



ANÔMORA ARIANE ROCHIDO DOS SANTOS COTTA

**FILMES EXTRUSADOS DE BLENDA BIODEGRADÁVEIS À
BASE DE POLISSACARÍDEOS E PROTEÍNA ATIVADOS
COM ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO ENCAPSULADO EM
NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA**

Lavras – MG

2025

ANÔMORA ARIANE ROCHIDO DOS SANTOS COTTA

**Filmes extrusados de blendas biodegradáveis à base de polissacarídeos e proteína
ativados com óleo essencial de cravo encapsulado em nanopartículas de quitosana**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais, área de concentração em produtos e nanoprodutos alimentícios, para a obtenção do título de Doutor.

Prof (a). Dr (a). Marali Vilela Dias

Orientadora

Prof (a). Dr (a). Ângela Dayana Barrera de Brito

Júlio Cesar Ugucioni

Coorientador(a)

Lavras – MG

2025

Ficha catalográfica elaborada pela Catalogação da Biblioteca Universitária da UFLA

Cotta, Anômora Ariane Rochido dos Santos.

Filmes extrusados de blendas biodegradáveis à base de polissacarídeos e proteína ativadas com óleo essencial de cravo encapsulado em nanopartículas de quitosana / Anômora Ariane Rochido dos Santos Cotta. - 2025.

112 p. : il.

Orientador(a): Marali Vilela Dias.

Coorientador(a): Ângela Dayana Barrera de Brito.

Coorientador(a): Júlio Cesar Ugucioni.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2025.

Bibliografia.

1. Nanocápsulas de quitosana. 2. Embalagens biodegradáveis.
3. Embalagens ativas. I. Dias, Marali Vilela. II. Brito, Ângela Dayana Barrera. III. Ugucioni, Júlio Cesar. IV. Título.

Ficha elaborada por André Felipe Calsavara (CRB6/3137)

ANÔMORA ARIANE ROCHIDO DOS SANTOS COTTA

FILMES EXTRUSADOS DE BLENDS BIODEGRADÁVEIS À BASE DE POLISSACARÍDEOS E PROTEÍNA ATIVADOS COM ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO ENCAPSULADO EM NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA

EXTRUDED FILMS OF BIODEGRADABLE BLENDS BASED ON POLYSACCHARIDES AND PROTEIN ACTIVATED WITH CLOVE ESSENTIAL OIL ENCAPSULATED IN CHITOSAN NANOPARTICLES

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais, área de concentração em produtos e nanoprodutos alimentícios, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADO em 07 de março de 2025.

Dr (a). Mario Guimaraes Junior – CEFET/MG

Dr (a). Silesia De Fatima Curcino da Silva - DFI/ICN

Dr (a). Jayne de Abreu Figueiredo – UFLA

Dr (a). Cláudia Karina Barbosa De Vasconcelos – UFMG/ CTNANO

Prof (a). Dr (a). Marali Vilela Dias

Orientadora

Prof (a). Dr (a). Ângela Dayana Barrera de Brito

Prof (a). Dr (a). Júlio Cesar Ugucioni

Coorientador(a)

Lavras – MG

2025

AGRADECIMENTOS

A realização desta tese foi uma jornada repleta de desafios e aprendizados, e muitas pessoas foram essenciais para que este trabalho se concretizasse.

Aos meus pais e irmãos, por todo amor, incentivo e apoio incondicional ao longo dessa caminhada.

Ao meu marido, Alexandre, pelo companheirismo, paciência e por estar sempre ao meu lado em cada etapa dessa trajetória.

À minha orientadora, Marali, e aos meus coorientadores, Ângela e Júlio, pela dedicação, pelos ensinamentos e pelo suporte acadêmico e profissional que foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus sobrinhos, primos, primas e tios, pelo carinho e pelas palavras de incentivo que tornaram essa jornada mais leve.

Aos amigos da UFLA, especialmente aos colegas do Laboratório de Embalagens e Encapsulamento, pela colaboração, amizade e troca de conhecimento.

Aos professores Juliano, Alfredo e Bruna, por suas contribuições valiosas ao longo dessa pesquisa.

Ao CNPEM e aos Departamentos de Física, Engenharia de Alimentos e Engenharia de Materiais, pelo suporte estrutural e científico que possibilitou este estudo.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), pelo ambiente acadêmico inspirador, pela infraestrutura de excelência e pelas oportunidades que possibilitaram o desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos e amigas de Lavras e Belo Horizonte, pelo apoio, pelas conversas e pela companhia ao longo dessa caminhada.

Aos órgãos de fomento, como a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro. Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais, pela oportunidade e estrutura oferecida para a realização deste trabalho.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para esta conquista, meu mais sincero agradecimento.

RESUMO

A preocupação ambiental e as regulamentações rigorosas sobre resíduos plásticos têm impulsionado o desenvolvimento de alternativas aos polímeros sintéticos, como embalagens biodegradáveis. Essas embalagens podem incorporar óleo essencial de cravo, cuja volatilidade e instabilidade são superadas pelo encapsulamento em nanocápsulas de quitosana. O objetivo deste estudo foi desenvolver filmes biodegradáveis a partir de amido de milho, quitosana e isolado proteico do soro de leite, incorporando nanocápsulas de quitosana carregadas com óleo essencial de cravo. A pesquisa foi conduzida em duas etapas principais. No Artigo 1, foram desenvolvidas e caracterizadas nanocápsulas de quitosana contendo óleo essencial de cravo (CEO). Foram testadas quatro formulações de nanocápsulas com diferentes proporções de quitosana/CEO: 1:0, 1:0,50, 1:0,75 e 1:1. A eficiência de encapsulamento variou de 1,08% (1:0,50) a 12,14% (1:1), sendo influenciada pela concentração de óleo essencial. A atividade antioxidante aumentou conforme a proporção de CEO, atingindo 75,84% na formulação 1:1. O diâmetro hidrodinâmico das nanocápsulas, foi de 61 nm para 1:0 e 58 nm para 1:1, enquanto a análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV) revelou partículas com tamanho médio de 94 nm para 1:1. A análise termogravimétrica (TGA) indicou que a matriz polimérica de quitosana garantiu maior estabilidade térmica ao CEO. Na segunda etapa, descrita no Artigo 2, as nanocápsulas foram incorporadas em filmes biodegradáveis. Foram desenvolvidos três tipos de filmes: controle (sem nanocápsulas), NpQ (nanocápsulas sem CEO) e NpQ+CEO (nanocápsulas contendo óleo essencial de cravo, 1:1). A formulação NpQ+CEO apresentou maior atividade antioxidante (31,64%) quando comparada ao filme controle (11,65%) e ao filme NpQ sem óleo (18,34%). A estabilidade térmica dos filmes também foi aprimorada, com o pico de decomposição do filme NpQ+CEO atingindo 315°C, enquanto o filme controle apresentou degradação a 310°C. A análise da difusão do CEO nos filmes seguiu a lei de Fick, ajustando-se a um modelo de dois estágios. No primeiro estágio, observou-se uma liberação rápida de 56% do CEO, com um coeficiente de difusão (D_1) de $8,10 \times 10^{-8}$ cm²/s, indicando uma difusão inicial acelerada devido à alta concentração do óleo essencial nas nanocápsulas próximas à superfície do filme. No segundo estágio, ocorreu uma liberação mais lenta e controlada do CEO, associada à difusão através da matriz polimérica do filme, apresentando um coeficiente de difusão (D_2) de $2,68 \times 10^{-9}$ cm²/s. Esse comportamento confirma que a encapsulação do CEO promove uma liberação gradual e sustentada ao longo do tempo. A adição das nanocápsulas também resultou em melhor uniformidade estrutural, redução da transparência dos filmes e menor permeabilidade ao vapor de água, sem comprometer sua resistência mecânica. Os resultados evidenciam que a incorporação de nanocápsulas de quitosana carregadas com óleo essencial de cravo aprimora as propriedades funcionais dos filmes biodegradáveis. Essas embalagens ativas não apenas apresentam potencial antioxidante e melhoram a estabilidade térmica, mas também representam uma alternativa sustentável aos plásticos convencionais. Dessa forma, o uso dessas nanocápsulas em filmes biodegradáveis pode contribuir para a redução da dependência de polímeros sintéticos, oferecendo uma solução inovadora e ecologicamente viável para a indústria de embalagens.

Palavras Chaves: Nanocápsulas de quitosana; Encapsulamento de óleo essencial; Embalagens biodegradáveis; Embalagens ativas.

ABSTRACT

Environmental concerns and strict regulations on plastic waste have driven the development of alternatives to synthetic polymers, such as biodegradable packaging. These packaging materials can incorporate clove essential oil, whose volatility and instability are overcome by encapsulation in chitosan nanocapsules. The objective of this study was to develop biodegradable films made from corn starch, chitosan, and whey protein isolate, incorporating chitosan nanocapsules loaded with clove essential oil. The research was conducted in two main stages. In Article 1, chitosan nanocapsules containing clove essential oil (CEO) were developed and characterized. Four formulations of nanocapsules with different chitosan/CEO ratios were tested: 1:0, 1:0.50, 1:0.75, and 1:1. The encapsulation efficiency ranged from 1.08% (1:0.50) to 12.14% (1:1), being influenced by the concentration of essential oil. The antioxidant activity increased with the proportion of CEO, reaching 75.84% in the 1:1 formulation. The hydrodynamic diameter of the nanocapsules was 61 nm for 1:0 and 58 nm for 1:1, while scanning electron microscopy (SEM) analysis revealed particles with an average size of 94 nm for 1:1. Thermogravimetric analysis (TGA) indicated that the chitosan polymer matrix provided greater thermal stability to the CEO. In the second stage, described in Article 2, the nanocapsules were incorporated into biodegradable films. Three types of films were developed: control (without nanocapsules), NpQ (nanocapsules without CEO), and NpQ+CEO (nanocapsules containing clove essential oil, 1:1). The NpQ+CEO formulation exhibited higher antioxidant activity (31.64%) compared to the control film (11.65%) and the NpQ film without oil (18.34%). The thermal stability of the films was also improved, with the decomposition peak of the NpQ+CEO film reaching 315°C, while the control film degraded at 310°C. The analysis of CEO diffusion in the films followed Fick's law, adjusting to a two-stage model. In the first stage, a rapid release of 56% of the CEO was observed, with a diffusion coefficient (D_1) of $8.10 \times 10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$, indicating accelerated diffusion due to the high concentration of essential oil in the nanocapsules near the surface of the film. In the second stage, a slower and controlled release of CEO occurred, associated with diffusion through the polymer matrix of the film, with a diffusion coefficient (D_2) of $2.68 \times 10^{-9} \text{ cm}^2/\text{s}$. This behavior confirms that CEO encapsulation promotes gradual and sustained release over time. The addition of nanocapsules also resulted in better structural uniformity, reduced transparency of the films, and lower water vapor permeability, without compromising their mechanical strength. The results demonstrate that incorporating chitosan nanocapsules loaded with clove essential oil enhances the functional properties of biodegradable films. These active packaging materials not only exhibit antioxidant potential and improved thermal stability but also represent a sustainable alternative to conventional plastics. Thus, the use of these nanocapsules in biodegradable films can contribute to reducing the dependence on synthetic polymers, offering an innovative and ecologically viable solution for the packaging industry.

Keywords: Chitosan nanocapsules; Essential oil encapsulation; Biodegradable packaging; Active packaging.

INDICADORES DE IMPACTO

Os resultados obtidos com a pesquisa sobre filmes extrusados de blendas biodegradáveis ativados com óleo essencial de cravo encapsulado em nanopartículas de quitosana têm impacto significativo nas áreas social, tecnológica, econômica e ambiental. Do ponto de vista social, a utilização de materiais biodegradáveis e ativos contribui para a redução do uso de plásticos convencionais, promovendo alternativas mais sustentáveis, o que pode beneficiar comunidades e populações preocupadas com a preservação ambiental. Tecnicamente, os filmes desenvolvidos abrem novas possibilidades para a produção de embalagens com propriedades funcionais, como a liberação controlada de compostos bioativos, o que pode ser aplicado em diversos setores industriais, como alimentos e cosméticos, impulsionando inovações e a criação de novos produtos. Economicamente, a substituição de plásticos derivados de petróleo por materiais à base de biopolímeros pode gerar uma cadeia produtiva mais sustentável, com benefícios para a economia local e regional, além de atrair investimentos no campo da biotecnologia e sustentabilidade. Culturalmente, o uso do óleo essencial de cravo, associado a práticas tradicionais de utilização de plantas medicinais, pode promover a valorização de saberes populares e a preservação de conhecimentos ancestrais. A pesquisa também se alinha com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), especialmente os ODS 12 (Consumo e produção responsáveis), ODS 13 (Ação contra a mudança global do clima) e ODS 15 (Vida terrestre), ao fomentar práticas de produção mais responsáveis e reduzir o impacto ambiental. A pesquisa tem um caráter extensionista, com a participação de docentes, estudantes e técnicos da Universidade Federal de Lavras (UFLA), com impacto direto em grupos populacionais envolvidos na pesquisa e no desenvolvimento de soluções tecnológicas mais sustentáveis. Os resultados podem beneficiar não apenas a academia, mas também a sociedade externa, incluindo setores industriais e consumidores em geral, alinhando-se com a área temática de Meio Ambiente e Tecnologia e Produção da Política Nacional de Extensão.

IMPACT INDICATORS

The results obtained from the research on extruded films of biodegradable blends activated with clove essential oil encapsulated in chitosan nanoparticles have a significant impact in social, technological, economic, and environmental areas. From a social perspective, the use of biodegradable and active materials contributes to reducing the consumption of conventional plastics, promoting more sustainable alternatives that can benefit communities and populations concerned with environmental preservation. Technologically, the developed films open new possibilities for the production of packaging with functional properties, such as the controlled release of bioactive compounds, which can be applied in various industrial sectors, including food and cosmetics, driving innovation and the creation of new products. Economically, replacing petroleum-derived plastics with biopolymer-based materials can foster a more sustainable production chain, benefiting local and regional economies and attracting investments in the fields of biotechnology and sustainability. Culturally, the use of clove essential oil, associated with traditional practices of medicinal plant use, can promote the appreciation of traditional knowledge and the preservation of ancestral wisdom. The research also aligns with the Sustainable Development Goals (SDGs), particularly SDG 12 (Responsible Consumption and Production), SDG 13 (Climate Action), and SDG 15 (Life on Land), by encouraging more responsible production practices and reducing environmental impact. The research has an extensionist character, involving professors, students, and technicians from the Federal University of Lavras (UFLA), with a direct impact on population groups engaged in research and the development of more sustainable technological solutions. The results can benefit not only academia but also society at large, including industrial sectors and consumers, aligning with the thematic areas of Environment and Technology and Production within the National Extension Policy.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - ESTRUTURA MOLECULAR DA AMIOLOSE E AMILOPECTINA.	19
FIGURA 2 - ESTRUTURA MOLECULAR DA QUITINA E QUITOSANA.	21
FIGURA 3 - ILUSTRAÇÃO ESQUEMÁTICA DA MOLÉCULA DE QUITOSANA COM VARIAÇÃO DE PH.	22
FIGURA 4 - ESTRUTURA QUÍMICA DO EUGENOL.	27
FIGURA 5 - REPRESENTAÇÃO DA ESTRUTURA DE UMA NANOCÁPSULA E UMA NANOESFERA.	28
FIGURA 6- REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DAS LIGAÇÕES ENTRE A QUITOSANA E TPP.....	31
FIGURA 7 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA EXTRUSORA	33

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	OBJETIVO GERAL	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	FILMES BIODEGRADÁVEIS	15
2.2	BIOPOLÍMEROS PARA PRODUÇÃO DE FILMES	17
2.3	EMBALAGENS ATIVAS.....	24
2.4	ÓLEO ESSENCIAL ENCAPSULADO POR NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA	27
2.5	PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE FILMES ATRAVÉS DE EXTRUSORA	32
	REFERÊNCIAS.....	35
	ARTIGO 1 - DESENVOLVIMENTO DE NANOCÁPSULAS DE QUITOSANA CARREGADA COM ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO PARA APLICAÇÃO EM EMBALAGENS DE ALIMENTOS.	44
	ARTIGO 2 - FILMES BIODEGRADÁVEIS VIA EXTRUSÃO DE AMIDO DE MILHO, QUITOSANA E ISOLADO PROTEICO DO SORO DE LEITE COM ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO ENCAPSULADO EM NANOPARTÍCULA DE QUITOSANA	72

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a utilização generalizada de materiais plásticos nas indústrias de embalagens de alimentos tem sido cada vez mais comum devido à sua fácil obtenção, à capacidade de se adaptarem a diferentes formas e tamanhos e baixo custo. No entanto, essa conveniência vem acompanhada de críticas sobre o descarte inadequado desses materiais, o crescente uso de aterros sanitários, que resulta no acúmulo de resíduos, e problemas relacionados à morte de animais marinhos e terrestres por asfixia com plásticos. Uma das alternativas é a reciclagem; no entanto, grande parte das dificuldades na cadeia de reciclagem está na etapa de coleta e seleção dos materiais, sendo que, no Brasil, por exemplo, alguns municípios não oferecem serviços de coleta seletiva. Como resultado, materiais plásticos que deveriam ser reciclados muitas vezes são descartados inadequadamente. Além disso, esses materiais são menos sujeitos à degradação e à corrosão em comparação com as matérias-primas naturais, o que aumenta a pegada ecológica (Eranda, Chaijan e Castro-Muñoz, 2025; Tien *et al.*, 2023).

Diante dessas preocupações, tem havido um crescente interesse em pesquisas e desenvolvimento de embalagens de alimentos biodegradáveis como uma fonte alternativa aos materiais convencionais de origem fósseis. Essas embalagens são feitas de polímeros naturais, como polissacarídeos, proteínas, lipídios ou até mesmo combinações dessas substâncias. Quando descartadas de forma aleatória no meio ambiente, esses materiais possuem a capacidade de se decompor de maneira natural e mais rápida em comparação com as embalagens sintéticas. Isso se deve à sua natureza biodegradável, o que possibilita sua degradação por processos microbianos e enzimáticos, reduzindo assim o impacto ambiental a longo prazo. Os polissacarídeos, por exemplo, podem ser derivados de diversas fontes, incluindo plantas, como o amido de milho, e animais, como a quitosana. Esses polímeros apresentam permeabilidade seletiva ao dióxido de carbono e oxigênio, o que permite o uso de filmes e revestimentos comestíveis à base de polissacarídeos para prolongar a vida útil dos alimentos. No entanto, é importante reconhecer que os polissacarídeos também apresentam algumas limitações, como baixa resistência à tração, alta solubilidade em água e propriedades antibacterianas moderadas (Li *et al.*, 2023; Tang *et al.*, 2023; Yin. *et al.*, 2023).

Por sua vez, as proteínas podem ser derivadas de fontes animais, como por exemplo, o isolado proteico do soro de leite (IPS), um subproduto do processamento do leite. Os filmes

produzidos a partir do IPS têm despertado interesse devido às suas propriedades físicas vantajosas, especialmente em ambientes de baixa umidade relativa. Esses filmes exibem capacidade de impermeabilidade ao oxigênio, tornando-os adequados para proteger produtos sensíveis à oxidação, como por exemplo o pão, frutas, carne, entre outros. Além disso, sua composição confere-lhes um aroma agradável, o que é desejável em certas aplicações. No entanto, é importante ressaltar que, devido à sua natureza hidrofílica, esses filmes apresentam uma permeabilidade relativamente alta ao vapor de água, o que pode ser uma limitação em algumas circunstâncias. Além disso, eles também tendem a ter uma resistência mecânica inferior, o que pode impactar sua durabilidade e capacidade de suportar estresses físicos (Alipour *et al.*, 2023; Sun *et al.*, 2023).

Conforme relatado por estudos recentes de Alipour *et al.*, (2023), filmes produzidos a partir de concentrado proteico de soro de leite, goma de *Lepidium perfoliatum* carregada com óleo essencial de orégano têm propriedades que podem oferecer vantagens adicionais, como a proteção contra a oxidação de alimentos e a inibição do crescimento microbiano, tornando-os adequados para o desenvolvimento de embalagens ativas. No entanto, apesar das promissoras perspectivas oferecidas pela incorporação de óleos essenciais nas matrizes poliméricas das embalagens biodegradáveis ativas, existem desafios a serem superados. A curta vida útil dos óleos essenciais, devido à sua sensibilidade a fatores ambientais como oxigênio, luz e calor, é um dos principais obstáculos. Essa sensibilidade leva a uma rápida deterioração dos óleos, comprometendo sua estabilidade e funcionalidade ao longo do tempo. Além disso, a incorporação direta dos óleos essenciais nas embalagens biodegradáveis também pode impactar negativamente o odor dos alimentos embalados. Os compostos voláteis presentes no óleo podem ser liberados durante o armazenamento, afetando a qualidade sensorial dos produtos alimentícios e potencialmente influenciando a aceitação pelos consumidores (Yin *et al.*, 2023).

Para superar esses desafios, é necessário o desenvolvimento de estratégias inovadoras e soluções tecnológicas que melhorem a estabilidade e prolonguem a vida útil dos óleos essenciais nas matrizes poliméricas das embalagens biodegradáveis ativas. Uma abordagem promissora é o uso de técnicas de encapsulamento por meio de nanopartículas, tais como as nanopartículas de quitosana, que podem proteger os óleos essenciais contra a degradação causada pelas condições ambientais adversas, garantindo sua integridade ao longo do tempo. Além disso, a implementação de sistemas de liberação controlada pode evitar a volatilização prematura dos compostos voláteis, preservando assim a qualidade sensorial dos alimentos embalados (Hassan *et al.*, 2021; Ma *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2020).

No estudo conduzido por Ferreira; Souza; Rosa (2021), foram preparadas nanocápsulas de quitosana contendo óleo essencial de canela em diferentes concentrações, visando sua aplicação em filmes biodegradáveis de poli (butileno adipato-co-tereftalato) (PBAT). A utilização de nanocápsulas de quitosana oferece uma abordagem promissora para o desenvolvimento de filmes com propriedades antimicrobianas aprimoradas. Essas nanocápsulas apresentaram atividade biológica devido à eficiência sinérgica da quitosana e do óleo essencial de canela, resultando em uma capacidade de inibir o crescimento de *E. coli* quando incorporadas nos filmes.

No processo de fabricação de filmes biodegradáveis, diferentes técnicas podem ser empregadas, sendo o método de casting utilizado no estudo mencionado por Ferreira; Souza; Rosa, (2021). Esse método é amplamente utilizado em pesquisas acadêmicas devido à sua simplicidade e facilidade de controle das variáveis de produção. No entanto, nas indústrias, o método de extrusão é mais comumente adotado devido à sua capacidade de produção em larga escala e à sua viabilidade econômica (Ochoa-Yepes *et al.*, 2019).

Apesar disso, é importante ressaltar a escassez de estudos publicados que investigam a adição do óleo essencial na matriz polimérica por meio do processo de extrusão. Até o momento, existem apenas alguns trabalhos na literatura que abordam essa abordagem específica. Entre eles, destacam-se os estudos conduzidos por Azevedo et al., (2019) e Wongphan et al., (2023), que avaliaram a incorporação do óleo essencial de alecrim e galangal menor (*Alpinia officinarum Hance*), respectivamente, na matriz polimérica por meio da técnica de extrusão. Contudo, é válido ressaltar que nenhum desses estudos explorou o uso do óleo essencial na forma encapsulada em nanopartículas de quitosana, produzidas por meio do método de gelificação iônica em filmes de isolado proteico do soro do leite, amido de milho e quitosana.

Essa lacuna na literatura abre espaço para a presente tese de doutorado, que tem como objetivo investigar e explorar essa abordagem inovadora de incorporação do óleo essencial de cravo na matriz polimérica por meio do processo de extrusão, especificamente em filmes biodegradáveis de isolado proteico do soro do leite, amido de milho e quitosana. Além disso, propõe-se o uso de nanopartículas de quitosana como sistema de encapsulamento para o óleo essencial, utilizando o método de emulsificação óleo-em-água seguido de gelificação iônica, com a finalidade de desenvolver embalagens ativas devido às suas propriedades antioxidantes.

1.1 Objetivo Geral

Desenvolver filmes extrusados a partir de blendas biodegradáveis a base de polissacarídeos e proteínas, ativados com óleo essencial de cravo encapsulado em nanopartículas de quitosana, caracterizando-se quanto as suas propriedades físico-químicas, atividade antioxidante e migração controlada do agente ativo para um simulante.

1.1.1 Objetivos específicos

- Preparar nanocápsulas de quitosana carregadas com óleo essencial de cravo usando o método de emulsão óleo em água e gelificação iônica;
- Identificar as propriedades químicas das nanopartículas por meio da técnica de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), análises termogravimétricas (TGA) e microscopia eletrônica de varredura (MEV), além de avaliar a capacidade antioxidantes;
- Identificar o tamanho médio das nanopartículas através de técnica de Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) e microscopia eletrônica de varredura (MEV);
- Desenvolver blendas ativas por meio de um processo de extrusão, com o isolado proteico do soro de leite, amido de milho e quitosana como matriz polimérica, juntamente com as nanocápsulas de quitosana carregadas com óleo essencial de cravo como agente ativo;
- Avaliar as blendas por meio das técnicas de FTIR, TGA, MEV, ensaios mecânicos, permeabilidade de água, transparência e cor, além da liberação controlada do óleo essencial em simulante, para garantir a segurança do uso dessa blenda em contato com alimentos.

Ao alcançar esses objetivos, espera-se contribuir para o conhecimento científico na área de filmes biodegradáveis enriquecidos com nanopartículas de quitosana carregado com o óleo essencial de cravo, com informações relevantes sobre suas propriedades e aplicação em embalagens de alimentos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Filmes biodegradáveis

Devido ao alto consumo de alimentos, as embalagens são frequentemente vistas de forma negativa, como lixo nas ruas e mares, um incômodo nas lixeiras e, para alguns consumidores, difíceis de abrir. Embora os consumidores tenham razão em suas críticas, as embalagens desempenham um papel importante e fundamental para os alimentos. Elas garantem a proteção, informação e qualidade dos alimentos ao longo do tempo; são facilmente portáteis e convenientes de usar; são um dos materiais mais econômicos disponíveis hoje nas indústrias de alimentos e, por fim, permitem a venda dos produtos alimentícios sem a necessidade de um atendente através de seus designs criativos (Liu, Zhang, *et al.*, 2023; Roy *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2023).

Dependendo do tipo de polímero, as embalagens podem ser produzidas a partir de materiais de origem petroquímica, como o polietileno tereftalato (PET), policloreto de vinila (PVC), polietileno (PE), polipropileno (PP), poliestireno (PS) e poliamida (PA), que possuem boas características mecânicas e de barreira, como resistência à tração e ao rasgo, permeabilidade ao oxigênio, permeabilidade ao dióxido de carbono e transmissão de aroma (Akhila *et al.*, 2023; Hu *et al.*, 2023).

Segundo a Associação Brasileira da Indústria do Plástico ABIPLAST, (2023), o consumo de plásticos no Brasil alcançou 7,49 milhões de toneladas. Os plásticos destinados a ciclos de vida curtos, com duração de até um ano, representam 35,3% do consumo total. Dentro desse grupo, o setor de alimentos se destaca como o principal consumidor, abrangendo 18,98% do valor de consumo total. Contudo, apenas 25,6% dos resíduos plásticos gerados no ano retornaram ao mercado como resinas recicladas pós-consumo (PCR), evidenciando que mais da metade dos plásticos consumidos no país não são reciclados, o que pode acabar resultando em seu descarte inadequado no meio ambiente.

Esse problema é uma preocupação global, pois as embalagens são materiais que não se decompõem rapidamente na natureza devido à natureza dos monômeros e das ligações covalentes entre eles, de tal forma que podem causar danos significativos ao meio ambiente,

como poluição de rios e oceanos, morte de animais e plantas e contaminação no solo (Cheng *et al.*, 2021). É importante que sejam adotadas medidas para reduzir a quantidade de embalagens descartados incorretamente e aumentar a reciclagem desse material para minimizar seus impactos negativos.

Em virtude das limitações das embalagens de origem fóssil em relação à sua decomposição quando descartadas de forma incorreta, cientistas e indústrias têm demonstrado uma crescente preocupação em desenvolver alternativas ecologicamente corretas, como as embalagens biodegradáveis produzidas a partir de biopolímeros. Segundo a literatura, os biopolímeros são moléculas de cadeias longas contendo unidades repetidas de monômeros que estão ligadas covalentemente umas às outras e que são degradáveis ambientalmente por microrganismos encontrados no meio ambiente. Com base em sua classificação, existem três categorias de biopolímeros: (a) polímeros formados por um processo químico usando monômeros renováveis como precursores, como o ácido polilático; (b) polímeros como polihidroxialcanoatos sintetizados a partir de microorganismos; (c) polímeros extraídos diretamente da biomassa vegetal ou animal, incluindo polissacarídeos e proteínas, como por exemplo o amido, gelatina, celulose, quitosana, isolado proteico de soja, isolado proteico de soro de leite e entre outros (Abdul Khalil *et al.*, 2018; Akhila *et al.*, 2023). Os biopolímeros e os compósitos naturais possuem diversas vantagens, como ampla disponibilidade, estabilidade térmica, ausência de toxicidade, biocompatibilidade e alta miscibilidade, como é o caso do isolado proteico de soro de leite, amido de milho e quitosana.

Com o objetivo de ampliar as aplicações dos biopolímeros, os pesquisadores têm explorado a mistura de dois ou mais desses materiais por meio de mistura física, com ou sem interação química entre eles. Essa abordagem visa criar um novo material com propriedades físicas diferenciadas, a fim de aprimorar as características físicas, químicas e mecânicas das embalagens biodegradáveis. A combinação de diferentes biopolímeros permite explorar as vantagens individuais de cada um, criando um material híbrido com propriedades sinérgicas. Por exemplo, a mistura de amido de milho, que possui boa biodegradabilidade, com a quitosana, que apresenta propriedades antimicrobianas e de barreira, pode resultar em uma embalagem biodegradável com resistência mecânica aprimorada e proteção contra contaminação microbiana. Neste contexto, há um crescimento de pesquisas associadas à utilização desses materiais para uma variedade de aplicações nos setores industrial, biomédico, farmacêutico, engenharia em geral, adesivos, papel, alimentos, embalagens e outros. (Das *et al.*, 2022; Liu, Qin, *et al.*, 2023; Muthuraj, Misra e Mohanty, 2018).

2.2 Biopolímeros para produção de filmes

2.2.1 Isolado proteico do soro de leite

Existem duas frações principais de proteínas no leite: o soro de leite e a caseína. O soro de leite é um líquido de cor amarelo-esverdeada que surge como subproduto da indústria de laticínios, após a coagulação do leite e remoção da caseína durante a fabricação do queijo ou outros derivados lácteos coagulados. Ele é composto por cerca de 85 a 90% de água e por uma fração sólida que contém lactose, lipídios, minerais e proteínas. As proteínas representam aproximadamente 20% do total de proteínas encontradas no leite, quando consideramos apenas o soro (Castro *et al.*, 2017).

As proteínas globulares que compõem a estrutura do isolado proteico de soro de leite contêm múltiplas pontes de dissulfeto, que são ligações covalentes entre os aminoácidos cisteína. Essas pontes desempenham um papel crucial na manutenção da estrutura proteica, pois ajudam a estabilizar as proteínas e a garantir sua correta conformação tridimensional. O isolado proteico de soro de leite em pó é obtido por meio de processos físicos, tais como evaporação, secagem por pulverização e liofilização do soro de leite, que remove a maior parte das gorduras, carboidratos e outros componentes, deixando apenas as proteínas altamente concentradas, com níveis superiores a 90%, e principalmente hidrofílicas. As proteínas predominantes presentes no isolado proteico de soro de leite são β -lactoglobulina (65%) e α -lactalbumina (25%), além de pequenas quantidades de albumina de soro bovino, imunoglobulinas e outras proteínas, porém o percentual de proteína pode variar em função da raça do animal, tipo de animal e ração fornecida para o animal (Jin, Yadav e Qi, 2023; Wakai e Almenar, 2015)

Devido ao grande volume produzido na indústria de laticínios, especialmente na produção de queijos, esses subprodutos são frequentemente utilizados de forma sustentável, seja como ração animal, ingredientes em alimentos para crianças e suplementos esportivos, em confeitaria, produtos para panificação, na produção de solventes e no desenvolvimento de embalagens para os alimentos. Nos últimos anos, o isolado proteico de soro tem sido amplamente utilizado na produção de filmes biodegradáveis, em razão de sua rápida taxa de biodegradação, produção de filmes translúcidos, alta resistência à permeabilidade do oxigênio, e propriedades mecânicas e sensoriais adequadas. No entanto, é importante destacar que os

filmes produzidos a partir do isolado proteico de soro de leite são sensíveis à umidade devido à sua natureza hidrofílica e possuem baixas propriedades mecânicas, térmicas e de barreira à luz, necessitando de plastificação com um plastificante, como o glicerol ou a incorporação de aditivos como um outro biopolímero ou compósito (Silva et al., 2023).

Gharibzahedi et al., (2023) e sua equipe de pesquisa produziu filmes para cenouras cortadas frescas, utilizando uma mistura de proteína isolada do soro do leite, polissacarídeo de jujuba e nanocristais de amido. Foram desenvolvidas diferentes formulações de filmes, variando as proporções dos componentes da mistura. Os filmes foram caracterizados quanto à sua composição, propriedades mecânicas e de barreira. Por fim, os autores concluíram que os filmes de bionanocompósito desenvolvidos neste estudo podem ser uma alternativa viável para a embalagem de cenouras cortadas frescas. Já, no estudo conduzido por Lara *et al.*, (2019) e sua equipe, foram produzidos filmes a partir da mistura de isolado de proteína de soro de leite e álcool polivinílico, sendo este último adicionado para melhorar a flexibilidade dos filmes. Os objetivos da pesquisa foram avaliar a interação entre os polímeros por meio de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), analisar a morfologia da blenda formada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), medir as propriedades mecânicas dos filmes por meio de testes de tração e punção, avaliar a transmissão de vapor de água e determinar a solubilidade dos filmes em água.

2.2.2 Amido de milho

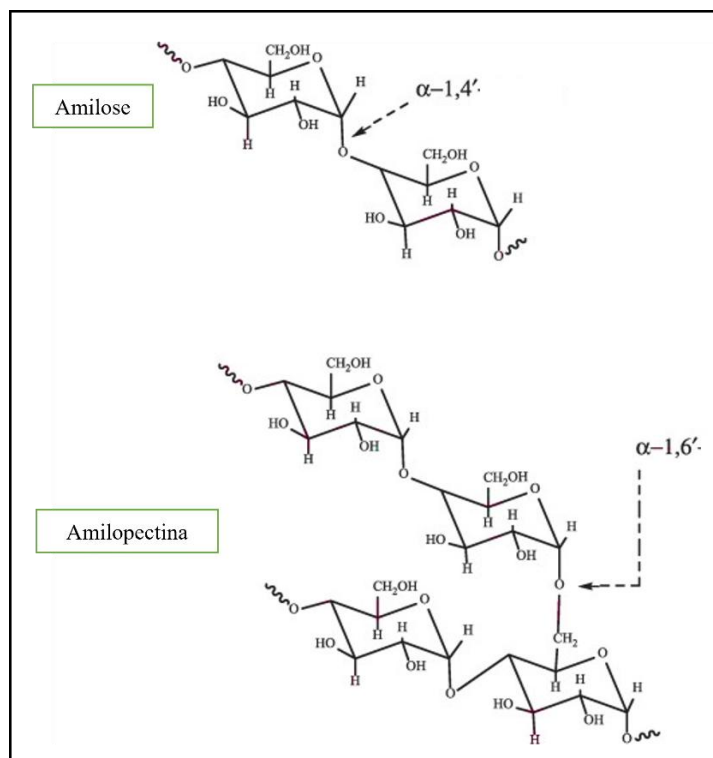
O amido de milho é um pó branco, fino e sem sabor que é obtido a partir do milho. Por ser uma das fontes mais abundantes de resíduos vegetais, o milho oferece várias vantagens na produção do amido, tais como alta quantidade do composto, fácil disponibilidade, capacidade de biodegradação e excelente consistência devido à sua propriedade de formar géis viscoelásticos que apresentam propriedades únicas de textura, como a capacidade de aumentar a viscosidade sob cisalhamento e de recuperar sua viscosidade original quando o cisalhamento é interrompido (Hazrol *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2023).

Quimicamente, o amido é um polissacarídeo vegetal amplamente conhecido, formado por múltiplas moléculas de glicose conectadas por ligações glicosídicas. Sua estrutura é composta principalmente por amilose e amilopectina (Figura 1), que juntas correspondem a

98% a 99% da massa seca do amido. A amilose é um polímero linear α -(1 \rightarrow 4) com pontos de ramificação α -(1 \rightarrow 6), representando de 25% a 30% do conteúdo de grânulos, sendo responsável principalmente pela fase amorfa do grânulo. A amilose tem tendência a retrogradar e produzir géis resistentes e filmes fortes. Em soluções aquosas, a amilose possui maior tendência à dispersão, formação de géis e filmes, e recristalização em comparação com a amilopectina (Agarwal, 2021; Tabasum *et al.*, 2019; Thakur *et al.*, 2019).

Já a amilopectina é uma molécula de tamanho bastante extenso e altamente ramificada, contendo uma espinha α -(1 \rightarrow 4) ligada a pontos de ramificação α -(1 \rightarrow 6) a cada 20-30 unidades de glicose. A amilopectina desempenha um papel fundamental na organização cristalina periférica dos grânulos de amido, contribuindo para sua estrutura. Ao ser dispersa em água, a amilopectina demonstra maior estabilidade e tem a capacidade de formar géis com uma consistência mais suave, além de filmes que possuem menor resistência. Essas propriedades conferem à amilopectina características distintas quando comparada à amilose, mostrando sua importância na funcionalidade e nas aplicações do amido (Agarwal, 2021; Tabasum *et al.*, 2019; Thakur *et al.*, 2019).

Figura 1 - Estrutura molecular da amilose e amilopectina.



Fonte: Agarwal, (2021)

De acordo com Domene-López et al., (2019) e Kulshreshtha et al., (2017), a produção dos filmes requer a quebra da estrutura dos grânulos de amido, que possuem fases amorfa e cristalina. Essa quebra ocorre por meio do processo de gelatinização, que é irreversível e envolve o inchaço dos grânulos, fusão da estrutura cristalina original e dissolução molecular. Durante a gelatinização, os grânulos de amido são submetidos a altas temperaturas, excesso de água e à presença de um plastificante adequado. A escolha adequada do plastificante é de extrema importância e requer a consideração de diversos requisitos, tais como alta estabilidade térmica, baixa volatilidade, não toxicidade e alta compatibilidade com a matriz de amido. Historicamente, a água tem sido amplamente empregada como solvente, meio de dispersão e até mesmo como plastificante em sistemas biológicos e alimentícios. Contudo, quando se trata de amido, a utilização exclusiva de água pode impor algumas restrições tanto nas condições de processamento quanto nas propriedades dos filmes de amido, em virtude da faixa de processabilidade relativamente inferior a 100 °C. Por essa razão, é frequente recorrer à combinação de água com outros plastificantes, como o glicerol, que é reconhecido como um dos melhores plastificantes para amido. No entanto, é importante mencionar que o glicerol também apresenta algumas desvantagens, como o envelhecimento rápido e processos de retrogradação.

A partir das literaturas consultadas, fica evidente que o amido de milho é altamente versátil e demonstra um desempenho excepcional em diversas aplicações. Na indústria de alimentos, em particular, tem sido amplamente utilizado para a produção de filmes com o objetivo de comparar as propriedades dos filmes de amido obtidos a partir de quatro diferentes fontes: batata, milho, trigo e mandioca (Domene-López *et al.*, 2019). Além disso, há também pesquisas recentes relacionadas ao desenvolvimento de filmes inteligentes de amido de milho com quitosana incorporada com nanopartículas de amilopectina de batata encapsuladas com antocianina, que apresentam alta estabilidade para o monitoramento do frescor dos alimentos (Zheng et al., 2023).

Os filmes produzidos a partir de amido de milho são conhecidos por sua eficácia na barreira ao oxigênio. No entanto, eles enfrentam desafios em suas aplicações devido a algumas desvantagens, como a falta de uma barreira eficiente contra a umidade, fragilidade e baixa resistência à tração. Uma abordagem amplamente utilizada para superar essas limitações e conferir propriedades adicionais é a incorporação de outros biopolímeros naturais à mistura de amido, resultando em materiais compósitos. Essa estratégia permite melhorar as propriedades funcionais dos filmes de amido de milho, tornando-os mais versáteis e adequados para diversas

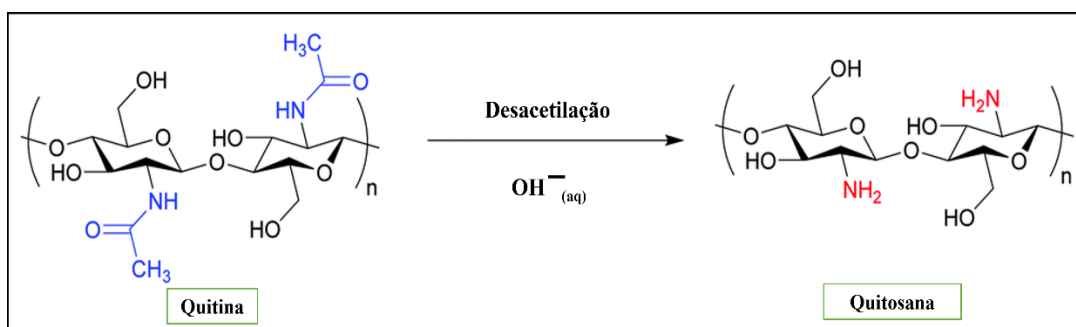
aplicações (Ren et al., 2017).

2.2.3 Quitosana

Como precursora da quitosana, a quitina é o segundo biopolímeros mais abundante na natureza, depois da celulose. É obtido através dos exoesqueletos de crustáceos, como camarões, caranguejos e lagosta e bem como nas paredes celulares de fungos e leveduras. Embora a quitina seja encontrada naturalmente em grandes quantidades em muitas fontes naturais, a quitosana só é encontrada na natureza em quantidades limitadas, como em alguns fungos. A quitosana utilizada para aplicações industriais ou em pesquisa científica é produzida a partir da desacetilação da quitina, por meio de métodos químicos, como fermentação microbiana e hidrólise enzimática, sendo que a desacetilação alcalina é o procedimento mais comumente usados (Hajji et al., 2014; Khajavian et al., 2022; Zhou, D. Y. et al., 2021).

De acordo com a literatura, a quitina é um polímero composto por unidades repetitivas de N-acetil-D-glucosamina, quando passa por um processo de desacetilação, as unidades repetitivas no polímero perdem predominantemente o grupo funcional acetil e tornando-se β -1,4-D-glucosamina. Nesse estado, o polímero é conhecido como quitosana, com peso molecular da quitosana variando geralmente entre 300 – 1000 kDa, dependendo da fonte que é extraída e modo de desacetilação, e com estrutura molecular linear e semicristalina (Figura 2) (Zhou, D. Y. et al., 2021).

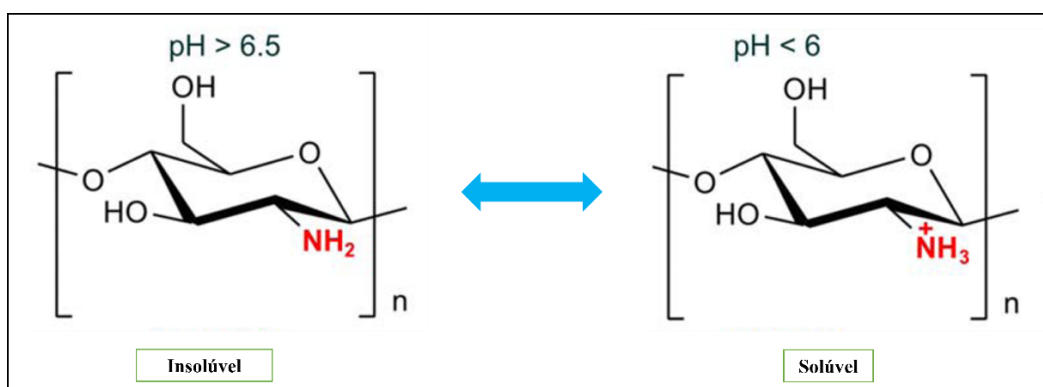
Figura 2 - Estrutura molecular da quitina e quitosana.



Fonte: adaptado de Jin et al., (2021)

A quitina apresenta limitações em seu uso devido à baixa solubilidade na maioria dos solventes. Entretanto, em relação à quitosana, a presença de grupos reativos em sua estrutura, como amino (NH_2) e hidroxila (OH), favorece interações com outras espécies moleculares, possibilitando a solubilização da quitosana em soluções aquosas diluídas de vários ácidos abaixo de pH 6,0. As soluções mais comuns para solubilizar a quitosana são as de ácido acético a 1% e ácido clorídrico a 1%. No entanto, soluções de ácido sulfúrico e fosfórico são insolúveis em quitosana, e acima de um pH 6,0, a quitosana também se torna insolúvel, conforme a Figura 3 (Mourya e Inamdar, 2008; Qiao *et al.*, 2021).

Figura 3 - Ilustração esquemática da molécula de quitosana com variação de pH.



Fonte: Adaptado de Kumirska *et al.*, (2011).

De acordo com Pillai; Paul; Sharma, (2009) isto ocorre devido ao fato de que a quitosana pode ser considerada uma base forte, uma vez que possui grupos amino primários com um valor de pH de 6,3. A presença dos grupos amino indica que o pH altera substancialmente o estado carregado e as propriedades da quitosana. Assim, em pH abaixo de 6,0, essas aminas ficam protonadas e tornam-se carregadas positivamente, o que torna a quitosana um polieletrólito catiônico solúvel em água.

Outra característica distintiva da quitosana em relação a outros polissacarídeos é sua natureza catiônica, já que a maioria dos polissacarídeos é neutra ou aniônica. Devido a essa propriedade, a quitosana permite o desenvolvimento de estruturas multicamadas ou complexos eletrostáticos com outros polímeros sintéticos ou naturais carregados com carga negativa (Cai, Yang e Wang, 2023; El-Hack *et al.*, 2020; Thakur e Thakur, 2014). Além disto, a quitosana tem recebido considerável atenção na indústria alimentícia e em pesquisas devido às suas

propriedades biológicas, como a capacidade antioxidante e antimicrobiana. Em relação à sua atividade antimicrobiana, a quitosana pode inibir o crescimento de vários microrganismos, tais como *Bacillus cereus*, *S. aureus*, *Bacillus megaterium*, *Lactobacillus plantarum*, *Listeria monocytogenes*, *Lactobacillus brevis* e *Lactobacillus bulgaricus* para as bactérias Gram-positivas e *Salmonella typhimurium*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Enterobacter aerogenes* e *Vibrio cholera* referente as bactérias Gram-negativas. Até o momento a literatura ainda não chegou a nenhuma conclusão referente à atividade bacteriana, se é mais forte contra bactérias Gram-negativas ou contra bactérias Gram-positivas (El-Hack *et al.*, 2020).

Segundo estudos de Bhowmik; Agyei; Ali, (2022), a quitosana pode inibir o crescimento de microrganismos de diferentes modos. Um deles é através das moléculas de quitosana carregadas com cargas positivas que interagem com as membranas celulares dos microrganismos, que por sua vez são carregadas com cargas negativas. Isso resulta na ruptura de biofilmes bacterianos e no vazamento subsequente das células bacterianas. Em resumo, a quantidade maior de moléculas carregadas positivamente da quitosana neutraliza as membranas celulares carregadas negativamente, o que acaba levando à morte das bactérias. Outra forma de atuação da quitosana é inibindo diferentes atividades enzimáticas, dificultando o acesso ao sítio ativo da enzima. Além disto, o alto peso da quitosana pode selar a camada superficial da célula bacteriana e alterar a capacidade de permeabilidade celular, obstruindo o caminho de entrada de nutrientes na célula bacteriana. A quitosana também atua como um agente quelante, geralmente se ligando a íons metálicos seletivos, o que priva as células bacterianas de nutrientes minerais essenciais e resulta na morte celular microbiana.

De acordo com pesquisas recentes, a quitosana tem aplicações promissoras em diversas áreas, tais como: medicina e biomedicina, farmácia, cosmetologia, indústria de alimentos, agricultura, indústria de filmes comestíveis e embalagens, tratamento de água, entre outras. Na indústria de filmes comestíveis e embalagens, é possível encontrar diferentes literaturas que obtêm filmes biodegradáveis a partir da quitosana. Por exemplo, o trabalho de (Flórez, Cazón e Vázquez, 2022) que desenvolveu filmes de quitosana com óleo essencial de sândalo (*Santalum album*), usando ácido málico como solvente. O filme desenvolvido foi aplicado em sachê de manteiga. O solvente ácido málico foi utilizado com o objetivo de produzir filmes solúveis em água, que podem ser facilmente removidos dos alimentos. Esses filmes podem ser aplicados em alimentos com alto teor de gordura e baixo teor de umidade.

Embora a quitosana em solução seja conhecida por exibir propriedades biológicas,

alguns autores questionam se a quitosana incorporada nos filmes mantém a atividade efetiva (Lin *et al.*, 2015; Mouhoub *et al.*, 2022). Além disso, como já mencionado, a estrutura molecular da quitosana é composta por muitos grupos de amino e hidroxila, o que limita sua utilização em filmes devido à sua hidrofiliçidade, forte tensão interfacial e baixa resistência à tração. Por esse motivo, substâncias sintéticas ou naturais, encapsuladas ou não, nanopartículas ou micropartículas, são adicionadas à matriz polimérica dos filmes afim de aumentar o tempo de vida dos alimentos e melhorar as propriedades físicas e químicas das embalagens biodegradáveis (Bhowmik, Agyei e Ali, 2022; Liang *et al.*, 2022).

2.3 Embalagens Ativas

As novas tecnologias para embalagens de alimentos, conhecidas como embalagens ativas, têm ganhado destaque devido à possibilidade de interação entre a embalagem e os produtos alimentícios ou o ambiente ao redor do alimento, o que permite preservar e aumentar a qualidade, data de validade, segurança e características sensoriais dos alimentos que se deterioram rapidamente, além das funções básicas desempenhadas pelas embalagens tradicionais, como proteção contra contaminação e danos físicos. Segundo a literatura, isso é especialmente importante uma vez que o prazo de validade dos alimentos está diretamente relacionado às características inerentes dos alimentos embalados, como as características de sabor, cor, aroma, textura, valor nutricional e segurança, às condições ambientais durante transporte e armazenamento, e principalmente à qualidade do sistema de embalagens utilizado (Topuz e Uyar, 2020).

Levando em consideração que a degradação de cada alimento é específica e depende de sua composição, armazenamento e processo de produção, é possível que o agente ativo absorva ou migre componentes indesejados ou desejados de diferentes maneiras. Esses componentes podem ser incorporados à matriz polimérica da embalagem, disponibilizados em sachês/almofadas ou inseridos nos rótulos da embalagem. O mecanismo de ação dos agentes ativos pode ocorrer de diferentes formas, incluindo a liberação de compostos no alimento, como antioxidantes, antimicrobianos, aromas, emissores de CO₂ ou enzimas. Além disso, esses agentes podem absorver substâncias indesejadas, como oxigênio, CO₂ ou etileno, bem como umidade ou aromas. Por fim, também é possível utilizar agentes ativos em sistemas não

migratórios, em que há necessidade de contato total do alimento com a substância, como no caso de nanopartículas de prata, dióxido de titânio e óxido de zinco (ROBERTSON, 2013).

O uso de embalagens antimicrobianas e antioxidantes é atrativo para as indústrias de alimentos, já que os agentes ativos podem interagir com os microrganismos e o oxigênio, retardando assim a deterioração da qualidade dos alimentos causada por patógenos de origem alimentar e oxidação lipídica (Miao *et al.*, 2022). As embalagens antimicrobianas funcionam através da liberação controlada de agentes que inibem o crescimento de microrganismos, como bactérias, fungos e leveduras. Já as embalagens antioxidantes atuam na redução do contato do alimento com o oxigênio, que é o principal responsável pela oxidação lipídica e pela consequente alteração do sabor, odor e textura dos alimentos (ROBERTSON, 2013).

Alguns estudos vêm sendo realizados na área de desenvolvimento de embalagens com propriedades antimicrobianas e antioxidantes. Um exemplo é o estudo conduzido por Roy; Rhim, (2020) que desenvolveu embalagens utilizando três tipos diferentes de carboidratos (ágar, quitosana e carragenina) incorporados com curcumina como agente ativo. O objetivo do estudo foi avaliar a viabilidade de produção de filmes com propriedades antioxidantes e antimicrobianas, bem como avaliar as propriedades físicas, mecânicas e de barreira dos filmes compostos. Os resultados mostraram que os filmes compostos apresentaram atividade antioxidante, enquanto a atividade antimicrobiana foi efetiva contra alguns microrganismos.

Conforme mencionado anteriormente, diversas substâncias podem ser adicionadas como agentes ativos na matriz polimérica. No entanto, nos últimos anos, compostos ativos de origem natural, como óleos essenciais e vegetais, têm sido amplamente utilizados com sucesso devido à crescente conscientização do consumidor acerca dos efeitos prejudiciais à saúde causados por conservantes sintéticos (Mittal *et al.*, 2023). Por exemplo, o estudo publicado em 2022 por Zhao *et al.* investigou a produção de filmes à base de quitosana/gelatina incorporando emulsão de óleo de cravo-da-índia para monitorar o frescor da carne e estender sua vida útil.

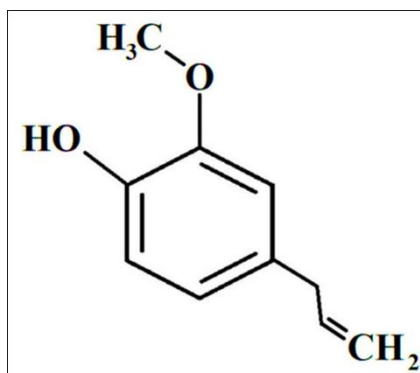
2.3.1 Óleo essencial

Os óleos essenciais, em especial o óleo essencial de cravo (*Eugenia caryophyllata*), são substâncias naturais complexas, reconhecida como seguras pela Food and Drug Administration

(FDA), voláteis e geralmente incolores, com um aroma característico, extraídos de várias partes das plantas aromáticas, como brotos, flores, folhas, caules, galhos, sementes, frutos, raízes, madeira ou casca. Essas plantas predominam em regiões de clima temperado a quente, encontradas principalmente em países mediterrâneos e tropicais, onde as condições ideais de temperatura, umidade e exposição solar favorecem seu crescimento saudável e onde elas desempenham um papel importante na farmacopeia tradicional. Existem diferentes métodos de extração de óleos essenciais, sendo os principais o método do dióxido de carbono líquido, a destilação a vapor e a hidrodestilação. Na destilação a vapor e na hidrodestilação, partes das plantas contendo os compostos aromáticos desejados são aquecidas ou expostas ao vapor d'água e, posteriormente, ocorre a condensação do vapor, resultando na formação dos óleos essenciais (Bakkali et al., 2008; Ferreira et al., 2023a; Oliveira et al., 2025).

Os óleos essenciais têm sido amplamente estudados devido às suas propriedades antibacterianas, antifúngicas, inseticidas, antioxidantes e antimicrobianas, graças à presença de álcoois, fenóis, terpenos, ésteres e outros compostos bioativos, de tal forma que essas propriedades tornam os óleos essenciais valiosos para a preservação de alimentos. Um exemplo é o óleo essencial de cravo, extraído da planta *Eugenia caryophyllata*, que é conhecido por conter o eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$) como principal constituinte fenólico (Figura 4). O eugenol, junto a outros compostos biologicamente ativos, confere ao óleo diversas propriedades benéficas, como a capacidade de sequestrar radicais livres e sua ação antimicrobiana. Além disso, o óleo essencial de cravo é destacado por suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes, o que amplia suas aplicações nas indústrias alimentícia, farmacêutica, sanitária e biológica, além de ser utilizado em embalagens ativas para prolongar a vida útil dos alimentos. Os compostos voláteis presentes também são responsáveis pelo aroma característico do óleo, agregando valor a outras áreas, como aromaterapia e cosméticos (Ferreira et al., 2023a; Mirsharifi et al., 2023; Mittal et al., 2023).

Figura 4 - Estrutura química do eugenol.



Fonte: Zari, Zari e Hakeem (2021).

No entanto, a utilização desses óleos na indústria alimentícia é limitada devido à baixa solubilidade em água, sabor intenso, alta volatilidade e sensibilidade à luz e calor. Portanto, o nanoencapsulamento ou emulsificação contendo óleos essenciais surgem como uma alternativa mais adequada para evitar sua degradação e facilitar sua dispersão na água, além de melhorar a resistência mecânica e permeabilidade dos filmes (Ferreira et al., 2023a; Mirsharifi et al., 2023).

Na literatura se destacam diversos estudos sobre a aplicação de óleos essenciais encapsulados ou emulsificados em embalagens. Um exemplo é o trabalho de Chen et al., (2024) que desenvolveu uma emulsão de Pickering utilizando óleo essencial de canela. Essa abordagem visou aumentar a compatibilidade do óleo com a matriz do filme, reduzir sua taxa de perda, controlar a liberação, além de aprimorar as propriedades mecânicas, a resistência à água e a estabilidade do biofilme. A emulsão foi incorporada a filmes de quitosana e avaliada quanto à sua eficácia na preservação de carne suína.

2.4 Óleo essencial encapsulado por nanopartículas de quitosana

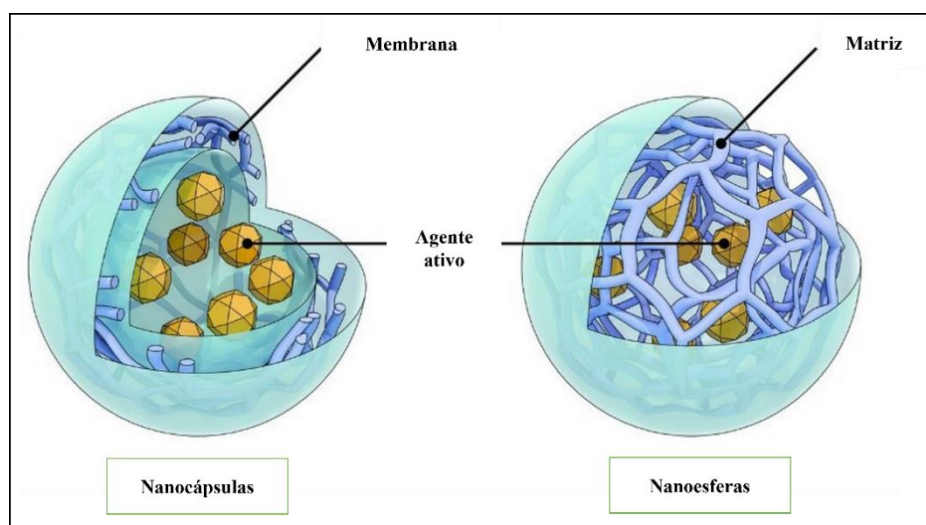
A nanotecnologia tem experimentado um avanço significativo ao longo das últimas décadas, impulsionado pelo rápido aumento no número de publicações que abordam ou requerem o uso de nanopartículas em pesquisas. Esse aumento pode ser atribuído às propriedades únicas dessas partículas, tais como seu tamanho extremamente reduzido na escala nanométrica (10^{-9}), área superficial aumentada, reatividade de superfície, carga e forma,

conferindo à nanotecnologia ampla aplicabilidade em setores como cosméticos, farmacêutica, medicina, alimentos, entre outros (Bundschuh *et al.*, 2018).

As opções de materiais para composição das nanopartículas são diversas e abrangem uma ampla gama, desde metais (Qaeed *et al.*, 2023), óxidos (Iqbal, Tanweer e Alam, 2023), carbono (Lin *et al.*, 2022), cerâmicas (Zielińska *et al.*, 2022) até polímeros (Oliveira *et al.*, 2023). No entanto, quando se trata das nanopartículas poliméricas, é notável a presença de cadeias de polímeros organizadas em estruturas de dimensões nanométricas. Entre os diversos polímeros disponíveis, destaca-se a quitosana devido às suas características intrínsecas e à sua estrutura porosa, que possibilita o armazenamento de moléculas e substâncias em seu interior. Essa propriedade torna a quitosana especialmente adequada para aplicações que exigem liberação controlada e armazenamento prolongado de compostos ativos (Agnihotri, Mallikarjuna e Aminabhavi, 2004; Baig, Faizan e Waheed, 2022; Hadidi *et al.*, 2020; Rampino *et al.*, 2013).

Dentro do campo das nanopartículas poliméricas, existem duas categorias principais: nanocápsulas e nanoesferas. Essas categorias se distinguem tanto pela composição dos materiais utilizados quanto pela organização estrutural. Essas diferenças são exemplificadas na figura 5, proporcionando uma compreensão clara das características distintas de cada tipo de nanopartícula polimérica (SANFELICE, R. C. *et al.*, 2022).

Figura 5 - Representação da estrutura de uma nanocápsula e uma nanoesfera.



Fonte: Adaptada de Suffredini, East, Levy (2014).

As nanoesferas são estruturas sólidas e esféricas compostas por um material polimérico ou lipídico, como a quitosana. Elas são constituídas por uma matriz contínua onde os princípios ativos são dispersos ou encapsulados. Essa matriz pode ser porosa ou não-porosa. Por outro lado, as nanocápsulas são estruturas ocas compostas por uma membrana externa e um espaço interno onde os princípios ativos são encapsulados. Essa membrana pode ser feita de lipídios, polímeros ou uma combinação de ambos. A membrana da nanocápsula é responsável por proteger e controlar a liberação dos princípios ativos, evitando sua interação com o meio externo. A membrana pode ser projetada para ser mais permeável ou ter propriedades de liberação controlada, permitindo a liberação dos princípios ativos de forma sustentada ou direcionada para um local específico. As nanocápsulas têm a capacidade de incorporar moléculas hidrofílicas (solúveis em água) ou lipofílicas (solúveis em lipídios) em sua estrutura. Esses princípios ativos podem ser liberados lentamente, de acordo com a força motriz da liberação do agente ativo (AZEVEDO, 2021).

A liberação controlada de substâncias ativas é um processo complexo que envolve diversos fatores interligados. A composição das nanopartículas e o método de preparação desempenham papéis fundamentais nesse processo. Além disso, a liberação do agente ativo é influenciada por diferentes mecanismos, como o inchaço dos polímeros, a difusão dos materiais adsorvidos, a difusão do agente ativo através da matriz polimérica e a erosão ou degradação do polímero. É importante ressaltar que a liberação controlada é geralmente uma combinação desses mecanismos, que atuam de forma simultânea e sinérgica (AZEVEDO, 2021).

A liberação controlada por difusão ocorre quando substâncias são transportadas do interior da matriz polimérica em direção ao meio de liberação. Esse processo de difusão é regulado pela presença de uma barreira formada pelas cadeias poliméricas, as quais restringem o movimento do agente ativo. O inchaço ou a erosão da matriz também podem influenciar a difusão. Matematicamente, a difusão é descrita pela Lei de Difusão de Fick (Equação 1), que leva em consideração o gradiente de concentração, a área de superfície, a espessura da matriz e o coeficiente de difusão. Esses parâmetros são essenciais para determinar a taxa de difusão do agente ativo ao longo do tempo (Herdiana *et al.*, 2022; Mohammed *et al.*, 2017).

$$F = -D \frac{\partial c}{\partial x}, \quad (1)$$

onde, F é a taxa de transferência por unidade de área de seção (fluxo) e tempo, D é o coeficiente de difusão (difusividade) e $\partial c/\partial x$ gradiente de concentração (variação da concentração C em função da posição x).

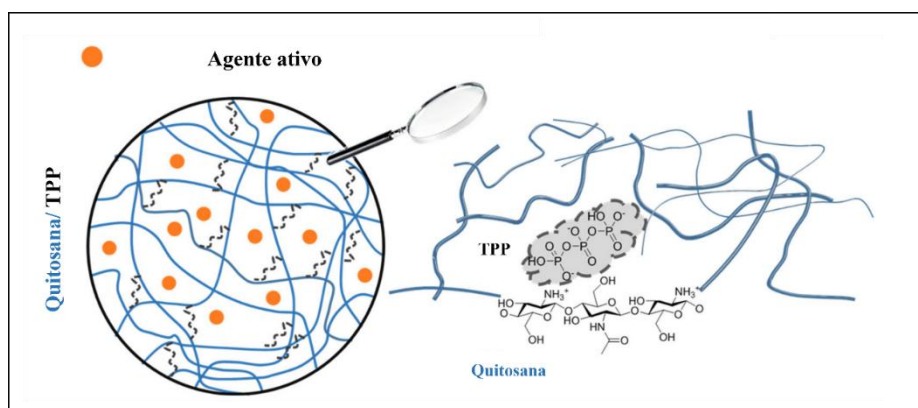
A liberação controlada de substâncias em alimentos ocorre quando as cadeias poliméricas se rompem em resposta à interação com o meio circundante, permitindo a liberação do agente ativo presente na matriz polimérica. Antes da degradação do polímero, ocorre um processo de inchamento. A difusão do agente ativo é influenciada por diversos fatores, tais como a hidrofiliabilidade do polímero, o grau de inchaço que ele apresenta e a organização estrutural de sua rede polimérica, que afeta a mobilidade das moléculas no interior da matriz. (Herdiana *et al.*, 2022).

Além disso, conforme o mesmo autor, a liberação controlada de substâncias em alimentos por meio de processos de erosão e degradação ocorre quando o polímero se desgasta gradualmente devido a fenômenos como erosão, difusão e dissolução. A quebra do polímero pode ser desencadeada por diversos fatores, como a interação com o ambiente circundante, a presença de enzimas ou alterações no pH do meio. Adicionalmente, o conteúdo do polímero e a adsorção de água desempenham papéis fundamentais nesse processo de liberação controlada. A taxa de liberação do agente ativo é regulada por diversos aspectos, incluindo o tipo de polímero utilizado, as ligações internas presentes, a presença de adjuvantes e as características das nanopartículas, tais como forma e tamanho. Por fim, é importante ressaltar que a liberação controlada por estímulos em alimentos pode ocorrer através de diferentes fatores, como a alteração do pH, mudança de temperatura, solubilidade, entre outros (Herdiana *et al.*, 2022; Lee e Yeo, 2015).

Dentre os diversos métodos disponíveis para obter nanopartículas de quitosana, destacam-se a gelificação iônica, coalescência emulsão-gotas, difusão de solvente em emulsão, micelização reversa, emulsão reversa, dessolvatação ou complexação eletrostática. No entanto, é a técnica de gelificação iônica que tem recebido considerável atenção devido às suas vantagens únicas. Além de ser um método livre de solventes orgânicos, não tóxico e conveniente, ele também se destaca pela sua execução simplificada, dispensando a necessidade de altas temperaturas (Hajji *et al.*, 2019). Segundo Hosseini *et al.*, (2013), a gelificação iônica baseia-se na interação eletrostática entre os grupos amino primários carregados positivamente da quitosana e os grupos carregados negativamente de poliânions, como o tripolifosfato de sódio (TPP). Essa interação eletrostática resulta na formação de um gel estável, onde a

quitosana se liga entre si e forma uma estrutura tridimensional reticular, conforme ilustrado na Figura 6.

Figura 6- Representação gráfica das ligações entre a quitosana e TPP



Fonte: adaptado de (Tiburcio *et al.*, 2021)

As nanopartículas de quitosana preenchidas com óleos essenciais, produzidas através da técnica de gelificação iônica, têm sido amplamente exploradas em diversas áreas, como medicina, indústria de fármacos e liberação controlada de agentes ativos na matriz polimérica para alimentos, entre outros. A pesquisa desenvolvida por (Cui *et al.*, 2020) explorou o desenvolvimento de filmes de zeína com aplicação em embalagens de alimentos. Neste estudo, foram utilizadas nanopartículas de quitosana para encapsulamento de extrato de casca de romã, que é rico em compostos bioativos, como polifenóis e flavonoides, reconhecidos por suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas.

Para produzir as nanopartículas de quitosana carregadas com o extrato de casca de romã, foi empregada a técnica de gelificação iônica. Em seguida, essas nanopartículas foram incorporadas ao filme de zeína durante o processo de fabricação. Os resultados obtidos demonstraram que o filme ativo de zeína, contendo extrato de casca de romã encapsuladas por nanopartículas de quitosana, apresentou notáveis propriedades antimicrobianas contra bactérias patogênicas comumente encontradas em alimentos. Além disso, o filme também exibiu atividade antioxidante, capaz de prolongar a vida útil dos alimentos ao protegê-los da oxidação.

2.5 Processo de fabricação de filmes através de extrusora

Existem várias tecnologias disponíveis para a produção de filmes poliméricos, entre as quais se destacam métodos como moldagem por sopro, moldagem por injeção, moldagem por extrusão e Casting. Cada um desses métodos possui características específicas e é utilizado de acordo com as propriedades desejadas do filme e as necessidades da aplicação. No entanto, os métodos mais amplamente utilizados em laboratórios de pesquisa e indústrias de embalagens são o casting e a extrusão, respectivamente (Lim, Auras e Rubino, 2008; Siqueira *et al.*, 2021).

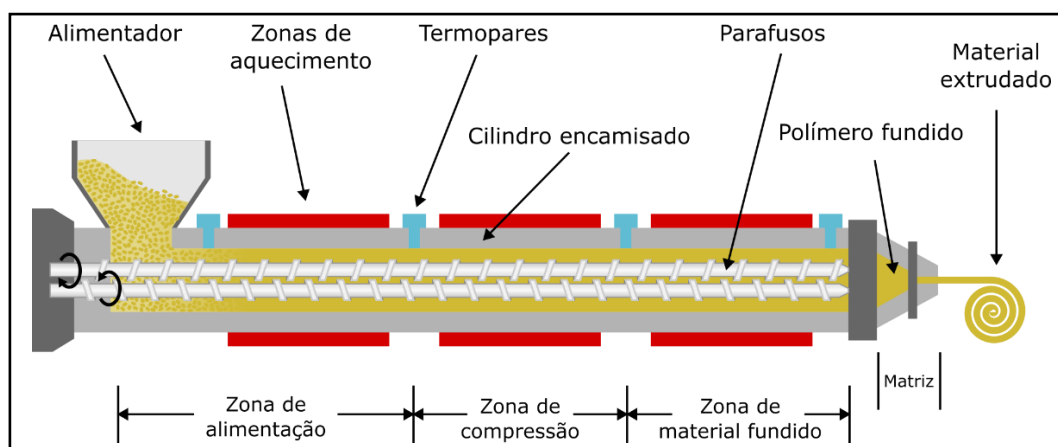
No método de casting, também conhecido como processo de fundição, um polímero derretido é espalhado sobre uma superfície plana e seca, formando um filme contínuo e transparente. Esse método tem como vantagens a sua simplicidade, custo relativamente baixo e não requerer altas temperaturas, instalações ou equipamentos especializados (Ahari *et al.*, 2022).

Já o processo de extrusão é um método contínuo dividido em diferentes etapas: alimentação, zona de alimentação, zona de compressão, zona de material fundido e matriz. Na etapa inicial, os polímeros são alimentados na extrusora para a formação de filmes planos (fita), sendo inseridos por meio de um sistema de alimentação, como um funil, para garantir um fluxo contínuo e controlado. Em seguida, os polímeros são conduzidos à zona de alimentação, onde uma rosca localizada internamente realiza o transporte ao longo do comprimento da extrusora. Além de transportar, a rosca exerce a função de compactar e comprimir os polímeros à medida que eles avançam, preparando-os para o processo de fusão. Na zona de compressão, os polímeros são submetidos a uma pressão crescente. Isso promove a compactação dos grânulos, resultando em um aumento de sua densidade e facilitando a fusão dos materiais. Simultaneamente à compressão, ocorre o aquecimento gradual dos polímeros à medida que eles avançam pela extrusora. Esse aquecimento é proporcionado por sistemas de aquecimento embutidos na extrusora, que fornecem calor às zonas específicas do processo. O aquecimento progressivo e controlado é essencial para evitar o superaquecimento dos polímeros, o que poderia levar à degradação do material (Azevedo *et al.*, 2022).

À medida que os polímeros avançam pela extrusora e entram na zona de material fundido, o calor gerado pelo atrito entre os grânulos e o sistema de aquecimento provoca o amolecimento e a fusão dos polímeros, transformando-os em uma massa fundida e viscosa.

Conforme a massa fundida avança, ela passa por uma matriz de filmes planos (fitas). Durante esse processo, a massa fundida é resfriada rapidamente, seja por meio do contato com cilindros refrigerados ou pelo uso de sistemas de resfriamento a ar. Esse resfriamento rápido promove a solidificação dos polímeros, resultando na formação das fitas desejadas (Azevedo *et al.*, 2022). A Figura 7 representa o processo de extrusão para a formação de fitas biodegradáveis ativas.

Figura 7 - Representação gráfica da extrusora



Fonte: Do autor.

De acordo com Ferreira *et al.*, (2021), no processo de extrusão, existem variáveis controláveis, tais como a velocidade do parafuso, a configuração do parafuso, a relação comprimento/diâmetro, o perfil de temperatura do barril, as taxas de alimentação e o formato da matriz. Por outro lado, os parâmetros dependentes de resposta incluem a temperatura do produto, a distribuição do tempo de permanência, o torque, a entrada de energia mecânica específica, a pressão na matriz e o grau de preenchimento do parafuso. A manipulação adequada dessas variáveis e parâmetros é de extrema importância para a otimização da eficiência e da qualidade no processo de extrusão.

A produção de embalagens utilizando a matriz de fita apresenta diversas vantagens em relação à matriz de filamento, especialmente no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis. Uma das principais vantagens é a obtenção de materiais com propriedades mais homogêneas, o que contribui diretamente para a eficiência das barreiras contra gases e umidade, características essenciais para a conservação de alimentos e outros produtos sensíveis.

Na matriz de fita, o material é processado de forma contínua e, em seguida, submetido

a uma etapa de prensagem para a formação dos filmes. Esse processo reduz significativamente a formação de defeitos estruturais, como espaços vazios ou microfissuras, comumente encontrados na matriz de filamento. Na matriz de filamento, a formação dos filmes envolve etapas mais complexas: o material é inicialmente fundido para formar os filamentos, que são cortados em pellets (grânulos) e, posteriormente, prensados. Essa sequência de etapas aumenta as chances de formação de imperfeições, seja durante a fusão, o corte ou a prensagem. Esses defeitos estruturais podem comprometer a funcionalidade das embalagens, reduzindo sua resistência mecânica e prejudicando a uniformidade de suas propriedades de barreira.

Além disso, a matriz de fita permite maior controle sobre a espessura e a composição do material, garantindo uma distribuição uniforme dos componentes. Isso resulta em filmes com acabamento superficial de alta qualidade e desempenho consistente. Essa uniformidade é especialmente importante em aplicações que exigem precisão nas características funcionais das embalagens.

Outro ponto relevante é a redução do risco de imperfeições nas interfaces, especialmente nas junções entre os pellets. Na matriz de filamento, essas imperfeições podem ocorrer devido a variações no processo de fusão ou à presença de contaminantes entre os grânulos. Como a matriz de fita elimina essas etapas intermediárias, o risco de falhas relacionadas a interfaces é significativamente menor. Além disso, o processo contínuo da matriz de fita apresenta maior eficiência e sustentabilidade, reduzindo o consumo de energia e a geração de resíduos, o que o torna uma escolha mais ecológica no desenvolvimento de embalagens biodegradáveis.

Diversos outros estudos têm sido realizados na aplicação de embalagens biodegradáveis ativas produzidas por extrusão, como, por exemplo, a produção de filmes de quitosana com amido de milho (Mendes *et al.*, 2016), amido de milho e isolado de proteína de soro de leite (Azevedo *et al.*, 2017), fécula de mandioca com isolado de proteína de soja (Ferreira *et al.*, 2021) e entre outros.

REFERÊNCIAS

ABDUL KHALIL, H. P. S. *et al.* Biodegradable Films for Fruits and Vegetables Packaging Application: Preparation and Properties. **Food Engineering Reviews**, v. 10, n. 3, p. 139–153, 2018.

AGARWAL, S. Major factors affecting the characteristics of starch based biopolymer films. **European Polymer Journal**, v. 160, 5 nov. 2021.

AGNIHOTRI, S. A.; MALLIKARJUNA, N. N.; AMINABHAVI, T. M. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 100, n. 1, p. 5–28, 5 nov. 2004.

AHARI, H. *et al.* Bio-nanocomposites as food packaging materials; the main production techniques and analytical parameters. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 310, 1 dez. 2022.

AKHILA, K. *et al.* UV-blocking biodegradable film based on flaxseed mucilage/pectin impregnated with titanium dioxide and calcium chloride for food packaging applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 239, n. April, p. 124335, 2023.

ALIPOUR, A. *et al.* Development and optimization of whey protein- *Lepidium perfoliatum* gum packaging films: An approach towards antimicrobial and biodegradable films. **Industrial Crops and Products**, v. 196, 1 jun. 2023.

AZEVEDO *et al.* Thermoplastic starch/whey protein isolate/rosemary essential oil nanocomposites obtained by extrusion process: Antioxidant polymers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 136, n. 23, 15 jun. 2019.

AZEVEDO, A. G. *et al.* Active Flexible Films for Food Packaging: A Review. **Polymers**, v. 14, n. 12, 1 jun. 2022.

AZEVEDO, Sidney Gomes. **Desenvolvimento, caracterização e estabilidade de um sistema de nanopartículas bicamadas para liberação controlada do óleo essencial da *piper nigrum***. 2021. 138 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Química.

AZEVEDO, V. M. *et al.* Effect of replacement of corn starch by whey protein isolate in biodegradable film blends obtained by extrusion. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 971–

980, 10 fev. 2017.

BAIG, U.; FAIZAN, M.; WAHEED, A. A review on super-wettable porous membranes and materials based on bio-polymeric chitosan for oil-water separation. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 303, 1 maio 2022.

BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446–475, fev. 2008.

BHOWMIK, S.; AGYEI, D.; ALI, A. Bioactive chitosan and essential oils in sustainable active food packaging: Recent trends, mechanisms, and applications. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 34, n. September, p. 100962, 2022.

BUNDSCHUH, M. *et al.* Nanoparticles in the environment: where do we come from, where do we go to? **Environmental Sciences Europe**, v. 30, n. 1, 1 dez. 2018.

CAI, J.; YANG, D.; WANG, Q. Preparation and characterization of chitosan nanoparticles loaded with *Athyrium sinense* essential oil with antibacterial properties against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. **Industrial Crops and Products**, v. 195, n. January, p. 116382, 2023.

CASTRO, R. J. S. *et al.* Whey protein as a key component in food systems: Physicochemical properties, production technologies and applications. **Food Structure**, v. 14, p. 17–29, 1 out. 2017.

CHEN, W. *et al.* Chitosan films incorporated with cinnamon essential oil Pickering emulsions stabilized by methyl tetrahydrophthalic anhydride esterified corn starch for pork preservation. **Food Science and Biotechnology**, 2024.

CHENG, H. *et al.* Starch-based biodegradable packaging materials: A review of their preparation, characterization and diverse applications in the food industry. **Trends in Food Science and Technology**, v. 114, n. July 2020, p. 70–82, 2021.

CUI, H. *et al.* Biodegradable zein active film containing chitosan nanoparticle encapsulated with pomegranate peel extract for food packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 24, n. January, p. 100511, 2020.

DAS, A. *et al.* A comprehensive review on recent advances in preparation, physicochemical characterization, and bioengineering applications of biopolymers. **Polymer Bulletin**, n.

0123456789, 2022.

DOMENE-LÓPEZ, D. *et al.* Comparative study on properties of starch films obtained from potato, corn and wheat using 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate as plasticizer. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 135, p. 845–854, 15 ago. 2019.

EL-HACK, M. E. A. *et al.* Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p. 2726–2744, 2020.

ERANDA, D. H.; CHAIJAN, M.; CASTRO-MUÑOZ, R. Current advances in surface wettability in food packaging materials: Strategies, methods and future trends. **Journal of Food Engineering**, v. 391, 1 maio 2025.

FERREIRA *et al.* The synergistic effect of nanocellulose and nanocapsules into poly(butylene adipate-co-butylene terephthalate) films for active packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 35, 1 mar. 2023.

FERREIRA, L. F. *et al.* Characterization of cassava starch/soy protein isolate blends obtained by extrusion and thermocompression. **Industrial Crops and Products**, v. 160, 1 fev. 2021.

FERREIRA, R. R.; SOUZA, A. G.; ROSA, D. S. Essential oil-loaded nanocapsules and their application on PBAT biodegradable films. **Journal of Molecular Liquids**, v. 337, 1 set. 2021.

FLÓREZ, M.; CAZÓN, P.; VÁZQUEZ, M. Active packaging film of chitosan and Santalum album essential oil: Characterization and application as butter sachet to retard lipid oxidation. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 34, n. September, 2022.

GHARIBZAHEDI, S. M. T. *et al.* Bionanocomposite films with plasticized WPI-jujube polysaccharide/starch nanocrystal blends for packaging fresh-cut carrots. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 36, p. 101042, abr. 2023.

HADIDI, M. *et al.* Chitosan nanoparticles loaded with clove essential oil: Characterization, antioxidant and antibacterial activities. **Carbohydrate Polymers**, v. 236, 15 maio 2020.

HAJJI, S. *et al.* Structural differences between chitin and chitosan extracted from three different marine sources. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 65, p. 298–306, 2014.

HAJJI *et al.* Suitability of chitosan nanoparticles as cryoprotectant on shelf life of restructured fish surimi during chilled storage. **Cellulose**, v. 26, n. 11, p. 6825–6847, 30 jul. 2019.

HASSAN, F. A. S. *et al.* Shelf-life extension of sweet basil leaves by edible coating with thyme volatile oil encapsulated chitosan nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 177, p. 517–525, 30 abr. 2021.

HAZROL, M. D. *et al.* Corn starch (*Zea mays*) biopolymer plastic reaction in combination with sorbitol and glycerol. **Polymers**, v. 13, n. 2, p. 1–22, 2 jan. 2021.

HERDIANA, Y. *et al.* Drug release study of the chitosan-based nanoparticles. **Heliyon**, v. 8, n. 1, 1 jan. 2022.

HOSSEINI, S. F. *et al.* Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, n. 1, p. 50–56, 5 jun. 2013.

HU, J. *et al.* Development and evaluation of soybean protein isolate-based antibacterial nanocomposite films containing nano-TiO₂. **Industrial Crops and Products**, v. 197, n. October 2022, p. 116620, 2023.

IQBAL, Z.; TANWEER, M. S.; ALAM, M. Reduced Graphene Oxide-Modified Spinel Cobalt Ferrite Nanocomposite: Synthesis, Characterization, and Its Superior Adsorption Performance for Dyes and Heavy Metals. **ACS Omega**, v. 8, n. 7, p. 6376–6390, 21 fev. 2023.

JIN, T. *et al.* Chitin and chitosan on the nanoscale. **Nanoscale Horizons**, v. 6, n. 7, p. 505–542, 1 jul. 2021.

JIN, T. Z.; YADAV, M. P.; QI, P. X. Antimicrobial and physiochemical properties of films and coatings prepared from bio-fiber gum and whey protein isolate conjugates. **Food Control**, v. 148, n. January, p. 109666, 2023.

KHAJAVIAN, M. *et al.* Chitin and derivative chitosan-based structures — Preparation strategies aided by deep eutectic solvents: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 275, n. August 2021, 2022.

KULSHRESHTHA, Y. *et al.* CoRncrete: A corn starch based building material. **Construction and Building Materials**, v. 154, p. 411–423, 15 nov. 2017.

KUMIRSKA, J. *et al.* Biomedical activity of chitin/chitosan based materials- influence of physicochemical properties apart from molecular weight and degree of N-Acetylation. **Polymers**, v. 3, n. 4, p. 1875–1901, 2011.

LARA, B. R. B. *et al.* Morphological, mechanical and physical properties of new whey protein isolate/ polyvinyl alcohol blends for food flexible packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 19, p. 16–23, 1 mar. 2019.

LEE, J. H.; YEO, Y. Controlled drug release from pharmaceutical nanocarriers. **Chemical Engineering Science**, v. 125, p. 75–84, 4 mar. 2015.

LI, X. L. *et al.* Fortification of polysaccharide-based packaging films and coatings with essential oils: A review of their preparation and use in meat preservation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 242, 1 jul. 2023.

LIANG, W. *et al.* Insight into crosslinked chitosan/soy protein isolate /PVA plastics by revealing its structure, physicochemical properties, and biodegradability. **Industrial Crops and Products**, v. 187, n. PB, p. 115548, 2022.

LIM, L. T.; AURAS, R.; RUBINO, M. Processing technologies for poly(lactic acid). **Progress in Polymer Science**, v. 33, n. 8, p. 820–852, ago. 2008.

LIN, D. *et al.* Properties of polyvinyl alcohol films reinforced by citric acid modified cellulose nanocrystals and silica aerogels. **Carbohydrate Polymers**, v. 298, 15 dez. 2022.

LIN, S. *et al.* Novel antimicrobial chitosan-cellulose composite films bioconjugated with silver nanoparticles. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 395–403, 2015.

LIU; ZHANG, X.; *et al.* Improved hydrophobicity, antibacterial and mechanical properties of polyvinyl alcohol/quaternary chitosan composite films for antibacterial packaging. **Carbohydrate Polymers**, v. 312, n. October 2022, p. 120755, 2023.

LIU; QIN, Z.; *et al.* Dual-crosslinked starch–poly(ester urethane)–oligochitosan films with high starch content: Application as biodegradable food packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 37, n. February, p. 101064, 2023.

MA, Y. *et al.* Preparation, Characterization, In Vitro Release, and Antibacterial Activity of Oregano Essential Oil Chitosan Nanoparticles. **Foods**, v. 11, n. 23, 1 dez. 2022.

MENDES, J. F. *et al.* Biodegradable polymer blends based on corn starch and thermoplastic chitosan processed by extrusion. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, p. 452–458, 10 fev. 2016.

MIAO, Z. *et al.* Development of antioxidant active packaging films with slow release properties incorporated with tea polyphenols-loaded porous starch microcapsules. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 222, n. PA, p. 403–412, 2022.

MIRSHARIFI, S. M. *et al.* Production, characterization, and antimicrobial activity of almond gum/polyvinyl alcohol/chitosan composite films containing thyme essential oil nanoemulsion for extending the shelf-life of chicken breast fillets. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 227, p. 405–415, 1 fev. 2023.

MITTAL, M. *et al.* Development of poly(hydroxybutyrate) film incorporated with nano silica and clove essential oil intended for active packaging of brown bread. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 233, 1 abr. 2023.

MOHAMMED, M. A. *et al.* An overview of chitosan nanoparticles and its application in non-parenteral drug delivery. **Pharmaceutics**, v. 9, n. 4, 1 dez. 2017.

MOUHOUB, A. *et al.* Antiadhesion effect of the chitosan-based film incorporated with essential oils against foodborne bacteria. **Industrial Crops and Products**, v. 189, n. September, 2022.

MOURYA, V. K.; INAMDAR, N. N. Chitosan-modifications and applications: Opportunities galore. **Reactive and Functional Polymers**, v. 68, n. 6, p. 1013–1051, 2008.

MUTHURAJ, R.; MISRA, M.; MOHANTY, A. K. Biodegradable compatibilized polymer blends for packaging applications: A literature review. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 135, n. 24, 20 jun. 2018.

OCHOA-YEPES, O. *et al.* Influence of process (extrusion/thermo-compression, casting) and lentil protein content on physicochemical properties of starch films. **Carbohydrate Polymers**, v. 208, p. 221–231, 15 mar. 2019.

OLIVEIRA, C. D. *et al.* Development and characterization of pectin films containing nanoemulsions of the essential oil from *Thymus vulgaris* for preserving salami. **Food Chemistry**, v. 471, 15 abr. 2025.

OLIVEIRA, J. V. R. DE *et al.* Polymeric nanoparticles containing babassu oil: A proposed drug

delivery system for controlled release of hydrophilic compounds. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 253, 1 jul. 2023.

PILLAI, C. K. S.; PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. **Progress in Polymer Science**, v. 34, n. 7, p. 641–678, 2009.

QAEED, M. A. *et al.* The effect of different aqueous solutions ratios of *Ocimum basilicum* utilized in AgNPs synthesis on the inhibition of bacterial growth. **Scientific Reports**, v. 13, p. 5866, 2023.

QIAO, C. *et al.* Structure and properties of chitosan films: Effect of the type of solvent acid. **Lwt**, v. 135, n. April 2020, p. 109984, 2021.

RAMPINO, A. *et al.* Chitosan nanoparticles: Preparation, size evolution and stability. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 455, n. 1–2, p. 219–228, 2013.

REN, L. *et al.* Influence of chitosan concentration on mechanical and barrier properties of corn starch/chitosan films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 1636–1643, 1 dez. 2017.

ROBERTSON, G.L. (2013). *Food packaging: principles and practice*. 3 ed. CRC Press, Taylor & Francis Group

ROY, S. *et al.* Recent progress in pectin extraction, characterization, and pectin-based films for active food packaging applications: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 239, n. March, 2023.

ROY, S.; RHIM, J. W. Preparation of carbohydrate-based functional composite films incorporated with curcumin. **Food Hydrocolloids**, v. 98, n. July 2019, p. 105302, 2020.

SILVA, K. F. *et al.* Whey protein isolate and kraft lignin multifunctional films for potential food packaging application: UV block and antioxidant potential. **Food Bioscience**, v. 53, 1 jun. 2023.

SIQUEIRA, L. DO V. *et al.* Starch-based biodegradable plastics: methods of production, challenges and future perspectives. **Current Opinion in Food Science**, v. 38, p. 122–130, 1 abr. 2021.

SUN, H. *et al.* Effects of curcumin, phycocyanin, or modified lycopene colorants on the physicochemical and sensory properties of whey protein–cellulose nanocrystal packaging films. **Food Chemistry**, v. 412, 30 jun. 2023.

TABASUM, S. *et al.* A review on blending of corn starch with natural and synthetic polymers, and inorganic nanoparticles with mathematical modeling. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 122, p. 969–996, 1 fev. 2019.

TANG, H. *et al.* Preparation and characterization of Aloe vera polysaccharide-based packaging film and its application in blueberry preservation. **Progress in Organic Coatings**, v. 177, 1 abr. 2023.

THAKUR, R. *et al.* Starch-based films: Major factors affecting their properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 132, p. 1079–1089, 1 jul. 2019.

THAKUR, V. K.; THAKUR, M. K. Recent advances in graft copolymerization and applications of chitosan: A review. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 2, n. 12, p. 2637–2652, 2014.

TIBURCIO, E. *et al.* Preparation and characterization of aminoglycoside-loaded chitosan/tripolyphosphate/alginate microspheres against e. Coli. **Polymers**, v. 13, n. 19, 1 out. 2021.

TIEN, N. N. T. *et al.* Biodegradable films from dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel pectin and potato starches crosslinked with glutaraldehyde. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 37, 1 jun. 2023.

TOPUZ, F.; UYAR, T. Antioxidant , antibacterial and antifungal electrospun nano fi bers for food packaging applications. **Food Research International**, v. 130, n. December 2019, p. 108927, 2020.

WAKAI, M.; ALMENAR, E. Effect of the presence of montmorillonite on the solubility of whey protein isolate films in food model systems with different compositions and pH. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 612–621, 2015.

WANG, F. *et al.* Simultaneous improvement of the physical and biological properties of starch films by incorporating steviol glycoside-based solid dispersion. **Carbohydrate Polymers**, v. 311, n. February, p. 120766, 2023.

WONGPHAN, P. *et al.* Lesser galangal (*Alpinia officinarum* Hance) essential oil incorporated biodegradable PLA/PBS films as shelf-life extension packaging of cooked rice. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 37, 1 jun. 2023.

YIN *et al.* Inclusion complexes of clove essential oil with sodium caseinate and gum arabic prepared by high-pressure homogenization: Characterization and non-contact antimicrobial activity. **Food Control**, v. 150, 1 ago. 2023.

YIN, W. *et al.* Recent advances in biomolecule-based films and coatings for active and smart food packaging applications. **Food Bioscience**, v. 52, 1 abr. 2023.

ZARI, A. T.; ZARI, T. A.; HAKEEM, K. R. Anticancer Properties of Eugenol: A Review. **Molecules**, v. 26, n. 23, p. 7407, 6 dez. 2021.

ZHANG, H. *et al.* Effect of chitosan-gelatin coating containing nano-encapsulated tarragon essential oil on the preservation of pork slices. **Meat Science**, v. 166, 1 ago. 2020.

ZHANG, J. *et al.* Effect of branched polyethyleneimine and citric acid on the structural, physical and antibacterial properties of corn starch/chitosan films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 231, 15 mar. 2023.

ZHAO, R. *et al.* Fabrication of multifunctional materials based on chitosan/gelatin incorporating curcumin-clove oil emulsion for meat freshness monitoring and shelf-life extension. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 223, p. 837–850, 31 dez. 2022.

ZHENG, L. *et al.* Intelligent starch/chitosan-based film incorporated by anthocyanin-encapsulated amylopectin nanoparticles with high stability for food freshness monitoring. **Food Control**, v. 151, 1 set. 2023.

ZHOU, D. Y. *et al.* Chitosan and Derivatives: Bioactivities and Application in Foods. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 12, p. 407–432, 2021.

ZIELIŃSKA, D. *et al.* TiO₂/nanocellulose hybrids as functional additives for advanced polypropylene nanocomposites. **Industrial Crops and Products**, v. 176, 1 fev. 2022.

ARTIGO 1 - DESENVOLVIMENTO DE NANOCÁPSULAS DE QUITOSANA CARREGADA COM ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO PARA APLICAÇÃO EM EMBALAGENS DE ALIMENTOS.

Anômora Ariane Rochido dos Santos Cotta, Ângela Dayana Barrera de Brito, Júlio Cesar Ugucioni, Alfredo Rodrigues De Sena Neto, Marali Dias Vilela.

Anômora Ariane Rochido dos Santos: arianerochido@gmail.com

Universidade Federal de Lavras- UFLA, Programa de pós-graduação de engenharia de biomateriais - Departamento de engenharia Florestal, Departamento de engenharia de alimentos.

Ângela Dayana Barrera de Brito: angelabarrera@ufla.br

Universidade Federal de Lavras- UFLA, Departamento de física

Júlio Cesar Ugucioni: julio.ugucioni@ufla.br

Universidade Federal de Lavras- UFLA, Programa de pós-graduação de engenharia de biomateriais - Departamento de engenharia Florestal, Departamento de Física.

Alfredo Rodrigues De Sena Neto: alfredo.neto@ufla.br

Universidade Federal de Lavras- UFLA, Departamento de engenharia.

Marali Dias Vilela: marali.dias@ufla.br

Universidade Federal de Lavras- UFLA, Programa de pós-graduação de engenharia de biomateriais - Departamento de engenharia Florestal, Departamento de engenharia de alimentos.

RESUMO

Óleos essenciais são compostos bioativos com potencial para conservação de alimentos devido às suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas. No entanto, sua aplicação direta em embalagens enfrenta desafios como volatilidade e sensibilidade a fatores ambientais. Este estudo teve como objetivo desenvolver nanocápsulas de quitosana carregadas com óleo essencial de cravo (CEO), utilizando a técnica de emulsificação óleo-em-água seguida de gelificação iônica com tripolifosfato de sódio (TPP). O CEO foi extraído por hidrodestilação no aparelho de Clevenger, garantindo a obtenção de um composto puro e padronizado para o processo de encapsulação. A formação das nanocápsulas foi caracterizada quanto à eficiência de encapsulamento, estabilidade térmica, morfologia e tamanho de partícula. Os resultados indicaram que a eficiência de encapsulamento variou de 1,08% a 12,14%, dependendo da proporção entre os componentes, com a maior eficiência observada na amostra 1:1 (quitosana/CEO), que também apresentou atividade antioxidante de 75,84%. A análise morfológica realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) revelou partículas esféricas com estrutura núcleo-casca bem definida, evidenciando a formação homogênea das nanocápsulas. A caracterização por espalhamento dinâmico de luz (DLS) indicou um diâmetro hidrodinâmico médio de 58 nm para a amostra 1:1, enquanto a análise direta por MEV revelou partículas com tamanhos distribuídos em torno de 94 nm, demonstrando uma boa correlação entre as técnicas. Além disso, a análise termogravimétrica (TGA) demonstrou que a encapsulação conferiu maior estabilidade térmica ao CEO, reduzindo sua degradação térmica e permitindo uma liberação gradual do composto bioativo. Diante desses achados, as nanocápsulas de quitosana demonstraram grande potencial para aplicações em embalagens biodegradáveis ativas, podendo atuar na conservação prolongada de alimentos ao minimizar a degradação oxidativa e a proliferação microbiana. Estudos futuros devem focar na incorporação dessas nanocápsulas em filmes biodegradáveis e na avaliação de sua funcionalidade em condições reais de armazenamento e processamento industrial, analisando fatores como migração controlada do CEO, resistência mecânica dos filmes e eficácia antimicrobiana.

Palavras-chaves: Encapsulamento; nanotecnologia; óleo essencial de cravo; gelificação iônica.

1 INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais são produtos naturais extraídos de diferentes partes de plantas aromáticas, como brotos, caules e folhas, e são compostos por misturas complexas de substâncias biologicamente ativas. Esses compostos são reconhecidos como seguros pela Food and Drug Administration (FDA). Além disso, a Comissão Europeia autoriza o uso de alguns constituintes dos óleos essenciais como aromatizantes alimentares, incluindo linalol, timol, carvona, cinamaldeído, carvacrol, citral, limoneno e eugenol. Caracterizados por sua volatilidade, coloração geralmente incolor e aroma distintivo, os óleos essenciais contêm uma ampla variedade de compostos bioativos, como álcoois, fenóis, terpenos e ésteres, que apresentam diversas propriedades funcionais. Estudos recentes destacaram seu potencial em atividades antibacterianas, antifúngicas, inseticidas, anti-inflamatórias, antivirais, antioxidantes e antimicrobianas, tornando-os promissores para diversas aplicações, especialmente na preservação de alimentos, onde atuam como agentes antioxidantes e antimicrobianos. (Chen et al., 2025; Ferreira et al., 2023; Jamil et al., 2016; Oliveira et al., 2025).

Entre os exemplos mais notáveis de óleos essenciais está o óleo essencial de cravo (CEO), extraído da planta *Eugenia caryophyllata*, cujo principal componente ativo, o eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$). Este óleo essencial se destaca por suas propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas, antioxidantes e outras atividades biológicas, o que confere ao CEO diversas aplicações nas indústrias alimentícia, sanitária, biológica, farmacêutica e em embalagens ativas para prolongar a vida útil dos alimentos (Hadidi *et al.*, 2020; Xu *et al.*, 2023). No entanto, a incorporação direta do CEO nas matrizes poliméricas de embalagens, apesar de seu potencial para prolongar a vida útil dos alimentos, enfrenta limitações significativas. Entre os principais obstáculos estão sua baixa solubilidade em água, o sabor intenso e o aroma característico, que podem modificar ou mascarar os aromas naturais dos alimentos, além de sua alta volatilidade e sensibilidade às condições ambientais, como luz, oxigênio e variações de temperatura, o que compromete sua eficácia em aplicações a longo prazo em alimentos, como carnes, itens de panificação, laticínios, frutas e vegetais (Xu *et al.*, 2023).

Para superar essas limitações, a nanotecnologia apresenta-se como uma abordagem promissora, especialmente por meio do encapsulamento de óleos essenciais em nanopartículas. Esse processo aumenta a biodisponibilidade dos compostos devido à maior razão superfície-volume, permitindo a liberação controlada e oferecendo proteção adicional contra a oxidação,

o que resulta em maior estabilidade e disponibilidade de absorção dos óleos essenciais encapsulados. No campo das nanopartículas poliméricas, destacam-se as nanocápsulas e as nanoesferas, que diferem na estrutura e composição dos materiais. As nanoesferas possuem uma estrutura sólida com os compostos ativos dispersos de forma homogênea, enquanto as nanocápsulas são caracterizadas por um núcleo, geralmente oleoso ou aquoso, envolto por uma membrana polimérica, como a quitosana (Nazurah et al., 2024; Taheri et al., 2020).

A quitosana, amplamente utilizada na formação de nanocápsulas, é um polissacarídeo linear obtido principalmente dos exoesqueletos de crustáceos, como camarões, caranguejos e lagostas, além de ser encontrada nas paredes celulares de fungos e leveduras. Sua produção para uso industrial e científico envolve a desacetilação da quitina, utilizando processos como fermentação microbiana, hidrólise enzimática e, mais comumente, desacetilação alcalina. Estruturalmente, a quitosana é composta por unidades de D-glucosamina e N-acetil-D-glucosamina, ligadas por ligações β -(1 \rightarrow 4), o que confere propriedades únicas para aplicações em encapsulamento (Bakshi *et al.*, 2020; Nassef *et al.*, 2024; Zhou *et al.*, 2021). Segundo Hosseini et al., (2013) a quitosana está recebendo muito interesse para o encapsulamento de compostos bioativos também por conta da sua biocompatibilidade, baixa toxicidade e biodegradabilidade.

A eficiência do encapsulamento de compostos bioativos, o tamanho das nanopartículas e a liberação controlada do óleo essencial estão diretamente relacionadas ao método de produção e aos parâmetros envolvidos na formação das nanocápsulas de quitosana. Estudos indicam que variáveis como a concentração de quitosana e tripolifosfato de sódio (TPP), o tempo de reação e o processo de mistura influenciam diretamente o tamanho das nanocápsulas. Concentrações mais elevadas de quitosana, por exemplo, tendem a resultar em nanocápsulas maiores, o que pode aumentar a eficiência de encapsulamento, mas também acelerar a liberação do óleo essencial (Herdiana *et al.*, 2022; Lee e Yeo, 2015).

Entre os métodos de obtenção dessas nanocápsulas, a gelificação iônica se destaca por ser livre de solventes orgânicos, não tóxica, de execução simplificada e realizada sem a necessidade de altas temperaturas (Hajji *et al.*, 2019; Nassef *et al.*, 2024). A gelificação iônica, segundo (Hosseini *et al.*, 2013), ocorre pela interação eletrostática entre os grupos amino carregados positivamente da quitosana (NH_3^+) e os grupos carregados negativamente de poliânions, como o tripolifosfato de sódio (TPP). Em condições de pH abaixo de 6,0, a quitosana se protona, adquirindo carga positiva, o que facilita a interação eletrostática com compostos aniônicos e superfícies negativamente carregadas. Esse processo resulta na

formação de um gel estável, no qual a quitosana se organiza em torno das nanopartículas, formando uma casca polimérica que encapsula o óleo essencial, como o de cravo, no interior das nanocápsulas.

Dentre as possíveis pesquisas desenvolvidas sobre o encapsulamento de óleos essenciais em nanopartículas de quitosana, podemos destacar alguns trabalhos. Por exemplo, Yang et al., (2021) realizaram o encapsulamento do óleo essencial de canela; Kujur et al., (2021) encapsularam o óleo essencial de jasmim; Hosseini et al., (2013) conduziram o encapsulamento do óleo essencial de orégano; Hadidi et al., (2020) investigaram o encapsulamento do óleo essencial de cravo. No estudo de Hadidi et al., (2020), o óleo essencial de cravo foi encapsulado por meio da técnica de gelificação em emulsão iônica. Foram analisadas a taxa de retenção, as propriedades estruturais através da espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e difração de raios X (FTIR e DRX), a morfologia através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) e as atividades antioxidante e antimicrobiana das nanopartículas. Os resultados indicaram uma retenção de 55,5% a 73,4%, associada ao aumento do tamanho das nanopartículas, que variaram entre 223 e 444 nm. O encapsulamento de bioativos na forma de nanopartículas pode apresentar forte atividade antibacteriana em baixas concentrações de bioativos, devido à sua alta relação área de superfície/volume, ao número maior de sítios reativos e às suas propriedades químicas e físicas únicas. Além disso, essas nanopartículas são mais estáveis em condições extremas, como altas temperaturas e pressões (Sani Aliero *et al.*, 2025).

Com base nas análises realizadas, este trabalho propõe explorar uma estratégia para reduzir o tamanho das nanocápsulas, visando aumentar a relação entre área de superfície e volume, tornando-as mais eficientes quando aplicadas em embalagens biodegradáveis, com o objetivo de prolongar a vida útil dos alimentos. Para isso, a pesquisa foi realizada em duas etapas: na primeira, preparou-se uma emulsão óleo-em-água (o/a), e, na segunda, ocorreu a gelificação iônica. Após a obtenção das nanopartículas, analisaram-se as propriedades físicas e químicas das amostras, incluindo caracterizações por termogravimetria (TG), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e determinação do tamanho médio das partículas (DLS e MEV). Também avaliaram-se os perfis de liberação por meio da eficiência de encapsulamento e das atividades antioxidantes, com o objetivo de incorporar essas nanopartículas em embalagens biodegradáveis, visando aumentar a vida útil dos alimentos.

2 MATERIAL E MÉTODOS:

2.1 Material

Quitosana (Polymar®, Fortaleza, Ceará, Brasil) com massa molar média (Mz) de $41,26 \times 10^4 \text{ g mol}^{-1}$ e grau de desacetilação de 72%, tripolifosfato de sódio da Êxodo Científica, Tween-80 da Dinâmica Química, ácido acético da Sigma-Aldrich e os botões florais secos de cravo-da-índia foram adquiridos em um estabelecimento comercial de Lavras, Minas Gerais.

2.2 Extração do óleo essencial

O óleo essencial de cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata*) foi obtido por meio de hidrodestilação, utilizando um aparelho de Clevenger acoplado a um balão de fundo redondo com capacidade de 2 litros. O processo foi realizado durante 2 horas, seguindo a metodologia de Teixeira et al., (2023). Para o processo, aproximadamente 120 g de botões florais secos de cravo-da-índia foram adicionados a um balão volumétrico contendo 1 litro de água. Ao final da destilação, o hidrolato obtido foi centrifugado a 4000 rpm por 15 minutos em uma centrífuga (HoffmannLab, HCL-4), separando-se as fases orgânica e aquosa. O óleo essencial foi coletado com o auxílio de uma pipeta de Pasteur e armazenado em um frasco de vidro âmbar sob refrigeração.

2.2 Caracterização do óleo essencial

2.2.1 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM)

A caracterização e quantificação do óleo essencial de cravo-da-índia (CEO) foram

realizadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM - Shimadzu, GCMSQP2010), utilizando uma coluna capilar de sílica fundida SBLTM-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm , fase ligada: 5% difenil, 95% dimetil polissiloxano). O gás de arraste utilizado foi hélio (He), com fluxo de 1,18 mL min^{-1} . A programação de temperatura iniciou-se em 60 °C (mantida por 2 min), seguida de um aumento de 3 °C min^{-1} até 240 °C, e posteriormente de 10 °C min^{-1} até atingir 300 °C, sendo mantida constante por 7 minutos. A temperatura do injetor foi de 220 °C, enquanto as temperaturas da fonte de íons e da interface foram de 200 °C e 240 °C, respectivamente. Foi injetado 1 μL da amostra, diluída a 1% em hexano, com uma taxa de divisão (split) de 1:100. Para a avaliação quantitativa, utilizou-se um cromatógrafo gasoso (Shimadzu CG-17A) equipado com detector por ionização de chamas (FID). Os parâmetros experimentais de análise foram os mesmos utilizados na identificação por CG/EM, com a temperatura do detector ajustada para 300 °C. Os constituintes foram identificados comparando-se os índices de retenção calculados pela equação de (Dool, van Den e Dec. Kratz, 1963), com base na série homóloga de alcanos (nC8-nC40), com os índices de retenção descritos na literatura, conforme (Adams, 2017), e por meio de comparação com as bibliotecas Willey 2008 e FFNSC.

2.2.2 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia foi determinada por meio do método de captura do radical livre 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), utilizando uma solução estoque de óleo essencial de cravo (CEO) com concentração de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Após a diluição do CEO, foi preparada uma solução etanólica de DPPH com concentração de 40 mg L^{-1} , que foi mantida sob refrigeração e protegida da luz.

Para a análise, 0,3 mL da amostra de CEO foi adicionado a tubos de ensaio, seguido pela adição de 2,7 mL da solução de DPPH. O controle (branco) foi preparado substituindo a amostra de CEO por 0,3 mL de etanol, mantendo-se o volume de 2,7 mL da solução etanólica de DPPH. As misturas permaneceram ao abrigo de luz por 60 minutos e, em seguida, a absorbância foi medida em um espectrofotômetro UV-Vis Bel SPECTRO S-2000 (Monza, Itália) a 515 nm (Teixeira *et al.*, 2023). A porcentagem de atividade antioxidante foi calculada utilizando a equação (1).

$$(\%)AA = \frac{A_{Controle} - A_{amostra}}{A_{Controle}} \times 100 \quad (1)$$

Em que: $A_{amostra}$ é a absorbância da solução contendo o óleo essencial (amostra); $A_{controle}$ é a absorbância sem a amostra.

2.3 Obtenção das nanocápsulas de quitosana carregadas com CEO

O encapsulamento do óleo essencial de cravo (CEO) em nanocápsulas de quitosana foi realizado em duas etapas principais: emulsão óleo-em-água e gelificação iônica, conforme as metodologias adaptadas de (Hosseini *et al.*, 2013; Shetta, Kegere e Mamdouh, 2019).

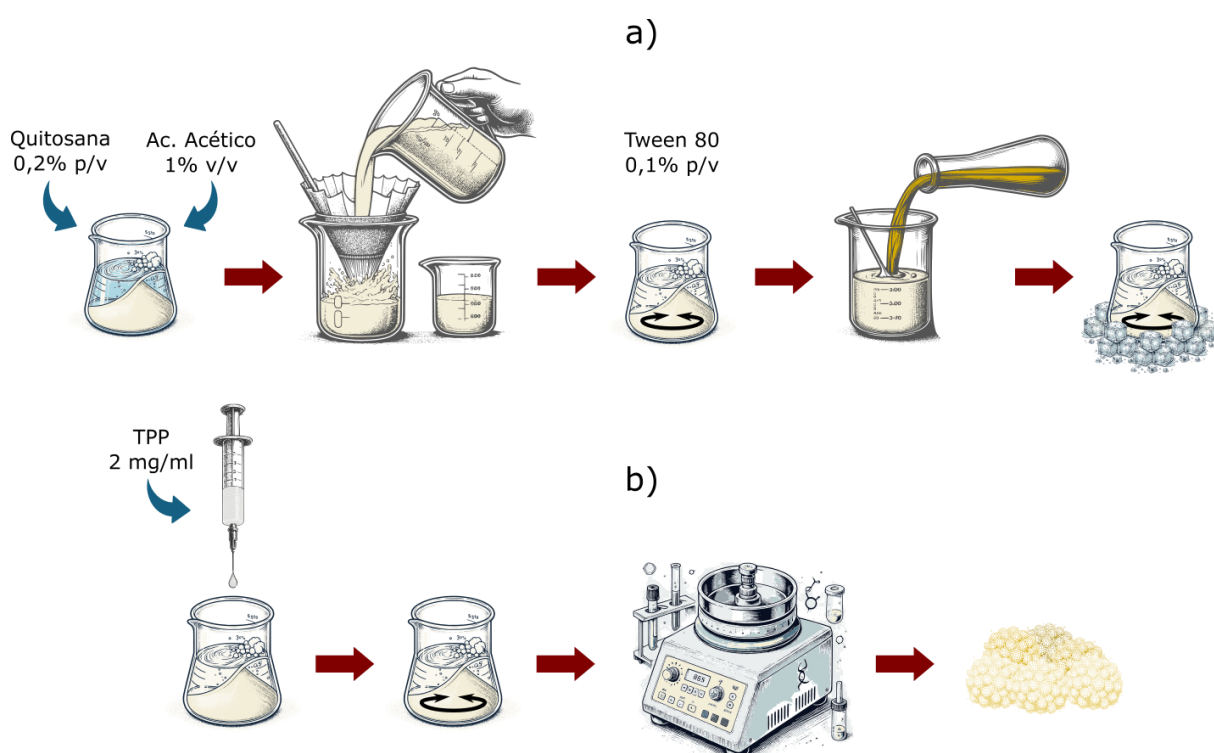
Primeiramente, preparou-se uma solução de ácido acético a 1% (v/v) e adicionou-se pó de quitosana (0,2% p/v). A mistura foi mantida sob agitação contínua por 24 horas à temperatura ambiente e, após a dissolução total, a solução foi filtrada a vácuo para remover precipitados. Para a emulsão óleo-em-água, foi adicionado Tween 80 (0,1% p/v) à solução de quitosana, seguida de agitação mecânica a 1200 rpm por 1 hora a 50°C em um agitador Ultra-Turrax IKA Labortechnik modelo RW 20 .n. Após essa etapa, a solução foi resfriada à temperatura ambiente e o pH ajustado para 4,2 com NaOH (2 M). Em seguida, diferentes proporções de CEO foram incorporadas à solução de quitosana sob agitação contínua no agitador mecânico e em banho de gelo, com as proporções de quitosana/óleo de 1:0; 1:0,5; 1:0,75 e 1:1, com o intuito de determinar a melhor relação entre quitosana e óleo.

O uso de Tween 80 ajudou a reduzir a tensão superficial entre as fases óleo e água, formando gotículas estáveis e homogêneas de CEO na solução de quitosana. Durante essa emulsificação, os grupos amino protonados (NH_3^+) da quitosana se adsorveram à superfície das gotículas de óleo, criando uma camada protetora que estabilizou as gotículas por meio de interações eletrostáticas entre os grupos amino e o óleo essencial.

Na segunda etapa, foi adicionada uma solução de tripolifosfato de sódio (TPP) a 2 mg/mL, gota a gota, com o auxílio de uma seringa, à solução de quitosana contendo o óleo essencial, sob agitação constante à temperatura ambiente, em um agitador magnético da marca e modelo Göstirrer MS-H-S. Após a adição do TPP, a solução final permaneceu em agitação

magnética por 1 hora à temperatura ambiente para garantir a completa reticulação. Os ânions polifosfato ($P_3O_{10}^{5-}$) do TPP interagiram com os grupos amino protonados da quitosana, formando uma rede de reticulação iônica que conferiu estabilidade estrutural às nanocápsulas, criando uma matriz tridimensional robusta. Esse processo reforçou a integridade das nanocápsulas e promoveu um encapsulamento eficaz do CEO, aumentando a resistência das partículas a variações ambientais e permitindo uma liberação controlada do óleo essencial, conforme ilustrado na Figura 1.

Figura 1 – Representação esquemática da emulsão óleo-em-água (a) e gelificação iônica (b) para obtenção das nanocápsulas de quitosana carregadas com CEO.



As nanocápsulas formadas foram submetidas à centrifugação em uma centrífuga centrífuga modelo HCL-4 (HoffmannLab) a 4000 rpm por 15 minutos, à temperatura ambiente, lavadas com água deionizada e secas em estufa a vácuo (SL 104, Solab, Piracicaba, Brasil) a 40°C para a realização de análises de eficiência de encapsulamento, atividade antioxidante e termogravimétrica. Parte das análises e caracterizações foi realizada com as nanocápsulas em

suspensão aquosa como as análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espalhamento dinâmico de luz (DLS).

2.4 Caracterização das nanocápsulas de quitosana

2.4.1 Eficiência de encapsulamento

Para determinar a eficiência de encapsulamento do óleo essencial de cravo (CEO) nas nanocápsulas de quitosana, utilizou-se um espectrofotômetro ultravioleta-visível (UV-Vis) Bel SPECTRO S-2000 (Monza, Itália) de acordo com a metodologia de Hasheminejad, Khodaiyan e Safari, (2019). Uma solução contendo 5 mg/mL de nanocápsulas de quitosana foi dispersa em água deionizada, seguida pela adição de 2,5 mL de solução de ácido clorídrico (2 M). Em seguida, a mistura foi submetida a um banho-maria a 90°C por 30 minutos. Após esse período, a solução foi resfriada à temperatura ambiente, e 0,5 mL de etanol foi adicionado. A amostra foi centrifugada (HoffmannLab, HCL-4) por 5 minutos a 4000 rpm. Posteriormente, a absorbância do sobrenadante foi medida a 282 nm, correspondente ao comprimento de onda de absorção máximo do CEO. As amostras em branco foram preparadas utilizando nanocápsulas sem CEO na proporção de 1:0.

A quantidade total de CEO encapsulado foi calculada com base em uma curva de calibração construída para CEO livre em etanol ($y = 0,0153x - 0,0033$; $R^2 = 0,9981$) utilizando a seguinte equação (2).

$$EE (\%) = \frac{\text{Quantidade de óleo essencial encapsulado}}{\text{Quantidade total de óleo essencial usado na formulação}} \times 100 \quad (2)$$

2.4.2 Atividade antioxidante

O método de captura do radical livre 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) foi utilizado para avaliar a capacidade antioxidante das nanocápsulas. Para a liberação do óleo essencial, 1 mg de nanocápsulas de quitosana foi dissolvido em 1 mL de álcool etílico, e a mistura foi submetida a um banho ultrassônico por 1 hora a 30°C. Após essa etapa, seguiu-se a metodologia descrita no tópico 2.2.2 para determinar a atividade antioxidante das nanocápsulas.

2.4.3 Tamanho das nanocápsulas

O tamanho hidrodinâmico das nanocápsulas de quitosana foi determinado utilizando a técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS) em ângulo de 90° em um equipamento Zeta Sizer Nano ZS (Malvern, Inglaterra) à temperatura de 25 °C. Para as medidas, as suspensões de nanocápsulas foram diluídas em uma proporção de 1:10, utilizando água ultrapura. Em cada leitura, foram registrados o diâmetro hidrodinâmico das nanocápsulas. Os resultados obtidos correspondem à análise em triplicata das amostras.

2.4.4 Termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica (TGA) foi realizada para investigar as perdas de massa das amostras em função da temperatura, avaliando sua estabilidade térmica e o perfil de degradação das nanopartículas de quitosana nas proporções de quitosana/óleo 1:0 e 1:1. O experimento foi conduzido em um analisador termogravimétrico DTG-60H da marca Shimadzu, sob fluxo de gás nitrogênio a 50 mL.min⁻¹, em uma faixa de temperatura ambiente até 600°C, com uma taxa de aquecimento de 10°C.min⁻¹. Os resultados foram apresentados em gráficos gerados no Origin 2024b (Ferreira, *et al.*, 2021).

2.4.5 Microscopia eletrônica de varredura

A morfologia das nanocápsulas em solução foi analisada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) utilizando o equipamento Tescan-Clara (República Tcheca) com o objetivo de avaliar as características estruturais, as propriedades morfológicas e o tamanho médio das nanocápsulas. Para o preparo das amostras, as soluções contendo nanocápsulas, formuladas nas proporções de quitosana/óleo essencial de 1:0 e 1:1, foram diluídas em água ultrapura na proporção de 1:5. Uma gota de cada solução foi depositada sobre um suporte revestido com papel alumínio e deixada secar à temperatura ambiente dentro de um frasco contendo sílica para evitar a umidade.

Após a secagem, as amostras foram revestidas com uma fina camada de ouro sob alto vácuo para melhorar a condutividade elétrica. As análises no MEV foram realizadas utilizando feixes de elétrons com energias de 15 keV e 20 keV, possibilitando a obtenção de imagens de alta resolução para a observação das estruturas.

Duas imagens obtidas por MEV foram analisadas com o software ImageJ, permitindo a avaliação detalhada dos tamanhos das partículas em regiões específicas das imagens. Foram analisadas aproximadamente 285 nanopartículas para a amostra 1:0 e 400 nanopartículas para a amostra 1:1. Os dados gerados foram utilizados para a produção dos histogramas, que foram construídos no Origin 2024b para representar a distribuição dos tamanhos médios das nanocápsulas.

2.6 Análise estatística

A análise estatística das nanocápsulas de quitosana foi realizada por meio de Análise de Variância (ANOVA), utilizando o software Origin 2024b, com nível de significância de $p < 0,05$. Os resultados foram comparados pelo teste de Tukey.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização do óleo essencial

Por meio da cromatografia gasosa e da comparação do espectro de massa, foi possível identificar os componentes do óleo essencial de cravo-da-índia. Foram detectados três compostos principais: eugenol, que representa 71,61% da composição total do óleo, seguido pelo acetato de eugenol com 22,40% e o trans- β -cariofileno com 5,99%, conforme mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Intensidade (%) dos principais compostos identificados no óleo essencial de cravo.

Composto	Intensidade (%)
Eugenol	71,62
Acetato de eugenol	22,40
Trans- β -cariofileno	5,99

Os resultados obtidos neste estudo são consistentes com os encontrados por outros pesquisadores, que observaram 76,8% de eugenol, seguido por β -cariofileno (17,4%), α -humuleno (2,1%) e acetato de eugenila (1,2%) (Jirovetz *et al.*, 2006). No entanto, outros estudos relataram que a concentração de eugenol representa 96,3% a área total do pico, sendo o composto majoritário. Essas divergências na composição podem ser relacionadas a fatores como localização geográfica, tipo de espécie, características do solo, período de colheita, variações genéticas, idade da planta e técnicas de extração utilizadas (Cândido *et al.*, 2024; Ferreira, V. R. F. *et al.*, 2023).

O óleo essencial de cravo (CEO) demonstrou uma atividade antioxidante de $92,616 \pm 0,390\%$ atribuída principalmente à alta concentração do composto bioativo eugenol, conforme identificado por cromatografia gasosa. O eugenol, por sua estrutura rica em fenóis, desempenha um papel crucial na eliminação de espécies reativas de oxigênio ao transferir átomos de hidrogênio, estabilizando-se por ressonância. Assim, o eugenol doa elétrons, neutralizando

radicais livres e prevenindo o estresse oxidativo. Essa capacidade de neutralizar radicais e decompor peróxidos reduz a oxidação em sistemas alimentares, retardando a degradação de lipídios e gorduras e, conseqüentemente, prolongando a vida útil dos alimentos (Cândido *et al.*, 2024). Os resultados da atividade antioxidante do CEO relatados na literatura de Sander *et al.*, (2024) corroboram com os resultados encontrados nesta pesquisa.

3.2 Análise do tamanho das partículas e propriedades antioxidantes das nanocápsulas

A Tabela 2 também inclui os resultados obtidos para o diâmetro hidrodinâmico das nanocápsulas através da técnica de DLS e a atividade antioxidante pelo método de DPPH.

Tabela 2 – Diâmetro hidrodinâmico das nanocápsulas (nm), eficiência de encapsulamento (EE, %) e atividade antioxidante (DPPH, %).

Proporção quitosana/CEO	Diâmetro hidrodinâmico das nanopartículas (nm)	EE (%)	Atividade antioxidante (%)
1:0	61	0	0
1:0,50	28	1,08 ^c ± 0,69	0,802 ^c ± 0,61
1:0,75	36	5,36 ^b ± 0,49	50,48 ^b ± 1,62
1:1	58	12,14 ^a ± 0,23	75,84 ^a ± 1,20

*As médias observadas na coluna com a mesma letra não diferem estatisticamente ($p < 0,05$)

Os resultados mostraram que a eficiência de encapsulamento (EE%) variou de $1,082 \pm 0,69\%$ a $12,14 \pm 0,23\%$, sendo influenciada pela proporção entre quitosana e CEO. Observou-se que, à medida que a quantidade de CEO aumentou de 1:0,50 para 1:1, a eficiência de encapsulamento também aumentou significativamente. A formulação com menor concentração de CEO (1:0,50) apresentou uma EE baixa ($1,08 \pm 0,69\%$), sem diferença estatística em relação à formulação sem óleo essencial (1:0). No entanto, com o aumento da proporção de CEO para 1:0,75 e 1:1, a EE aumentou significativamente para $5,36 \pm 0,49\%$ e $12,14 \pm 0,23\%$, respectivamente, com diferenças estatísticas entre todas as formulações ($p < 0,05$).

Além disso, foi observado um comportamento não linear no diâmetro hidrodinâmico das nanocápsulas. A formulação sem óleo apresentou o maior diâmetro médio (61 nm), o que

pode estar associado à agregação da quitosana na ausência de interações com o CEO. Com a introdução do óleo na proporção de 1:0,50, o diâmetro médio reduziu significativamente para 28 nm, sugerindo uma maior compactação da matriz polimérica. No entanto, à medida que a proporção de CEO aumentou para 1:0,75 e 1:1, os diâmetros médios também aumentaram para 36 nm e 58 nm, respectivamente. Isso pode estar relacionado à maior quantidade de óleo encapsulado, promovendo mudanças na organização estrutural das nanopartículas.

A atividade antioxidante seguiu a tendência da EE (%), com valores variando de 0 a $75,84 \pm 1,20\%$. A formulação sem CEO não apresentou atividade antioxidante, como esperado. A formulação 1:0,50 exibiu uma atividade muito baixa ($0,80 \pm 0,66\%$) e sem diferença estatística significativa em relação à formulação sem óleo (1:0). Entretanto, a partir da proporção 1:0,75, houve um aumento expressivo na atividade antioxidante ($50,48 \pm 1,62\%$), atingindo o valor máximo na formulação 1:1 ($75,84 \pm 1,20\%$). As análises estatísticas indicam diferenças significativas entre todas as formulações ($p < 0,05$), evidenciando que a encapsulação do CEO influencia diretamente a funcionalidade antioxidante das nanopartículas.

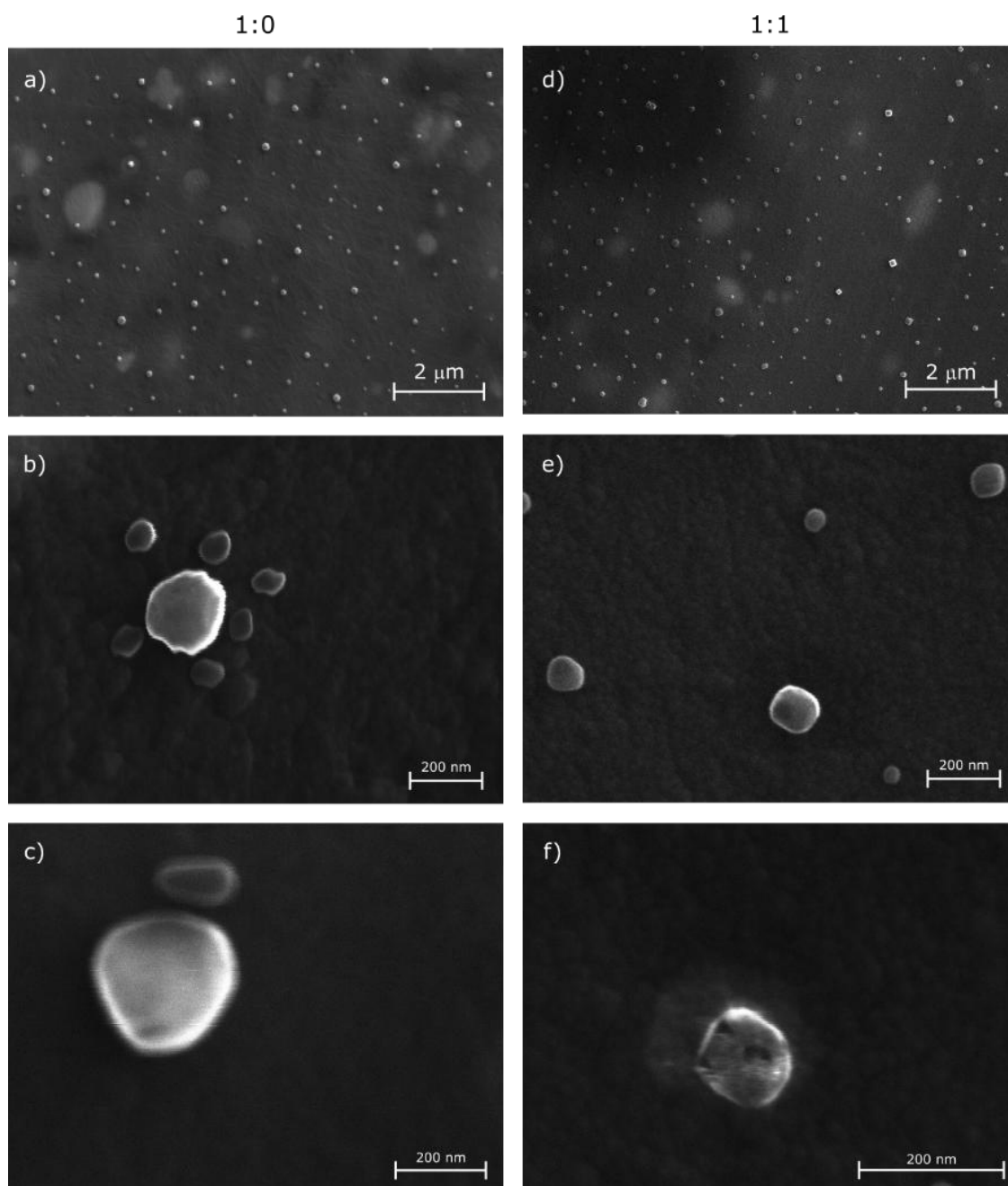
Nos estudos encontrados na literatura, a eficiência de encapsulamento variou entre 31% e 45% (Hasheminejad, Khodaiyan e Safari, 2019) e entre 38,91% e 76,67% (Yoksan, Jirawutthiwongchai e Arpo, 2010). Além disso, o diâmetro hidrodinâmico das nanopartículas variou de $129,83 \pm 0,57$ nm a $1287,70 \pm 0,60$ nm e entre 250 – 930 nm, respectivamente. Esses dados indicam que, quanto maior o tamanho das nanopartículas, maior tende a ser a eficiência de encapsulamento, devido à maior área disponível para o aprisionamento do bioativo dentro da partícula. Além do tamanho das nanopartículas, a atividade antioxidante dos compostos encapsulados pode ser influenciada por fatores externos, como a localização da planta, data da colheita clima, tipo de solo, altitude e disponibilidade de água (Cândido *et al.*, 2024).

Assim, os dados sugerem que a proporção entre quitosana e CEO afeta diretamente a eficiência de encapsulação e a atividade antioxidante, com diferenças estatisticamente significativas entre as formulações. A formulação 1:1 apresentou os melhores resultados, indicando que uma maior quantidade de CEO encapsulado favorece a retenção e a liberação dos compostos bioativos para exercer ação antioxidante. Com base nesses resultados, as amostras nas proporções 1:0 e 1:1 foram selecionadas para as demais caracterizações, devido ao melhor desempenho na atividade antioxidante e maior capacidade de retenção do óleo essencial.

3.2 Caracterização morfológica das nanocápsulas

As imagens obtidas pelo MEV, apresentadas nas Figuras 2 e 3, ilustram as diferenças entre as nanocápsulas nas proporções de quitosana/óleo de 1:0 e 1:1. Na Figura 2, as imagens a, b e c representam as nanocápsulas de quitosana sem o encapsulamento do óleo essencial de cravo (1:0), enquanto as imagens d, e e f correspondem às nanocápsulas de quitosana com óleo essencial de cravo (1:1). Complementarmente, a Figura 3 apresenta os histogramas de distribuição do tamanho das nanocápsulas obtidas a partir das imagens da Figura 2a e 2d, sendo a Figura 3a relativa à amostra 1:0 e a Figura 3b, à amostra 1:1.

Figura 2 – Micrografias das medidas de microscopia eletrônica de varredura das nanocápsulas de quitosana nas proporções de quitosana/óleo essencial de cravo (CEO) 1:0 e 1:1. As imagens a, b e c correspondem às nanocápsulas de quitosana na proporção 1:0, enquanto as imagens d, e e f mostram as nanocápsulas de quitosana encapsuladas com CEO na proporção 1:1.



a – 15 keV, magnificação de 50.0 kx; b – 20 keV, magnificação de 400 kx; c – 20 keV, magnificação de 500 kx, d – 20 keV, magnificação de 50.0 kx; e – 20 keV, magnificação de 400 kx e f – 20 keV, magnificação de 800 kx

Através da Figura 2, é possível observar que as nanocápsulas de quitosana sem encapsulamento de óleo essencial (proporção 1:0, Figuras 2a, 2b e 2c) apresentam morfologia esférica, com superfícies lisas e uniformes, o que confirma a eficiência do método de produção empregado. A ausência de manchas internas pode sugerir que essas partículas são formadas exclusivamente pelo biopolímero. A Figura 2a, com ampliação de 50,0 kx, mostra uma visão geral das nanocápsulas, sem sinais de grandes aglomerações. A Figura 2b, com ampliação de 400,0 kx, exhibe detalhes da morfologia, evidenciando uma distribuição heterogênea, com partículas isoladas, porém, com duas distribuições de tamanho distintas. A Figura 2c, com ampliação de 500,0 kx, foca em uma partícula isolada, destacando sua forma esférica, bordas regulares e superfície extremamente lisa, sem porosidade, rachaduras ou defeitos estruturais.

Já as micrografias das nanocápsulas contendo óleo essencial de cravo na proporção 1:1, Figuras 2d e 2e, apresentam uma visão geral das nanocápsulas formadas nessa proporção, com escala de 2 μm , evidenciando uma distribuição homogênea e ausência de aglomeração. Detalhes morfológicos indicaram diferenças associadas à presença do óleo essencial encapsulado, sugerindo que as nanocápsulas possuem uma morfologia mais quadrada em comparação às partículas formadas sem encapsulamento.

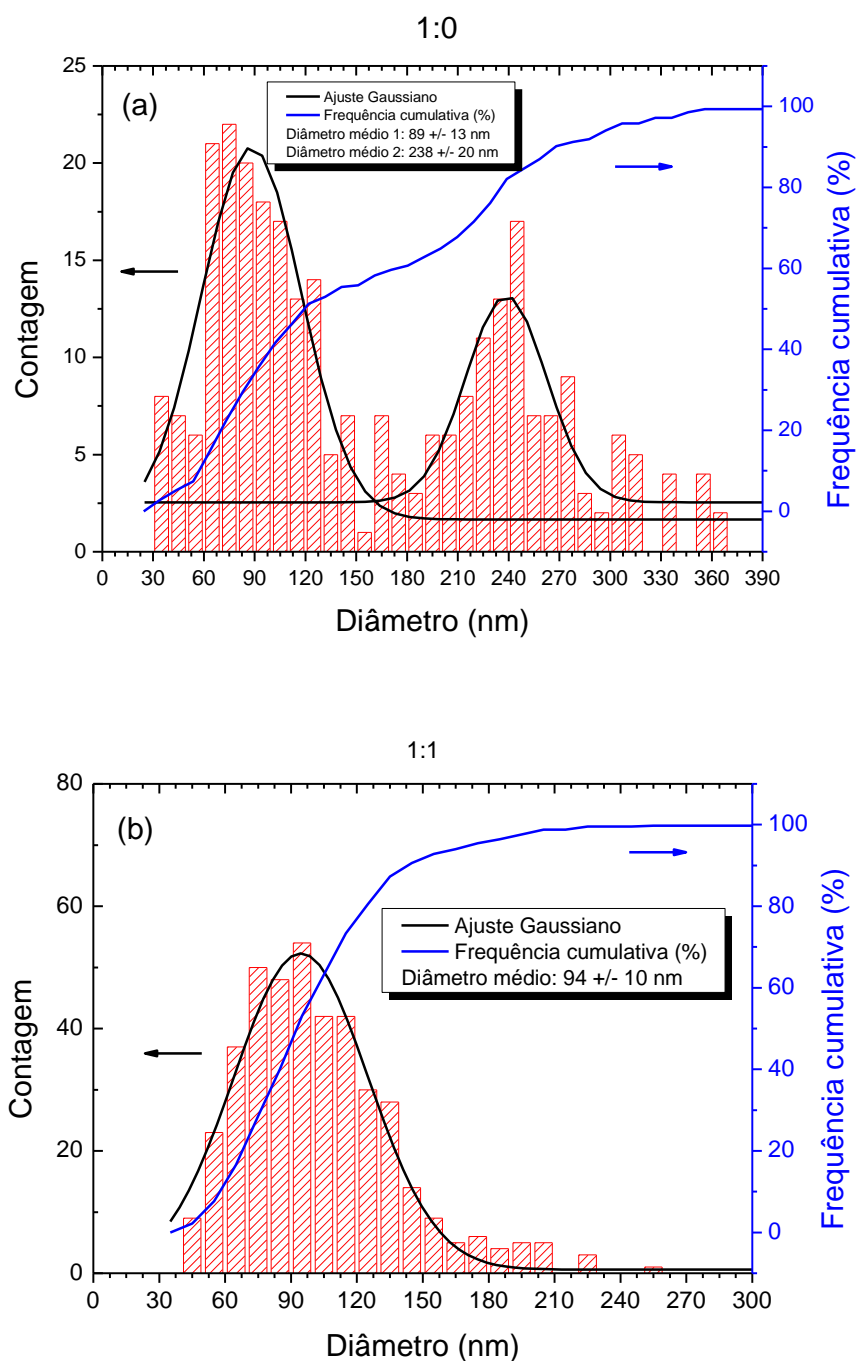
A Figura 2f, obtida com alta resolução, mostrou uma partícula isolada, na qual manchas escuras foram claramente observadas tanto no interior quanto próximas à superfície. Essas manchas são atribuídas ao aprisionamento do óleo essencial, reforçando a hipótese de uma estrutura núcleo-casca. Conforme a análise de Xu *et al.*, (2023), as manchas pretas internas representam o núcleo formado pelo óleo essencial encapsulado, enquanto a borda cinza corresponde à casca constituída pelo material da parede de quitosana.

As observações confirmam que a reticulação entre a quitosana e o TPP ocorreu de forma eficiente, permitindo que o óleo essencial fosse adequadamente aprisionado no interior ou nos poros das nanopartículas. Esse processo de encapsulação oferece proteção ao óleo, prevenindo sua oxidação, degradação pela luz e exposição a temperaturas elevadas, o que garante sua estabilidade ao longo do tempo. Além disso, a liberação controlada proporcionada pelo encapsulamento torna essa abordagem essencial em aplicações práticas, como a liberação de compostos bioativos em sistemas alimentares, contribuindo para o aumento da durabilidade e segurança dos produtos alimentícios (Cândido *et al.*, 2024).

Os histogramas de tamanho médio das partículas obtidos pela análise das micrografias do MEV (Figura 3) corroboram as observações obtidas pelas micrografias. As partículas

possuem tamanho nanométrico, com diâmetros médios distribuídos em duas fases de 89 nm e 238 nm para a proporção 1:0 (Figura 3a) e com 94 nm para a proporção 1:1 (Figura 3b). A análise comparativa entre as proporções 1:0 e 1:1 sugere que o encapsulamento do óleo essencial resulta em um leve aumento no diâmetro das nanopartículas. De acordo com Sultan et al. (2024), esse aumento pode ser atribuído à formação de uma camada adicional de óleo essencial na estrutura polimérica. Além disso, é importante notar que as nanocápsulas sem óleo apresentam duas distribuições de tamanho distintas, sendo que cerca de 60% das partículas possuem diâmetro médio de 89 nm e o restante das partículas possuem diâmetro médio maior de 238 nm. Este fato é o mesmo evidente na micrografia apresentada na Figura 2b, indicando que a nanocápsula sem óleo possui maior tendência para aglomeração.

Figura 3 – Histograma do tamanho médio das nanocápsulas de quitosana obtido a partir da análise das micrografias nas proporções de quitosana/óleo: a) 1:0 e b) 1:1.



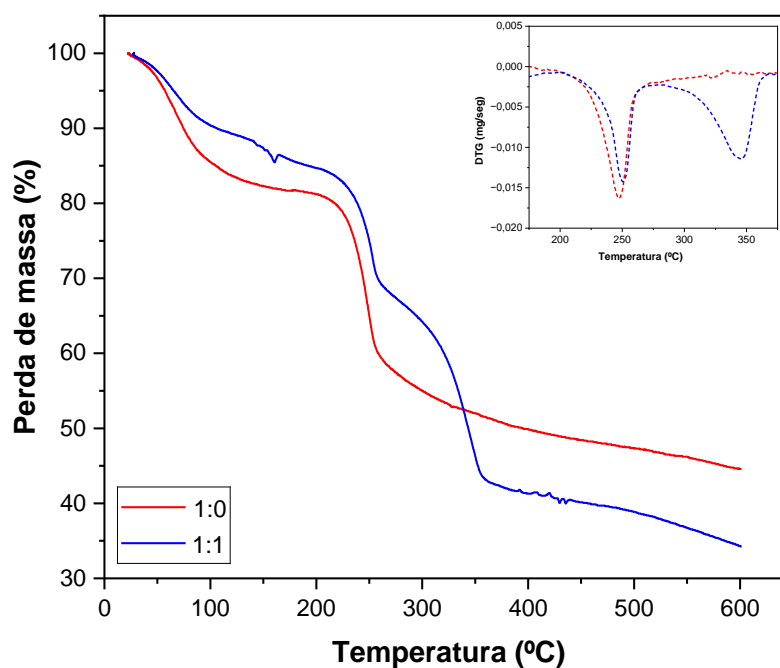
A diferença nos valores de diâmetro obtidos pelas técnicas de DLS e MEV é pequena e pode ser explicada pelas distintas condições de análise. O DLS mede as partículas em solução, capturando o raio hidrodinâmico, que é o raio efetivo de uma partícula com difusão idêntica à de uma partícula perfeitamente esférica com esse raio. Dessa forma, caso a partícula não seja

perfeitamente esférica, o valor do raio obtido pode diferir daquele medido pelo MEV. Além disso, no MEV, o raio obtido também é um raio médio das nanopartículas no estado seco, refletindo sua morfologia individual.

3.4 Propriedades térmicas

As curvas apresentadas na Figura 4 mostram que ambas as amostras, nanopartículas de quitosana (1:0) e nanopartículas de quitosana carregada com óleo essencial de cravo (CEO) (1:1), apresentaram uma perda inicial de massa em temperaturas abaixo de 150°C, atribuída à eliminação de água ou compostos voláteis residuais ligados ou adsorvidos na superfície das partículas.

Figura 4 - Análise termogravimétrica (TG) e derivada da perda de massa (DTG) das nanocápsulas de quitosana sem óleo essencial (1:0) e com óleo essencial de cravo (1:1).



Na faixa intermediária de temperatura (200-350°C), foram observados diferentes padrões de degradação. A amostra 1:0 exibiu um único evento de perda de massa, característico da degradação térmica da quitosana. De acordo com a literatura, esse evento está relacionado à desidratação dos anéis de sacarídeo, à despolimerização e à decomposição das unidades acetiladas e desacetiladas do polímero, que constituem os materiais de parede das nanopartículas presentes na amostra (Hosseini *et al.*, 2013; Oliveira, Paula e Paula, 2014). Durante esse processo, é provável que a quitosana libere CO₂, CO, NH₃ e outras espécies orgânicas devido à despolimerização sob a temperatura aplicada.

Por outro lado, a amostra 1:1 apresentou uma perda de massa mais acentuada, com dois eventos distintos: o primeiro, associado à decomposição da matriz polimérica de quitosana, como também observado na amostra 1:0, e o segundo associado provavelmente à degradação do óleo essencial encapsulado. Esse comportamento evidencia a presença do composto bioativo na matriz e sugere sua liberação gradual durante a ruptura das nanopartículas e a volatilização do óleo (Jiang *et al.*, 2021). Este fato reflete ainda a melhora da estabilidade térmica do óleo essencial devido ao encapsulamento, em acordo com outros resultados descritos na literatura (Keawchaon & Yoksan, 2011).

Em temperaturas superiores a 350°C, a perda de massa continuou de forma mais gradual, associada à decomposição de resíduos carbonáceos. Nessa faixa, a amostra 1:1 apresentou menor perda de massa em comparação à amostra 1:0, indicando uma possível interação entre o óleo essencial e a matriz polimérica, que pode ter contribuído para a estabilização térmica dos resíduos.

A análise da DTG (derivada da perda de massa), também ilustrada na Figura 4, revelou um único pico de degradação para a amostra 1:0 em 249°C. Já a amostra 1:1 apresentou dois picos distintos: o primeiro em 268°C, relacionado à decomposição térmica da matriz de quitosana, e o segundo em 315°C, correspondente possivelmente à degradação do óleo essencial encapsulado. Esses resultados demonstram que a encapsulação do óleo essencial influenciou significativamente o perfil térmico das nanopartículas, reforçando o sucesso do processo de encapsulamento e a proteção térmica proporcionada pelo sistema polimérico.

4 CONCLUSÃO

Este estudo confirmou a possibilidade de desenvolver nanocápsulas de quitosana carregadas com óleo essencial de cravo por meio do método de emulsificação óleo-em-água seguido de gelificação iônica. A eficiência de encapsulamento de 12,14% e a atividade antioxidante de 75,84% evidenciaram a capacidade do sistema em reter e proteger o composto bioativo, prolongando sua estabilidade. A caracterização por microscopia eletrônica de varredura (MEV) confirmou a formação de partículas esféricas com estrutura núcleo-casca bem definida, enquanto a análise por espalhamento dinâmico de luz (DLS) indicou um diâmetro hidrodinâmico médio de 58 nm para a amostra 1:1, e a análise direta por MEV revelou partículas com tamanhos distribuídos em torno de 94 nm, demonstrando uma boa correlação entre as técnicas. A termogravimetria demonstrou que a encapsulação conferiu maior estabilidade térmica ao CEO, reduzindo sua degradação e permitindo liberação controlada.

Os resultados destacaram o grande potencial dessas nanocápsulas no desenvolvimento de embalagens ativas voltadas para a conservação prolongada e eficaz de alimentos. No entanto, avanços na formulação ainda são necessários para aumentar a eficiência de encapsulamento sem comprometer o tamanho das partículas ou, idealmente, alcançando dimensões ainda menores para otimizar o desempenho do sistema.

Este trabalho representa um avanço significativo no encapsulamento do óleo essencial em nanocápsulas de quitosana, consolidando sua relevância como uma solução promissora no desenvolvimento de embalagens ativas para o setor alimentício. Estudos futuros devem explorar o comportamento dessas nanocápsulas em embalagens biodegradáveis ativas, visando prolongar a vida útil de alimentos como carnes, produtos de panificação, laticínios, frutas e vegetais. Além disso, será essencial realizar investigações detalhadas sobre propriedades térmicas, morfológicas, atividade antioxidante, propriedades ópticas, mecânicas e permeabilidade ao vapor de água, para consolidar seu uso em embalagens.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural da Universidade Federal de Lavras, bem como à Finep, Fapemig, CNPq e Capes pelo fornecimento dos equipamentos e suporte técnico para experimentos envolvendo microscopia eletrônica.

Agradecemos ao Laboratório Multiusuário de Óptica e Fotônica da Universidade Federal de Lavras, à Finep, Fapemig, CNPq e Capes pelo fornecimento dos equipamentos.

Agradecemos à Central de Análises e Prospecção Química da Universidade Federal de Lavras, assim como à Finep, Fapemig, CNPq e Capes pelo fornecimento dos equipamentos e suporte técnico para experimentos envolvendo análise térmica e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM).

Agradecemos ao Laboratório de Embalagens e Encapsulamento pelo fornecimento do espaço físico e estrutura para a realização deste trabalho.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), pelo ambiente acadêmico inspirador, pela infraestrutura de excelência e pelas oportunidades que possibilitaram o desenvolvimento deste trabalho.

Agradecemos aos órgãos de fomento, como a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), pelo apoio financeiro.

Agradecemos ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais pela oportunidade e estrutura oferecida.

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

Agradecemos à Fapemig pelo financiamento da pesquisa (Universal APQ-00788-21).

REFERÊNCIAS

- ADAMS. **The comps of Mexico : a systematic account of the family Asteraceae. Chapter 24, Subtribe Milleriinae, Genera: Axiniphyllum, Guizotia, Milleria, Rumfordia, Sigesbeckia, Smallanthus, Stachycephalum, Trigonspermum.** [s.l.] Texensis Publishing, 2017.
- BAKSHI, P. S. *et al.* Chitosan as an environment friendly biomaterial – a review on recent modifications and applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 150, p. 1072–1083, 1 maio 2020.
- CÂNDIDO, G. DE S. *et al.* Hybrid Nanoclay/Clove Essential Oil in Cellulose Acetate Bionanocomposites for Cooked Ham Active Packaging. **ACS Applied Nano Materials**, 2024.
- CHEN, X. *et al.* Gelatin/peach gum complex coacervated microcapsules loaded with cinnamon essential oil: Preparation, characterization, antibacterial properties and its application in mushroom (*Agaricus bisporus*). **Food Control**, v. 171, 1 maio 2025.
- DOOL, H. VAN DEN; DEC. KRATZ, P. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 11, n. C, p. 463–471, 1963.
- FERREIRA *et al.* The synergistic effect of nanocellulose and nanocapsules into poly(butylene adipate-co-butylene terephthalate) films for active packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 35, 1 mar. 2023.
- FERREIRA, V. R. F. *et al.* Antioxidant and Cytotoxic Activity of Essential Oils and Their Principal Components: Spectrophotometric, Voltammetric, and Theoretical Investigation of the Chelating Effect of Eugenol and Carvacrol. **ACS Food Science and Technology**, v. 3, n. 2, p. 350–360, 17 fev. 2023.
- HADIDI, M. *et al.* Chitosan nanoparticles loaded with clove essential oil: Characterization, antioxidant and antibacterial activities. **Carbohydrate Polymers**, v. 236, 15 maio 2020.
- HAJJI, S. *et al.* Suitability of chitosan nanoparticles as cryoprotectant on shelf life of restructured fish surimi during chilled storage. **Cellulose**, v. 26, n. 11, p. 6825–6847, 30 jul. 2019.

HASHEMINEJAD, N.; KHODAIYAN, F.; SAFARI, M. Improving the antifungal activity of clove essential oil encapsulated by chitosan nanoparticles. **Food Chemistry**, v. 275, p. 113–122, 1 mar. 2019.

HERDIANA, Y. *et al.* Drug release study of the chitosan-based nanoparticles. **Heliyon**, v. 8, n. 1, 1 jan. 2022.

HOSSEINI, S. F. *et al.* Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, n. 1, p. 50–56, 5 jun. 2013.

JAMIL, B. *et al.* Encapsulation of cardamom essential oil in chitosan nano-composites: In-vitro efficacy on antibiotic-resistant bacterial pathogens and cytotoxicity studies. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. OCT, 4 out. 2016.

JIANG, T. *et al.* Optimization and characterization of lemon essential oil entrapped from chitosan/cellulose nanocrystals microcapsules. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 138, n. 43, 15 nov. 2021.

JIROVETZ, L. *et al.* Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 17, p. 6303–6307, 23 ago. 2006.

KEAWCHAOON, Lalita; YOKSAN, Rangrong. Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chitosan nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s. l.], v. 84, n. 1, p. 163–171, 2011.

KUJUR, A. *et al.* Fabrication, Characterization, and Antifungal Assessment of Jasmine Essential Oil-Loaded Chitosan Nanomatrix Against *Aspergillus flavus* in Food System. **Food and Bioprocess Technology**, 2021.

LEE, J. H.; YEO, Y. Controlled drug release from pharmaceutical nanocarriers. **Chemical Engineering Science**, v. 125, p. 75–84, 4 mar. 2015.

NASSEF, H. M. *et al.* Synthesis and characterization of new composite sponge combining of metal-organic framework and chitosan for the elimination of Pb(II), Cu(II) and Cd(II) ions from aqueous solutions: Batch adsorption and optimization using Box-Behnken design. **Journal of Molecular Liquids**, v. 394, 15 jan. 2024.

NAZURAH, R. *et al.* Chitosan nanoparticles incorporate with curry leaf essential oil: Physicochemical characterization and in vitro release properties. **International Journal of**

Biological Macromolecules, v. 273, 1 jul. 2024.

OLIVEIRA, C. D. *et al.* Development and characterization of pectin films containing nanoemulsions of the essential oil from *Thymus vulgaris* for preserving salami. **Food Chemistry**, v. 471, 15 abr. 2025.

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

SANDER, A. *et al.* Advanced Spectroscopic Characterization, Antioxidant and Antibacterial Activity Evaluation, and Trace Metal Analyses of Essential Oils from Star Anise, Nutmeg, Clove, Oregano, Bay Leaves, and Lemon Peel. **Applied Sciences (Switzerland)**, v. 14, n. 23, 1 dez. 2024.

SANI ALIERO, A. *et al.* Bibliometric exploration of green synthesized silver nanoparticles for antibacterial activity. **Emerging Contaminants**, v. 11, n. 1, 1 jan. 2025.

SHETTA, A.; KEGERE, J.; MAMDOUH, W. Comparative study of encapsulated peppermint and green tea essential oils in chitosan nanoparticles: Encapsulation, thermal stability, in-vitro release, antioxidant and antibacterial activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 126, p. 731–742, 1 abr. 2019.

TAHERI, A. *et al.* Shelf life extension of bell pepper by application of chitosan nanoparticles containing *Heracleum persicum* fruit essential oil. **Postharvest Biology and Technology**, v. 170, 1 dez. 2020.

TEIXEIRA, M. L. *et al.* Evaluation of the antioxidant activity of the essential oils from *Cantinoa carpinifolia* (Benth.) and *Lippia origanoides* (Kunth.) by various methods. **Journal of Essential Oil Research**, v. 35, n. 2, p. 143–153, 2023.

XU, YONGJIAN *et al.* Clove essential oil loaded chitosan nanocapsules on quality and shelf-life of blueberries. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 249, 30 set. 2023.

YANG, K. *et al.* Preparation and characterization of cinnamon essential oil nanocapsules and comparison of volatile components and antibacterial ability of cinnamon essential oil before and after encapsulation. **Food Control**, v. 123, 1 maio 2021.

YOKSAN, R.; JIRAWUTTHIWONGCHAI, J.; ARPO, K. Encapsulation of ascorbyl palmitate in chitosan nanoparticles by oil-in-water emulsion and ionic gelation processes. **Colloids and**

Surfaces B: Biointerfaces, v. 76, n. 1, p. 292–297, 1 mar. 2010.

ZHOU, D.-Y. *et al.* Chitosan and Derivatives: Bioactivities and Application in Foods. **Annu. Rev. Food Sci. Technol.** 2021, v. 12, p. 407–432, 2021.

ARTIGO 2 - FILMES BIODEGRADÁVEIS VIA EXTRUSÃO DE AMIDO DE MILHO, QUITOSANA E ISOLADO PROTEICO DO SORO DE LEITE COM ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO ENCAPSULADO EM NANOPARTÍCULA DE QUITOSANA

Anômora Ariane Rochido dos Santos Cotta, Laise de Jesus dos Santos, Carlos Ramon de Paula Silva, Caio Silas Ferreira Ribeiro, Ângela Dayana Barrera de Brito, Júlio Cesar Ugucioni, Alfredo Rodrigues De Sena Neto, Alexandre Alberto Chaves Cotta, Marali Dias Vilela.

Anômora Ariane Rochido dos Santos: arianerochido@gmail.com

Universidade Federal de Lavras- UFLA, Programa de pós-graduação de engenharia de biomateriais - Departamento de engenharia Florestal, Departamento de ciências dos alimentos

Laise de Jesus dos Santos: laise_jesus@hotmail.com

Universidade Federal de Lavras- UFLA, Programa de pós-graduação em ciências e tecnologia da madeira, Departamento de engenharia florestal

Carlos Ramon de Paula Silva: carlosramon.crs@gmail.com

Universidade Federal de Lavras – UFLA, Programa de pós-graduação em ciências dos alimentos, Departamento de ciências de alimentos

Caio Silas Ferreira Ribeiro – kasgfir@gmail.com

Universidade Federal de Lavras- UFLA, Programa de pós-graduação de engenharia de biomateriais - Departamento de engenharia Florestal, Departamento de ciências dos alimentos

Angela Dayana Barrera de Brito: angelabarrera@ufla.br

Universidade Federal de Lavras- UFLA, Departamento de física

Julio Cesar Ugucioni: julio.ugucioni@ufla.br

Universidade Federal de Lavras- UFLA, Programa de pós-graduação de engenharia de biomateriais - Departamento de engenharia Florestal, Departamento de Física.

Alfredo Rodrigues De Sena Neto: alfredo.neto@ufla.br

Universidade Federal de Lavras- UFLA, Departamento de engenharia.

Alexandre Alberto Chaves Cotta

Universidade Federal de Lavras- UFLA, Programa de pós-graduação de engenharia de biomateriais - Departamento de engenharia Florestal, Departamento de Física

Marali Dias Vilela: marali.dias@ufla.br

Universidade Federal de Lavras- UFLA, Programa de pós-graduação de engenharia de biomateriais - Departamento de engenharia Florestal, Departamento de ciências dos alimentos

RESUMO

As embalagens biodegradáveis têm se destacado como alternativas promissoras para substituir os polímeros sintéticos tradicionais que ainda são amplamente utilizados na indústria de alimentos, porém são prejudiciais ao meio ambiente quando descartados aleatoriamente. Além de serem ambientalmente amigáveis, as embalagens biodegradáveis podem ser funcionalizadas para desempenhar um papel ativo na preservação dos alimentos, dando origem às chamadas embalagens ativas. Essas embalagens são projetadas para interagir com o alimento ou seu ambiente, proporcionando benefícios adicionais, como a inibição do crescimento microbiano e a redução da oxidação, o que contribui para a extensão da vida útil dos produtos. Este estudo investigou a produção de filmes biodegradáveis compostos por amido de milho, quitosana e isolado proteico do soro de leite, com a adição de nanocápsulas de quitosana encapsulando óleo essencial de cravo, visando desenvolver embalagens ativas com propriedades antioxidantes e antimicrobianas. Os filmes foram obtidos por extrusão e prensagem hidráulica, sendo preparadas três formulações: controle (sem nanocápsulas), filmes com nanocápsulas de quitosana (NpQ) e filmes com nanocápsulas de quitosana encapsulando óleo essencial de cravo (NpQ+CEO). As propriedades térmicas, mecânicas, ópticas, morfológicas, permeabilidade ao vapor de água, atividade antioxidante dos filmes foram avaliadas, além do coeficiente de difusão. Os resultados mostraram que os filmes com NpQ+CEO apresentaram maior atividade antioxidante (31,64%) em comparação às demais formulações. A análise morfológica indicou melhor uniformidade estrutural com a adição das nanocápsulas, e a presença do óleo essencial encapsulado aumentou a estabilidade térmica e reduziu a transparência dos filmes. O coeficiente de difusão para a amostra (Filmes com NpQ+CEO) seguiu a lei de Fick, com dois estágios: o primeiro estágio, com liberação rápida de 56% de CEO, teve um coeficiente ($D_1 = 8,10 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$), e o segundo estágio apresentou liberação mais lenta ($D_2 = 2,68 \times 10^{-9} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$). Conclui-se que a incorporação de nanocápsulas com óleo essencial de cravo aprimorou as propriedades funcionais dos filmes, tornando-os adequados para aplicações em embalagens ativas e contribuindo para uma opção sustentável na indústria de alimentos.

Palavras chaves: Embalagens biodegradáveis, nanocápsulas de quitosana, óleo essencial de cravo, embalagens ativas

1. INTRODUÇÃO

As embalagens desempenham um papel crucial na preservação, proteção e informação dos alimentos, garantindo a qualidade e segurança durante o armazenamento e transporte. Elas funcionam como barreiras contra agentes externos, como umidade, oxigênio, luz e microrganismos, que podem comprometer a integridade dos produtos. Tradicionalmente, muitas embalagens são fabricadas a partir de polímeros sintéticos, como polietileno, polipropileno e poliestireno, que apresentam excelentes propriedades mecânicas, barreira a gases e flexibilidade (Eranda, Chaijan e Castro-Muñoz, 2025; Liu, Zhang, *et al.*, 2023; Roy *et al.*, 2023).

Porém a crescente preocupação com os impactos ambientais decorrentes da dependência de recursos não renováveis, da persistência desses materiais no meio ambiente e dos problemas associados ao descarte inadequado tem impulsionado a busca por alternativas mais sustentáveis (Hoque e Janaswamy, 2024).

A substituição das embalagens derivadas do petróleo por materiais biodegradáveis, como os biopolímeros, representa uma alternativa promissora para a produção de embalagens ambientalmente amigáveis, já que esses materiais se decompõem completamente em dióxido de carbono, água e biomassa com a ação de microrganismos como bactérias, fungos e algas, ganhando destaque devido ao crescente interesse em reduzir o impacto ambiental. Esse movimento é impulsionado pela preocupação com o acúmulo de resíduos plásticos, pela maior conscientização ambiental dos consumidores, por regulamentações governamentais mais rígidas sobre descarte e pelos avanços nas tecnologias de produção, fatores que evidenciam a importância das embalagens biodegradáveis. Esses produtos oferecem benefícios como sustentabilidade, neutralidade de carbono, melhor gerenciamento de resíduos e menor dependência de combustíveis fósseis, sendo obtidos a partir de fontes renováveis, como vegetais, animais ou microrganismos (Cheng *et al.*, 2024; Hoque e Janaswamy, 2024). Entre os biopolímeros mais promissores, destacam-se o amido de milho, o isolado proteico do soro de leite e a quitosana, que quando combinados podem possuir propriedades ideais para o desenvolvimento de embalagens, como a produção de filmes translúcidos, alta resistência à permeabilidade do oxigênio e características mecânicas e sensoriais adequadas (Lara *et al.*, 2020; Liu, Qin, *et al.*, 2023; Ren *et al.*, 2017).

Esse material pode ser processado em extrusora com o uso de matriz para filmes planos (fitas), uma tecnologia que possibilita a produção de embalagens biodegradáveis com excelente desempenho em barreiras contra gases e umidade, resultando em filmes mais homogêneos e com menor risco de espaços vazios ou imperfeições, quando comparada à matriz de pellet. Essa homogeneidade é essencial para impedir a permeação de oxigênio, umidade e outros contaminantes, prevenindo a oxidação, a perda de sabor e protegendo produtos sensíveis, como grãos, cereais e alimentos frescos (Westlake *et al.*, 2022). Além disso, as propriedades mecânicas dos filmes são significativamente aprimoradas, proporcionando maior resistência e menor probabilidade de falhas estruturais.

Apesar dos avanços nas técnicas de produção de alimentos, a segurança alimentar continua sendo uma preocupação central para os consumidores, que buscam alimentos frescos e sem conservantes artificiais, como carnes, itens de panificação, laticínios, frutas e vegetais. Nesse contexto, as embalagens ativas surgem como uma tecnologia promissora para a indústria de alimentos. Essa tecnologia baseia-se na incorporação de aditivos naturais ou artificiais em matrizes poliméricas, permitindo a interação direta com o alimento ou com o ambiente ao seu redor (Dirpan *et al.*, 2023; Yildirim *et al.*, 2018). As embalagens ativas podem liberar ou sequestrar substâncias específicas, como antimicrobianos e antioxidantes, contribuindo para a preservação dos alimentos e a extensão de sua vida útil (Huie *et al.*, 2023).

Entre os aditivos naturais mais promissores estão os óleos essenciais, amplamente reconhecidos por suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes. Além de sua eficácia, muitos de seus constituintes são considerados seguros pela Food and Drug Administration (FDA) e pela Comissão Europeia, que autorizam o uso de compostos como linalol, timol, carvona, cinamaldeído, carvacrol, citral, limoneno e eugenol em alimentos. O óleo essencial de cravo é um exemplo notável de aditivo natural com propriedades antimicrobianas e antioxidantes (Mukurumbira *et al.*, 2022; Oliveira *et al.*, 2025). Ele é capaz de inibir o crescimento de bactérias e fungos, além de prevenir a oxidação lipídica em alimentos ricos em gorduras. No entanto, devido à sua sensibilidade a agentes externos como luz, oxigênio, altas temperaturas, volatilização e instabilidade química, o óleo essencial de cravo necessita de proteção para manter sua eficácia (Fan *et al.*, 2023; Mukurumbira *et al.*, 2022)

Uma solução eficaz para superar essas limitações é o encapsulamento, particularmente por meio de técnicas que utilizam nanocápsulas de quitosana, uma aplicação da nanotecnologia que melhora a estabilidade e a liberação controlada de compostos bioativos. Esse processo ajuda a neutralizar as condições que afetam a estabilidade do óleo, melhorando a sua atividade

biológica e permitindo uma liberação controlada. As nanocápsulas de quitosana consistem em um processo no qual uma substância (o agente ativo) é envolvida por outra substância (o material de parede), proporcionando proteção e controle na liberação do ativo (Mukurumbira *et al.*, 2022; Oliveira *et al.*, 2025). Assim, o encapsulamento com quitosana pode melhorar significativamente a eficácia dos óleos essenciais, especialmente em aplicações de embalagens ativas (Amighi *et al.*, 2023).

Tais avanços ampliam significativamente as possibilidades de aplicação das embalagens ativas em diversos setores da indústria alimentícia. Por exemplo, no estudo de Azevedo *et al.*, (2019), que avaliou o efeito da adição de nanopartículas de montmorilonita sódica (MMT) e a atividade antioxidante do óleo essencial de alecrim (EO) em nanocompósitos termoplásticos de amido/isolado de proteína de soro de leite (TPS/WPI) obtidos por extrusão. Amighi *et al.*, (2023) e seus colaboradores realizaram o encapsulamento do *Nepeta hormozganica* e *Nepeta dschuparensis* também em nanopartículas de quitosana para avaliar a atividade antifúngica contra fungos, sendo possível mostrar que óleos essenciais encapsulados aumentaram a eficiência antifúngica em até 100%. Por fim, Thungphotrakul e Prapainainar, (2024) desenvolveram um filme à base de álcool polivinílico e carboximetilcelulose, no qual nanopartículas de quitosana carregadas com óleo essencial de cravo foram preparadas para prolongar a vida útil dos tomates cereja, destacando o potencial das substâncias bioativas na conservação de alimentos.

Apesar de diversos estudos sobre o uso de biopolímeros em extrusora e óleo essencial na matriz polimérica, na literatura consultada não foi identificado nenhum estudo que combine os três biopolímeros amido de milho, quitosana e isolado proteico do soro de leite com o encapsulamento do óleo essencial de cravo em nanopartículas de quitosana para o desenvolvimento de embalagens ativas.

Nesse contexto, este estudo buscou explorar a incorporação do óleo essencial de cravo encapsulado por nanopartículas de quitosana em embalagens biodegradáveis compostas por amido de milho, isolado proteico de soro de leite e quitosana. A proposta foi criar uma geração de embalagens ativas e comestíveis, que oferecessem benefícios funcionais tanto para o produto embalado quanto para o meio ambiente. A produção das embalagens foi realizada por meio de extrusão com matriz de fita, seguida por prensagem hidráulica para formar o filme. Após a obtenção dos filmes, foram realizados estudos referentes às propriedades mecânicas, térmicas, ópticas, morfológicas e à permeabilidade à água das embalagens, além de analisar suas características antioxidantes e da modelagem de equações para a determinação do coeficiente

de difusão. Esses estudos visaram fornecer uma compreensão mais profunda do desempenho e das funcionalidades dessas embalagens, contribuindo para seu uso efetivo na conservação de alimentos e sua aplicação em soluções mais sustentáveis.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Amido de milho (Amedex 3001), fornecido pela Ingredion Brasil Ingredientes, localizada em Mogi Guaçu, SP; isolado proteico de soro de leite (90%), fornecido pela Hilmar Ingredients; quitosana (Polymar®, Fortaleza, Ceará, Brasil) com viscosidade de massa molar média (Mz) de $41,26 \times 10^4 \text{ g mol}^{-1}$ e grau de desacetilação de 72%; glicerol, fornecidos pela Sigma-Aldrich, localizada em Saint Louis, EUA; ácido acético, também fornecido pela Sigma-Aldrich, localizada em Saint Louis, EUA; O ácido esteárico P. A. (95%) foi comprado da Êxodo Científica, Sumaré, Brasil. O ácido cítrico mono-hidratado A. C. S. (99,5%) foi comprado da Proquimios Comércio e Indústria Ltda.

2.2 Obtenção das nanocápsulas de quitosana para encapsulamento do CEO

O encapsulamento do óleo essencial de cravo (CEO) em nanocápsulas de quitosana foi realizado em duas etapas principais: emulsão óleo-em-água e gelificação iônica, conforme as metodologias adaptadas de (Hosseini *et al.*, 2013; Shetta, Kegere e Mamdouh, 2019).

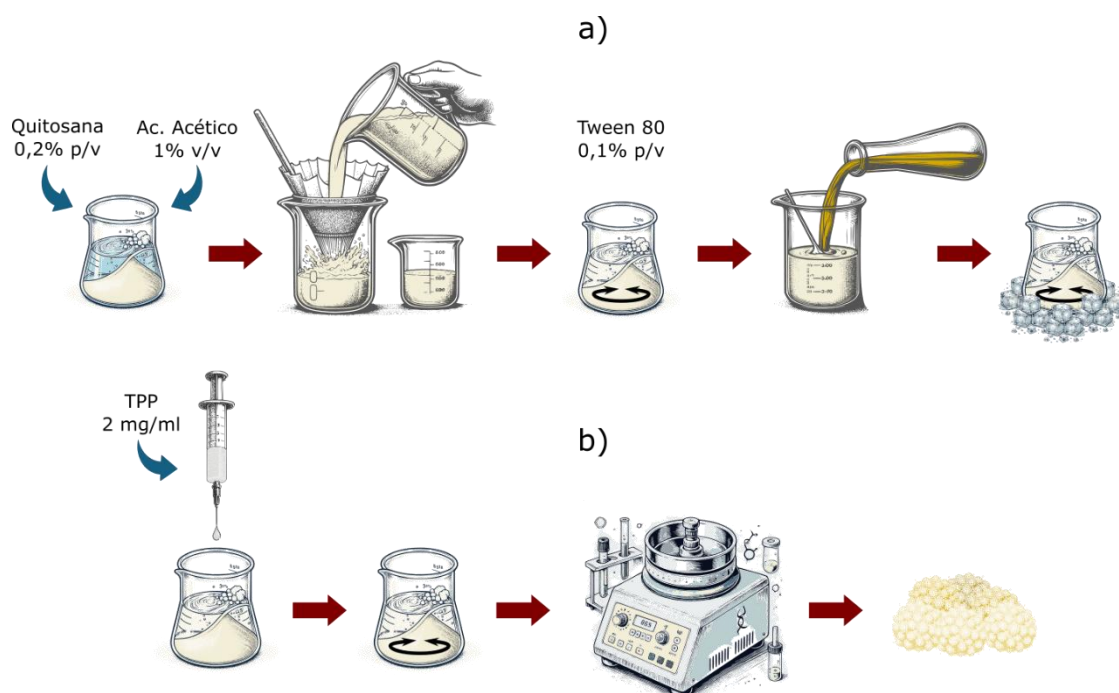
Primeiramente, preparou-se uma solução de ácido acético a 1% (v/v) e adicionou-se pó de quitosana (0,2% p/v). A mistura foi mantida sob agitação contínua por 24 horas à temperatura ambiente e, após a dissolução total, a solução foi filtrada a vácuo para remover precipitados. Para a emulsão óleo-em-água, foi adicionado Tween 80 (0,1% p/v) à solução de quitosana, seguida de agitação mecânica a 1200 rpm por 1 hora a 50°C em um agitador Ultra-Turrax IKA Labortechnik modelo RW 20 .n. Após essa etapa, a solução foi resfriada à

temperatura ambiente e o pH ajustado para 4,2 com NaOH (2 M). Em seguida, diferentes proporções de CEO foram incorporadas à solução de quitosana sob agitação contínua no agitador mecânico e em banho de gelo, com as proporções de quitosana/óleo de 1:0; 1:0,5; 1:0,75 e 1:1, com o intuito de determinar a melhor relação entre quitosana e óleo.

O uso de Tween 80 ajudou a reduzir a tensão superficial entre as fases óleo e água, formando gotículas estáveis e homogêneas de CEO na solução de quitosana. Durante essa emulsificação, os grupos amino protonados (NH_3^+) da quitosana se adsorveram à superfície das gotículas de óleo, criando uma camada protetora que estabilizou as gotículas por meio de interações eletrostáticas entre os grupos amino e o óleo essencial.

Na segunda etapa, foi adicionada uma solução de tripolifosfato de sódio (TPP) a 2 mg/mL, gota a gota, com o auxílio de uma seringa, à solução de quitosana contendo o óleo essencial, sob agitação constante à temperatura ambiente, em um agitador magnético da marca e modelo Göstirrer MS-H-S. Após a adição do TPP, a solução final permaneceu em agitação magnética por 1 hora à temperatura ambiente para garantir a completa reticulação. Os ânions polifosfato ($\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$) do TPP interagiram com os grupos amino protonados da quitosana, formando uma rede de reticulação iônica que conferiu estabilidade estrutural às nanocápsulas, criando uma matriz tridimensional robusta. Esse processo reforçou a integridade das nanocápsulas e promoveu um encapsulamento eficaz do CEO, aumentando a resistência das partículas a variações ambientais e permitindo uma liberação controlada do óleo essencial, conforme ilustrado na Figura 1.

Figura 1 – Representação esquema da emulsão óleo-em-água (a) e gelificação iônica (b) para obtenção das nanocápsulas de quitosana carregadas com CEO.



2.3 Delineamento experimental

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com três repetições, no qual o óleo essencial encapsulado por nanocápsulas de quitosana foram preparadas em duas diferentes proporções de quitosana/óleo: 1:0 e 1:1. As amostras analisadas foram denominadas Filmes Controle (sem a presença das nanocápsulas), NpQ (1:0) (nanocápsulas de quitosana sem óleo essencial) e NpQ + CEO (1:1) (óleo essencial encapsulado por nanocápsulas de quitosana). Essas nanocápsulas foram incorporadas à matriz polimérica para a avaliação de suas propriedades.

2.4 Obtenção dos filmes

Para a produção dos filmes de amido de milho, quitosana e isolado proteico do soro de

leite, as metodologias descritas por Azevedo et al., (2019; Ferreira et al., (2021); Mendes et al., (2016) foram adaptadas. A proporção utilizada foi de 60% de fase sólida (quitosana, isolado proteico do soro de leite e amido de milho) e 40% de fase líquida (água ultrapura ou solução contendo nanocápsulas e glicerol). Para a fase aquosa foi utilizado uma solução de 16% m/m de água ultrapura e ácido acético (1% v/v), com pH igual a 4 para a amostra controle, 16% m/m da solução contendo as nanocápsulas de quitosana sem o óleo essencial para a amostra NpQ (1:0), com pH igual a 4, e 16% m/m solução de nanocápsulas de quitosana com óleo essencial para a amostra NpQ + CEO (1:1), com pH igual a 4.

Inicialmente, a quitosana sólida (8% m/m) foi hidratada na solução aquosa e mantida sob refrigeração por 24 horas em temperatura ambiente, sobre agitação. Após esse período, foram manualmente adicionados à mistura o amido de milho (36% m/m), isolado proteico do soro de leite (16% m/m), glicerol (24% m/m), ácido esteárico (1% m/m) e ácido cítrico (1% m/m), sendo o ácido esteárico e o ácido cítrico em excesso, atuando como antiaglomerante e antioxidante, respectivamente.

O processamento foi realizado em uma extrusora de dupla rosca NZ Philpolymer, modelo SLSJ20 (São Roque, Brasil), com D/L = 40/1, roscas de 20 mm de espessura e sete zonas de aquecimento. A extrusão utilizou uma velocidade de rotação de 100 rpm e perfil de temperatura ajustado para 80, 80, 90, 90, 100, 100 e 110 °C. A alimentação da extrusora foi feita de forma manual na primeira zona de aquecimento, com a mistura contendo todos os componentes previamente preparados manualmente.

As fitas obtidas na extrusora foram cortadas em tamanhos de 15 cm, com peso médio de 15 g, e prensadas a uma temperatura de 100 °C em uma prensa hidráulica Matoli, modelo 370M15 (Piracicaba, Brasil), com capacidade para 10 toneladas. O processo consistiu em dois ciclos rápidos de prensagem: o primeiro ciclo foi realizado com uma pressão de 4 toneladas durante 1 minuto, e o segundo ciclo, com 6 toneladas pelo mesmo período. O armazenamento das fitas, juntamente com os filmes, foi realizado em uma D.B.O (Eletrolab 141/3), com umidade em torno de 77% e temperatura de 20°C, até a realização das análises.

2.5 Caracterização dos filmes

2.5.1 Decomposição térmica

A análise termogravimétrica (TG) dos biopolímeros e das embalagens biodegradáveis ativas foi realizada para avaliar o comportamento térmico e o perfil de degradação. O experimento foi conduzido utilizando um analisador termogravimétrico da marca e modelo DTG-60H Shimadzu, sob fluxo de gás nitrogênio a $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, em uma faixa de temperatura que variou desde o ambiente até $600 \text{ }^\circ\text{C}$, com uma taxa de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. Aproximadamente 10 mg de amostra foi utilizado para cada análise (Ferreira, *et al.*, 2021).

2.5.2 Análise morfológica

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi empregada para caracterizar a morfologia dos filmes, a fim de verificar as possíveis falhas, aglomerados, separações de fase, presença de nanocápsulas e outros aspectos que pudessem influenciar as propriedades mecânicas e físicas. A análise morfológica foi realizada utilizando o equipamento Tescan-Clara (República Tcheca), operando com 10 kV e 20 kV. As amostras foram fixadas em fita de carbono. Para a análise da seção transversal, as amostras foram previamente congeladas em nitrogênio líquido e fraturadas. Em seguida, todas as amostras foram revestidas com ouro (Au) por deposição a vapor.

2.5.3 Propriedades óticas

Os parâmetros de cor foram avaliados a partir do corte das amostras em quadrados de 4 cm^2 , utilizando o colorímetro Color Reader CR-10 (Konica Minolta, Osaka, Japão), com área de medição de 8 mm^2 . As medições seguiram a geometria 8/d, com iluminante padrão D65 e

observador a 10°. Os parâmetros L*(%), a*, b* e C* foram então determinados conforme os critérios estabelecidos pela norma ISO 11664-4, com as análises realizadas em triplicata (Ferreira, *et al.*, 2021).

A transmissão de luz através dos filmes foi avaliada em triplicata utilizando um espectrofotômetro Bel SPECTRO S-2000 (Monza, Itália), conforme as diretrizes da norma ASTM D1746-03, 2003. A varredura foi realizada no intervalo de 400 a 700 nm, cobrindo toda a faixa de luz visível. As amostras, cortadas em retângulos de 10×30 mm, foram posicionadas de maneira a permitir a passagem dos feixes de luz através do corpo de prova sem obstruções (Lara *et al.*, 2019). A transparência (T_λ) foi determinada por meio da aplicação da Equação (1):

$$T_\lambda = \frac{(\text{Log } \%T)}{\delta} \quad (1)$$

Onde δ é a espessura das embalagens em mm.

Os filmes foram analisados por triplicatas.

2.5.4 Propriedades mecânicas

Para o ensaio de tração foram avaliadas a resistência máxima à tração ($\rho_{\text{máx}}$), a capacidade de alongamento na ruptura (ϵ) e o módulo de elasticidade (E'), conforme o método padrão D882-02 (ASTM, 2002), utilizando um analisador de textura (Stable Microsystems, modelo TATX2i, Inglaterra) (Ferreira, *et al.*, 2021). Para isso, foram preparadas amostras de filmes cortadas em tiras de tamanho 100 × 10 mm, e cada amostra foi analisada com dez repetições. A distância inicial entre as garras foi de 50 mm, e a velocidade de teste foi de 0,8 mm/s. A resistência máxima tração ($\rho_{\text{máx}}$, medida em MPa) foi calculada dividindo-se a carga máxima aplicada pela área da seção transversal do filme. O alongamento na ruptura (ϵ , %) foi calculado comparando o aumento de comprimento do corpo de prova com seu comprimento inicial padrão (50 mm), expresso como uma porcentagem. O módulo de elasticidade (E' , MPa) foi determinado pela inclinação da parte linear do gráfico de tensão-deformação.

2.5.5 Taxa de permeabilidade a vapor de água

A taxa de permeabilidade a vapor de água (TPVA) foi avaliada utilizando o método gravimétrico, em triplicata, conforme estabelecido pela norma ASTM-E96/E96M (2016) e metodologia de Ferreira, *et al.*, (2021). Para o experimento, as amostras foram preparadas em formato de discos com 1,5 cm de diâmetro de permeação e fixadas em frascos âmbar de 20 mL contendo 15 mL de sílica-gel como dessecante, para garantir uma umidade relativa interna de 0%.

Os frascos foram armazenados em dessecadores contendo uma solução saturada de cloreto de sódio (NaCl), assegurando uma umidade relativa externa de 77% e temperatura controlada de 25 °C. O monitoramento do ganho de massa dos frascos foi realizado por pesagens em intervalos regulares de 24 horas, ao longo de um período de oito dias, a fim de registrar a taxa de transmissão de vapor de água (TPVA).

O cálculo da taxa de transmissão de vapor de água (TPVA) foi realizado utilizando a relação entre a massa de água transferida por dia (G/t , em g/dia) e a área de transmissão de vapor da amostra (A , em m^2), conforme a Equação 2:

$$TPVA = \frac{G}{t \cdot A} \quad (2)$$

2.5.6 Atividade antioxidante

O método de captura do radical livre 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) foi utilizado para verificar a capacidade antioxidante dos filmes, em triplicata. Inicialmente, 0,2 g de filme foi cortado em pequenos pedaços e misturados com 2 mL de etanol 80%. A mistura foi vigorosamente agitada em Vortex (Kasvi Basic, K45-2820) por 3 min e permaneceu em repouso a temperatura ambiente por 3 h. Em seguida, foram agitadas novamente por mais 3 min em Vortex. Posteriormente, 0,3 mL da solução contendo as amostras de filme foi transferido para tubos de ensaio, seguido da adição de 2,7 mL da solução de DPPH. O controle foi preparado

substituindo-se a solução de filme por 0,3 mL de etanol, mantendo-se o volume de 2,7 mL da solução de DPPH. As misturas foram mantidas em ambiente escuro por 60 minutos, e a absorvância foi então medida em um espectrofotômetro UV-Vis (Bel SPECTRO S-2000 (Monza, Itália) a 515 nm. A porcentagem de atividade antioxidante foi determinada pela Equação (3) (Ferreira, *et al.*, 2021)

$$(\%)AA = \frac{A_{Controle} - A_{amostra}}{A_{Controle}} \times 100 \quad (3)$$

Em que: $A_{amostra}$ é a absorvância da solução contendo filme biodegradáveis ativo (amostra); $A_{controle}$ é a absorvância sem a amostra.

2.5.7 Determinação do coeficiente de difusão

Para investigar a migração do óleo essencial de cravo (CEO) do Filme com NpQ + CEO (1:1) em meio simulante alimentar, foi construída uma curva de calibração com base na relação linear entre concentração e absorvância. As análises foram conduzidas por espectrofotometria de absorção UV-Vis Bel SPECTRO S-2000 (Monza, Itália), utilizando soluções de CEO em concentrações variando de 10 a 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$, com medições realizadas a 282 nm, correspondente ao pico de absorção do composto. O coeficiente de difusão foi determinado a partir da curva de calibração do CEO livre em etanol, expressa pela equação $y=0,0153x-0,0033$ ($R^2=0,9981$).

A migração do CEO dos filmes foi avaliada em um meio simulante alimentar, conforme as diretrizes do Regulamento nº 10/2011 da União Europeia. O simulante utilizado foi do tipo B, composto por uma solução aquosa de ácido acético a 3% (m/v), representando alimentos com pH inferior ou igual a 4,5, como leites fermentados, natas, sucos com polpa de fruta e queijos conservados em solução aquosa, incluindo queijos frescos e muçarela.

Para cada ensaio, 150 mg da amostra, em triplicata, foram pesados e adicionados a tubos Falcon contendo 30 mL do simulante. As amostras permaneceram sob agitação constante em uma mesa agitadora Shaker (Ethik Technology, modelo 501-DE) à temperatura ambiente ao longo do experimento. Em intervalos de tempo pré-determinados (0,5; 1; 2; 3; 4; 6; 12; 24; 36;

48; 72; 96; 120; 144 e 168 horas), abrangendo períodos curtos, médios e longos, alíquotas de 5 mL foram coletadas para análise. Após cada coleta, o simulante foi completamente substituído por uma nova solução de ácido acético para evitar o equilíbrio entre o material e o meio, garantindo a contínua migração do óleo essencial.

A concentração de CEO em cada tempo foi determinada por espectrofotometria, utilizando um espectrofotômetro a 282 nm, correspondente ao pico de absorção do composto. A quantificação foi realizada com base em uma curva de calibração padrão, e os valores de concentração foram obtidos pela Equação 4. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

$$C_{(t)}=C_{(t-1)} + C_{(t)} \quad (4)$$

Onde $C(t)$ representa a concentração no tempo analisado (em $\mu\text{g mL}^{-1}$), e $C_{(t-1)}$ corresponde à concentração no instante de tempo anterior (em $\mu\text{g mL}^{-1}$).

2.5.8 Modelagem das equações para a determinação do coeficiente de difusão

De acordo com Crank (1975), quando uma folha plana de material é extremamente fina, a difusão ocorre predominantemente através das faces planas, enquanto a quantidade que ocorre nas bordas é insignificante, caracterizando a difusão unidimensional. A modelagem assume os seguintes parâmetros:

- Espessura constante do filme e coeficiente de difusão do migrante no polímero, D ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$);
- A difusão das nanocápsulas carregadas com óleo essencial ocorre nas duas faces;
- Concentração de soluto muito baixa nas superfícies do filme, considerada constante e igual a zero;
- O único composto migrante, identificado pelo comprimento de onda de 282 nm, é o óleo essencial de cravo.

A modelagem da difusão foi baseada no artigo de Placette et al., (2012). Para o cálculo da difusão em um único estágio, utilizou-se a segunda lei de Fick, que descreve a relação entre

o coeficiente de difusão (D , em $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$) e a concentração (C , em $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Equação 5):

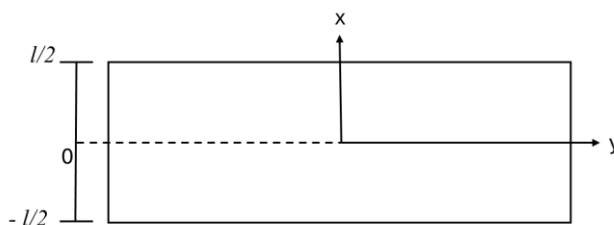
$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad (5)$$

Aqui, C é uma função da distância do centro do filme (x , em cm) e do tempo (t , em s). Considerando um modelo unidimensional para um filme infinito, as condições de contorno e iniciais são:

- $C_1=C_0$, para $-\frac{l}{2} < x < \frac{l}{2}$, $t=0$
- $C_1=C_b$, para $x = \pm\frac{l}{2}$, $t \geq 0$

Onde C_0 (em $\mu\text{g mL}^{-1}$) é a concentração inicial do material migrante do filme, C_b (em $\mu\text{g mL}^{-1}$) é a concentração do material migrante no limite e l (em cm) representa a espessura do filme. A Figura 2 ilustra o sistema de coordenadas utilizado neste estudo.

Figura 2 - Folha plana infinita com espessura.



A partir dos dados de liberação, D foi determinado utilizando uma relação derivada da solução da Lei de Fick para uma folha plana, conforme mostrado na Equação 6:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp\left[-\frac{(2n+1)^2 \pi^2 D t}{4l^2}\right] \quad (6)$$

Onde M_t/M_∞ é a fração de óleo essencial difundido no tempo t M_t (em μg), dividida

pela quantidade de óleo essencial difundida no equilíbrio M_∞ (em μg), ou seja, no tempo infinito.

O modelo de estágio duplo considera que os processos de difusão Fickiana e não Fickiana ocorrem simultaneamente. Cada estágio é caracterizado por um comportamento predominante: no primeiro estágio, a difusão segue principalmente o modelo Fickiano; no segundo estágio, o comportamento não Fickiano se torna mais evidente devido à maior taxa de relaxamento e redução da taxa de difusão. Se C_1 representa a concentração associada à difusão Fickiana e C_2 à difusão não Fickiana, a soma dessas funções resulta na concentração total da amostra, conforme mostrado na Equação 7:

$$C_{(x,t)} = C_1(x, t) + C_2(x, t) \quad (7)$$

Onde C_1 (em $\mu\text{g mL}^{-1}$) é a concentração do material migrante devido à difusão Fickiana e C_2 (em $\mu\text{g mL}^{-1}$) é a contribuição não Fickiana. Neste estudo, o segundo estágio foi modelado com base na teoria Fickiana, a fim de facilitar a abordagem matemática e permitir a comparação dos resultados. No entanto, é importante destacar que o estágio C_2 corresponde a um processo irreversível, que não segue o comportamento Fickiano. A Equação 8 assume a seguinte forma:

$$C_{(x,t)} = C_1(x, t, D_1, C_{sat,1}) + C_2(x, t, D_2, C_{sat,2}) \quad (8)$$

Onde $C_{sat,1}$ (em $\mu\text{g mL}^{-1}$), D_1 (em $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$), $C_{sat,2}$ (em $\mu\text{g mL}^{-1}$) e D_2 (em $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$) são os respectivos coeficientes de difusão e concentrações nos primeiros e segundos estágios. A concentração total C (em $\mu\text{g mL}^{-1}$) é uma função da difusividade, saturação, tempo (t , em s) e espessura (l , em cm). As equações de difusão para C_1 e C_2 são dadas pelas seguintes expressões da equação 9 e equação 10:

$$\frac{\partial C_1}{\partial t} = D_1 \frac{\partial^2 C_1}{\partial x^2} \quad (9)$$

Com as condições de contorno:

- $C_1=0$, para $-\frac{l}{2} < x < \frac{l}{2}$, $t=0$
- $C_1=C_{sat,1}$, para $x = \pm\frac{l}{2}$, $t \geq 0$

e

$$\frac{\partial C_2}{\partial t} = D_2 \frac{\partial^2 C_2}{\partial x^2} \quad (10)$$

Com as condições de contorno:

- $C_2=0$ para $-\frac{l}{2} < x < \frac{l}{2}$, $t=0$
- $C_2=C_{sat,2}=C_{\infty,2} - C_{sat,1}$, para $x = \pm\frac{l}{2}$, $t \geq 0$

A combinação das equações (9) e (10) resulta na Equação (8). Essas equações são resolvidas utilizando a técnica de separação de variáveis. A solução da equação (8) apresenta uma estrutura similar à da Equação (6), com a inclusão do segundo estágio referente a equação (11):

$$M_t = M_{\infty,1} \left[1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp \left[\frac{-(2n+1)^2 \pi^2 D_1 t}{4l^2} \right] \right] + \quad (11)$$

$$+ M_{\infty,2} \left[1 - \frac{8}{\pi^2} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{(2n+1)^2} \exp \left[\frac{-(2n+1)^2 \pi^2 D_2 t}{4l^2} \right] \right]$$

Onde

$$M_{\infty,1} = C_{sat,1}V,$$

$$M_{\infty,2} = C_{sat,2}V = M_{\infty} - M_{\infty} - M_{\infty,1} \quad (12)$$

$$= (C_{\infty} - C_{sat,1})V$$

A massa total do material migrante em ambos os estágios no tempo t é representada por M_t . Os termos $M_{\infty,1}$ e $M_{\infty,2}$ (em μg) correspondem à massa total do material migrante absorvida

em cada estágio. Espera-se que D_1 (em $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$) seja significativamente maior que D_2 (em $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$), pois, no início da difusão, os efeitos da ligação química e do relaxamento da amostra são desprezíveis. Ambas as funções possuem coeficientes de difusividade Fickianos e atingem um estado de saturação.

A modelagem para determinar o coeficiente de difusão, ou seja, quantificar a migração do óleo essencial da embalagem para o simulante, foi realizada utilizando a linguagem de programação Python para a amostra de embalagem contendo nanopartículas de quitosana com óleo essencial de cravo.

2.6 Análise estatística

A análise estatística dos filmes foi realizada por meio de Análise de Variância (ANOVA), utilizando o software Origin 2024b, com nível de significância de $p < 0,05$. Os resultados foram comparados pelo teste de Tukey.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Características visuais

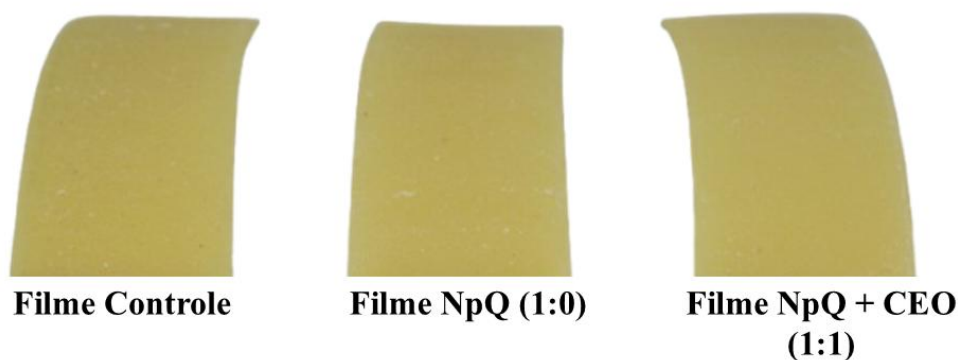
O processamento dos biopolímeros, juntamente com as nanocápsulas de quitosana com óleo essencial de cravo, resultou em fitas com estruturas uniformes e íntegras, evidenciando a eficiência do método de mistura empregado. Durante o processo, a alimentação controlada e gradual do material foi essencial para evitar aglomerações e garantir a distribuição uniforme dos componentes na matriz polimérica ao entrarem em contato com a rosca aquecida.

As fitas apresentaram espessuras médias de $2,68 \pm 0,03$ mm para todas as amostras, em diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p > 0,05$). A largura foi de 4,5 cm para todas as amostras, demonstrando consistência dimensional ao longo do processamento. Além disso, as fitas foram extrudadas sem apresentar quebras, saindo em perfeitas condições

do equipamento. Esse resultado reflete o controle rigoroso dos parâmetros operacionais, como temperatura, taxa de alimentação e velocidade de extrusão, garantindo a qualidade final dos materiais processados.

A análise visual (Figura 3) confirmou a uniformidade estrutural das fitas e a ausência de defeitos aparentes, como bolhas ou grânulos. Essas características foram transferidas para os filmes obtidos a partir das fitas, ilustrados na Figura 4.

Figura 3 – Característica visual e dimensional das fitas.

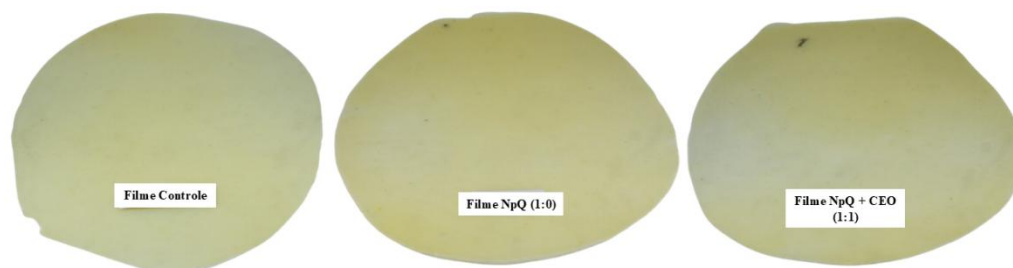


Assim como as fitas, os filmes controle, NpQ (1:0) e NpQ + CEO (1:1) apresentaram características visuais homogêneas, sendo flexíveis, livres de falhas ou grânulos perceptíveis e com coloração uniforme, independentemente da formulação. Isso demonstra a eficiência do método de produção e a dispersão adequada dos componentes na matriz polimérica. A análise visual indicou que, mesmo com a inclusão das nanocápsulas de quitosana (NpQ), os filmes se apresentaram semelhantes, sem diferenças significativas entre eles. Enquanto as nanocápsulas de quitosana com óleo essencial de cravo (CEO) não alteraram a homogeneidade estrutural, sua presença indicou potencial para introduzir funcionalidade adicional, como propriedades antioxidantes ou antimicrobianas, sem comprometer as características físicas.

Além disso, a espessura dos filmes apresentou valores médios de $0,52 \pm 0,06^b$ mm para o filme controle, $0,60 \pm 0,05^b$ mm para o filme com NpQ (1:0) e $0,74 \pm 0,04^a$ mm para o filme com NpQ + CEO (1:1). Houve diferença estatisticamente significativa entre as amostras ($p < 0,05$), indicando que a adição de NpQ e CEO influenciou diretamente na espessura dos filmes. Apesar dessas alterações, a manutenção da flexibilidade dos filmes, mesmo com a incorporação de nanocápsulas, sugere que a matriz de quitosana preservou suas propriedades intrínsecas, enquanto as nanocápsulas com o óleo não provocou mudanças significativas nas características

físicas dos materiais.

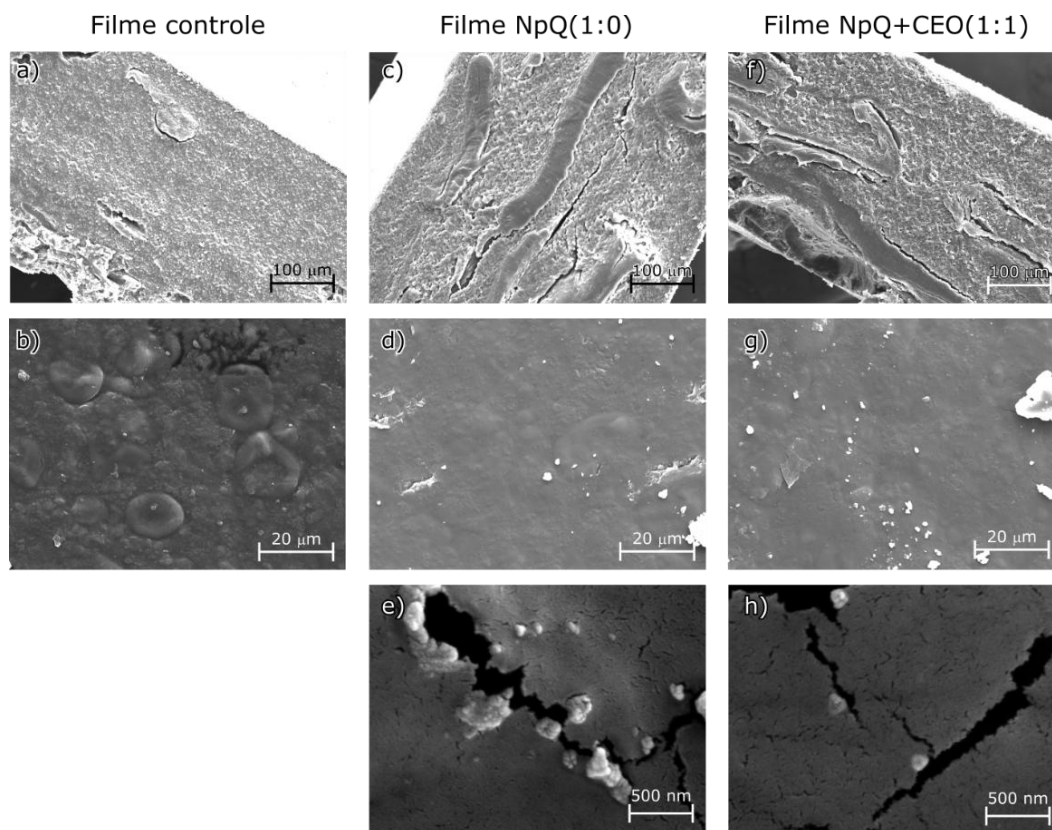
Figura 4 – Análise visual dos filmes biodegradáveis ativos.



3.2 Análise morfológica

Na Figura 5, são apresentadas as micrografias obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) em diferentes ampliações e energias, com o objetivo de avaliar a morfologia da seção transversal e da superfície dos filmes biodegradáveis. As micrografias do filme controle mostram a seção transversal (Figura 5a). Para o filme NpQ (1:0), a seção transversal é apresentada na Figura 5c, obtida com energia de 20 kV e ampliação de 773x, enquanto a superfície do filme é mostrada na Figura 5d, com energia de 20 kV e ampliação de 4.51Kx. Além disso, a superfície em alta ampliação é exibida na Figura 3e, analisada com energia de 10 kV e ampliação de 150Kx. Já para o filme NpQ+CEO (1:1), a seção transversal é ilustrada na Figura 5f, obtida com energia de 20 kV e ampliação de 750x, enquanto a superfície é apresentada na Figura 5g, analisada com energia de 20 kV e ampliação de 4.50Kx. Por fim, a superfície em alta ampliação é mostrada na Figura 5h, com energia de 10 kV e ampliação de 150Kx.

Figura 5 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) de filmes biodegradáveis ativos:
 Filme controle: (a) seção transversal do filme; (b) superfície; Filme NpQ (1:0):
 (c) seção transversal do filme; (d) superfície; (e) superfície em alta ampliação;
 Filme NpQ+CEO (1:1): (f) seção transversal do filme; (g) superfície; (h)
 superfície em alta ampliação.



Filme controle: (a) energia 20 kV, ampliação 760x; (b) energia 20 kV, ampliação 4.48Kx; Filme NpQ (1:0): (c) energia 20 kV, ampliação 773x; (d) energia 20 kV, ampliação 4.51Kx; (e) energia 10 kV, ampliação 150Kx; Filme NpQ+CEO (1:1): (f) energia 20 kV, ampliação 750x; (g) energia 20 kV, ampliação 4.50Kx; (h) energia 10 kV, ampliação 150Kx.

Os resultados evidenciam diferenças morfológicas entre os três tipos de filmes analisados. O filme controle (a, b) apresentou uma seção transversal relativamente heterogênea, com a presença de poros e uma superfície irregular. Essas irregularidades podem estar associadas a uma dispersão insuficiente dos biopolímeros durante a preparação do filme. Conforme ilustrado na Figura 5b, foi possível observar que a superfície do filme possui alguns grãos. Segundo Claro et al., (2016), os polímeros utilizados na blenda são imiscíveis.

Por outro lado, o filme contendo nanocápsulas de quitosana (NpQ) (c, d, e) apresentou

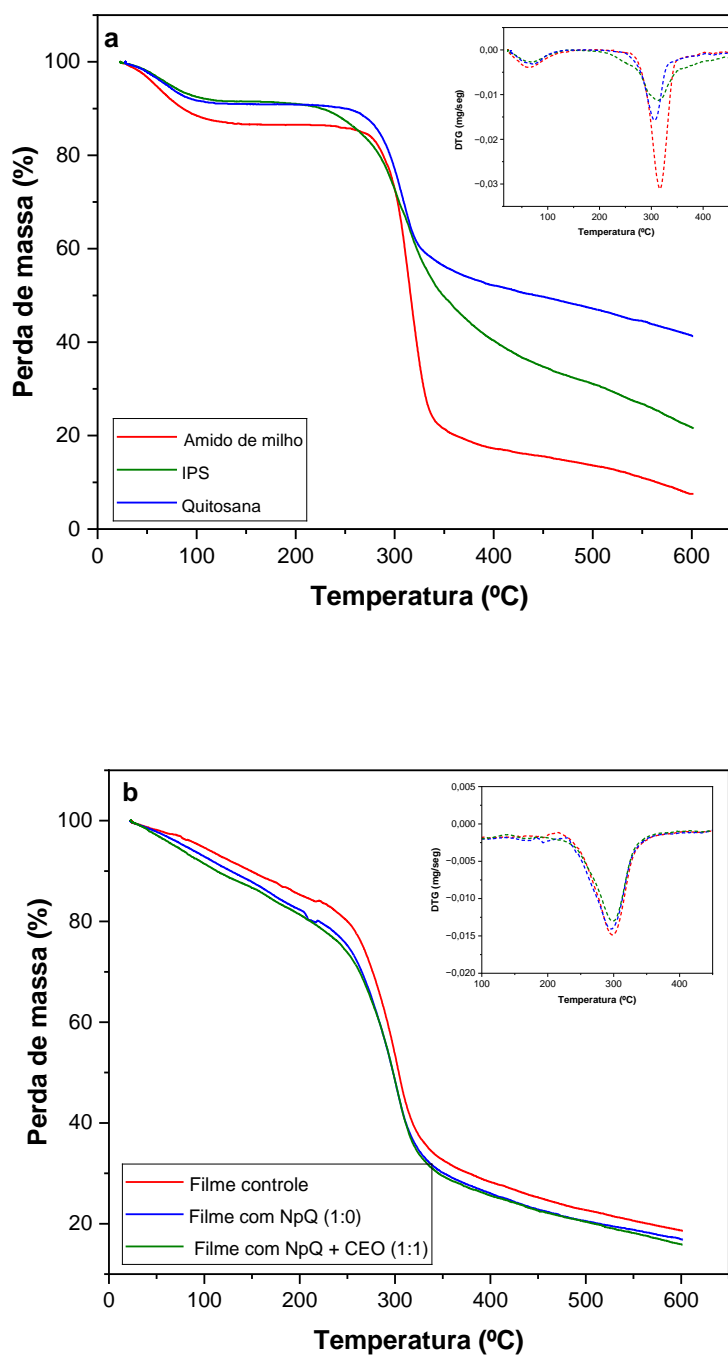
uma estrutura mais compacta e homogênea em comparação ao controle. A superfície do filme (d) mostrou-se mais regular, enquanto a micrografia de maior ampliação (e) revelou a presença de nanocápsulas dispersas e pequenas fissuras, possivelmente devido à formação de bolhas causadas pela intensidade da energia do feixe de elétrons do equipamento, corroborando os resultados observados em pesquisas anteriores (Shapii *et al.*, 2022).

O filme contendo nanocápsulas de quitosana com óleo essencial de cravo (NpQ+CEO) (f, g, h) demonstrou a estrutura mais coesa entre os três formulados. A seção transversal (f) apresentou menor porosidade e uma estrutura mais densa. A superfície (g) destacou uma morfologia uniforme, e a micrografia de maior ampliação (h) revelou uma dispersão mais efetiva das nanocápsulas. Esses resultados indicam que a adição de nanocápsulas com o óleo essencial pode atuar como plastificante, melhorando a interação entre os biopolímeros e as nanocápsulas (Zhao *et al.*, 2022). Além disso, como a amostra foi preparada através de uma solução contendo as nanocápsulas, pode haver resíduos de óleo essencial não encapsulados, ou seja, óleo livre na matriz polimérica.

3.3 Propriedades térmicas

A análise termogravimétrica (TGA) e suas respectivas derivadas (DTG) foi realizada para avaliar as variações de massa das amostras em função da temperatura e determinar sua estabilidade térmica para futuras aplicações. As curvas apresentadas na Figura 6 estão divididas em dois gráficos. No gráfico (a), são analisadas substâncias puras de biopolímeros de amido de milho, isolado proteico do soro de leite (IPS) e quitosana. Já o gráfico (b) refere-se as amostras de filme controle, filme com (NpQ) e filme com NpQ+CEO (1:1), além de suas respectivas derivadas.

Figura 6 – Curvas de TG e DTG (a) Biopolímeros puros de amido de milho, isolado proteico do soro de leite (IPS) e quitosana e (b) Filme controle, Filme com NpQ (1:0) e Filme com NpQ+CEO (1:1).



Na Figura 6 (a), observou-se que o amido de milho apresentou uma perda de massa inicial de aproximadamente 8% abaixo de 120 °C, atribuída à eliminação de água adsorvida, o

que evidencia seu caráter higroscópico. A principal etapa de decomposição ocorreu no intervalo de temperatura entre 280 e 350 °C, com uma perda de massa acumulada de cerca de 60%. Essa etapa foi provavelmente associada à degradação térmica das macromoléculas de amido, como amilose e amilopectina, além de componentes micro-orgânicos (Chinnasamy *et al.*, 2022). Nos estágios finais, acima de 350 °C, foi observada uma eliminação mais lenta de compostos orgânicos mais resistentes, resultando, ao final, no acúmulo de cinzas ou resíduos provenientes da matriz do amido. A análise DTG revelou um pico de máxima taxa de decomposição em 310 °C, indicando boa estabilidade térmica.

A amostra de IPS apresentou uma perda inicial de aproximadamente 6% até 150 °C, atribuída à remoção de água adsorvida. A principal etapa de decomposição ocorreu no intervalo de 250 a 400 °C, resultando em uma perda de massa acumulada de cerca de 55%. De acordo com a literatura, essa etapa está associada à degradação das proteínas, envolvendo o processo de quebra de ligações peptídicas presentes no IPS (Hashemi *et al.*, 2024). O pico de máxima decomposição foi identificado em 300 °C, sendo inferior ao observado para o amido.

Por sua vez, a quitosana apresentou uma menor perda de massa inicial, de 4% até 100 °C, devido à sua menor higroscopicidade. A principal etapa de decomposição foi observada no intervalo de 250 a 350 °C, com uma perda de massa acumulada de 50%, atribuída à desidratação e à degradação dos anéis de quitosana (Nasri *et al.*, 2021). O pico de máxima decomposição foi registrado em 290 °C, evidenciando menor estabilidade térmica em comparação ao amido e ao IPS.

Para as curvas da figura 6 (b), foi observado que filme controle, composto por amido, IPS e quitosana, apresentou uma perda inicial de massa de 10% até 150 °C, relacionada à remoção de água adsorvida. A principal etapa de decomposição ocorreu entre 280 e 340 °C, com perda acumulada de 60%, semelhante ao comportamento do amido puro. O pico DTG foi registrado em 310 °C, sugerindo que as interações entre os biopolímeros não alteraram significativamente a estabilidade térmica do sistema. Os filmes com filme com NpQ (1:0) apresentou comportamento térmico similar ao controle, com uma perda inicial de massa também em torno de 10% até 150 °C. Contudo, a perda acumulada na etapa principal foi levemente reduzida (58%), indicando que as nanocápsulas contribuíram para uma maior estabilidade térmica, possivelmente devido à formação de ligações intermoleculares adicionais. O pico DTG permaneceu em 310 °C, demonstrando que as nanocápsulas puras não modificaram a temperatura de máxima decomposição.

Por fim, os filmes com NpQ+CEO (1:1). apresentaram um perfil térmico distinto. A perda inicial foi de 10% até 150 °C, similar ao controle, mas a faixa de decomposição principal deslocou-se para 290–350 °C, com uma perda acumulada menor (55%). Esse comportamento reflete o efeito protetor do óleo essencial encapsulado, que provavelmente retardou os processos de degradação térmica. O pico DTG foi deslocado para 315 °C, evidenciando maior estabilidade térmica em relação aos demais filmes.

Os resultados da estabilidade térmica indicaram que a adição de nanocápsulas de quitosana não afetaram significativamente a estabilidade térmica dos filmes. Esses achados são consistentes com os de Li et al., (2022), que também observaram uma alteração insignificante na estabilidade térmica ao adicionar nanopartículas e nanoemulsões de óleos essenciais de *Mosla chinensis* em filmes de quitosana/zeína. Contudo, nesta pesquisa, a presença das nanopartículas e nanoemulsões de óleos essenciais resultou em uma leve redução na estabilidade térmica dos filmes, o que pode ser atribuído à interferência do óleo essencial nas interações intermoleculares da matriz dos filmes

3.4 Propriedades ópticas

Os parâmetros de cor e transparência óptica dos filmes, apresentados na Tabela 1 e na Figura 7, fornecem informações importantes sobre o impacto das diferentes formulações nas propriedades ópticas dos filmes biodegradáveis. Esses parâmetros são essenciais para avaliar a aparência visual dos filmes e a dispersão de luz, fatores que podem influenciar tanto a qualidade estética quanto a funcionalidade dos filmes, como a proteção contra radiação UV ou a preservação de compostos bioativos.

Tabela 1 – Propriedades óticas dos filmes: Luminosidade (L^*), tonalidade entre vermelho e verde (a^*), tonalidade entre amarelo e azul (b^*) e saturação da cor (C^*).

Tratamentos	L^* (%)	a^*	b^*	C^*
Filme Controle	88,63 ^a ±0,81	2,45 ^a ±1,20	21,10 ^a ±0,08	21,26 ^a ±0,05
Filme com NpQ (1:0)	89,25 ^a ±0,83	2,44 ^a ±1,53	21,19 ^a ±0,04	21,36 ^a ±0,13
Filme com NpQ+CEO (1:1)	90,26 ^a ±0,60	2,00 ^a ±0,25	16,16 ^b ±0,15	16,28 ^b ±0,12

As médias observadas na coluna com a mesma letra não diferem estatisticamente ($p < 0,05$)

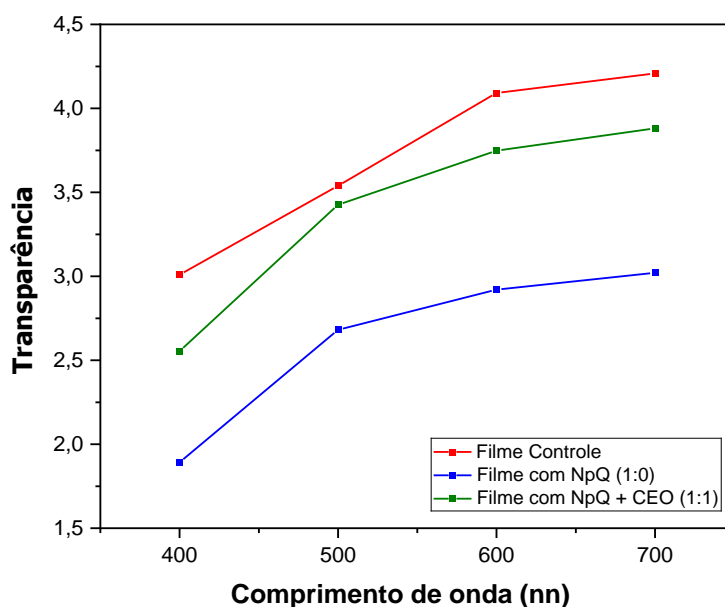
De acordo com os dados da Tabela 1, o parâmetro L^* , que mede a luminosidade, apresentou valores elevados para todas as amostras, não sendo observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre as amostras, indicando que a adição de nanocápsulas, com ou sem óleo essencial, não alterou a luminosidade dos filmes, mantendo-os com alta claridade visual. Cabe ressaltar que um branco absoluto apresenta L^* igual a 100, enquanto um preto absoluto possui L^* igual a 0 (sem claridade). O parâmetro a^* , que representa a tonalidade entre vermelho ($+a^*$) e verde ($-a^*$), também não apresentou variações significativas entre as formulações, com valores semelhantes em todas as amostras ($p > 0,05$).

Por outro lado, o parâmetro b^* , que reflete a tonalidade entre amarelo ($+b^*$) e azul ($-b^*$), apresentou uma diferença significativa ($p < 0,05$) no filme com NpQ+CEO (1:1), cujo valor foi de $16,16 \pm 0,15$, em comparação com o filme controle ($21,10 \pm 0,08$) e o filme com NpQ (1:0) ($21,19 \pm 0,04$). Essa redução no valor de b^* indica que a incorporação do óleo essencial encapsulado diminuiu a intensidade da tonalidade amarela, possivelmente devido a interações químicas ou físicas entre óleo essencial e a matriz de quitosana. De maneira similar, o parâmetro C^* , que mede a saturação da cor, apresentou valores significativamente menores no filme com NpQ+CEO (1:1) ($16,28 \pm 0,12$) em relação ao filme controle ($21,26 \pm 0,05$) e ao filme NpQ (1:0) ($21,36 \pm 0,13$), indicando que a presença do óleo essencial encapsulado afetou a saturação da cor dos filmes.

A análise da transparência óptica, apresentada na Figura 7, revelou que o filme controle exibiu os maiores valores de transparência em todos os comprimentos de onda analisados, variando de $3,01 \pm 0,10\%$ a 400 nm a $4,21 \pm 0,11\%$ a 700 nm, o que foi atribuído à ausência de nanocápsulas, favorecendo a transmissão de luz. Em contraste, o filme com NpQ (1:0), contendo nanocápsulas de quitosana sem óleo essencial, apresentou transparência significativamente reduzida, com valores de $1,89 \pm 0,25\%$ a 400 nm até $3,02 \pm 0,14\%$ a 700

nm, devido à dispersão das nanocápsulas, que aumentaram a opacidade do filme. Já o filme com NpQ+CEO (1:1), contendo nanocápsulas com óleo essencial, exibiu transparência intermediária, com valores entre $2,55 \pm 0,59\%$ a 400 nm e $3,88 \pm 0,51\%$ a 700 nm. Esses resultados sugerem que a presença do óleo essencial encapsulado contribuiu para reduzir parcialmente a opacidade do filme, especialmente em comprimentos de onda mais longos, indicando uma interação mais eficiente com a luz.

Figura 7 - Transparência óptica de filmes biodegradáveis



Em síntese, a análise combinada dos parâmetros de cor e transparência óptica evidenciou que a adição de nanocápsulas de quitosana, especialmente associadas ao óleo essencial de cravo, reduziu a transparência dos filmes em relação ao controle. No entanto, a encapsulação do óleo essencial nas nanocápsulas atenuou parcialmente o efeito de opacidade, resultando em maior transparência do que no filme com nanocápsulas sem óleo essencial. Além disso, a presença do óleo essencial encapsulado promoveu uma redução na intensidade da tonalidade amarela e na saturação da cor, alterando significativamente a percepção visual dos filmes. Segundo Hua et al., (2021), a diminuição na transparência dos filmes com a presença das nanocápsulas e óleo essencial pode ser atribuída à forte absorção de radiação UV pelos grupos aromáticos nas substâncias polifenólicas do óleo essencial de cravo.

3.5 Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas das amostras Filme Controle, Filme com NpQ (1:0) e Filme com NpQ + CEO (1:1) estão apresentadas na Tabela 2, que inclui a resistência máxima à tração ($\rho_{\text{máx}}$), o módulo de elasticidade (E') e o alongamento (ϵ).

Tabela 2 – Propriedades mecânicas dos filmes: resistência máxima à tração ($\rho_{\text{máx}}$), módulo de elasticidade (E') e alongamento (ϵ).

Tratamentos	$\rho_{\text{máx}}$ (Mpa)	E' (Mpa)	ϵ (%)
Filme Controle	1,17 ^a ±0,34	0,20 ^{a,b} ±0,11	17,76 ^a ±5,61
Filme com NpQ (1:0)	0,72 ^b ±0,31	0,13 ^b ±0,05	10,57 ^b ±2,82
Filme com NpQ + CEO (1:1)	1,17 ^a ±0,20	0,22 ^a ±0,06	12,40 ^b ±1,93

As médias observadas na coluna com a mesma letra não diferem estatisticamente ($p < 0,05$)

Os valores de $\rho_{\text{máx}}$, E' e ϵ variaram significativamente entre as amostras testadas, refletindo os efeitos das diferentes formulações nas propriedades mecânicas dos filmes ($p < 0,05$). O Filme Controle apresentou a maior resistência à tração ($1,17 \pm 0,34$ MPa) e alongamento ($17,76 \pm 5,61\%$), sendo estatisticamente superior ($p < 0,05$) ao Filme com NpQ (1:0). Este último exibiu valores significativamente menores ($0,72 \pm 0,31$ MPa e $10,57 \pm 2,82\%$, respectivamente), indicando uma redução acentuada na resistência e na flexibilidade, possivelmente devido à menor mobilidade das cadeias poliméricas ocasionada pela incorporação de nanopartículas sem óleo essencial. Um efeito semelhante foi observado em estudos anteriores, como a adição de nanopartículas de montmorilonita sódica em blendas de amido com isolado proteico de soro de leite, que também resultaram em uma redução na flexibilidade devido à rigidez induzida pelas nanopartículas (Azevedo *et al.*, 2019).

A adição de óleo essencial encapsulado no filme com NpQ + CEO (1:1) promoveu uma recuperação parcial das propriedades mecânicas. Essa formulação apresentou valores de resistência máxima à tração ($1,17 \pm 0,20$ MPa) estatisticamente iguais ao Filme Controle ($p > 0,05$) e superiores ao filme com NpQ (1:0) ($p < 0,05$). No entanto, o alongamento ($12,40 \pm 1,93\%$) foi significativamente menor que o controle ($p < 0,05$), mas ainda maior do que o filme com NpQ (1:0) ($p < 0,05$), indicando que o óleo essencial encapsulado contribuiu para um

aumento na mobilidade das cadeias poliméricas em comparação ao filme com NpQ isolado. Além disto, esses resultados sugerem que o óleo essencial encapsulado atuou como um plastificante, reduzindo as interações intermoleculares rígidas introduzidas pelas nanopartículas de quitosana. No entanto, a quantidade de óleo essencial incorporada pode não ter sido suficiente para promover um efeito plastificante mais significativo (Azevedo *et al.*, 2019; Vahedikia *et al.*, 2019).

O módulo de elasticidade (E') mostrou valores baixos em todas as amostras, mas com diferenças significativas entre elas ($p < 0,05$). O Filme Controle ($0,20 \pm 0,11$ MPa) e o Filme com NpQ + CEO (1:1) ($0,22 \pm 0,06$ MPa) não diferiram estatisticamente entre si ($p > 0,05$), enquanto o Filme com NpQ (1:0) apresentou o menor valor ($0,13 \pm 0,05$ MPa, $p < 0,05$). Esses resultados indicam que a rigidez do material foi parcialmente restaurada pela adição do óleo essencial encapsulado, sugerindo uma melhor interação entre os componentes da matriz.

De maneira geral, os resultados demonstram que a incorporação de nanopartículas de quitosana sem óleo essencial comprometeu significativamente a resistência e a ductilidade dos filmes, enquanto a adição de óleo essencial encapsulado promoveu uma melhoria parcial dessas propriedades. As diferenças observadas nos parâmetros mecânicos, com a leve recuperação observada no filme com NpQ + CEO (1:1) pode ser atribuída ao papel plastificante do óleo essencial encapsulado, que enfraquece parcialmente as forças intermoleculares rígidas e aumenta a mobilidade das cadeias poliméricas.

3.6 Atividade antioxidante

Os resultados obtidos para a atividade antioxidante dos filmes, avaliados pelo método de captura do radical livre DPPH (%), taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) ($\text{g H}_2\text{O}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{dia}^{-1}$) e espessura média dos filmes (mm) estão apresentados na Tabela 3. Esses dados evidenciaram diferenças significativas entre os tratamentos analisados.

O processo de oxidação é um fenômeno natural que compromete diretamente a qualidade dos alimentos, resultando em alterações indesejáveis em suas características sensoriais, como textura, coloração, aroma e sabor, além de reduzir sua vida útil. Para minimizar esses impactos, compostos antioxidantes são frequentemente aplicados com a

finalidade de retardar ou bloquear as reações oxidativas. Na Tabela 3, são apresentados os resultados que analisam a capacidade antioxidante das diferentes formulações de filmes, avaliadas por meio do método DPPH, uma técnica amplamente reconhecida para mensurar a eficácia antioxidante de materiais e substâncias bioativas.

Tabela 3- Atividade antioxidante dos filmes pelo método de DPPH, taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) e espessura média dos filmes.

Tratamentos	Atividade antioxidante (%)	TPVA (g H₂O.m⁻².dia⁻¹)	Espessura média (mm)
Filme Controle	11,65 ^b ±4,98	47,41 ^b ± 2,87	0,52 ^b ±0,06
Filme com NpQ (1:0)	18,34 ^{a,b} ±8,51	51,38 ^{a,b} ± 2,88	0,60 ^b ±0,05
Filme com NpQ + CEO (1:1)	31,64 ^a ±8,52	54,25 ^a ± 0,89	0,74 ^a ±0,04

As médias observadas na coluna com a mesma letra não diferem estatisticamente ($p < 0,05$)

O filme controle apresentou a menor atividade antioxidante (11,65±4,98%) e não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) em relação ao filme com NpQ (1:0), que mostrou uma leve elevação na atividade antioxidante (18,34±8,51%). Esses resultados indicam que a presença de nanopartículas de quitosana (NpQ) isoladamente não contribuiu significativamente para a capacidade antioxidante do filme, o que era esperado devido à ausência de componentes com propriedades antioxidantes na formulação.

Em contraste, o filme com NpQ + CEO (1:1) apresentou uma atividade antioxidante significativamente maior (31,64±8,52%) em comparação com as outras amostras ($p < 0,05$). Esse aumento pode ser atribuído à incorporação do óleo essencial de cravo (CEO), que é rico em compostos fenólicos, sendo o principal responsável pela atividade antioxidante, com o eugenol como o composto predominante. Compostos fenólicos, como os encontrados em especiarias e plantas aromáticas, possuem efeitos antirradicais, que incluem a destruição de radicais livres, a formação de complexos com íons metálicos e a inibição da formação de oxigênio singlete (Atlar, Kutlu e Tornuk, 2024). Esses resultados indicam que o óleo essencial de cravo, mesmo após o processo de encapsulação e incorporação na matriz do filme, manteve sua atividade antioxidante.

Apesar disso, o desvio padrão relativamente elevado (±8,52) sugere alguma

variabilidade entre as medições. Essa variação pode ser atribuída à distribuição heterogênea das nanocápsulas na matriz do filme ou a pequenas diferenças nas condições experimentais.

Diversos estudos demonstraram que a atividade antioxidante de óleos essenciais é preservada quando estes são incorporados em nanocápsulas e em matrizes poliméricas de filmes. A pesquisa de (Xavier *et al.*, 2021) observou que a atividade antioxidante do óleo essencial de *Cinnamodendron dinisii* foi mantida após o processo de nanoencapsulação, evidenciando uma alta capacidade antioxidante. Além disso, a atividade antioxidante foi preservada quando o óleo essencial foi incorporado à matriz polimérica de quitosana. As nanopartículas vazias, por outro lado, apresentaram uma menor capacidade antioxidante em comparação com as nanopartículas carregadas com óleo essencial. Este resultado sugere que o óleo essencial nanoencapsulado, quando incorporado ao filme, pode ser gradualmente liberado, contribuindo para a capacidade antioxidante do material. Os compostos bioativos presentes no óleo essencial de *Cinnamodendron dinisii* são capazes de inibir ou reduzir a oxidação de lipídios e outras moléculas, evitando a propagação de reações oxidativas em cadeia.

3.6 Taxa de permeabilidade a vapor de água (TPVA)

Os resultados da Tabela 3 indicaram que o filme controle, com espessura média de $0,52 \pm 0,06^b$ mm, apresentou uma TPVA de $47,41 \pm 2,87$ g $\text{H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1}$, sendo estatisticamente inferior ao tratamento com NpQ (1:0), que apresentou uma espessura média de $0,60 \pm 0,05^b$ mm e TPVA de $51,38 \pm 2,88$ g $\text{H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1}$. O tratamento com NpQ + CEO (1:1), que exibiu a maior espessura média ($0,74 \pm 0,04^a$ mm), também apresentou a maior TPVA, alcançando $54,25 \pm 0,89$ g $\text{H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{dia}^{-1}$. Verificou-se que a incorporação de nanopartículas nos filmes, tanto na ausência quanto na presença do óleo essencial de cravo, resultou em um aumento significativo na TPVA ($p < 0,05$).

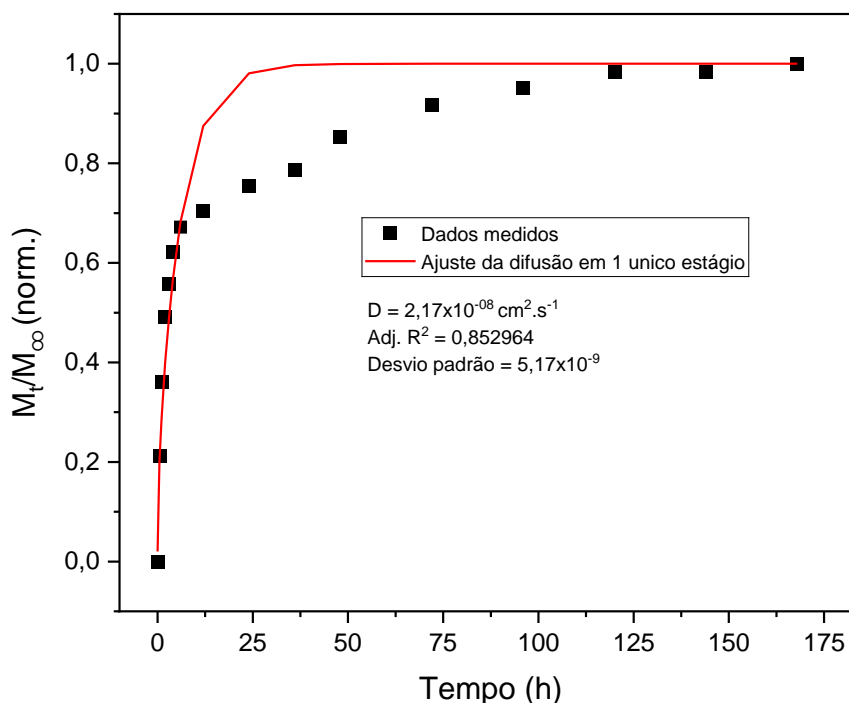
A maior TPVA observada para o tratamento com NpQ + CEO pode ser atribuída à interação das nanocápsulas de quitosana com a matriz polimérica, que torna a matriz mais aberta ao transporte de moléculas de água. Esse comportamento ocorre mesmo com o aumento de compostos hidrofóbicos na matriz, devido à presença de lipídios e das nanocápsulas (Azadi *et al.*, 2023; Perdonés *et al.*, 2014).

As diferenças estatísticas observadas ($p < 0,05$) destacam o impacto dos componentes ativos na propriedade de barreira dos filmes. Segundo Souza et al., (2021), embora o aumento da TPVA possa reduzir a eficácia dos filmes como barreira ao vapor de água, sua aplicação em embalagens ativas merece consideração. Esse aumento na permeabilidade, embora não desejado em termos de barreira, pode ser vantajoso, já que a água pode atuar como carreadora dos óleos essenciais, facilitando a liberação dos compostos ativos presentes na emulsão. Como resultado, os filmes podem apresentar uma atividade biológica mais expressiva, especialmente no que diz respeito à atividade antioxidante.

3.7 Determinação do coeficiente de difusão

As Figuras 8 e 9 mostram a liberação do óleo essencial de cravo (CEO) a partir das embalagens extrusadas ativas enriquecidas com nanopartículas de quitosana (Filme com NpQ + CEO (1:1)), ajustadas por dois modelos de difusão: um único estágio (Figura 7) e dois estágios (Figura 8). Para essa análise, utilizou-se uma solução de ácido acético a 3% (v/v), que representa alimentos com pH abaixo de 4,5, como leite fermentado, queijos, vinagre, natas, frutas em conserva ou em forma pastosa e carnes em meio aquoso, conforme o Regulamento n° 10/2011 da União Europeia. Esse simulante foi escolhido porque permite uma liberação eficiente dos compostos bioativos do CEO em até 24 horas, atingindo concentrações adequadas para ação antioxidante.

Figura 7 – Ajuste pela lei de Fick um único estágio

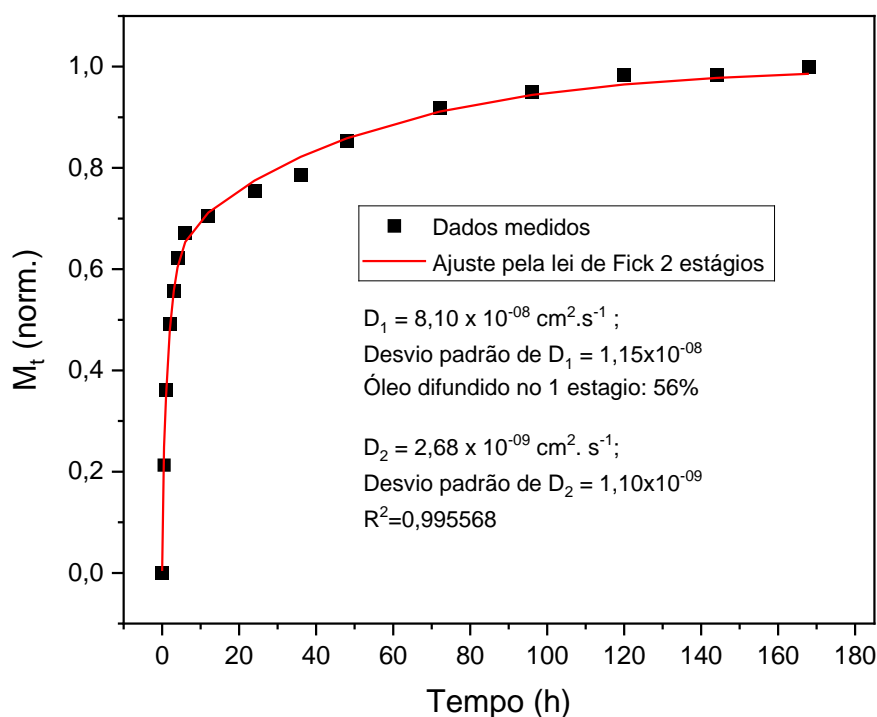


O ajuste considerando apenas um estágio de difusão apresentou um coeficiente de determinação (R^2) de 0,8529, indicando que o modelo não descreve com precisão toda a curva de liberação. A divergência entre os dados medidos e o ajuste matemático se torna evidente principalmente nos tempos mais longos, onde o modelo não consegue acompanhar corretamente a liberação do CEO. Esse comportamento sugere que o processo de difusão do óleo essencial acontece de mais de uma forma, tornando o modelo de estágio único inadequado para explicar todo o processo. Além disso, as taxas de liberação do óleo essencial podem ser afetadas pela polaridade do simulante de alimento. Dessa forma, compostos apolares, como o CEO, tendem a apresentar maior liberação em meios apolares.

Já o ajuste considerando dois estágios de difusão (Figura 8) apresentou um R^2 muito superior (0,9956), mostrando que ele se encaixa melhor aos dados experimentais. Esse modelo reflete dois processos distintos. O primeiro estágio é caracterizado por uma liberação rápida de cerca de 56% de CEO, com um coeficiente de difusão alto ($D_1=8,10 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$). Esse comportamento pode ser explicado pela presença de óleo essencial livre na matriz polimérica da embalagem e pelo CEO mais acessível na superfície das nanopartículas de quitosana, que se difunde rapidamente para o meio simulante. Como na produção das embalagens foi usada uma

solução contendo nanopartículas de quitosana, pode ter ocorrido a presença de óleo essencial que não foi encapsulado, contribuindo para essa liberação inicial mais intensa. O segundo estágio, por sua vez, é caracterizado por uma liberação mais lenta e controlada, com um coeficiente de difusão menor ($D_2 = 2,68 \times 10^{-9} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$). Esse estágio está relacionado à difusão do óleo essencial retido no interior das nanopartículas de quitosana, cuja barreira polimérica dificulta sua saída, resultando em uma liberação gradual e prolongada.

Figura 8 - Ajuste pela lei de Fick em dois estágios



A Figura 8 mostra que a difusividade do segundo estágio é aproximadamente uma ordem de grandeza menor do que a do primeiro estágio. Essa diferença entre D_1 e D_2 sugere que a transição entre os dois estágios ocorre de forma progressiva, refletindo um processo inicial de rápida liberação seguido por uma difusão mais controlada. sendo que também foi observado pelos autores Placette et al., (2012). Esse comportamento também foi observado por Dias *et al.*, (2018), que relataram que a liberação do CEO está associada a dois mecanismos distintos: (i) a difusão do óleo essencial presente na superfície das nanopartículas e (ii) a difusão do óleo retido dentro da matriz polimérica.

Embora o meio de simulante seja de caráter polar, os resultados obtidos apresentaram uma liberação gradual do CEO para o filme. A difusão do CEO na solução de ácido acético pode ser descrita como "controlada por inchaço". De acordo com esse modelo, o simulante primeiro penetra na matriz polimérica e dissolve o agente ativo, permitindo assim sua liberação subsequente. Espera-se, portanto, que a difusão do CEO aumente com o aumento da penetração do ácido acético no filme, atingindo um ponto em que a matriz não consegue liberar mais o agente ativo, pois já está saturada com o simulante. Quando a matriz do polímero é colocada em um meio termodinamicamente compatível, o polímero incha devido à absorção de fluido (penetrante) do meio. O coeficiente de difusão do agente ativo na parte inchada da matriz aumenta e, em seguida, o agente ativo se difunde. Esse fenômeno ocorre até que um equilíbrio termodinâmico entre a solução externa e o polímero seja alcançado.

A comparação entre os modelos mostra que a liberação do CEO das embalagens extrusadas ocorre em duas etapas. O modelo de um estágio não conseguiu representar esse comportamento direito, enquanto o modelo de dois estágios mostrou uma explicação mais realista do processo de difusão. A identificação de um segundo estágio de liberação é importante para aplicações alimentícias, pois sugere que as embalagens podem prolongar a liberação do CEO, aumentando o tempo de ação de suas propriedades bioativas.

4 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo evidenciaram que a incorporação de nanocápsulas de quitosana encapsulando óleo essencial de cravo em filmes biodegradáveis à base de amido de milho, quitosana e isolado proteico do soro de leite proporcionou melhorias nas propriedades funcionais das embalagens. Os filmes com nanocápsulas apresentaram maior atividade antioxidante (31,64%), superior aos filmes controle (11,65%) e com nanocápsulas sem óleo essencial (18,34%). Além disso, as análises térmicas mostraram que a formulação com óleo essencial encapsulado apresentou maior estabilidade térmica, com o pico de decomposição deslocado para 315 °C, em comparação aos 310 °C do filme controle. As propriedades mecânicas foram preservadas, com resistência máxima à tração de 1,17 MPa, semelhante ao controle, enquanto a transparência foi reduzida, refletindo o efeito das nanocápsulas na matriz. Quanto ao coeficiente de difusão, os dados ajustaram-se melhor à lei de Fick, com dois estágios

de difusão. No primeiro estágio, houve uma liberação rápida de cerca de 56% de CEO, com um coeficiente de difusão de $D_1 = 8,10 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, enquanto no segundo estágio a liberação foi mais lenta, com um coeficiente de difusão menor ($D_2 = 2,68 \times 10^{-9} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$). Esses resultados reforçam o potencial desses filmes como embalagens ativas sustentáveis, com benefícios funcionais e ambientais, mas novos estudos são necessários para avaliar o desempenho em condições reais de uso e a viabilidade de produção em larga escala.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural da Universidade Federal de Lavras, bem como à Finep, Fapemig, CNPq e Capes pelo fornecimento dos equipamentos e suporte técnico para experimentos envolvendo microscopia eletrônica.

Agradecemos ao Laboratório Multiusuário de Óptica e Fotônica da Universidade Federal de Lavras, à Finep, Fapemig, CNPq e Capes pelo fornecimento dos equipamentos.

Agradecemos à Central de Análises e Prospecção Química da Universidade Federal de Lavras, assim como à Finep, Fapemig, CNPq e Capes pelo fornecimento dos equipamentos e suporte técnico para experimentos envolvendo análise térmica e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM).

Agradecemos ao Laboratório de Embalagens e Encapsulamento e processamento de polímeros pelo fornecimento do espaço físico e estrutura para a realização deste trabalho.

Agradecemos aos órgãos de fomento, como a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), pelo apoio financeiro.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), pelo ambiente acadêmico inspirador, pela infraestrutura de excelência e pelas oportunidades que possibilitaram o desenvolvimento deste trabalho.

Agradecemos ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais pela oportunidade e estrutura oferecida.

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

Agradecemos à Fapemig pelo financiamento da pesquisa (Universal APQ-00788-21).

REFERÊNCIAS

- AMIGHI, M. *et al.* Encapsulation of *Nepeta hormozganica* and *Nepeta dschuprensis* essential oils in shrimp chitosan NPs: Enhanced antifungal activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 238, 31 maio 2023.
- ATLAR, G. C.; KUTLU, G.; TORNUK, F. Design and characterization of chitosan-based films incorporated with summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil for active packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 254, 1 jan. 2024.
- AZADI, A. *et al.* Fabrication, characterization and antimicrobial activity of chitosan/tragacanth gum/polyvinyl alcohol composite films incorporated with cinnamon essential oil nanoemulsion. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 245, 1 ago. 2023.
- AZEVEDO *et al.* Thermoplastic starch/whey protein isolate/rosemary essential oil nanocomposites obtained by extrusion process: Antioxidant polymers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 136, n. 23, 15 jun. 2019.
- CHENG, J. *et al.* Applications of biodegradable materials in food packaging: A review. **Alexandria Engineering Journal**, v. 91, p. 70–83, 1 mar. 2024.
- CHINNASAMY, G. *et al.* Physicochemical properties of tef starch: morphological, thermal, thermogravimetric, and pasting properties. **International Journal of Food Properties**, v. 25, n. 1, p. 1668–1682, 2022.
- CLARO, P. I. C. *et al.* Biodegradable Blends with Potential Use in Packaging: A Comparison of PLA/Chitosan and PLA/Cellulose Acetate Films. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 24, n. 4, p. 363–371, 1 dez. 2016.
- Crank, John. **The mathematics of diffusion**. Oxford university press, 1979.
- DIAS, M. V. *et al.* Thermal and morphological properties and kinetics of diffusion of antimicrobial films on food and a simulant. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 16, p. 15–22, 1 jun. 2018.
- DIRPAN, A.; AINANI, A. F.; DJALAL, M. A bibliometrics visualization analysis of active packaging system for food packaging. **Heliyon**, v. 9, n. 8, 1 ago. 2023.
- ERANDA, D. H.; CHAIJAN, M.; CASTRO-MUÑOZ, R. Current advances in surface

wettability in food packaging materials: Strategies, methods and future trends. **Journal of Food Engineering**, v. 391, 1 maio 2025.

FAN, X. *et al.* Incorporating *Portulaca oleracea* extract endows the chitosan-starch film with antioxidant capacity for chilled meat preservation. **Food Chemistry: X**, v. 18, 30 jun. 2023.

FERREIRA, L. F.; OLIVEIRA, A. C. S. DE; *et al.* Characterization of cassava starch/soy protein isolate blends obtained by extrusion and thermocompression. **Industrial Crops and Products**, v. 160, 1 fev. 2021.

FERREIRA, L. F.; FIGUEIREDO, L. P.; *et al.* Active coatings of thermoplastic starch and chitosan with alpha-tocopherol/bentonite for special green coffee beans. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 170, p. 810–819, 15 fev. 2021.

HASHEMI, B. *et al.* Whey protein-based bigels for co-encapsulation of curcumin and gallic acid: Characterization, stability and release kinetics. **Future Foods**, v. 10, 1 dez. 2024.

HOQUE, M.; JANASWAMY, S. Biodegradable packaging films from banana peel fiber. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 37, 1 fev. 2024.

HOSSEINI, S. F. *et al.* Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. **Carbohydrate Polymers**, v. 95, n. 1, p. 50–56, 5 jun. 2013.

HUA, L. *et al.* Improving the functionality of chitosan-based packaging films by crosslinking with nanoencapsulated clove essential oil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 192, p. 627–634, 1 dez. 2021.

HUIE, J. *et al.* Microporous chitosan/polyvinyl alcohol based active packaging materials with integrated gas-transmission, radiation-cooling, anti-microbial, and ultraviolet shielding features. **Chemical Engineering Journal**, v. 473, 1 out. 2023.

LARA, B. R. B. *et al.* Water sorption thermodynamic behavior of whey protein isolate / polyvinyl alcohol blends for food packaging. **Food Hydrocolloids journal**, v. 103, n. September 2019, 2020.

LI, Z. *et al.* Chitosan/zein films incorporated with essential oil nanoparticles and nanoemulsions: Similarities and differences. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 208, p. 983–994, 31 maio 2022.

LIU; ZHANG, X.; *et al.* Improved hydrophobicity, antibacterial and mechanical properties of polyvinyl alcohol/quaternary chitosan composite films for antibacterial packaging. **Carbohydrate Polymers**, v. 312, n. October 2022, p. 120755, 2023.

LIU; QIN, Z.; *et al.* Dual-crosslinked starch–poly(ester urethane)–oligochitosan films with high starch content: Application as biodegradable food packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 37, n. February, p. 101064, 2023.

MENDES, J. F. *et al.* Biodegradable polymer blends based on corn starch and thermoplastic chitosan processed by extrusion. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, p. 452–458, 10 fev. 2016.

MUKURUMBIRA, A. R. *et al.* Encapsulation of essential oils and their application in antimicrobial active packaging. **Food Control**, v. 136, 1 jun. 2022.

NASRI, R. *et al.* Development of delivery system based on marine chitosan: Encapsulation and release kinetic study of antioxidant peptides from chitosan microparticle. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 167, p. 1445–1451, 15 jan. 2021.

OLIVEIRA, C. D. *et al.* Development and characterization of pectin films containing nanoemulsions of the essential oil from *Thymus vulgaris* for preserving salami. **Food Chemistry**, v. 471, 15 abr. 2025.

PERDONES, Á. *et al.* Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan-cinnamon leaf oil films as affected by oleic acid. **Food Hydrocolloids**, v. 36, p. 256–264, 2014.

PLACETTE, M. D. *et al.* Dual stage modeling of moisture absorption and desorption in epoxy mold compounds. **Microelectronics Reliability**, v. 52, n. 7, p. 1401–1408, jul. 2012.

REN, L. *et al.* Influence of chitosan concentration on mechanical and barrier properties of corn starch/chitosan films. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 1636–1643, 1 dez. 2017.

ROY, S. *et al.* Recent progress in pectin extraction, characterization, and pectin-based films for active food packaging applications: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 239, n. March, 2023.

SHAPII, R. A. *et al.* Mechanical, thermal, and barrier properties of starch films incorporated with chitosan nanoparticles. **Nanotechnology Reviews**, v. 11, n. 1, p. 1464–1477, 1 jan. 2022.

SHETTA, A.; KEGERE, J.; MAMDOUH, W. Comparative study of encapsulated peppermint

and green tea essential oils in chitosan nanoparticles: Encapsulation, thermal stability, in-vitro release, antioxidant and antibacterial activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 126, p. 731–742, 1 abr. 2019.

SOUZA, A. G. *et al.* Starch-based films enriched with nanocellulose-stabilized Pickering emulsions containing different essential oils for possible applications in food packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 27, 1 mar. 2021.

THUNGPHOTRAKUL, N.; PRAPAINAINAR, P. Development of polyvinyl alcohol/carboxymethylcellulose-based bio-packaging film with citric acid crosslinking and clove essential oil encapsulated chitosan nanoparticle pickering emulsion. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 282, 1 dez. 2024.

VAHEDIKIA, N. *et al.* Biodegradable zein film composites reinforced with chitosan nanoparticles and cinnamon essential oil: Physical, mechanical, structural and antimicrobial attributes. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 177, p. 25–32, 1 maio 2019.

WESTLAKE, J. R. *et al.* Biodegradable Active Packaging with Controlled Release: Principles, Progress, and Prospects. **ACS Food Science and Technology**, v. 2, n. 8, p. 1166–1183, 12 maio 2022.

XAVIER, L. O. *et al.* Chitosan packaging functionalized with Cinnamodendron dinisii essential oil loaded zein: A proposal for meat conservation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 169, p. 183–193, 1 fev. 2021.

YILDIRIM, S. *et al.* Active Packaging Applications for Food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 1, p. 165–199, 1 jan. 2018.

ZHAO, R. *et al.* Development of edible composite film based on chitosan nanoparticles and their application in packaging of fresh red sea bream fillets. **Food Control**, v. 132, 1 fev. 2022.