E. J. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol.* 65: 4606-10, 1999.

ULTTEE, A.; BENNIK, M. H. J.; MOEZELAAR, R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, n. 4, p. 1561–1568, 2002.

VASCONCELOS, S. M. R. et al. Chemical composition and antioxidant potential of *Ocimum gratissimum* and *Ocimum basilicum* essential oils. 2021.

VASCONCELOS, S. M. R.; VALENÇA, S. S.; et al. Chemical composition and antioxidant potential of *Ocimum gratissimum* and *Ocimum basilicum* essential oils, 2021.

VENANCIO, A. M. Toxicidade aguda e atividade antinociceptiva do óleo essencial do *Ocimum basilicum* L. (manjeriçã), em *Mus musculus* (camundongos). 2006. 108f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Sergipe, Núcleo de Pós-Graduação em Medicina. Sergipe, 2006.

VERMA, R. S.; PADALIA, R. C.; CHAUHAN, A.; THUL, S. T. Exploring compositional diversity in the essential oils of 34 *Ocimum* taxa from Indian flora. *Industrial Crops and Products*, 45, 7-19, 2013.

VIANNA, J. S. Caracterização anatômica, morfológica e química de quimiotipos de *Ocimum gratissimum* Lineu. 2009. 78f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias na área de Produção Vegetal) – Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Distrito Federal, 2009.

VILANOVA, C. M. Avaliação do crescimento e da produção de óleo essencial das folhas de *Ocimum gratissimum* L. (LAMIACEAE) sob influência de taxas de aplicação de água e de nitrogênio. 2018. 202 folhas. Tese (Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação/CCBS) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2018.

VINHAS, A. C. A. et al. Variabilidade do teor e da composição do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. em dois biomas do Estado da Bahia. *Biofarm*, 2021.

WAN, J.; WILCOCK, A.; COVENTRY, M. J. The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *Appl Microbiol*, 84: 152-8, 1998.

WANG, J.-J.; LIU, K.-S.; SUNG, K. C.; TSAI, C.-Y.; FANG, J.-Y.; Lipid nanoparticles with different oil/fatty ester ratios as carriers of buprenorphine and its prodrugs for injection. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 38, n. 2, p. 138-146, 2009.

XAVIER, J. K. A. M.; DE JESUS, C. M.; MENDONÇA, C. J. S.; CARVALHO, A. L.; SILVA, L. S.; DA ROCHA C. Q. Chemical composition and potential antileishmanial and cytotoxic activity of *Duguetia stelechantha* (Diels) R.E.Fr. essential oil. *Industrial Crops & Products*, 202. May, 2023.

YANISHLIEVA, N. V.; MARINOVA, E.; TONEVA, A.; TOTSEVA, I. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chemistry*, v. 64, p. 59-66, 1999.

YANISHLIEVA, N. V.; MARINOVA, E.; TONEVA, A.; TOTSEVA, I. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chemistry*, v. 64, p. 59-66, 1999.

ZAREIYAN, A.; KHAJEHSHARIFI, H. Chemical profiling and antioxidative properties of *Ocimum gratissimum* L. from Iran. *Journal of Herbal Medicine*, 2022.

ZENG, L.; XIN, X.; ZHANG, Y. Development and characterization of promising Cremophor EL-stabilized o/w nanoemulsions containing short-chain alcohols as a cosurfactant. *RSC Adv.* 2017, 7 (32), 19815–19827

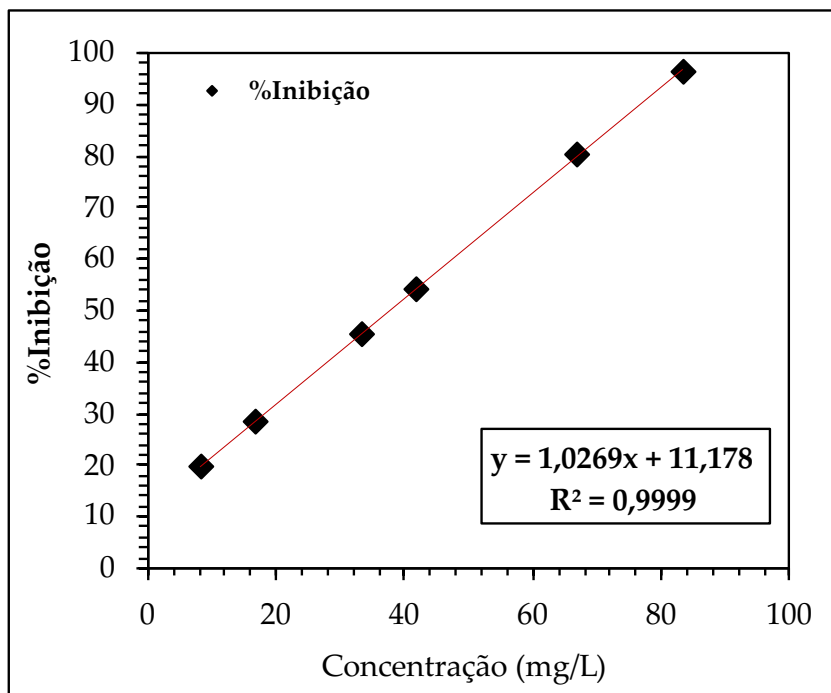
ZHANG, J.; CHEN, X. G.; LI, Y. Y.; LIU, C. S.; Self-assembled nanoparticles based on hydrophobically modified chitosan as carriers for doxorubicin. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. v. 3, n. 4, p. 258-265, 2007.

ZHANG, K.; DU, Y.; SI, Z.; LIU, Y.; TURVEY, M. E.; RAJU, C.; et. al.; Enantiomeric glycosylated cationic block co-betapeptides eradicate *Staphylococcus aureus* biofilm and antibiotic-tolerant persister cells. *Nature Communications*. v.10, 4792, 2019.

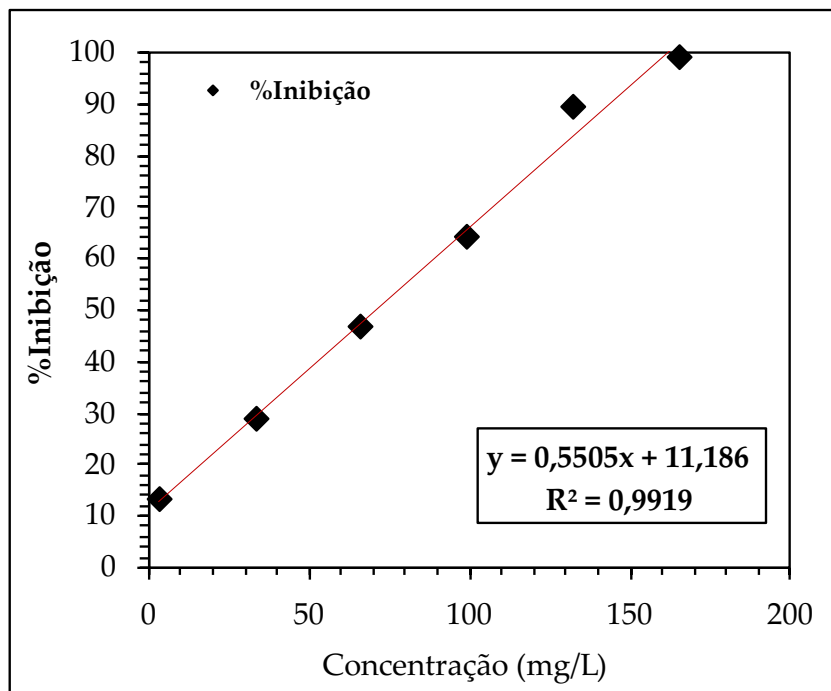
ZHANG, Y.; ZHANG, H.; LIU, Y.; et al. Hemocompatibility and cytotoxicity evaluation of natural compounds for biomedical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 133, p. 559–567, 2019.

ANEXOS

Curva do ensaio antioxidante do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (ABTS)



Curva do ensaio antioxidante do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (DPPH)



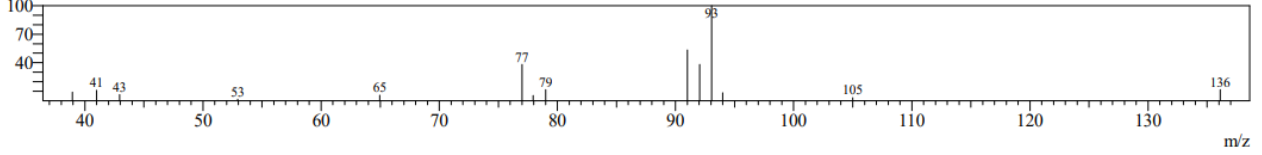
Espectros de Massa

Line#:1 R.Time:5.615(Scan#:524)

MassPeaks:14

RawMode:Averaged 5.610-5.620(523-525) BasePeak:93(20260)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan

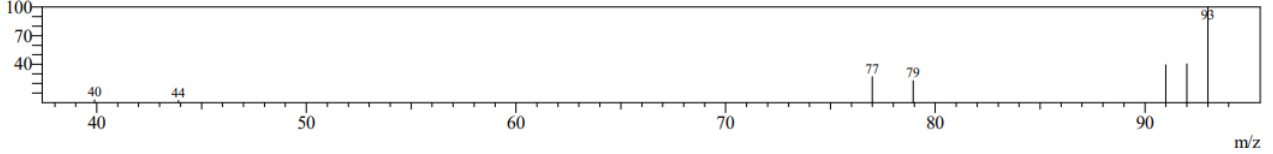


Line#:2 R.Time:5.810(Scan#:563)

MassPeaks:7

RawMode:Averaged 5.805-5.815(562-564) BasePeak:93(4721)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan

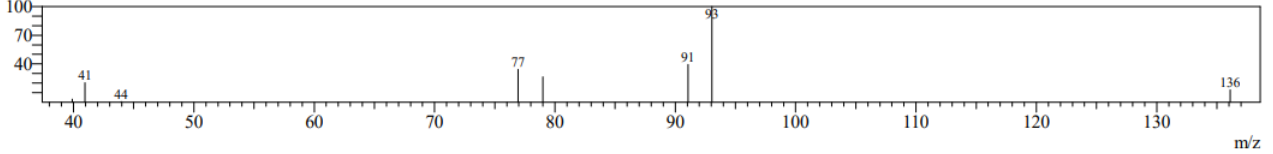


Line#:3 R.Time:6.890(Scan#:779)

MassPeaks:8

RawMode:Averaged 6.885-6.895(778-780) BasePeak:93(5705)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan

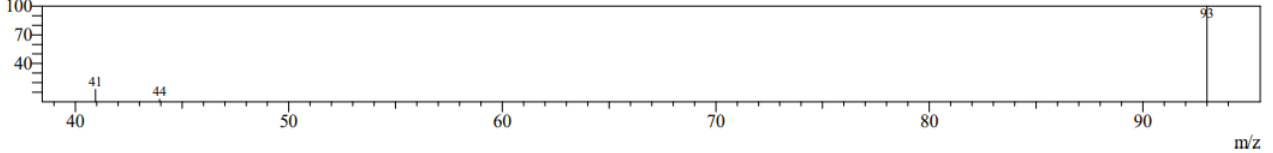


Line#:4 R.Time:7.005(Scan#:802)

MassPeaks:3

RawMode:Averaged 7.000-7.010(801-803) BasePeak:93(2693)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan

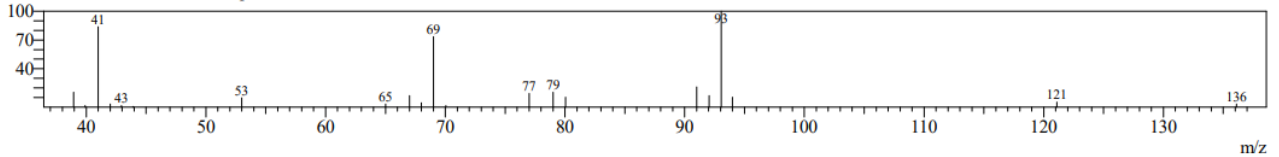


Line#:5 R.Time:7.365(Scan#:874)

MassPeaks:21

RawMode:Averaged 7.360-7.370(873-875) BasePeak:93(23662)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan

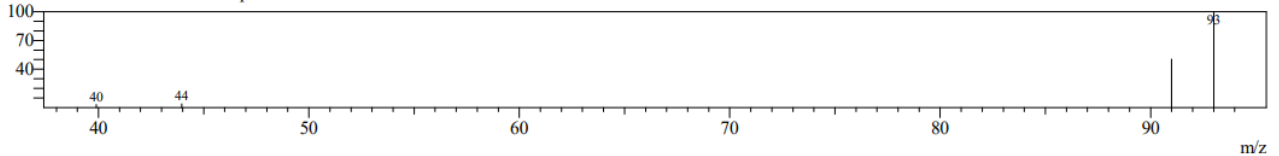


Line#:6 R.Time:7.825(Scan#:966)

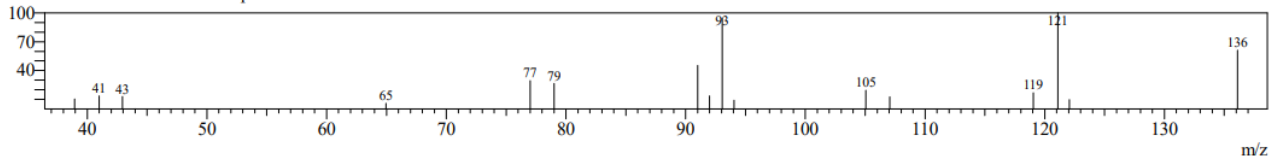
MassPeaks:4

RawMode:Averaged 7.820-7.830(965-967) BasePeak:93(2388)

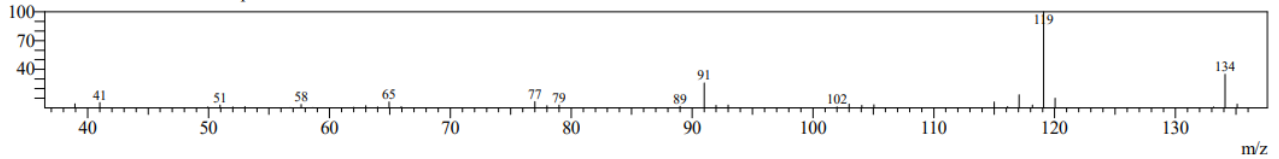
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



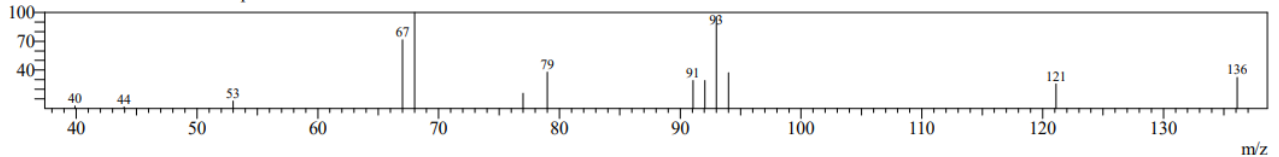
Line#:7 R.Time:8.225(Scan#:1046)
MassPeaks:17
RawMode:Averaged 8.220-8.230(1045-1047) BasePeak:121(11941)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



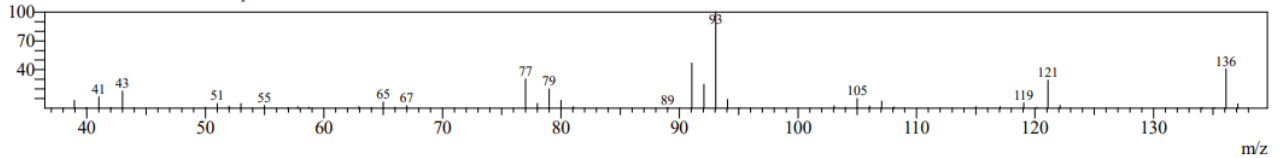
Line#:8 R.Time:8.495(Scan#:1100)
MassPeaks:34
RawMode:Averaged 8.490-8.500(1099-1101) BasePeak:119(181854)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



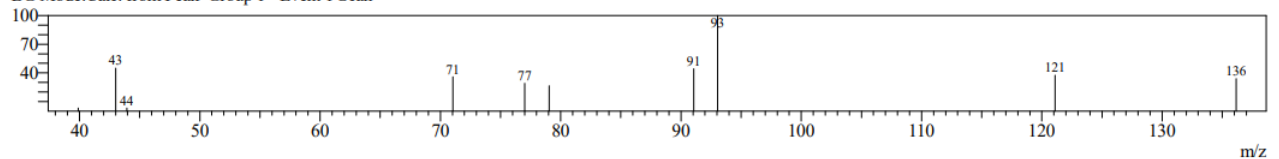
Line#:9 R.Time:8.635(Scan#:1128)
MassPeaks:13
RawMode:Averaged 8.630-8.640(1127-1129) BasePeak:68(4623)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



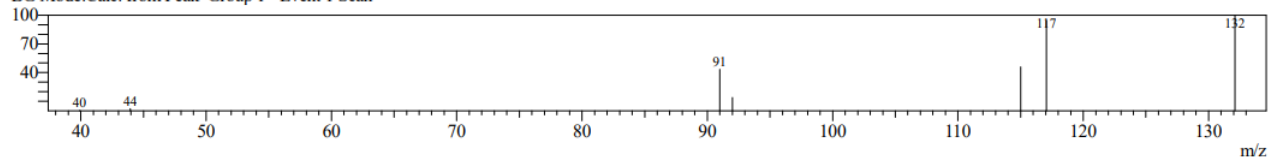
Line#:10 R.Time:9.735(Scan#:1348)
MassPeaks:46
RawMode:Averaged 9.730-9.740(1347-1349) BasePeak:93(173634)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Line#:11 R.Time:10.000(Scan#:1401)
MassPeaks:10
RawMode:Averaged 9.995-10.005(1400-1402) BasePeak:93(4292)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Line#:12 R.Time:10.835(Scan#:1568)
MassPeaks:7
RawMode:Averaged 10.830-10.840(1567-1569) BasePeak:132(5362)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan

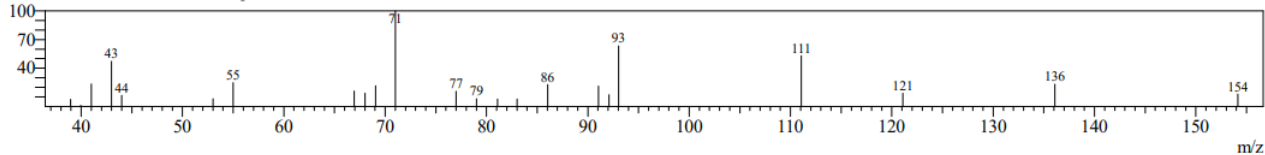


Line#:13 R.Time:14.420(Scan#:2285)

MassPeaks:23

RawMode:Averaged 14.415-14.425(2284-2286) BasePeak:71(9221)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan

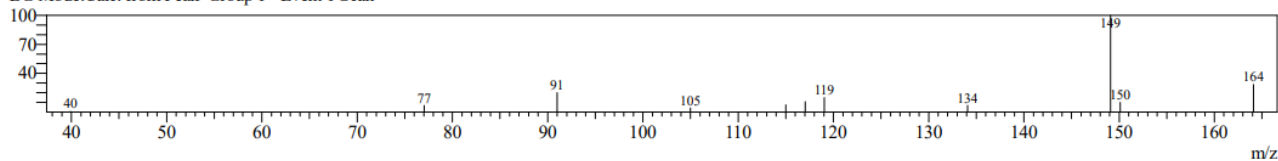


Line#:14 R.Time:16.840(Scan#:2769)

MassPeaks:11

RawMode:Averaged 16.835-16.845(2768-2770) BasePeak:149(17995)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan

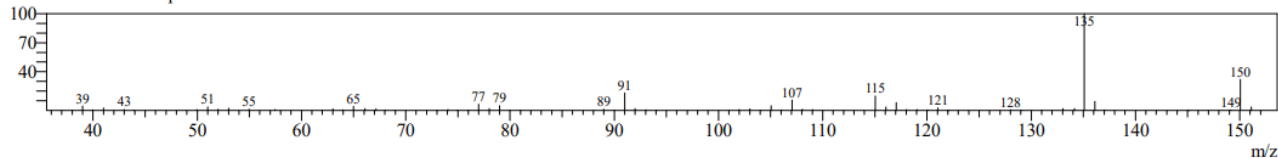


Line#:15 R.Time:19.460(Scan#:3293)

MassPeaks:63

RawMode:Averaged 19.455-19.465(3292-3294) BasePeak:135(355021)

BG Mode:None Group 1 - Event 1 Scan

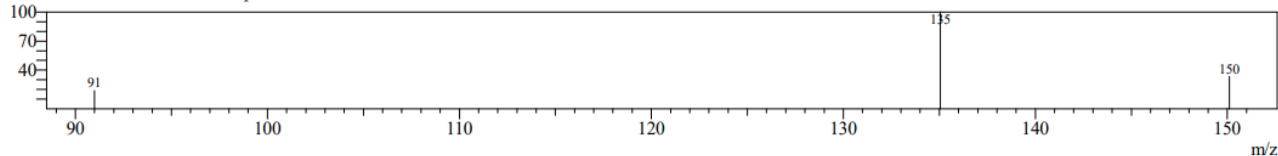


Line#:16 R.Time:19.540(Scan#:3309)

MassPeaks:3

RawMode:Averaged 19.535-19.545(3308-3310) BasePeak:135(4435)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan

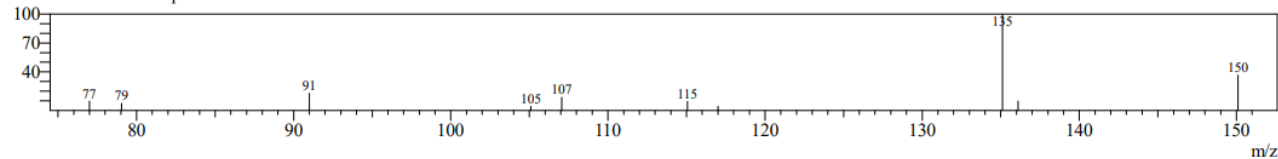


Line#:17 R.Time:19.750(Scan#:3351)

MassPeaks:10

RawMode:Averaged 19.745-19.755(3350-3352) BasePeak:135(16734)

BG Mode:None Group 1 - Event 1 Scan

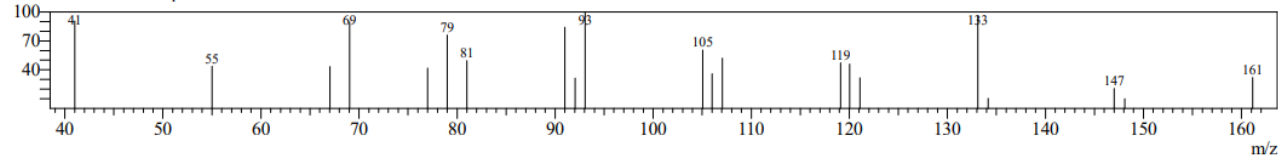


Line#:18 R.Time:24.690(Scan#:4339)

MassPeaks:21

RawMode:Averaged 24.685-24.695(4338-4340) BasePeak:93(3411)

BG Mode:None Group 1 - Event 1 Scan

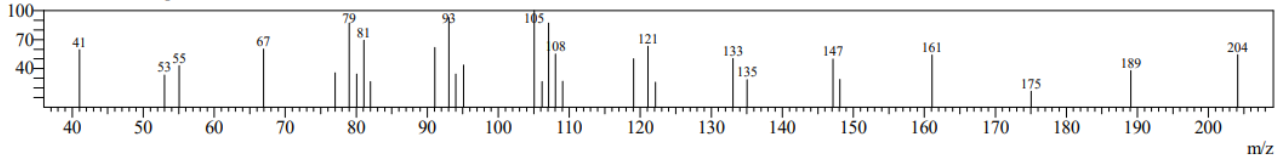


Line#:19 R.Time:27.405(Scan#:4882)

MassPeaks:29

RawMode:Averaged 27.400-27.410(4881-4883) BasePeak:105(4197)

BG Mode:None Group 1 - Event 1 Scan

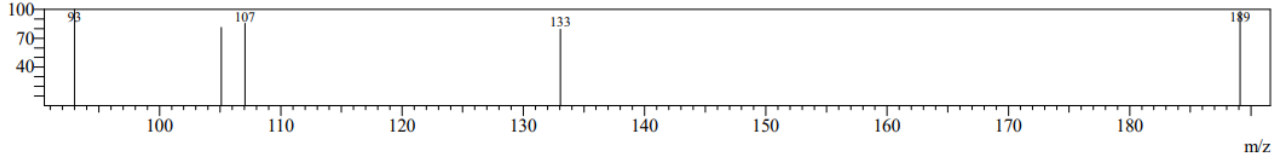


Line#:20 R.Time:27.760(Scan#:4953)

MassPeaks:5

RawMode:Averaged 27.755-27.765(4952-4954) BasePeak:93(1328)

BG Mode:None Group 1 - Event 1 Scan

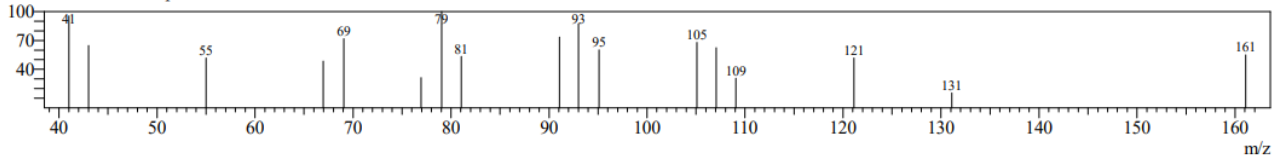


Line#:21 R.Time:31.180(Scan#:5637)

MassPeaks:17

RawMode:Averaged 31.175-31.185(5636-5638) BasePeak:79(2168)

BG Mode:None Group 1 - Event 1 Scan



Line#:22 R.Time:45.760(Scan#:8553)

MassPeaks:4

RawMode:Averaged 45.755-45.765(8552-8554) BasePeak:135(4487)

BG Mode:None Group 1 - Event 1 Scan

